

UNIVERZITET U BEOGRADU

HEMIJSKI FAKULTET

Ivana I. Jevtić

SINTEZA, FARMAKOLOŠKO ISPITIVANJE I
DOKING ANALIZA NOVIH ANILIDOPIPERIDINA

doktorska disertacija

Beograd, 2020.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF CHEMISTRY

Ivana I. Jevtić

SYNTHESIS, PHARMACOLOGICAL
EVALUATION AND DOCKING ANALISYS OF
NOVEL ANILIDOPIPERIDINES

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2020.

Mentori:

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

dr Jelena Z. Penjišević, naučni saradnik, Univerzitet u Beogradu, NU
IHTM-Centar za hemiju

Članovi komisije:

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

dr Sonja M. Vučković, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu,
Medicinski fakultet

dr Vladimir B. Šukalović, naučni saradnik, Univerzitet u Beogradu, NU
IHTM-Centar za hemiju

Datum odbrane

Zahvalnica

Izrada ove doktorske disertacije je realizovana u laboratorijama za organsku hemiju, Hemijskog fakulteta i NU IHTM-Centra za hemiju u Beogradu, u okviru projekta osnovnih istraživanja 17032, finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Ovim putem želim da se zahvalim ljudima koji su mi mnogo pomogli u toku izrade doktorske disertacije.

Mentoru Dr Milovanu D. Ivanoviću, se zahvaljujem na dugogodišnjoj nesebičnoj podršci i znanju koje je preneo na mene preko izrade diplomskog i master rada, a posebno tokom doktorske disertacije.

Mentoru Dr Jeleni Z. Penjišević, se zahvaljujem na velikoj pomoći oko in vitro farmakološke evaluacije jedinjenja sintetisanih u okviru ove disertacije kao i na vremenu koje je izdvojila savetujući me i pružajući podršku..

Članovima komisije, dr Veselinu R. Maslaku, dr Sonji M. Vučković i dr Vladimiru B. Šukaloviću se zahvaljujem na pomoći i korisnim savetima za vreme izrade i pisanja ove doktorske disertacije.

Veliku zahvalnost dugujem Dr Slađani Kostić Rajačić, direktoru Centra za hemiju-NU IHTM i rukovodiocu projekta u okviru koga je ova doktorska disertacija urađena, za poverenje i podsticaj koje mi je ukazala u mom naučno-istraživačkom radu.

Zahvaljujem se kolegama iz Centra za instrumentalnu analizu koji su svojim brzim i predanim radom omogućili pravovremenu spektroskopsku analizu jedinjenja koje sam sintetisala u okviru svoje doktorske disertacije.

Zahvaljujem se kolegamicama iz Instituta za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju, Medicinskog fakulteta u Beogradu, na neizmernoj pomoći kod in vivo farmakološke evaluacije jedinjenja sintetisanih u okviru ove doktorske disertacije.

Zahvanjujem se mojim roditeljima Boriski i Ivanu Jevtić, kao i mom bratu Borisavu Jevtiću, na strpljenju, nesebičnoj podršci i veri koju su imali u mene u toku mog školovanja. Bez njih ne bih postigla ove rezultate.

Na kraju se zahvaljujem maloj, ali odabranoj grupi mojih prijatelja na dugogodišnjoj podršci, i moralnom podsticaju koje su mi pružili.

IZVOD

Sinteza, farmakološko ispitivanje i doking analiza novih anilidopiperidina

U okviru ove disertacije dizajnirano je 30 anilidopiperidina, analoga jakog μ -opioidnog agonista i kliničkog analgetika fentanila. Razvijen je efikasan sintetički put za njihovo dobijanje, a sintetisana jedinjenja mogu se podeliti u dve serije. U okviru prve serije sintetisano je 13 novih analoga fentanila sa različitim azotnim grupama u položaju C₃ piperidinskog prstena. Takođe je optimizovana sinteza dva prethodno sintetisana biciklična analoga fentanila. Jedinjenja prve serije predstavljaju prve poznate analoge fentanila sa azotnim grupama u položaju C₃. U okviru druge serije sintetisano je 15 novih analoga fentanila, koji su u položaju N₁ povezani sa pojedinim *N*-arilpiperazinima preko linearnih alkil mostova različitih dužina. Jedinjenja druge serije dizajnirana su da budu potencijalni heterobivalentni ligandi, jer sadrže anilidopiperidinsko jezgro fentanila kao μ -opioidnu agonističku farmakoforu, a *N*-arilpiperazin kao D₂-dopaminergičku, agonističku farmakoforu.

Analgetička aktivnost svih 30 jedinjenja ispitana je *in vivo*. Samo četiri jedinjenja, sva iz prve serije, pokazala su analgetičku aktivnost. Najaktivnije jedinjenje, oko 1,8 puta manje aktivno od fentanila, karakterišu brzo i kratko dejstvo analgetičkog efekta, pa se stoga može potencijalno iskoristiti u različitim farmaceutskim formulacijama za tretman bola. Afinitet vezivanja jedinjenja druge serije za dopaminergičke D₂ receptore ispitan je *in vitro* testovima kompeticije koristeći ³H spiperon kao radioaktivni ligand. Odsustvo analgetičke aktivnosti i slab afinitet vezivanja za dopaminergičke D₂ receptore, ukazuje da jedinjenja druge serije ne mogu poslužiti kao heterobivalentni ligandi.

Preliminarna doking analiza urađena je za jedinjenja koja su pokazala farmakološku aktivnost.

Ključne reči: sinteza, heterociklična hemija, Hofmann-ovo premeštanje, aminoliza, relativna konfiguracija, opioidi, dopaminergički D₂ receptor, doking analiza

Naučna oblast: Hemija

Uža naučna oblast: Organska hemija

UDK broj: 547

ABSTRACT

Synthesis, pharmacological evaluation and docking analysis of novel anilidopiperidines

This PhD thesis encompasses the design of 30 anilidopiperidines, as analogues of potent μ -opioid agonist and clinical analgesic, fentanyl. All compounds were prepared by the novel and efficient synthetic routes, and can be divided in two series. In the first series, 13 new analogues of fentanyl with various nitrogen groups in the C₃ position of the piperidine ring were synthesized. In addition, the synthesis of two bicyclic analogues of fentanyl, previously synthesized by our group, was optimized. The compounds of the first series represent the first known fentanyl analogues possessing any nitrogen substituent at C₃ position of the piperidine ring. The second series involved preparation of 15 new compounds consisting of fentanyl moiety and several arylpiperazine groups joined by the respective secondary nitrogens, via the variable-length alkyl linkers. The compounds were designed to be potential heterobivalent ligands, since they include both the fentanyl core, as the μ -opioid agonist pharmacophore, and *N*-aryl piperazine moiety as the D₂-dopaminergic agonist pharmacophore.

The analgesic activity of 30 compounds was tested *in vivo*. Only four compounds, all from the first series, showed analgesic activity. The most potent of them was 1.8 times less potent analgesic than fentanyl, with fast onset and short duration of analgesic effect, which makes this compound potentially suitable for different pharmacological formulation in the pain treatment. Binding affinity of the compounds of the second series towards dopaminergic D₂ receptors was determined by *in vitro* competitive assay, using ³H spiperon as radioactive ligand. Compounds of the second series were found to be inactive as analgesics and with low affinity towards dopaminergic D₂ receptors. Therefore, the compounds do not represent heterobivalent ligands.

Preliminary docking analysis was performed for the pharmacologically active compounds.

Keywords: synthesis, heterocyclic chemistry, Hofmann rearrangement, aminolysis, relative configuration, opioids, dopaminergic D₂ receptor, docking analysis

Scientific field: Chemistry

Scientific discipline: Organic chemistry

UDK number: 547

Lista skraćenica

Ar	aril
Bn	benzil
Boc	<i>tert</i> -butoksikarbonil
Bu	butil
BU72	kristalna struktura μ OR sa morfinanskim antagonistom
CAN	cerijum amonijum nitrat
CBR₁	kanabinoidni receptor 1
CCR₅	hemokinski receptor 5
CNS	centralni nervni system
Cryo-EM	krioelektronska mikroskopija
5C1M	kristalna struktura μ OR sa morfinanskim agonistom
6CM4	kristalna struktura D ₂ DR sa antagonistom, risperidononom
DAMGO	peptidni μ OR agonist
DAP	antagonist D ₂ grupe dopaminskih receptora
DBU	1,8-diazabiciklo[5.4.0]undec-7-en
DCC	<i>N,N'</i> -dicikloheksilkarbodiimid
6DDE	kristalna struktura μ OR sa peptidinim agonistom
DIC	<i>N,N'</i> -diizopropilkarbodiimid
DIPEA	diizopropiletilamin
DMAP	<i>N,N</i> -dimetilaminopiridin
DMF	dimetilformamid
Dmt-Tic	2,6-dimetil-L-tirozil-1,2,3,4-tetrahidroizohinolin-3-karboksilanska kiselina
DR	dopaminergički receptor
EBP	produženo vezivno mesto (extended binding pocket)
EDC	<i>N</i> -etil- <i>N'</i> -(3-dimetilaminopropil)karbodiimid
ENTI	δ OR antagonist
Et	etil
GPCR	G protein spregnuti receptor (G protein coupled receptors)
HMPA	<i>N,N,N',N'',N'''</i> - heksametil-fosfortriamid
HRMS	masena spektrometrija visoke rezolucije (High Resolution Mass Spectrometry)
<i>i</i>-Bu	<i>izo</i> -butil
i.c.v	intracerebroventrikularno (injekcija leka direktno u mozak)
i.p.	intaperitonealno (injekcija leka direktno u trbušnu duplju)

<i>i</i>-Pr	<i>izo</i> -propil
i.t.	intratekalno (injekcija leka direktno u kičmenu moždinu)
LAH	litijum aluminijum hidrid
Me	metil
MCC22	μOR agonist - CCR5 antagonist, heterodimer
MDAN-21	μOR agonist - δOR antagonist, heterodimer
mGluR₅	metabotropni glutamatni receptor 5
MMG22	μOR agonist - mGluR ₅ antagonist, heterodimer
M-MPEP	m-metoksi-2-metil-6-(feniletinil)piridin
NBA	<i>N</i> -bromacetamid
NBS	<i>N</i> -bromsukcinimid
OR	opioidni receptori (uključuje μOR, κOR i δOR)
OBP	ortosterno vezivno mesto (orthosteric binding pocket)
PEG	polietilenglikol
PDB	protein data-banka (Protein Data Bank)
Ph	fenil
PIDA	(diacetoksijod)benzen
PIFA	[bis(trifluoroacetoksi)jod]benzen
s.c.	subkutano
SNC80	δOR agonist
TAK-220	CCR ₅ antagonist
TBAB	tetrabutilamonijumbromid
TFA	trifluorsirćetna kiselina
THC	tetrahidrokanabinol
THF	tetrahidrofuran
TM	transmembranski
TMSI	jodtrimetilsilan
<i>t</i>-Bu	<i>terc</i> -butil

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPŠTI DEO	2
2.1. Transformacije morfina: Nove generacije opioidnih analgetika	3
2.2. SAR 4-anilidopiperidina	5
2.3. Sinteze fentanila i njegovih značajnijih analoga.....	6
2.4. Heterobivalentni ligandi	17
2.4.1. μ OR/ κ OR heterobivalentni ligandi.....	18
2.4.2. μ OR/ δ OR heterobivalentni ligandi	19
2.4.3. μ OR-CBR1 heterobivalentni ligandi	23
2.4.4. μ OR-mGluR5 heterobivalentni ligandi	24
2.4.5. μ OR-CCR ₅ heterobivalentni ligandi	25
2.4.6. μ OR-DR heterobivalentni ligandi	26
3. NAŠI RADOVI	27
3.1. Sinteze derivata 4-anilidopiperidina	27
3.1.1. Sinteza 4-anilidopiperidina sa različitim azotnim grupama u položaju C ₃ piperidinskog prstena.....	27
3.1.2. Određivanje relativne konfiguracije distaereomernih 3-supstituisanih anilidopiperidina.....	43
3.1.3. Sinteza derivata 4-anilidopiperidina povezanih alkil mostom sa različitim arilpiperazinima.....	53
3.2. Farmakološka ispitivanja	58
3.2.1. <i>In vitro</i> ispitivanje afiniteta vezivanja D ₂ DR	58
3.2.2. <i>In vivo</i> ispitivanje antinociceptivne aktivnosti	59
3.3. Doking analiza	63
3.3.1. Doking analiza sintetisanih jedinjenja na μ OR	63
3.3.2. Doking analiza sintetisanih jedinjenja na D ₂ DR	68
4. EKSPERIMENTALNI DEO	70
4.1. Sinteza i spektroskopski podaci	70
4.1.1. Opšta procedura za dobijanje enamina 55, 122, i 134	70
4.1.2. Opšta procedura za dobijanje estara 56, 123, 124, 135 i 136	71
4.1.3. Procedura za dobijanje estara <i>cis</i> - 125 i <i>trans</i> - 126	73
4.1.4. Opšta procedura za dobijanje karboksamida 137-140	73
4.1.5. Opšta procedura za dobijanje karboksamida 129 i 130 iz estara 125 i 126	75

4.1.6. Opšta procedura za dobijanje karboksamida 129, 130, 141 i 142 iz karboksamida 137-140	75
4.1.8. Opšta procedura za dobijanje nitrila 149 i 150	76
4.1.7. Opšta procedura za dobijanje cikličih urea 151, 152 i karbamata 153-156	77
4.1.9. Opšta procedura za dobijanje jedinjenja 159-161	79
4.1.10. Dobijanje (\pm) <i>trans</i> -metil-1-fenetil-4-(<i>N</i> -fenilpropionamido)piperidin-3-il)amino)propanoata, ((\pm) <i>trans</i> - 165)	80
4.1.11. Dobijanje (\pm) <i>trans</i> - <i>N</i> -(3-formamido-1-fenetilpiperidin-4-il)- <i>N</i> -fenilpropionamida ((\pm) <i>trans</i> - 167)	81
4.1.12. Dobijanje (\pm) <i>trans</i> - <i>N</i> -3-acetamido-1-fenetilpiperidin-4-il)- <i>N</i> -fenilpropionamida, ((\pm) <i>trans</i> - 169)	81
4.1.12. Dobijanje (\pm) <i>trans</i> - <i>N</i> -1-fenetil-4-(<i>N</i> -fenilpropionamido)piperidin-3-il)akrilamida, ((\pm) <i>trans</i> - 171)	82
4.1.13. Dobijanje (\pm) <i>trans</i> - <i>N</i> -(1-fenetil-3-(2,2,2-trifluoroacetamido)piperidin-4-il)- <i>N</i> -fenilpropionamida, ((\pm) <i>trans</i> - 173)	82
4.1.14. Opšta procedura za dobijanje karboksamida 183-197	82
4.1.15. Opšta procedura za dobijanje jedinjenja 202-216	86
4.1.16. Opšta procedura za dobijanje <i>N</i> -arilpiperazino/4-anilinopiperidinskih adukata 218-232	90
4.1.17. Opšta procedura za dobijanje jedinjenja 233-247	94
4.2. Farmakološko ispitivanje	100
4.2.1. <i>In vitro</i> ispitivanje vezivanja za D ₂ DR.....	100
4.2.2. <i>In vivo</i> ispitivanje antinociceptivne aktivnosti	100
4.3. Doking analiza	102
4.3.1. Priprema receptora.....	102
4.3.2. Priprema liganada.....	102
4.3.3. Doking simulacija	102
4.3.4. Prikaz rezultata	102
5. ZAKLJUČAK	103
6. CONCLUSION	105
7. LITERATURA	107

1. UVOD

Opioidni analgetici predstavljaju lekove koji se u kliničkoj praksi koriste za lečenje jakih, akutnih i hroničnih bolova, kao i za sedaciju u toku opšte anestezije kod hirurških zahvata. Nažalost, osim jake antinocipecije, akutna ili hronična upotreba opioidnih analgetika može dovesti do niza neželjenih efekata, od kojih su najopasniji akutna depresija centra za disanje i zavisnost.

U okviru ove disertacije sintetisano je i farmakološki testirano 30 novih anilidopiperidina, analoga jakog opioidnog analgetika fentanila. Takođe je urađena preliminarna doking analiza za jedinjenja koja su pokazala farmakološku aktivnost.

Doktorska disertacija sastoji se iz tri dela:

U *Opštem delu* dat je pregled literature koji se odnosi na sintezu fentanila i njegovih značajnih analoga. U ovom delu se takođe navode primeri poznatih heterobivalentnih liganada koji mogu interagovati sa heterodimerima μ -opioidnog receptora i drugih G-protein spregnutih receptora.

U *Našim radovima* prikazan je razvoj i optimizacija sintetskog puta za dobijanje novih anilidopiperidina kao i određivanje strukture dobijenih jedinjenja pomoću spektroskopske analize. Predstavljani su rezultati farmakoloških ispitivanja i doking analize.

U *Eksperimentalnom delu* dat je detaljan opis procedura za sintezu naših jedinjenja kao i podaci dobijeni spektroskopskom karakterizacijom. Takođe su prikazane i metode primenjene prilikom farmakoloških ispitivanja i doking analize.

Sledi zaključak na srpskom i engleskom jeziku i spisak korišćene literature. Kao prilog dat je CD sa spektrima jedinjenja sintetisanih u toku izrade doktorske disertacije.

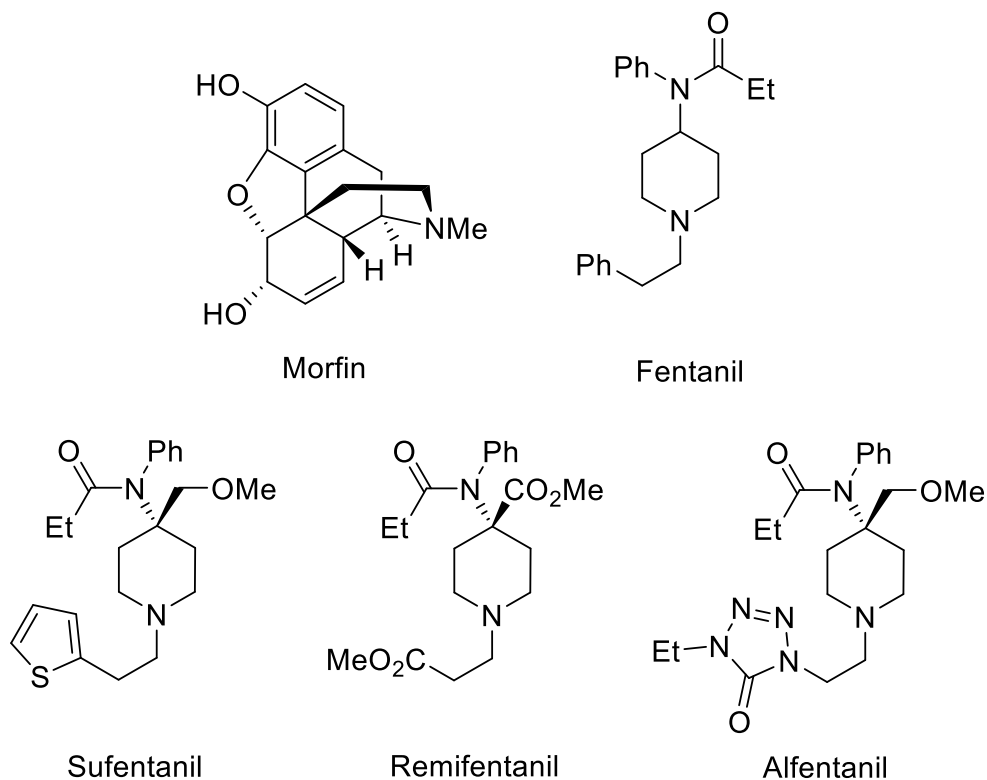
2. OPŠTI DEO

Razvoj novih lekova za uklanjanje bola tj. analgetika, oduvek je bio jedan od glavnih ciljeva u medicini. Trenutno se koristi nekoliko vrsta analgetika, od kojih svaki deluje na određeni tip bola. Neki od najčešće korišćenih analgetika za tretman slabog do umerenog bola, koji može ali ne mora biti povezan sa povišenom temperaturom i upalnim procesima, su nesteroidni anti-inflamatorni lekovi, NSAIDs (ibuprofen, aspirin, metamizol i paracetamol). Opšti princip delovanja ovih lekova se odnosi na inhibiciju biosinteze prostaglandina, za koje je nađeno da učestvuju u stanju bola, povišene temperature i upalnih procesa. Međutim, za uklanjanje jakih akutnih i hroničnih bolova, pogotovo u kliničkim uslovima, opioidni analgetici su lekovi izbora. Opioidni analgetici deluju na opioidne receptore (OR) u centralnom nervnom sistemu (CNS), a vrsta analgezije koja nastaje aktivacijom OR zove se antinocicepcija.

Do sada je identifikovano četiri tipa OR i to: μ , κ , δ i ORL1, a pretpostavlja se da za neke od njih postoji više podtipova. Svi OR pripadaju grupi G protein spregnutih receptora (GPCR).

Većina opioidnih analgetika koji se koriste u kliničkim uslovima predstavlja agoniste μ OR jer se aktivacijom μ OR postiže najjača analgezija. Ostali OR se ređe koriste kao mete za tretman bola, zbog drugačijeg farmakološkog profila.

Pored morfina, koji je najstariji poznati opioidni analgetik, i prvi koji je korišćen u kliničkim uslovima, postoje nekoliko strukturno manje složenih jedinjenja koja se koriste poslednjih decenija. To su naime derivati 4-anilidopiperidina: fentanil (Actiq[®], Abstral[®]), sufentanil (Sufenta[®]), alfentanil (Alfenta[®]) i remifentanil (Ultiva[®]) (Slika 1). Nažalost, osim jake analgezije, akutna ili hronična upotreba μ OR agonista može dovesti do niza neželjenih efekata, od kojih su najopasniji akutna depresija centra za disanje i zavisnost.¹



Slika 1. Morfin i 4-anilidopiperidinski analgetici

U poslednjih deset godina veliki broj istraživanja dokazao je pojavu dimerizacije i heterodimerizacije receptora u CNS. Između ostalog, postoji mnogo dokaza o homo i heterodimerizaciji OR, kao i heterodimerizaciji OR sa drugim receptorima. Najveća pažnja posvećena

je heterodimerizaciji μ OR sa drugim OR, pa je veliki broj heteobivalentnih liganada sintetisan i farmakološki testiran. Svaki od ovih rezultata pokazao je povoljan uticaj dimerizacije na farmakološki profil μ OR, preko alosterne ili drugih tipova regulacije koja se postiže nakon vezivanja bivalentnog liganda za dva receptora u dimeru.

Neki od primera heterobivalentnih liganada koji su sintetisani poslednjih godina dizajnirani su da interaguju sa sledećim tipovima heterodimera: μ OR- κ OR,² μ OR- δ OR,³⁻⁸ μ OR-kanabinoidni receptor 1 (CBR₁),^{9,10} μ OR-metabotropni glutamatni receptor 5 (mGluR₅),^{11,12} μ OR-hemokinski receptor 5 (CCR₅),^{13,14} μ OR –NSAIDs,¹⁵ μ OR-Ca²⁺ kanal N-tipa.¹⁶

U poslednje vreme mnogo se govori o ukrštenoj regulaciji opioidnih i dopaminergičkih signalnih puteva pogotovo u pogledu procesa nagrađivanja koji je važan za razvoj opioidne zavisnosti.¹⁷⁻²⁶ Dokazano je da su u pojedinim delovima CNS, OR i dopaminergički receptori (DR) vrlo blisko raspoređeni, čime se ostvaruje mogućnost za formiranje dimera ovih receptora. U CNS postoji pet podtipova DR koji su podeljeni u dve grupe na osnovu sličnosti. U D₁ grupi se nalaze D₁DR i D₅DR dok D₂ grupu čine D₂DR, D₃DR i D₄DR. *In vivo* i *in vitro* testovi pokazali su da postoje direktne interakcije između druge grupe DR i μ OR čime se indicira postojanje heterodimera ovih receptora.²⁷⁻³¹

Zbog čestih, ozbiljnih neželjenih dejstava, pronalaženje novih opioidnih analgetika sa boljim farmakološkim profilom je jedan od ciljeva medicinske hemije na kom se ekstenzivno radi već dugi niz godina.

2.1. Transformacije morfina: Nove generacije opioidnih analgetika

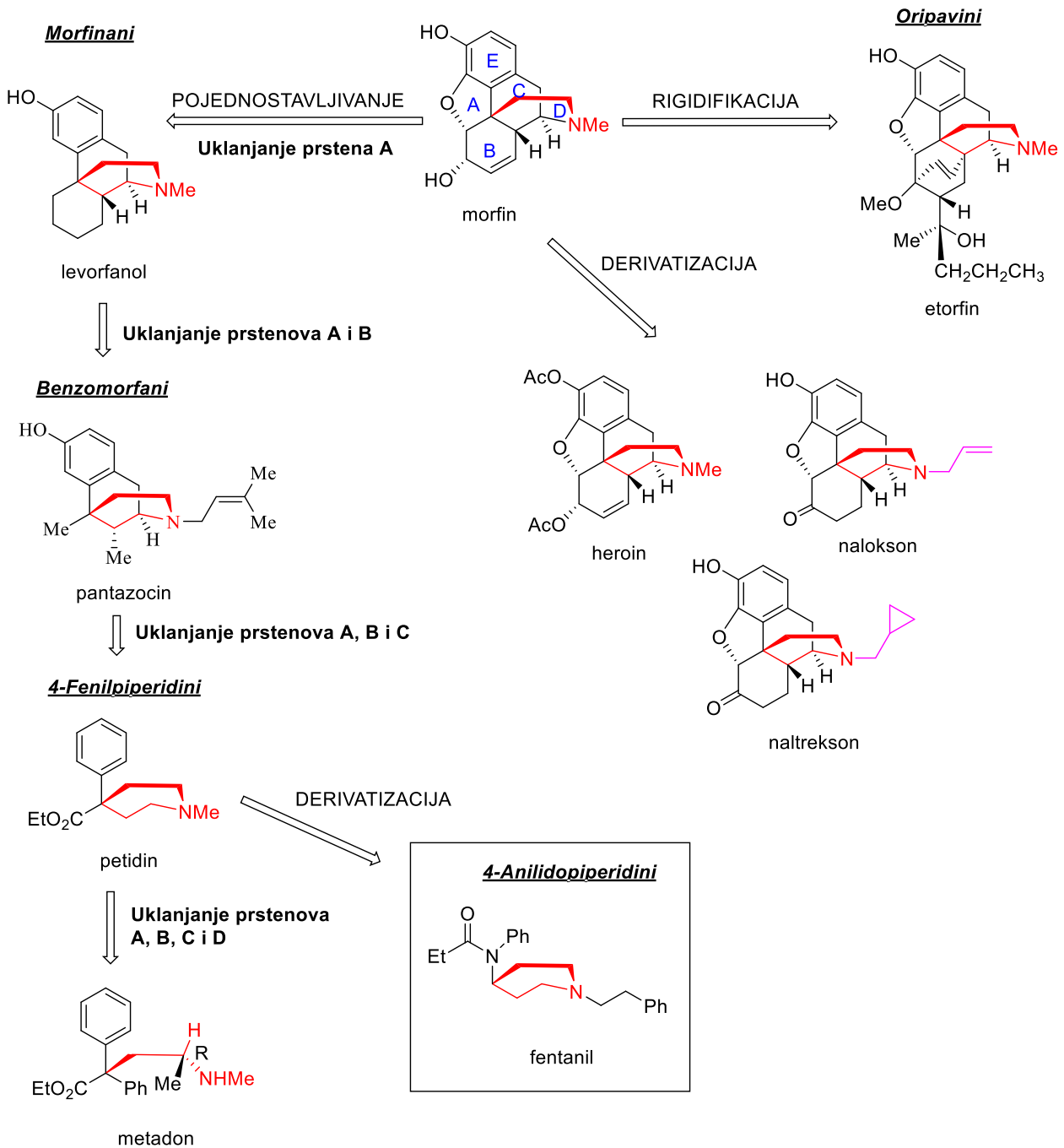
Morfin je glavni alkaloid opijuma i predstavlja jedan od najstarijih i najefikasnijih analgetika u medicini. Morfin je molekul veoma složene strukture sa čak pet stereocentara. Iako postoji nekoliko različitih metoda za totalnu sintezu morfina,³²⁻³⁴ do sad nije razvijena industrijska metoda, pa se morfin u komercijalne svrhe dobija isključivo ekstrakcijom iz prirodnog proizvoda, opijuma.

Na osnovu ispitivanja odnosa strukture i aktivnosti (SAR) kod morfina, u poslednjih sto godina dizajnirano je nekoliko klasa derivata morfina koji se ponašaju kao agonisti ili antagonisti μ OR (Shema 1) i razvijene su metode za njihovu sintezu. Strategija za modifikaciju morfinskog skeleta podrazumevala je usložnjavanje strukture molekula uvođenjem novih grupa ili rigidifikacijom molekula, kao i uprošćavanje strukture sukcesivnim uklanjanjem prstenova.

Heroin je prvi sintetisani derivat morfina, nastao usložnjavanjem strukture morfina, pri čemu poseduje jače analgetičko dejstvo u odnosu na prekursor, ali i izraženije neželjene efekte.³⁵ Nažalost, iako nije pogodan za kliničku primenu, heroin je postao predmet zloupotrebe. Nalokson i nalterkson s druge strane predstavljaju μ OR antagoniste, koji se često koriste kao terapija kod predoziranja opijatima i kao dodatak terapiji tokom odvikavanja.^{36,37} Rigidifikacijom strukture morfina dobijeni su oripavini, čiji predstavnik etorfin predstavlja najjači μ OR agonist. Etorfin se koristi u veterini za sedaciju krupne divljači.

Sukcesivnim uklanjanjem prstenova A-D dobijene su kategorije derivata od kojih su neki pokazali značajno bolji farmakološki profil u odnosu na morfin. Glavni predstavnik morfinana, levorfanol, jači je μ OR agonist nego morfin, pogodan je za oralnu primenu i sporije se metabolize u organizmu pa su dovoljne manje doze leka.³⁸

Većina benzomorfanskih derivata ne dovodi do stvaranja zavisnosti, jer pretežno deluju kao μ OR antagonisti / κ OR agonisti, poput pentazocina³⁹ koji se pokazao koristan za dužu primenu. Međutim česte pojave halucinacija kao sporednih efekata ograničile su upotrebu ove kategorije opijata u kliničkoj praksi.



Shema 1. Transformacije morfina

Daljim uprošćavanjem skeleta morfina dobijeni su 4-fenilpiperidini i aciklični derivat metadon. Petidin (meperidin, demerol®), najvažniji predstavnik 4-fenilpiperidina, iako slabiji analgetik od morfina, zbog brzog i kratkog dejstva koristi se za ublažavanje porođajnih bolova.⁴⁰ Kao analgetik, metadon je efikasan slično morfinu, ali pošto se zavisnost od metadona javlja sporije i apstinencijalni sindrom je blaži, koristi se u lečenju heroinskih zavisnika, kao zamena za heroin.⁴¹

Najznačajnije derivate morfina predstavljaju 4-anilidopiperidini. S obzirom na malu složenost molekula, sinteza ovih jedinjenja je daleko jednostavnija od ostalih derivata morfina. Fentanil kao prototip ove klase sintetičkih opijata, iako strukturno malo sličan morfinu, veoma je lipofilan pa lako prolazi krvno-moždanu barijeru. To ga čini 50-100 puta potentnijim μ OR agonistom od morfina.⁴²

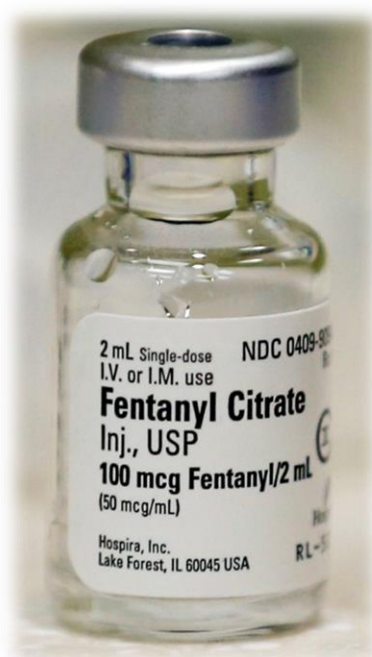
Kao što je spomenuto u Uvodu, osim terapijski poželjne analgezije i sedacije, fentanil izaziva neželjene efekte karakteristične za sve μ OR agoniste.¹ Fentanil se kod ljudi u najvećoj meri

metaboliše pomoću citohroma P450 3A4 u jetri i eliminiše se putem urina,⁴³ a mali deo se nepromenjen eliminiše putem pluća, respiracijom.⁴⁴ Primenjuje se kao fentanil citrat u terapiji pacijenata obolelih od kancera, u završnim stadijumima bolesti i u opštoj anesteziji, za sedaciju pacijenata (Slika 2).

U cilju dobijanja analgetika sa poboljšanim farmakološkim profilom, u proteklih šest decenija se dosta radilo na sintezi analoga fentanila i SAR ispitivanju 4-anilidopiperidinske klase analgetika. Kao rezultat ovih istraživanja, već spomenuti analozi fentanila, alfentanil, sufentanil i remifentanil, našli su primenu u medicini za postizanje opšte anestezije u kombinaciji sa hipnoticima. Neki od sintetisanih analoga su još uvek u fazi ispitivanja na životinjama, dok su se drugi pokazali kao korisni afinitetni obeleživači za proučavanje strukture opioidnih receptora.⁴⁵

2.1.1. SAR 4-anilidopiperidina

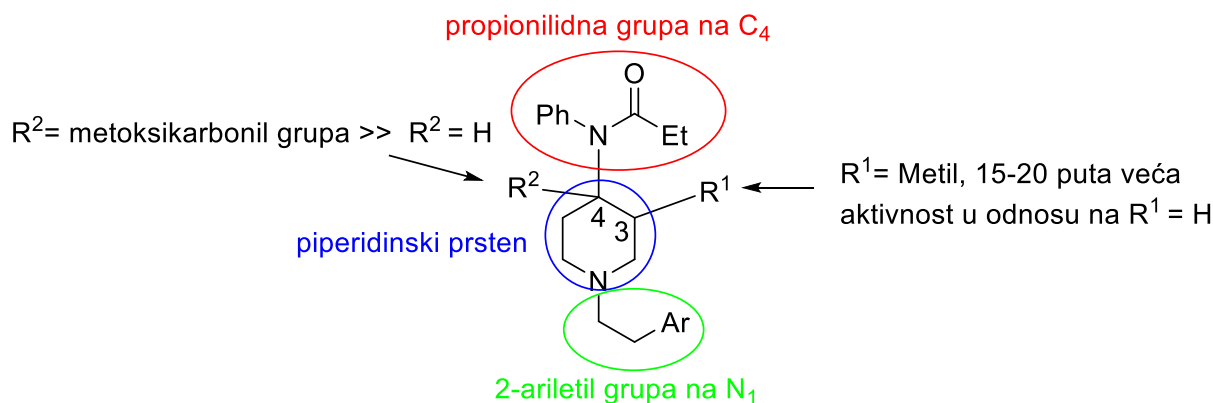
Od pronalaska fentanila, sintetisano je na stotine 4-anilidopiperidina kao potencijalnih opioidnih analgetika. Ispitivanjem farmakološke aktivnosti ovih jedinjenja, kao i molekulskim modelovanjem, došlo se do saznanja koji su delovi strukture 4-anilidopiperidina važni za opioidnu aktivnost. Kod nesupstituisanih 4-anilidopiperidina, najveću opioidnu aktivnost pokazala su jedinjenja sa sledećim strukturnim karakteristikama (Slika 3):



Slika 2. Fenantil citrat, injekcioni rastvor

1. Postojanje piperidinskog prstena;
2. Prisustvo 2-ariletil grupa u položaju N₁ piperidinskog prstena;
3. Prisustvo propionilidne grupe u položaju C₄ piperidinskog prstena.

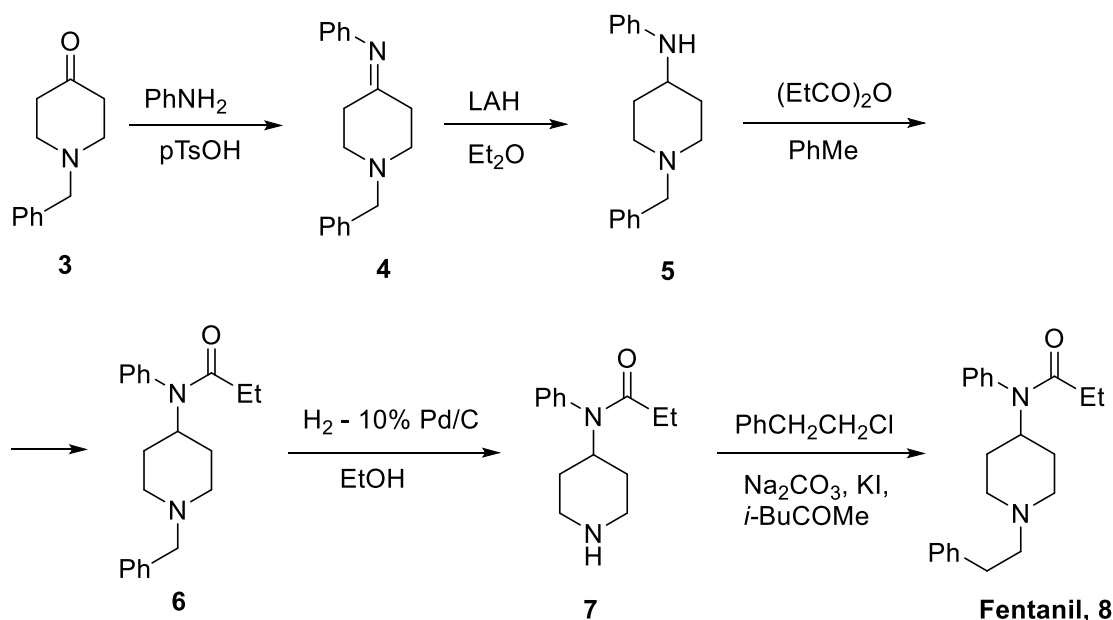
Uvođenjem određenih supstituenata u položaj C₃ i C₄ piperidinskog prstena, drastično je povećana aktivnost u odnosu na fentanil i druge nesupstituisane 4-anilidopiperidine. Od grupa na C₃, nađeno je da metil grupa najviše utiče na povećanje aktivnosti. S tim u vezi nađeno je da su *cis*-3-supstituisani 4-anilidopiperidini aktivniji od *trans*- diastereomera. Ipak, najveća opioidna aktivnost kod 4-anilidopiperidina uopšte, ostvarena je uvođenjem metoksikarbonil-grupe u položaj C₄ piperidinskog prstena, dok su drugi supstituenti u položaju C₄ doprineli manjem povećanju aktivnosti u odnosu na nesupstituisane 4-anilidopiperidine.



Slika 3. Strukturne karakteristike 4-anilidopiperidina koje su važne za opioidnu aktivnost

2.2. Sinteze fentanila i njegovih značajnijih analoga

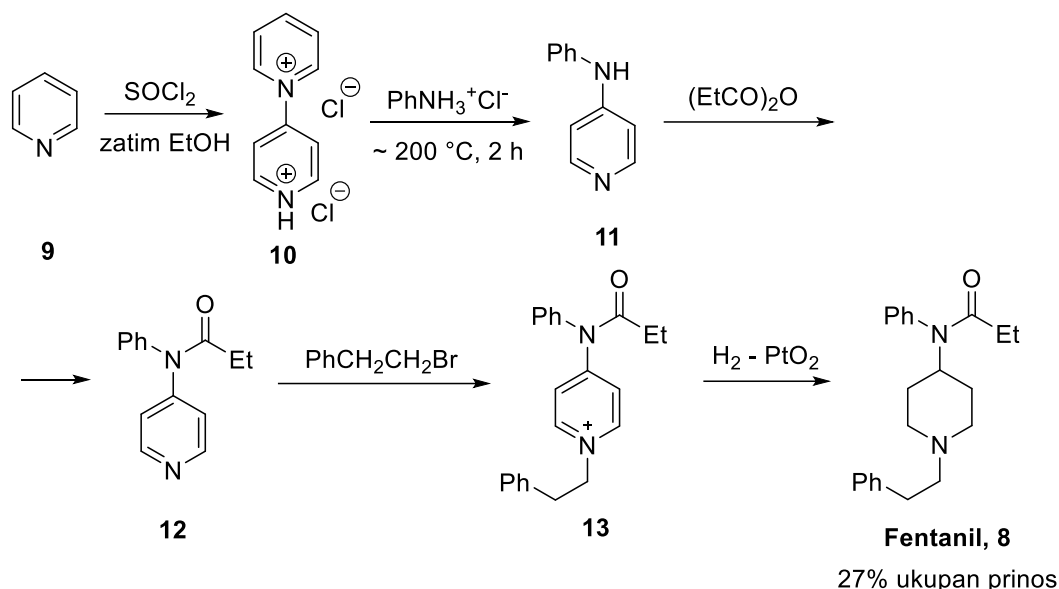
Zbog potrebe za dobijanjem opioidnih analgetika sa boljim farmakološkim profilom i smanjenim neželjenim efektima, u poslednjih 50 godina dizajnirano je i sintetisano mnogo novih jedinjenja. U ovom odeljku biće prikazane sinteze pojedinih derivata 4-anilidopiperidina značajnih sa stanovišta organske sinteze i medicinske hemije, s obzirom na to da je sinteza novih 4-anilidopiperidina jedan od predmeta ove doktorske disertacije. Prvi, farmakološki značajan 4-anilidopiperidin, fentanil **8** sintetisan je 60-tih godina prošlog veka od strane P. A. Janssen-a i njegovih saradnika iz farmaceutske kuće Janssen pharmaceuticals (Shema 2).⁴⁶ U originalnom patentu dat je opšti postupak za sintezu fentanila dok eksperimentalni uslovi i prinosi u pojedinim fazama nisu prikazani, što je bila uobičajena praksa u patentima tog doba. Prema patentnim navodima, fentanil je sintetisan u pet faza polazeći od lako dostupnog *N*-benzilpiperidona **3**. Kiselo katalizovanom kondenzacijom *N*-benzilpiperidona sa anilinom dobijen je imin **4**. Redukcijom imina **4** i daljim *N*-alkanoilovanjem dobijenog anilinpiperidina **5**, dobijen je *N*-benzilfentanil **6**. *N*-benzil-grupa je zatim uklonjena hidrogenolitički, a *N*-alkilovanjem nastalog norfentanila **7**, dobijen je fentanil **8**.



Shema 2. Janssen-ova sinteza fentanila

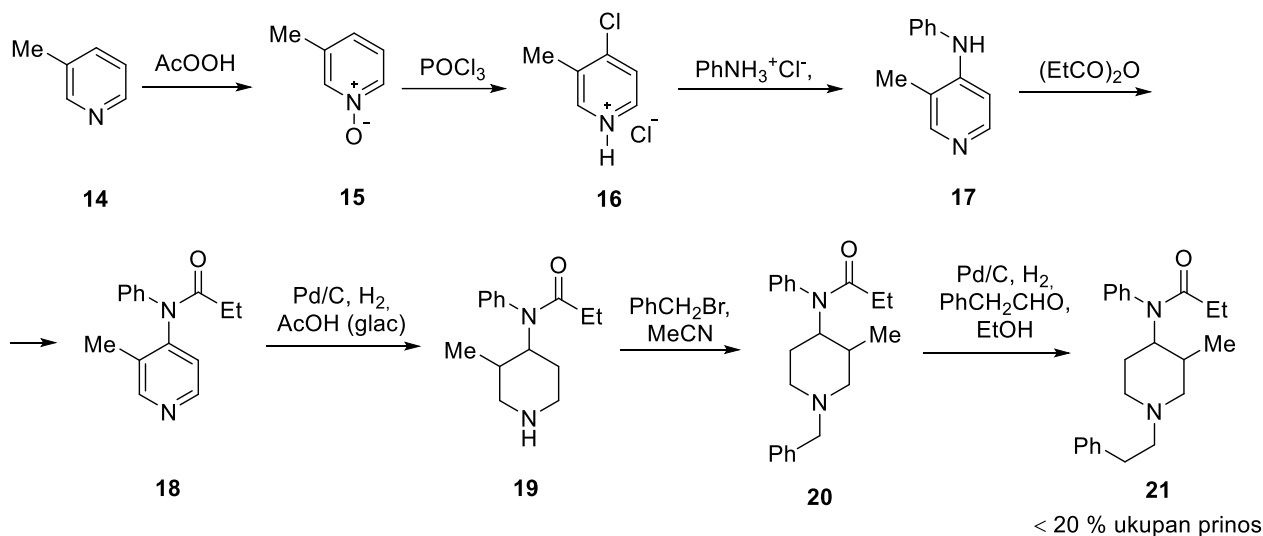
Kasnije je ova metoda malo modifikovana. Tako je dobijanje **5** postignuto u jednoj fazi, reduktivnim aminovanjem prisustvu Zn ili triacetoksiborohidrida kao reducenasa dok je za debenzilovanje **6**, upotrebljen amonijum-formijat u prisustvu katalizatora, 10 % Pd-C.^{47,48}

Drugačiji sintetički put za dobijanje fentanila **8** na velikoj skali, razvijen je 80-tih godina (Shema 3).⁴⁹ Ovde je kao prekursor upotrebljen *N*-(4-piridil)piridinium hlorid hlorhidrat **10**, koji se može lako dobiti iz piridina **9**. Zagrevanjem **10** sa anilin hlorhidratom dobijen je 4-(*N*-fenilamino)piridin **11**. U sledeća dva koraka alkanoilovanjem i alkilovanjem, dobijena je kvaternerna so **13**, koja je zatim hidrogenizovana do fentanila **8**.



Shema 3. Modifikovana sinteza fentanila

Sintezom iz piridinskih prekursora, dobijeni su supstituisani analozi fentanila još početkom 70-tih godina. Na ovaj način prvi put je sintetisan 3-metilfentanil **21** (Shema 4).⁵⁰

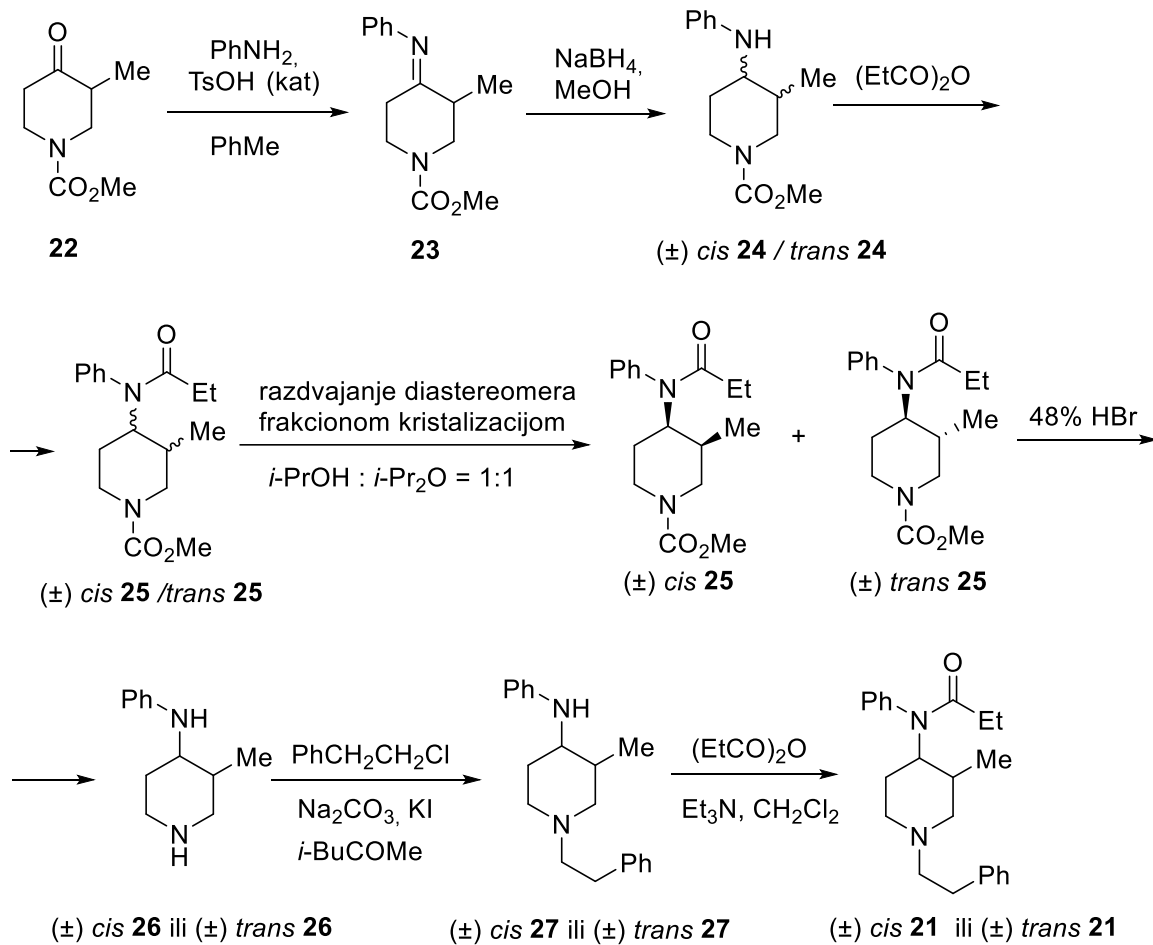


Shema 4. Sinteza 3-metilfentanila **21** iz supstituisanog piridina kao prekursora

Tako je 3-metilpiridin **14** oksidovan perkiselinom do *N*-oksida **15**, koji je zatim regioselektivno hlorovan pomoću POCl_3 . Nastali 3-metil-4-hlorpiridinijum-hlorhidrat **16** je nukleofilnom aromatičnom supstitucijom preveden u 4-anilino-3-metilpiridin **17**. Alkanoilovanjem ovog adukta, a zatim katalitičkom hidrogenizacijom dobijen je anilidopiperidin **19**. U sledećoj fazi **19** je *N*-benzilovan, da bi se olakšalo prečišćavanje. Simultanom katalitičkom hidrogenolizom i reduktivnim aminovanjem 2-fenilacetaldehida, u poslednjom fazi je dobijen 3-metilfentanil **21**. Osim 3-metilfentanila, na ovaj način su sintetisani još 2-metil i 2,5-dimetil analozi fentanila.

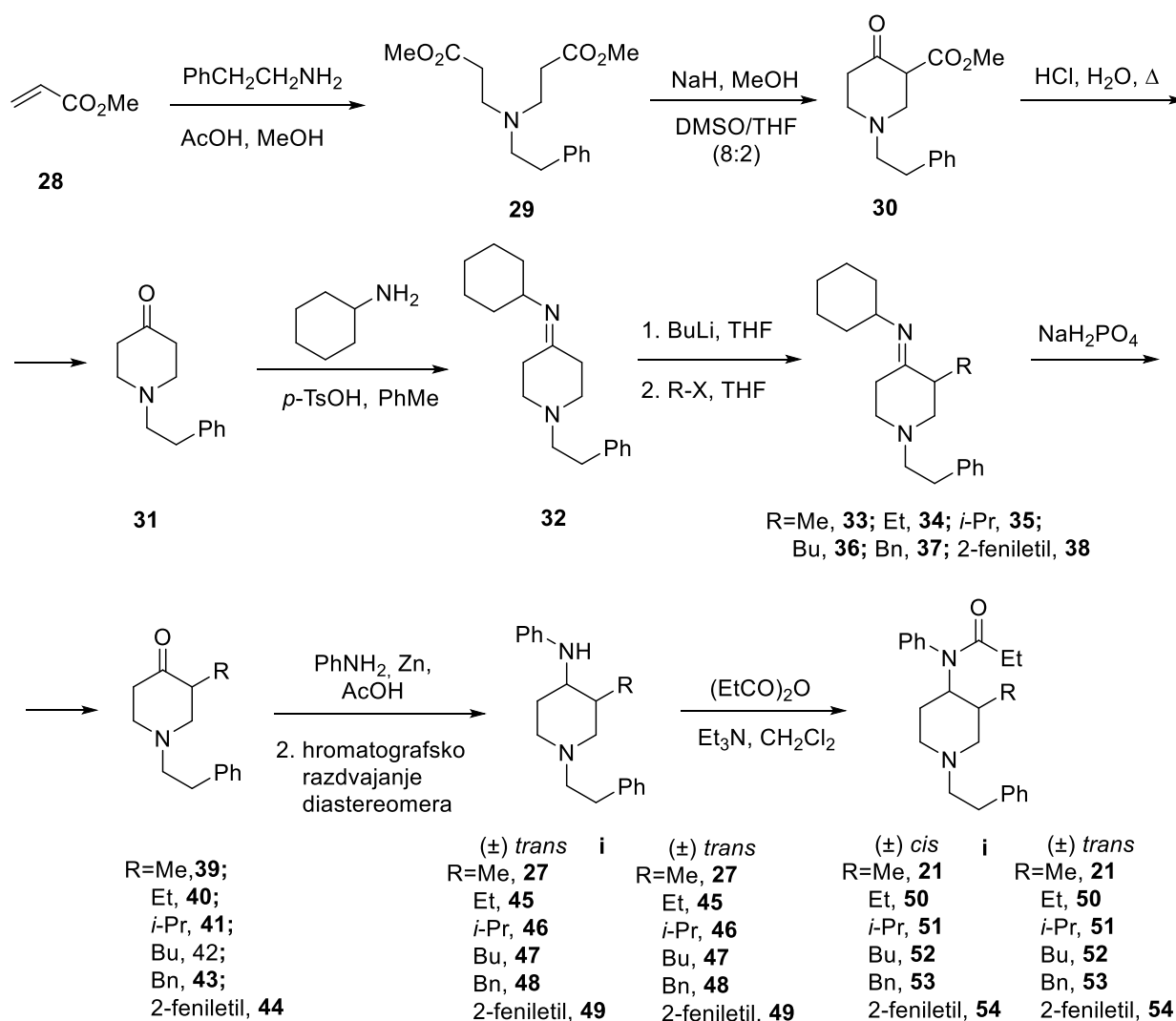
Farmakološkim ispitivanjem nađeno je da jedinjenje **21** ima deset puta jače analgetičko dejstvo od fentanila.⁵⁰ Iako stereochemija **21** tada nije određena, kasnije je utvrđeno da samo *cis* diastereomer **21** pokazuje visoku μOR aktivnost, što sugeriše da je na ovaj način zapravo dobijen *cis* diastereomer **21**.

Efikasniji sintetički put za dobijanje oba diastereomera 3-metilfentanila **21**, razvijen je nešto kasnije (Shema 5).⁵¹ Slično kao kod sinteze fentanila **8**, supstituisani piperidon **22** je preveden u imin **23**, a zatim redukovano, čime je dobijena smesa *cis/trans* diastereomera **24**. Pošto je reakcija rađena na velikoj skali, da bi se olakšalo razdvajanje diastereomera, 4-anilinopiperidini *cis/trans* **24**, su alkanoilovani do *cis/trans*-**25**. Frakcionom kristalizacijom iz smese *i*-PrOH i *i*-Pr₂O, dobijeni su čisti *cis*-**25** i *trans*-**25**. Pokušaji da se selektivno ukloni samo karbamatna grupa iz **25** pod kiselim ili baznim uslovima, nisu bili uspešni. Zato su kiselim hidrolizom **25**, diastereoselektivno dobijeni diamini *cis*-**26** i *trans*-**26**. Selektivnim alkilovanjem piperidinskog amina pomoću 2-feniletil-hlorida do *cis*-**27** i *trans*-**27**, a zatim alkanoilovanjem, dobijeni su *cis*- i *trans*-3-metilfentanil **21**, uz retenciju konfiguracije.



Shema 5. Dobijanje *cis*- i *trans*-3-metilfentanila **21**

Sa stanovišta SAR ispitivanja uticaja različitih supstituenata u položaju C₃ fentanila kao i uticaja stereochemije disupstituisanih anilidopiperidina na opioidnu aktivnost, od značaja je bilo i uvođenje drugih alkil-grupa u položaj C₃ fentanila. Ipak, dok je dobijanje 3-metilfentanila **21** bilo relativno jednostavno, uvođenje drugih alkil-grupa u položaj C₃ piperidinskog prstena se pokazalo znatno složenijim. Zato je tek početkom 21. veka dizajniran efikasan sintetički put za dobijanje drugih 3-alkil analoga fentanila (Shema 6).⁵²

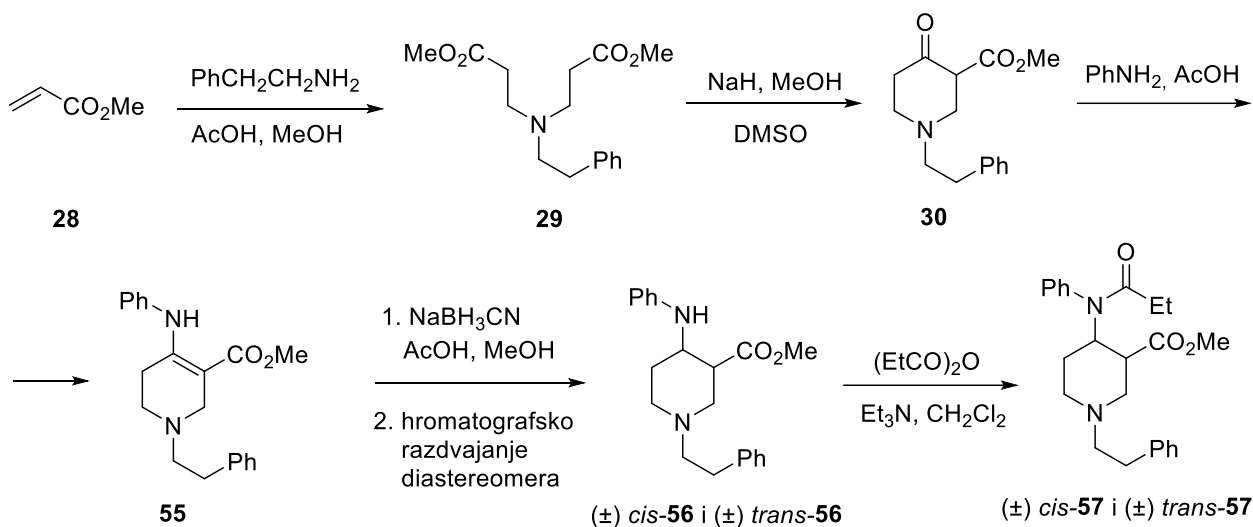


Shema 6. Sintaza 3-alkil analoga fentanila **21**, **50-54**

Aza-Michael-ovom adicijom 2-feniletilamina na metil-akrilat **28**, zatim Dieckmann-ovom kondenzacijom diestra **29**, dobijen je β -keto-estar **30** u visokom prinosu. Daljom dekarboksilacijom **30**, zatim kondenzacijom **31** sa cikloheksilaminom, dobijen je imin **32**, kao jedinstveni prekursor. Imin **32** je kvantitativno deprotonovan pomoću BuLi a zatim je alkilovan različitim primarnim i sekundarnim halogenalkanima, pri čemu su dobijeni isključivo proizvodi monoalkilovanja **33-38**. Blagom kiselom hidrolizom imino grupe, dobijeni su 3-alkilpiperidoni **39-44**. Reduktivnim aminovanjem u prisustvu Zn, dobijene su smese *cis/trans* diastereomera **27**, **45-49**.

Pod ovim uslovima, uvek je nastajalo 20-30% više *trans* izomera, što se objašnjava termodinamičkom kontrolom reakcije. Nakon hromatografskog razdvajanja diastereomera, alkanoilovanjem su dobijeni 3-alkil analozi fentanila, **21**, **50-54**, uz retenciju konfiguracije. Visoki prinosi u svim fazama, kao i mogućnost sinteze na velikoj skali, čine ovaj sintetički put veoma efikasnim za dobijanje 3-alkil-analoga fentanila. Farmakološkim ispitivanjem nađeno je da osim *cis*-3-metilfentanila **21**, još jedino *cis*-3-etil analog fentanila **50** pokazuje nešto veću aktivnost u odnosu na fentanil. Svi ostali 3-alkil analozi bili su manje aktivni ili neaktivni prema μOR , ali je nađeno da su *cis* diastereomeri bili aktivniji od *trans* diastereomera kod svih primera. Ovi rezultati ukazali su na to da osim relativne stereochemije, na analgetičku aktivnost ovih jedinjenja utiče i voluminoznost alkil-grupe u položaju C₃, odnosno da veće alkil-grupe dovode do smanjenja ili gubitka opioidne aktivnosti.

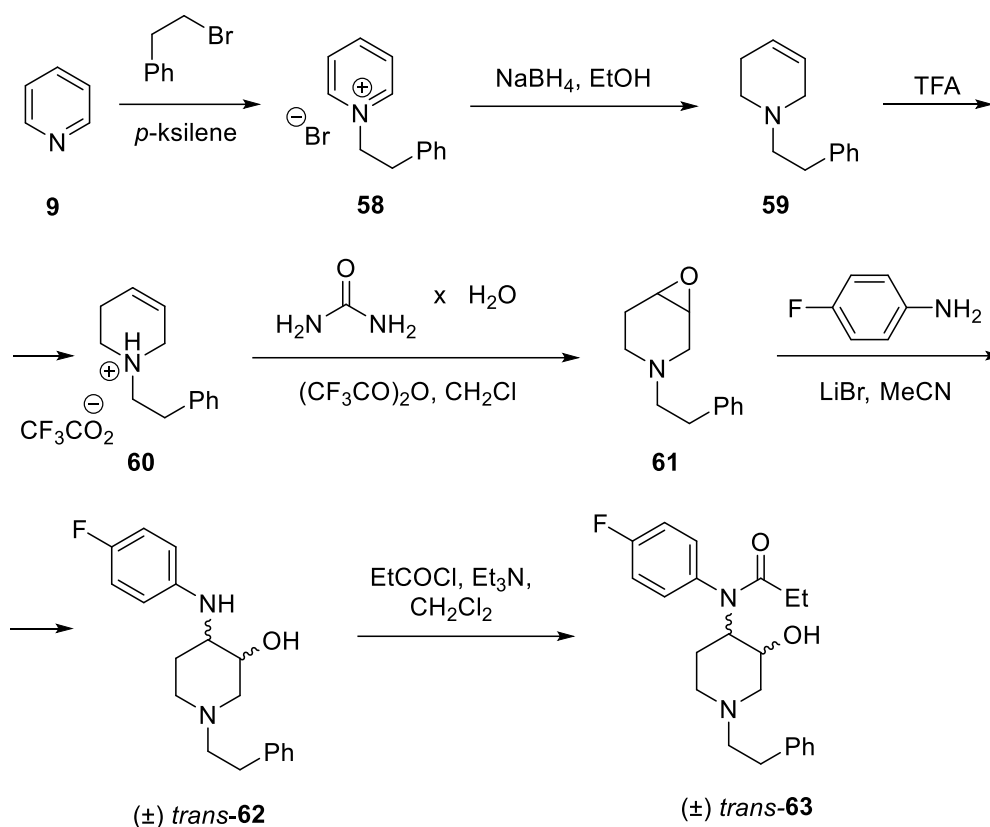
Osim alkil-grupa, u položaj C₃ fentanila su uvedene i druge funkcionalne grupe. Tako je sinteza *cis*- i *trans*-3-metoksikarbonilfentanila **57** efikasno izvedena prema sintetičkom putu prikazanom u Shemi 7.⁵³



β-Keto-estar **30** dobijen je kao je već pomenuto u sintezi 3-alkilfentanila. Kondenzacijom sa anilinom dobijen je stabilni enamin **55**. Kiselo katalizovanom redukcijom enamina **55** pomoću NaBH₃CN, pridobijeni su *cis*- i *trans*-anilinopiperidini **56**. Druge metode za redukciju kao što su katalitička hidrogenizacija u prisustvu Pd-C ili PtO₂, zatim redukcija pomoću NaBH₄/AcOH i rastvornih metala (Na/*i*-PrOH, Li/MeOH, Zn/AcOH ili Mg/MeOH/pufer) nisu bile uspešne za redukciju enamina **55** jer je dolazilo ili do raspada reaktanta ili nije bilo reakcije. Anilinopiperidini *cis*-/*trans*-**56** su hromatografski razdvojeni, a nakon alkanoilovanja dobijeni su 3-metoksikarbonilfentanil *cis*- i *trans*-**57** u visokom prinosu i uz retenciju konfiguracije. U farmakološkim ispitivanjima *cis*-**57** je pokazao veću aktivnost od *trans*-**57**, ali su oba diastereomera bili slabiji analgetici od fentanila.

Analozi fentanila sa hidroksilnim i alkoksidnim grupama u položaju C₃ su takođe sintetisani.⁵⁴⁻⁵⁶ Jedna od novijih metoda podrazumeva regioselektivno otvaranje epoksidnog prstena kod jedinjenja **61**, čime je dobijen 3-hidroksi analog fentanila *trans*-**63** (Shema 8).⁵⁴

Polazni reaktant, kvaternerna piridiniumova so **58**, je selektivno redukovano hidridom do alkena **59**. Zatim je epoksidacijom dvostruke veze pod veoma blagim uslovima, nastao epoksid **61**. Kao što je već napomenuto, regioselektivnim napadom 4-fluoranilina na položaj C₄ dobijen je regioizomer *trans*-**62**. U poslednjoj fazi, alkanoilovanjem *trans*-**62**, dobijen je 3-hidroksifentanil *trans*-**63**, uz retenciju konfiguracije. Hemo-, regio- i diastereoselektivnost pojedinih faza, kao i visoki prinosi, čine ovaj sintetički put veoma efikasnim. Ipak nedostatak čini mogućnost dobijanja samo *trans* proizvoda, jer je nukleofilno otvaranje epoksida stereospecifično *anti*. Za jedinjenje *trans*-**63** nisu objavljeni rezultati farmakoloških ispitivanja, međutim, za veliki broj sintetisanih 3-alkoksi analoga fentanila nađeno da su dosta slabiji μOR agonisti od fentanila.⁵⁶

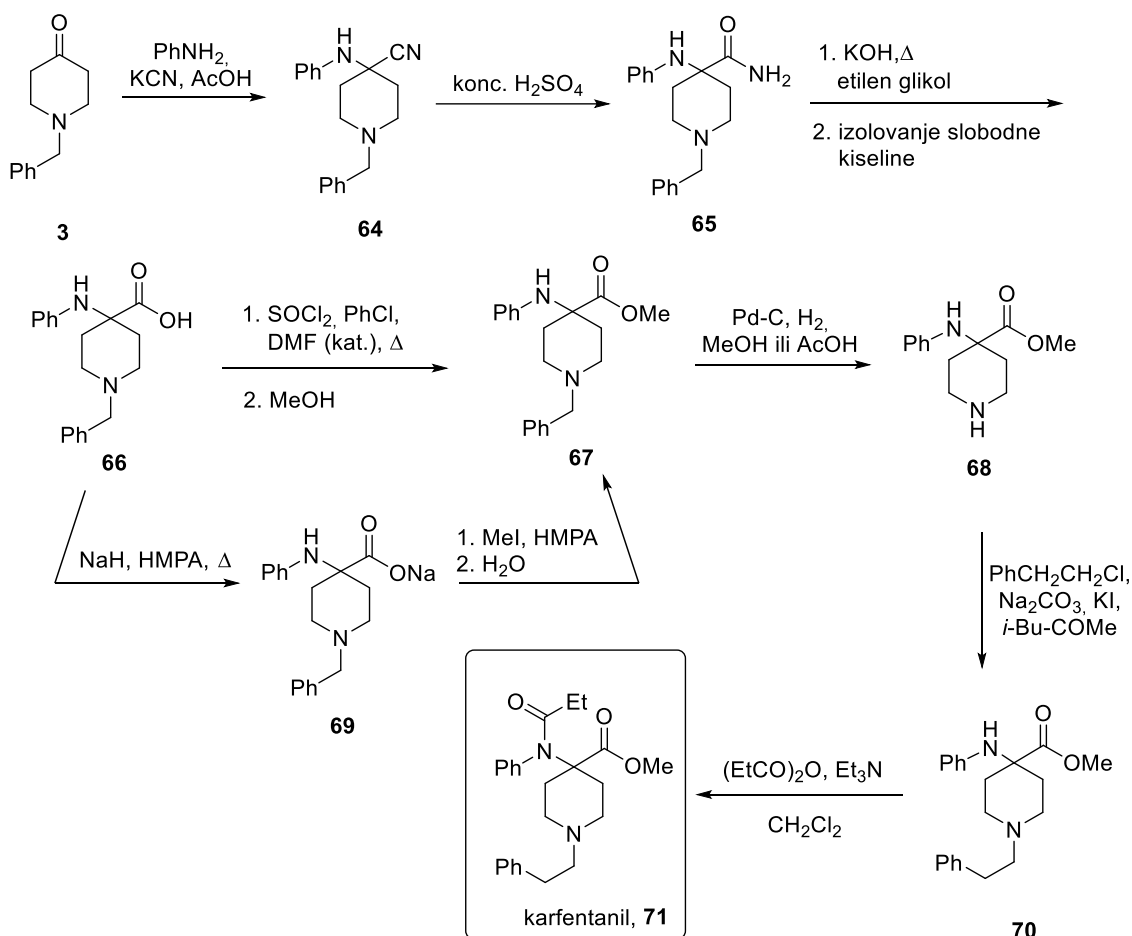


Shema 8. Sinteza 3-hidroksifentanila *trans*-**63**

Još jedna od farmakološki značajnih modifikacija strukture fentanila predstavlja uvođenje supstituenata u položaj C₄. Karfentanil **71**, je sintetisan prvi put 70-tih godina. U originalnom patentu, čiji je vlasnik farmaceutska kuća Janssen pharmaceuticals, dat je sintetički postupak, bez eksperimentalnih detalja i prinosa reakcije (Shema 9).⁵⁷ *N*-Benzilpiperidon **3** je Strecker-ovom reakcijom sa anilinom preveden u α -amino-nitril **64**. Selektivnom kiselom hidrolizom nitrilna grupa je prevedena u karboksamidnu. Slobodna α -aminokiselina **66** je zatim dobijena baznom hidrolizom karboksamidne grupe. Prevođenje kiseline **66** u estar **67** izvedeno je na dva načina. Prvi način podrazumevao je prevođenje **66** u kiselinski hlorid pomoću SOCl₂, a zatim u estar. Prema drugom postupku vršeno je direktno *O*-alkilovanje karboksilatnog anjona **69**. Katalitičkom hidrogenolizom benzilamina **67** dobijen je sekundarni amin **68**, koji je zatim alkilovan 2-feniletil-hloridom do **70**. U poslednjoj fazi *N*-alkanoilovanjem dobijen je karfentanil, **71**. Farmakološkim ispitivanjem nađeno je da je karfentanil oko 30 puta jači μ OR agonist od fentanila, i kao takav predstavlja najjači opioidni analgetik u kategoriji 4-anilidopiperidina. Zbog izuzetno jakog dejstva, koristi se samo u veterini, za sedaciju krupne divljači, kao alternativa etorfinu.

Mnoge poboljšane metode za sintezu karfentanila su objavljene u radovima i patentima tokom više godina. Modifikovana sinteza karfentanila, koja je razvijena 80-tih godina prikazana je u Shemi 10.⁵⁸ Ključni intermedijer, u okviru ove sinteze so amino-kiseline **74**, dobijen je primenom dve alternativne metode. Metoda A je prema originalnom patentu i primenjuje klasičnu Strecker-ovu reakciju, pri čemu α -amino-nitril **64** nastaje u prinosu od 71%. Kiselom i baznom hidrolizom, prvo je dobijena so amino-kiseline **74**, koja je zatim, *O*-metilovanjem karboksilatnog anjona, konvertovana u estar **67**. Estar je izolovan u ukupnom prinosu od 43%, polazeći od *N*-benzilpiperidona **3**. Metoda B uključuje poboljšanu varijantu Strecker-ove reakcije, koja koristi trimetilsililcijanid pod anhidrovanim uslovima. Iz nastalog adukta **64** (prinos 81%), reakcijom sa hlorsulfonil-izocijanatom, dobijen je spirobiciklični hidantoin **73**. Posle sukcesivne kisele i bazne hidrolize, nastao je isti proizvod kao i u metodi A, so amino-kiseline **74**. Ukupan prinos, polazeći od *N*-benzilpiperidona **3** sličan je onom prema metodi A, pa se može zaključiti da su oba reakciona puta podjednako efikasna.

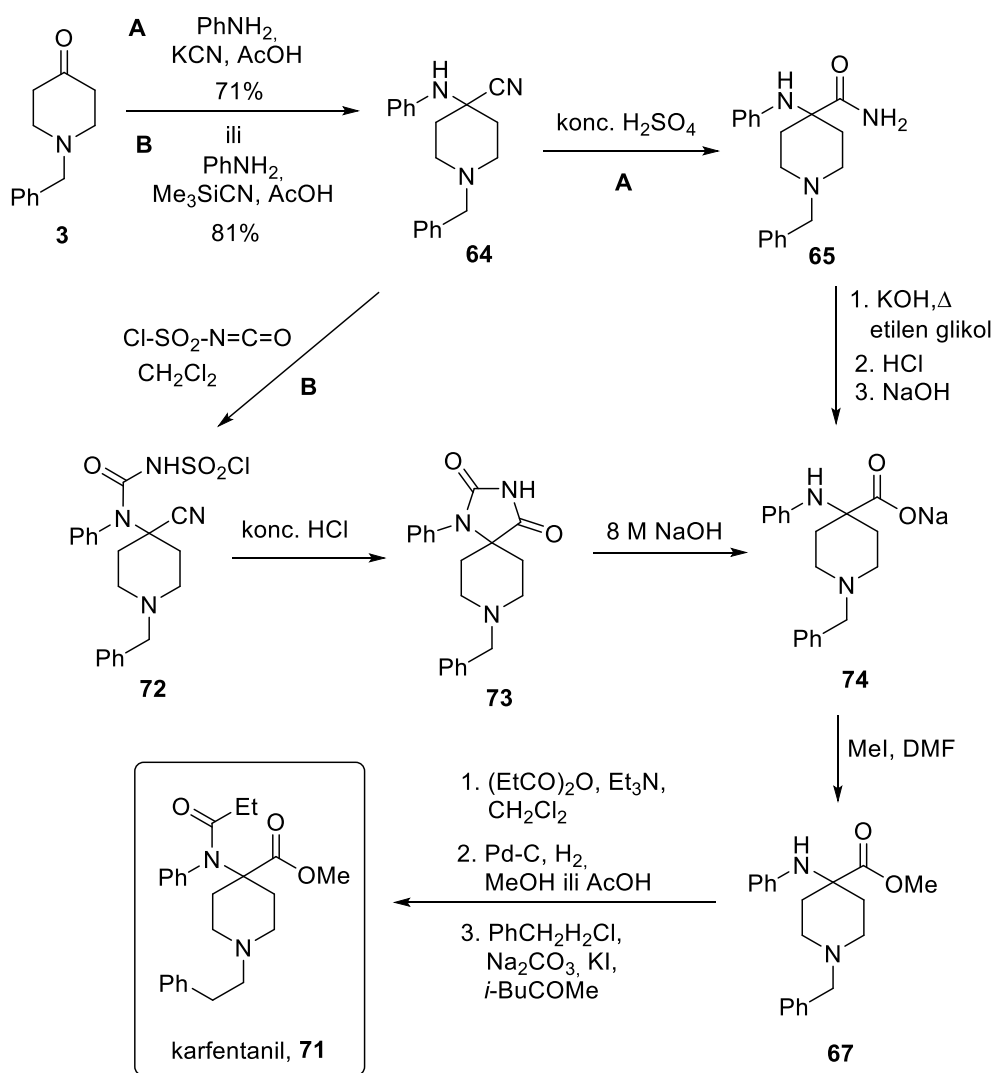
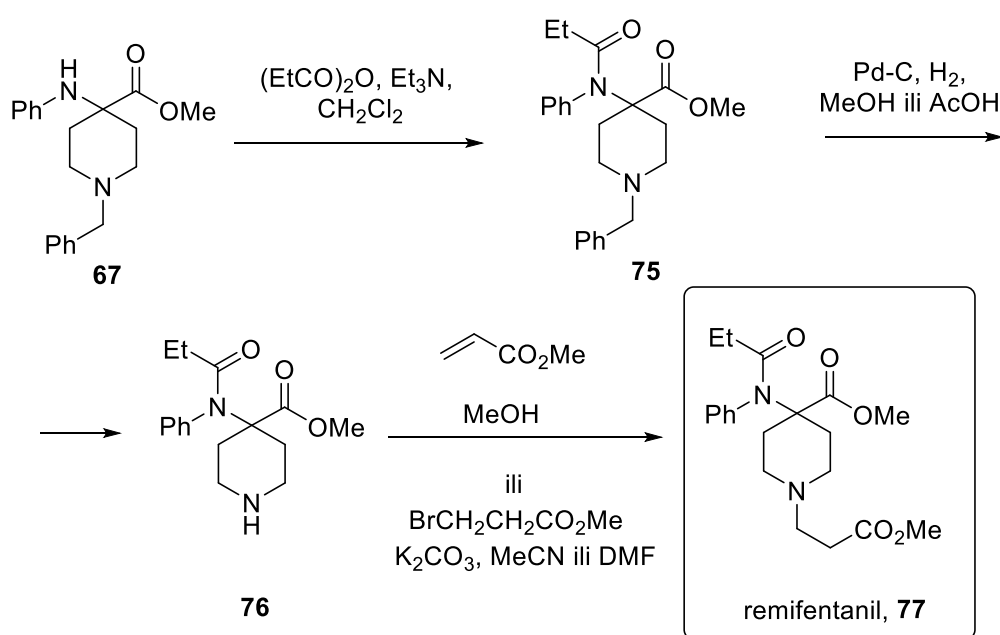
U originalnoj literaturi ne navode se sporedne reakcije pri *O*-metilovanju, ali je konkuretna reakcija *N*-metilovanja vrlo verovatna. Dalja modifikacija estra **67** do karfentanila **71** izvršena je na isti način kao u originalnom patentu.



Shema 9. Janssen-ova sinteza karfentanila **71**

Estar **67** je iskorišćen za sintezu još jednog značajnog anilidopiperidina, remifentanila **77** (Shema 11)⁵⁹ pod sličnim reakcionim uslovima kao kod sinteze karfentanila. Za razliku od sinteze karfentanila, sekundarni amin **76** je u poslednjoj fazi alkilovan metil-3-brompropanoatom ili adiran na metil-akrilat (aza-Michael-ova adicija).

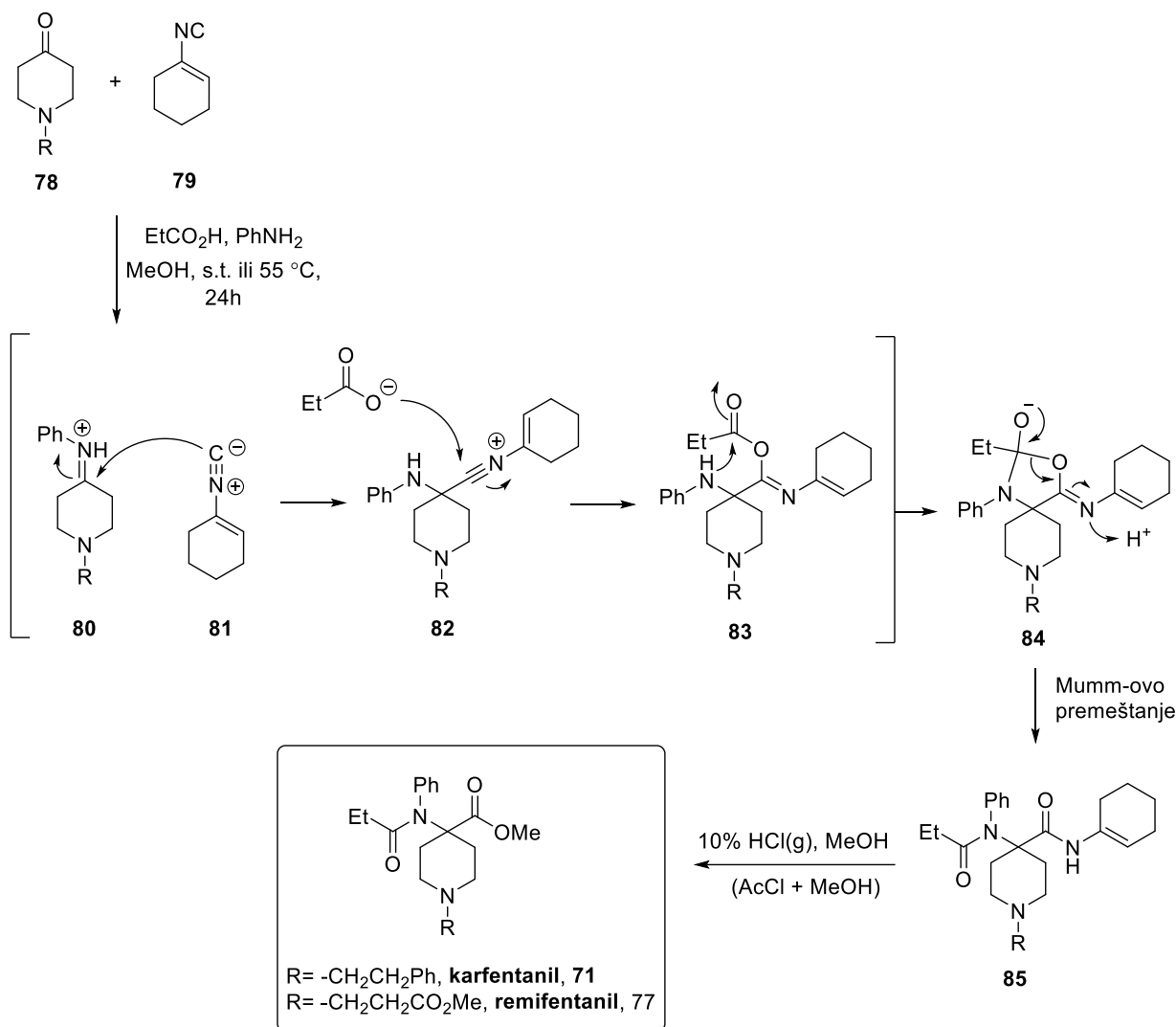
Remifentanil **77** pokazao je farmakološku aktivnost sličnu kao fentanil, uz manje neželjene efekte i kraće vreme dejstva. Zbog enzimatske hidrolize manje sterno zaštićene estarske grupe, remifentanil se brzo inaktivira pod *in vivo* uslovima, za razliku od drugih opioidnih analgetika. Time se sprečava pojava renarkotizacije, jedne od mogućih i po život opasnih nuspojava kod opioidne analgezije. Zbog svog povoljnog farmakološkog profila remifentanil, u obliku hlorhidratne soli, koristi se kao opioidni analgetik ultra kratkog dejstva pod komercijalnim nazivom remifentanil ili Utiva[®] (Slika 4). Remifentanil-hlorhidrat veoma je podložan hidrolizi u vodenom rastvoru pa se distribuira u obliku čvrste soli, a rastvara neposredno pred davanje pacijentu.

Shema 10. Modifikovana sinteza karfentanila **71**Shema 11. Sintaza remifentanila **77**



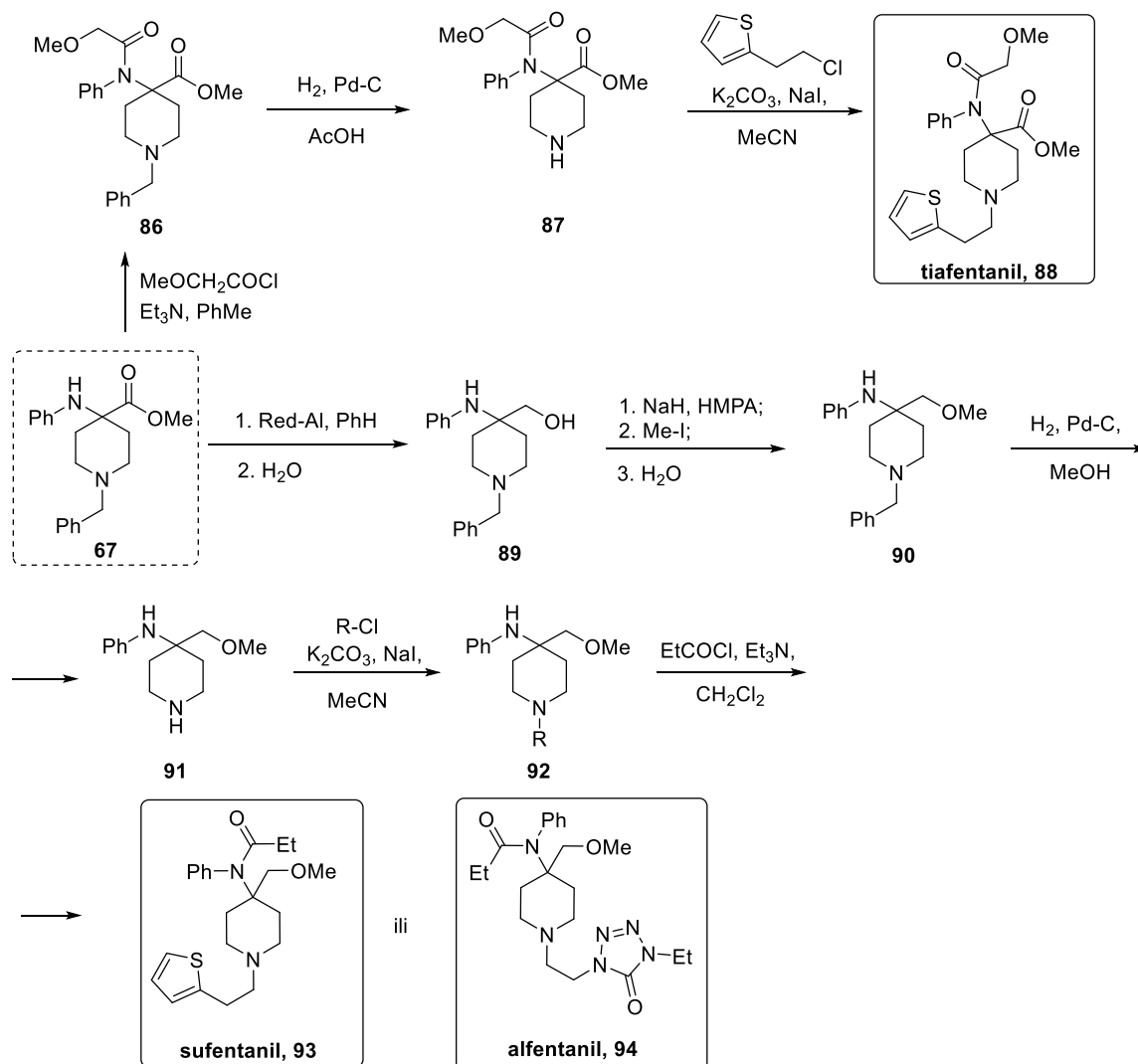
Slika 4. Čvrsti remifentanal-hlorhidrat za pripremu injekcionih rastvora

Jednostavna i efikasna sinteza karfentanila **71** i remifentanila **77**, koja se zasniva na četvorokomponentnoj Ugi-jevoj reakciji, razvijena je pre nekoliko godina (Shema 12).⁶⁰ Zagrevanjem piperidona **78**, izocijanocikloheksena **79**, propionske kiseline i anilina u MeOH, dobija se stabilni intermedijer **85** u jednom sintetičkom koraku. Pretpostavljeni mehanizam odvija se preko nestabilnog intermedijera **84**, iz koga spontanom Mumm-ovim premeštanjem nastaje enamid **85**. Kiselo katalizovanom metanolizom, **85** se prevodi u finalni proizvod **71** odnosno **77**. Karfentanil **71** i remifentanil **77** dobijeni su u visokom prinosu nakon samo dve sintetičke operacije, a mogu se dobiti i drugi 4-metoksikarbonil-4-anilidopiperidini u zavisnosti od polaznog *N*-supstituisanog piperidona.



Shema 12. Četvorokomponentna Ugi-jeva reakcija u sintezi karfentanila **71** i remifentanila **77**

Još nekoliko farmakološki važnih 4-anilidopiperidina, patentirano je 70-tih godina dvadesetog veka. Među njima se ističe sufentanil **93** (Shema 13).⁵⁷ Polazni estar **67**, dobijen je na način kako je to prikazano kod karfentanila **71**. Redukcijom estara **67** pomoću Red-Al, dobijen je alkohol **89**. U sledećoj fazi Williamson-ova sinteza etara primenjena je za dobijanje intemedijera **90**. Slično kao u sintezi fentanila i karfentanila i remifentanila, intemedijer **90** se prevodi u finalni proizvod sekvencom hidrogenolize, *N*-alkilovanja i *N*-alkanoilovanja. U zavisnosti od reagensa koji je upotrebljen za alkilovanje intermedijera **91**, mogu se dobiti različiti 4-anilidopiperidini. Tako je kasnije po istoj proceduri sintetisan alfentanil **94** (Shema 13).⁶¹



Shema 13. Sinteza tiafentanila **88**, sufentanila **93** i alfentanila **94**

Sufentanil **93** i alfentanil **94** predstavljaju još dva opioidna analgetika koji se zbog povoljnog farmakološkog profila koriste u kliničkim uslovima.

Sufentanil je približno 7,5 puta jači opioidni analgetik od fentanila. Distribuirana se u obliku stabilnih injekcionih rastvora citratne soli, pod komercijalnim nazivom sufentanil ili Sufenta[®] i trenutno je najjači opioidni analgetik u kliničkoj upotrebi (Slika 5). Alfentanil, slične jačine a kraćeg dejstva i sa manje neželjenih dejstava od fentanila, postao je značajan opioidni analgetik koji se koristi kod kratkih hirurških intervencija. Na tržištu je dostupan u obliku stabilnih injekcionih rastvora hlorhidratne soli, pod komercijalnim nazivom alfentanil ili Alfenta[®] (Slika 5).

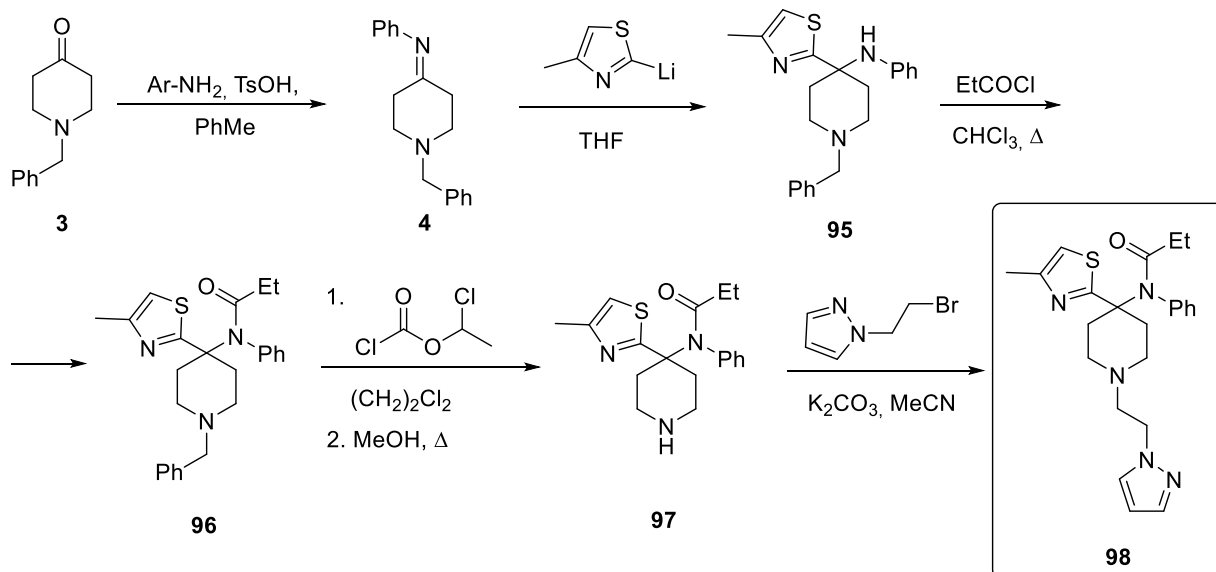
Tiafentanil **88** je još jedan analgetik iz klase 4-anilidopiperidina. Dobijen je pod sličnim reakcionim uslovima kao karfentanil **69** i remifentanil **77**, polazeći od estra **67** (Shema 13).^{62,63} Slične jačine kao karfentanil **71**, a povoljnijeg farmakološkog profila, našao je primenu u veterini, kao zamena za karfentanil i etorfin.

Krajem 80-tih godina sintetisana je serija 4-anilidopiperidina sa različitim aril-grupama u položaju C4. Na primeru jedinjenja **98**, prikazana je sinteza ovih jedinjenja (Shema 14).⁶⁴ Heteroaril-litijumovo jedinjenje adirano je na imin **4** pri čemu je dobijen intermedijer **95**. (Treba naglasiti da 1,2-adicije organometalnih jedinjenja na ketimine nisu opšteg karaktera i da, u većini slučajeva, do njih ne dolazi).

Transformacije intermedijera **95** do finalnog proizvoda, podrazumevale su reakcije koje se tipično koriste u sintezi 4-anilidopiperidina, i to *N*-alkanoilovanje, debenzilovanje i *N*-alkilovanje. Od svih 4-aril analoga fentanila koji su sintetisani u okviru ovog rada, jedino je jedinjenje **98** pokazalo značajan farmakološki profil. Nađeno je da deluje slično fentanilu **8** i alfentanilu **94** u pogledu jačine i dužine trajanja dejstva. Takođe su primećeni manji neželjeni efekti u odnosu na fentanil **8**. Ipak, ne postoje podaci o kliničkom ispitivanju ovog jedinjenja.



Slika 5. Injekcioni rastvori sufentanil-citrata i alfentanil-hlorhidrata

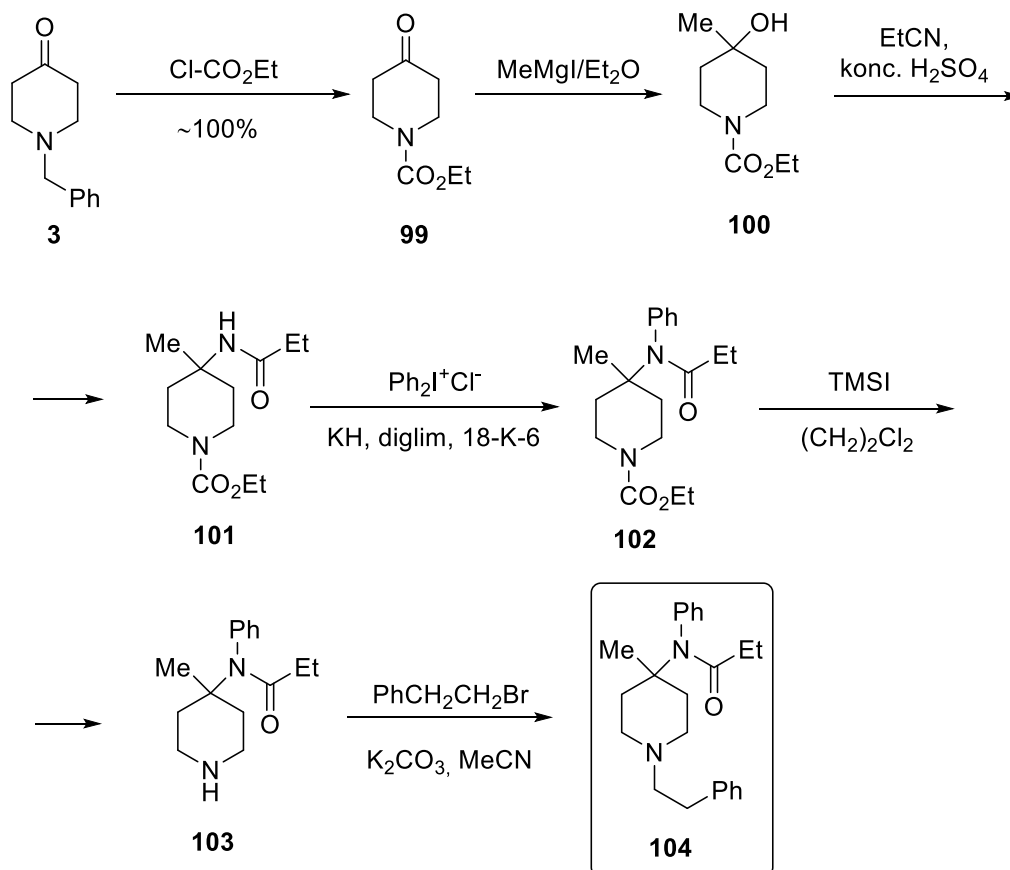


Shema 14. Sinteza 4-heteroaril analoga fentanila **98**

Od svih 4-supstituisanih analoga fentanila poznatih u literaturi do danas, najmanje ima onih sa jednostavnim alkil-grupama (metil, etil i sl.) u položaju C4. Zapravo, od takvih jedinjenja, do danas je poznat samo 4-metil analog fentanila **104**. Ovo jedinjenje je sintetisano u šest faza polazeći od *N*-benzilpiperidona **3** (Shema 15).⁶⁵ Inicijalno je nađeno da se u reakciji **3** sa Grignard-ovim reagensom ili metil-litijumom, kvantitativno dobija enolati anjon. Ovaj neočekivani rezultat verovatno je bio posledica prisustva, tercijerne amino-grupe, koja je katalizovala nastajanje i deprotonovanje enola. Problem je prevaziđen prevođenjem *N*-benzil-grupe u karbamatnu. Grignard-ov reagens adirao se na piperidon **99** dajući očekivani proizvod, u visokom prinosu. Ritter-ovom reakcijom iz tercijernog

alkohola **100**, dobijen je karboksamid **101**. U sledećoj fazi, intermedijer **102** je dobijen *N*-fenilovanjem sekundarne karboksamidne grupe iz **101**. Deprotekcijom i alkilovanjem sekundarne amino grupe piridina, dobijen je 4-metilfentanil **104**.

Sve faze u ovom sintetičkom putu dale su visoke prinose proizvoda, osim *N*-fenilovanja sekundarne karboksamidne grupe, gde je dobijen prinos do 50%. Preliminarnim farmakološkim ispitivanjem nađeno je da je 4-metilfentanil približno četiri puta jači opioidni analgetik od fentanila. Ipak usled nepostojanja viših homologa 4-alkilfentanila, nemoguće je utvrditi uticaj voluminiznijih alkil grupa u položaju C₄ na opioidnu aktivnost.



Shema 15. Sinteza 4-metilfentanila **104**

2.3. Heterobivalentni ligandi

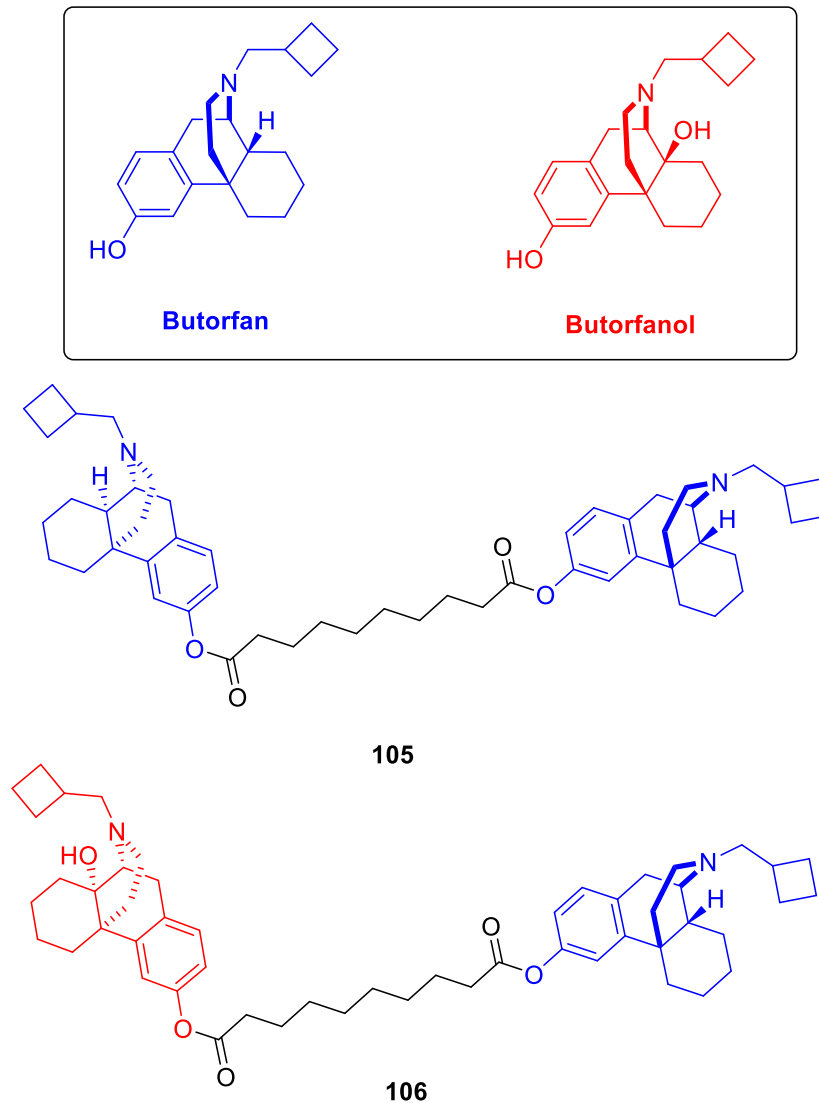
Broj literaturnih podataka u naučnim časopisima o ukrštenoj regulaciji različitih signalnih puteva, bliskoj prostornoj raspoređenosti pojedinih receptora, kao i o postojanju homo i heterodimera određenih receptora, značajno je porastao u poslednjih 30 godina.²⁻³¹ Dizajn bifunkcionalnih i bivalentnih liganada koji bi mogli da reaguju sa dva različita receptora u obliku monomera ili heterodimera postao je veoma popularan zadatak u medicinskoj hemiji. Cilj takvog vezivanja je poboljšanje farmakološkog efekta u odnosu na monovalentni ligand.

Kao što je spomenuto na početku Opšteg dela, dokazan je uticaj drugih signalnih puteva na prenos opioidnih signala, i dizajnirano je nekoliko vrsta heterobivalentnih opioidnih liganada. Primeri će biti prikazani u ovom odeljku.

2.4.1. μ OR/ κ OR heterobivalentni ligandi

Sve četiri vrste opioidnih receptora i to: μ OR, κ OR, δ OR i ORL-1(nociceptin), učestvuju u modulaciji bola, međutim, zbog specifičnih fizioloških funkcija, ORL-1 nije razmatran u ovom izlaganju. Kao što je već rečeno aktivacija μ OR dovodi do najefikasnije analgezije uz najozbiljnije neželjene efekte. I pored toga μ OR agonisti predstavljaju gotovo jedine opioidne analgetike koji se koriste u medicini. Jedan od razloga za to je i nedovoljan broj kliničkih ispitivanja vezanih za druge OR, kao i njihov nešto drugačiji farmakološki profil. Pošto je utvrđeno da postoji ukrštena regulacija između sva tri OR, mnogo istraživanja je posvećeno uticaju κ OR i δ OR receptora na μ OR signalnu transdukciju. Tako je nađeno da jedinjenja koja mogu interagovati istovremeno sa μ OR i κ OR u svojstvu parcijalnih agonista, dovode do analgezije, a takođe mogu imati i manje izražene neželjene efekte.² Farmakološki efekat ovih jedinjenja može biti izbalansiran pa tako na primer, osećaj euforije povezan sa μ OR aktivacijom, može ublažiti disforiju koja nastaje aktivacijom κ OR. S druge strane, dok je aktivacija μ OR povezana sa tolerancijom i zavisnošću, takvih neželjenih efekata nema kod aktivacije κ OR. Dokazano je da μ OR i κ OR grade heterodimere u kičmenoj moždini, dok na postojanje ovih heterodimera u mozgu može ukazati njihova zajednička kodistribucija.⁶⁶⁻⁶⁸

Saznanja o postojanju μ OR/ κ OR heterodimera i njihove bliske prostorne raspoređenosti dovela je do razvoja bivalentnih liganada. Dva takva liganda, **105** i **106**, prikazana su na Slici 6.

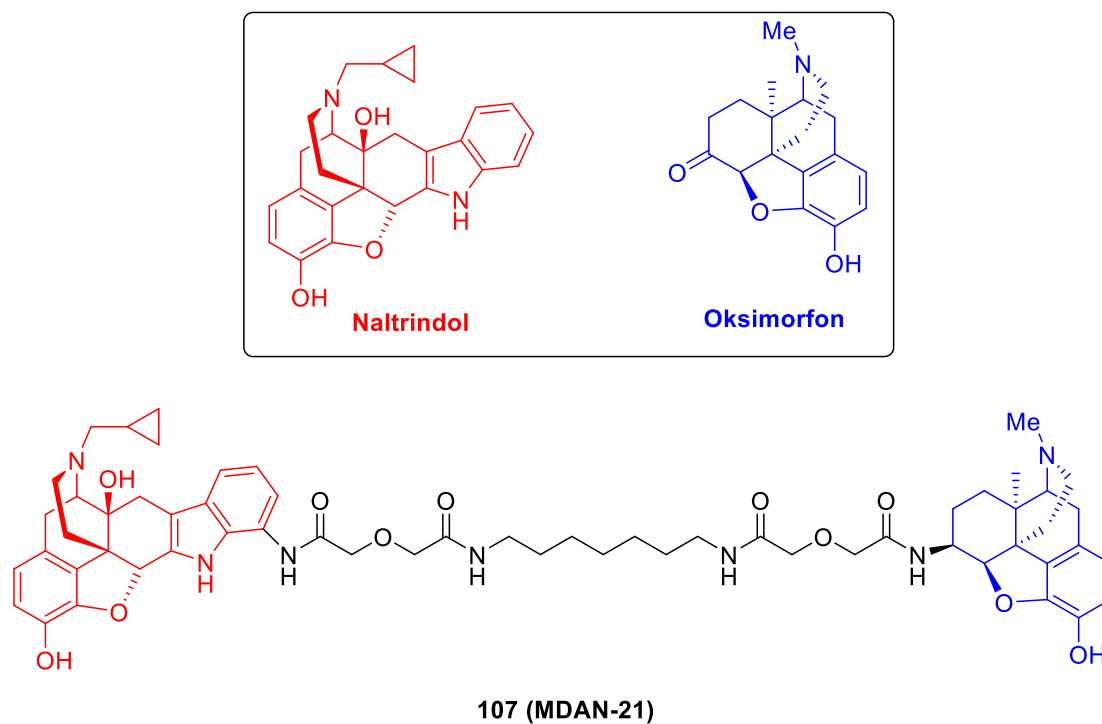


Slika 6. Mešoviti μ OR/ κ OR homo **105** i heterodimeri **106**

Jedinjenje **105** predstavlja homodimer koji se sastoji od dva molekula butorfana spojenih dekan-dikiselinom kao mostom. Monomerni butorfan je parcijalni μ OR agonist i potpuni κ OR agonist, a jedinjenje **105** je zadržalo isti tip farmakološke aktivnosti.⁶⁹ Jedinjenje **106** je s druge strane heterobivalentni ligand izgrađen od molekula butorfana i butorfanola povezanih dekan-dikiselinom kao kod jedinjenja **105**. Jedinjenje **106** je parcijalni μ OR agonist i parcijalni κ OR agonist, poput monomernog butorfanola.⁷⁰ Oba jedinjenja predstavljaju efikasne analgetike i najaktivnije strukture iz svojih serija, sa afinitetima vezivanja za μ OR i κ OR boljim od svojih monomernih prekursora, sa konstantama inhibicije (K_i), manjim od 0,1 nmol. Iako predstavljaju strukture od značaja za razumevanje μ OR i κ OR ukrštene regulacije i potencijalne analgetike sa boljim farmakološkim profilom, nema podataka o kliničkim ispitivanjima ovakvih jedinjenja.

2.4.2. μ OR/ δ OR heterobivalentni ligandi

Uloga δ OR u modulaciji bola nije još uvek dovoljno razjašnjena. Aktivacijom δ OR dobijeni su različiti, kontradiktorni rezultati u pogledu farmakološkog efekta.³ U zavisnosti od vrste bola, aktivacijom δ OR može se postići analgezija ili obrnuto, povećati bol. Nekoliko istraživanja je pokazalo da δ OR agonisti, kao i antagonisti utiču na modulaciju μ OR signalnog puta. Jedan od važnih dokaza da postoji ukrštena regulacija između μ OR i δ OR, predstavlja činjenica da selektivni δ OR antagonist, naltrindol, blokira stvaranje tolerancije izazvane morfinom, bez umanjivanja njegove analgetičke aktivnosti.⁷¹ Smanjenje stvaranja tolerancije na morfin primećeno je i u slučaju gde je δ OR genetski uklonjen.⁷²⁻⁷⁴ Takođe, dokazano je postojanje μ OR/ δ OR heterodimera.^{75,76} Ovi rezultati usmerili su dalje istraživanje μ OR/ δ OR sistema ka dizajniranju heterobivalentnih liganada koji bi interagovali simultano sa oba receptora. Jedinjenje **107** (u literaturi poznato kao MDAN-21, (Slika 7) predstavlja μ OR/ δ OR heterobivalentni ligand, izgrađen od μ OR agonista i δ OR antagonista spojenih mostom od 21 atoma.⁴



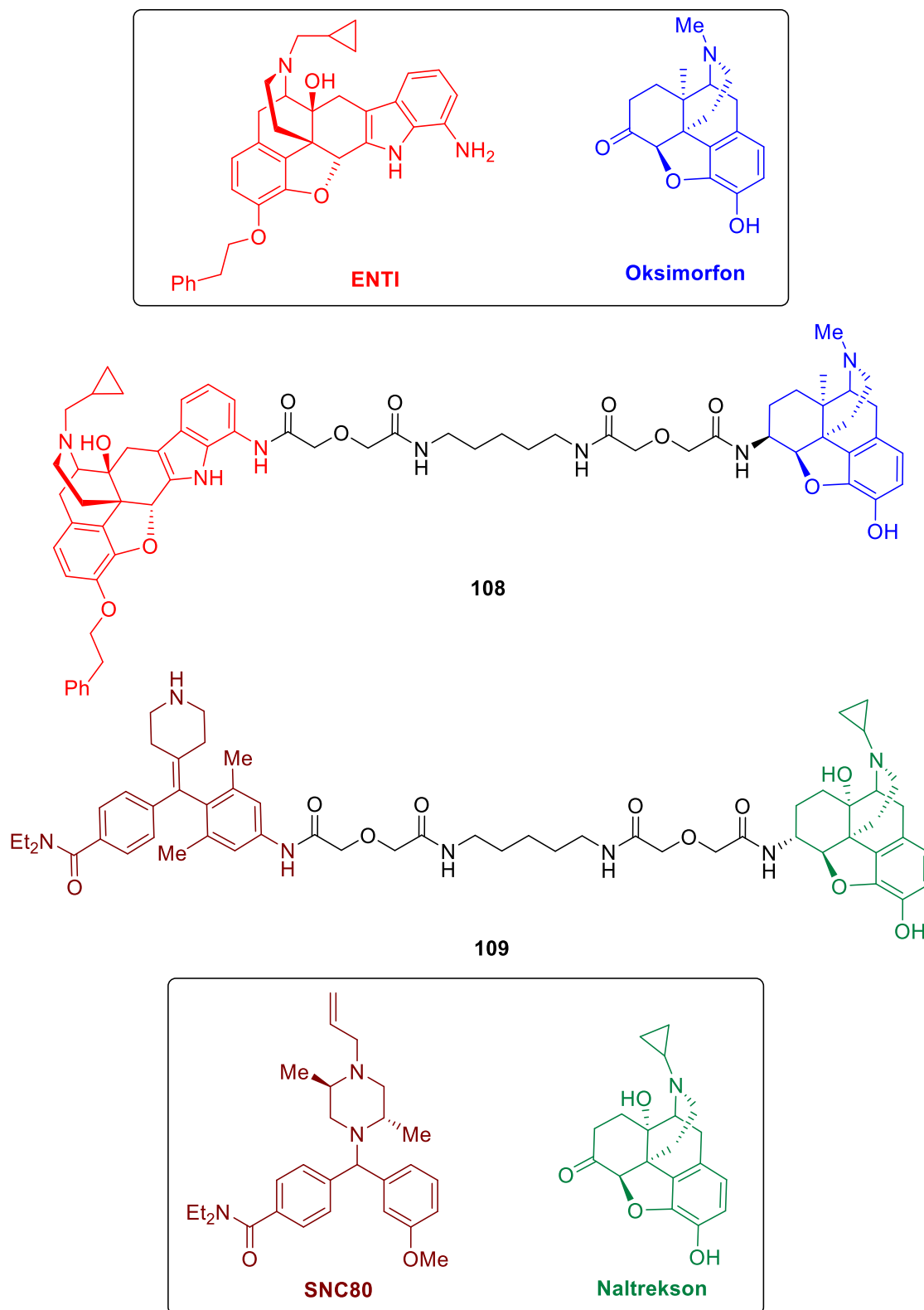
Slika 7. μ OR- δ OR heterobivalentni ligandi sa visokoaktivnim μ OR agonistom (oksimorfon) i visokoaktivnim δ OR antagonistom (naltrindol)

Deo molekula koji je μ OR agonist izveden je iz oksimorфона, jakog μ OR agonista, dok je deo liganda koji se vezuje za δ OR izveden iz naltrindola, jakog, selektivnog δ OR antagonista. *In vivo* testovi na miševima i primatima pokazali su da je **107** jak analgetik sa dosta smanjenim neželjenim efektima pogotovo u pogledu tolerancije i zavisnosti, ali kod primata rezultati nisu bili reproducibilni.⁴ S obzirom na to da je **107** sastavljen od jakog μ OR agonista i jakog δ OR antagonista, teško se može utvrditi da li je *in vivo* biološki odgovor posledica nezavisnog agonizma i antagonizma ili, alternativno proističe iz specifičnog i simultanog vezivanja za dimere odnosno monomere.

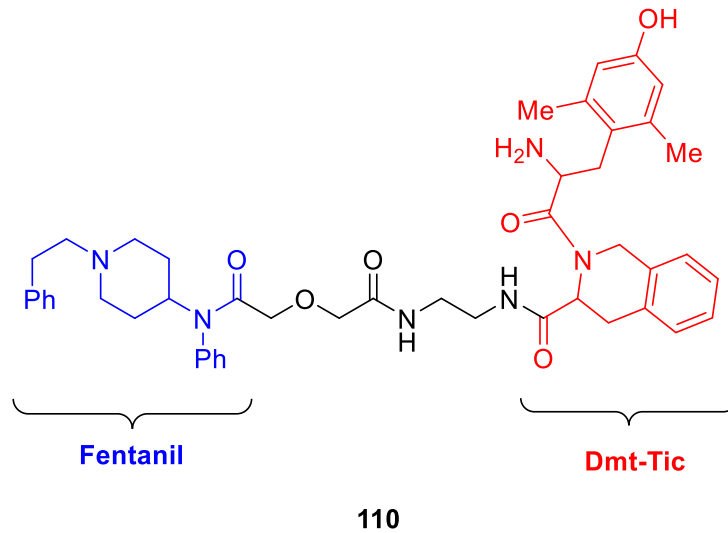
Uzimajući u obzir prethodno navedeno, sintetisani su ligandi **108** i **109** koji su dizajnirani tako da im se afinitet prema μ OR/ δ OR heterodimerima razlikuje od afiniteta prema δ OR monomerima (Slika 8).³ To je postignuto tako što je za μ OR farmakoforu u oba slučaja izabrana strukturna jedinica izvedena iz visokoaktivnog μ OR agonista odnosno antagonista, dok je za δ OR farmakoforu izabran agonist odnosno antagonist slabog afiniteta. Tako, kod jedinjenja **108** μ OR farmakofora predstavlja visokoaktivni μ OR agonist oksimorfon, dok je δ OR farmakofora izvedena iz δ OR antagonista slabog afiniteta, ENTI. Kod bivalentnog liganda **109**, visokoaktivni μ OR antagonist, naltrekson povezan je sa slabo aktivnim δ OR agonistom DM-SNC80. Kod oba liganda farmakofore su povezane nizom od 19 atoma. Očekivano je da ovakve strukture pokažu slab afinitet prema δ OR monomerima, ali povećan afinitet prema μ OR/ δ OR heterodimerima. Ovakav trend je primećen, s tim što je više izražen kod **109**. Na osnovu toga se može zaključiti da ligand **109** premošćuje hetredimer, i da to utiče na povećanje afiniteta δ OR agonista DM-SNC80. Kod jedinjenja **108** ne može se sa sigurnošću potvrditi da dolazi do premošćavanja, pošto je nađeno da i kontrolna proba, slab δ OR antagonist ENTI, takođe ima povećan afinitet prema heterodimeru. Ovakvi ligandi su važni za ispitivanje svojstava hetrodimera kao nove mete u terapiji bola.

Uvođenje fentanila umesto morfinanskih μ OR agonista u strukturu μ OR/ δ OR bivalentnih liganada predmet je skorih istraživanja. Naučnici su prepoznali superiornost fentanila, kao jakog opioidnog analgetika jednostavne strukture i optimalne lipofilnosti. Povezivanjem fentanila sa δ OR antagonistima potencijalno se mogu dobiti μ OR/ δ OR bivalentni ligandi poželjnog farmakološkog profila. Serija bivalentnih liganada koji sadrže fentanil kao μ OR agonist je sintetisana i farmakološki ispitana.⁵ U ovim jedinjenjima, δ OR farmakofora je izvedena iz δ OR antagonista 2,6-dimetil-L-tirozil-1,2,3,4-tetrahidroizohinolin-3-karboksilanske kiseline (Dmt-Tic). Jedinjenje **110** predstavlja primer bivalentnog liganda sa 8 atoma u mostu (Slika 9). Farmakološka ispitivanja pokazala su da se sva sintetisana jedinjenja vezuju za μ OR i δ OR sa sličnim afinitetom kao fentanil i Dmt-Tic. U smislu μ OR aktivnosti, ligandi sa dužinom mosta do 8 atoma su se ponašali kao slabi parcijalni agonisti μ OR, dok ligandi sa 11 i 14 atoma u mostu nisu pokazali funkcionalnu aktivnost prema μ OR. S druge strane svi ligandi su zadržali funkcionalnu aktivnost Dmt-Tic, pa su se prema δ OR ponašali kao antagonisti.⁵

Pored toga što δ OR antagonisti ublažavaju toleranciju i zavisnost kod upotrebe μ OR agonista, donekle oprečni rezultati drugih israživanja sugerišu da δ OR agonisti mogu pojačati analgetički efekat μ OR agonista.⁵ Serija μ OR/ δ OR heterobivalentnih liganada je dizajnirana tako da se ponašaju kao agonisti prema oba receptora. Kao μ OR farmakofora i ovde je izabran μ OR agonist fentanil, dok δ OR farmakofora predstavlja analog enkefalina, neuropeptida i prirodnih (endogenih) analgetika (Slika 10).

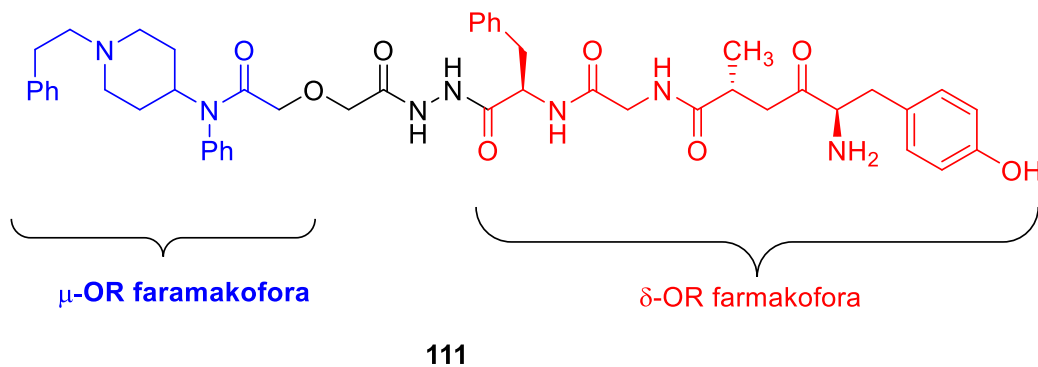


Slika 8. Heterobivalentni ligandi sa visokoaktivnom μ OR farmakoforum (oksimorfon i naltrekson) i slaboaktivnom δ OR farmakoforum (ENTI i SNC80)



Slika 9. Heterobivalentni ligandi sa visokoaktivnim μ OR agonistom (fentaniil) i visokoaktivnim δ OR antagonistom (Dmt-Tic)

Met-enkefalin: Tyr-Gly-Gly-Phe-Met
Leu-enkefalin: Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu



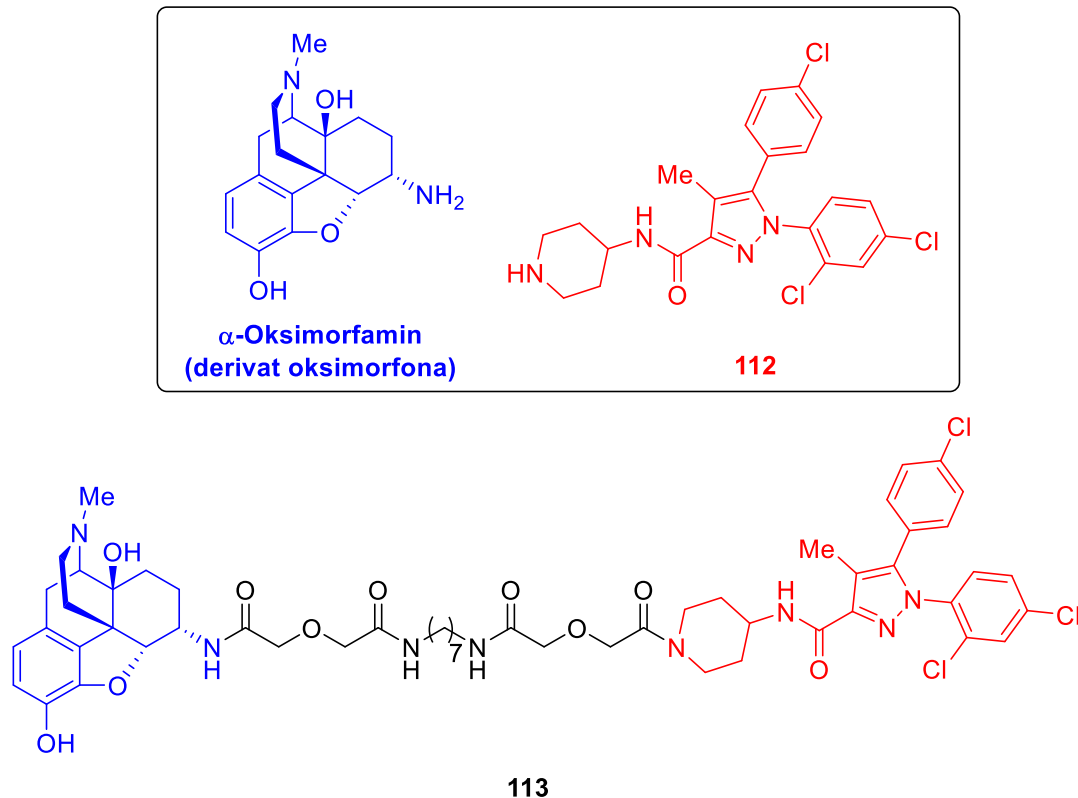
Slika 10. Heterobivalentni ligandi sa visokoaktivnim μ OR agonistom (fentaniil) i visokoaktivnim δ OR agonistom

Jedinjenje **111** se od svih sintetisanih jedinjenja pokazalo najbolje u farmakološkim testovima.⁵ Naime, nađeno je da je **111** jak analgetik. U testovima kompeticije sa selektivnim μ OR i δ OR antagonistima, nađeno je da **111** ostvaruje analgeziju aktivacijom oba receptora. Takođe je nađeno da je **111** efikasan analgetik kod akutnih i hroničnih bolova neuropatske ili inflamatorne prirode i da ima manje izražene neželjene efekte. Na osnovu ovih rezultata, može se zaključiti da jedinjenje **111** predstavlja potencijalni opioidni analgetik nove generacije. Dalja farmakološka istraživanja su u toku.

2.4.3. μ OR-CBR1 heterobivalentni ligandi

Kanabinoidni receptori tipa 1, CBR₁ predstavljaju vrstu GPCR, koja se takođe nalazi u CNS i mogu dati sličan farmakološki odziv kao μ OR. Kao i kod μ OR, aktivacija CBR₁ vodi do analgezije, zavisnosti i tolerancije, iako postoje veoma značajne razlike. Postoji veliki broj rezultata koji ukazuju na ukrštenu regulaciju signalnih puteva kod ove dve grupe receptora. Neki od njih pokazali su da μ OR antagonisti smanjuju nastajanje tolerancije prema CBR₁ agonistu tetrahidrokanabinolu (THC) i obrnuto, CBR₁ antagonisti smanjuju nastajanje tolerancije prema morfinu.⁷⁷ S druge strane, davanjem kombinacije morfina i CBR₁ antagonista sprečena je pojava tolerancije prema morfinu.⁷⁸ Takođe je uočeno da ista kombinacija neposredno smanjuje opioidno dejstvo morfina, što je farmakološki efekat poznat kao akutna tolerancija. Genetski nedostatak jednog od ova dva receptora kod pojedinih sojeva glodara, dovodi do smanjenja pojave zavisnosti i tolerancije kod drugog receptora.⁷⁹ Pored farmakoloških rezultata, činjenica da se CBR₁ i μ OR se nalaze na sličnim mestima u CNS i da su prostorno blisko raspoređeni, govori u prilog pretpostavljenom postojanju heterodimera ovih receptora.^{80,81} U jednom od istraživanja, *in vitro* ispitivanjem heterobivalentnih liganada koji se sastoje od μ OR agonista i CBR₁ antagonista, dokazano je postojanje heterodimera ovih receptora.⁹ α -Oksimorfamin (dobijen iz oksimorfona) je izabran kao μ OR agonist, dok kao CBR₁ antagonist izabrano jedinjenje **112**, analog leka rimonabant-a, ranije korišćenog za suzbijanje osećaja gladi. (Slika 11).

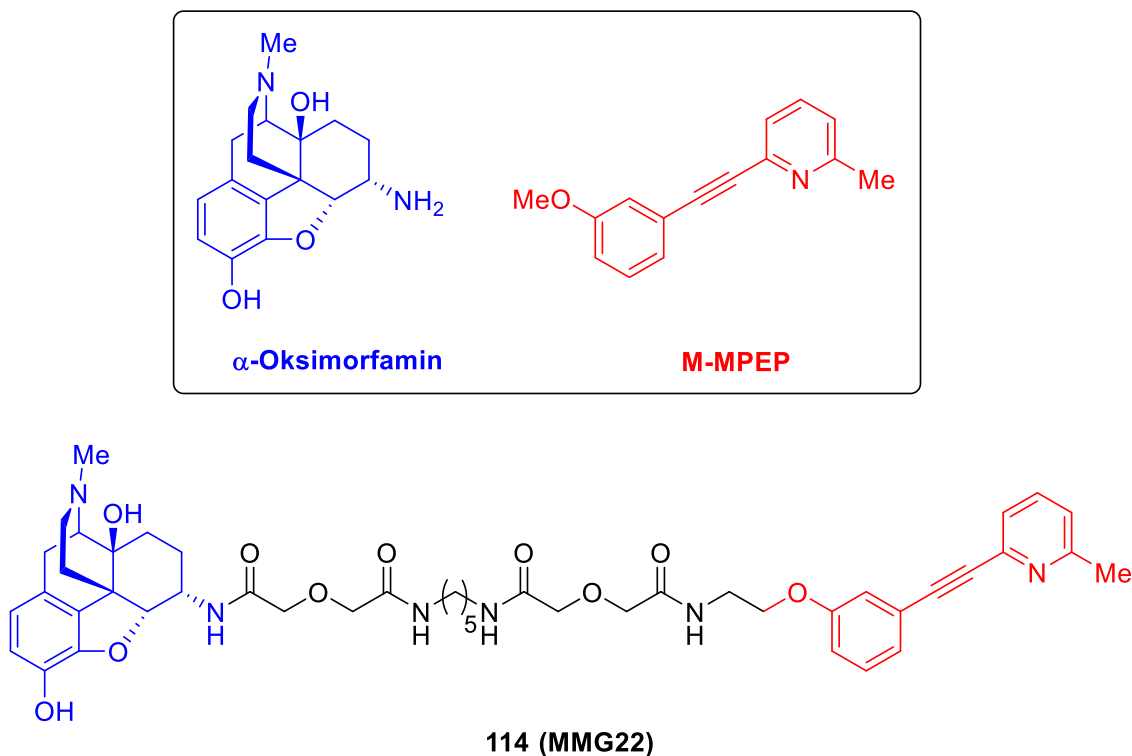
Dužina mosta koji spaja dve farmakofore je varirana između 2 i 20 atoma. Kao najpotentniji analgetik iz serije, pokazalo se jedinjenje **113**, sa 20 atoma u mostu.⁹ Takođe, jedino su za **113** dobijeni rezultati koji ukazuju na vezivanje sa heterodimerom. U *in vivo* eksperimentima međutim, kod svih jedinjenja nije došlo do formiranja opioidne tolerancije, što je u skladu sa prethodno objavljenim rezultatima. Ovakav rezultat ukazuje da za ukrštenu regulaciju signalnih puteva μ OR i CBR₁, nije neophodno postojanje heterodimera, iako se njihova uloga ne može isključiti.



Slika 11. Heterobivalentni ligand sa visokoaktivnim μ OR agonistom (α -oksimorfamin) i visokoaktivnim CBR 1 antagonistom (**112**)

2.4.4. μ OR-mGluR5 heterobivalentni ligandi

Glutamat predstavlja ekscitatorni neurotransmiter i jedan je od medijatora opioidne analgezije, tolerancije i zavisnosti.⁸² Nađeno je da su glutamati i hemokini povezani sa hiperalgezijom (smanjenjem praga bola) kod terapije hroničnih inflamatornih bolova opioidnim analgeticima, i da na taj način utiču na smanjenje efikasnosti analgezije kod ovih stanja.⁸³⁻⁸⁶ Dve klase glutamatnih receptora, jonotropni i metabotropni, učestvuju u glutamatnom signalnom putu. Od njih, mGluR5 je najrasprostranjeniji u CNS.⁸⁷ mGluR5 se zajedno sa μ OR nalazi u kičmenoj moždini, i nađeno je da korišćenje smese opioidnog analgetika i mGluR5 antagonista povećava analgeziju i smanjuje zavisnost i toleranciju. Dokazi o postojanju μ OR-mGluR5 heterodimera, doveli su do dizajna nove vrste potencijalnih opioidnih analgetika, kao heterobivalentnih μ OR-mGluR5 liganada.⁸⁸ U jednom od istraživanja sintetisana je serija heterobivalentnih liganada sa ciljem da se ispita postojanje i ukrštena regulacija μ OR i mGluR5 kao i postojanje heterodimera ovih receptora.^{11,12} Ligandi su se sastojali od μ OR farmakofore, izvedene iz jakog μ OR agonista, oksimorfona, i mGluR5 farmakofore koju je predstavljao mGluR5 antagonist, m-metoksi-2-metil-6-(feniletinil)piridin (M-MPEP) (Slika 12). Dužina mosta između dve farmakofore varirana je od 10-24 atoma, a najbolji farmakološki rezultat je pokazalo jedinjenje **114** (u literaturi poznato kao MMG22) sa 22 atoma u mostu. *In vivo* ispitivanje efekta dizajniranih jedinjenja na inflamatorni bol pokazalo je da jedinjenje **114** ima optimalno rastojanje između dve farmakofore, jer se pokazalo veoma jakim analgetikom sa $ED_{50}=8.8$ fmol, bez nastajanja tolerancije kao neželjenog efekta. Relativna jačina kraćih i dužih homologa bila je 5-25000 puta slabija nego kod **114**. I u poređenju sa monomerima, jedinjenje **114** se pokazalo kao superiorno za tretman inflamatornog bola.



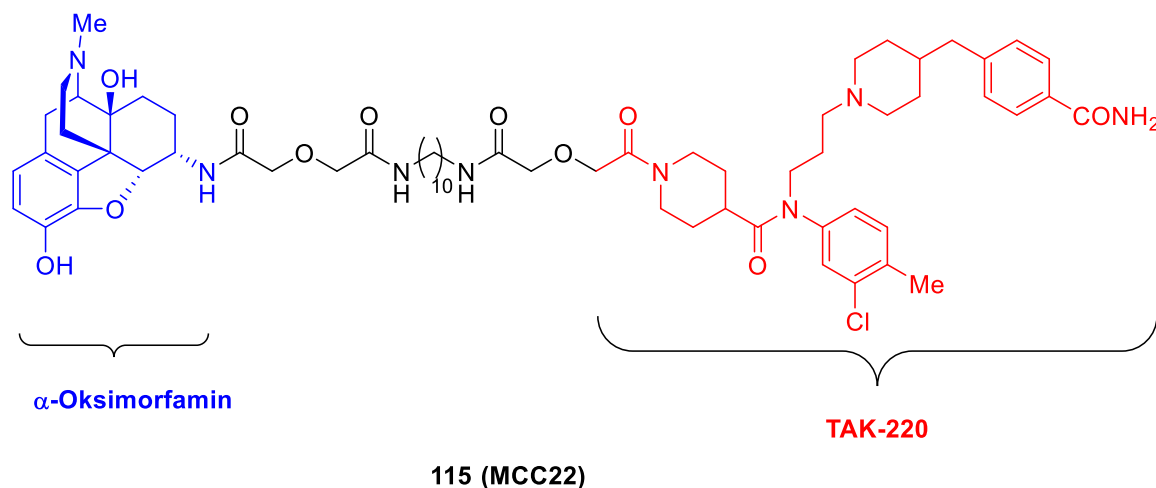
Slika 12. Heterobivalentni ligand sa visokoaktivnim μ OR agonistom (oksimorfon) i visokoaktivnim mGluR5 antagonistom (M-MPEP)

Ovakav rezultat ukazivao je da se aktivnost jedinjenja **114** ostvaruje vezivanjem za μ OR-mGluR5 heterodimer. S obzirom na to da je maksimalna aktivnost jedinjenja **114** postignuta intrateknom (i.t.) administracijom u odnosu na intracerebroventrikularnu (i.c.v.), moglo se zaključiti da se μ OR-mGluR5 heterodimeri uglavnom nalaze u kičmenoj moždini. Postojanje

heterodimera i ukrštena regulacija μ OR i mGluR5 kod tretmana inflamatornog bola na ovaj način je potvrđena.

2.4.5. μ OR-CCR₅ heterobivalentni ligandi

Kao što je već spomenuto, hemokini i glutamati utiču na opioidni signalni put kroz pojavu hiperalgezije i time smanjuju efikasnost opioidnih analgetika kod hroničnih, inflamatornih bolova.⁸³⁻⁸⁶ CCR₅ su hemokinski receptori koji se nalaze u istim delovima CNS kao i μ OR. Dodatno, nađeno je da u kultivisanim ćelijama postoje μ OR-CCR₅ heterodimeri, što ukazuje na mogućnost postojanja ovih heterodimera i *in vivo*.^{89,90} Imajući u vidu da se jedan od μ OR-mGluR5 heterobivalentnih liganada **114** pokazao kao jak analgetik uz odsustvo tolerancije, naučnici su uvideli potencijal u dizajnu μ OR-CCR₅ heterobivalentnih liganada. Radi ispitivanja ukrštene regulacije opioidnih i hemokinskih puteva kao i toga da li se ona odvija među monomerima ili preko heterodimera dizajnirani su heterobivalentni ligandi koji su sadržavali μ OR agonist i CCR₅ antagonist povezane mostom sa 14-24 atoma.^{13,14} Dok je i ovde derivat oksimorфона izabran za μ OR farmakoforu, potentni CCR₅ antagonist TAK-220 izabran je za CCR₅ farmakoforu (Slika 13).



Slika 13. Heterobivalentni ligand sa visokoaktivnim μ OR agonistom (oksimorfon) i visokoaktivnim CCR₅ antagonistom (TAK-220)

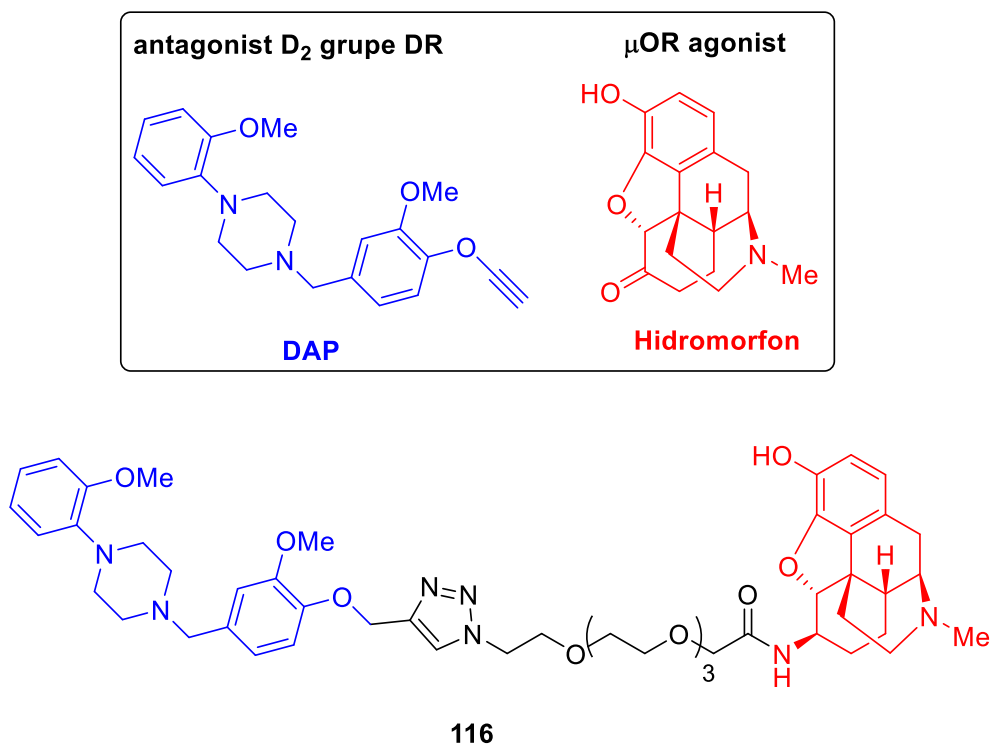
Rezultati farmakoloških ispitivanja ovih jedinjenja donekle su slični onima prethodno opisanim kod μ OR-mGluR5 heterobivalentnih liganada.^{13,14} U *in vivo* testovima na pacovima sa indukovanim inflamatornim bolom, jedinjenje **115** sa 22 atoma u mostu (u literaturi poznato kao MCC22) pokazalo se superiornim u odnosu na ostale homologe. Takođe, sa ED₅₀=0.0146 pmol, jedinjenje **115** bilo je oko 3500 puta jače od monovalentnih liganada. Veća aktivnost jedinjenja **115** pri i.t. administraciji u odnosu na i.c.v. ukazala je na postojanje μ OR-CCR₅ heterodimera u kičmenoj moždini, što je analogno rezultatima za μ OR-mGluR5 heterodimere. Velika efikasnost jedinjenja **115** u smanjenju inflamatornog bola najverovatnije je rezultat smanjene hiperalgezije kao posledice antagonizma CCR₅ uz istovremenu aktivaciju μ OR.

Jedinjenja **114** i **115** predstavljaju potencijalne analgetike nove generacije za tretman jakih, hroničnih, upalnih bolova kod kojih se konvencionalni opioidni analgetici nisu dobro pokazali.

2.4.6. μ OR-DR heterobivalentni ligandi

Kao što je spomenuto na početku Opšteg dela, već duže vreme se zna da postoji ukrštena regulacija između opioidnih i dopaminergičkih signalnih puteva, a pogotovo D_2 grupe receptora (D_2DR , D_3DR , D_4DR) i μ OR. Veliki broj istraživanja pokazao je i da su ovi receptori smešteni u istim regionima CNS, kao i da formiraju heterodimere. Iako još nije sa sigurnošću utvrđeno da li se interakcije među monomerima blisko raspoređenih receptora ili u heterodimerima, opioidni i dopaminergički sistemi predstavljaju potencijalnu metu za tretman bola i zavisnosti. Za ispitivanje interakcija između ovih receptora, tek skoro je prvi put u literaturi objavljena sinteza i farmakološko ispitivanje serije heterobivalentnih liganada sposobnih da se vežu kako za monomere tako i za heterodimere μ OR i D_2 grupe DR.³¹

μ OR Farnakofora izvedena je iz agonista, hidromorфона dok je DR farnakofora izvedena iz antagonista D_2 grupe DR, 1,4-disuspsituisanog *N*-arilpiperazina, DAP. Farnakofore su povezane polietileglikolnim (PEG) mostovima dužine 18-24 atoma (Slika 14).³¹ Ispitivanjem afiniteta sintetisanih liganada prema D_2DR - μ OR, D_4DR - μ OR heterodimerima nađeno je da se jedino jedinjenje **116** sa 18 atoma u PEG lancu vezuje bivalentno, tj. da ostvaruje interakcije sa D_4DR - μ OR heterodimerom.³¹ Pri tome je afinitet ovog liganada prema monomernim D_2DR i D_4DR bio slabiji u odnosu na monovalentne ligande hidromorfon i DAP. Nedostatak bivalentnog vezivanja za D_2DR - μ OR heterodimer može se objasniti nedovoljnom dužinom PEG lanca ili neadekvatnom strukturom lanca. Ovi rezultati predstavljaju značajan doprinos razumevanju interakcija između opioidnih i dopaminergičkih signalnih puteva.

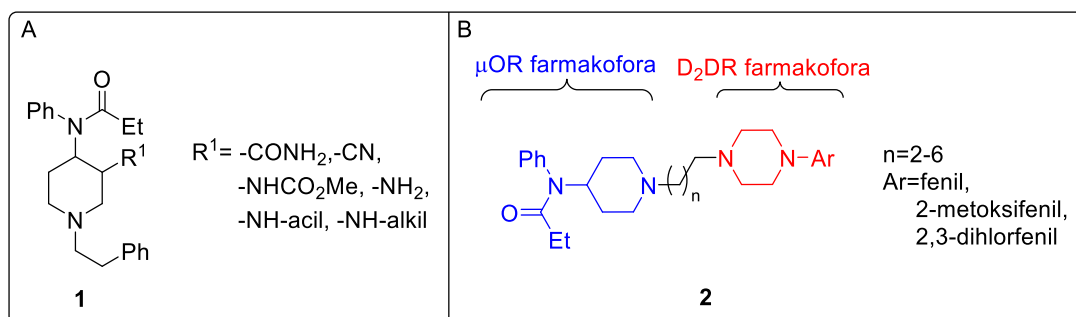


Slika 14. Heterobivalentni ligand sa visokoaktivnim μ OR agonistom (hidromorfon) i visokoaktivnim D_2DR antagonistom (DAP)

3. NAŠI RADOVI

Cilj ovog rada je razvoj i optimizacija sintetičkog puta za dobijanje dve grupe strukturno različitih derivata 4-anilidopiperidina, kao potencijalnih liganada za μ OR i D_2DR , ispitivanje njihove farmakološke aktivnosti i teorijsko predviđanje interakcija sa receptorima uz pomoć doking analize. U skladu sa tim ligandi su sintetisani u dve serije, i to:

1. Razvijena je i optimizovana sinteza trinaest novih 4-anilidopiperidina opšte strukture **1**, sa različitim azotnim grupama u položaju C_3 piperidinskog prstena i to: karboksamidna (-CONH₂), nitrilna (-CN), karbamatna (-NHCO₂R), kondenzovana cikloureidna (-NHCONHR) i primarna i sekundarna amino (-NH₂, -NHR) kao i *N*-acilamino (-NHCOR) grupa. Urađena je potpuna spektroskopska karakterizacija novosintetisanih jedinjenja (Slika 15A). U okviru ove serije, optimizovana je sinteza dva biciklična derivata 4-anilidopiperidina prethodno sintetisanih u okviru master rada.⁹¹
2. Razvijena je i optimizovana sinteza petnaest novih 4-anilidopiperidina opšte strukture **2** koji su u položaju N_1 piperidinskog prstena povezani sa različitim *N*-arilpiperazinima i to: 2-metoksifenilpiperazin, 2,3-dihlorfenilpiperazin i fenilpiperazin, preko linearnog alkil lanca različite dužine (Slika 15B).



Slika 15. Novi derivati 4-anilidopiperidina sintetisani i farmakološki testirani u okviru ove disertacije

Sva jedinjenja iz obe grupe su, u širem smislu, strukturni analozi fentanila, izuzetno snažnog agonista μ OR, koji se klinički široko koristi kao opioidni analgetik. U farmakološkom smislu očekuje se da jedinjenja iz prve grupe mogu biti potencijalni μ OR agonisti (Slika 15A). Jedinjenja druge grupe su koncipirana kao potencijalni heterobivalentni ligandi koji mogu ispoljiti dvostruku farmakološku aktivnost. Tako se zbog prisustva 4-anilidopiperidinske grupe može javiti afinitet prema μ OR, a takođe je moguć afinitet prema D_2DR , zbog prisustva *N*-arilpiperazinske podjedinice (Slika 15B).

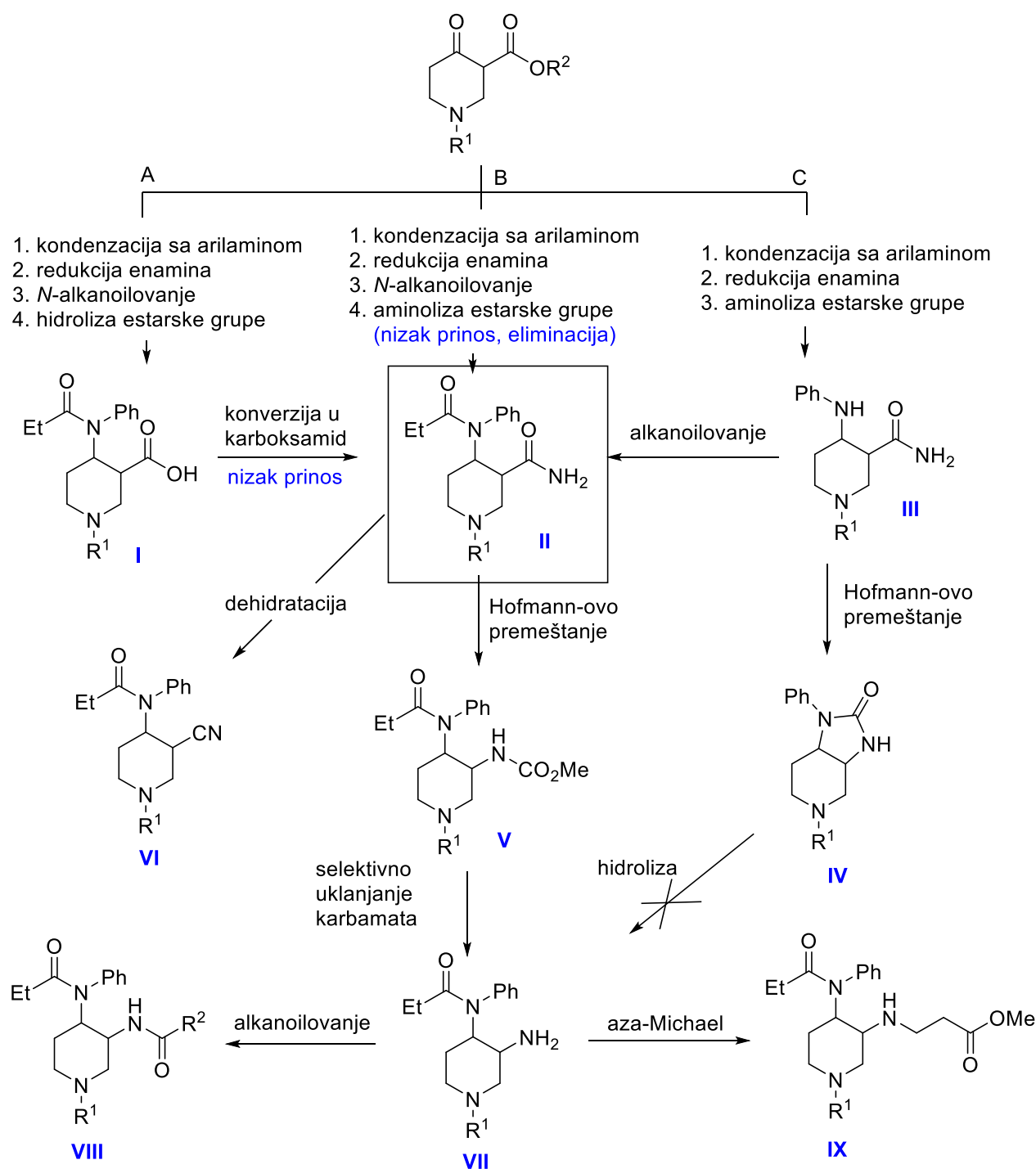
3.1. Sinteze derivata 4-anilidopiperidina

3.1.1. Sintaza 4-anilidopiperidina sa različitim azotnim grupama u položaju C_3 piperidinskog prstena

Kao što je rečeno u Uvodu, 4-anilidopiperidini predstavljaju važnu klasu farmakološki aktivnih jedinjenja. Može se očekivati da bi polarne, bazne i neutralne azotne grupe koje mogu formirati vodonične i jonske interakcije, mogle uticati na farmakološku aktivnost 4-anilidopiperidina i da bi se uvođenjem azotnih grupa u položaj C_3 4-anilidopiperidina, dobila jedinjenja sa potencijalno poboljšanim farmakološkim profilom. Ipak, 4-anilidopiperidini sa azotnim grupama u položaju C_3

piperidinskog prstena su ostali nepoznati u literaturi sve do nedavno objavljenog rada u okviru ove disertacije.⁹² Jedan od razloga za to je njihova neočekivano složena sinteza, pa prema tome dizajn efikasnog sintetičkog puta za njihovo dobijanje predstavlja značajan doprinos organskoj sintezi.

U daljem tekstu biće objašnjena tri sintetička puta, preko kojih je pokušano dobijanje 4-anilidopiperidina sa različitim azotnim grupama u položaju C₃ piperidinskog prstena (Shema 16, A, B, C). Kao prvi prekursor za sva tri sintetička puta izabrani su metil- ili *t*-butil-β-keto-estri koji se lako mogu dobiti po prethodno razvijenoj proceduri, polazeći od odogovarajućih estara akrilne kiseline i primarnih amina (Shema 17).⁹³

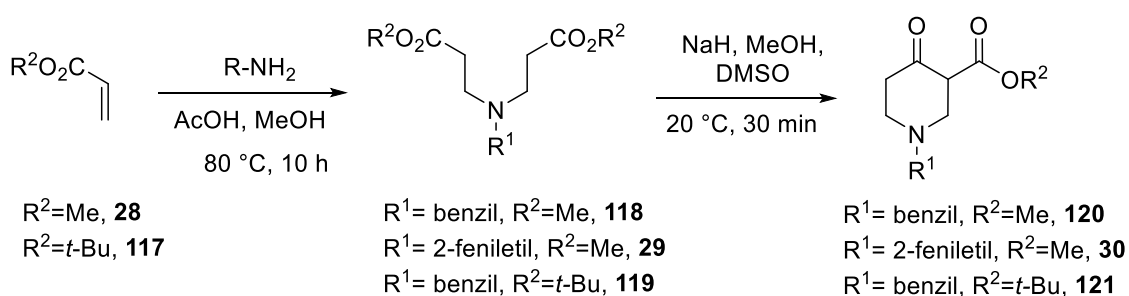


Shema 16. Opšti reakcioni pristup korišćen za dobijanje novih 4-anilidopiperidina

Sintetički putevi A-C omogućavaju varijacije 1-*N* supstituenata i 4-*N* arilamidnih grupa, dok su glavni intermedijeri u sva tri sintetička puta derivati 4-aminonipekotinske kiseline **I-III**. Heterociklične β-amino karboksilne kiseline, poput različitih derivata 4-aminonipekotinske kiseline, predstavljaju važne intermedijere u sintezi biološki aktivnih jedinjenja, i predmet su opsežnih istraživanja u poslednjih dvadeset godina.⁹⁴⁻⁹⁶

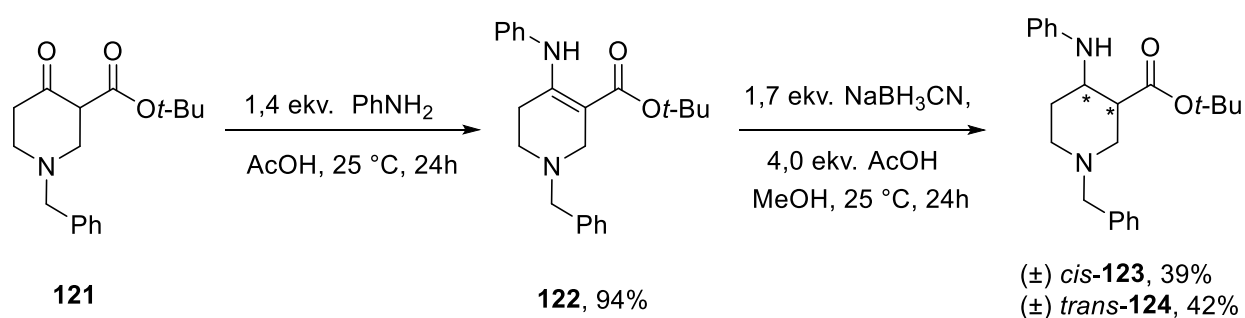
3.1.1.1. Razvoj sintetičkog puta A

Za prekursor u sintetičkom pristupu A (Shema 16), izabran je β-keto-estar **121** (Shema 17).



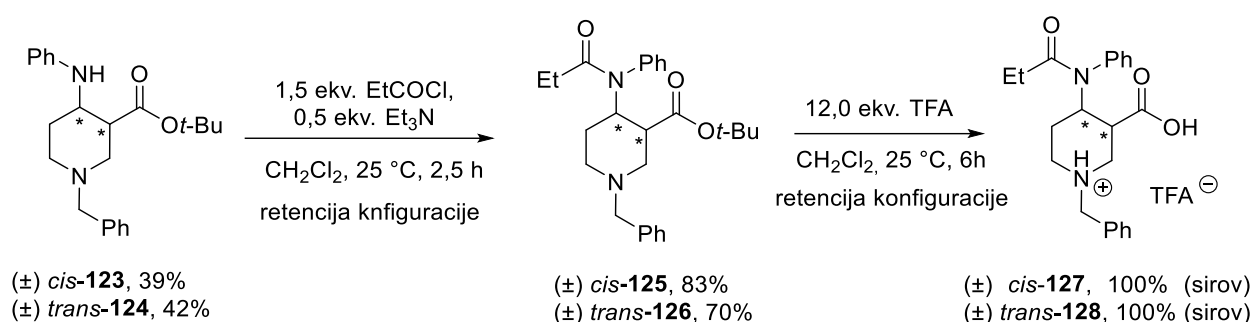
Shema 17. Dobijanje β-keto-estara kao prekursora u sintezi novih 4-anilidopiperidina

Kondenzacijom **121** sa anilinom, po ranije objavljenoj proceduri, dobijen je stabilni enamini **122** u visokom prinosu (Shema 18). Iako se različiti alifatični i aromatični aminu mogu upotrebiti u ovoj fazi, anilin je izabran jer je 4-*N*-fenilpropionamido grupa neophodna za visoku opioidnu aktivnost 4-anilidopiperidina. S druge strane, sintetički potencijal β-keto-estara **121** je u tome što sadrži ortogonalno zaštićene amino i karboksilnu grupu, koje se mogu selektivno deprotektovati u različitim fazama sinteze.⁹⁷⁻¹⁰¹ Planirano je da se selektivnom deprotekcijom i transformacijom ovih grupa dobiju krajnji proizvodi koji zadovoljavaju strukturne zahteve važne za opioidnu aktivnost kao što je 2-feniletil-grupa u položaju N₁, sa dodatim različitim azotnim grupama u položaju C₃. Kvantitativnom redukcijom enamina **122** pomoću NaBH₃CN dobijeni su β-(*N*-fenilamino)-estri **123** i **124** kao smesa *cis* i *trans* diastereomera. Diastereomerni par je razdvojen hromatografski, a diastereoselektivna redukcija nije razmatrana jer su oba diastereomera bila potrebna u nastavku sinteze.



Shema 18. Dobijanje β-(*N*-fenilamino)-estara *cis*-**123** i *trans*-**124**

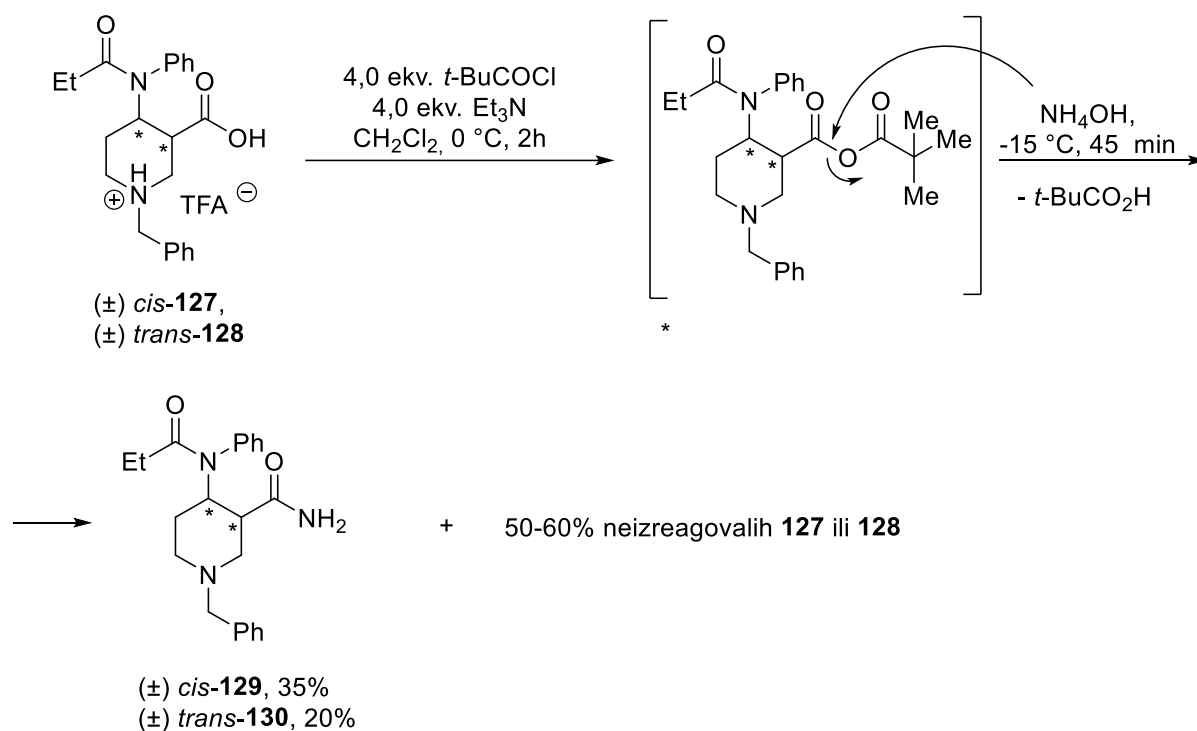
U sledećoj fazi, propionilovanjem anilinskog azota u jedinjenjima *cis*-**123** i *trans*-**124**, uz retenciju konfiguracije dobijeni su estri *cis*-**125** i *trans*-**126** (Shema 19).^[102] Reakcijom **125** i **126** sa trifluorosirćetnom kiselinom (TFA), uz retenciju konfiguracije su dobijene kiseline *cis*-**127** i *trans*-**128** u obliku TFA soli.



Shema 19. Dobijanje kiselina *cis*-**127** i *trans*-**128**.

Potrebno je napomenuti, da je pokušaj da se kiseline **127** i **128** dobiju baznom hidrolizom iz 3-metoksikarbonil analoga **125** i **126** dao veoma niske prinose željenih proizvoda.

Dalji put sinteze podrazumevao je dobijanje karboksamida opšte strukture **II** (Shema 16). Među brojnim metodama za selektivno dobijanje karboksamidne iz karboksilne grupe opisanim u literaturi,¹⁰³ u ovom radu je prvobitno ispitana sinteza karboksamida **129** i **130** iz odgovarajućih kiselina **127** i **128**, preko intermedijernih mešovutih anhidrida (Shema 20).



Shema 20. Dobijanje karboksamida *cis*-**129** i *trans*-**130** preko mešovitog anhidrida

Ovaj pristup se često koristi kao jedan od načina da se karboksilna grupa prevede u aktiviran oblik, tj. mešoviti anhidrid. Dalje bi nukleofil, u ovom slučaju NH_4OH , trebalo da selektivno reaguje samo sa jednom karbonilnom grupom mešovitog anhidrida, jer je druga, koja potiče iz pivaloil-hlorida, više sterno zaštićena. Na ovaj način, diastereoselektivno su dobijeni karboksamidi, *cis*-**129** i *trans*-**130** ali u niskim prinosisima, dok je izolovana velika količina neizreagovale kiseline. Najverovatniji uzroci niskog prinosa reakcije mogu biti nepotpuno nastajanje mešovitog anhidrida, ili neselektivna reakcija sa amonijakom.

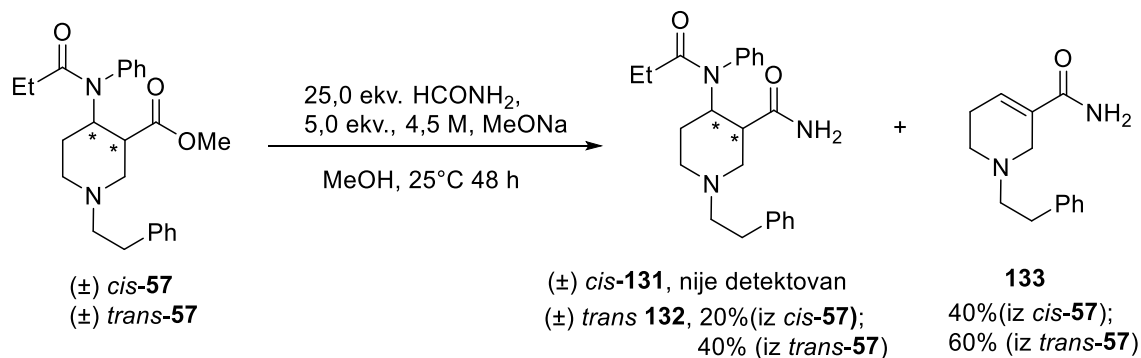
Zamenom Et_3N drugim nenukleofilnim bazama kao što su DBU ili DIPEA nisu poboljšani prinosi reakcije. Na prinos reakcije nije uticala ni upotreba MeCN ili THF umesto CH_2Cl_2 , kao ni zamena NH_4OH rastvorima amonijaka u organskim rastvaračima (NH_3/THF ili *i*-PrOH).

Drugi, uobičajeni reagensi za aktivaciju karboksilne grupe, kao što su etil-hlorformijat, SOCl_2 i N,N' -diizopropilkarbodiimid (DIC) nisu dali željene proizvode u ovoj reakciji, dok su u reakciji sa oksalil-hloridom dobijeni *cis*-**129** i *trans*-**130** u vrlo niskim prinosima.

Zbog nemogućnosti za efikasnu sintezu karboksamida **129** i **130** sintetičkim putem A, dalje su ispitani sintetički putevi B i C.

3.1.1.2. Razvoj sintetičkog puta B

Diastereomeri 3-metoksikarbonilfentanila *cis*-**57** i *trans*-**57** su dobijeni uspešno, po prethodno objavljenoj proceduri iz β -keto-estra **30**.^[102] Pokušaj aminolize estara *cis*-**57** i *trans*-**57** rastvorom amonijaka u metanolu pod uslovima visokog pritiska u autoklavu, nije bio uspešan verovatno zbog voluminoznosti piperidinskog prstena. U literaturi je nađeno da konverzija estara u karboksamide uz pomoć formamida, može da da bolje rezultate nego klasična aminoliza, jer je manje osetljiva na sterne smetnje.¹⁰⁴⁻¹⁰⁶ Međutim, u reakciji *cis*-**57** sa formamidom u prisustvu MeONa, dobijen je karboksamid *trans*-**132** u niskom prinosu i proizvod eliminacije anilidokarboksamidne grupe **133**, dok karboksamid *cis*-**131**, nije detektovan. Diastereomer *trans*-**57** reagovao je slično, pri čemu su nastali *trans*-**132** i **133** u približno istim količinama (Shema 21). Slični rezultati dobijeni su kada je LiH korišćen kao baza, a reakcija izvođena u DMF.



Shema 21. Dobijanje karboksamida *cis*-**131** i *trans*-**132** pomoću formamida

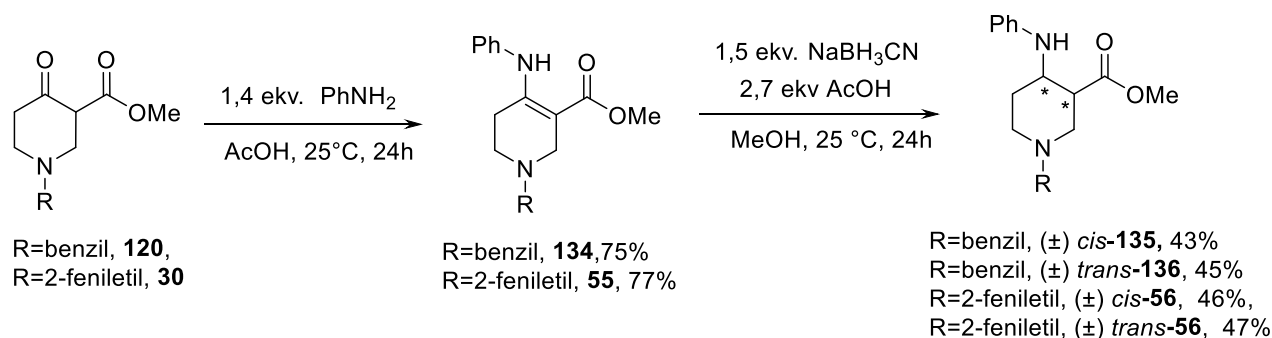
Rezultati ukazuju na to da najverovatnije dolazi do reverzibilne epimerizacije, praćene brзом eliminacijom anilidokarboksamidne grupe iz *cis*-**131** do **133**.

S obzirom na to da su za dalje istraživanje bili potrebni i *cis*-**131** i *trans*-**132**, sintetički put je dalje modifikovan.

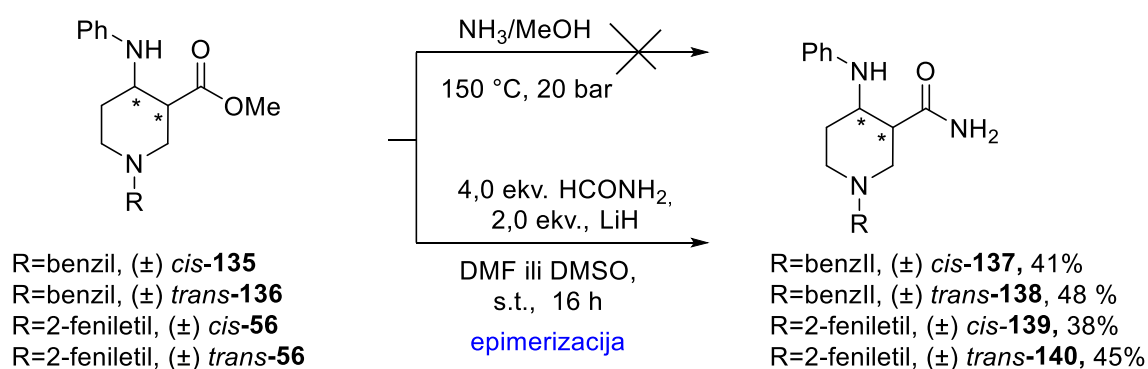
3.1.1.3. Razvoj sintetičkog puta C

Po već opisanoj proceduri za dobijanje estara opšte strukture **III** (Shema 18), estri **135**, **135** i **56**, su dobijeni iz β -keto-estara **120** i **30**, preko enamina **134** i **55** (Shema 22). Estri **135**, **136** i **56** takođe nisu mogli biti prevedeni u karboksamide klasičnom aminolizom pomoću NH_3 . Ovde je međutim reakcija sa formamidom, dala odgovarajuće karboksamide, jer u slučaju estara **135**, **136** i **56** ne postoji anilidna grupa koja bi se eliminisala. Pod uslovima iz literature,¹⁰⁴⁻¹⁰⁶ prethodno primenjenim za aminolizu *cis*-**57** i *trans*-**57**, bile su neophodne velike količine formamida i baze, kao i dugo reakciono vreme za potpunu konverziju reaktanata. Reakcioni uslovi su stoga modifikovani i optimizovani u okviru ovog rada (Shema 23).⁹² Modifikacija reakcionih uslova iz literature, sastojala se u upotrebi LiH kao baze umesto MeONa, i DMF ili DMSO umesto MeOH. Pod ovim uslovima, značajno je smanjena količina formamida i baze, a takođe i reakciono vreme u odnosu na literaturne reakcione uslove. DMF i DMSO su polarni, aprotični ratsvarači, koji se mešaju sa vodom.

Ipak, DMSO je manje toksičan od DMF-a, pa je preporučljivo, pogotovo na većim skalama, koristiti DMSO umesto DMF-a kada god je to moguće. S obzirom na to da je reakcija heterogena, bilo je očekivano da dodatak faznih katalizatora ubrza reakciju, međutim dodatak kvaternernih amonijum soli kao što je TBAB ili krunskog etra 18-C-6 uz *t*-BuOK kao bazu, nije značajno uticao na ubrzanje reakcije. Pošto u toku reakcije dolazi u velikoj meri do epimerizacije *cis* i *trans* diastereomera, estri **135**, **136** i **56** su korišćeni kao smese diastereomera, a karboksamidi **137-140** su zatim hromatografski razdvojeni.

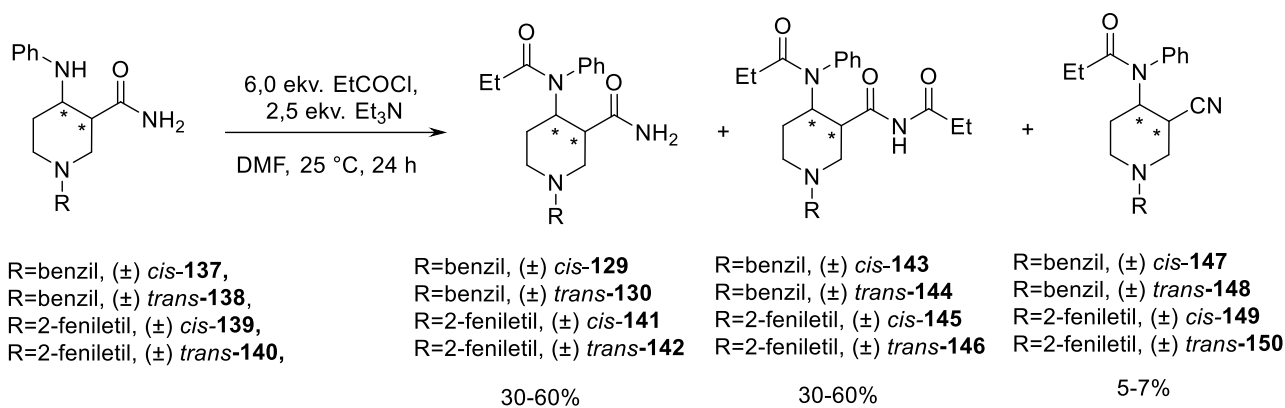


Shema 22. Dobijanje estara **135**, **136** i **56**



Shema 23. Dobijanje karboksamida **137-140**

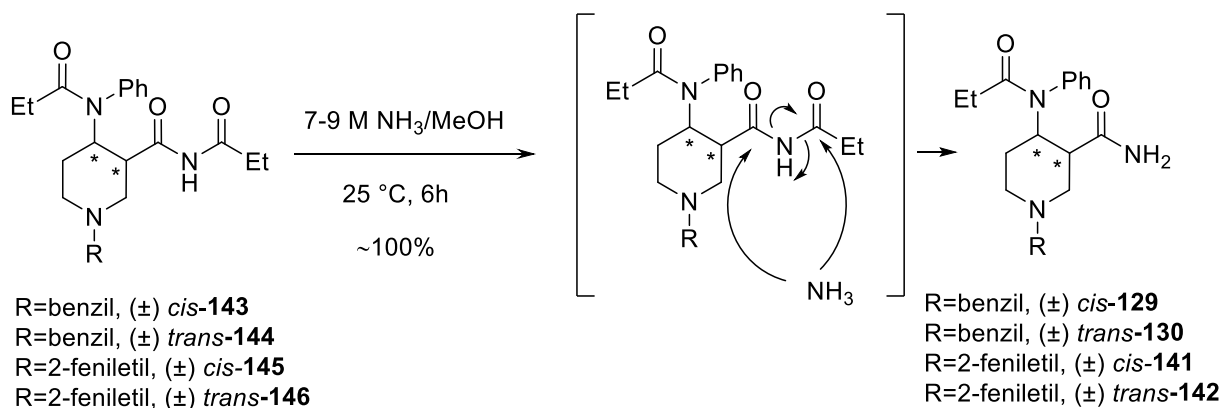
Sledeći korak podrazumevao je alkanoilovanje anilinskog azota karboksamida **137-140**. Iako pod standardnim uslovima za reakciju alkanoilovanja, pomoću propionil-hlorida i Et₃N u CH₂Cl₂, dolazi do kvantitativnog alkanoilovanja estara **123** i **124**, kao i njihovih metoksikarbonil analoga,¹⁰² *trans*-karboksamidi **138** i **140** dali su željeni proizvod alkanoilovanja u veoma malim prinosima, dok *cis*-**137** i **139** karboksamidi nisu reagovali pod ovim uslovima. Inicijalni pokušaji da se prinosi reakcije poboljšaju promenom reakcionih uslova, nisu bili uspešni. Tako upotreba drugih rastvarača (CHCl₃, MeCN) i baze (piridin), nije dovela do promene u prinosu nastalih proizvoda. Kada je reakcija izvođena u ključalom piridinu u prisutvu anhidrida propionske kiseline i katalitičkih količina DMAP-a, do reakcije alkanoilovanja nije došlo, a izolovani su samo reaktanti. Ipak kvantitativno alkanoilovanje karboksamida **137-140** je postignuto pomoću propionil-hlorida i Et₃N u DMF kao rastvaraču, na sobnoj temperaturi (Shema 24). Pod ovim uslovima podjednako su reagovali *cis* i *trans* diastereomeri, dajući očekivane proizvode *N*-alkanoilovanja **129**, **130**, **141** i **144**, uz nastajanje značajne količine imida **143-146**, kao proizvoda neselektivnog alkanoilovanja anilino i karboksamido-grupe.⁹² U reakciji su nastali i nitrili **147-150** u niskom prinosu, kao proizvodi dehidratacije karboksamido grupe a, čija sinteza je planirana u okviru sintetičkog puta C. Optimizacija sinteze nitrila **147-150**, objašnjena je u daljem tekstu.



Shema 24. Alkanoilovanje karboksamida 137-140

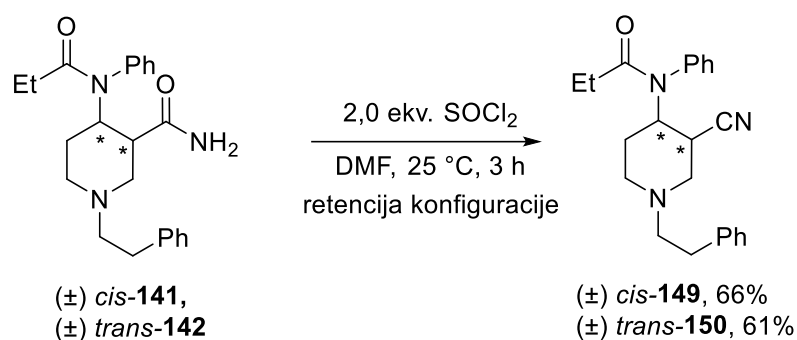
Nukleofilnom adicijom NH_3 na bilo koju karbonilnu grupu imida **143-146**, praćenom eliminacijom primarne karboksamidne grupe, dobijeni su karboksamidi **129**, **130**, **141** i **144** u kvantitativnom prinosu (Shema 25) dok je ukupan prinos dobijenih karboksamida nakon alkanoilovanja i aminolize imida iznosio od 64-69%.

Karboksamidi **141** i **142**, koji poseduju 2-feniletil ostatak, karakterističan za visoko aktivne opioidne analgetike, interesantni su u farmakološkom smislu. Polarna i neutralna karboksamidna grupa u položaju C_3 ovih jedinjenja predstavlja potencijalni donar i akceptor za vodonične veze pa je stoga njenim uvođenjem dobijena struktura čiji se farmakološki profil može potpuno razlikovati u odnosu na poznate 4-anilidopiperidine kao što je fentanil. S druge strane, karboksamidi **129** i **130**, predstavljaju potencijalne prekursore u sintezi drugih 4-anilidopiperidina, s obzirom na to da poseduju *N*-benzil-grupu koja se jednostavnim sintetičkim operacijama može dalje transformisati.



Shema 25. Aminoliza imida 143-146

Kao što je već napomenuto, u okviru sintetičkog puta C optimizovana je sinteza dobijanja nitrila **149** i **150** koji poseduju 2-feniletil ostatak u položaju N_1 . Mala, polarna i neutralna nitrilna grupa, kod **149** i **150** potencijalno može da ostvari interakcije sa aminokiselinim ostacima u vezivnom mestu μOR receptora, te su interesantni u farmakološkom smislu kao analozi fentanila. Stoga je u okviru ovog rada razvijena metoda za njihovo dobijanje iz karboksamida *cis*-141 i *trans*-142 koji poseduju 2-feniletil ostatak. Uobičajene metode za dehidraciju karboksamida do nitrila podrazumevaju upotrebu dehidracionih reagenasa poput SOCl_2 ,¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ POCl_3 ¹¹⁰ i drugih.^{111,112} Prvobitno je reakcija izvedena sa SOCl_2 , kao dehidracionim reagensom u toluenu. Nakon nekoliko sati mešanja na povišenoj temperaturi, nitrili **149** i **150**, su dobijeni u niskom prinosu, uz neizreagovale karboksamide. Međutim zamnom nepolarnog rastvarača polarnim, aprotičnim kao što je DMF, dobijeni su nitrili u umereno visokim prinosima, i pod blagim reakcionim uslovima (Shema 26).



Shema 26. Dobijanje nitrila **149** i **150**

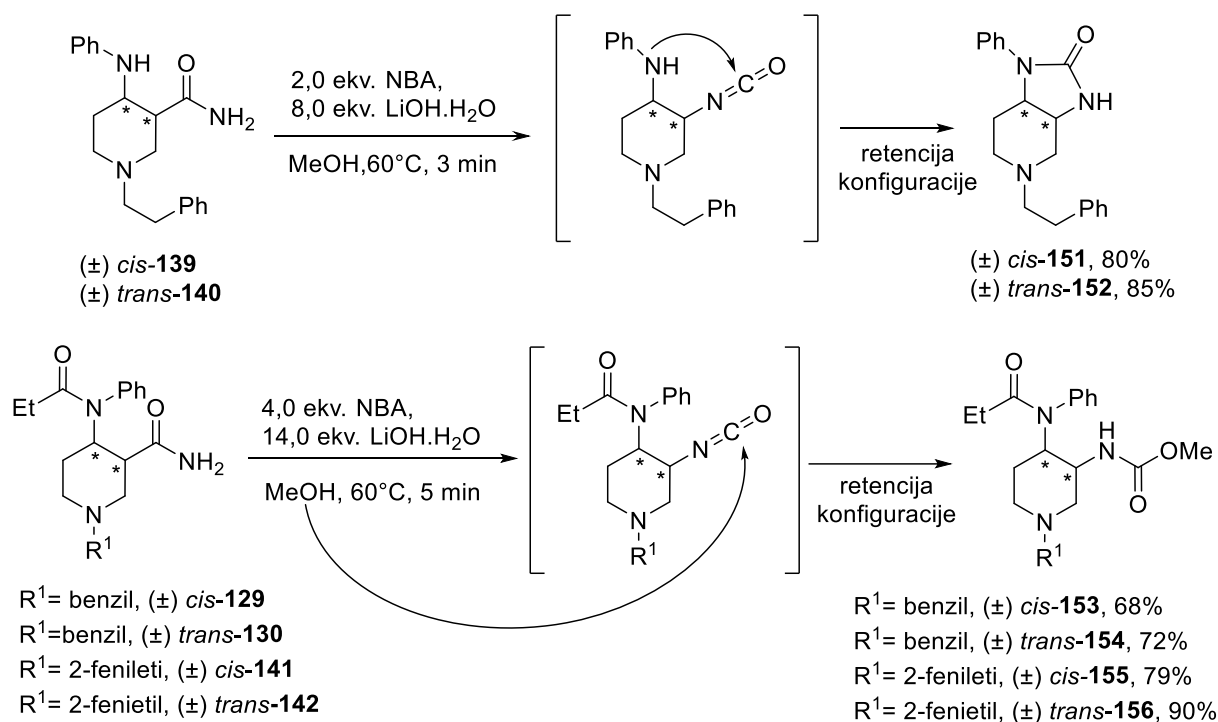
Pored karboksamida **141** i **142** i nitrila **149** i **150**, u okviru sintetičkog puta C, sintetisano je još 9 novih analoga fentanila.

Modifikovana metoda za Hofmann-ovo premeštanje karboksamida razvijena je u našoj laboratoriji. Upotrebom NBA i LiOH·H₂O kao baze, karboksamidi **139** i **140** su prevedeni u ciklične uree *cis*-**151** i *trans*-**152**, uz potpunu retenciju konfiguracije.⁹¹ Isti reakcioni uslovi primenjeni su i za dobijanje metil-karbamata **153-156** iz karboksamida **129**, **130**, **141** i **142** (Shema 27).⁹² U našem ranijem istraživanju pokazano je da reagensi koji se često koriste za Hofmann-ovo premeštanje kao što su NBS i jedinjenja hipervalentnog joda (PIDA, PIFA i (tozilimino)fenil-λ³-jodan)¹¹³⁻¹¹⁸ ne daju dobre rezultate u sintezi karboksamida **139**, **140**, **129**, **130**, **141** i **142**, zbog aromatičnog bromovanja ili oksidativnog raspada.^{91,92}

Kao intermedijer u Hofmann-ovom premeštanju nastaje izocijanat, koji zatim podleže nukleofilnom napadu rastvarača koji može biti voda ili alkohol.¹¹⁹ U reakciji dobijanja cikličnih urea **151** i **152**, entropijski je favorizovan intramolekulski nukleofilni napad β-amino grupe na izocijanatnu grupu, jer nastaje petočlani prsten, dok proizvod konkurentnog napada MeOH, koji je korišćen kao rastvarač, nije detektovan, kao što je ranije opisano.⁹¹ Sa druge strane, proizvod nukleofilnog napada MeOH na intermedijernu izocijanatnu grupu je jedini proizvod koji nastaje kod Hofmann-ovog premeštanja karboksamida **129**, **130**, **141** i **142**, s obzirom na to da ne postoji mogućnost za intramolekulsku nukleofilnu adiciju, jer je β-amino grupa alkanoilovana.⁹²

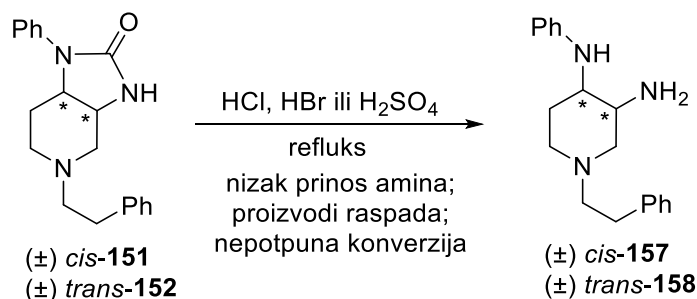
Iako se o stabilnosti litijumovih soli *N*-bromoamida navodi u literaturi,^{119,120} poznato je da i sam NBA može podleći Hofmann-ovom premeštanju u prisustvu baze. Zato su obe reakcije prvobitno izvedene na sobnoj temperaturi u toku 24h, ali je za potpunu konverziju reaktanata bilo potrebno koristiti veliku količinu NBA i LiOH·H₂O.⁹² Ipak, povećanjem temperature reakcije do 60 °C, postignuto je drastično ubrzanje i potpuna konverzija reaktanata sa znatno manjim količinama NBA i baze (Shema 26). Nisu primećeni proizvodi premeštanja/raspadanja NBA, verovatno jer je litijumova so NBA dovoljno stabilna.

Planarna, polarna ciklo-ureido grupa u **151** i **152** poseduje mogućnost za ostvarivanje vodoničnih interakcija u aktivnom mestu receptora. Stoga, uree **151** i **152** kao biciklični, rigidni 3-amino analozi fentanila mogu imati potencijalno interesantan farmakološki profil. Karbamati **155** i **156**, takođe predstavljaju potencijalno farmakološki aktivne analoge fentanila, jer poseduju planarnu i polarnu 3-*N*-metoksikarbonil-grupu, sposobnu za ostvarivanje dodatnih vodoničnih interakcija u vezivnom mestu μOR. Međutim, njihovi benzil analozi, **153** i **154**, poseduju ortogonalno zaštićenu primarnu i sekundarnu amino grupu koje se mogu deprotektovati različitim reagensima i u različitim reakcionim fazama kao što je napomenuto na početku ovog izlaganja. Stoga, mogu biti korisni kao intermedijeri u sintezi heterocikličnih jedinjenja sa azotnim funkcionalnim grupama.



Shema 27. Modifikovano Hofmann-ovo premeštanje karboksamida **139**, **140**, **129**, **130**, **141** i **142**

Pokušaji da se ciklične uree **151** i **152** prevedu u diamine **157** i **158** kiselo katalizovanom hidrolizom na povišenoj temperaturi rezultirali su delimičnim raspadom, dok su značajne količine reaktanata ostale neizreagovane (Shema 28).

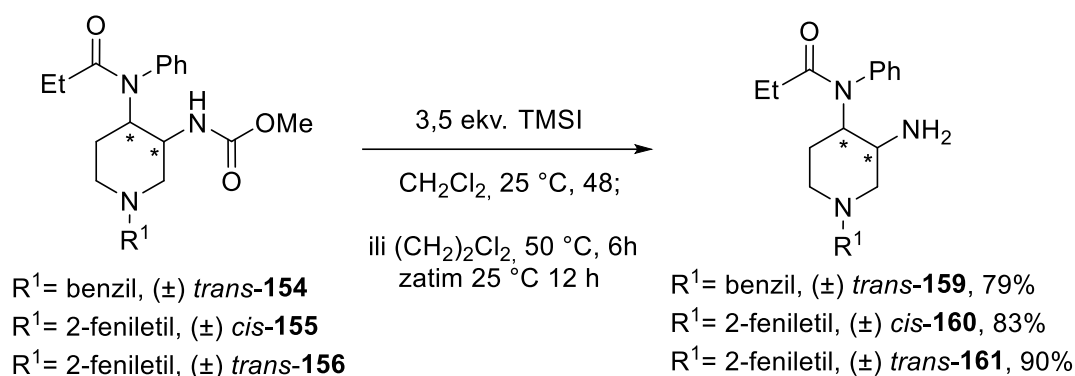


Shema 28. Kiselo-katalizovana hidroliza cikličnih urea **151** i **152**

Slično se ponašala i karbamatna grupa u jedinjenjima **153-156**, prema kiselo (HBr ili H₂SO₄) ili bazno (alkalni hidroksidi ili alkoksidi) katalizovanoj hidrolizi. Ipak, prevođenje karbamatne u primarnu amino grupu uspešno je izvršeno uz pomoć TMSI.

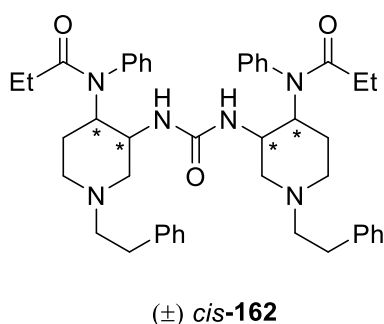
TMSI je toksičan reagens osetljiv na svetlost, veoma higroskopan i podložan hidrolizi u prisustvu vlage. Iako rad sa TMSI zahteva veliku pažnju i posebne reakcione uslove, ipak je jedan od veoma efikasnih i često korišćenih reagenasa za raskidanje karbamata koji ne podležu deprotekciji pod uslovima kisele katalize (*t*-butil karbamati) ili hidrogenolize (benzil i alil karbamati). Tako se metil i etil-karbamati najefikasnije deprotektuju pomoću TMSI.¹⁰¹

Deprotekcijom primarne amino grupe u karbamatima **154-156** uz pomoć TMSI, dobijeni su 3-amino derivati 4-anilidopiperidina **159-161** uz retenciju konfiguracije. Reakcije se izvode pod blagim uslovima, zaštićene od svetlosti. Ako se kao rastvarač koristi CH₂Cl₂ na sobnoj temperaturi, potrebno je 48 h da dođe do potpune konverzije reaktanata. Ipak, reakciju je moguće ubrzati blagim zagrevanjem reakcione smese do 50 °C, u (CH₂)₂Cl₂ bez promena u prinosu reakcije (Shema 29).



Shema 29. Deprotekcija primarne amino grupe pomoću TMSI

U toku deprotekcije *cis-155*, detektovano je 13 % sporednog proizvoda *cis-162* (Slika 16). Struktura je određena na osnovu 1D i 2D NMR spektroskopskih metoda a spektri su dati u Prilogu.



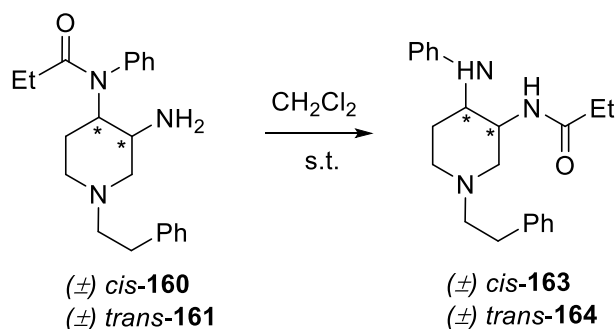
Slika 16. Pretpostavljena struktura sporednog proizvoda nastalog u reakciji deprotekcije (±) *cis-155*

Primarna amino grupa je polarna i bazna grupa koja potencijalno može uspostaviti jonske i vodonične interakcije sa receptorom stoga može imati veliki uticaj na farmakološku aktivnost 4-anilidopiperidina. Dalje, primarne i sekundarne amino grupe su sintetički veoma važne jer se mogu relativno lako modifikovati u reakcijama alkilovanja i alkanoilovanja. Na taj način omogućava se dobijanje novih funkcionalnih grupa koje mogu promeniti farmakološki profil nekog jedinjenja. Stoga su jedinjenja *cis-160* i *trans-161*, interesantna sa stanovišta sintetičke i medicinske hemije. Nastajanjem 3-amino derivata 4-anilidopiperidina, *trans-159*, demonstrirana je selektivna deprotekcija primarne amino grupe u prisustvu ortogonalno zaštićene sekundarne amino grupe. O pristupima za selektivno uklanjanje *N*-benzil-grupe bilo je reči kod opisivanja sintetičkog puta A.

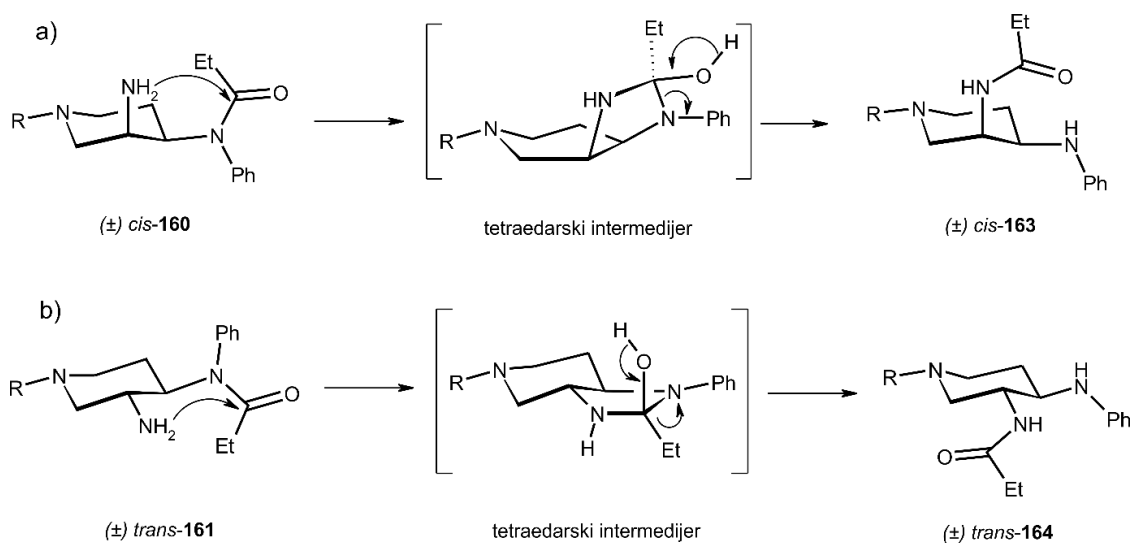
Sve dalje modifikacije primarne amino grupe vršene su na diastereomerima **160** i **161**, koji poseduju 2-feniletil grupu u položaju N_1 piperidinskog prstena, s obzirom na to da ova grupa predstavlja jedan od strukturnih motiva važnih za visoku opioidnu aktivnost 4-anilidopiperidina, kao što je već rečeno.

Primećeno je da kod 3-amino derivata **160** i **161** dolazi do intramolekulske transamidacije stajanjem u rastvoru CH_2Cl_2 . Proizvodi *cis-163* i *trans-164* su spektrometrijski potpuno okarakterisani. (Shema 30A).

A.



B.



Shema 30. A) Reakcija transamidacije i B) pretpostavljeni osnovni mehanizam reakcije

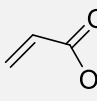
Intramolekulski N-O i N-S transfer acil-grupe poznat je još od 50-tih godina prošlog veka u kada je primećen u procesu sinteze peptida.¹²¹ Bazno katalizovani intramolekulski N-N acil transfer odnosno transamidacija, je 70-tih godina iskorišćen za dobijanje velikih poliaminolaktama a reakcija je nazvana “Zip” reakcija.¹²² U novije vreme, Zip reakcija je iskorišćena u sintezi supstituisanih piperazin-2-ona,¹²³ N-acilpirazola¹²⁴ i spiropiperidinskih derivata.¹²⁵ Takođe, u skorije vreme prvi put je uspešno izvršena intermolekulska transamidacija preko destabilizovanih 8-aminohinolinskih amida.¹²⁶ Intramolekulska transamidacija može biti kiselo, bazno ili termički katalizovana.¹²⁷ U nekim slučajevima Zip reakcija se dešava brzo, samim stajanjem jedinjenja u rastvaraču ili bez njega kao što je primećeno kod jedinjenja sa entropijski povoljno orijentisanim amidnom grupom koja je acil donor i amino grupom koja je akceptor acil grupe.¹²⁸

U ovom istraživanju, mehanizam transamidacije nije ispitivan, ni eksperimentalno (kinetika reakcije i dr.), ni teorijski. Reakcija se svakako odvija preko nestabilnog, cikličnog tetraedarskog intermedijera, čijim spontanom otvaranjem dolazi do N-N transfera propionil-grupe i nastajanja proizvoda transamidacije, (Shema 30B). Osnovni mehanizam ilustrovan je strukturama pod a) i b), koje su približno modelovane semiempirijskom metodom PM6. Geometrija i osobine prelaznih stanja nisu razmatrani. (Svi detaljniji proračuni su van okvira ovoga rada).

Eksperimentalno je nađeno da je brzina transamidacije znatno veća kod *cis*-**160** nego kod *trans*-**161**. Tako, stajanjem u rastvoru CH₂Cl₂, na sobnoj temperaturi u toku 24 h, *cis* izomer u značajnoj meri prelazi u proizvod transamidacije, dok se kod *trans* izomera taj proizvod detektuje tek nakon nekoliko dana.

Proizvodi intramolekulske transamidacije detektovani su i u toku *aza*-Michael-ove adicije amina *trans*-**161** na metil-akrilat (Tabela 1).

Tabela 1. Aza-Michael-ova adicija amina **161** na metil-akrilat

	 (ekv.)	MeOH	<i>t</i> -C ₅ H ₁₁ OH	AcOH (ekv.)	T (°C)	Vreme (h)	164 (%)	165 (%)
1	1.5	✓	/	0.5	60	5h	40	50
2	9.0	✓	/	/	60	6	/	93
					25	24		
3	10	/	✓	/	100	11.5	/	90
					25	15		
4	1.5		✓	0.5	100	4.5	90	/
5	/	/	✓	/	100	6	/	/
6	/	/	✓	0.5	100	4.5	100	/

Aza-Michael-ova reakcija tj. adicija amina na elektron-deficitarnu dvostruku vezu kod α,β -nezasićenih estara i drugih Michael-ovih akceptora, dobro je poznata u literaturi a i ekstenzivno je ispitivana u našoj laboratoriji.^{92,129,130} Reakcija se tipično odvija sporo i osetljiva je na sterne smetnje. Nađeno je da se može ubrzati izvođenjem reakcije u protičnim rastvaračima i dodatkom katalitičke količine kiseline, zagrevanjem reakcione smese, dodavanjem α,β -nezasićenih estara u višku i mikrotalasima, dok se kao rastvarači najčešće koriste alkoholi.

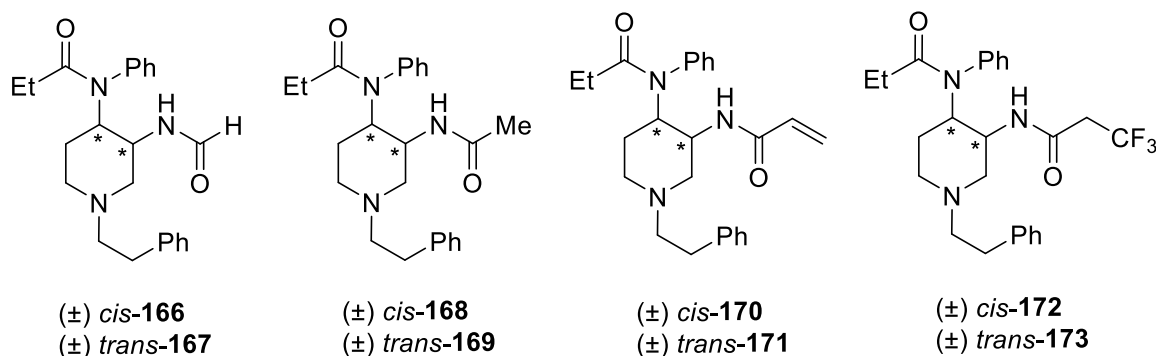
Izvođenjem reakcije u MeOH sa dodatkom 0,5 ekv. AcOH, nakon 5h refluksa, konverzija reaktanata bila je ~90%, pri čemu je uz proizvod adicije **165**, nastala znatna količina proizvoda transamidacije **164** (Tabela 1, red 1). Ipak, dodatak metil-akrilata u višku, ubrzao je adiciju bez dodatka kiseline pri čemu je nastao željeni proizvod **165**, dok sporedni proizvod transamidacije nije detektovan (Tabela 1, red 2).

Kada je umesto MeOH upotrebljen t -C₅H₁₁OH nađeno je da se reakcija odvija znatno sporije, tako da je tek produženim zagrevanjem došlo do potpune konverzije i nastajanja proizvoda **165** (Tabela 1, red 3). Pretpostavljeno je da reakcija ide sporije u t -C₅H₁₁OH jer je on manje kiseo od MeOH. Ipak dodatkom 0,5 ekv. AcOH, nakon 4,5 h refluksa, došlo je do potpune konverzije amina **161**, ali je nastao samo proizvod transamidacije **164** (Tabela 1, red 4). Izvedena je i "slepa proba" u t -C₅H₁₁OH, bez dodatka metil-akrilata. Nađeno je da zagrevanjem amina **161** u t -C₅H₁₁OH, bez dodataka kiseline, ne dolazi do transamidacije ni posle 6h refluksa reakcione smese (Tabela 1, red 5), dok uz dodatak katalitičke količine AcOH, kvantitativno dolazi do transamidacije nakon 4,5 h refluksa. Na taj način je dokazano da je intramolekulska transamidacija kod amina **160** i **161** kiselo katalizovana, a da su dovoljni tragovi kiselog katalizatora (Tabela 1, red 6).

Pokušaji adicije amina *cis*-**160** na metil-akrilat, nisu dali željeni proizvod jer je u svim eksperimentima dominantno nastajao proizvod transamidacije *cis*-**163**. Ovaj rezultat je u skladu sa prethodno dokazanom činjenicom da *cis*-**160** brže podleže transamidaciji od *trans* diastereomera.

Jedinjenje (\pm) *trans*-**165** predstavlja derivat 4-anilidopiperidina sa β -aminoestarskom grupom u položaju C₃ piperidinskog prstena. Ovaj strukturni motiv poseduje sekundarnu amino i estarsku grupu koje mogu potencijalno učestvovati u jonskim i vodoničnim interakcijama sa aktivnim mestom receptora. Zbog mogućih dodatnih interakcija, farmakološki profil *trans*-**165** može se značajno razlikovati od fentanila što ga čini interesantnim kandidatom za farmakološka ispitivanja.

U daljem tekstu biće više reči o reakcijama primenjenijim za konverziju primarne amino grupe jedinjenja *cis*-**160** i *trans*-**161** u sekundarne karboksamide opšte strukture **VIII** (Shema 16). Kao što je ranije opisano, sterno-elektronski efekti planaranih, polarnih karboksamidnih grupa na interakcije liganada sa aktivnim mestom receptora, mogu biti značajni za njihov farmakološki profil. Sekundarni karboksamidi predviđeni za sintezu prikazani su na Slici 17.



Slika 17. Strukture sekundarnih karboksamida predviđenih za sintezu kao potencijalno farmakološki aktivnih analoga fentanila

Predviđeno je da se formamidi **166** i **167** dobiju reakcijom formilovanja primarne amino grupe prekursora **160** i **161**. Formilovanje amina je važna reakcija u organskoj sintezi. Počev od toga da je *N*-formil- grupa je dobra zaštitna grupa u sintezi peptida,¹³¹⁻¹³³ formamidi su i važni intermedijeri u sintezi.¹³⁴⁻¹⁴³

Za dobijanje formamida tokom godina su razvijene različite metode.¹⁴⁴⁻¹⁴⁹ Stehiometrijske metode kao formilujuće reagenase koriste: hloral, paraformaldehid, mravlju kiselinu, i njene estre ili mešovite anhidride, zatim amonijum-formijat i metanol. Kao katalizatori se najčešće koriste mineralne ili organske kiseline, zatim Lewis-ove kiseline koje su soli prelaznih metala i lantanoida. Mravlja kiselina je u ovim reakcijama često aktivirana uz pomoć *N,N'*-dicikloheksilkarbodiimida (DCC), *N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil)karbodiimida (EDC) li drugih reagenasa koji se koriste u reakcijama amidnog kuplovanja. Katalitička karbonilacija amina je takođe poznata, gde se koristi CO kao formilujuć reagens uz jonske tečnosti, prelazne metale ili oksidanse kao katalizatore. Većina

ovih metoda podrazumeva energične reakcione uslove, teže dostupne reagense i niske prinose, a neke od njih nisu pogodne za dobijanje sekundarnih formamida. N-Formilovanje bez upotrebe katalizatora moguće je uspešno ostvariti aktiviranim estrima mravlje kiseline kao što su fenil- i pentafluorofenil-formijat.¹⁵⁰⁻¹⁵² Međutim ovi estri nisu lako dostupni. Za razliku od njih formilovanje etil-formijatom, kao jeftinim i lako dostupnim reagensom, moguće je u prisustvu kiselih katalizatora kao što su $\text{TiCl}_3(\text{OTf})$ ili SiO_2 -vezana sulfaminska kiselina.^{153,154} Bazno katalizovano formilovanje etil-formijatom je moguće ostvariti u prisustvu jakih baza kao što su MeONa .¹⁵⁵ Reakcije ovog tipa se često izvode u etil-formijatu kao rastvaraču, a neophodne su stehiometrijske količine baze.

U okviru ovog rada, prvobitno je pokušana sinteza karboksamida *trans*-**167**, u etil-formijatu kao rastvaraču, bez dodatka baze. Nakon višerasovnog refluksa reakcione smese, nastale su vrlo male količine željenog proizvoda. Dodatak MeONa kao baze, nije mnogo doprineo efikasnosti reakcije. Poznato je da DBU kao jaka, nenukleofilna baza može da ubrza reakcije ovog tipa.^{156,157} Kada je umesto MeONa dodata stehiometrijska količina DBU, željeni proizvod dobijen je u visokom prinosu posle 5 h refluksa i dodatnih 20 h mešanja na sobnoj temperaturi. Dodavanjem DMF-a kao ko-rastvarača u odnosu 2:8 sa etil-formijatom, primećeno je malo ubrzanje reakcije. Iz razloga ekonomičnosti, DBU je zamenjen drugom često korišćenom nenukleofilnom bazom kao što je Et_3N . Međutim, u ovom slučaju dobijene su male količine proizvoda. Sterna zaklonjenost primarne amino grupe u *trans*-**161**, najverovatnije je razlog spore konverzije do karboksamida *trans*-**167**.

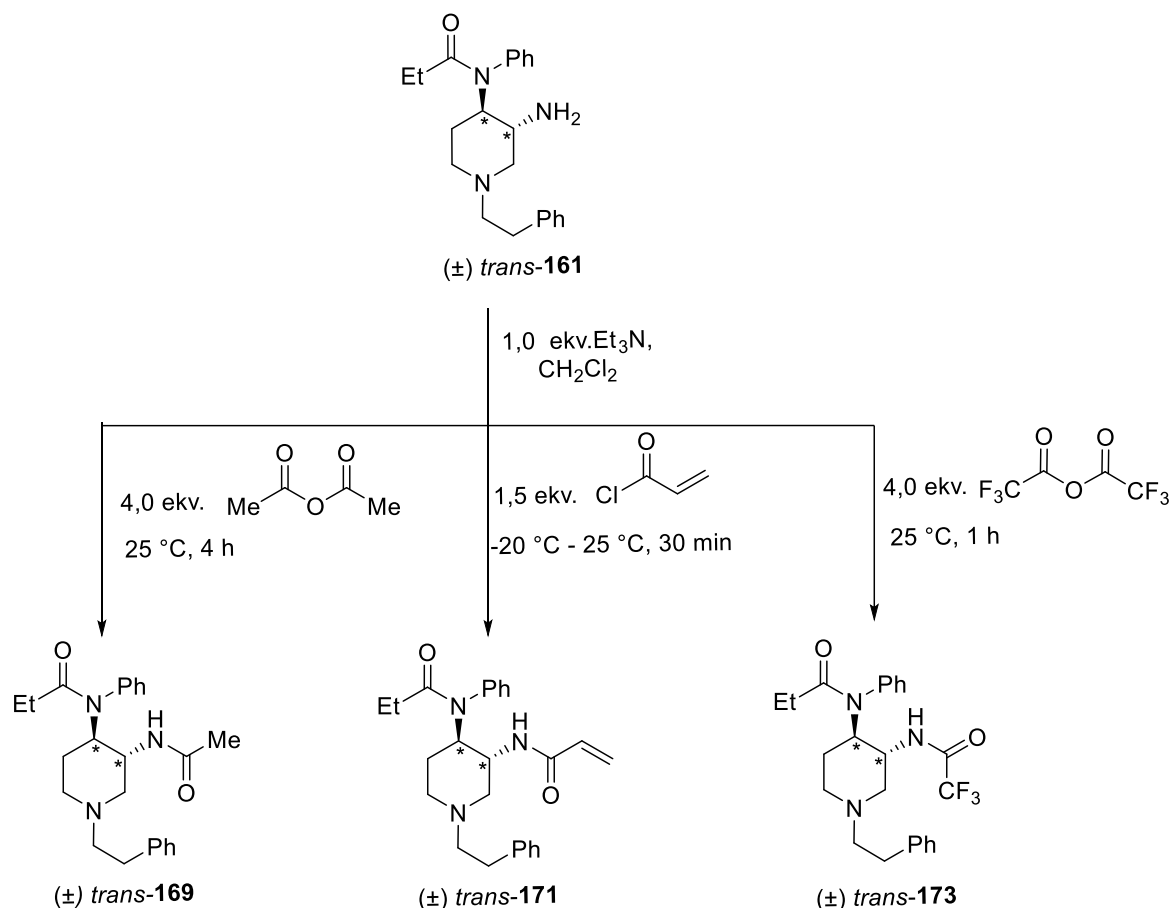
Radi dalje optimizacije reakcije, isproban je i formamid kao formilujući agens. Formamid je poznat kao reagens za dobijanje karboksamida iz estara, metodom koja je uz modifikacije primenjena u sintezi karboksamida **137-140** u okviru ovog rada,^{92,104-106} a od nedavno primenjen je i u reakcijama formilovanja amina.¹⁵⁸ Nađeno je da željeni karboksamid *trans*-**167**, nastaje u visokom prinosu, nakon 24 h mešanja na sobnoj temperaturi, kada se reakcija izvodi u prisustvu 10,0 ekv. baze (MeONa ili MeOLi) i formamida, u THF kao rastvaraču. Međutim, maksimalno poboljšanje efikasnosti i ekonomičnosti reakcije postignuto je pod uslovima koji su primenjeni u sintezi karboksamida **137-140** u ovom radu (Shema 31). Na ovaj način, dobijen je formamid *trans*-**167** u visokom prinosu, uz pomoć lako dostupnih i ekonomičnih reagenasa.



Shema 31. Dobijanje karboksamida *trans*-**167** uz pomoć formamida kao formilujućeg reagensa

Međutim, diastereomer *cis*-**166** nije mogao biti dobijen pod eksperimentalnim uslovima primenjenim u ovom radu. Najverovatniji razlog nereaktivnosti *cis*-**160** u ovoj reakciji su sterne smetnje i/ili jake intramolekulske vodonične interakcije primarne amino grupe sa C_3 i anilidne grupe sa C_4 u *cis* položaju. Druge metode za formilovanje nisu ispitane u okviru ovog rada.

Stereoselektivna sinteza karboksamida **169**, **171** i **173** iz amina *trans*-**161**, uspešno je izvršena pod standardnim uslovima za alkanoilovanje amina (Shema 32).^{51,102} Sve tri reakcije alkanoilovanja su izvedene pod blagim reakcionim uslovima u CH_2Cl_2 kao rastvaraču. Najbrže se odvijala reakcija alkanoilovanja akrilil-hloridom, s obzirom na to da su alkanoil-halogenidi reaktivniji od anhidrida kiseline u reakcijama alkanoilovanja. Alkanoilovanje anhidridom trifluorosirćetne kiseline, bilo je brže od reakcije sa acetanhidridom, jer elektron-privlačni fluorovi atomi povećavaju reaktivnost karboksilnog ugljenika.



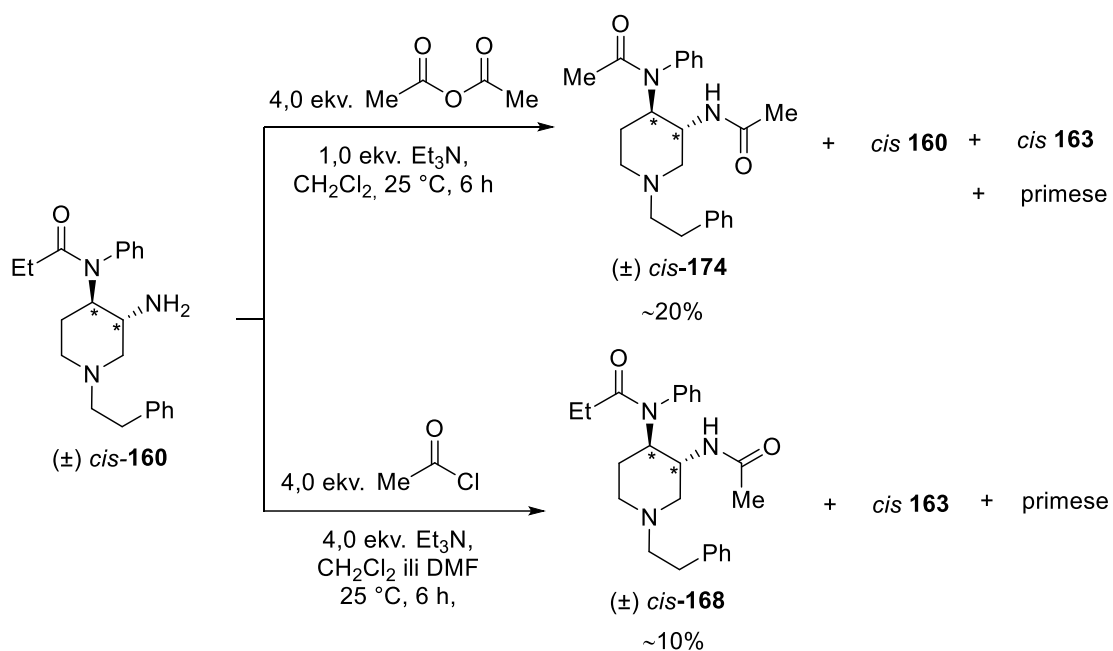
Shema 32. Sinteza karboksamida **169**, **171** i **173**

U reakciji diastereomernog amina *cis*-**160** sa acetanhidridom, pod istim reakcionim uslovima kao u sintezi *trans*-**161**, umesto proizvoda alkanoilovanja, izolovano je 20 % proizvoda formalnog *bis*-acetilovanja *cis*-**174** uz neizreagovali amin (Shema 33) i proizvod transamidacije *cis*-**163**. Dodavanje katalitičke količine DMAP-a, reagensa koji se često koristi za ubrzavanje reakcija acilovanja, nije poboljšalo reakcioni ishod. Kada je umesto acetanhidrida upotrebljen acetil- hlorid, dobijen je proizvod alkanoilovanja *cis*-**168** u veoma niskim prinosima. Reakcioni ishod je malo poboljššan izvođenjem reakcije u DMF, za koji je ranije u okviru ovog rada potvrđeno da pospešuje alkanoilovanje sterno zaštićenih amina. Struktura *bis*-acetilovanog proizvoda *cis*-**174** je određena na osnovu 1D i 2D NMR spektroskopije a potvrđena HRMS-om. Ipak nije utvrđeno koji je mehanizam nastajanja ovog proizvoda. Iako je struktura karboksamida *cis*-**168**, potvrđena HRMS-om, u NMR spektrima se vidi prisustvo primesa koje nisu mogle biti izolovane standardnim laboratorijskim tehnikama za prečišćavanje jedinjenja (flash i “dry-colum” flash hromatografija) jer imaju istu R_f vrednost kao proizvod. Spektri oba jedinjenja prikazani su u Prilogu.

Karboksamidi *cis*-**170** i *cis*-**172**, (Slika 17) međutim nisu mogli biti sintetisani pod ovim uslovima. U nekoliko eksperimenata su modifikovane količine acilujućeg reagensa, baze, i temperature. Iako se do sada pokazalo da DMF poboljšava ishod ovih reakcija, u ovom slučaju nije bilo pozitivnog efekta usled promene rastvarača. U svim eksperimentima nastale su smese proizvoda vrlo bliskih R_f vrednosti, koje nisu mogle biti prečišćene hromatografski.

Bez složenog teorijskog modelovanja, nije moguće proceniti razloge niske i neuobičajene reaktivnosti amina *cis*-**160** i nastajanje sporednih proizvoda u reakcijama aza-Michael-a i alkanoilovanja koje su izvedene u okviru ovog rada.

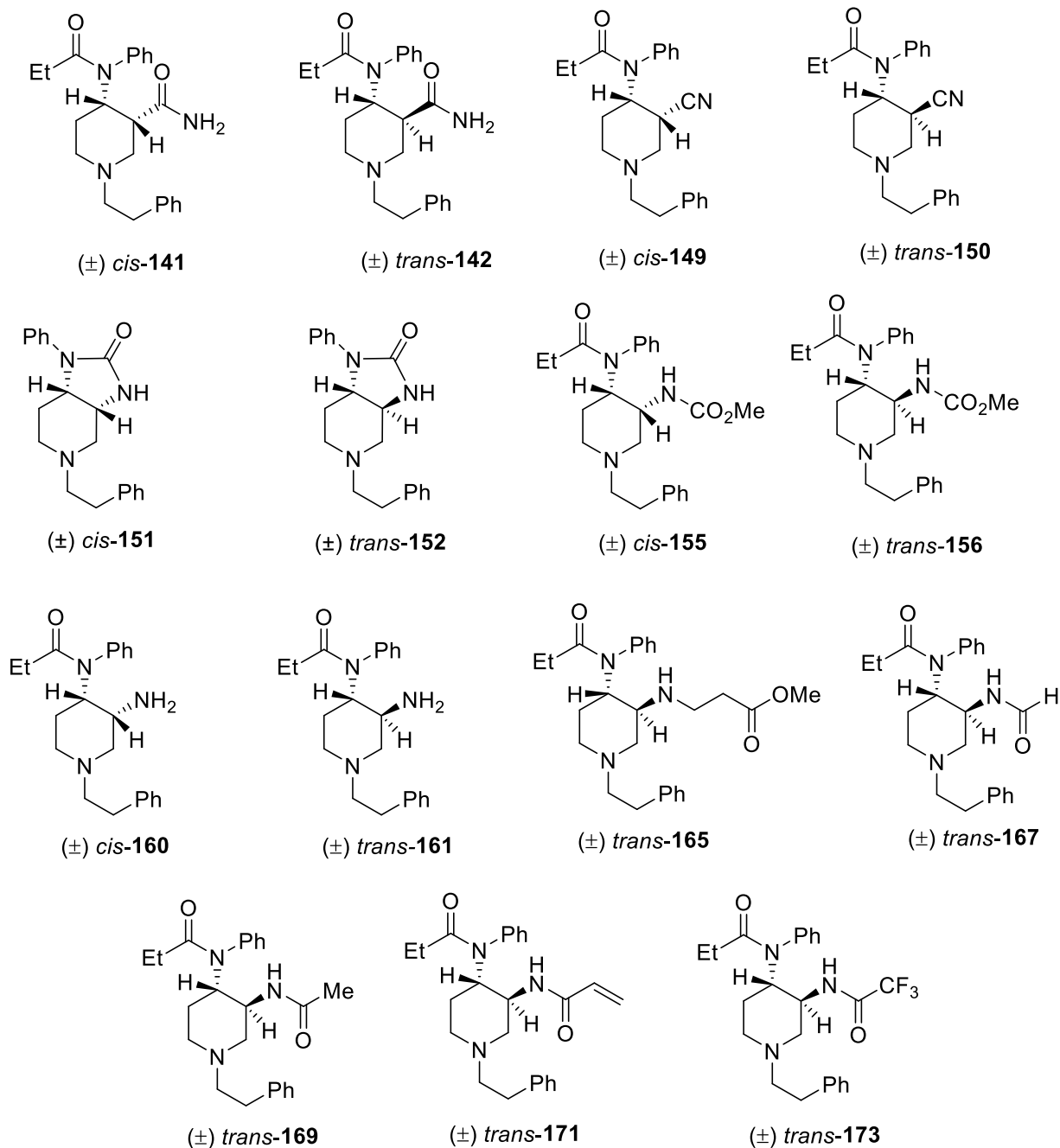
Ipak može se zaključiti da se transamidacija *cis*-**160** odvija brže u odnosu na isto premeštanje kod *trans*-**161**, iz razloga prostorne blizine primarne amino grupe u položaju C₃ i anilidne grupe u položaju C₄ piperidinskog prstena, koje u tom premeštanju učestvuju.



Shema 33. Alkanoilovanje karboksamida *cis*-**160**

3.1.2. Određivanje relativne konfiguracije diastereomernih 3-supstituisanih anilidopiperidina

Optimizovanim i efikasnim sintetičkim putem **C** dobijeno je 13 novih analoga fentanila sa azotnim grupama u položaju C₃ piperidinskog prstena (Slika 18).



Slika 18. Sintetisani derivati fentanila sa različitim azotnim grupama u položaju C₃ piperidinskog prstena

Dobijena jedinjenja su *cis* ili *trans* konfiguracije, od čega je 4 diastereomernih *cis* i *trans* parova i još 5 *trans* diastereomera. Takođe je optimizovana sinteza jedinjenja **151** i **152**, sintetisanih u okviru prethodnog istraživanja u našoj laboratoriji.⁹¹

Sve strukture prikazane na Slici 18. predstavljaju relativnu stereochemiju. U ovom istraživanju enantiomeri nisu razdvajani ni u jednom slučaju. Stereochemijski deskriptori su dati samo radi preglednosti.

Struktura svih jedinjenja i relativna konfiguracija svih *cis* i *trans* diastereomera sintetisanih u okviru ovog rada određena je na osnovu 1D, 2D NMR spektroskopije i HRMS. Za određivanje strukture jedinjenja najkorisniji su bili HSQC eksperimenti i HRMS, dok su za određivanje relativne konfiguracije na ugljenikovim atomima C₃ i C₄ piperidinskog prstena korišćeni NOESY eksperimenti. Struktura i relativna konfiguracija svih prekursora kao i odgovarajućih *N*-benzil analoga određena je na isti način.

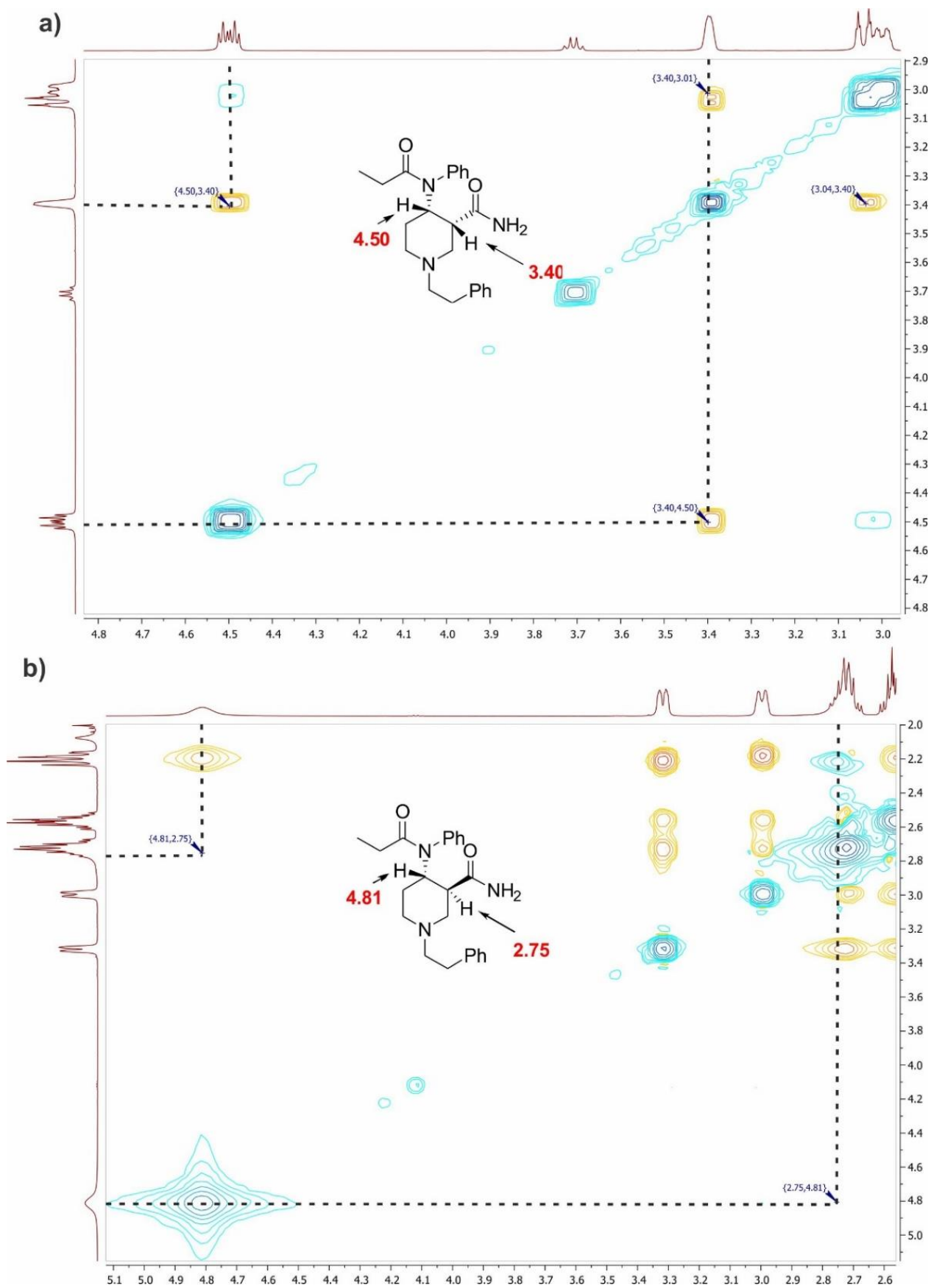
Struktura i relativna konfiguracija cikličnih urea *cis*-**151** i *trans*-**152** određene su i publikovane u našem ranijem radu, stoga ovde nisu razmatrane.⁹¹

Dalje u tekstu su prikazani oni regioni NOESY i HSQC spektara finalnih jedinjenja koji su relevantni za utvrđivanje relativne *cis/trans* konfiguracije. Korelacije koje su važne za određivanje relativne konfiguracije, prikazane su kao crvene ili žute izohipse, povezane crnim, isprekidanim linijama (Slike 19-26).

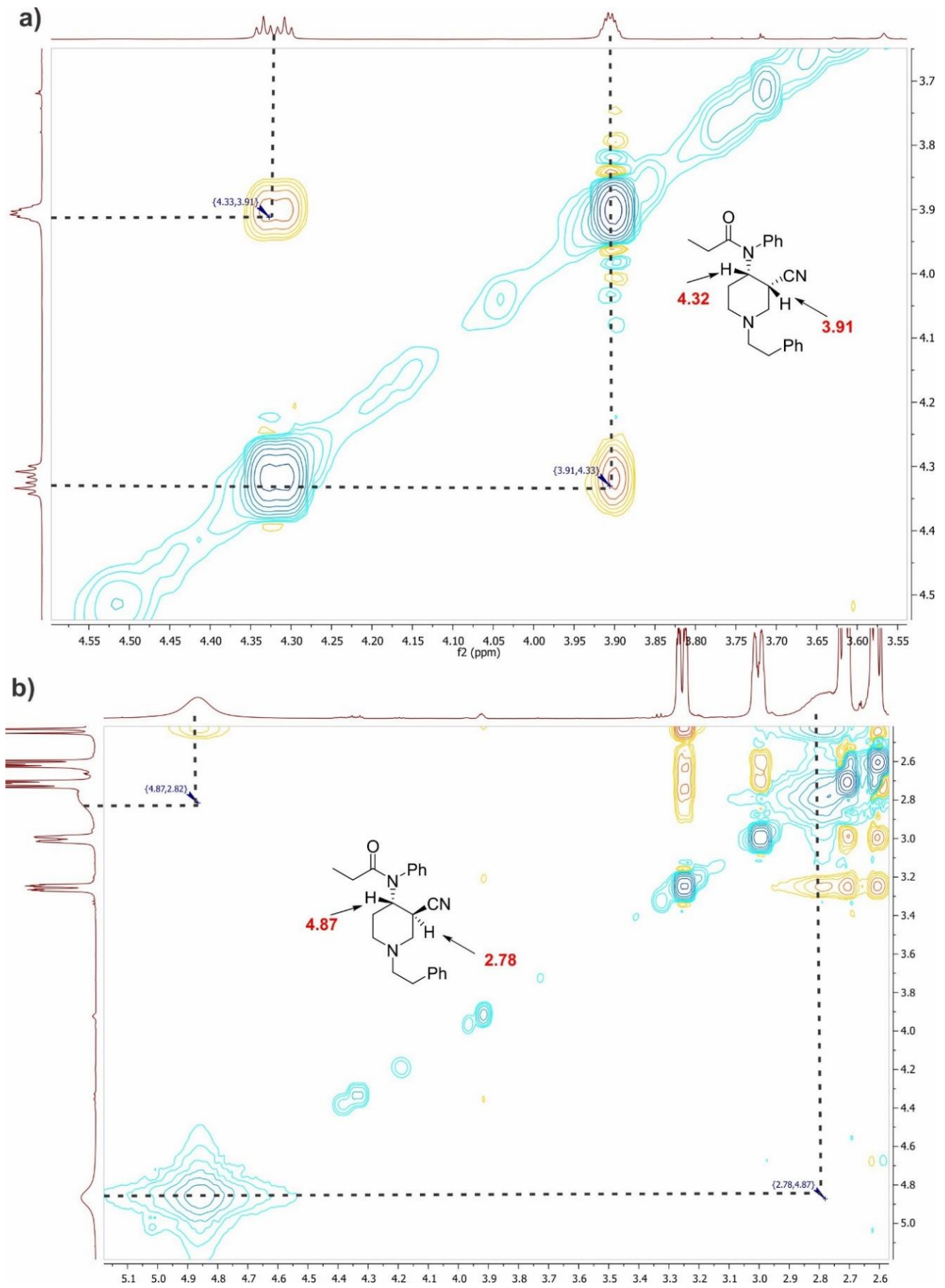
U NOESY spektrima, prikazano je kuplovanje H atoma kroz prostor. Intenzitet kuplovanja između susednih, vicinalnih C₃-H i C₄-H atoma zavisi od njihove prostorne blizine. Kod *cis* diastereomera C₃-H i C₄-H atomi su orijentisani sa iste strane piperidinskog prstena i međusobno su bliži nego kod *trans* diastereomera, kod koga su C₃-H i C₄-H atomi orijentisani sa suprotne strane piperidinskog prstena. Zbog toga su C₃-H i C₄-H korelacije u NOESY spektrima *cis* diastereoizomera jače izražene nego kod *trans* diastereomera kao što se može videti na Slikama 19-23 i 25.

Kod jedinjenja **160**, nemoguće je odrediti relativnu konfiguraciju na osnovu NOESY spektra, jer se signali C₃-H i C₄-H, nalaze na istom pomeranju u ¹H spektru (Slika 22). Jedinjenju **160** je pripisana *cis* konfiguracija, po analogiji sa ostalim jedinjenjima *cis* konfiguracije, a i na osnovu toga što slabe korelacije u NOESY spektru ukazuju da je njegov diastereomer **161** *trans* konfiguracije (Slika 23).

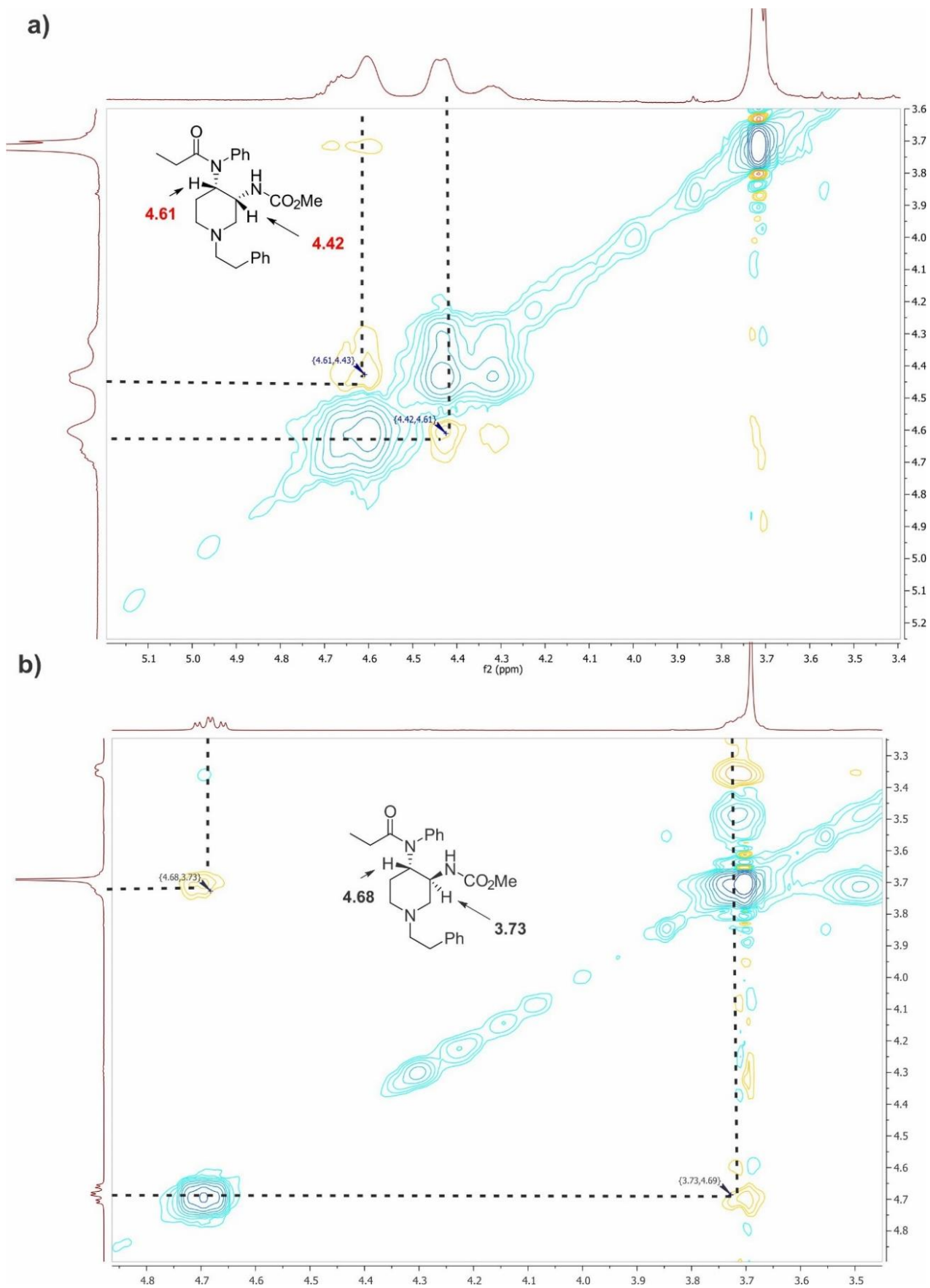
Kod jedinjenja *trans*-**165**, *trans*-**167**, *trans*-**171** i *trans*-**174**, NOESY korelacije nisu mogle biti upoređene sa *cis* diastereomerima zbog toga što *cis* diastereomeri tih jedinjenja nisu mogli biti sintetisani (Slika 24 i 26). Ipak slabe korelacije između C₃-H i C₄-H, ukazuju na *trans* konfiguraciju ovih diastereomera.



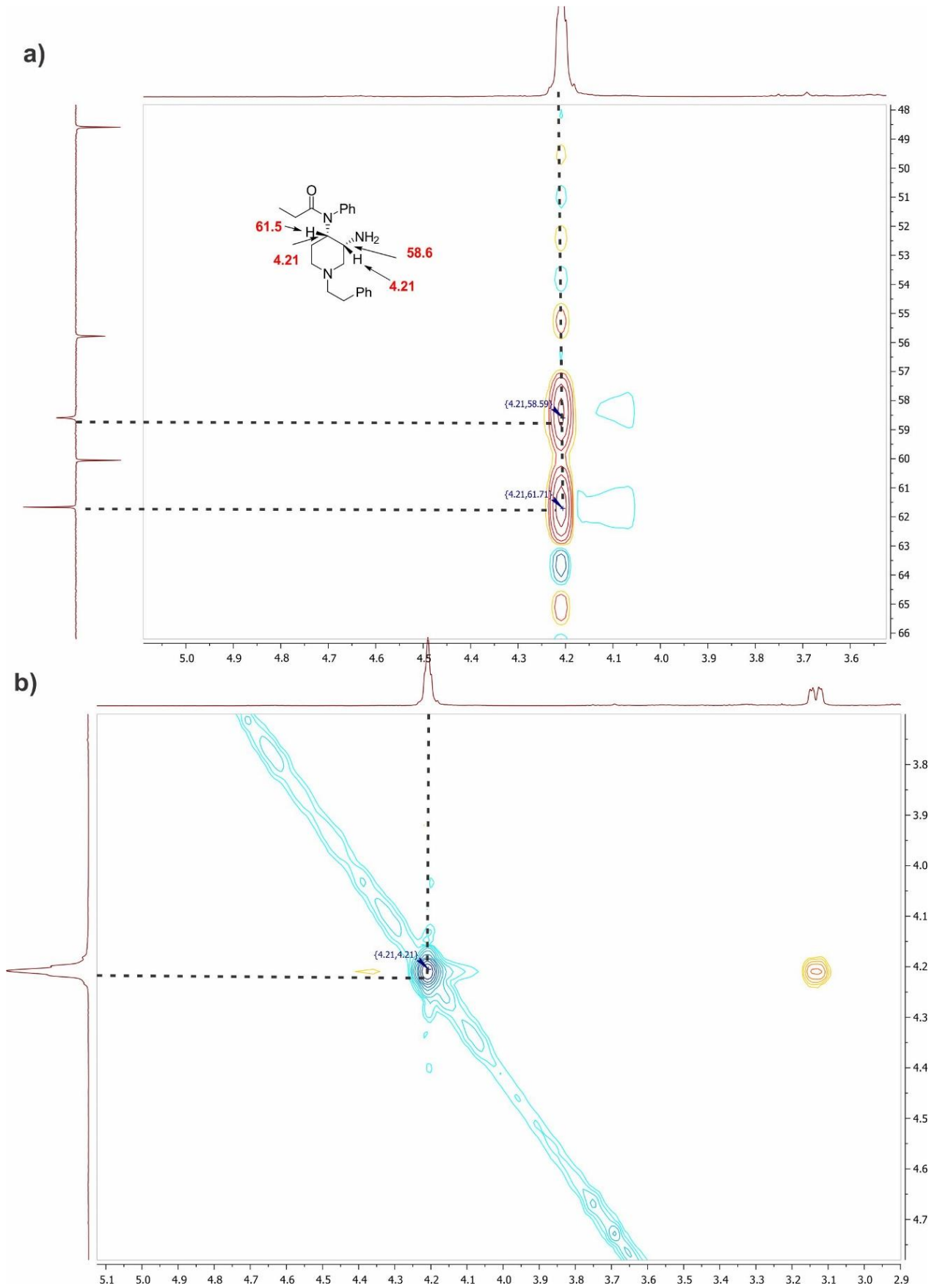
Slika 19. Deo NOESY spektra koji potvrđuje relativnu konfiguraciju jedinjenja a) (\pm) *cis*-**141**, b) (\pm) *trans*-**142**



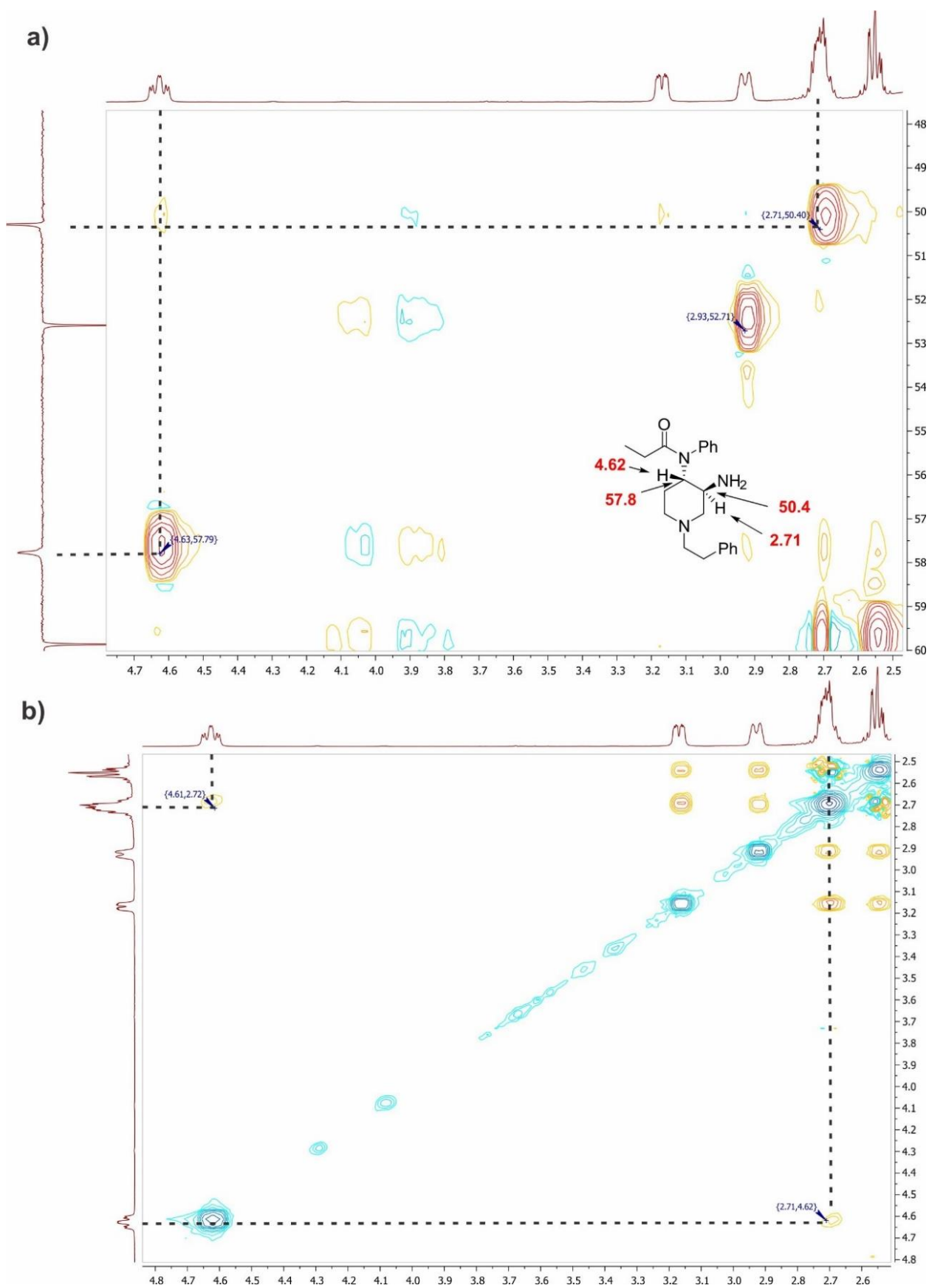
Slika 20. Deo NOESY spektra koji potvrđuje relativnu konfiguraciju jedinjenja a) (\pm) *cis*-149, b) (\pm) *trans*-150



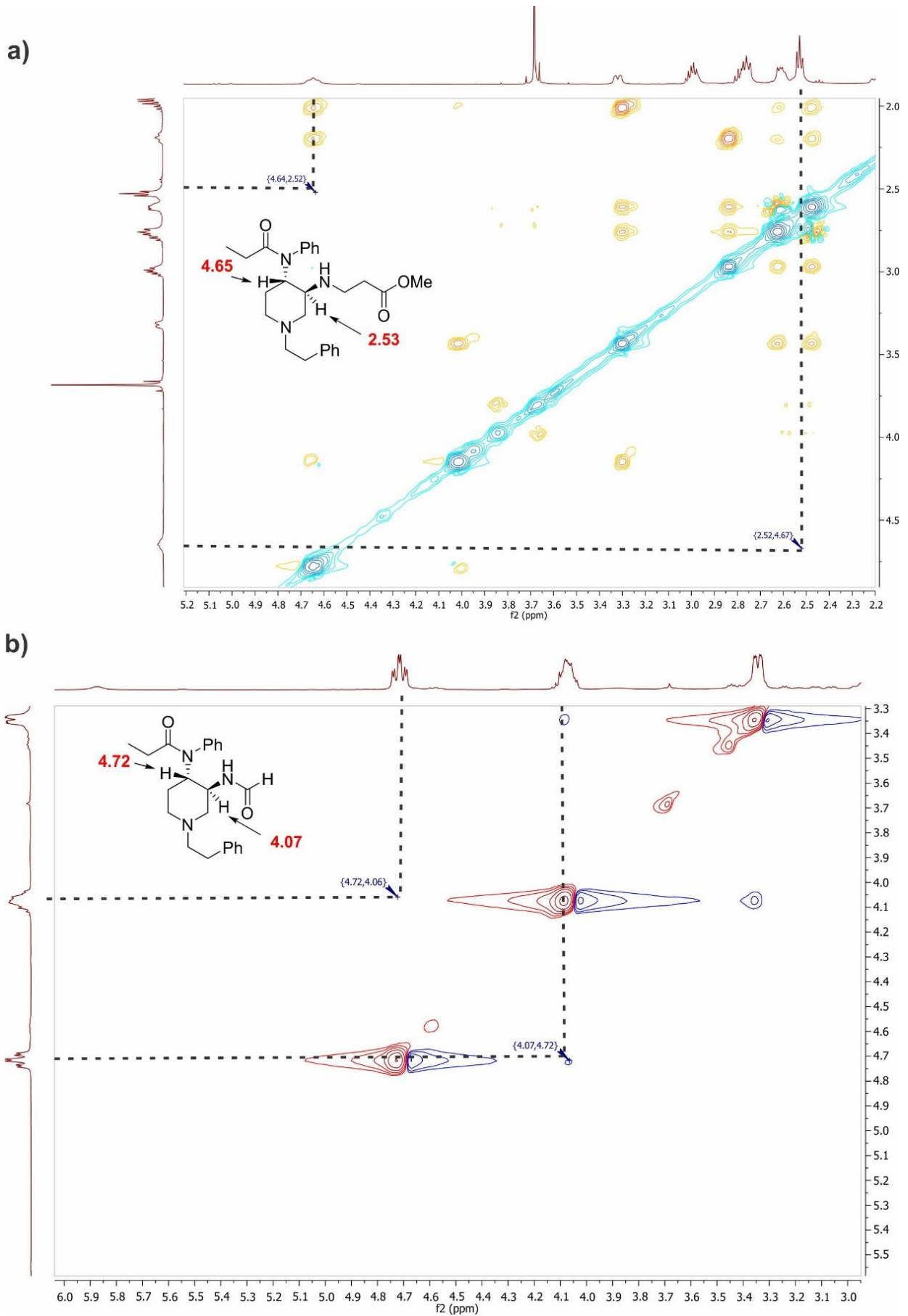
Slika 21. Deo NOESY spektra koji potvrđuje relativnu konfiguraciju jedinjenja a) (\pm) *cis*-155, b) (\pm) *trans*-156



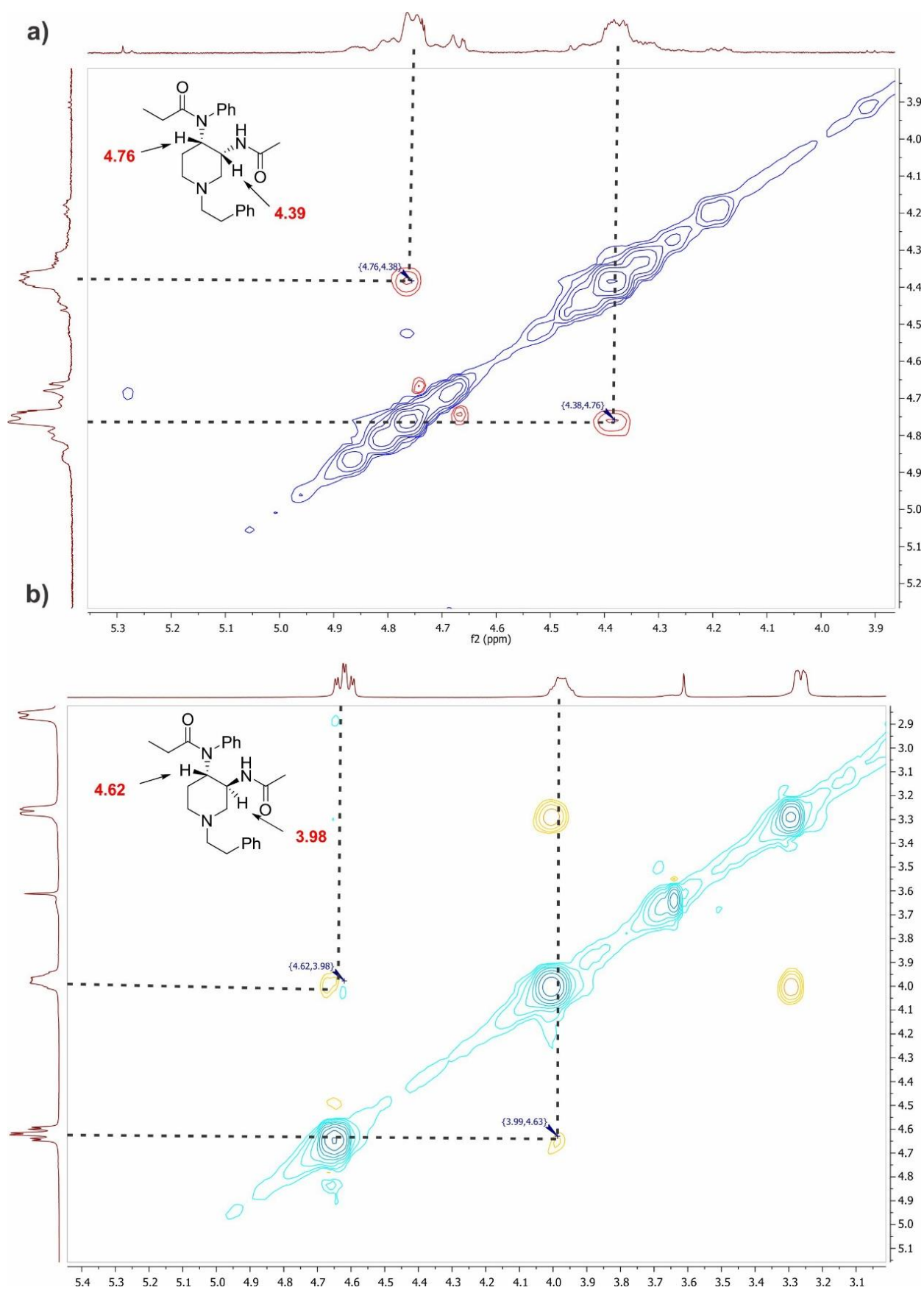
Slika 22. a) Deo HSQC spektra, i b) deo NOESY spektra koji prikazuje korelacije C-H i H-H signala relevantne za određivanje relevantne konfiguracije (\pm) *cis*-160



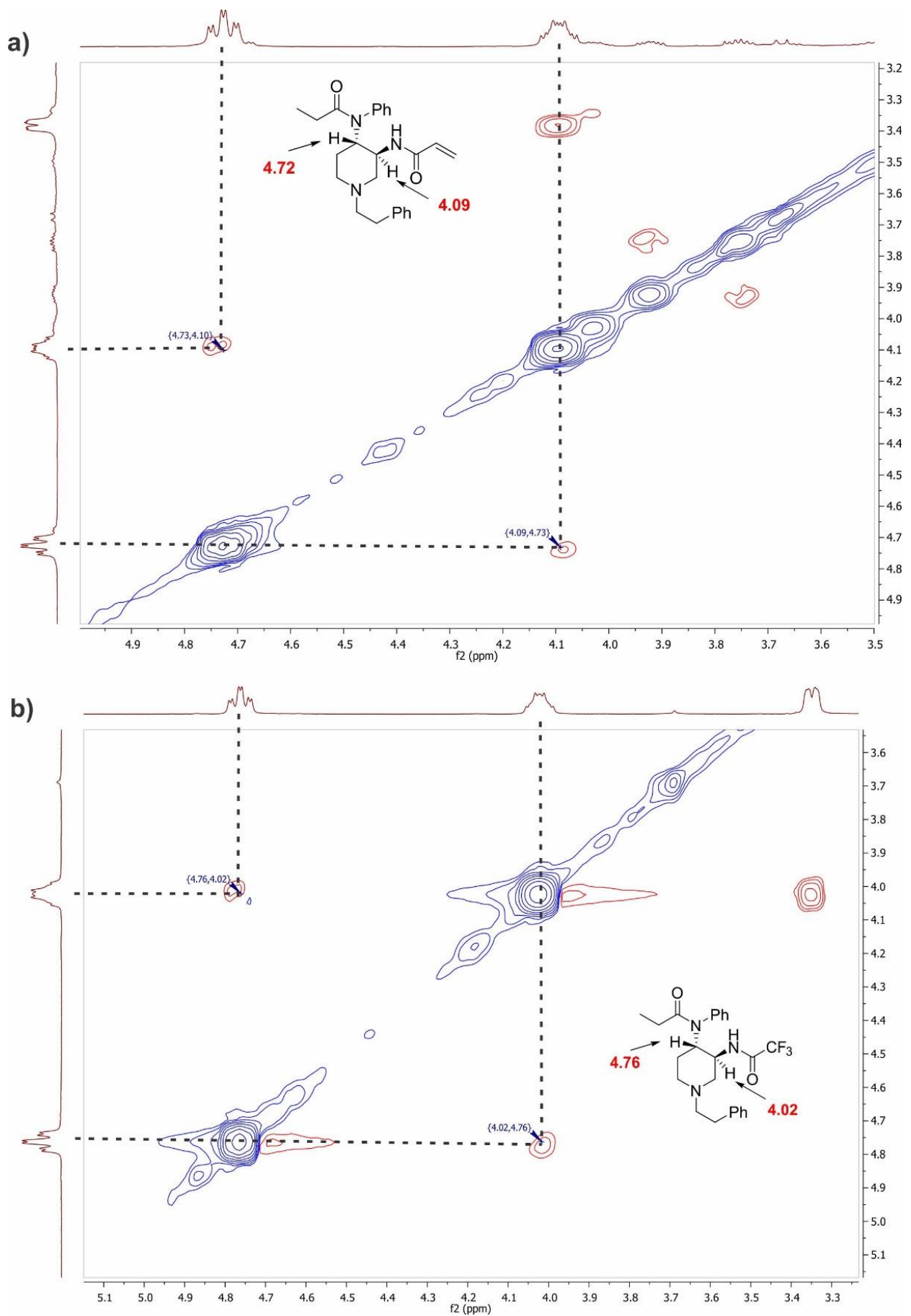
Slika 23. a) Deo HSQC spektra, i b) deo NOESY spektra koji prikazuje korelacije C-H i H-H signala relevantne za određivanje relevantne konfiguracije (\pm) *trans*-161



Slika 24. Deo NOESY spektra koji potvrđuje relativnu konfiguraciju jedinjenja a) (\pm) *trans*-165, b) (\pm) *trans*-167



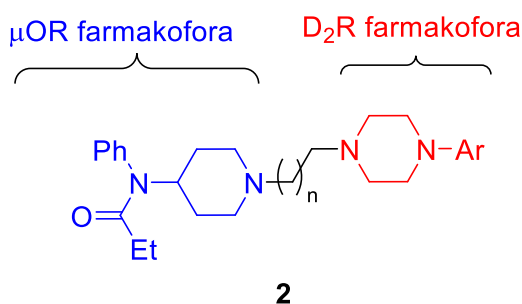
Slika 25. Deo NOESY spektra koji potvrđuje relativnu konfiguraciju jedinjenja a) (\pm *cis*-168, b) (\pm *trans*-169)



Slika 26. Deo NOESY spektra koji potvrđuje relativnu konfiguraciju: a) (\pm) *trans*-171; b) (\pm) *trans*-173

3.1.3. Sinteza derivata 4-anilidopiperidina povezanih alkil mostom sa različitim arilpiperazinima

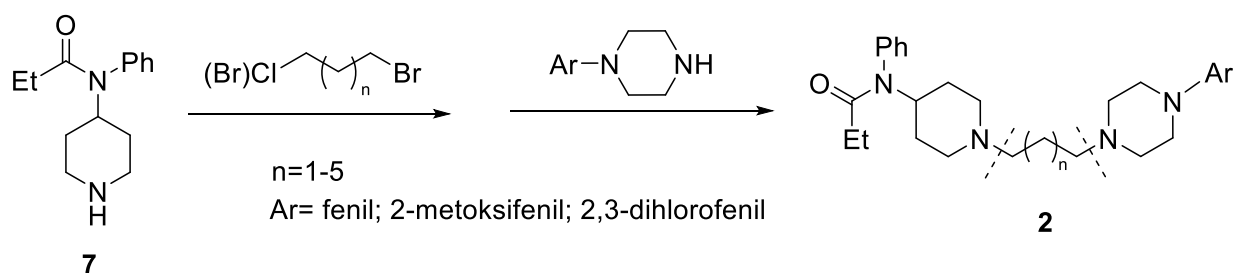
Kao što je već rečeno u Uvodu i pregledu literature, postoje brojni dokazi o ko-distribuciji i ukrštenoj regulaciji opioidnog i dopaminergičkog signalnog sistema u mozgu, što je važno za razumevanje procesa koji vode psihičkoj zavisnosti izazvanoj opijanima.¹⁷⁻²⁶ Takođe su rezultati mnogih *in vivo* i *in vitro* testova ukazali na postojanje direktnih interakcija između D₂DR i μOR kao i na mogućnost formiranja heterodimera ovih receptora.²⁷⁻³¹ Bilo da postoje u obliku monomera ili heterodimera, oba receptora predstavljaju jedinstvenu potencijalnu metu za razumevanje i lečenje zavisnosti.¹⁷⁻³¹ S tim u vezi u okviru ovog istraživanja sintetisana je serija jedinjenja opšte strukture **2** (Slika 27), koja poseduju agonističku μOR farmakoforu i agonističku D₂-dopaminsku farmakoforu, povezane alkil-mostom.^{159,160}



Slika 27. Opšta struktura potencijalnih μOR-D₂DR heterobivalentnih liganada sintetisanih u ovom radu

Kao što je već rečeno, 4-anilidopiperidinski ostatak predstavlja strukturni motiv prisutan u jakim opioidnim analgeticima poput fentanila i njegovih analoga, zbog čega je izabran kao μ-opioidna farmakofora u sintezi potencijalnih heterobivalentnih liganada. Kao D₂-dopaminska farmakofora izabrani su *N*-arilpiperazini koji se često pojavljuju kao strukturni motiv kod jedinjenja koji su agonisti D₂DR i D₃DR: fenil, 2-metoksifenil i 2,3-dihlorofenil-piperazin (Slika 27).¹⁶¹⁻¹⁶⁴ S obzirom na to da nije poznata udaljenost aktivnih mesta pojedinačnih receptora u μOR-D₂DR heterodimeru, planirano je da fleksibilni alkil most sa tri do sedam metilenskih grupa povezuje ove dve farmakofore. Time bi se omogućilo da farmakofore imaju različite stepene slobode prilikom orijentacije u oba receptora, bilo da se vežu za pojedinačne receptore ili za njihove heterodimere.

Inicijalno je planirano da sinteza jedinjenja opšte strukture **2** bude izvedena u dva koraka koja predstavljaju sukcesivno bis-alkilovanje sekundarnih amino grupa u norfentanilu **7** i *N*-arilpiperazinima (Shema 34).¹⁵⁹ Kao alkilujućim reagensima izabrani su α,ω-dihalogenalkani sa tri do sedam metilenskih grupa.

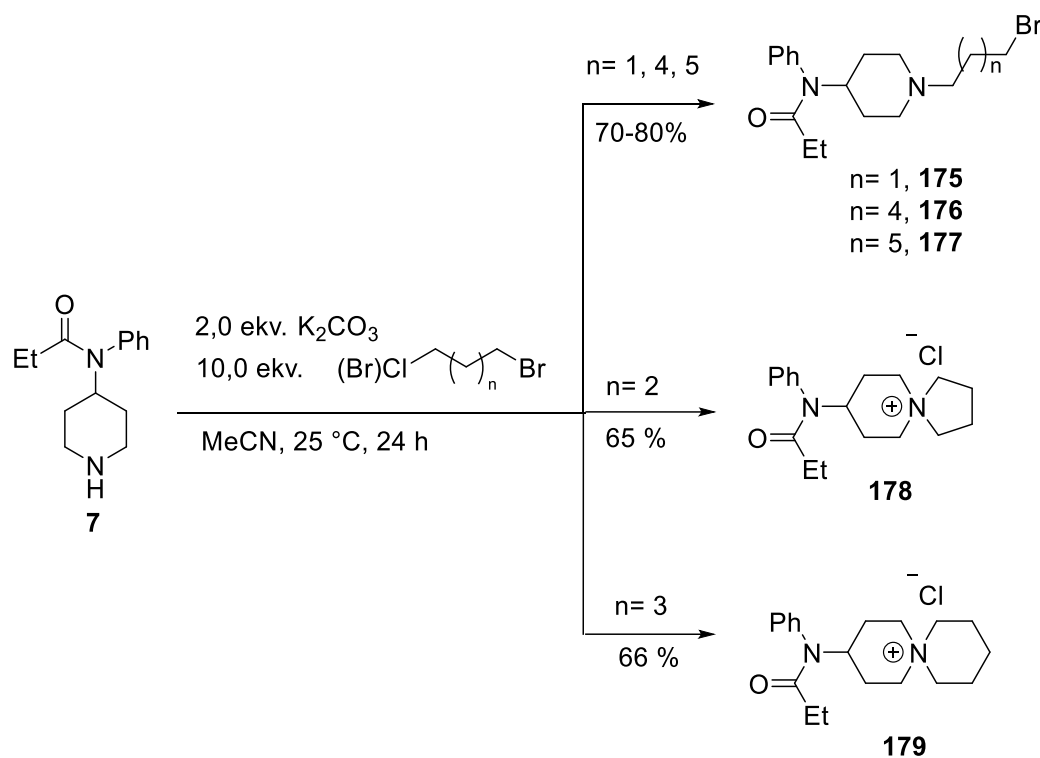


Shema 34. Inicijalni sintetički put za dobijanje potencijalnih μOR-D₂DR heterobivalentnih liganada opšte strukture **2**

Dok su *N*-arilpiperazini komercijalna jedinjenja, za dobijanje norfentanila **7** postoji nekoliko jednostavnih procedura.^{52,63,165} U okviru ove sinteze, norfentanil **7** je dobijen po ranije optimizovanoj metodi iz jednostavnih prekursora.⁵² Iako je očekivano da sekundarne amino grupe iz **7** i *N*-arilpiperazina, reaguju podjednako u reakcijama alkilovanja, **7** je izabran kao prekursor u prvoj reakciji alkilovanja iz razloga ekonomičnosti.

Alkilovanjem norfentanila **7** α,ω -dihalogenalkanima sa 3, 6 i 7 metilenskih grupa, nastali su željeni proizvodi monoalkilovanja **175-177** u visokim prinosima, pod standardnim reakcionim uslovima (Shema 35). Međutim kada su kao alkilujuć reagensi upotrebljeni α,ω -dihalogenalkani sa 4 i 5 metilenskih grupa, kao glavni proizvodi dobijene su spiro-biciklične kvaternerne amonijumove soli **178** i **179**. Očigledno je entropijski faktor favorizovao nastanak petočlanog i šestočlanog prstena radije nego acikličnih proizvoda monoalkilovanja. Spiro-biciklične kvaternerne amonijumove soli **178** i **179** su strukturno okarakterisane NMR spektroskopijom, a spektri su prikazani u Prilogu. Struktura ovih jedinjenja potvrđena je HRMS-om.

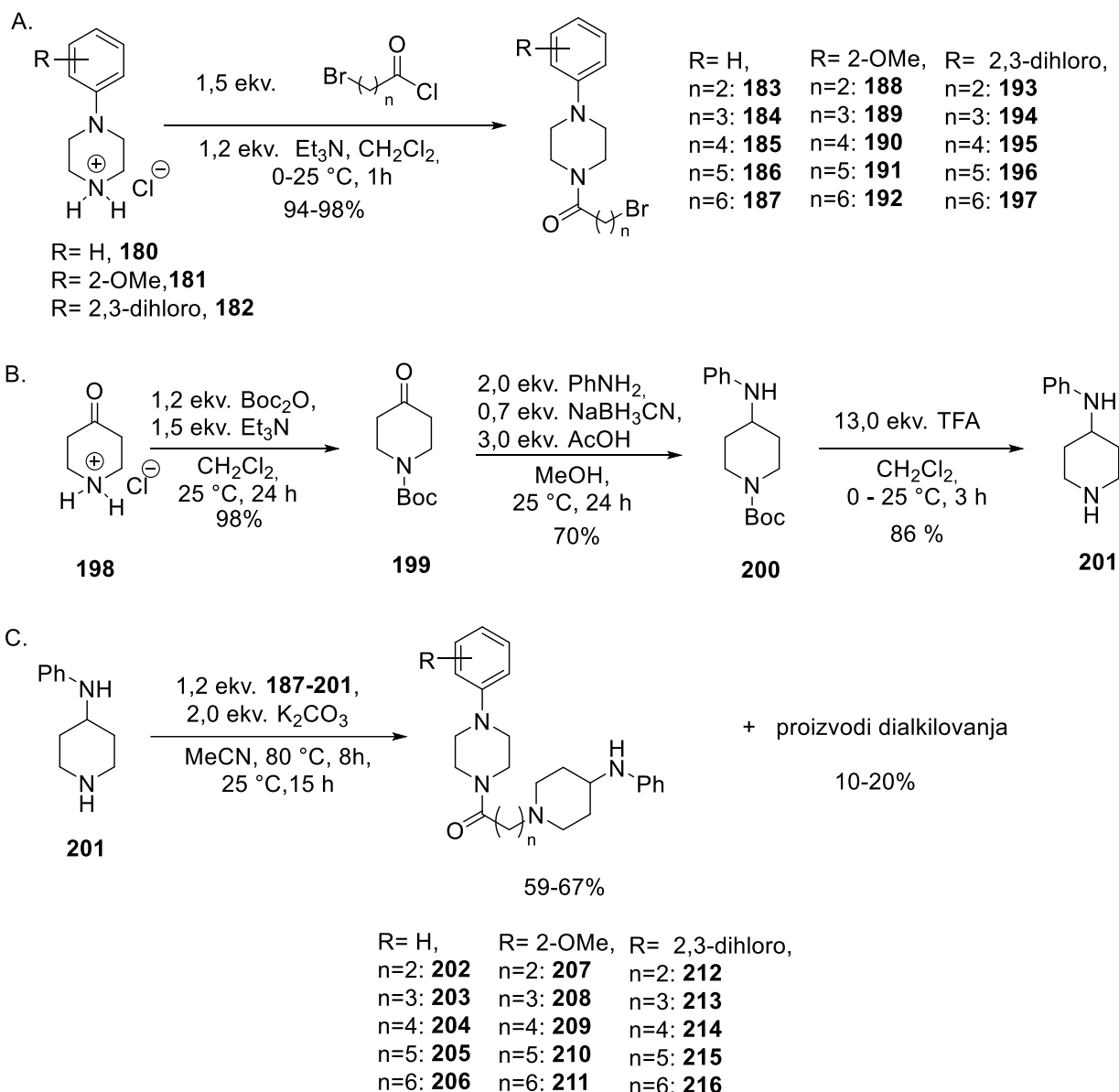
Osim K_2CO_3 , kao baza u reakcijama alkilovanja halogenalkanima često se koristi Et_3N , međutim promena baze i temperature, nije uticala na ishod reakcije.¹⁵⁹



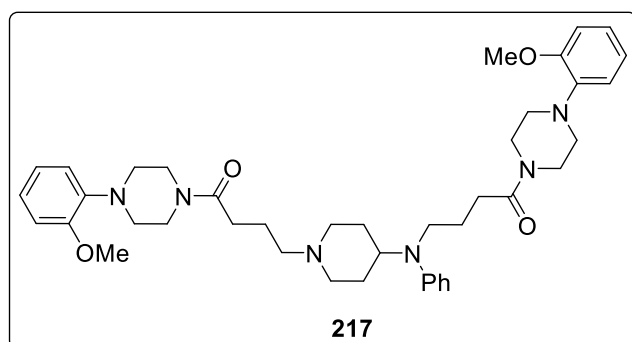
Shema 35. Alkilovanje norfentanila **7** α,ω -dihalogenalkanima sa različitim brojem metilenskih grupa u lancu

Pošto na ovaj način nisu mogla da se dobiju jedinjenja opšte strukture **2** sa 4 i 5 metilenskih grupa u alkil-mostu, primenjen je drugi sintetički put (Shema 36 i Shema 37).¹⁶⁰ U prvoj fazi, *N*-arilpiperazin-hlorhidrati **180-182** su alkanoilovani ω -bromoacil-halogenidima sa 3-7 metilenskih grupa u alkil-lancu (Shema 36A). Pod standardnim uslovima za alkanoilovanje, dobijeni su karboksamidi **183-197** u visokim prinosima. Ovi intermedijeri su iskorišćeni za alkilovanje 4-anilinopiperidina **201** u sledećoj fazi, dok je **201** je dobijen jednostavnim sintetičkim putem iz komercijalno dostupnog 4-piperidona (Shema 36B). Nakon nekoliko sati refleksa u acetonitrilu, dobijeni su proizvodi alkilovanja **202-216** u umereno visokim prinosima (Shema 36C). Iako je azot iz anilino grupe manje nukleofilan od azota iz alifatičnih amino grupa, nema efikasnog načina da se potuno hemoselektivno alkiluje alifatična amino grupa u prisustvu aromatične. Tako su u reakciji alkilovanja 4-anilinopiperidina **201** dobijeni i proizvodi dialkilovanja u malim prinosima.

Struktura sporednih proizvoda dialkilovanja reprezentativno je potvrđena za jedinjenje **217** (Slika 28), a NMR spektri su prikazani u Prilogu.



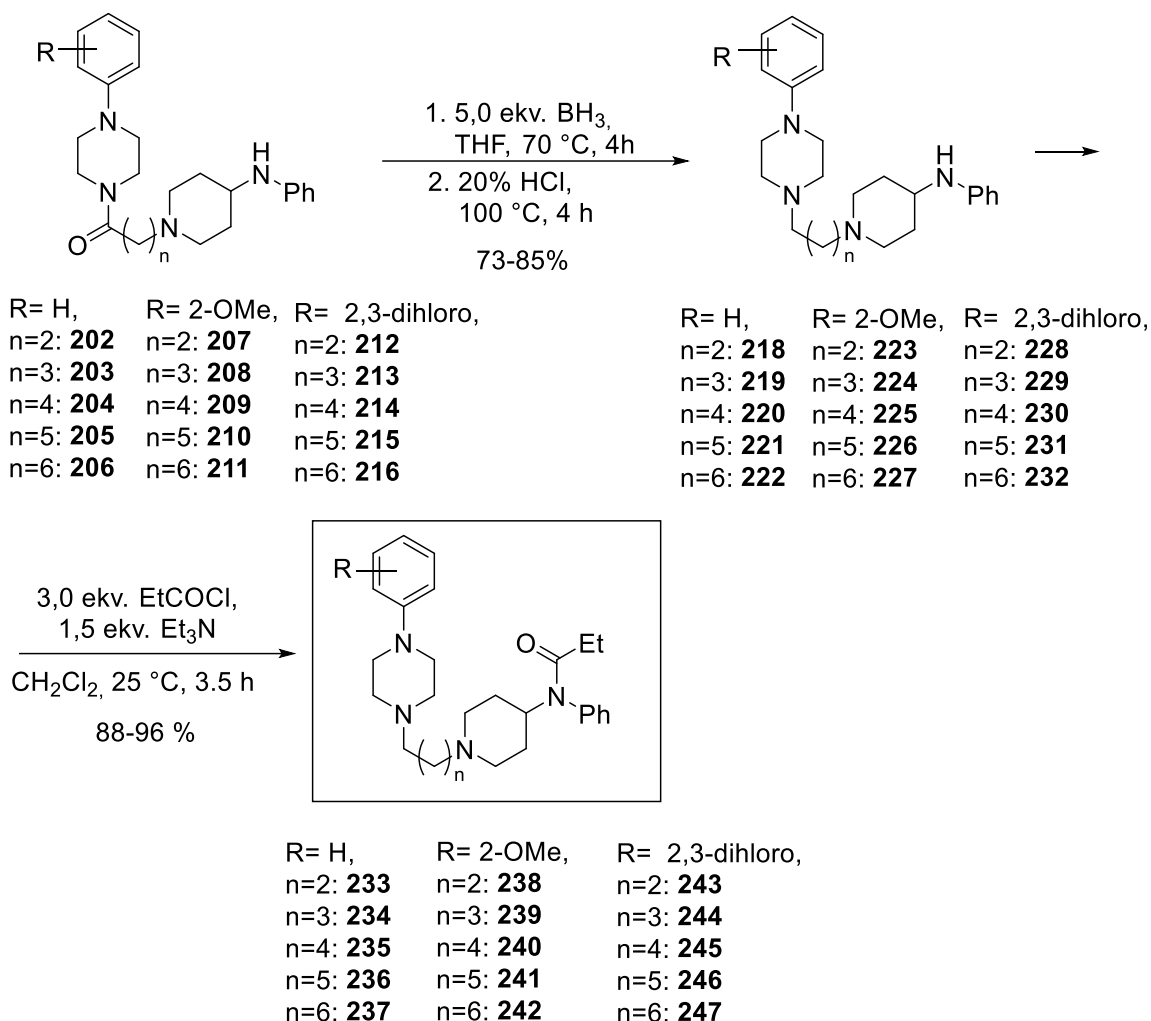
Shema 36. Sintaza intermedijera **183-216**



Slika 28. Sporedni proizvod dialkilovanja anilino piperidina **201**

U daljem toku sinteze, redukcijom karboksamidne grupe iz **202-216** pod blagim uslovima, dobijeni su anilinopiperidin-*N*-arilpiperazini **218-232** u visokim prinosima (Shema 37). Poznato je da od svih derivata karboksilnih kiselina karboksamidna grupa najteže podleže redukciji, pa se za tu redukciju koriste jaka redukciona sredstva poput LiAlH_4 . Međutim u ovoj reakciji kao redukciono sredstvo korišćen je BH_3 jer je uspešno primenjen u sličnim redukcijama u okviru prethodnog istraživanja.

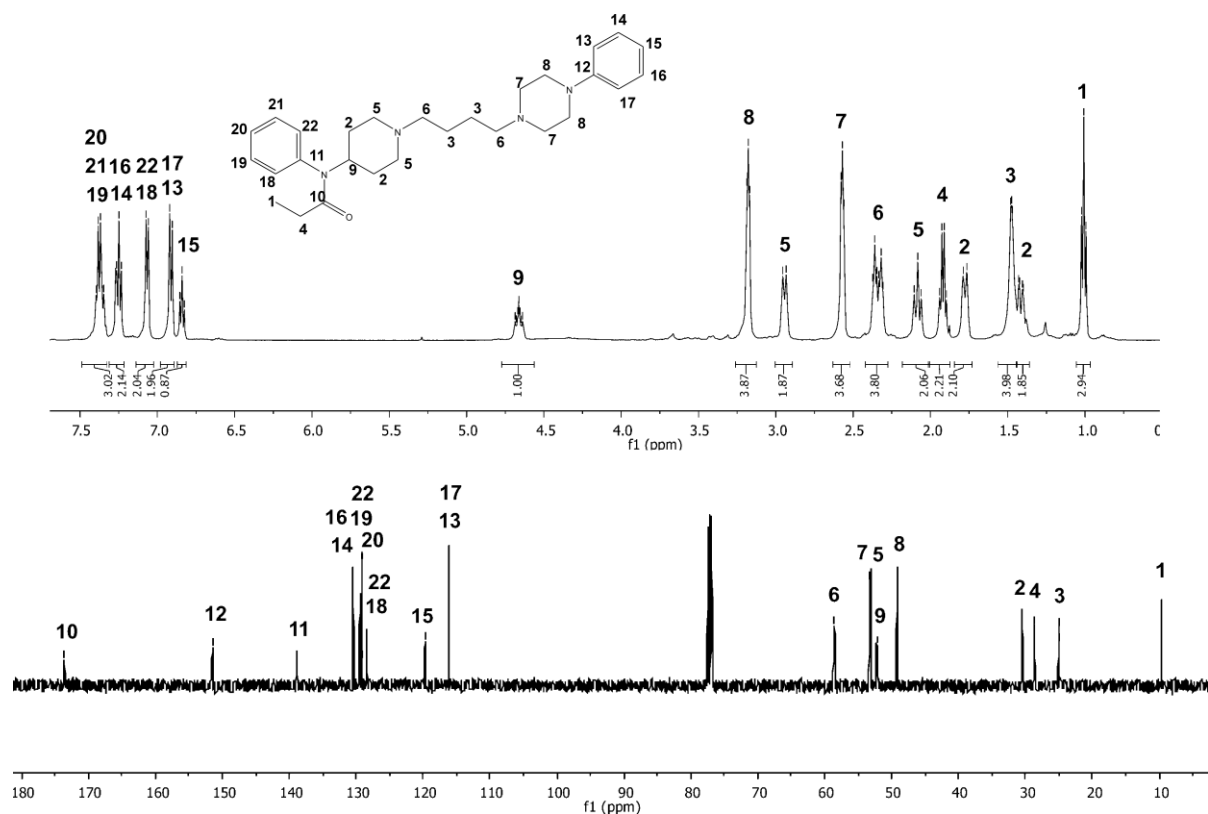
Konačni proizvodi **233-247** dobijeni su alkanoilovanjem anilinskog azota u visokim prinosisima, pod standardnim uslovima za alkanoilovanje (Sema 37).



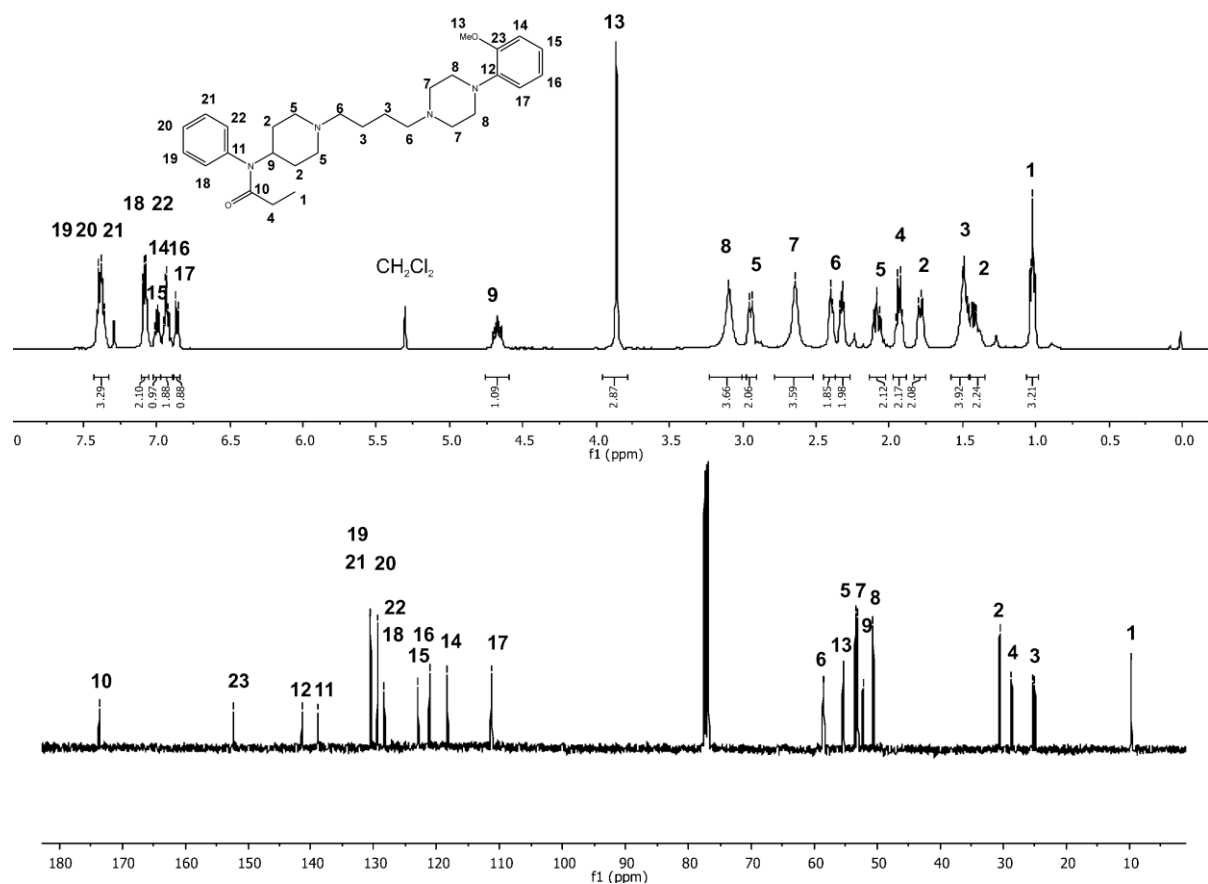
Shema 37. Sintetički put za dobijanje potencijalnih $\mu\text{OR-D}_2\text{DR}$ heterobivalentnih liganada **233-247**

Tako je razvijen efikasan sintetički put za dobijanje 15 potencijalnih heterobivalentnih liganada **233-247**, polazeći od jednostavnih i lako dostupnih reagenasa, a koji je moguće primeniti za dobijanje većih količina proizvoda.¹⁶⁰

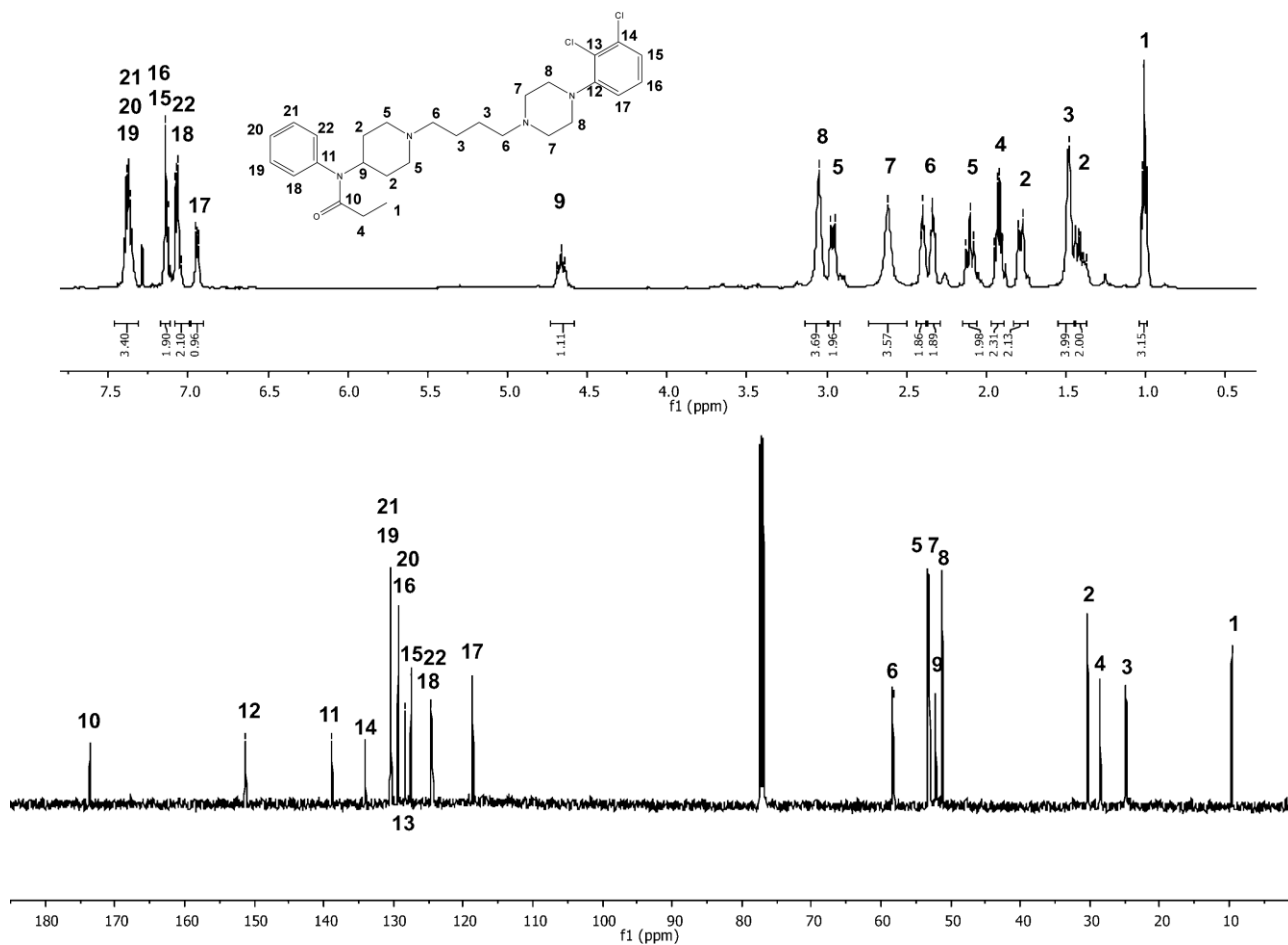
Strukture svih jedinjenja određene su pomoću 1D i 2D NMR spektrometrije, a strukture finalnih jedinjenja potvrđene su HRMS-om. Pošto su jedinjenja slične strukture, ovde će biti prikazana asignacija hemijskih pomeranja (δ , ppm) samo za tri finalna jedinjenja **234**, **239** i **244** koja poseduju tri različita piperazinska ostatka (Slike 29-31).



Slika 29. $^1\text{H-NMR}$ i $^{13}\text{C-NMR}$ spektri jedinjenja 234



Slika 30. $^1\text{H-NMR}$ i $^{13}\text{C-NMR}$ spektri jedinjenja 239



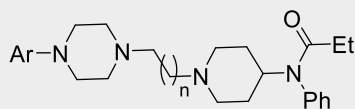
Slika 31. Slika. ¹H-NMR i ¹³C-NMR spektri jedinjenja 244

3.2. Farmakološka ispitivanja

3.2.1. *In vitro* ispitivanje afiniteta nosintetisanih liganada za D₂DR

Afinitet nosintetisanih jedinjenja druge serije, **233-247** (Shema 36) prema D₂DR, ispitan je *in vitro*, testovima kompeticije, koristeći [³H] spiperon kao standardni radioaktivni ligand.¹⁶⁰ Od svih ispitanih jedinjenja samo su **233**, **238** i **243** pokazala nizak afinitet vezivanja za D₂DR (<1000 nM), a primećeno je da povećanjem dužine mosta između dve farmakofore aktivnost ka ovoj klasi receptora opada. (Tabela 2).

Za jedinjenja **233**, **238** i **243**, urađena je preliminarna doking analiza radi objašnjenja niskog afiniteta prema D₂DR, a rezultati su prikazani u daljem tekstu.

Tabela 2. Afinitet vezivanja za D₂DR

Jedinjenje	n	Ar	Ki D ₂ DR (nM)	Jedinjenje	n	Ar	Ki D ₂ DR (nM)
233	2	fenil	869	245	4	2,3-dihlorofenil	2376
238	2	2-metoksifeni	800	236	5	fenil	8105
243	2	2,3-dihlorofenil	594	241	5	2-metoksifenil	3778
234	3	fenil	1357	246	5	2,3-dichlorofenil	1500
239	3	2-metoksifenil	7992	237	6	fenil	1853
244	3	2,3-dihlorofenil	6956	242	6	2-metoksifenil	5454
235	4	fenil	7083	247	6	2,3-dihlorofenil	5326
240	4	2-metoksifenil	4436				

3.2.2. *In vivo* ispitivanje antinociceptivne aktivnosti

3.2.2.1. Test potapanja repa u toplu vodu (Tail-immersion test)

Analgetička (antinociceptivna) aktivnost jedinjenja prve serije *cis*-**141**, *trans*-**142**, *cis*-**149**, *trans*-**150**, *cis*-**151**, *trans*-**152**, *cis*-**155**, *trans*-**156**, *cis*-**160**, *trans*-**161**, *trans*-**165**, *trans*-**167**, *trans*-**169**, *trans*-**171** i *trans*-**173** (Slika 18) i druge serije **233-247** (Shema 36) ispitana je *in vivo*, testom potapanja repa u toplu vodu. Na osnovu dobijenih ED₅₀ vrednosti u testu potapanja repa u toplu vodu, nađeno je da je relativni odnos jačina ispitivanih jedinjenja: fentanil (1) > (±) *cis*-**155** (0,5700; 0,4424-0,7242) > (±) *trans*-3-karbometoksifentanil (T, 0,0940; 0,0684-0,1282) > (±) *cis*-**149** (0,0092; 0,0076-0,0113) = (±) *trans*-**150** (0,0090; 0,0067-0,0123) > (±) *trans*-**156** (0,0032; 0,0025-0,0041) (Tabela 3; Slika 32). Ostala jedinjenja iz prve i druge serije nisu pokazala analgetičku aktivnost u dozama do 2 mg/kg.

Iz literature je poznato da analgetička aktivnost 3-supstituisanih analoga fentanila uglavnom zavisi od sternog faktora tj. voluminoznosti supstituenata i *cis/trans* izomerije u C₃ i C₄ položajima.^{52,166,167} Na primer, (±) *cis*-3-metilfentanil and (±) *cis*-3-etilfentanil su oko 8 i 1,5 puta jači opioidni analgetici od fentanila, redom. Ipak, racemske smese *trans*-3-metil i *trans*-3-etilfentanila su oko 2 puta jače ili iste jačine u odnosu na fentanil, redom. Alkil-grupe voluminoznije od metil- ili etil-grupe kada se nađu u položaju C₃ fentanila, dovode do postepenog opadanja u aktivnosti ovih analoga u odnosu na fentanil, ali se pokazalo da su najčešće kod takvih analoga *cis*-diastereomeri aktivniji od *trans*.^{52, 167-169} Slično kao kod 3-supstituisanih alkil-analoga, relativna stereohemija utiče i na aktivnost 3-karbometoksifentanila tako da je *trans* izomer 4-5 puta slabiji analgetik nego *cis* diastereomer. U skladu sa tim, ovde je nađeno da je (±) *cis*-**155** jači analgetik u odnosu na (±) *trans*-**156**, ali je ovde razlika između *cis* i *trans* izomera mnogo više izražena (~180) nego kod drugih 3-supstituisanih analoga fentanila. Suprotno prethodnim rezultatima, ovde se čini da veća grupa u položaju C₃ vodi većoj analgetičkoj aktivnosti analoga fentanila. Sa druge strane, uvođenje amino (**160** i **161**) ili karboksamidne grupe (**141**, **142**, **165**, **167**, **169**, **171**, **173**) u položaj C₃ piperidinskog prstena rezultiralo je nedostatkom značajne antinociceptivne aktivnosti u dozama do 2 mg / kg.

Takođe, nađeno je da *cis* i *trans* 3-cijanofentanil **149** i **150** imaju veoma malu jačinu u poređenju sa fentanilom, bez značajne razlike u aktivnosti *cis* i *trans* izomera.

Tabela 3. Izvod MPE krivih dozne zavisnosti, relativne ječine i AUC-MPE krivih za jedinjenja (\pm) *cis*-149, (\pm) *trans*-150, (\pm) *cis*-155 i (\pm) *trans*-156

Jedinjenje (mg/kg)	ED ₅₀ (mg/kg)	95% CL	Nagib dozne zavisnosti \pm S.E.M.	r	Relativna jačina	Nagib AUC-MPE zavisnosti \pm S.E.M.
Fentanil (0,0636-0,0191)	0,0104	0,0050 \pm 0,0216	114,96 \pm 14,60	0,992	1	3,59 \pm 0,44
(\pm) <i>trans</i> -3-karbometoksifentanil, T (0,0445-0,267)	0,1094	0,0856-0,1396	69,42 \pm 1,80	1	0,0940 0,0684-0,1282	2,32 \pm 0,09
(\pm) <i>cis</i> -149 (0,9-1,8)	1,1268	0,8173 \pm 1,5536	122,79 \pm 10,32	0,996	0,0092 0,0076-0,0113	1,55 \pm 0,12
(\pm) <i>trans</i> -150 (0,9-1,8)	1,1634	0,5433 \pm 2,4913	147,76 \pm 30,29	0,980	0,0090 0,0067-0,0123	1,49 \pm 0,21
(\pm) <i>cis</i> -155 (0,092-0,0276)	0,0182	0,0132-0,0250	91,72 \pm 5,01	0,999	0,5700 0,4424-0,7242	0,65 \pm 0,14 ^a
(\pm) <i>trans</i> -156 (1,84-3,68)	3,2382	1,6316-6,4268	103,72 \pm 16,12	0,988	0,0032 0,0025-0,0041	1,95 \pm 0,08

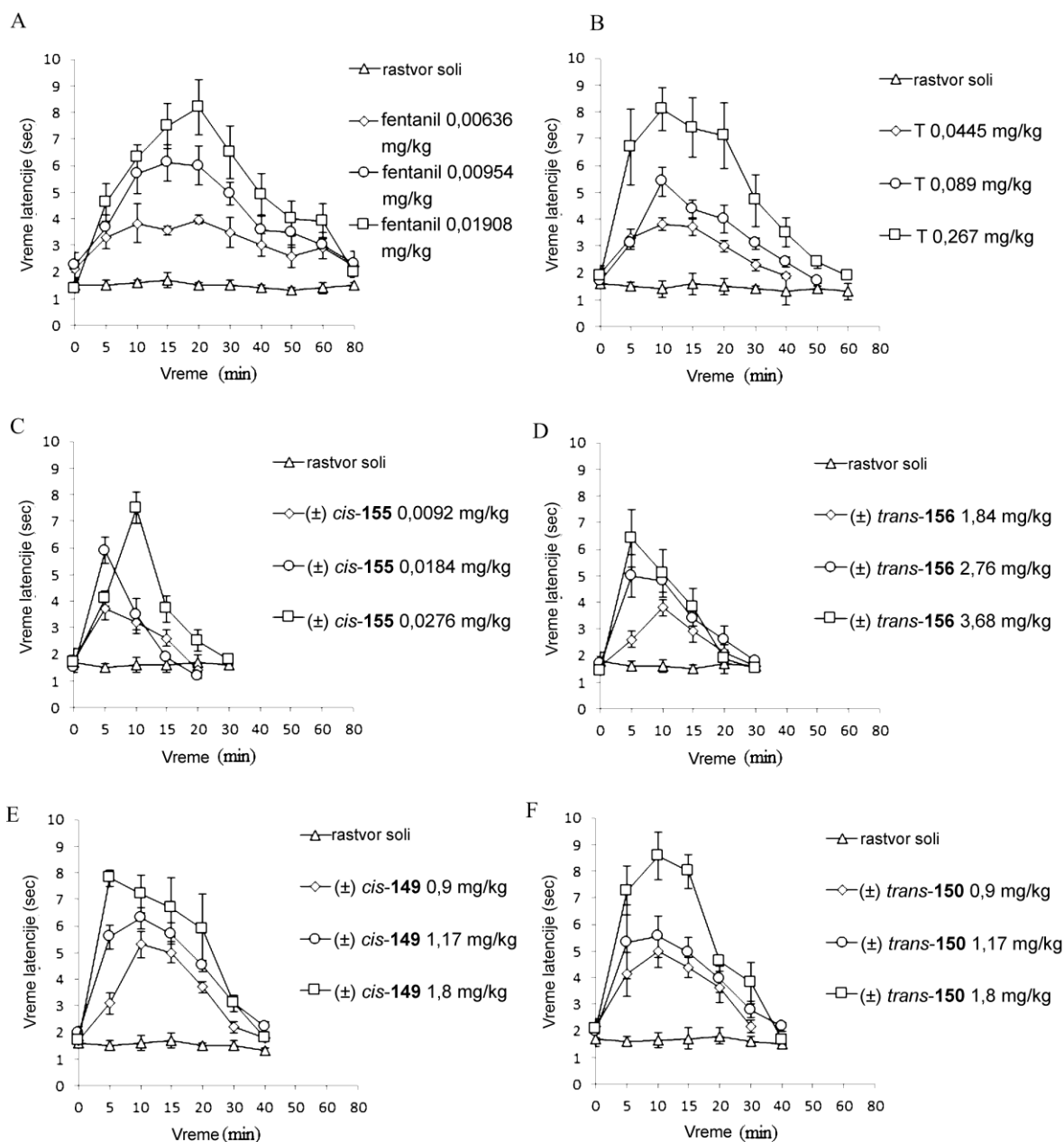
Rezultati predstavljaju zaključak izveden iz podataka prikazanih na Slici 33. ED₅₀ vrednosti su izračunate za tri doze za svako jedinjenje sa 6-8 pacova po dozi, n=ukupan broj životinja testiranih za dobijanje krivih dozne zavisnosti. CL=limit pouzdanosti, r=koficijent korelacije, MPE=maksimalni mogući antinociceptivni efekat, AUC-MPE=površina ispod krive-maksimalni mogući antinociceptivni efekat. ^aZnačajno (P<0,05) različit u poređenju sa (\pm) *trans*-3-karbometoksifentanilom.

Jedinjenja *cis*-149, *trans*-150, *cis*-155 i *trans*-156 i pokazala su brže dejstvo u odnosu na fentanil. Antinociceptivni efekat fentanila javio se nakon 15-20 min. Ekvivalentske doze jedinjenja *cis*-149, *trans*-150, *cis*-155 i *trans*-156 delovale su nakon 5-10 min, a ista doza 3-karbometoksifentanila delovala je nakon 10 min (Slika 33).

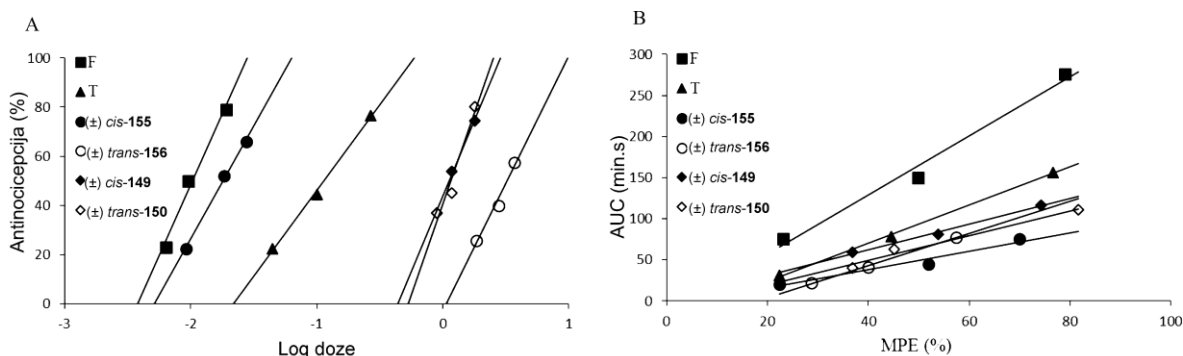
U poređenju sa fentanilom, *trans*-3-karbometoksifentanil, *cis*-149, *trans*-150, *cis*-155 i *trans*-156 su pokazali kraće vreme dejstva (Slika 32), kao što je pokazano nižom AUC-MPE krivom dozne zavisnosti (Slika 32B; Tabela 3). Ipak, samo *cis*-155 ima značajno kraće (p<0,05) vreme dejstva u odnosu na fentanil i 3-karbometoksifentanil (Slika 32B; Tabela 3).

Vremenski tok dejstva leka može se odrediti farmakodinamikom i/ili farmakokinetikom. Prethodno objavljene studije pokazale su da voluminoznost supstituenata na C₃ i *cis/trans* izomerija ne utiču u velikoj meri na vreme dejstva 3-supstituisanih analoga fentanila^{52,169} dok više utiču fizičko-hemijske karakteristike i/ili metabolička stabilnost supstituenata na C₃. *trans*-3-Karbometoksifentanil je pokazao brže i kraće vreme dejstva u odnosu na fentanil i 3-alkil-analoge fentanila. Predpostavlja se da je ovakvo dejstvo 3-karbometoksifentanila može objasniti osetljivošću estarske grupe na hidrolizu nespecifičnim esterazama.¹⁷⁰ U skladu sa tim, jedinjenja 155 i 156, pokazala su veoma kratko vreme dejstva.

Analgetička aktivnost najveće doze ispitivanih jedinjenja blokirana je opioidnim antagonistom, nalokson hlorhidratom datim subkutano (0,01 mg/kg, s.c.). Time je dokazano da je analgetički efekat ovih jedinjenja postignut dejstvom na opioidne receptore.



Slika 32. Krive zavisnosti odgovora na bol od vremena u testu potapanja repa u toplu vodu: A) fentanil; B) (±) *trans*-3-karbometoksifentanil; C) *cis*-155; D) *trans*-156; E) *cis*-149; F) *trans*-150. Svaka tačka predstavlja značaj antinocicepcije±S.E.M kod 6-8 pacova.

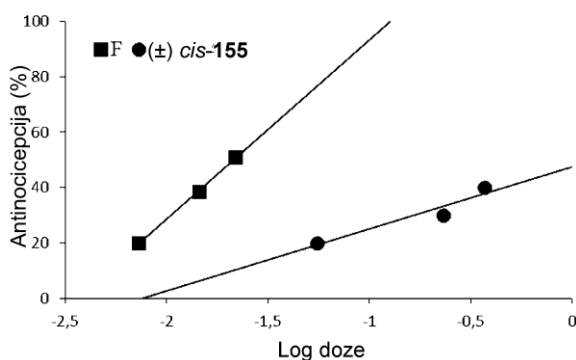


Slika 33. A) Krive zavisnosti logaritma doze ispitivanog liganda od odgovora na bol; B) AUC-MPE krive u testu potapanja repa u toplu vodu. Svaka tačka predstavlja značaj efekta±S.E.M kod 6-8 pacova.

3.2.2.2. Formalinski test

Injekcija formalina u zadnji deo šape pacova, dovodi do bifaznog bolnog nadražaja; prva faza bola posledica je direktnog uticaja formalina na receptore bola, dok je druga faza bola posledica oštećenja tkiva gde su uključeni mehanizmi neuropatskog i inflamatornog bola.^{171,172}

U ovom ispitivanju upoređen je fentanil i *cis*-**155** u dva različita testa na bol: tonični (formalinski test) i fazični (test potapanja repa u toplu vodu). Rezultati su pokazali da su fentanil i *cis*-**155** efikasni analgetici u oba testa, i da su njihovi efekti zavisni od doze (Slika 33A i 34). ED₅₀ fentanila u formalinskom testu je bio 0,1021 (0,0147-0,0310) mg/kg pokazujući da je fentanil 10 puta slabiji analgetik u formalinskom testu koji podražava tonični bol, nego u testu potapanja repa u toplu vodu kojim se meri aktivnost opioida prema akutnom bolu kod pacova. Ovaj rezultat je u skladu sa literaturnim podacima.¹⁷³ U skladu sa tim, ED₅₀ za *cis*-**155** u formalinskom testu iznosio je 1,3090 (0,0366-4,67) mg/kg što je 70 puta više od ED₅₀ vrednosti određene u testu potapanja repa u toplu vodu. Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da su fentanil i *cis*-**155** slabiji analgetici u formalinskom nego u testu potapanja repa u toplu vodu 10 i 70 puta redom. Ove razlike mogu biti posledica različitih neuroanatomskih i biohemijskih mehanizama kod faznog i toničnog bola.



Slika 34. Krive zavisnosti logaritma doze od odgovora na bol kod formalinskog testa. Svaka tačka predstavlja značaj antinocijepcije \pm S.E.M kod 6-8 pacova. Nagibi doza-odgovor \pm S.E.M. za fentanil i (\pm) *cis*-**155** su $64,62 \pm 2,9$ i $22,57 \pm 6,5$, respektivno. Korelacioni koeficijenti (r) za fentanil i (\pm) *cis*-**155** su 0,99 i 0,96 redom.

Dalje je nađeno je da je dužina dejstva fentanila i *cis*-**155** u formalinskom testu u korelaciji sa dužinom dejstva u testu potapanja repa u toplu vodu, tako da je dejstvo *cis*-**155** kraće (do 25 min) nego dejstvo fentanila (do 35 min). Slabija aktivnost fentanila, a pogotovo *cis*-**155** u formalinskom testu može biti bar delom objašnjena kratkim vremenom analgetičkog efekta, koji može da se završi pre nego što počne druga faza bola indukovanog formalinom. To je u skladu sa činjenicom da je fentanil pogodan za produženi tretman bola jedino u formulacijama iz kojih se sporo otpušta u organizam.

Fentanil se uobičajeno koristi za tretman akutnih i hroničnih bolova, kao i dodatak kod opšte anestezije. Zbog toga je dostupan u različitim formulacijama kao što su: intravenozni injekcioni rastvor, transdermalni flasteri ili pastile. Transdermalni flaster je formulacija sa sporim otpuštanjem fentanila koja se koristi kod pacijenata sa jakim, hroničnim bolovima.³⁹ Međutim, transmukozne formulacije kao što su pastile postale su tretman izbora za jake i nagle bolove npr. kod pacijenata sa kancerom, zbog brzog, kratkog dejstva i jednostavne primene preko sluzokože. Kao i fentanil, jedinjenje *cis*-**155** karakteriše visoka analgetička aktivnost, brzo i kratko dejstvo analgetičkog efekta, pa se stoga može potencijalno iskoristiti u različitim farmaceutskim formulacijama za tretman bola. Dalja ispitivanja bi trebalo da procene podnošljivost i bezbednost ove serije novih analoga u poređenju sa fentanilom.¹⁷⁴

Iako jedinjenja iz prve serije (Slika 18) poseduju sve strukturne karakteristike neophodne za vezivanje u μ OR (Opšti deo), većina nisu aktivna. Mogući razlozi su nepovoljne interakcije različito

orijentisanih supstituenata na C₃ sa aktivnim mestom receptora. S druge strane, pošto kod jedinjenja druge serije (Shema 37) ne postoji 2-feniletil ostatak u položaju N₁, a za koji je nađeno da je važan za opioidnu aktivnost, jedan od razloga za izostanak opioidne aktivnosti ovih jedinjenja može biti to da su interakcije anilidopiperdinskog ostatka nedovoljne da aktiviraju μ OR. S obzirom na to da su ispitivana jedinjenja administrirana intraperitonealnim putem (i.p.), nedovoljna lipofilnost za prolazak kroz krvno-moždanu barijeru i/ili metabolička razgradnja jedinjenja takođe su mogući razlozi smanjenja ili izostanka opioidne aktivnosti. Ipak bez odgovarajućih *in vitro* rezultata, teško je zaključiti da li je nedovoljna lipofilnost i/ili metabolička razgradnja razlog smanjenja ili izostanka opioidne aktivnosti derivata fentanila sintetisanih u okviru ove disertacije u odnosu na sam fentanil. U toku izrade ove doktorske disertacije, nije bilo mogućnosti da se urade *in vitro* testovi vezivanja za μ OR.

3.3. Doking analiza

Molekulski doking predstavlja simulaciju vezivanja dva ili više molekula. Cilj dokinga je predviđanje vrste i jačine interakcija koje se prilikom vezivanja uspostavljaju, kao i konformacije molekula. Na preciznost dokinga utiče vrsta upotrebljenog modela proteina (receptora) (homologi, kristalna struktura), kao i upotreba metode (rigidni, fleksibilni doking), a zatim i nivo preciznosti same metode. Iako je molekulski doking u osnovi aproksimacija zasnovana na proračunima molekulske mehanike, mnogo se koristi za predviđanje ligand-protein interakcija u racionalnom dizajnu lekova.

Za izabrana novosintetisana jedinjenja u ovom radu, urađena je doking analiza kako bi se utvrdio način na koji se jedinjenja vezuju u μ OR i D₂DR.

Optimizovane trodimenzionalne strukture liganada dokovane su u rigidno vezivno mesto receptora. Za dalju analizu, izabrani su oni rezultati kod kojih su postojale ključne interakcije koje odgovaraju literaturnim podacima za date receptore.

U ovom radu, položaj i interakcije liganada u receptoru, prikazani su šematski i/ili kao prostorne slike 3D modela, (Slike 37-40, 42).

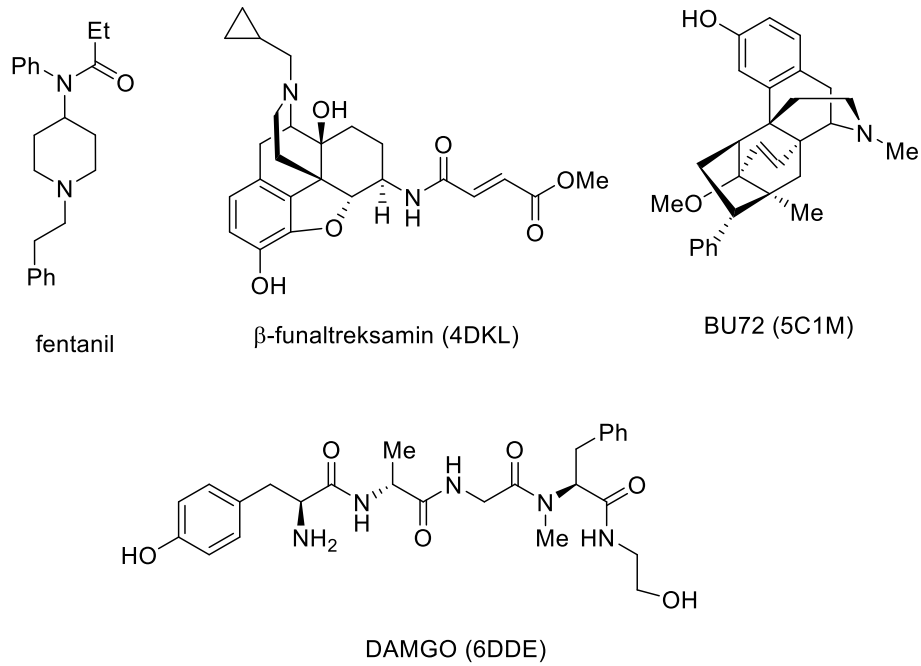
3.3.1. Doking analiza sintetisanih jedinjenja na μ OR

Tri kristalne strukture μ OR visoke rezolucije (4DKL,¹⁷⁵ 5C1M¹⁷⁶ i 6DDE¹⁷⁷) su trenutno dostupne u PDB databazi, koje predstavljaju komplekse μ OR sa agonistima ili antagonistima.¹⁷⁸ Strukture liganada u kristalnim strukturama date su na Slici 35 radi poređenja sa strukturom fentanila.

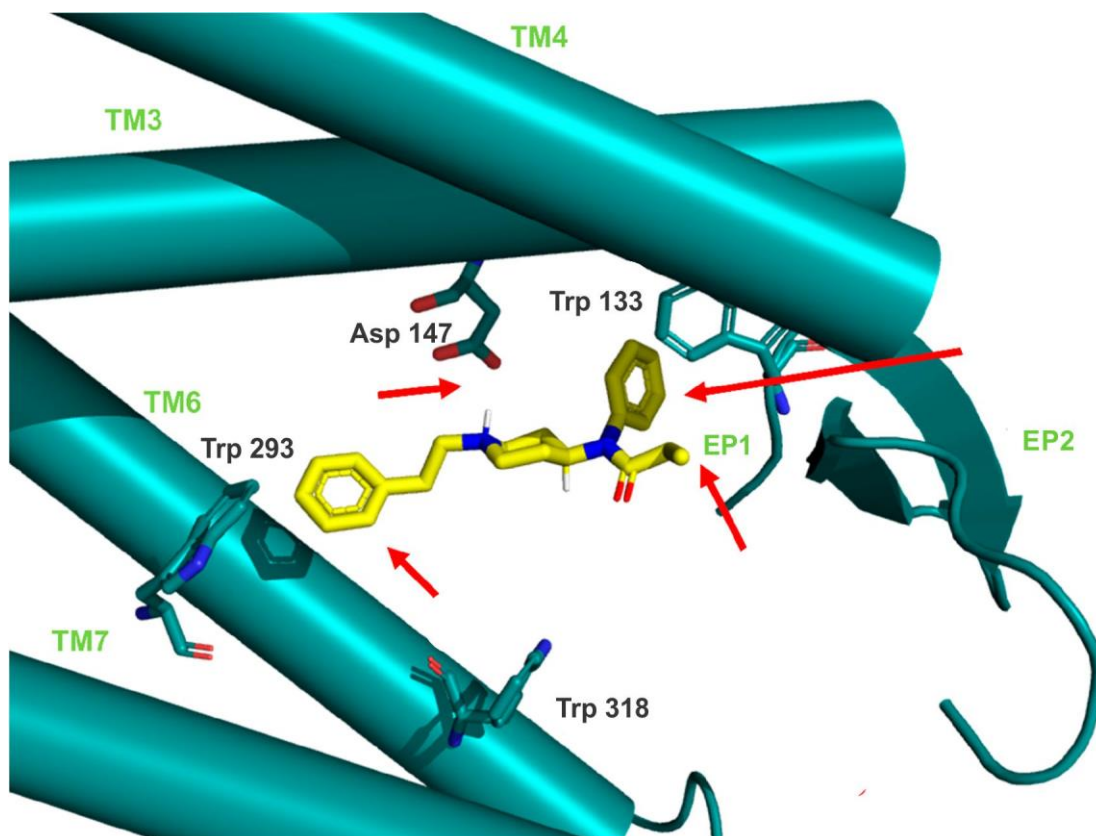
Kristalne strukture μ OR su pokazale još da je vezivno mesto šire i izloženije spoljašnjosti nego kod većine drugih GPCR. Veća izloženost ekstracelularnom prostoru ubrzava disocijaciju liganada iz receptora čime se objašnjava relativno kratko dejstvo nekih od najjačih opioidnih analgetika kao što su buprenorfin, diprenorfin, alvimoran i etorfin.¹⁷⁷

S obzirom na to da jedinjenja sintetisana u ovom radu predstavljaju analoge fentanila, izabrana je kristalna struktura 6DDE, jer je DAMGO molekul koji najviše liči na strukturu fentanila.

U ranijim radovima su utvrđene ključne interakcije receptor-ligand kompleksa.^{179,180} Nađeno je da fentanil i njegovi analozi uspostavljaju soni most između Asp 147 na transmembranskom heliksu 3(TM3), da je 2-feniletil-grupa usmerena ka unutrašnjosti vezivnog mesta i smeštena u hidrofobni džep izgrađen od TM2, TM3, TM6 i TM7, a da je propioanilidni deo usmeren ka ekstracelularnom prostoru gde je fenil-grupa smeštena u hidrofobni džep izgrađen od TM3, TM4 i ekstracelularnih petlji, EP1 i EP2 (Slika 36).



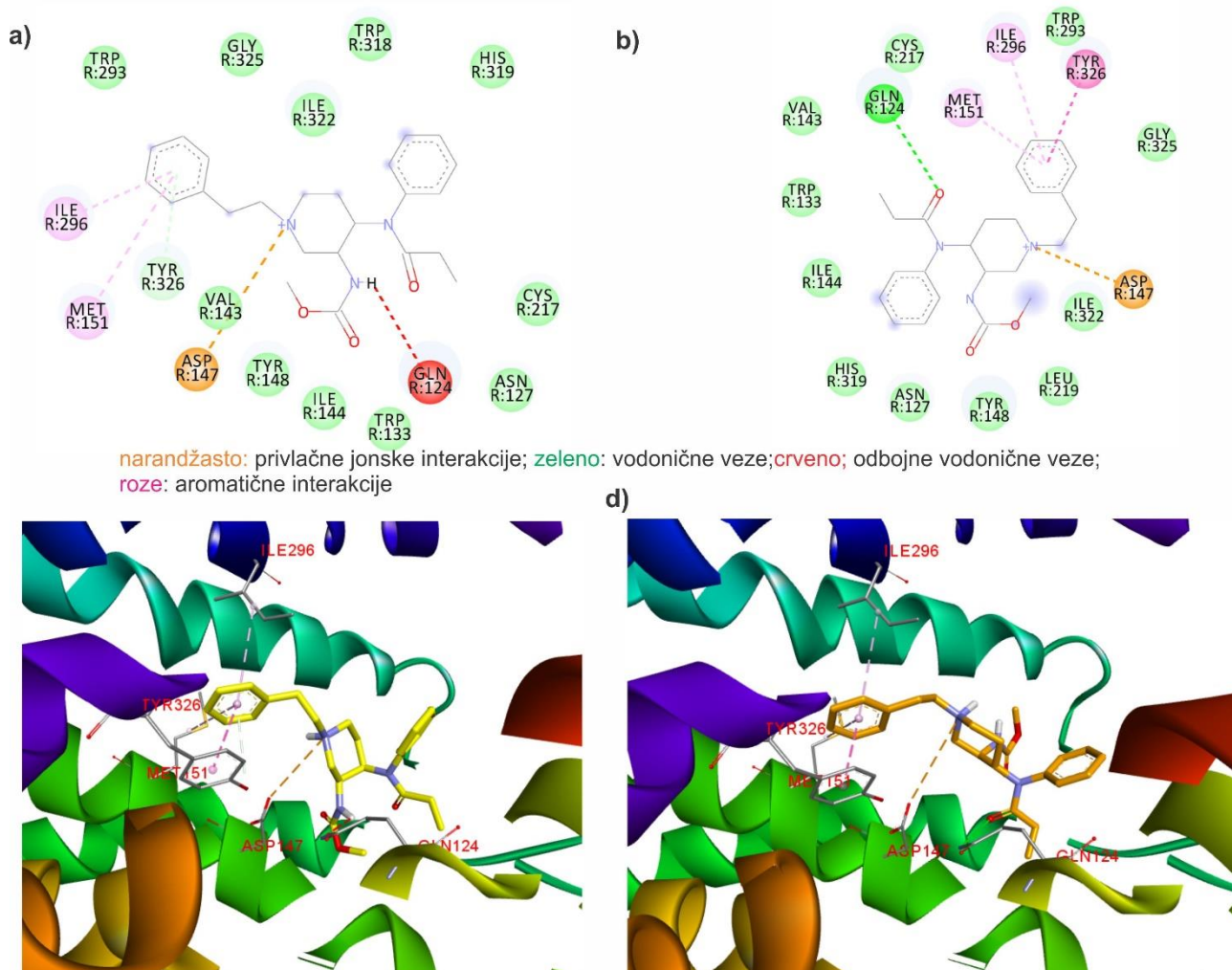
Slika 35. Strukture μ OR agonista i antagonista iz kristalnih struktura 4DKL, 5C1M i 6DDE, u poređenju sa fentanilom



Slika 36. Položaj fentanila u μ OR dobijen dokingom; crvene strelice ukazuju na položaj ključnih interakcija.¹⁸⁰

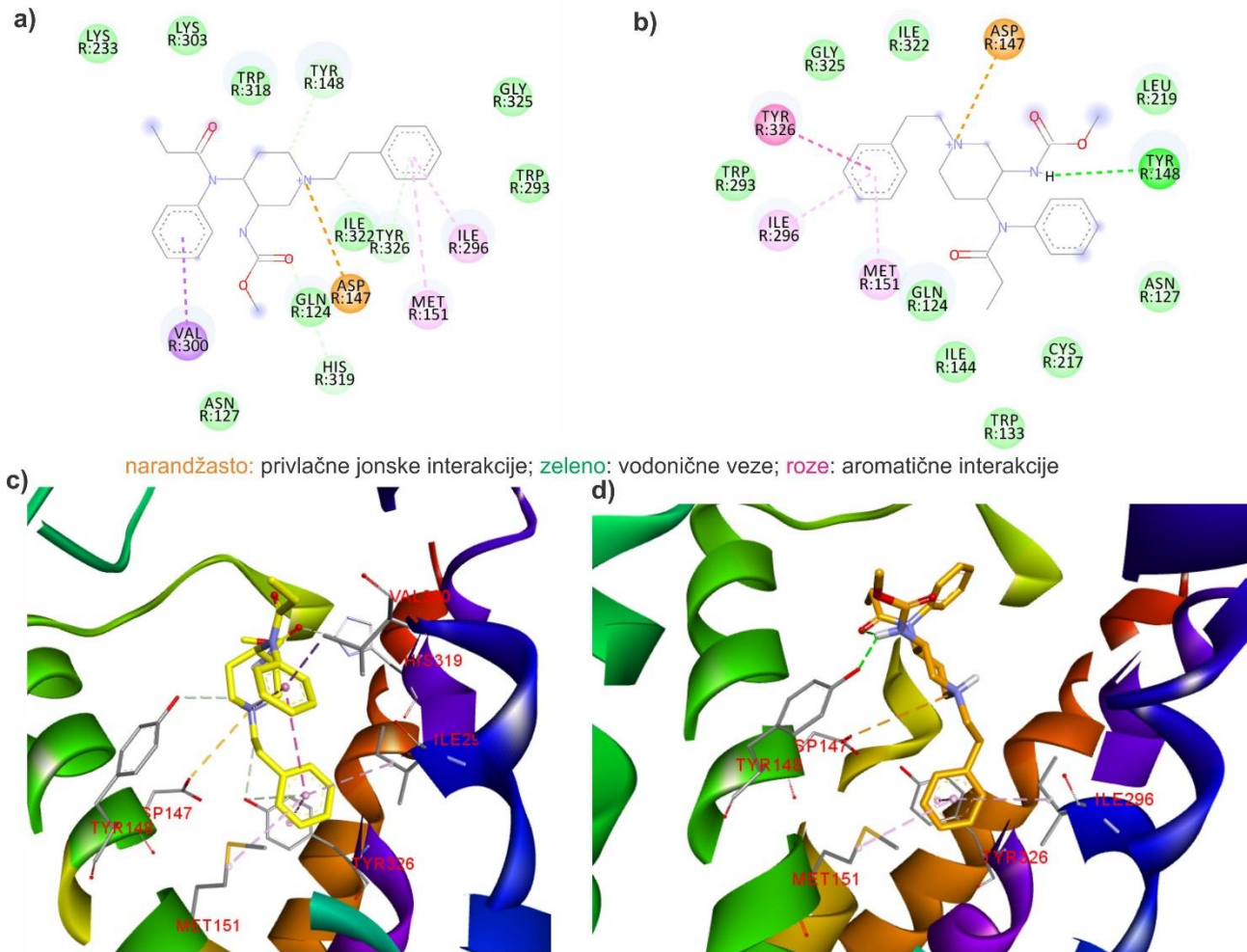
Preliminarna doking analiza nosintetisanih liganada (Slika 18, Shema 37) dala je sledeće rezultate. Četiri jedinjenja iz prve serije koja su u *in vivo* ispitivanju dovela do analgetičkog efekta u dozama manjim od 2 mg/kg, dokovana su u obliku enantiomera aspolutnih konfiguracija, iako oni nisu razdvajani u hemijskom smislu, a znamo da je vezivno mesto receptora hiralno. Doking analiza je pokazala da sve strukture interaguju sa μ OR-6DDE aktivnim mestom, slično literaturno dostupnim podacima.^{179,180} Uočene ključne interakcije su: 1. orijentacija repa liganda, tj. 2-feniletil ostatka ka unutrašnjosti vezivnog mesta receptora; 2. formiranje sonog mosta između protonovane tercijarne amino grupe u položaju N₁ piperidinskog prstena i Asp 147 (TM3); 3. orijentacija glave liganda tj. anilidopiperidinskog ostatka ka ekstracelularnom prostoru. Kod svih struktura 2-feniletil grupa je smeštena u hidrofobni džep gradeći uglavnom aromatične interakcije sa Tyr 326 (TM7), Ile 296 (TM6) i Met 151 (TM3) kao i slabe Van der Waals-ove interakcije sa okolnim aminokiselinim ostacima, slično kao kod fentanila. Takođe, kod svih struktura ostvaren je soni most između protonovane tercijarne amino grupe i Asp 147 (TM3) (Slike 37-40).

Primećeno je da se anilidopiperidinski deo različito orijentiše u vezivnom mestu u zavisnosti od relativne i apsolutne konfiguracije na C₃ i C₄, kao i od same prirode supstituenta, a ne toliko od veličine supstituenta. Vodonične veze anilidne grupe i Gln 124 (TM2) primećene su kod (3R, 4S) *cis*-155 dok je kod njegovog enantiomera (3S, 4R) *cis*-155 supstituent sa C₃ zbog nepovoljne orijentacije nagradio odbojne vodonične veze sa Gln 124 (TM2) (Slika 37).



Slika 37. Interakcije μ OR-6DDE dobijene dokingom i: a i c) (3S,4R) *cis*-155 i; b i d) (3R,4S) *cis*-155

S druge strane kod (3S,4S) *trans*-**156** enantiomera uočena je vodonična veza između supstituenta sa C₃ i Tyr 148 (TM3) dok identična interakcija nije primećena kod njegovog enantiomera (Slika 38). Vodonična veza koju ostvaruje (3R,4S) *cis*-**155** sa Gln 124 (TM2) je u teoriji jača od vodonične veze sa Tyr 148 (TM3) kod (3S,4S) *trans*-**156**, s obzirom na to da je fenolni kiseonik slabiji donator elektrona za vodoničnu vezu od karbonilnog kiseonika. Time se može objasniti rezultat farmakološkog ispitivanja po kom je diastereomer *cis*-**155** pokazao jači analgetički efekat od *trans*-**156**.

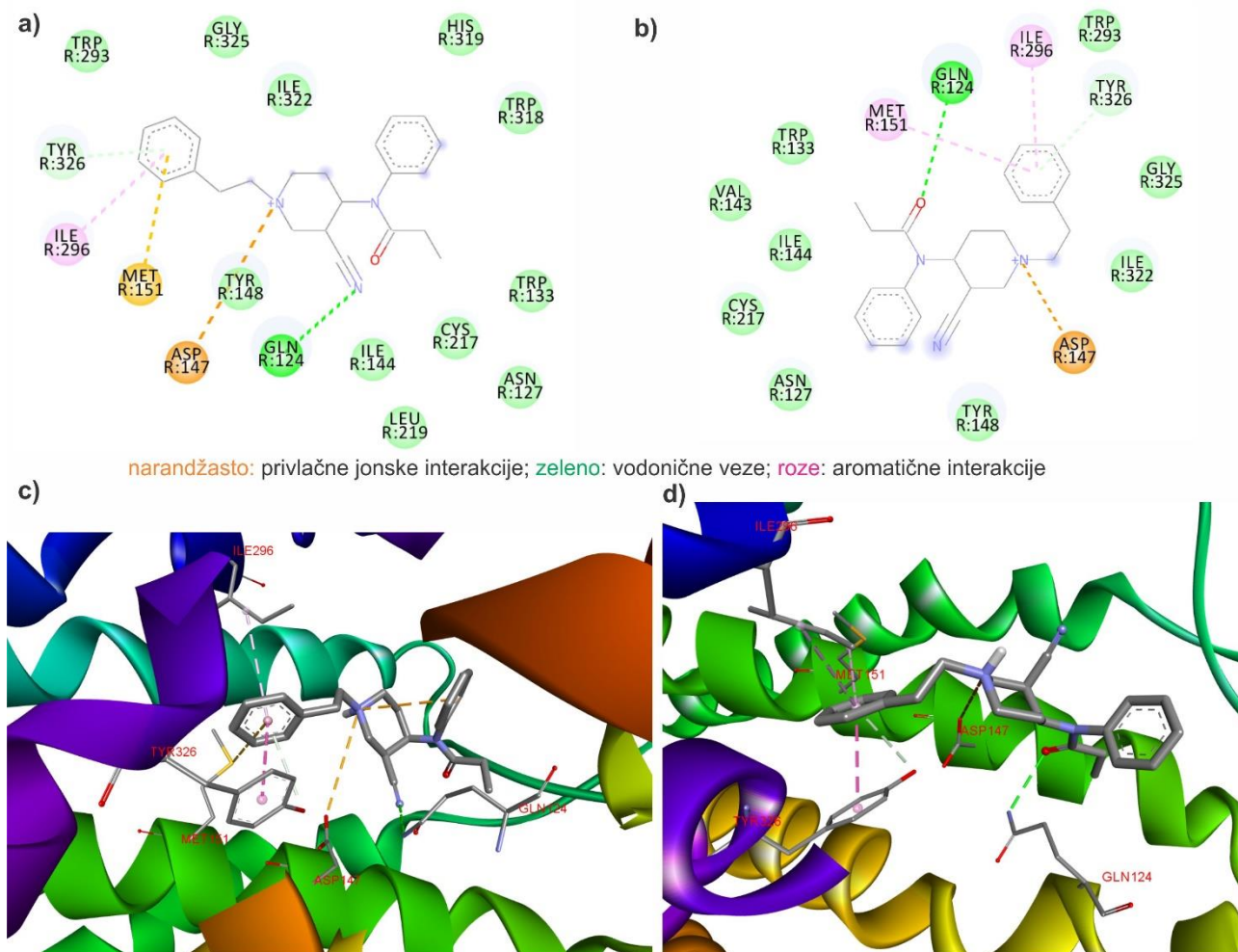


Slika 38. Interakcije μ OR-6DDE dobijene dokingom i: a i c) (3R,4R) *trans*-**156**; b i d) (3S,4S) *trans*-**156**

Na osnovu rezultata dokinga može se pretpostaviti da će (3R,4S) *cis*-**155** i (3S,4S) *trans*-**156** biti jači μ OR agonisti od svojih enantiomera.

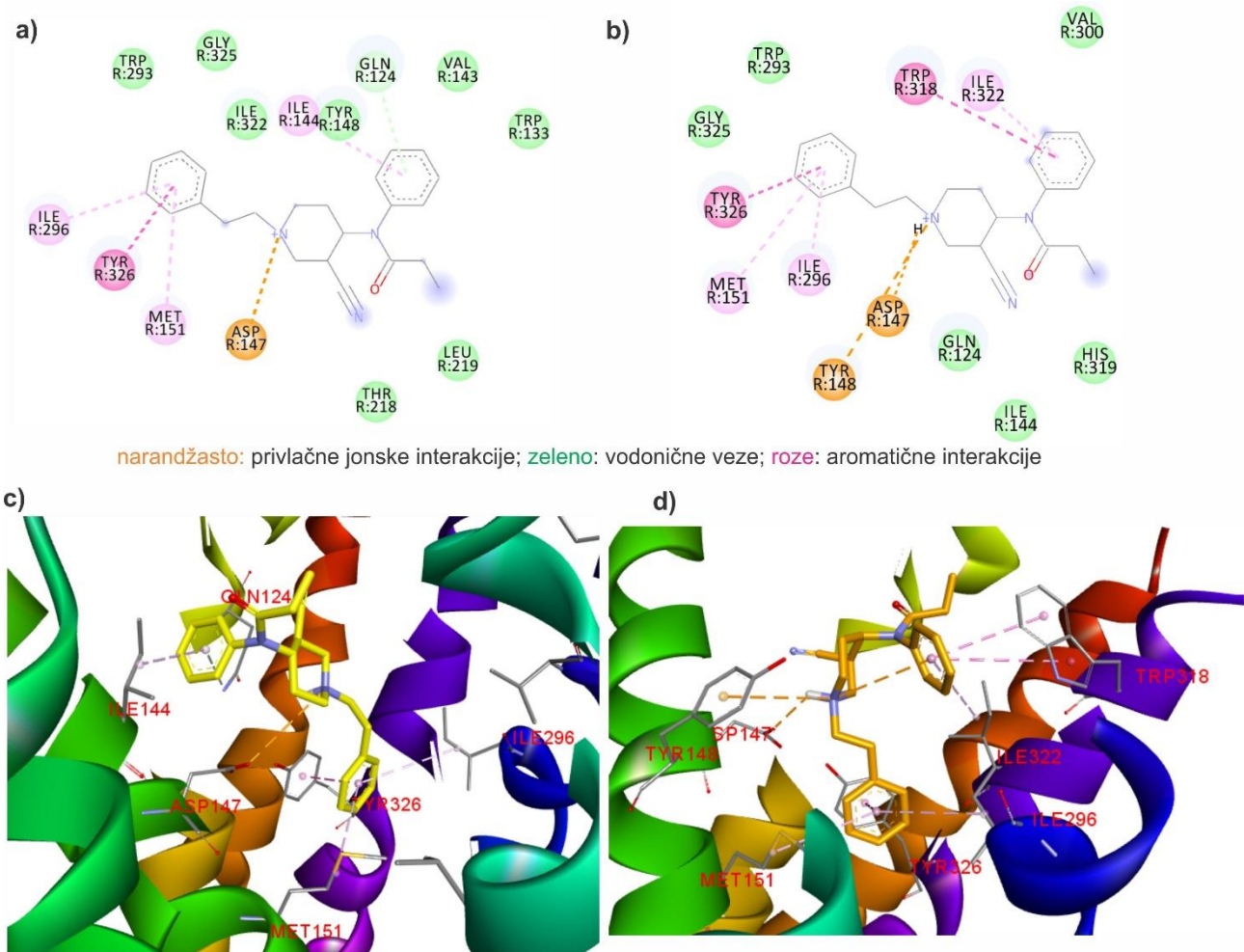
Slično kao kod (3R,4S) *cis*-**155**, vodonična veza koju ostvaruje (3R,4S) *cis*-**149** preko karbonilnog kiseonika, je u teoriji jača od vodonične veze koju njegov enantiomer (3S,4R) *cis*-**149** ostvaruje sa Gln 124 (TM2) preko nitrilne grupe (Slika 39) imajući u vidu da je nitrilni azot slabiji donator elektrona za vodoničnu vezu od karbonilnog kiseonika. Kod (3R,4R) *trans*-**150**, uočen je soni most između protonovane tercijerne amino grupe i Tyr 148 (TM3) kao i aromatične interakcije fenilgrupe sa Trp 318 (TM7) i Ile 322 (TM7) dok kod njegovog enantiomera (3S,4S) *trans*-**150**, ne dolazi do pomenutih interakcija (Slika 40). Ipak prisustvo dva sona mosta sa istom protonovanom tercijernom amino grupom, dovodi do toga da nijedna od interakcija nije optimalne jačine. Na osnovu ovih rezultata može se pretpostaviti da će (3R,4S) *cis*-**149**, (3S,4S) *trans*-**150**, biti jači μ OR agonisti od svojih enantiomera. S obzirom da kod ovih enantiomera nema interakcija nitrilne grupe na C₃ i

receptora, sličan analgetički efekat diastereomera **149** i **150** može se objasniti time da relativna konfiguracija male nitrilne grupe ne utiče na vezivanje ovih diastereomera u μ OR.



Slika 39. Interakcije μ OR-6DDE dobijene dokingom i: a i c) (3S,4R) *cis*-**149** i; b i d) (3R,4S) *cis*-**149**

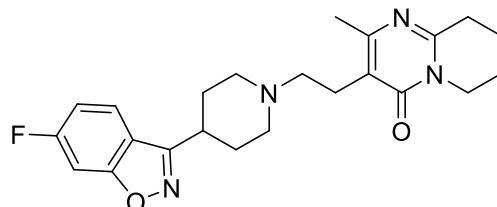
Samo kod (3S,4R) *cis*-**149**, (3S,4R) *cis*-**155** i (3S,4S) *trans*-**156** je došlo do interakcije supstituenta sa C_3 i vezivnog mesta u receptoru, s tim što je u drugom slučaju ta interakcija bila nepovoljna. Očigledno je da supstitenti na C_3 u zavisnosti od relativne i apsolutne konfiguracije utiču sterno i/ili elektronski na vezivanje jedinjenja u vezivno mesto μ OR i da je taj uticaj veći za voluminoznije supstituente na C_3 kao što je primećeno i u farmakološkim ispitivanjima.



Slika 40. Interakcije μ OR-6DDE dobijene dokingom i: a i c) (3S,4S) *trans*-150; b i d) (3R,4R) *trans*-150

3.3.2. Doking analiza sintetisanih jedinjenja na D₂DR

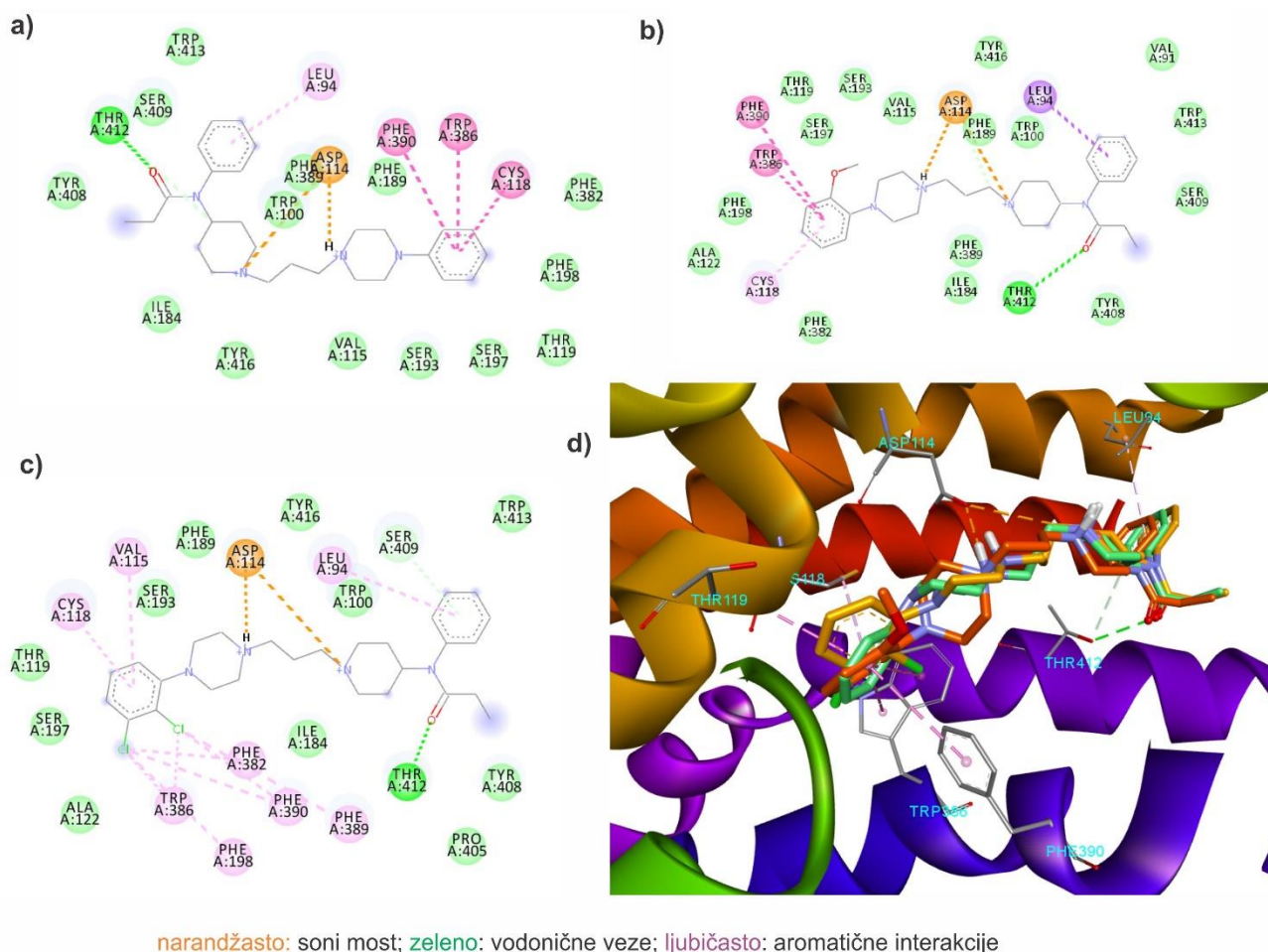
Kristalna struktura D₂R, visoke rezolucije, je dostupna u PDB databazi pod oznakom 6CM4.¹⁸¹ Receptor je kristalisan kao neaktivirani kompleks sa inverznim agonistom risperidonom (Slika 41).



Slika 41. Struktura risperidona

Urađena je doking analiza za jedina tri nosintetisana jedinjenja iz druge serije koji su pokazali afinitet prema D₂DR manji od 1000 nM i to **233**, **238** i **243**. Dobijeni rezultati su upoređeni sa literaturno dostupnim rezultatima.¹⁸² Rezultati pokazuju da se kod sva tri jedinjenja formira soni most koji nastaje između protonovanog piperazinskog azota i Asp114 (TM3), a koji predstavlja ključnu interakciju ligada sa D₂DR. *N*-arilpiperazinski deo se smešta u ortosterno vezivno mesto (orthosteric binding pocket, OBP) gde gradi aromatične interakcije sa Phe 390 (TM6), Trp 386 (TM6)

i Cys 118 (TM3), koje predstavljaju ključne interakcije za pravilno orijentisanje liganda u okviru mesta vezivanja (Slika 42).¹⁸² Pored navedenih, primećene su i dodatne interakcije Asp114 (TM3) i protonovanog piperidinskog azota. Prisustvo dodatnog sonog mosta sa Asp114 (TM3) slabi jačinu sonog mosta sa piperazinskim azotom, što je verovatno i razlog niskog afiniteta ova tri jedinjenja prema D₂DR. Iz istog razloga je soni most još slabiji kod jedinjenja sa dužim alkil lancem. Zbog veće udaljenosti dva protonovana azota, nijedan nije u mogućnosti da ostvari idealnu dužinu sonog mosta sa Asp114, pa se njihov afinitet smanjuje.



Slika 42. Interakcije D₂DR-6CM4 dobijene dokingom i a) **233**; b) **238**; c) **243**; d) preklapljenе strukture **233**-narandžast, **238**-crven i **243**-zelen u vezivnom mestu D₂DR-6CM4

2,3-Dihlorfenil derivat **243** ostvaruje dodatne interakcije u odnosu na fenil i 2-metoksifenil analoge i to: π -alkil interakcije sa Phe 382 (TM6), Phe 390 (TM6), Phe 386 (TM6), Phe 198 (TM5), Phe 389 (TM6) i Cys 118 (TM3). Dodatne interakcije su razlog nešto većeg afiniteta jedinjenja **243** prema D₂DR u odnosu na jedinjenja **233** i **238**.

Kao što je već rečeno, jedinjenja druge serije su dizajnirana tako budu potencijalni heterobivalentni ligandi, kod kojih bi anilidopiperidinski kraj interagovao sa μ OR, a *N*-arilpiperazinski kraj sa D₂DR receptorima. Alkil most imao je ulogu da omogući simultano vezivanje za μ OR-D₂DR dimere. Ipak za jedinjenja **233**, **238** i **243**, dokingom je utvrđeno da se i anilidopiperidinski deo smešta u produženo vezivno mesto (extended binding pocket, EBP) D₂DR ali bez aromatičnih interakcija sa Trp 100 (EP1), Phe 389 (TM6) i Tyr408 (TM7) koje su važne za visoku aktivnost jedinjenja prema D₂DR.¹⁸²

4. EKSPERIMENTALNI DEO

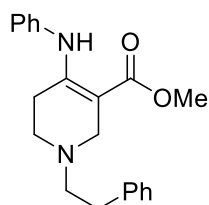
^1H i ^{13}C NMR spektri su snimani na Bruker Avance III spektrofotometru, na 500 MHz za proton (^1H) a, na 126 MHz za ugljenik (^{13}C) i na Gemini 2000 spektrofotometru na 200 MHz za proton (^1H) a, na 50 MHz za ugljenik (^{13}C) u CDCl_3 i DMSO-d_6 . Hemijska pomeranja su data kao ppm, a kao interni standard korišćen je tetrametilsilan (TMS). Konstante kuplovanja (J) su date u Hz. HRMS je snimana na ESI-ToF i heated ESI (HESI)-Orbitrap spektrometru. IR spektri su snimani na Thermo Scientific Nicolet 6700 Fourier-transform spektrofotometru u ATR modu. Tačke topljenja su određivane na Boetius PHNK aparatu, pri brzini zagrevanja $4\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ i nisu korigovane. TLC je rađena na staklenim pločicama sa SiO_2 (tip 60, Merck) i aluminijumskim pločicama sa Al_2O_3 (Fluka Chemie). "Flash" i "dry column flash"^{183,184} hromatografija su rađene pomoću SiO_2 , 10–18 ili 18–32 μm , ICN-Woelm. Za izolovanje membrana korišćen je homogenizer sa teflonskim tučkom koji pokreće elektromotor (B. Braun, Melsungen A.G., Nemačka) i ultracentrifuga BECKMAN L7-55. Radioaktivnost (Perkin-Elmer, Las GmbH, Rodgau, Nemačka) je merena na scintilacionom brojaču firme LKB Rackbeta Wallac1219.

4.1. Sinteza i spektroskopski podaci

4.1.1. Opšta procedura za dobijanje enamina **55**, **122**, i **134**

U jednogrlom balonu od 50 mL, opremljenim zapušačem, pomeša se rastvor β -keto-estra (5,8 mmol, 1,0 ekv.) u AcOH (5,0 mL) i anilin (1,4 ekv.). Smesa se meša na $25\text{ }^\circ\text{C}$ i reakcija se prati pomoći TLC, na Al_2O_3 pločicama, uz mešavinu n -heksan:EtOAc = 95:5 kao eluent. Nakon 24h smesa se neutrališe 1,5 M rastvorom K_2CO_3 (pH ~11) i ekstrahuje pomoću CH_2Cl_2 (2 x 40 mL). Organski slojevi se spoje i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Enamin se prečišćava destilacijom pod sniženim pritiskom (0,1 mm Hg) na 60–70 $^\circ\text{C}$, ili kristalizacijom iz i -PrOH.

4.1.1.3. Metil-1-fenetil-4-(fenilamino)-1,2,5,6-tetrahidropiridin-3-karboksilat (**55**)⁷⁶

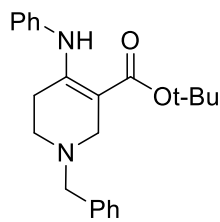


55

Dobijen je iz β -keto-estra **7**. Prečišćen je kristalizacijom iz i -PrOH. Prinos: 1,50 g (77%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** 42–43 $^\circ\text{C}$. **Rf** = 0,45 (SiO_2 ; n -heksan/EtOAc = 95:5). **IR** (ATR): 3171, 2924, 2809, 1660, 1624, 1596, 1498, 1440, 1258, 1062, 760, 699 cm^{-1} . **^1H NMR** (500 MHz, CDCl_3): δ = 10,59 (s, 1H); 7,33 – 7,25 (m, 4H); 7,23–7,18 (m, 3H); 7,12 (t, J = 7,4 Hz, 1H); 7,07 (d, J = 7,6 Hz, 2H); 3,73 (s, 3H); 3,36 (s, 2H); 2,87 (dd, J_1 = 9,9; J_2 = 6,4 Hz, 2H); 2,72 (dd, J_1 = 9,9; J_2 = 6,4 Hz, 2H); 2,58 (t, J = 5,6 Hz, 2H); 2,52 (t, J = 5,3 Hz, 2H) ppm. **^{13}C NMR** (126 MHz, CDCl_3): δ = 169,5; 154,9; 140,3; 139,3; 129,0;

128,7; 128,4; 126,1; 125,0; 124,8; 91,3; 60,2; 51,5; 50,7; 49,6; 34,1; 28,6 ppm.

4.1.1.1. *t*-Butil-1-benzil-4-(fenilamino)-1,2,5,6-tetrahidropiridin-3-karboksilat (**122**)

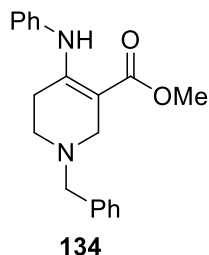


122

Dobijen je iz β -keto-estra **121**. Prečišćen je uklanjanjem viška anilina destilacijom pod sniženim pritiskom (0,1 mm Hg). Prinos: 1,98 g (94%); svetlo-žuta, kristalna supstanca; **T.t.** 52–53 $^\circ\text{C}$. **Rf** = 0,57 (SiO_2 ; n -heksan/EtOAc = 8:2). **IR** (ATR): 3241, 3031, 2973, 2925, 2809, 1718, 1648, 1596, 1500, 1454, 1365, 1249, 1155, 1049, 698 cm^{-1} . **^1H NMR** (200 MHz, CDCl_3): δ = 10,52 (s, 1H); 7,39 – 7,08 (m, 7H); 6,96 (t, J = 7,1 Hz, 3H); 3,53 (s, 2H); 3,22 (s, 2H); 2,36 (s, 4H); 1,41 (s, 9H) ppm. **^{13}C NMR** (50 MHz, CDCl_3): δ = 167,0; 153,9; 139,5; 138,4; 129,1; 128,8; 128,2; 127,1; 124,6; 124,2; 93,1; 79,1; 62,4; 52,6; 48,4; 28,6; 28,5

ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_2$ [$\text{M}+\text{H}$]⁺ 365,22235; nađeno 365,22193.

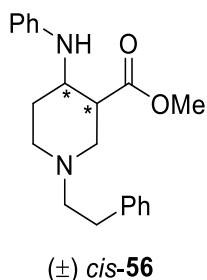
4.1.1.2. Metil-1-benzil-4-(fenilamino)-1,2,5,6-tetrahidropiridin-3-karboksilat (134)



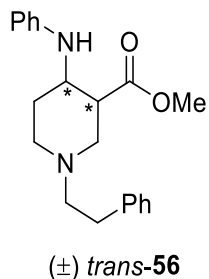
Dobijen je iz β -keto-estra **120**. Prečišćen je uklanjanjem viška anilina destilacijom pod sniženim pritiskom (0,1 mm Hg). Prinos: 1,40 g (75%); svetlo-žuta, viskozna supstanca. **Rf** = 0,46 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 8:2). **IR** (ATR): 3245, 3172, 3027, 2946, 2910, 2804, 2761, 1658, 1618, 1594, 1498, 1438, 1367, 1247, 1116, 1058 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 10,66 (s, 1H); 7,44 – 7,27 (m, 7H); 7,18 – 7,12 (m, 1H); 7,12 – 7,08 (m, 2H); 3,74 (s, 3H); 3,67 (s, 2H); 3,37 (s, 2H); 2,52 (s, 4H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 169,5; 155,0; 139,3; 138,3; 129,1; 128,9; 128,3; 127,1; 124,8; 124,7; 91,5; 62,5; 52,0; 50,6; 48,7; 28,7 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₀H₂₃N₂O₂ [M+H]⁺ 323,17540; nađeno 323,17612.

4.1.2. Opšta procedura za dobijanje estara **56**, **123**, **124**, **135** i **136**

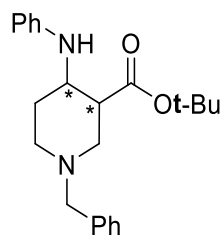
U jednogrlom balonu od 100 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa ispiralicom u kojoj se nalazi ksilen, pomeša se rastvor enamina (1,0 ekv.) u MeOH (18 mL), NaBH₃CN (1,7 ekv.) i AcOH (4,0 ekv.). Smesa se meša na 25 °C i reakcija se prati pomoći TLC, na SiO₂ pločicama, smešom *n*-heksan:EtOAc = 8:2 kao eluentom. Nakon 24 h 1,5 mL konc. HCl se doda (pH ~ 1). Smesa se zatim neutrališe rastvorom K₂CO₃ (1,5 M), razblaži sa 50 mL H₂O i ekstrahuje pomoću EtOAc (3 x 40 mL). Organski slojevi se spoje, višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom, a tragovi rastvarača se uklanjanju pod sniženim pritiskom (0,01 mm Hg, 70-80 °C, 30 min). Dobijena smesa *cis* i *trans* diastereomera se razdvaja "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; petrol-etar:EtOAc = 9:1 do 7:3).

4.1.2.5. (\pm) *cis*-Metil-1-fenetil-4-(fenilamino)piperidin-3-karboksilat ((\pm) *cis*-**56**)⁷⁶

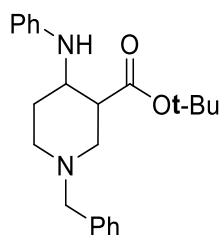
Dobijen iz enamina **55**. Prinos: 0,68 g, (46 %); svetlo-žuta kristalna supstanca; **T.t.** 60-61 °C. **Rf** = 0,47 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 8:2). **IR** (ATR): 3369, 2940, 2909, 2824, 1724, 1600, 1500, 1436, 1311, 11388, 750, 699 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,36 – 7,30 (m, 2H); 7,28 – 7,17 (m, 5H); 6,75 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H); 6,69 (d, *J* = 7,7 Hz, 2H); 4,51 (br. s, 1H); 3,77 (br. s, 1H, delimično preklopljen); 3,68 (s, 3H, delimično preklopljen); 3,18 (br. s, 1H); 3,05 – 2,98 (m, 1H); 2,90 – 2,75 (m, 3H, delimično preklopljen); 2,71 (ddd, *J*₁ = 12,4; *J*₂ = 9,5; *J*₃ = 6,1 Hz, 1H, delimično preklopljen); 2,67 – 2,53 (m, 2H, delimično preklopljen); 2,43 (br. s, 1H); 2,18 – 2,07 (m, 1H); 1,96 – 1,86 (m, 1H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 173,2; 146,9; 140,4; 129,4; 128,7; 128,4; 126,0; 117,7; 113,8; 60,1; 53,5; 51,9; 51,6; 50,4; 44,2; 3,6; 28,8 ppm.

4.1.2.6. (\pm) *trans*-Metil-fenetil-4-(fenilamino)piperidin-3-karboksilat ((\pm) *trans*-**56**)⁷⁶

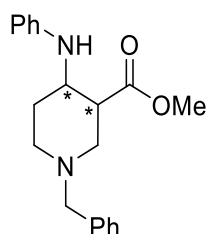
Dobijen iz enamina **55**. Prinos: 0,70 g (47 %); bela, kristalna supstanca; m.p. 48-50. **Rf** = 0,38 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 8:2). **IR** (ATR): 3356, 2949, 2804, 1724, 1601, 1496, 1321, 1197, 755, 697 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,31 – 7,26 (m, 2H); 7,17 (ddd, *J*₁ = 15,8; *J*₂ = 7,5; *J*₃ = 4,1 Hz, 5H); 6,69 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H); 6,63 (d, *J* = 7,7 Hz, 2H); 3,68 – 3,62 (m, 1H, delimično preklopljen); 3,59 (s, 3H, delimično preklopljen); 3,48 (br. s, 1H); 3,08 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H); 2,93 (d, *J* = 10,2 Hz, 1H); 2,84 – 2,75 (m, 2H); 2,68 – 2,58 (m, 3H); 2,45 (t, *J* = 10,8 Hz, 1H); 2,24 (td, *J*₁ = 11,5; *J*₂ = 2,7 Hz, 1H, delimično preklopljen); 2,21 – 2,16 (m, 1H, delimično preklopljen); 1,44 (ddd, *J*₁ = 24,5; *J*₂ = 11,1; *J*₃ = 3,9 Hz, 1H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 173,5; 146,8; 140,1; 129,3; 128,7; 128,4; 126,1; 117,8; 113,8; 59,9; 54,7; 52,6; 52,2; 51,9; 49,3; 33,7; 31,9 ppm.

4.1.2.1. (\pm) *cis*-*t*-Butil-1-benzil-4-(fenilamino)piperidin-3-karboksilat ((\pm) *cis*-123)(\pm) *cis*-123

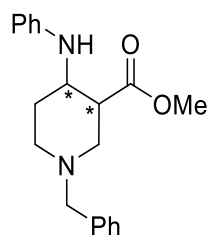
Dobijen je iz enamina **122**. Prinos: 0,62 g (39 %); beličasta, kristalna supstanca; T.t. 85-86 °C. *Rf* = 0,58 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 8:2). **IR** (ATR): 3403, 2977, 2927, 2804, 2771, 1710, 1602, 1506, 1452, 1384, 1363, 1315, 1257, 1236, 1149, 754 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,34 (d, *J* = 4,4, 4H); 7,30 – 7,25 (m, 1H); 7,18 (t, *J* = 7,8, 2H); 6,71 (t, *J* = 7,3, 1H); 6,66 (d, *J* = 8,3, 2H); 4,52 (br. s, 1H); 3,71 (br. s, 1H); 3,60 (d, *J* = 13;1, 1H); 3,47 (d, *J* = 13,1, 1H); 2,98 (br. s, 1H); 2,88 – 2,78 (m, 1H); 2,72 (br. s, 1H); 2,46 (br. s, 1H, delimično preklopljen); 2,34 (br. s, 1H, delimično preklopljen); 2,13 – 2,00 (m, 1H); 1,90 – 1,78 (m, 1H); 1,39 (s, 9H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 172,0; 147,1; 138,4; 129,2; 129,0; 128,1; 126,9; 117,3; 113,6; 80,6; 62,9; 53,8; 51,9; 50,5; 44,9; 28,7; 27,9 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₃H₃₀N₂O₂ [M+H]⁺ 367,23800; nađeno 367,23739. (HRMS je urađena na smeši diastereomera *cis*-123 / *trans*-124 pre razdvajanja).

4.1.2.2. (\pm) *trans*-*t*-Butil-1-benzil-4-(fenilamino)piperidin-3-karboksilat ((\pm) *trans*-124)(\pm) *trans*-124

Dobijen je iz enamina **122**. Prinos: 0,67 g (42 %); beličasta, kristalna supstanca; T.t. 100-101 °C. *Rf* = 0,45 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 8:2). **IR** (ATR): 3353, 2981, 2944, 2805, 2759, 1712, 1602, 1519, 1496, 1452, 1361, 1334, 1149, 755 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,37 – 7,31 (m, 4H); 7,31 – 7,27 (m, 1H, delimično preklopljen); 7,26 (s, 1H, delimično preklopljen); 7,21 – 7,11 (m, 2H); 6,69 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H); 6,63 (dd, *J*₁ = 0,9; *J*₂ = 8,5 Hz, 2H); 3,60 (td, *J*₁ = 4,8; *J*₂ = 10,2 Hz, 1H, delimično preklopljen); 3,56 (d, *J* = 1,2 Hz, 2H, delimično preklopljen); 3,00 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H); 2,84 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H); 2,51 (td, *J*₁ = 3,6; *J*₂ = 10,0 Hz, 1H); 2,38 (t, *J* = 10,8 Hz, 1H); 2,25 – 2,12 (m, 2H), 1,51 – 1,42 (m, 1H, delimično preklopljen); 1,36 (s, 9H, delimično preklopljen) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 172,2; 147,0; 138,2; 129,2; 128,9; 128,2; 127,1; 117,3; 113,3; 80,8; 62,6; 54,8; 52,6; 52,0; 50,9; 31,8; 27,9 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₃H₃₀N₂O₂ [M+H]⁺ 367,23800; nađeno 367,23739. (HRMS je urađena na smeši diastereomera *cis*-123 / *trans*-124 pre razdvajanja).

4.1.2.3. (\pm) *cis*-Metil-1-benzil-4-(fenilamino)piperidin-3-karboksilat ((\pm) *cis*-135)(\pm) *cis*-135

Dobijen je iz enamina **134**. Prinos: 0,62 g (43%); bela, kristalna supstanca; T.t. 67-68 °C. *Rf* = 0,50 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 8:2). **IR** (ATR): 3363, 3058, 3027, 2929, 2817, 1724, 1598, 1494, 1434, 1303, 1247, 1186, 1130, 748 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,35 – 7,23 (m, 5H), 7,19 – 7,13 (m, 2H), 6,72 – 6,67 (m, 1H), 6,64 (dd, *J* = 8,5, 0,9 Hz, 2H), 4,52 (br. s, 1H), 3,68 (br. s, 1H, delimično preklopljen), 3,63 (s, 3H, delimično preklopljen), 3,61 (s, 1H, delimično preklopljen), 3,45 (d, *J* = 13,3 Hz, 1H), 3,05 (br. s, 1H), 2,93 (dd, *J* = 8,4, 4,0 Hz, 1H), 2,76 (br. s, 1H), 2,46 – 2,28 (br. m, 2H), 2,18 – 2,04 (m, 1H), 1,91 – 1,82 (m, 1H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 173,2, 146,9, 138,4, 129,3, 128,8, 128,2, 127,1, 117,6, 113,8, 62,6, 53,6, 52,3, 51,4, 50,5, 44,1, 28,8 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₀H₂₅N₂O₂ [M+H]⁺ 325,19105; nađeno 325,19022. (HRMS je urađena na smeši diastereomera *cis*-135 / *trans*-136 pre razdvajanja).

4.1.2.4. (\pm) *trans*-Metil-1-benzil-4-(fenilamino)piperidin-3-karboksilat ((\pm) *trans*-136)(\pm) *trans*-136

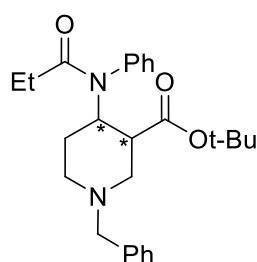
Dobijen je iz enamina **134**. Prinos: 0,64 g (45%); bela, kristalna supstanca; T.t. 54-56 °C. *Rf* = 0,40 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 8:2). **IR** (ATR): 3357, 3056, 3027, 2948, 2796, 1720, 1602, 1519, 1498, 1436, 1359, 1313, 1282, 1203, 1160 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,33 – 7,28 (m, 4H); 7,27 – 7,22 (m, 1H); 7,16 – 7,10 (m, 2H); 6,67 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H); 6,60 (dd, *J*₁ = 8,5; *J*₂ = 0,9 Hz, 2H); 3,63 (td, *J*₁ = 10,0; *J*₂ = 3,9 Hz, 1H); 3,58 – 3,48 (m, 5H, delimično preklopljen); 3,48 (br. s, 1H, delimično preklopljen); 2,95 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H); 2,84 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H); 2,59 (td, *J*₁ = 10,0; *J*₂ = 3,7 Hz, 1H); 2,36 (t, *J* = 10,8

Hz, 1H); 2,22–2,12 (m, 2H); 1,49 – 1,37 (m, 1H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): δ = 173,6; 147,0; 138,2; 129,4; 129,1; 128,4; 127,3; 117,9; 113,9; 62,7; 54,6; 52,7; 52,3; 51,9; 49,4; 31,9 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 325,19105; nađeno 325,19022. (HRMS je urađena na smeši diastereomera *cis*-135 / *trans*-136 pre razdvajanja).

4.1.3. Procedura za dobijanje estara *cis*-125 i *trans*-126

U jednogrlom balonu od 50 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor β -anilino-estra (1,0 ekv.) u CH_2Cl_2 (10 mL), Et_3N (0,5 ekv.) i propionil hlorid (1,5 ekv.). Smesa se meša na 25 °C i reakcija se prati pomoći TLC, na SiO_2 pločicama, smesom *n*-heksan:EtOAc = 8:2 kao eluentom. Nakon 2,5 h, doda se MeOH i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Rastvor K_2CO_3 (5 M) se doda (pH~11) is mesa se ekstrahuje pomoću CH_2Cl_2 (2 x 25 mL). Organski slojevi se spoje i i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Proizvod se koristi u narednoj fazi bez daljeg prečišćavanja.

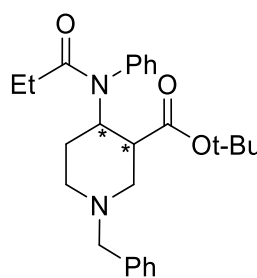
4.1.3.1. (\pm) *cis*-*t*-Butil-1-benzil-4-(*N*-fenilpropionamido)piperidin-3-karboksilat ((\pm) *cis*-125)



(\pm) *cis*-125

Dobija se iz jedinjenja (\pm) *cis*-123. Prinos: 0,38 g (83 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. R_f = 0,56 (SiO_2 ; *n*-heksan/EtOAc = 8:2). **IR** (ATR): 3399, 3010, 2979, 2944, 2819, 2777, 1718, 1604, 1510, 1469, 1365, 1305, 1253, 1220, 1159, 1126, 754 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ = 7,44 – 7,29 (m, 4H); 7,26 – 7,21 (m, 4H, delimično preklopljen); 7,21 – 7,16 (m, 1H, delimično preklopljen); 7,06 – 6,99 (m, 1H); 4,48 (dd, J_1 = 4,5; J_2 = 7,6 Hz, 1H); 3,50 (d, J = 13,3 Hz, 1H); 3,39 (d, J = 3,2 Hz, 1H); 3,28 (d, J = 13,3 Hz, 1H); 3,03 (d, J = 11,6 Hz, 1H); 2,80 (d, J = 8,6 Hz, 1H); 2,32 (dd, J_1 = 3,5; J_2 = 11,8 Hz, 1H); 2,21 (ddd, J_1 = 4,1; J_2 = 12,0; J_3 = 23,9 Hz, 1H); 2,11 (td, J_1 = 2,5; J_2 = 11,2 Hz, 1H); 1,97 – 1,81 (m, 2H); 1,44–1,38 (m, 1H, delimično preklopljen); 1,35 (s, 9H); 0,98 (t, J = 7,4 Hz, 3H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): δ = 174,7; 171,4; 140,2; 138,5; 131,4; 130,3; 128,9; 128,7; 128,4; 128,0; 127,9; 126,8; 79,6; 62,4; 55,3; 55,1; 53,5; 43,8; 28,8; 28,0; 26,9; 9,6 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 423.26422; nađeno 423.26322.

4.1.3.2. (\pm) *trans*-*t*-Butil-1-benzil-4-(*N*-fenilpropionamido)piperidin-3-karboksilat ((\pm) *trans*-126)



(\pm) *trans*-126

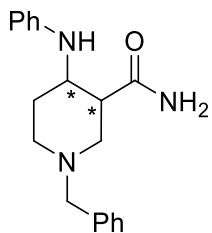
Dobija se iz jedinjenja (\pm) *trans*-124. Prinos: 0,32 g (70%); svetlo-žuta, uljasta supstanca. R_f = 0,48 (SiO_2 ; *n*-heksan/EtOAc = 8:2). **IR** (ATR): 2975, 2937, 2813, 1722, 1664, 1596, 1494, 1456, 1392, 1367, 1259, 1155, 705 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ = 7,53 – 7,33 (m, 4H); 7,33 – 7,19 (m, 5H); 7,04 (br. s, 1H); 5,04 (td, J_1 = 12,0; J_2 = 4,0 Hz, 1H); 3,45 (dd, J = 31,3; J_2 = 13,2 Hz, 2H); 3,02 (ddd, J_1 = 11,2; J_2 = 3,6; J_3 = 2,2 Hz, 1H); 2,89 – 2,77 (m, 1H); 2,49 (td, J_1 = 11,2; J_2 = 3,5 Hz, 1H); 2,28 (t, J = 11,2 Hz, 1H); 2,13 (td, J_1 = 12,0; J_2 = 2,3 Hz, 1H); 1,88 (qd, J_1 = 7,4; J_2 = 1,8 Hz, 2H); 1,73 (ddd, J_1 = 12,3; J_2 = 6,6; J_3 = 2,6 Hz, 1H); 1,46 (s, 9H); 1,44 – 1,37 (m, 1H); 0,98 (t, J = 7,4 Hz, 3H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): δ = 173,3; 171,6; 138,8; 137,9; 130,7; 130,4; 129,4; 129,1; 128,9; 128,2; 128,1; 127,0; 80,8; 62,4; 55,5; 53,3; 52,3; 47,4; 29,4; 28,4; 27,9; 9,5 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 423,26422; nađeno 423,26274.

4.1.4. Opšta procedura za dobijanje karboksamida 137-140

U jednogrlom balonu od 50 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor formamida (4,0 ekv.) u DMF (5 mL) i LiH (2,0 ekv.). Nakon 5 min. u smesu se doda rastvor β -anilinoestra (1,0 ekv.) u DMF (1 mL) i mešanje se nastavlja na 25 °C. Reakcija se prati pomoći TLC, na SiO_2 pločicama, smesom CH_2Cl_2 :MeOH = 9:1, kao eluentom. Nakon 16 h višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom, a sirupasti ostatak se pomeša sa zasićenim, vodenim rastvorom NaCl (75 mL) i ekstrahuje pomoću CH_2Cl_2 (3 X 25 mL). Organski slojevi se spoje i višak

rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Dobijena smesa diastereomera se razdvaja "flash" column hromatografijom (SiO₂; CH₂Cl₂:MeOH = 95:5).

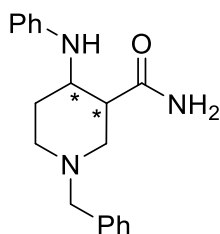
4.1.4.1. (±) *cis*-1-Benzil-4-(fenilamino)piperidin-3-karboksamid ((±) *cis*-137)



(±) *cis*-137

Dobija se iz smese diastereomera (±) *cis*- 135 /*trans*-136. Prinos: 0,37 g (41 %); beličasta, kristalna supstanca; **T.t.** 85-86 °C. **Rf** = 0,65 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 9:1). **IR** (ATR): 3374, 3263, 2950, 2811, 2763, 1666, 1600, 1515, 1409, 1324, 744 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 8,56 (br. s, 1H); 7,36 – 7,32 (m, 2H); 7,31 – 7,27 (m, 1H); 7,26 – 7,22 (m, 2H); 7,14 (dd, *J*₁ = 8,4; *J*₂ = 7,4 Hz, 2H); 6,65 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H); 6,58 (d, *J* = 7,7 Hz, 2H), 6,08 (s, 1H); 4,76 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H); 3,56 (d, *J* = 12,8 Hz, 1H); 3,48 (d, *J* = 12,7 Hz, 2H, delimično preklopljen); 3,14 (d, *J* = 12,2 Hz, 1H); 2,99 (d, *J* = 11,2 Hz, 1H); 2,71 (s, 1H); 2,29 (dd, *J*₁ = 12,1; *J*₂ = 2,6 Hz, 1H); 2,19 (td, *J*₁ = 11,9; *J*₂ = 2,6 Hz, 1H); 2,09 (d, *J* = 13,6 Hz, 1H); 1,63 (ddd, *J*₁ = 25,7; *J*₂ = 12,3; *J*₃ = 4,0 Hz, 1H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 175,5; 146,9; 137,2; 129,4; 129,3; 128,7; 127,8; 117,1; 113,2; 63,0; 54,5; 52,5; 51,7; 45,1; 28,5 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₁₉H₂₃N₃O [M+H]⁺ 310,19139; nađeno 310,19167.

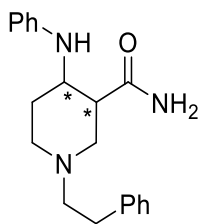
4.1.4.2. (±) *trans*-1-Benzil-4-(fenilamino)piperidin-3-karboksamid ((±) *trans*-138)



(±) *trans*-138

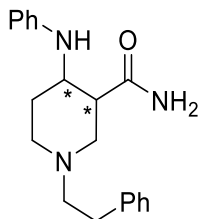
Dobija se iz smese diastereomera (±) *cis*- 135 /*trans*-136. Prinos: 0,43 g (48 %); beličasta, kristalna supstanca; **T.t.** 118-119 °C. **Rf** = 0,52 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 9:1). **IR** (ATR): 3488, 3332, 3205, 3027, 2944, 2919, 2796, 1656, 1598, 1496 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7,39 – 7,33 (m, 4H); 7,30 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H, delimično preklopljen); 7,27 (br. s, 1H, delimično preklopljen); 7,07 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H); 6,83 (br. s, 1H); 6,62 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H); 6,52 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H); 5,17 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H); 3,57 – 3,51 (m, 2H, delimično preklopljen); 3,50 – 3,44 (m, 1H, delimično preklopljen); 2,89 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H); 2,82 (d, *J* = 11,3 Hz, 1H); 2,45 (td, *J*₁ = 10,4; *J*₂ = 3,7 Hz, 1H); 2,19 (t, *J* = 11,0 Hz, 1H); 2,10 (t, *J* = 11,1 Hz, 1H); 2,01 (dd, *J*₁ = 12,9; *J*₂ = 3,3 Hz, 1H); 1,34 (qd, *J*₁ = 12,5; *J*₂ = 3,7 Hz, 1H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, DMSO): δ = 174,7; 148,5; 138,9; 129,4; 129,4; 128,5; 127,5; 116,1; 113,2; 62,5; 55,9; 52,4; 51,6; 49,4; 31,5 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₁₉H₂₃N₃O [M+H]⁺ 310,19139; nađeno 310,19116.

4.1.4.3. (±) *cis*-1-Fenetil-4-(fenilamino)piperidin-3-karboksamid ((±) *cis*-139)^[81]



(±) *cis*-139

Dobija se iz smese diastereomera (±) *cis*- / *trans*-56. Prinos: 0,36 g (38 %); beličasta, kristalna supstanca; **T.t.** 141-142 °C. **Rf** = 0,63 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 9:1). **IR** (ATR): 3357, 3267, 3167, 3049, 2945, 2821, 1654, 1601, 1520, 1114, 747, 695 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7,57 (s, 1H); 7,22 (qdd, *J*₁ = 8,6; *J*₂ = 5,1; *J*₃ = 1,4 Hz, 5H); 7,07 (dd, *J*₁ = 8,4; *J*₂ = 7,3 Hz, 2H); 6,96 (s, 1H); 6,60 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H); 6,53 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H), 5,20 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H); 3,65 (s, 1H); 2,92 (br. s, 1H); 2,75 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H); 2,71-2,61 (m, 2H); 2,60-2,53 (m, 2H); 2,48 (br s, 1H, delimično preklopljen); 2,34 (br s, 1H); 1,86-1,61 (m, 2H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 174,2; 147,5; 140,4; 128,9; 128,6; 128,2; 125,8; 115,8; 112,7; 59,5; 52,4; 49,9; 49,4; 44,2; 32,7; 28,4 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₀H₂₆N₃O [M+H]⁺ 324,20704; nađeno 324,20698. (HRMS je urađena na smeši diastereomera *cis*-139 / *trans*-140 pre razdvajanja).

4.1.4.4. (\pm) *trans*-1-Fenetil-4-(fenilamino)piperidin-3-karboksamid ((\pm) *trans*-140)⁸¹(\pm) *trans*-140

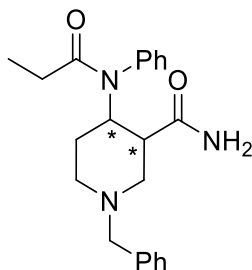
Dobija se iz smese diastereomera (\pm) *cis*- / *trans*-56. Prinos: 0,42 g (45 %); beličasta, kristalna supstanca; **T.t.** 153-154 °C. **Rf** = 0,50 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 9:1). **IR (ATR)**: 3387, 3040, 2929, 2797, 1675, 1599, 1508, 1318, 1115, 752, 695 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7,29 (s, 1H, delimično preklopljen); 7,28-7,15 (m, 5H); 7,04 (dd, J_1 = 8,4; J_2 = 7,4 Hz, 2H); 6,84 (s, 1H); 6,60 (d, J = 7,7 Hz, 2H); 6,49 (t, J = 7,2 Hz, 1H); 5,19 (d, J = 8,9 Hz, 1H); 3,47 (dd, J_1 = 9,1; J_2 = 3,3 Hz, 1H); 2,99 (d, J = 10,0 Hz, 1H); 2,90 (d, J = 11,0 Hz, 1H); 2,79-2,68 (m, 2H); 2,60-2,52 (m, 2H); 2,44 (td, J_1 = 10,1; J_2 = 3,2 Hz, 1H); 2,25 (t, J = 10,8 Hz, 1H); 2,13 (t, J = 10,9 Hz, 1H); 2,04-1,93 (m, 1H); 1,31 (td, J_1 = 14,2; J_2 = 3,4 Hz, 1H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 174,2; 147,9; 140,3; 128,8; 128,6; 128,2; 125,8; 115,5; 112,6; 59,4; 55,4; 51,6; 51,0; 48,6; 32,9; 30,8 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₀H₂₆N₃O [M+H]⁺ 324,20704; nađeno 324,20698. (HRMS je urađena na smeši diastereomera *cis*-139 / *trans*-140 pre razdvajanja).

4.1.5. Opšta procedura za dobijanje karboksamida 129 i 130 iz estara 125 i 126

U jednogrlom balonu od 50 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor anilido-estra (1,0 ekv.) u CH₂Cl₂ (8 mL) doda se TFA (12,0 ekv.). Smesa se meša na 25 °C i reakcija se prati pomoći TLC, na SiO₂ pločicama, smešom CH₂Cl₂:mravlja kiselina = 9:1 kao eluentom. Nakon 6 h smesa se ohladi na 0 °C, i doda se Et₃N (4,0 ekv.). Nakon 10 minuta doda se pivaloil-hlorid (4,0 ekv.) i mešanje se nastavlja 2 h na 0 °C. Smesa se zatim ohladi na -15 °C i doda se NH₄OH (25%, 25,0 ekv.). Rastvor K₂CO₃ (5 M) se doda (pH~11) se doda nakon 45 minuta i smesa se ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (2 x 25 mL). Organski slojevi se spoje i i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; CH₂Cl₂:MeOH = 100:0 do 95:5).

4.1.6. Opšta procedura za dobijanje karboksamida 129, 130, 141 i 142

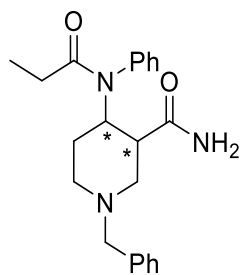
U jednogrlom balonu od 100 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor anilino-karboksamida (1,0 ekv.) u DMF (10 mL), doda se Et₃N (2,5 ekv.) i propionil-hlorid (6,0 ekv.). Smesa se meša na 25 °C i reakcija se prati pomoću TLC, na SiO₂ pločicama, smešom CH₂Cl₂:MeOH = 95:5, kao eluentom. Nakon 24 h doda se MeOH i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Rastvor K₂CO₃ (5 M) se doda (pH~11) i smesa se ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (2 x 25 mL). Organski slojevi se spoje i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Proizvod se zatim rastvori u metanolnom rastvoru amonijaka (7-9 M, 25 mL) i smesa se meša na 25 °C. Reakcija se prati pomoći TLC, na SiO₂ pločicama, smešom CH₂Cl₂:MeOH = 95:5, kao eluentom. Nakon 6 h višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom, a proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; CH₂Cl₂:MeOH = 100:0 do 95:5).

4.1.6.1. (\pm) *cis*-1-Benzil-4-(*N*-fenilpropionamido)piperidin-3-karboksamid ((\pm) *cis*-129)(\pm) *cis*-129

Dobija se iz jedinjenja (\pm) *cis*-137. Prinos: 0,70 g (64%); beličasta, kristalna supstanca; **T.t.** 95-96 °C. **Rf** = 0,60 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5). **IR (ATR)**: 3361, 3060, 2939, 2811, 1668, 1592, 1494, 1454, 1390, 1274, 746, 703 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 8,55 (br. s, 1H); 7,47 (d, J = 7,6 Hz, 1H); 7,38 – 7,22 (m, 6H); 7,19 – 7,15 (m, 2H); 7,06 – 6,97 (m, 1H); 5,66 (br. s, 1H); 4,63 – 4,47 (m, 1H); 3,49 (d, J = 12,8 Hz, 1H, delimično preklopljen); 3,46 (d, J = 2,4 Hz, 1H, delimično preklopljen); 3,41 (d, J = 12,8 Hz, 1H, delimično preklopljen); 3,08 (dt, J_1 = 2,2; J_2 = 12,2 Hz, 1H); 2,94 – 2,87 (m, 1H); 2,38 (dd, J_1 = 3,2; J_2 = 12,3 Hz, 1H); 2,08 (td, J_1 = 4,2; J_2 = 11,3 Hz, 1H); 2,01 – 1,82 (m, 2H); 1,48 – 1,38 (m, 2H); 1,01 (t, J = 7,4 Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 175,5; 174,3; 139,5; 137,1; 131,2; 130,6; 129,4; 129,0; 128,4; 128,0; 127,5; 62,5; 55,0; 54,3; 52,4; 43,34; 28,7; 27,1; 9,3 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₂H₂₇N₃O₂

$[M+H]^+$ 366,21760; nađeno 366,21661. (Karboksamid (\pm) **cis 129** se alternativno dobija iz anilido-estra (\pm) **cis 125**, prema opštoj proceduri. Prinos: 0.09 g (35%).

4.1.6.2. (\pm) *trans*-1-Benzil-4-(*N*-fenilpropionamido)piperidin-3-karboksamid ((\pm) **trans-130**)

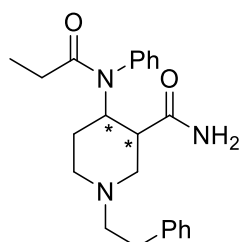


(\pm) **trans-130**

Dobija se iz jedinjenja (\pm) **trans-138**. Prinos: 0,72 g (66 %); bela, kristalna supstanca; **T.t.** 114 °C. **Rf** = 0,43 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5). **IR** (ATR): 3386, 3191, 3029, 2935, 2811, 2769, 1650, 1592, 1492, 1454, 1392, 1259, 1081, 703 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,47 – 7,37 (m, 3H); 7,27 (dd, J_1 = 9,6; J_2 = 5,1 Hz, 2H, delimično preklopljen); 7,22 (d, J = 7,1 Hz, 3H, delimično preklopljen); 7,14 (br. s, 2H); 6,82 (s, 1H); 5,70 (s, 1H); 4,74 (br. s, 1H); 3,54 – 3,42 (m, 2H); 3,19 (d, J = 10,0 Hz, 1H); 2,90 (d, J = 11,1 Hz, 1H); 2,79 (br. s, 1H); 2,19 (t, J = 11,2 Hz, 1H); 2,11 (td, J_1 = 11,6; J_2 = 2,3 Hz, 1H); 2,00 – 1,86 (m, 2H); 1,76 – 1,68 (m, 2H); 0,98 (t, J = 7,4 Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 175,1; 174,7; 137,5; 129,5; 128,9; 128,6; 128,2; 127,1; 62,3; 56,8;

52,4; 48,4; 29,4; 28,5; 9,5 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₂H₂₇N₃O₂ $[M+H]^+$ 366,21760; nađeno 366,21759. (Karboksamid (\pm) **trans 130** se alternativno dobija iz anilido-estra (\pm) **trans 126**, prema opštoj proceduri. Prinos: 0,05 g (20%).

4.1.6.3. (\pm) *cis*-1-Fenetil-4-(*N*-fenilpropionamido)piperidin-3-karboksamid ((\pm) **cis-141**)

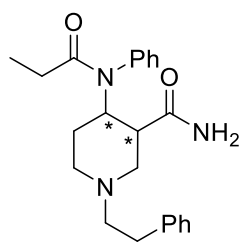


(\pm) **cis-141**

Dobija se iz jedinjenja (\pm) **cis-139**. Prinos: 0,70 g (62 %); svetlo-žuta, kristalna supstanca; **T.t.** 104-105 °C. **Rf** = 0,58 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5). **IR** (ATR): 3286, 2966, 2937, 2794, 1652, 1594, 1494, 1452, 1392, 1270 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 8,02 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 7,41 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 7,37 – 7,29 (m, 3H), 7,27 – 7,21 (m, 2H), 7,19 – 7,15 (m, 1H), 7,14 – 7,08 (m, 2H), 7,02 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 5,15 (s, 1H), 4,50 (dt, J = 13.2, 4.9 Hz, 1H), 3,40 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 3,04 (dt, J = 12.1, 2.2 Hz, 1H, delimično preklopljen), 3,00 (ddd, J = 6.5, 5.2, 3.2 Hz, 1H, delimično preklopljen), 2,74 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 2,70 – 2,59 (m, 2H), 2,37 (dd, J = 12.1, 3.1 Hz, 1H), 2,10 (td, J = 11.8, 2,9

Hz, 1H), 1,98 – 1,83 (m, 2H), 1,44 (dd, J = 13.1, 3.1 Hz, 1H), 1,35 (ddd, J = 25.7, 13.1, 4.3 Hz, 1H), 1,00 (t, J = 7.4 Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 175.2, 174.2, 139.7, 139.5, 131.2, 130.5, 129.3, 128.4, 128.4, 127.9, 126.1, 58.5, 55.1, 54.5, 52.3, 43.3, 32.9, 28.6, 26.9, 9.3 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₃H₂₉N₃O₂ $[M+H]^+$ 380.23325; nađeno 380.23298.

4.1.6.4. (\pm) *trans*-1-Fenetil-4-(*N*-fenilpropionamido)piperidin-3-karboksamid ((\pm) **trans-142**)



(\pm) **trans-142**

Dobija se iz jedinjenja (\pm) **trans-140**. Prinos: 0,78 g (69%); bela, kristalna supstanca; **T.t.** 124-125 °C. **Rf** = 0,40 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5). **IR** (ATR): 3455, 3367, 3340, 3185, 3029, 2929, 2807, 1658, 1494, 1384, 1265 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,48 – 7,35 (m, 3H); 7,25 (dd, J_1 = 5,0; J_2 = 12,2 Hz, 2H); 7,20 – 7,07 (m, 5H); 6,90 (s, 1H); 5,66 (s, 1H); 4,81 (br. s, 1H); 3,32 (d, J = 9,7 Hz, 1H); 3,00 (d, J = 11,2 Hz, 1H); 2,86 – 2,65 (m, 3H); 2,65 – 2,50 (m, 2H); 2,19 (dt, J_1 = 6,9; J_2 = 11,9 Hz, 2H); 2,02-1,88 (m, 2H); 1,86 – 1,76 (m, 1H); 1,68 (br. d, J = 9,8 Hz, 1H); 1,00 (t, J = 7,4 Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (50 MHz, CDCl₃): δ = 175,2; 174,7; 139,8; 138,4; 129,7; 128,6; 128,5; 128,3; 126,0;

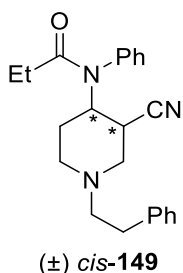
59,7; 56,8; 54,0; 52,7; 48,3; 33,5; 29,4; 28,4; 9,5 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato C₂₃H₂₉N₃O₂ $[M+H]^+$ 380,23325; nađeno 380,23281.

4.1.8. Opšta procedura za dobijanje nitrila **149** i **150**

U jednogrlom balonu od 25 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor anilido-karboksamida **8** (1,0 ekv.) u DMF (2 mL) i SOCl₂ (2,0 ekv.). Smesa se meša na 25 °C i reakcija se prati pomoći TLC, na SiO₂ pločicama, (*n*-heksan:EtOAc = 6:4). Nakon 3 h, višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Uljasti ostatak se zatim rastvori u CH₂Cl₂ i ispira pomoću zasićenog rastvora NaCl (2 x 20 mL). Organski sloj se odvoji, a višak rastvarača se

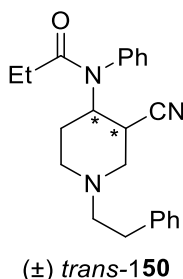
upari pod sniženim pritiskom. Proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; *n*-heksan:EtOAc=8:2 do 2:8).

4.1.8.1 (±) *cis*-*N*-(3-cijano-1-fenetilpiperidin-4-il)-*N*-fenilpropionamid ((±) *cis*-149)



Dobija se iz jedinjenja (±) *cis*-141. Prinos: 0,056 g (66 %); žuta, viskozna supstanca. **R_f**= 0,52 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 6:4). **IR** (ATR): 2937, 2240, 1663, 1585, 1494, 1455, 1378, 1268, 1093, 751, 704 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,73 – 7,66 (m, 1H); 7,47 – 7,44 (m, 1H); 7,41 – 7,35 (m, 2H); 7,29 – 7,23 (m, 2H); 7,18 (d, *J* = 7,4 Hz, 3H); 7,06 – 7,01 (m, 1H); 4,32 (dt, *J*₁ = 13,0; *J*₂ = 4,3 Hz, 1H); 3,91 (td, *J*₁ = 4,3; *J*₂ = 2,5 Hz, 1H); 3,20 (dt, *J*₁ = 11,8; *J*₂ = 2,5 Hz, 1H); 3,00 – 2,90 (m, 1H); 2,79 – 2,70 (m, 2H); 2,66 – 2,57 (m, 2H); 2,40 (dd, *J*₁ = 11,9; *J*₂ = 2,6 Hz, 1H); 2,13 (td, *J*₁ = 11,6; *J*₂ = 2,8 Hz, 1H); 2,02 – 1,93 (m, 2H); 1,57 – 1,46 (m, 1H); 1,46 – 1,37 (m, 1H); 1,02 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ = 174,9; 139,9; 138,3; 131,3; 130,1; 129,5; 128,8; 128,6; 128,6; 128,2; 125,96; 120,5; 59,2; 54,5; 53,8; 52,6; 33,5; 32,6; 28,7; 27,8; 9,3 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: *m/z* izračunato za C₂₃H₂₈N₃O [M+H]⁺ 362,2227; nađeno 362,2227.

4.1.8.2 (±) *trans*-*N*-(3-cijano-1-fenetilpiperidin-4-il)-*N*-fenilpropionamid ((±) *trans*-150)

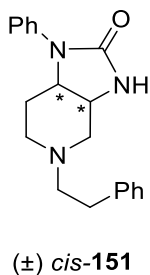


Dobija se iz jedinjenja (±) *trans*-142. Prinos: 0,052 g (61 %); žuta, viskozna supstanca. **R_f**= 0,46 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 6:4). **IR** (ATR): 2939, 2241, 1663, 1595, 1494, 1454, 1379, 1256, 1091, 704 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,54 – 7,35 (m, 4H); 7,32 – 7,24 (m, 2H); 7,25 – 7,10 (m, 4H); 4,87 (s, 1H); 3,26 (ddd, *J*₁ = 11,2; *J*₂ = 3,7; *J*₃ = 2,1 Hz, 1H); 3,04 – 2,97 (m, 1H); 2,78 (br. s, 1H, delimično preklopljen); 2,72 (dd, *J*₁ = 10,1; *J*₂ = 5,7 Hz, 2H, delimično preklopljen); 2,65 – 2,58 (m, 2H); 2,43 (t, *J* = 11,3 Hz, 1H); 2,24 (td, *J*₁ = 11,9; *J*₂ = 2,4 Hz, 1H); 2,09 – 1,93 (m, 2H, delimično preklopljen); 1,90 (ddd, *J*₁ = 12,6; *J*₂ = 6,6; *J*₃ = 2,6 Hz, 1H, delimično preklopljen); 1,69 (br. s, 1H); 1,06 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 174,1; 139,5; 138,4; 129,8; 128,9; 128,5; 128,4; 126,2; 119,2; 59,2; 54,8; 54,2; 52,0; 33,5; 32,1; 29,1; 28,4; 9,4 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₃H₂₈N₃O [M+H]⁺ 362,2227; nađeno 362,2225.

4.1.7. Opšta procedura za dobijanje cikličkih urea 151, 152 i karbamata 153-156

U jednogrlom balonu od 100 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor karboksamida (1,0 ekv.) u MeOH (3 mL), LiOH·H₂O i NBA. Smesa se meša na 60 °C, zaštićena od svetlosti. Reakcija se prati pomoći TLC, na SiO₂ pločicama, (*n*-heksan:EtOAc = 1:1 ili CH₂Cl₂:MeOH = 9:1). Nakon 3-5 min, višak rastvarača se ukloni pod sniženim pritiskom. Sirovi proizvod se pomeša sa 1M rastvorom NaOH i smesa se ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (2 x 25 mL). Organski slojevi se spoje, a višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; *n*-heksan:EtOAc = 8:2 do 2:8 u slučaju karbamata ili CH₂Cl₂:MeOH = 10:0 do 8:2 u slučaju cikličkih urea).

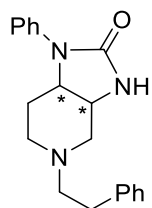
4.1.7.5 (±) *cis*-5-Fenetil-1-fenilheksahidro-1*H*-imidazo[4,5-*c*]piridin-2(3*H*)-on ((±) *cis*-151)



Dobija se iz jedinjenja (±) *cis*-139. Prinos: 0,24 g (80%); žuta, viskozna supstanca. **R_f**= 0,53 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH=9:1). **IR** (ATR): 3281.1, 3027.0, 2947.0, 2812.2, 1705.9, 1599.6, 1499.0, 1403.8, 1309.9, 1253.8, 753.2, 698.2 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,39–7,12 (m, 10H); 6,10 (s, 1H); 4,21 (dt, *J*₁ = 6,5; *J*₂ = 4,6 Hz, 1H); 3,82 (dd, *J* = 12,6; 7,1 Hz, 1H); 2,87 (ddd, *J* = 11,7; *J*₂ = 5,3; *J*₃ = 1,0 Hz, 1H); 2,81-2,71 (m, 2H); 2,67-2,54 (m, 2H); 2,45 (dd, *J*₁ = 11,8; *J*₂ = 7,7 Hz, 2H); 2,39-2,25 (m, 1H); 2,05-1,88 (m, 2H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 161,1; 139,9; 137,8; 128,8; 128,6; 128,3; 126,0; 124,7; 123,2; 60,0; 55,8; 54,0; 49,2; 48,6; 33,4; 25,3 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₀H₂₄N₃O: [M+H]⁺ 322,19139; nađeno 322,18990. (HRMS je urađena za

smesu diastereomera *cis*-**151** / *trans*-**152** dobijenoj u ranijem eksperimentu gde prekursori *cis*-**139** / *trans*-**140** nisu razdvojeni)

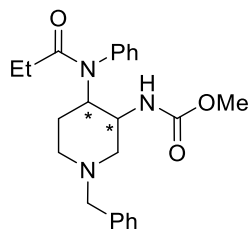
4.1.7.6. (\pm) *trans*-5-Fenetil-1-fenilheksahidro-1*H*-imidazo[4,5-*c*]piridin-2(3*H*)-on ((\pm) *trans*-**152**)



(\pm) *trans*-**152**

Dobija se iz jedinjenja (\pm) *trans*-**140**. Prinos: 0,25 g (85 %); žuta, viskozna supstanca. *R_f* = 0,58 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH=9:1). **IR** (ATR): 3228,7, 3105,0, 3027,8, 2953,4, 2808,2, 1702,6, 1601,3, 1498,3, 1351,9, 1236,1, 1165,7, 1139,3, 753,9, 698,0 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,37 (t, *J* = 7,9 Hz, 2H); 7,32 – 7,22 (m, 4H); 7,22 – 7,14 (m, 4H); 5,74 (s, 1H); 3,52 – 3,46 (m, 1H); 3,42 (td, *J*₁ = 11,1; *J*₂ = 3,1 Hz, 1H); 3,30 (dd, *J*₁ = 9,9; *J*₂ = 2,8 Hz, 1H); 3,08 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H); 2,84–2,67 (m, 4H); 2,37–2,29 (m, 2H); 2,08 (dd, *J*₁ = 12,2; *J*₂ = 2,6 Hz, 1H); 1,73 (qd, *J*₁ = 11,8; *J*₂ = 4,0 Hz, 1H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 162,6; 139,9; 138,3; 128,8; 128,6; 128,3; 126,0; 125,0; 123,2; 63,6; 59,6; 56,6; 55,5; 51,8; 33,6; 28,1 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₀H₂₄N₃O: [M+H]⁺ 322,19139; nađeno 322,18990. (HRMS je urađena za smesu diastereomera *cis*-**151** / *trans*-**152** dobijenoj u ranijem eksperimentu gde prekursori *cis*-**139** / *trans*-**140** nisu razdvojeni).

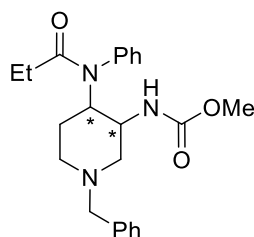
4.1.7.1. (\pm) *cis*-Metil-(1-benzil-4-(*N*-fenilpropionamido)piperidin-3-il)karbammat ((\pm) *cis*-**153**)



(\pm) *cis*-**153**

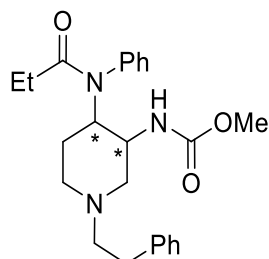
Dobija se iz jedinjenja (\pm) *cis*-**129**. Prinos: 0,24 g (68 %); žuta, viskozna supstanca. *R_f* = 0,52 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3421, 3334, 2942, 2807, 1724, 1654, 1592, 1498, 1456, 1373, 1255, 1089 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, DMSO-*d*₆, 75 °C) δ = 7,41 – 7,34 (m, 3H); 7,31 – 7,25 (m, 4H); 7,21 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H); 7,16 – 7,12 (m, 2H); 6,12 (br. s, 1H); 4,40 (br. d, *J* = 7,0 Hz, 1H); 4,30 – 4,22 (m, 1H); 3,60 (s, 3H); 3,44 (d, *J* = 3,1 Hz, 2H); 2,76 (br. d, *J* = 10,9 Hz, 1H); 2,71 (d, *J* = 11,3 Hz, 1H); 2,27 (d, *J* = 11,1 Hz, 1H); 2,02 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H); 1,80 (q, *J* = 7,4 Hz, 2H); 1,41 (dd, *J*₁ = 14,5; *J*₂ = 10,5 Hz, 1H, delimično preklopljen); 1,37 (br. s, 1H, delimično preklopljen); 0,88 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, DMSO-*d*₆, 348 K) δ = 172,4; 155,9; 139,8; 137,9; 129,8; 128,4; 128,12; 127,6; 127,4; 126,4; 60,9; 56,9; 55,1; 51,9; 50,9; 47,8; 27,5; 25,3; 8,9 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₃H₂₉N₃O₃ [M+H]⁺ 396,22817; nađeno 396,22808.

4.1.7.2. (\pm) *trans*-Metil-(1-benzil-4-(*N*-fenilpropionamido)piperidin-3-il)karbammat ((\pm) *trans*-**154**)

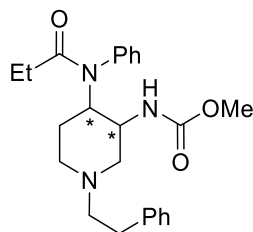


(\pm) *trans*-**154**

Dobija se iz jedinjenja (\pm) *trans*-**130**. Prinos: 0,26 g (72 %); beličasta, kristalna supstanca; **T.t.** 79–80 °C. *R_f* = 0,47 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3311, 3052, 2956, 2794, 1718, 1648, 1591, 1556, 1494, 1456, 1400, 1307, 1272, 1041 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, DMSO-*d*₆, 75 °C) δ = 7,46 – 7,39 (m, 3H); 7,30 – 7,25 (m, 2H); 7,24 – 7,17 (m, 5H); 6,49 (br. s, 1H); 4,46 (br. s, 1H); 3,53 (s, 3H); 3,44 (s, 2H, delimično preklopljen); 3,41 (br. s, 1H, delimično preklopljen); 2,90 (ddd, *J*₁ = 10,9; *J*₂ = 4,6; *J*₃ = 2,0 Hz, 1H); 2,75 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H); 2,00 (t, *J* = 10,7 Hz, 1H, delimično preklopljen); 1,93 (t, *J* = 10,7 Hz, 1H, delimično preklopljen); 1,85 (br. s, 2H, delimično preklopljen); 1,75 (d, *J* = 11,1 Hz, 1H, delimično preklopljen); 1,32 (br. d, *J* = 9,9 Hz, 1H); 0,89 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, DMSO-*d*₆, 75 °C) δ = 173,1; 155,7; 138,6; 137,7; 129,6; 128,8; 128,2; 127,8; 127,6; 126,4; 60,9; 57,6; 55,1; 51,4; 50,9; 50,1; 28,8; 27,4; 9,0 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₃H₂₉N₃O₃ [M+H]⁺ 396,22817; nađeno 396,22746.

4.1.7.3. (\pm) *cis*-Metil-(1-fenetil-4-(*N*-fenilpropionamido)piperidin-3-il)karbamat ((\pm) *cis*-155)(\pm) *cis*-155

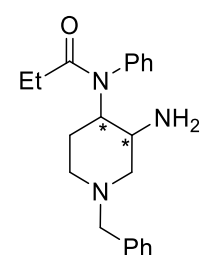
Dobija se iz jedinjenja (\pm) *cis*-141. Prinos: 0,24 g (64%); žuta, viskozna supstanca. *R_f* = 0,50 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3417, 2942, 2809, 1724, 1654, 1594, 1498, 1456, 1376, 1249, 1087 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, DMSO-*d*₆, 75 °C) δ = 7,41 – 7,35 (m, 3H); 7,26 – 7,21 (m, 2H); 7,20 – 7,15 (m, 3H, delimično preklopljen); 7,12 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H, delimično preklopljen); 5,76 (br. s, 1H); 4,40 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H); 4,24 (dt, *J*₁ = 13,2; *J*₂ = 4,0 Hz, 1H); 3,61 (s, 3H); 2,93 – 2,78 (m, 2H); 2,69 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H); 2,56 (br. s, 2H); 2,32 (dd, *J*₁ = 15,1; *J*₂ = 7,6 Hz, 1H); 2,12 (br. s, 1H); 1,80 (q, *J* = 7,4 Hz, 2H); 1,39 (d, *J* = 11,3 Hz, 1H, delimično preklopljen); 1,33 – 1,26 (m, 1H, delimično preklopljen); 0,89 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, DMSO-*d*₆, 75 °C) δ = 172,4; 155,8; 139,9; 139,8; 129,7; 128,4; 128,1; 127,7; 127,4; 125,3; 58,2; 56,8; 55,1; 51,9; 51,0; 47,7; 32,3; 27,5; 25,3; 8,9 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₄H₃₁N₃O₃ [M+H]⁺ 410,24382; nađeno 410,24231.

4.1.7.4. (\pm) *trans*-Metil-(1-fenetil-4-(*N*-fenilpropionamido)piperidin-3-il)karbamat ((\pm) *trans*-156)(\pm) *trans*-156

Dobija se iz jedinjenja (\pm) *trans*-142. Prinos: 0,27 g (74 %); beličasta, kristalna supstanca; **T.t.** 65-66 °C. *R_f* = 0,45 (SiO₂; *n*-heksan/EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3307, 3027, 2942, 2807, 1720, 1645, 1594, 1523, 1496, 1456, 1378, 1267, 1039, 703 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, DMSO-*d*₆, 75 °C) δ = 7,47 – 7,39 (m, 3H); 7,26 – 7,19 (m, 4H); 7,18 – 7,12 (m, 3H); 6,47 (br. s, 1H); 4,46 (br. s, 1H); 3,57 (s, 3H); 3,41 (br. s, 1H); 3,01 (ddd, *J*₁ = 10,9; *J*₂ = 4,5; *J*₃ = 2,0 Hz, 1H); 2,86 (dd, *J*₁ = 9,5; *J*₂ = 2,0 Hz, 1H); 2,69 – 2,62 (m, 2H); 2,52 – 2,49 (m, 2H, preklopljen sa DMSO); 2,03 (td, *J*₁ = 12,0; *J*₂ = 2,3 Hz, 1H); 1,97 (t, *J* = 10,6 Hz, 1H); 1,86 (br. s, 2H); 1,76 (d, *J* = 10,1 Hz, 1H); 1,30 (br. d, *J* = 10,4 Hz, 1H); 0,90 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, DMSO-*d*₆, 75 °C) δ = 173,1; 155,8; 139,9; 138,6; 129,6; 128,8; 128,0; 127,8; 127,7; 125,3; 58,3; 57,7; 55,1; 51,4; 50,9; 50,1; 32,6; 28,8; 27,4; 9,0 ppm. **HRMS-ESI-ToF**: izračunato za C₂₄H₃₁N₃O₃ [M+H]⁺ 410,24382; nađeno 410,24267.

4.1.9. Opšta procedura za dobijanje amina 159-161

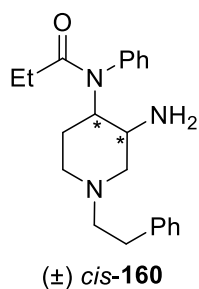
U jednogrlom balonu od 25 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor karbamata (1,0 ekv.) u dihloroetanu (2 mL) i TMSI (3,5 ekv.). Smesa se meša na 25 °C, zaštićena od svetlosti. Reakcija se prati pomoći TLC, na SiO₂ pločicama (CH₂Cl₂:MeOH = 95:5). Nakon 48 h, doda se MeOH u višku, a višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. U ostatak se doda rastvor HCl (1M) i smesa se ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (3x15 mL). Vodeni sloj se odvoji, neutrališe rastvorom K₂CO₃ (1,5 M, pH ~11), i ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (3x15 mL). Organski slojevi se spoje i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Proizvod se koristi u narednoj fazi bez daljeg prečišćavanja.

4.1.9.1. (\pm) *trans*-*N*-(3-amino-1-benzilpiperidin-4-il)-*N*-fenilpropionamid ((\pm) *trans*-159)(\pm) *trans*-159

Dobija se iz jedinjenja (\pm) *trans*-154. Prinos: 0,058 g (79%); svetlo-žuta uljasta supstanca. *R_f* = 0,20 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5). **IR** (ATR): 3365, 3058, 3029, 2937, 2802, 1650, 1592, 1494, 1454, 1398, 1267, 703 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,33 – 7,29 (m, 4H); 7,22 – 7,12 (m, 5H); 7,00 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H); 4,49 (t, *J* = 9,6 Hz, 1H); 3,39 (q, *J* = 13,0 Hz, 2H); 2,93 (ddd, *J*₁ = 10,9; *J*₂ = 4,2; *J*₃ = 1,9 Hz, 1H); 2,77 (ddd, *J*₁ = 6,0; *J*₂ = 3,4; *J*₃ = 1,5 Hz, 1H); 2,53 (td, *J*₁ = 10,1; *J*₂ = 3,9 Hz, 1H); 2,02 (td, *J*₁ = 11,9; *J*₂ = 2,4 Hz, 1H); 1,91 (q, *J* = 7,4 Hz, 2H); 1,81 (t, *J* = 10,5 Hz, 1H); 1,63 (ddd, *J*₁ = 12,3; *J*₂ = 6,3; *J*₃ = 2,6 Hz, 1H); 1,44 (br. s, 2H, delimično preklopljen); 1,33 (ddd, *J*₁ = 24,7; *J*₂ = 12,4; *J*₃ = 3,9 Hz, 1H, delimično preklopljen); 0,96 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 175,1; 138,8;

138,0; 130,8; 130,1; 129,7; 129,2; 128,5; 128,3; 127,2; 62,7; 62,2; 58,6; 52,9; 50,5; 29,8; 28,7; 9,8 ppm. HRMS-ESI-ToF: izračunato za $C_{21}H_{28}N_3O$ $[M+H]^+$ 338,22269; nađeno 338,22304.

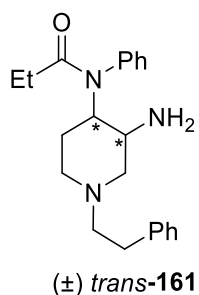
4.1.9.2. (\pm) *cis*-N-(3-amino-1-fenetilpiperidin-4-il)-N-fenilpropionamid ((\pm) *cis*-160)



Dobija se iz jedinjenja (\pm) *cis*-155. Prinos: 0,071 g (83%); svetlo-žuta uljasta supstanca. R_f = 0,23 (SiO_2 ; $CH_2Cl_2/MeOH$ = 9:1). IR (ATR): 3278, 3027, 2939, 2812, 1660, 1594, 1496, 1456, 1399, 1246, 700 cm^{-1} . 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ = 7,43 (t, J = 7,7 Hz, 2H); 7,35 – 7,25 (m, 4H); 7,19 (dd, J_1 = 13,9; J_2 = 7,1 Hz, 4H); 7,11 (d, J = 7,5 Hz, 2H); 4,26 – 4,15 (m, 2H); 3,13 (dd, J_1 = 11,8; J_2 = 3,7 Hz, 1H); 2,87 – 2,76 (m, 2H); 2,71 – 2,58 (m, 3H); 2,33 – 2,19 (m, 3H); 2,14 (dd, J_1 = 11,6; J_2 = 7,0 Hz, 1H); 1,90 (ddd, J_1 = 15,6; J_2 = 9,5; J_3 = 4,6 Hz, 1H); 1,79 (d, J = 15,3 Hz, 1H); 1,14 (t, J = 7,5 Hz, 3H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ = 169,9; 139,9; 137,8; 129,6; 128,5; 128,2; 127,4; 126,4; 125,8; 61,5; 59,9; 58,4; 55,6;

48,4; 33,3; 23,8; 21,4; 10,4 ppm. HRMS-ESI-ToF: izračunato za $C_{22}H_{30}N_3O$ $[M+H]^+$ 352,2383; nađeno 352,2386.

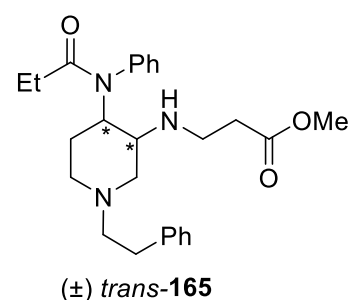
4.1.9.3. (\pm) *trans*-N-(3-amino-1-fenetilpiperidin-4-il)-N-fenilpropionamid ((\pm) *trans*-161)



Dobija se iz jedinjenja (\pm) *trans*-156. Prinos: 0,077 g (90%); svetlo-žuta uljasta supstanca. R_f = 0,27 (SiO_2 ; $CH_2Cl_2/MeOH$ = 9:1). IR (ATR): 3327, 3147, 3062, 2940, 2807, 1645, 1592, 1495, 1455, 1400, 1268, 703 cm^{-1} . 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ = 7,45 – 7,33 (m, 4H); 7,24 (t, J = 7,4 Hz, 2H); 7,18 – 7,11 (m, 3H); 7,07 (d, J = 6,7 Hz, 1H); 4,63 (td, J_1 = 12,2; J_2 = 4,1 Hz, 1H); 3,24 – 3,10 (m, 1H); 2,93 (d, J = 11,4 Hz, 1H); 2,78 – 2,66 (m, 3H); 2,63 – 2,51 (m, 2H, delimično preklopljen); 2,44 (br. s, 2H, delimično preklopljen); 2,15 (td, J_1 = 12,0; J_2 = 2,3 Hz, 1H); 2,07 – 1,92 (m, 3H); 1,78 – 1,70 (m, 1H); 1,42 (qd, J_1 = 12,4; J_2 = 4,1 Hz, 1H); 1,03 (t, J = 7,4 Hz, 3H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ = 175,2; 140,1;

138,5; 130,7; 130,2; 129,7; 129,2; 128,8; 128,5; 128,4; 126,1; 61,5; 60,0; 57,9; 52,8; 50,5; 33,7; 29,6; 28,7; 9,7 ppm. HRMS-ESI-ToF: izračunato za $C_{22}H_{30}N_3O$ $[M+H]^+$ 352,2383; nađeno 352,2387.

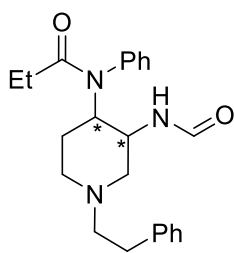
4.1.10. Dobijanje (\pm) *trans*-metil-1-fenetil-4-(N-fenilpropionamido)piperidin-3-il)amino)propanoata, ((\pm) *trans*-165)



U jednogrlom balonu od 25 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor jedinjenja (\pm) *trans*-161 (0,055 g, 1,0 ekv.) u MeOH (3 mL) i metilakrilat (9,0 ekv.). Reakcija se prati pomoći TLC, na SiO_2 pločicama, (CH_2Cl_2 : MeOH = 95:5). Nakon 6 h mešanja na 60 °C i 24 h mešanja na 25 °C min, višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Pproizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO_2 ; CH_2Cl_2 :MeOH = 100:0 do 95:5). Prinos: 0,063 g (93%); žuta, viskozna supstanca. R_f = 0,65 (SiO_2 ; $CH_2Cl_2/MeOH$ = 95:5). IR (ATR): 3451,

2945, 1734, 1648, 1494, 1456, 1375, 1263, 704 cm^{-1} . 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ = 7,45 – 7,32 (m, 4H); 7,30 – 7,22 (m, 2H); 7,21 – 7,12 (m, 3H); 7,07 (d, J = 5,6 Hz, 1H); 4,69 – 4,59 (m, 1H); 3,68 (s, 3H); 3,40 – 3,27 (m, 1H); 3,10 – 2,90 (m, 2H); 2,87 – 2,70 (m, 3H); 2,68 – 2,57 (m, 2H); 2,53 (t, J = 6,3 Hz, 3H); 2,19 (t, J = 11,2 Hz, 1H); 2,06 – 1,87 (m, 3H); 1,80 (dt, J_1 = 10,0; J_2 = 3,9 Hz, 1H); 1,64 – 1,47 (m, 1H); 1,02 (t, J = 7,5 Hz, 3H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ = 175,0; 173,3; 139,9; 138,7; 130,7; 130,4; 129,7; 129,2; 128,7; 128,5; 128,4; 126,2; 60,2; 58,7; 56,2; 55,8; 52,7; 51,6; 41,9; 35,1; 33,5; 29,6; 28,5; 9,8 ppm. HRMS-HESI-Orbitrap: izračunato za $C_{26}H_{36}N_3O_3$ $[M+H]^+$ 438,27512; nađeno 438,27468.

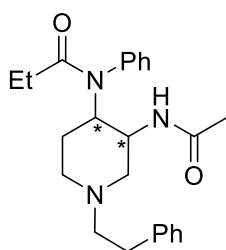
4.1.11. Dobijanje (\pm) *trans-N*-(3-formamido-1-fenilpiperidin-4-il)-*N*-fenilpropionamida ((\pm) *trans*-167)



((\pm) *trans*-167)

U jednogrlom balonu od 25 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor jedinjenja (\pm) *trans*-161 (0,080g, 1,0 ekv.) u DMF (1,5 mL), formamid (4,0 ekv.) i LiH (2,0 ekv.). Smesa se meša na 150 °C i reakcija se prati pomoći TLC, na SiO₂ pločicama, (CH₂Cl₂:MeOH = 95:5). Nakon 4 h doda se H₂O (10 mL) i smesa se ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (3 x 15 mL). Organski slojevi se spoje i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; CH₂Cl₂:MeOH =100:0 do 95:5). Prinos: 0,070 g (81%); svetlo-žuta, amorfna supstanca. **Rf** = 0,55 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5). **IR** (ATR): 3306, 3057, 2936, 2808, 1647, 1599, 1496, 1379, 1266, 701 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ = 8,22 (s, 1H); 7,54 – 7,34 (m, 3H); 7,33 – 7,19 (m, 2H); 7,22 – 7,09 (m, 4H); 7,09 – 7,03 (m, 1H); 6,56 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H); 4,72 (td, *J*₁ = 11,9; *J*₂ = 4,3 Hz, 1H); 4,20 – 3,93 (m, 1H); 3,42 – 3,28 (m, 1H); 3,00 – 2,87 (m, 1H); 2,76 – 2,65 (m, 2H); 2,60 – 2,49 (m, 2H); 2,21 – 2,08 (m, 1H); 2,07 – 1,87 (m, 3H); 1,68 (ddt, *J*₁ = 12,8; *J*₂ = 5,2; *J*₃ = 2,7 Hz, 1H); 1,39 – 1,20 (m, 1H); 1,00 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ = 176,5; 161,2; 140,1; 137,9; 130,4; 130,3; 129,9; 129,5; 129,3; 128,9; 128,8; 128,7; 128,5; 128,5; 126,2; 126,1; 59,7; 57,8; 54,6; 52,5; 49,7; 33,8; 29,6; 28,6; 9,8 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za C₂₃H₃₀N₃O₂ [M+H]⁺ 380,23325; nađeno 380,23271.

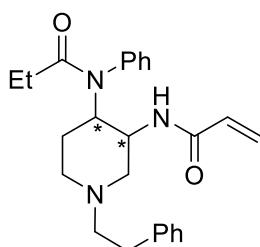
4.1.12. Dobijanje (\pm) *trans-N*-3-acetamido-1-fenilpiperidin-4-il)-*N*-fenilpropionamida, ((\pm) *trans*-169)



((\pm) *trans*-169)

U jednogrlom balonu od 25 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor jedinjenja (\pm) *trans*-161 (0,100 g, 1,0 ekv.) u CH₂Cl₂ (5 mL), Et₃N (1,0 ekv.) i acetanhidrid (4,0 ekv.). Smesa se meša na 25 °C i reakcija se prati pomoći TLC, na SiO₂ pločicama, (CH₂Cl₂:MeOH = 95:5). Nakon 4 h doda se MeOH i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Rastvor K₂CO₃ (5 M) se doda (pH~11) i smesa se ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (2 x 25 mL). Organski slojevi se spoje, a višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; CH₂Cl₂:MeOH =100:0 do 95:5). Prinos: 0,108 g (96%); svetlo-žuta, amorfna supstanca. **Rf** = 0,50 (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH = 95:5). **IR** (ATR):3245, 3066, 2941, 2794, 1645, 1554, 1492, 1376, 1626, 703 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ = 7,39 – 7,27 (m, 3H); 7,20 – 7,13 (m, 2H); 7,13 – 7,01 (m, 4H); 6,98 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H); 6,44 (d, *J* = 6,2 Hz, 1H); 4,62 (td, *J*₁ = 12,0; *J*₂ = 4,1 Hz, 1H); 4,11 – 3,91 (m, 1H); 3,36 – 3,22 (m, 1H); 2,95 – 2,78 (m, 1H); 2,74 – 2,59 (m, 2H); 2,58 – 2,43 (m, 2H); 2,10 (t, *J* = 11,2 Hz, 1H); 1,99 – 1,75 (m, 6H); 1,60 (dd, *J*₁ = 12,8; *J*₂ = 3,7 Hz, 1H); 1,32 – 1,13 (m, 1H); 0,93 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ = 176,5; 170,2; 139,9; 138,0; 130,3; 129,8; 129,2; 128,8; 128,7; 128,4; 126,1; 59,6; 57,7; 54,8; 52,4; 50,6; 33,5; 29,3; 28,5; 23,4; 10,0 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za C₂₄H₃₂N₃O₂ [M+H]⁺ 394,24890; nađeno 394,24848.

4.1.12. Dobijanje (\pm) *trans*-*N*-1-fenetil-4-(*N*-fenilpropionamido)piperidin-3-il)akrilamida, ((\pm) *trans*-**171**)

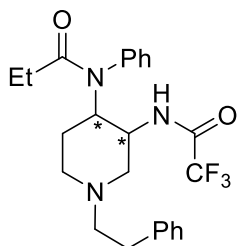


((\pm) *trans*-**171**)

U jednogrlom balonu od 25 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor jedinjenja (\pm) *trans*-**161** (0,100 g, 1,0 ekv.) u CH_2Cl_2 (2 mL), Et_3N (1,0 ekv.) i akrilolil hlorid (1,5 ekv.) na -20°C . Smesa se meša na 25°C i reakcija se prati pomoći TLC, na SiO_2 pločicama, ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 95:5$). Nakon 30 min dodaje se MeOH i višak rastvarača se upari pod snižnim pritiskom. Rastvor K_2CO_3 (5 M) se dodaje (pH~11) i smesa se ekstrahuje pomoću CH_2Cl_2 (2 x 25 mL). Organski slojevi se spoje, a višak rastvarača se upari pod snižnim pritiskom. Proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO_2 ; $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 100:0$

do 95:5). Prinos: 0,105 g (91%); svetlo-žuta, amorfna supstanca. **Rf** = 0,50 (SiO_2 ; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 95:5$). **IR** (ATR): 3322, 2925, 2809, 1670, 1635, 1529, 1492, 1405, 1266, 705 cm^{-1} . **^1H NMR** (500 MHz, CDCl_3) $\delta = 7,47 - 7,32$ (m, 3H); 7,28 - 7,19 (m, 2H); 7,19 - 7,07 (m, 4H); 7,09 - 6,93 (m, 1H); 6,66 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H); 6,28 (d, $J = 17,6$ Hz, 1H); 6,11 (dd, $J_1 = 17,1$; $J_2 = 10,3$ Hz, 1H); 5,65 (d, $J = 9,9$ Hz, 1H); 4,73 (td, $J_1 = 12,0$; $J_2 = 4,2$ Hz, 1H); 4,19 - 4,04 (m, 1H); 3,48 - 3,30 (m, 1H); 2,98 - 2,83 (m, 1H); 2,77 - 2,64 (m, 2H); 2,64 - 2,47 (m, 2H); 2,23 - 2,09 (m, 1H); 2,06 - 1,84 (m, 3H); 1,67 (dq, $J_1 = 12,7$; $J_2 = 3,0$ Hz, 1H); 1,33 - 1,17 (m, 1H); 0,98 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H) ppm. **^{13}C NMR** (126 MHz, CDCl_3) $\delta = 176,8$; 165,7; 140,2; 138,0; 131,3; 130,4; 130,3; 130,0; 129,3; 128,9; 128,7; 128,5; 126,4; 126,1; 59,8; 57,9; 55,0; 52,6; 51,1; 33,8; 29,6; 28,6; 10,0 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 406,24890; nađeno 406,24859.

4.1.13. Dobijanje (\pm) *trans*-*N*-(1-fenetil-3-(2,2,2-trifluoroacetamido)piperidin-4-il)-*N*-fenilpropionamida, ((\pm) *trans*-**173**)



((\pm) *trans*-**173**)

U jednogrlom balonu od 25 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor jedinjenja (\pm) *trans*-**161** (0,100 g, 1,0 ekv.) u CH_2Cl_2 (3 mL), Et_3N (1,0 ekv.) i trifluoroacetanhidrid (4,0 ekv.). Smesa se meša na 25°C i reakcija se prati pomoći TLC, na SiO_2 pločicama, ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 95:5$). Nakon 1 h dodaje se MeOH, a višak rastvarača se upari pod snižnim pritiskom. Rastvor K_2CO_3 (5 M) se dodaje (pH~11) i smesa se ekstrahuje pomoću CH_2Cl_2 (2 x 25 mL). Organski slojevi se spoje i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO_2 ; $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 100:0$ do 95:5). Prinos: 0,0120

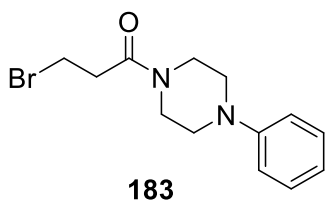
g (94%); žuta, amorfna supstanca. **Rf** = 0,45 (SiO_2 ; $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 95:5$). **IR** (ATR): 3276, 3095, 2929, 2796, 1713, 1640, 1592, 1399, 1183, 704 cm^{-1} . **^1H NMR** (500 MHz, CDCl_3) $\delta = 7,75$ (d, $J = 7,4$ Hz, 1H); 7,53 - 7,38 (m, 3H); 7,32 - 7,21 (m, 2H); 7,15 (dd, $J = 23,8$, 7,4 Hz, 3H); 7,07 (d, $J = 4,9$ Hz, 1H); 7,00 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H); 4,76 (td, $J = 11,9$; $J_2 = 4,2$ Hz, 1H); 4,02 (dt, $J = 10,9$; $J_2 = 3,7$ Hz, 1H); 3,43 - 3,26 (m, 1H); 3,00 - 2,86 (m, 1H); 2,76 - 2,67 (m, 2H); 2,58 (t, $J = 8,1$ Hz, 2H); 2,24 - 2,12 (m, 1H); 2,07 (t, $J = 10,6$ Hz, 1H, delimično preklopljen); 2,05 - 1,81 (m, 2H, delimično preklopljen); 1,77 - 1,63 (m, 1H); 1,36 - 1,19 (m, 1H); 1,00 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **^{13}C NMR** (126 MHz, CDCl_3) $\delta = 177,2$; 157,8; 157,5; 139,9; 137,7; 130,4; 130,4; 129,5; 129,1; 128,7; 128,6; 128,5; 126,2; 117,1; 59,7; 56,8; 54,7; 52,3; 52,2; 33,7; 29,6; 28,5; 9,8 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 448,22064; nađeno 448,21973.

4.1.14. Opšta procedura za dobijanje bromo-karboksamida **183-197**

U jednogrlom balonu od 50 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **180-182** (1,0 ekv.) u CH_2Cl_2 (10 mL), Et_3N (1,2 ekv.) i ω -halo-acil-hlorid (1,5 ekv.) na 0°C . Reakcija se prati pomoći TLC, na SiO_2 pločicama, (*n*-heksan: $\text{EtOAc} = 1:1$). Nakon 40 min. mešanja na 0°C i dodatnih 20 min. na 25°C , dodaje se MeOH u višku i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Rastvor K_2CO_3 (1,5 M) se dodaje (pH~11) i

smesa se ekstrahuje pomoću CH_2Cl_2 (2 x 25 mL). Organski slojevi se spoje i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Proizvod se koristi u narednoj fazi bez daljeg prečišćavanja.

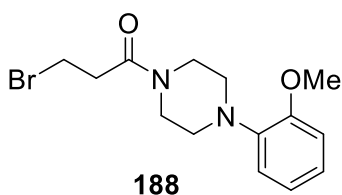
4.1.14.1. 3-Brom-1-(4-fenilpiperazin-1-il)propan-1-on (183)



183

Dobija se iz *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **180**. Prinos: 0,99 g (96%); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,2$ (SiO_2 ; *n*-heksan:EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3486, 2914, 2823, 1646, 1598, 1498, 1441, 1231, 1025, 761, 695 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,33 - 7,24$ (m, 2H); 6,99 – 6,89 (m, 3H); 3,82 – 3,76 (m, 2H); 3,71 – 3,64 (m, 2H); 3,65 – 3,59 (m, 2H); 3,22 – 3,16 (m, 4H); 2,96 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 168,6$; 150,9; 129,3; 120,7; 116,8; 49,8; 49,5; 45,5; 41,8; 36,4; 27,3 ppm.

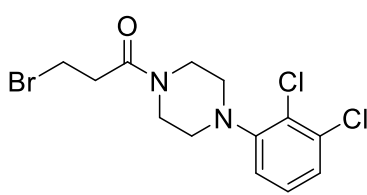
4.1.14.2. 3-Brom-1-(4-(2-metoksifenil)piperazin-1-il)propan-1-on (188)



188

Dobija se iz *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **181**. Prinos: 1,09 g (95,8%); svetlo-žuta, uljasta. $R_f = 0,2$ (SiO_2 ; *n*-heksan:EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3485, 2915, 2824, 1644, 1591, 1468, 1442, 1233, 1027, 762, 696 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,08 - 7,00$ (m, 1H); 6,96 – 6,85 (m, 3H); 3,88 (s, 3H); 3,82 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H); 3,68 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H, delimično preklopljen); 3,64 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H, delimično preklopljen); 3,05 (dt, $J_1 = 17,5$; $J_2 = 5,0$ Hz, 4H); 2,96 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,0$; 153,8; 142,1; 125,2; 122,6; 120,0; 112,9; 57,0; 52,5; 52,1; 47,3; 43,5; 37,9; 28,9 ppm.

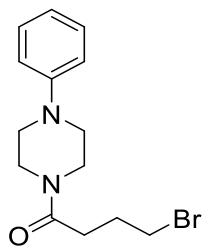
4.1.14.3. 3-Brom-1-(4-(2,3-dihlorofenil)piperazin-1-il)propan-1-on (193)



193

Dobija se iz *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **182**. Prinos: 1,20 g (94,2%); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,2$ (SiO_2 ; *n*-heksan:EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3487, 2917, 2825, 1647, 1578, 1446, 1236, 958, 784 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,21 - 7,14$ (m, 2H); 6,90 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H); 3,80 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H); 3,66 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H); 3,63 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H); 3,04 – 2,97 (m, 4H); 2,95 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 168,8$; 150,7; 150,7; 134,4; 128,3; 127,8; 127,6; 119,0; 51,3; 45,9; 36,5; 27,5 ppm.

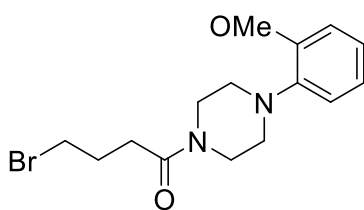
4.1.14.4. 4-Hlor-1-(4-fenilpiperazin-1-yl)butan-1-on (184)



184

Dobija se iz *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **180**. Prinos: 0,90 g (97,3 %); svetlo-žuta uljasta supstanca. $R_f = 0,25$ (SiO_2 ; *n*-heksan:EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3524, 2916, 1644, 1377, 1169, 1036, 992, 870 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,28 - 7,17$ (m, 2H); 6,97 – 6,77 (m, 3H); 3,76 – 3,67 (m, 2H); 3,64 – 3,54 (m, 4H); 3,11 (dt, $J_1 = 16,4$; $J_2 = 5,2$ Hz, 4H); 2,49 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H); 2,13 – 2,05 (m, 2H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,3$; 151,0; 129,4; 120,7; 116,7; 49,8; 49,5; 45,5; 45,0; 41,7; 29,8; 28,0 ppm.

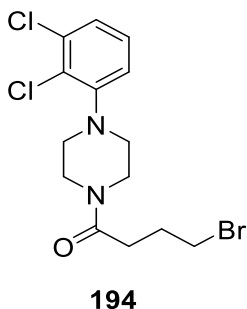
4.1.14.5. 4-Brom-1-(4-(2-metoksifenil)piperazin-1-il)butan-1-on (189)



189

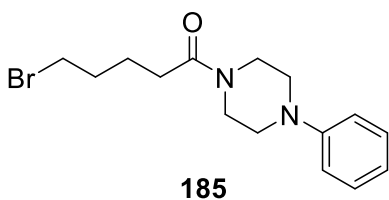
Dobija se iz *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **181**. Prinos: 1,14 g (96,0 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,25$ (SiO_2 ; *n*-heksan:EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3394, 2920, 2495, 1637, 1592, 1500, 1454, 1243, 1028, 746 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,07 - 6,98$ (m, 1H); 6,96 – 6,85 (m, 3H); 3,85 (s, 3H); 3,80 – 3,75 (m, 2H); 3,70 – 3,60 (m, 4H); 3,01 (dt, $J_1 = 18,4$; $J_2 = 5,1$ Hz, 4H); 2,54 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H); 2,14 (q, $J = 6,5$ Hz, 2H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,0$; 152,5; 141,0; 123,7; 121,1; 118,3; 111,2; 55,6; 51,3; 51,0; 45,6; 45,0; 42,2; 29,8; 28,1 ppm.

4.1.14.6. 4-Hlor-1-(4-(2,3-dihlorofenil) piperazin-1-il) butan-1-on (194)



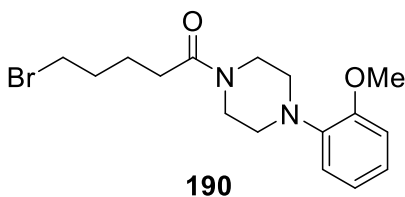
Dobija se iz *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **182**. Prinos: 1,14 g (97,9 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. *R_f* = 0,25 (SiO₂; *n*-heksan:EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3417, 2922, 2476, 1645, 1449, 1236, 11169, 1036, 784,2, 715,0 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,24 – 7,13 (m, 2H); 6,93 (dd, *J*₁ = 7,7; *J*₂ = 1,9 Hz, 1H); 3,84 – 3,77 (m, 2H); 3,69 – 3,65 (m, 4H); 3,07 – 2,98 (m, 4H); 2,56 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H); 2,20 – 2,12 (m, 2H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 170,4; 150,7; 134,2; 127,7; 125,3; 118,9; 51,7; 45,9; 45,8; 44,9; 41,9; 29,8; 28,0 ppm.

4.1.14.7. 5-Brom-1-(4-fenilpiperazin-1-il)pentan-1-on (185)



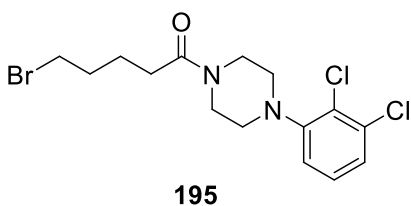
Dobija se iz *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **180**. Prinos: 1,11 g (97,9 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. *R_f* = 0,35 (SiO₂; *n*-heksan:EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3454, 2956, 1639, 1578, 1446, 1234, 1035, 775 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,33 – 7,27 (m, 2H); 6,98 – 6,89 (m, 3H); 3,82 – 3,77 (m, 2H); 3,69 – 3,62 (m, 2H); 3,59 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H); 3,23 – 3,13 (m, 4H); 2,45 – 2,39 (m, 2H); 1,91 – 1,80 (m, 4H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 172,4; 152,5; 130,8; 122,1; 118,2; 51,3; 51,0; 47,1; 46,3; 43,1; 33,9; 33,7; 24,1 ppm.

4.1.14.8. 5-Brom-1-(4-(2-metoksifenil) piperazin-1-il) pentan-1-on (190)



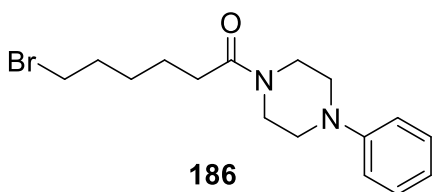
Dobija se iz *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **181**. Prinos: 1,19 g (96,3 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. *R_f* = 0,35 (SiO₂; *n*-heksan:EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3453, 2954, 1630, 1577, 1448, 1236, 1036, 782 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,06 – 7,00 (m, 1H); 6,94 – 6,84 (m, 3H); 3,86 (s, 3H); 3,80 (s, 2H); 3,65 (s, 2H); 3,55 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H); 3,04 (d, *J* = 17,3 Hz, 4H); 2,42 – 2,35 (m, 2H); 1,87 – 1,76 (m, 4H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 172,5; 153,8; 125,5; 122,7; 120,3; 113,0; 57,0; 52,6; 52,2; 47,3; 46,3; 43,2; 33,8; 33,7; 24,1 ppm.

4.1.14.9. 5-Brom-1-(4-(2,3-dihlorofenil) piperazin-1-il) pentan-1-on (195)



Dobija se iz *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **182**. Prinos: 1,31 g (94,9 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. *R_f* = 0,35 (SiO₂; *n*-heksan:EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3451, 2957, 1619, 1579, 1449, 1235, 1035, 783 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,23 – 7,13 (m, 2H); 6,93 (dd, *J*₁ = 7,8; *J*₂ = 1,8 Hz, 1H); 3,80 (br. s, 2H); 3,66 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H); 3,45 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H); 3,02 (dt, *J*₁ = 16,1; *J*₂ = 5,0 Hz, 4H); 2,34 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H); 1,86 – 1,75 (m, 4H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): δ = 171,3; 150,6; 134,2; 127,6; 125,3; 118,8; 51,2; 45,9; 33,5; 33,0; 32,1; 23,8 ppm.

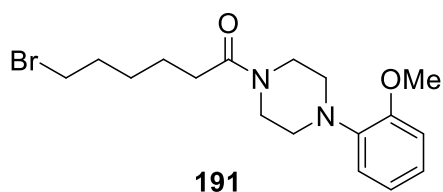
4.1.14.10. 6-Brom-1-(4-fenilpiperazin-1-il)hexan-1-on (186)



Dobija se iz *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **180**. Prinos: 1,16 g (98,0 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. *R_f* = 0,4 (SiO₂; *n*-heksan:EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3444, 2938, 2911, 2825, 1646, 1593, 1497, 1442, 1232, 1024, 763, 696 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,35 – 7,24 (m, 2H); 6,96 – 6,87 (m, 3H); 3,78 (t, *J* = 5,3 Hz, 2H); 3,62 (t, *J* = 5,2 Hz, 2H); 3,51 – 3,34 (m, 2H); 3,22 – 3,08 (m, 4H); 2,39 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H); 1,98 – 1,79 (m, 2H); 1,76 – 1,62 (m, 2H); 1,57

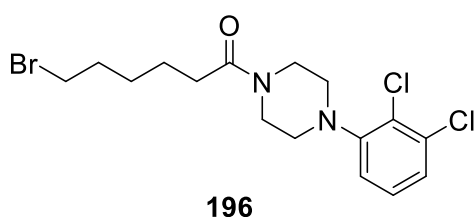
– 1,41 (m, 2H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,3; 151,0; 129,3; 120,6; 116,7; 49,9; 49,5; 45,6; 41,6; 33,8; 33,0; 32,6; 28,0; 24,4$ ppm.

4.1.14.11. 6-Brom-1-(4-(2-metoksifenil)piperazin-1-il) hexan-1-on (191)



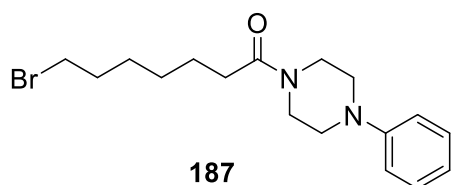
Dobija se iz *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **181**. Prinos: 1,26 g (97,7 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,4$ (SiO_2 ; *n*-heksan:EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3454, 2939, 2918, 2824, 1647, 1597, 1494, 1441, 1233, 1025, 762, 696 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,07 - 7,00$ (m, 1H); 6,96 – 6,86 (m, 3H); 3,88 (s, 3H), 3,80 (t, $J = 5,1$ Hz, 2H); 3,65 (t, $J = 4,9$ Hz, 2H); 3,42 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H); 3,10 – 2,97 (m, 4H); 2,39 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 1,75 – 1,64 (m, 2H); 1,57 – 1,47 (m, 2H); 1,44 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 172,8; 153,8; 142,1; 125,1; 122,6; 120,0; 112,9; 57,0; 52,6; 52,1; 47,4; 43,3; 35,3; 34,5; 34,1; 29,5; 25,9$ ppm.

4.1.14.12. 6-Brom-1-(4-(2,3-dihlorofenil) piperazin-1-il)hexan-1-on (196)



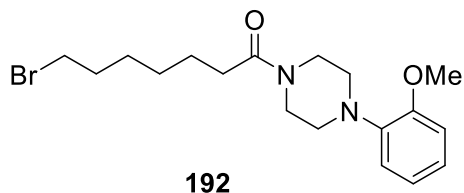
Dobija se iz *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **182**. Prinos: 1,36 g (95,2 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,4$ (SiO_2 ; *n*-heksan:EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3467, 2938, 2862, 1645, 1450, 1236, 1032, 783, 736 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,22 - 7,11$ (m, 2H); 6,93 (dd, $J_1 = 7,8; J_2 = 1,9$ Hz, 1H); 3,80 (br. s, 2H); 3,65 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H); 3,43 – 3,37 (m, 2H); 3,01 (dt, $J_1 = 13,7; J_2 = 5,1$ Hz, 4H); 2,39 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 1,96 – 1,89 (m, 2H); 1,79 – 1,68 (m, 2H); 1,56 – 1,51 (m, 2H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,4; 150,6; 134,2; 127,8; 127,6; 125,2; 118,8; 51,8; 51,2; 45,9; 41,8; 35,0; 33,8; 33,0; 28,0; 24,4$ ppm.

4.1.14.13. 7-Brom-1-(4-fenilpiperazin-1-il)heptan-1-on (187)



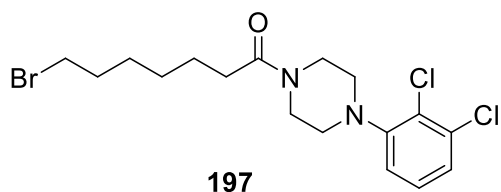
Dobija se iz *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **180**. Prinos: 1,19 g (97,1 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,5$ (SiO_2 ; *n*-heksan:EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3485, 2933, 2857, 1645, 1597, 1498, 1437, 1231, 1027, 760, 695 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,35 - 7,21$ (m, 2H); 7,02 – 6,85 (m, 3H); 3,85 – 3,72 (m, 2H); 3,62 (t, $J = 5,3$ Hz, 2H); 3,48 – 3,32 (m, 2H); 3,16 (dt, $J_1 = 13,5; J_2 = 5,3$ Hz, 4H); 2,37 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H); 1,93 – 1,79 (m, 2H); 1,75 – 1,58 (m, 2H); 1,55 – 1,43 (m, 2H); 1,46 – 1,31 (m, 2H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,6; 151,0; 129,3; 120,6; 116,7; 49,9; 49,5; 45,6; 41,6; 34,0; 33,1; 32,6; 28,6; 28,0; 25,1$ ppm.

4.1.14.14. 7-Brom-1-(4-(2-metoksifenil)piperazin-1-il)heptan-1-on (192)



Dobija se iz *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **181**. Prinos: 1,30 g (97,3 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,5$ (SiO_2 ; *n*-heksan:EtOAc = 1:1). **IR** (ATR): 3441, 2935, 2858, 1643, 1501, 1460, 1242, 1029, 735 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,08 - 6,99$ (m, 1H); 6,94 – 6,85 (m, 3H); 3,87 (s, 3H); 3,79 (t, $J = 5,1$ Hz, 2H); 3,64 (t, $J = 5,1$ Hz, 2H); 3,44 – 3,37 (m, 2H); 3,02 (dt, $J_1 = 16,2; J_2 = 5,1$ Hz, 4H); 2,37 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H); 1,91 – 1,82 (m, 2H); 1,71 – 1,62 (m, 2H); 1,52 – 1,41 (m, 2H, delimično preklopljen); 1,43 – 1,32 (m, 2H, delimično preklopljen) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,6; 152,3; 140,7; 123,6; 121,1; 118,5; 111,4; 55,5; 51,2; 50,7; 46,0; 41,9; 34,0; 33,9; 33,2; 32,7; 32,6; 28,6; 28,0; 25,2$ ppm.

4.1.14.15. 7-Brom-1-(4-(2,3-dihlorofenil)piperazin-1-il)heptan-1-on (197)



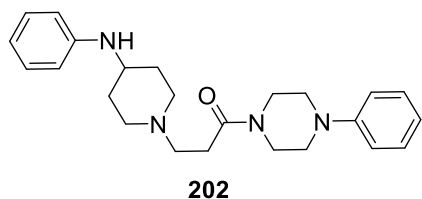
197

Dobija se iz *N*-arilpiperazin-hlorhidrata **182**. Prinos: 1,40 g (94,7 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,5$ (SiO₂; *n*-heksan:EtOAc = 1:1). IR (ATR): 3460, 2935, 2859, 1646, 1578, 1450, 1236, 783, 735 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,16 – 7,03 (m, 2H); 6,93 – 6,75 (m, 1H); 3,72 (br. s, 2H); 3,59 – 3,52 (m, 2H); 3,35 – 3,31 (m, 2H); 2,93 (dt, $J_1 = 12,8$; $J_2 = 5,0$ Hz, 4H); 2,30 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H); 1,89 – 1,74 (m, 2H); 1,66 – 1,50 (m, 2H); 1,48 – 1,34 (m, 2H, delimično preklopljen); 1,36 – 1,23 (m, 2H, delimično preklopljen). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃): δ = 171,6; 150,7; 134,3; 129,3; 127,7; 125,3; 116,7; 51,8; 51,3; 45,9; 41,8; 34,0; 33,2; 32,6; 28,6; 28,0; 25,1 ppm.

4.1.15. Opšta procedura za dobijanje jedinjenja 202-216

U jednogrlom balonu od 50 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor 4-anilinopiperidina **201** (1,0 ekv.) u MeCN (12 mL), K₂CO₃ (2,0 ekv.) i bromo-karboksamidi **183-197** (1,2 ekv.). Reakcija se prati pomoći TLC, na SiO₂ pločicama, (CH₂Cl₂:MeOH = 95:5). Nakon 8 h mešanja na 70 °C i dodatnih 10 h na 25 °C, višak rastvarača se upari pod snižnim pritiskom. Ostatak nakon uparavanja se rastvori u CH₂Cl₂ (50 mL) i ekstrahuje pomoću zasićenog rastvora NaCl (2 x 25 mL). Organski sloj se odvoji a i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Sirovi proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; CH₂Cl₂:MeOH = 100:0 to 95:5).

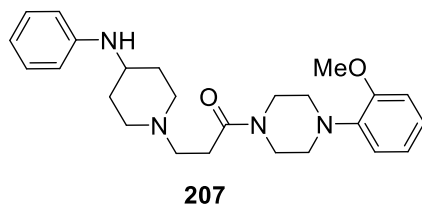
4.1.15.1. 3-(4-(Fenilamino)piperidin-1-il)-1-(4-fenilpiperazin-1-il)propan-1-on (202)



202

Dobija se iz jedinjenja **183**. Prinos: 0,48 g (62 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,25$ (SiO₂; CH₂Cl₂:MeOH = 95:5). IR (ATR): 3385, 2924, 2829, 1601, 1501, 1439, 1313, 1233, 1104, 754, 691 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,36 – 7,27 (m, 3H); 7,24 – 7,17 (m, 2H); 7,02 – 6,91 (m, 3H); 6,73 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,63 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H); 3,82 (t, $J = 5,2$ Hz, 2H); 3,69 (t, $J = 5,1$ Hz, 2H); 3,38 (dt, $J_1 = 10,1$; $J_2 = 5,6$ Hz, 1H); 3,27 – 3,16 (m, 4H); 3,09 (br. s, 1H, delimično preklopljen); 2,98 (d, $J = 10,5$ Hz, 2H); 2,85 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 2,68 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 2,32 (t, $J = 11,0$ Hz, 2H); 2,18 – 2,09 (m, 2H); 1,62 – 1,50 (m, 2H) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃): δ = 151,0; 147,1; 129,5; 129,4; 120,7; 117,5; 116,8; 113,4; 54,2; 52,7; 49,9; 49,5; 45,7; 41,7; 32,4; 31,2 ppm.

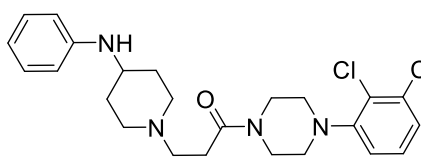
4.1.15.2. 1-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)-3-(4-(fenilamino)piperidin-1-il)propan-1-one (207)



207

Dobija se iz jedinjenja **188**. Prinos: 0,49 g (59 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,25$ (SiO₂; CH₂Cl₂:MeOH = 95:5). IR (ATR): 3345, 2939, 2815, 1637, 1602, 1501, 1318, 1241, 1118, 1026, 749, 697 cm⁻¹. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 7,21 – 7,14 (m, 2H); 7,09 – 7,02 (m, 1H); 6,98 – 6,87 (m, 3H); 6,70 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,61 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 3,89 (s, 3H); 3,82 (t, $J = 5,2$ Hz, 2H); 3,68 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H); 3,34 (dt, $J_1 = 10,2$; $J_2 = 5,8$ Hz, 1H); 3,05 (dt, $J_1 = 15,3$; $J_2 = 5,1$ Hz, 4H); 3,01 – 2,89 (m, 2H); 2,80 (dd, $J_1 = 8,7$; $J_2 = 6,6$ Hz, 2H); 2,63 (dd, $J_1 = 8,7$; $J_2 = 6,6$ Hz, 2H); 2,26 (td, $J_1 = 11,5$; $J_2 = 2,6$ Hz, 2H); 2,14 – 2,02 (m, 2H); 1,60 – 1,40 (m, 2H) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃): δ = 171,7; 153,8; 148,6; 142,2; 130,9; 125,2; 122,6; 120,0; 118,8; 114,8; 112,9; 57,0; 55,7; 54,1; 52,6; 52,1; 51,3; 47,4; 43,4; 34,0; 32,7 ppm.

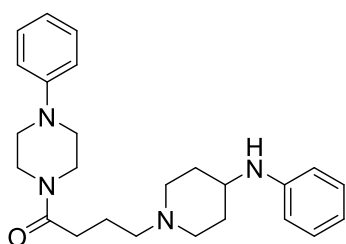
4.1.15.3. 1-(4-(2,3-Dihlorfenil)piperazin-1-il)-3-(4-(fenilamino)piperidin-1-il)propan-1-on (212)



212

Dobija se iz jedinjenja **193**. Prinos: 0,58 g (63,4 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,3$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$). **IR** (ATR): 3365, 2933, 2813, 1636, 1602, 1502, 1318, 1241, 1110, 1023, 781, 752, 695 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,25 - 7,12$ (m, 4H); 6,94 (dd, $J_1 = 7,9$; $J_2 = 1,8$ Hz, 1H); 6,70 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,61 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H); 3,86 – 3,78 (m, 2H); 3,68 (d, $J = 4,9$ Hz, 2H); 3,34 (tt, $J_1 = 10,2$; $J_2 = 4,3$ Hz, 1H); 3,10 – 2,97 (m, 4H); 2,93 (d, $J = 12,1$ Hz, 2H); 2,84 – 2,74 (m, 2H); 2,66 – 2,59 (m, 2H); 2,26 (td, $J_1 = 11,4$; $J_2 = 2,6$ Hz, 2H), 2,15 – 2,02 (m, 2H); 1,56 – 1,42 (m, 2H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,9$; 152,1; 148,6; 135,8; 130,9; 129,3; 129,1; 126,8; 120,3; 118,8; 114,8; 55,7; 54,2; 53,3; 52,7; 51,3; 47,4; 43,3; 34,0; 32,9 ppm.

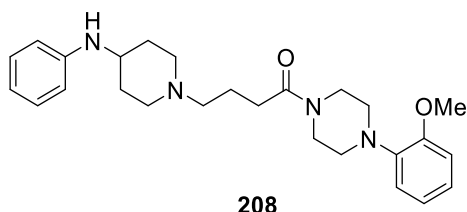
4.1.15.4. 4-(4-(Fenilamino) piperidin-1-il)-1-(4-fenilpiperazin-1-il) butan-1-on (203)



203

Dobija se iz jedinjenja **184**. Prinos: 0,34 g (49,2 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,3$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$). **IR** (ATR): 3341, 3049, 2939, 2815, 1638, 1600, 1500, 1441, 1232, 735, 695 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,34 - 7,20$ (m, 2H); 7,22 – 7,07 (m, 2H); 6,97 – 6,79 (m, 3H); 6,76 – 6,63 (m, 1H); 6,64 – 6,56 (m, 2H); 3,86 – 3,73 (m, 2H); 3,70 – 3,60 (m, 2H); 3,51 (br. s, 1H); 3,37 – 3,24 (m, 1H); 3,21 – 3,11 (m, 4H); 2,89 (d, $J = 11,4$ Hz, 2H); 2,51 – 2,34 (m, 4H); 2,25 – 2,10 (m, 2H); 2,06 (d, $J = 12,0$ Hz, 2H); 1,95 – 1,81 (m, 2H); 1,60 – 1,37 (m, 2H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,5$; 151,1; 147,2; 129,4; 129,4; 120,7; 117,3; 116,7; 113,4; 58,0; 52,5; 50,0; 49,9; 49,5; 45,6; 41,6; 32,6; 31,1; 22,8 ppm.

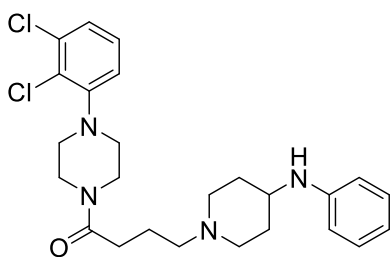
4.1.15.5. 1-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)-4-(4-(fenilamino)piperidin-1-il)butan-1-on (208)



208

Dobija se iz jedinjenja **189**. Prinos: 0,54 g (62,5 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,35$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$). **IR** (ATR): 3342, 2935, 1638, 1502, 1440, 1246, 1023, 765 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,21 - 7,11$ (m, 2H); 7,10 – 6,99 (m, 1H); 6,96 – 6,86 (m, 3H); 6,74 – 6,62 (m, 1H); 6,60 – 6,55 (m, 2H); 3,88 (s, 3H); 3,82 – 3,77 (m, 2H); 3,71 – 3,60 (m, 2H); 3,51 (br. s, 1H); 3,33 – 3,24 (m, 1H); 3,01 – 2,96 (m, 4H); 2,89 (d, $J = 11,0$ Hz, 2H); 2,46 – 2,36 (m, 4H); 2,14 (t, $J = 11,0$ Hz, 2H); 2,03 (d, $J = 11,8$ Hz, 2H); 1,93 – 1,78 (m, 2H); 1,58 – 1,31 (m, 2H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,3$; 152,2; 147,1; 140,7; 129,3; 123,5; 121,0; 118,4; 117,1; 113,2; 111,3; 57,9; 55,5; 52,4; 51,1; 50,6; 49,9; 45,9; 41,8; 32,6; 31,0; 22,7 ppm.

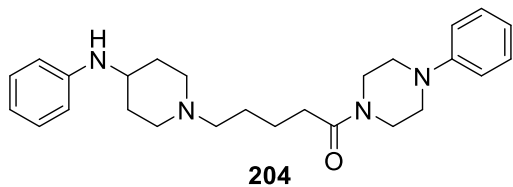
4.1.15.6. 1-(4-(2,3-Dihlorfenil) piperazin-1-il)-4-(4-(fenylamino) piperidin-1-il) butan-1-on (213)



213

Dobija se iz jedinjenja **194**. Prinos: 0,45 g (55 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,3$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$). **IR** (ATR): 3341, 2941, 1638, 1502, 1448, 1238, 1139, 960, 782, 736 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,21 - 7,11$ (m, 3H); 7,01 – 6,88 (m, 2H); 6,71 – 6,64 (m, 1H); 6,62 – 6,56 (m, 2H); 3,84 – 3,77 (m, 2H); 3,71 – 3,62 (m, 2H); 3,52 (br. s, 1H); 3,36 – 3,28 (m, 1H); 3,05 – 2,97 (m, 4H); 2,94 – 2,85 (m, 2H); 2,46 – 2,36 (m, 4H); 2,22 – 2,11 (m, 2H); 2,10 – 2,02 (m, 2H); 1,93 – 1,80 (m, 2H); 1,60 – 1,41 (m, 2H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,5$; 150,7; 147,2; 134,3; 129,4; 127,8; 127,7; 125,3; 118,8; 117,3; 113,3; 57,9; 52,5; 51,8; 51,2; 50,1; 45,9; 41,9; 32,6; 31,0; 22,7 ppm.

4.1.15.7. 5-(4-(Fenilamino)piperidin-1-il)-1-(4-phenilpiperazin-1-il)pentan-1-on (204)



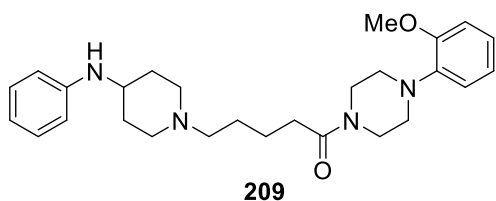
204

Dobija se iz jedinjenja **185**. Prinos: 0,54 g (64,5 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,35$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$). **IR** (ATR): 3340, 2940, 2814, 1639, 1602, 1500, 1441, 1325, 1232, 1027, 755, 696 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,18$ (t, $J = 7,9$ Hz, 2H); 7,06 (t, $J = 7,9$ Hz, 2H); 6,86 – 6,79 (m, 3H); 6,58 (t, $J =$

7,3 Hz, 1H); 6,49 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H); 3,69 – 3,63 (m, 2H); 3,59 – 3,42 (m, 3H); 3,21 (dd, $J_1 = 8,6$; $J_2 = 4,9$ Hz, 1H); 3,04 (dt, $J_1 = 10,5$; $J_2 = 5,0$ Hz, 4H); 2,83 (d, $J = 11,5$ Hz, 2H); 2,40 – 2,31 (m, 2H); 2,29 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H); 2,09 (t, $J = 10,8$ Hz, 2H); 1,97 (d, $J = 11,6$ Hz, 2H); 1,64 – 1,55 (m, 2H); 1,56 – 1,48 (m, 2H); 1,48 – 1,37 (m, 2H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,2$; 150,8; 147,0; 129,2; 129,1; 120,4; 117,1; 116,5; 113,1; 58,0; 52,2; 49,6; 49,3; 45,4; 41,3; 32,9; 32,0; 26,5; 23,1 ppm.

4.1.15.8. 1-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)-5-(4-(fenilamino)piperidin-1-il)pentan-1-on (209)



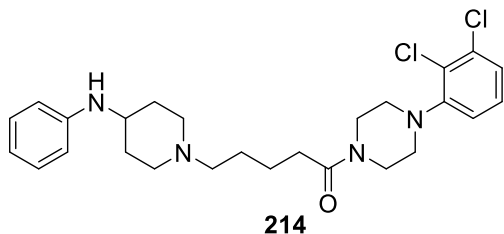
209

Dobija se iz jedinjenja **190**. Prinos: 0,52 g (58,4 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,35$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$). **IR** (ATR): 3319, 2909, 2822, 1641,

1600, 1499, 1443, 1241, 1029, 751, 696 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,18$ – 7,12 (m, 2H); 7,07 – 6,99 (m, 1H); 6,95 – 6,86 (m, 3H); 6,70 – 6,65 (m, 1H); 6,63 – 6,56 (m, 2H); 3,87 (s, 3H); 3,79 (br. s, 2H, delimično preklopljen);

3,68 – 3,61 (m, 2H); 3,54 (s, 1H); 3,33 (dt, $J_1 = 9,8$; $J_2 = 5,9$ Hz, 1H); 3,03 (dt, $J_1 = 16,4$; $J_2 = 5,0$ Hz, 4H, delimično preklopljen); 2,96 (d, $J = 11,7$ Hz, 2H, delimično preklopljen); 2,51 – 2,44 (m, 2H); 2,40 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H); 2,23 (t, $J = 10,8$ Hz, 2H); 2,13 – 2,04 (m, 2H); 1,74 – 1,61 (m, 4H); 1,60 – 1,51 (m, 2H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,3$; 152,3; 147,0; 140,7; 129,4; 123,6; 121,1; 118,5; 117,4; 113,3; 111,4; 58,1; 55,5; 52,3; 51,1; 50,6; 49,6; 45,9; 41,8; 33,0; 32,0; 26,5; 23,2 ppm.

4.1.15.9. 1-(4-(2,3-Dihlorfenil)piperazin-1-il)-5-(4-(fenilamino)piperidin-1-il)pentan-1-on (214)



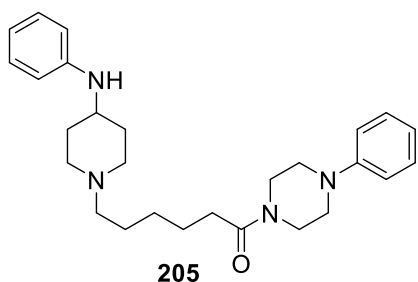
214

Dobija se iz jedinjenja **195**. Prinos: 0,61 g (62,3 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,35$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$). **IR** (ATR): 3301, 2911, 2820, 1643,

1599, 1500, 1441, 1240, 1026, 786, 752, 694 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,19$ – 7,08 (m, 4H); 6,88 (dd, $J_1 = 8,0$; $J_2 = 1,7$ Hz, 1H); 6,64 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,56 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H); 4,09 (s, 1H); 3,80 – 3,72 (m, 2H); 3,65 – 3,56 (m, 2H); 3,29 (tt, $J_1 = 9,5$; $J_2 = 3,6$ Hz, 1H); 3,02 – 2,95 (m,

4H, delimično preklopljen); 2,92 (d, $J = 11,7$ Hz, 2H, delimično preklopljen); 2,47 – 2,40 (m, 2H); 2,37 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H); 2,18 (t, $J = 10,8$ Hz, 2H); 2,05 (d, $J = 11,4$ Hz, 2H); 1,70 – 1,55 (m, 4H); 1,55 – 1,46 (m, 2H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,5$; 150,7; 147,1; 134,3; 129,4; 127,8; 127,6; 125,3; 118,8; 117,4; 113,3; 58,1; 52,3; 51,8; 51,2; 49,7; 45,9; 41,8; 33,1; 32,1; 26,5; 23,2 ppm.

4.1.15.10. 6-(4-(Fenilamino)piperidin-1-il)-1-(4-fenilpiperazin-1-il)hexan-1-on (205)



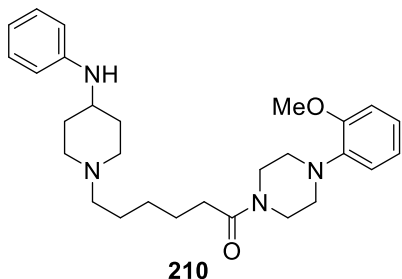
205

Dobija se iz jedinjenja **186**. Prinos: 0,57 g (65,1 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,4$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$). **IR** (ATR): 3341, 2936, 2814, 1638, 1602, 1500, 1441,

1323, 754, 696 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,36$ – 7,21 (m, 2H); 7,15 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H); 6,97 – 6,84 (m, 3H); 6,67 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,59 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 3,96 (br. s, 1H); 3,76 (t, $J = 5,2$ Hz, 2H); 3,60 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H); 3,33 (dt, $J_1 = 10,1$; $J_2 = 5,5$ Hz, 1H); 3,22 – 3,08 (m, 4H); 2,97 (d, $J = 10,8$ Hz, 2H); 2,51 – 2,41 (m, 2H); 2,37 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H);

2,23 (t, $J = 11,6$ Hz, 2H); 2,09 (d, $J = 12,1$ Hz, 2H); 1,68 (p, $J = 7,6$ Hz, 2H, delimično preklopljen); 1,64 – 1,50 (m, 4H, delimično preklopljen); 1,39 (p, $J = 7,7$ Hz, 2H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,4; 151,0; 147,0; 129,4; 129,3; 120,5; 117,3; 116,6; 113,3; 58,4; 52,3; 49,8; 49,4; 45,5; 41,5; 33,1; 31,9; 27,3; 26,5; 25,0$ ppm.

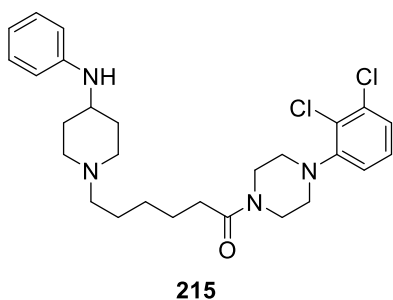
4.1.15.11.1-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)-6-(4-(fenilamino)piperidin-1-il)hexan-1-on (210)



Dobija se iz jedinjenja **191**. Prinos: 0,59 g (63,7 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,4$ ($\text{SiO}_2; \text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 95:5$). **IR** (ATR): 3313, 2928, 2818, 1652, 1602, 1453, 1236, 749, 694 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,17$ (t, $J = 7,8$ Hz, 2H); 7,09 – 7,01 (m, 1H); 6,98 – 6,85 (m, 3H); 6,69 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,61 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 3,89 (s, 3H); 3,81 (t, $J = 5,1$ Hz, 2H); 3,65 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H); 3,52 (br. s, 1H); 3,36 (td, $J_1 = 9,6; J_2 = 4,8$ Hz, 1H); 3,04 (dt, $J_1 = 15,0; J_2 = 5,1$ Hz, 4H, delimično preklopljen); 2,98 (d, $J = 10,5$ Hz, 2H, delimično preklopljen); 2,50 – 2,43 (m, 2H);

2,39 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H); 2,24 (t, $J = 11,5$ Hz, 2H); 2,11 (d, $J = 13,0$ Hz, 2H); 1,70 (p, $J = 7,6$ Hz, 2H); 1,66 – 1,53 (m, 4H); 1,41 (p, $J = 7,8$ Hz, 2H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,5; 152,4; 147,1; 140,8; 129,4; 123,6; 121,2; 118,5; 117,4; 113,4; 111,4; 58,5; 55,5; 52,4; 51,2; 50,7; 46,0; 41,9; 33,2; 32,1; 27,5; 26,6; 25,2$ ppm.

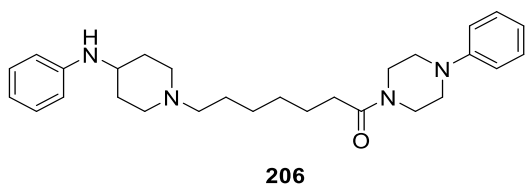
4.1.15.12. 1-(4-(2,3-Dihlorfenil)piperazin-1-il)-6-(4-(fenilamino)piperidin-1-il)hexan-1-on (215)



Dobija se iz jedinjenja **196**. Prinos: 0,63g (63,4%); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,4$ ($\text{SiO}_2; \text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 95:5$). **IR** (ATR): 3312, 2934, 2819, 1637, 1603, 1500, 1446, 1240, 1028, 784, 751, 697 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,24$ – 7,13 (m, 4H); 6,97 – 6,90 (m, 1H); 6,71 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H); 6,64 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H); 3,83 – 3,76 (m, 2H); 3,69 – 3,60 (m, 2H); 3,56 (br.s, 1H); 3,40 – 3,29 (m, 2H); 3,07 – 2,95 (m, 4H); 2,88 – 2,79 (m, 2H, delimično preklopljen); 2,76 (s, 1H, delimično preklopljen); 2,40 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H); 2,27 (d, $J = 11,0$

Hz, 2H); 1,95 (d, $J = 10,0$ Hz, 2H); 1,88 – 1,79 (m, 2H); 1,76 – 1,66 (m, 3H); 1,48 – 1,38 (m, 3H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,3; 150,7; 146,6; 134,2; 129,4; 127,8; 127,7; 125,3; 118,9; 117,9; 113,6; 57,5; 51,7; 51,3; 45,9; 41,9; 32,8; 29,8; 26,8; 24,5$ ppm.

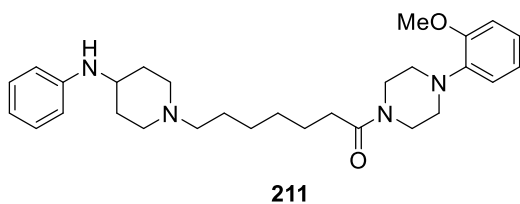
4.1.15.13. 7-(4-(Fenilamino)piperidin-1-il)-1-(4-fenilpiperazin-1-il)heptan-1-on (206)



Dobija se iz jedinjenja **188**. Prinos: 0,57 g (64,8 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,5$ ($\text{SiO}_2; \text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 95:5$). **IR** (ATR): 3300, 2934, 2858, 2808, 2729, 1648, 1624, 1600, 1498, 1451, 1227, 1023, 755, 693 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,35$ – 7,28 (m, 2H); 7,23 – 7,15 (m, 2H); 6,99 – 6,89 (m, 3H);

6,72 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,64 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 3,80 (t, $J = 5,2$ Hz, 2H); 3,74 (br. s, 1H); 3,65 (t, $J = 5,1$ Hz, 2H); 3,44 (dt, $J_1 = 9,8; J_2 = 5,2$ Hz, 1H); 3,19 (dt, $J_1 = 15,3; J_2 = 5,0$ Hz, 4H); 3,12 (d, $J = 11,4$ Hz, 2H); 2,62 – 2,55 (m, 2H); 2,48 – 2,41 (m, 2H, delimično preklopljen); 2,40 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, delimično preklopljen); 2,18 (d, $J = 9,8$ Hz, 2H); 1,79 – 1,62 (m, 6H); 1,48 – 1,35 (m, 4H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,5; 151,0; 146,9; 129,4; 129,3; 120,5; 117,5; 116,6; 113,4; 58,2; 52,0; 49,8; 49,4; 45,6; 41,5; 33,1; 31,2; 29,2; 27,2; 25,9; 25,1$ ppm.

4.1.15.14. 1-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)-7-(4-(fenilamino)piperidin-1-il)heptan-1-on (211)

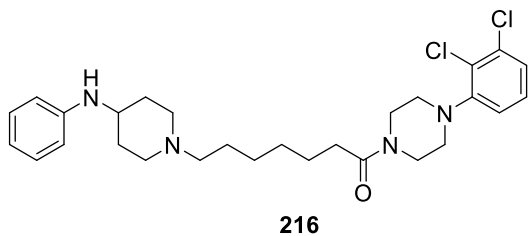


211

Dobija se iz jedinjenja **192**. Prinos: 0,57 g (59,7 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,5$ (SiO₂; CH₂Cl₂:MeOH = 95:5). **IR** (ATR): 3318, 2937, 2857, 2814, 1638, 1603, 1501, 1462, 1242, 1029, 751, 697 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7,19 - 7,12$ (m, 2H); 7,07 – 6;99 (m, 1H); 6,96 – 6,85 (m, 3H); 6,69 (tt, $J_1 = 7;5$; $J_2 = 1,1$ Hz, 1H); 6,64 – 6,58 (m, 2H); 3,88 (s, 3H); 3,79

(t, $J = 5,1$ Hz, 2H, delimično preklopljen); 3,75 (br.s, 1H, delimično preklopljen); 3,67 – 3,61 (m, 2H); 3,47 (s, 1H); 3,18 (d, $J = 11,7$ Hz, 2H); 3,03 (dt, $J_1 = 17,5$; $J_2 = 5,1$ Hz, 4H); 2,70 – 2,61 (m, 2H); 2,55 (s, 2H); 2,40 – 2,32 (m, 2H); 2,20 (d, $J = 10,3$ Hz, 2H); 1,81 (td, $J_1 = 13,2$; $J_2 = 9,5$ Hz, 2H); 1,75 – 1,61 (m, 4H); 1,44 – 1,32 (m, 4H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): $\delta = 171,5$; 152,3; 146,8; 140,7; 129,4; 123,6; 121,1; 118,5; 117,7; 113,5; 111,4; 58,0; 55,5; 51,7; 51,1; 50,7; 48,5; 45,9; 41,8; 33,1; 30,6; 29,1; 27,1; 25,4; 25,1 ppm.

4.1.15.15. 1-(4-(2,3-Dihlorfenil)piperazin-1-il)-7-(4-(fenilamino)piperidin-1-il)heptan-1-on (216)



216

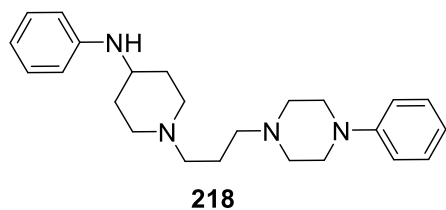
Dobija se iz jedinjenja **197**. Prinos: 0,68 g (66,5 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,5$ (SiO₂; CH₂Cl₂:MeOH = 95:5). **IR** (ATR): 3319, 2941, 2855, 2821, 1636, 1602, 1498, 1444, 1236, 784, 751, 695 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7,20 - 7,09$ (m, 4H); 6,89 (dd, $J_1 = 7,9$; $J_2 = 1,8$ Hz, 1H); 6,65 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,57 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H); 3,81 – 3,71 (m, 2H); 3,64 –

3,58 (m, 2H, delimično preklopljen); 3,57 (br. s, 1H, delimično preklopljen); 3,31 (dt, $J_1 = 10,3$; $J_2 = 5,5$ Hz, 1H); 3,04 – 2,88 (m, 6H); 2,44 – 2,37 (m, 2H); 2,38 – 2,31 (m, 2H); 2,19 (t, $J = 11,1$ Hz, 2H); 2,06 (d, $J = 12,7$ Hz, 2H); 1,65 (p, $J = 7,5$ Hz, 2H); 1,60 – 1,47 (m, 4H); 1,42 – 1,29 (m, 4H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): $\delta = 171,7$; 150,6; 147,0; 134,2; 129,3; 127,7; 127,6; 125,2; 118,8; 117,3; 113,3; 58,5; 52,3; 51,7; 51,2; 49,6; 45,8; 41,7; 33,2; 32,0; 29,3; 27,4; 26,6; 25,2 ppm.

4.1.16. Opšta procedura za dobijanje arilpiperazino/anilinopiperidinskih adukata **218-232**

U jednogrlom balonu od 50 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor jedinjenja **202-216** (1,0 ekv.) u suvom THF (12 mL), doda se BH₃ (5,0 ekv.) kao 1M rastvor u THF, na 0 °C uz magnetno mešanje. Smesa se meša na 25 °C, dok ne prestane spontano ključanje. Mešanje se zatim nastavlja na 70 °C. Reakcija se prati pomoći TLC, na SiO₂ pločicama, (CH₂Cl₂/MeOH = 95:5). Nakon 4h, THF se upari pod sniženim pritiskom, a u smesu se doda voda (1 mL) u kapima i HCl (5.5 M, 2 mL). Smesa se meša i zagreva da ključa još 4h. Rastvor K₂CO₃ (1,5 M) se doda (pH~11) i smesa se ekstrahuje pomoću CH₂Cl₂ (2 x 25 mL). Organski slojevi se spoje i višak rastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO₂; CH₂Cl₂:MeOH =100:0 to 95:5).

4.1.16.1. N-Fenil-1-(3-(4-fenilpiperazin-1-il)propil)piperidin-4-amin (218)

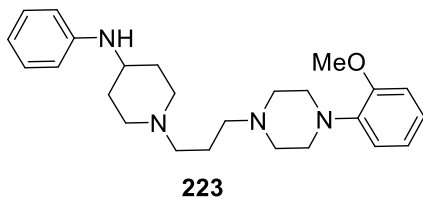


218

Dobija se iz jedinjenja **202**. Prinos: 0,30 g (79%); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,35$ (SiO₂; CH₂Cl₂:MeOH = 95:5, 2 kapi MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3393, 2943, 2808, 2772, 1602, 1505, 1448, 1323, 1239, 751, 691 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7,41 - 7,34$ (m, 2H); 7,32 – 7,24 (m, 2H); 7,04 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H); 6,96 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H); 6,79 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,71 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H); 3,62 (br. s, 1H); 3,42 (dt, $J_1 =$

10,3; $J_2 = 5,8$ Hz, 1H); 3,36 – 3,29 (m, 4H); 3,01 (d, $J = 11,2$ Hz, 2H); 2,77 – 2,69 (m, 4H); 2,53 (q, $J = 8,6$ Hz, 4H); 2,24 (t, $J = 11,0$ Hz, 2H, delimično preklopljen); 2,18 (d, $J = 12,3$ Hz, 2H, delimično preklopljen); 1,92 – 1,80 (m, 2H); 1,67 – 1,54 (m, 2H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 151,4$; 147,2; 129,4; 129,2; 119,7; 117,3; 116,1; 113,3; 56,8; 53,4; 52,6; 49,2; 32,6; 24,7 ppm.

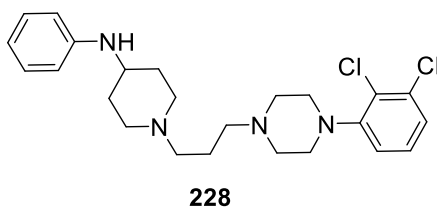
4.1.16.2. 1-(3-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)propil)-N-fenilpiperidin-4-amin (223)



Dobija se iz jedinjenja **207**. Prinos: 0,33 g (81,0 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,35$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 :MeOH = 95:5, 2 kapi MeOH/ NH_3). IR (ATR): 3296, 3208, 2817, 2773, 1601, 1499, 1324, 1241, 1147, 1026, 748, 695 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,08$ (t, $J = 7,9$ Hz, 2H); 6,95 – 6,88 (m, 1H); 6,90 – 6,81 (m, 2H); 6,78 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H); 6,59 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,51 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H); 3,78 (s, 3H); 3,43 (br. s, 1H); 3,22

(dt, $J_1 = 1,3$; $J_2 = 5,7$ Hz, 1H); 3,03 (s, 4H); 2,81 (d, $J = 11,1$ Hz, 2H); 2,58 (s, 4H); 2,43 – 2,29 (m, 4H); 2,13 – 2,02 (m, 2H, delimično preklopljen d); 1,98 (d, $J = 12,2$ Hz, 2H, delimično preklopljen); 1,68 (p, $J = 7,7$ Hz, 2H); 1,53 – 1,32 (m, 2H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 152,3$; 147,2; 141,4; 129,4; 122,9; 121,0; 118,3; 117,2; 113,3; 111,2; 56,9; 56,8; 55,4; 53,6; 52,6; 50,7; 50,0; 32,6; 24,7 ppm.

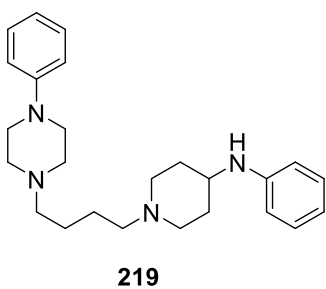
4.1.16.3. 1-(3-(4-(2,3-Dihlorfenil)piperazin-1-il)propil)-N-fenilpiperidin-4-amin (228)



Dobija se iz jedinjenja **212**. Prinos: 0,36 g (83,0 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,35$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 :MeOH = 95:5, 2 kapi MeOH/ NH_3). IR (ATR): 3322, 2943, 2817, 1602, 1503, 1449, 1374, 1243, 1142, 961, 781, 750, 695 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,30$ – 7,19 (m, 4H); 7,11 – 7,01 (m, 1H); 6,77 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,69 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H); 3,61 (br. s, 1H); 3,40 (dt, $J_1 = 10,2$; $J_2 = 5,4$ Hz, 1H); 3,23 – 3,14 (m, 4H);

3,00 (d, $J = 11,5$ Hz, 2H); 2,74 (br. s, 4H); 2,53 (dt, $J_1 = 21,0$; $J_2 = 7,7$ Hz, 4H); 2,23 (t, $J = 11,5$ Hz, 2H, delimično preklopljen); 2,20 – 2,12 (m, 2H, delimično preklopljen); 1,90 – 1,77 (m, 2H); 1,65 – 1,49 (m, 2H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 151,4$; 147,2; 134,1; 129,4; 127,6; 127,5; 124,7; 118,7; 117,3; 113,4; 56,8; 53,4; 52,7; 52,6; 51,4; 50,0; 46,3; 32,6; 24,8 ppm.

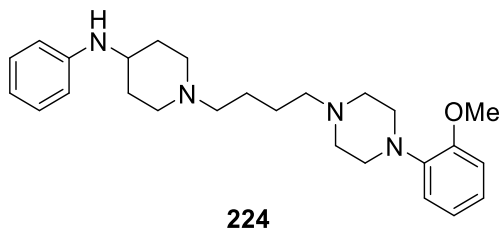
4.1.16.4. N-Fenil-1-(4-(4-fenilpiperazin-1-il)butil) piperidin-4-amin (219)



Dobija se iz jedinjenja **203**. Prinos: 0,33 g (84,8 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,4$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 :MeOH = 95:5, 2 kapi MeOH/ NH_3). IR (ATR): 3397, 3329, 2938, 2813, 1601, 1502, 1451, 1318, 1236, 1122, 753, 694 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,32$ – 7,24 (m, 2H); 7,21 – 7,14 (m, 2H); 6,98 – 6,91 (m, 2H); 6,91 – 6,83 (m, 1H); 6,73 – 6,65 (m, 1H); 6,65 – 6,57 (m, 2H); 3,46 (br. s, 1H); 3,39 – 3,28 (m, 1H); 3,27 – 3,18 (m, 4H); 2,92 (d, $J = 11,0$ Hz, 2H); 2,65 – 2,57 (m, 4H); 2,46 – 2,35 (m, 4H); 2,15 (t, $J = 11,1$ Hz, 2H); 2,08 (d, $J = 12,1$ Hz, 2H); 1,62 – 1,44 (m, 6H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): $\delta =$

151,3; 147,0; 129,3; 129,1; 119,6; 117,2; 116,0; 113,2; 58,5; 58,4; 53,2; 52,4; 49,1; 32,4; 25,0; 24,9 ppm.

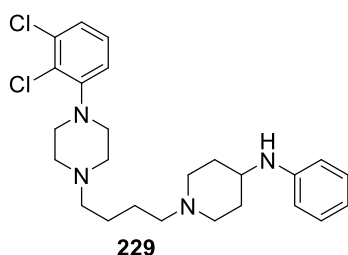
4.1.16.5. 1-(4-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)butil)-N-fenilpiperidin-4-amin (224)



Dobija se iz jedinjenja **208**. Prinos: 0.34 g (80.0 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0.4$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 2 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3301, 2934, 2819, 1600, 1503, 1456, 1316, 1240, 1117, 745, 696 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.19 - 7.12$ (m, 2H), 7.03 - 6.94 (m, 1H), 6.97 - 6.90 (m, 2H), 6.88 - 6.83 (m, 1H), 6.72 - 6.64 (m, 1H), 6.63 - 6.55 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.54 (br. s, 1H), 3.41 - 3.25 (m, 1H), 3.10 (br. s, 4H),

2.91 (d, $J = 11.2$ Hz, 2H), 2.66 (br. s, 4H), 2.47 - 2.36 (m, 4H), 2.15 (t, $J = 11.0$ Hz, 2H), 2.07 (d, $J = 11.8$ Hz, 2H), 1.57 (br. s, 4H), 1.56 - 1.45 (m, 2H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 152.4$, 147.2, 141.4, 129.4, 123.0, 121.1, 118.3, 117.3, 113.3, 111.3, 58.6, 55.4, 53.5, 52.5, 50.7, 49.9, 32.4, 25.1, 25.0 ppm.

4.1.16.6. 1-(4-(4-(2,3-Dihlorfenil)piperazin-1-il)butil)-N-fenilpiperidin-4-amin (229)

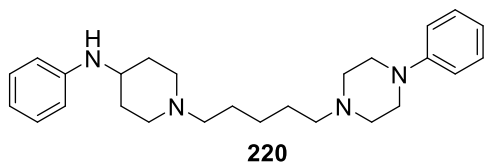


Dobija se iz jedinjenja **213**. Prinos: 0,46 g (83,1 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,4$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 2 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3400, 3051.9, 2936, 1602, 1503, 1450, 1317, 1242, 1137, 781, 749, 694 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,19 - 7,05$ (m, 4H); 6,70 - 6,63 (m, 1H); 6,62 - 6,56 (m, 3H); 3,50 (br. s, 1H); 3,34 - 3,21 (m, 1H); 3,12 - 2,93 (m, 4H); 2,86 (d, $J = 10,7$ Hz, 4H); 2,39 - 2,29 (m, 4H); 2,15 - 1,99 (m, 6H); 1,55 - 1,47 (m, 4H); 1,50 - 1,41 (m, 2H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 13\text{C NMR}$ (126

MHz, CDCl_3) $\delta = 151,8$; 147,2; 134,1; 129,4; 127,5; 124,7; 124,6; 118,8; 117,3; 113,3; 58,7; 52,6; 51,4; 50,1; 46,4; 32,7;

25,4 ppm.

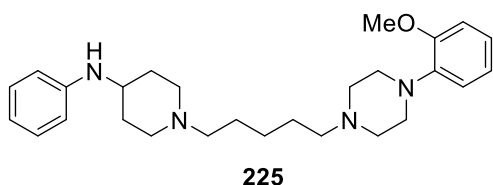
4.1.16.7. N-Fenil-1-(5-(4-fenilpiperazin-1-il)pentil)piperidin-4-amin (220)



Dobija se iz jedinjenja **204**. Prinos: 0,36 g (83,0 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca $R_f = 0,45$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 2 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3291, 2938, 2848, 1600, 1500, 1454, 1322, 1242, 1118, 743, 694 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,30 - 7,22$ (m, 2H); 7,20 - 7,13 (m, 2H); 6,94 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H); 6,85 (t, $J = 7,3$ Hz,

1H); 6,68 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,60 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H); 3,51 (br. s, 1H); 3,30 (dt, $J_1 = 10,9$; $J_2 = 5,9$ Hz, 1H); 3,26 - 3,18 (m, 4H); 2,88 (d, $J = 12,0$ Hz, 2H); 2,64 - 2,55 (m, 4H); 2,43 - 2,37 (m, 2H, delimično preklopljen); 2,37 - 2,33 (m, 2H, delimično preklopljen); 2,16 - 2,01 (m, 4H); 1,61 - 1,49 (m, 4H, delimično preklopljen); 1,51 - 1,42 (m, 2H, delimično preklopljen); 1,41 - 1,31 (m, 2H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 151,5$; 147,2; 129,4; 129,2; 119,7; 117,3; 116,1; 113,3; 58,9; 58,8; 53,4; 52,7; 50,1; 49,2; 32,7; 27,3; 26,9; 25,8 ppm.

4.1.16.8. 1-(5-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)pentil)-N-fenilpiperidin-4-amin (225)

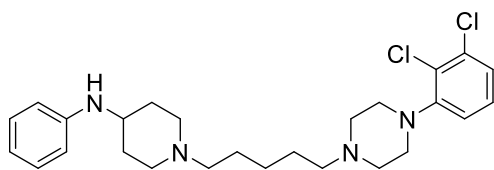


Dobija se iz jedinjenja **209**. Prinos: 0,35 g (82 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,45$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 2 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3324, 2937, 2813, 1601, 1501, 1452, 1315, 1241, 1028, 749, 696 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,19 - 7,10$ (m, 2H); 7,03 - 6,97 (m, 1H); 6,96 - 6,89 (m, 2H); 6,88 - 6,82

(m, 1H); 6,67 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,58 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 3,85 (s, 3H); 3,30 (ddd, $J_1 = 10,1$; $J_2 = 5,9$; $J_3 = 4,0$ Hz, 1H); 3,11 (d, $J = 7,4$ Hz, 5H); 2,90 (d, $J = 11,5$ Hz, 2H); 2,65 (s, 4H); 2,46 - 2,34 (m, 4H); 2,13 (t, $J = 11,8$ Hz, 2H); 2,06 (d, $J = 12,2$ Hz, 2H); 1,61 - 1,45 (m, 6H); 1,39 - 1,29 (m,

2H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 152,3; 147,1; 141,4; 129,3; 122,9; 121,0; 118,2; 117,2; 113,3; 111,2; 58,7; 58,7; 55,4; 55,4; 53,5; 52,5; 50,6; 49,8; 45,8; 32,4; 27,0; 26,7; 25,7$ ppm.

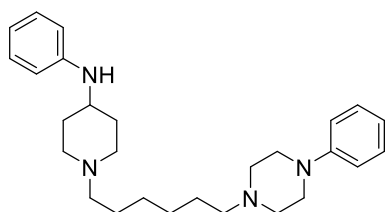
4.1.16.9. 1-(5-(4-(2,3-Dihlorfenil)piperazin-1-il)pentil)-N-fenilpiperidin-4-amin (230)



230

Dobija se iz jedinjenja **214**. Prinos: 0,38 g (81,3 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,45$ (SiO_2 ; $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 95:5$, 2 kapi MeOH/NH_3). IR (ATR): 3321, 2920, 2850, 1601, 1500, 1448, 1373, 1241, 1095, 804, 747, 695 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,18 - 7,10$ (m, 4H); 6,94 (dd, $J_1 = 7,0; J_2 = 2,5$ Hz, 1H); 6,66 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,58 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H); 3,52 (br. s, 1H); 3,29 (tt, $J_1 = 9,9; J_2 = 4,2$ Hz, 1H); 3,11 – 3,02 (m, 4H); 2,87 (d, $J = 10,6$ Hz, 2H); 2,62 (s, 4H); 2,44 – 2,37 (m, 2H, delimično preklopljen); 2,38 – 2,29 (m, 2H, delimično preklopljen); 2,15 – 2,00 (m, 4H); 1,60 – 1,42 (m, 6H); 1,34 (p, $J = 7,6$ Hz, 2H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 151,4; 147,2; 134,1; 129,4; 127,5; 127,5; 124,6; 118,7; 117,2; 113,3; 58,8; 58,7; 53,4; 52,8; 52,6; 51,4; 50,0; 46,3; 32,6; 27,2; 26,9; 25,7$ ppm.

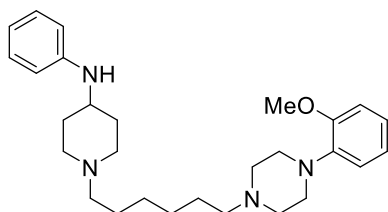
4.1.16.10. N-Fenil-1-(6-(4-fenilpiperazin-1-il)hexil)piperidin-4-amin (221)



221

Dobija se iz jedinjenja **205**. Prinos: 0,31 g (74,6 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,5$ (SiO_2 ; $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 95:5$, 2 kapi MeOH/NH_3). IR (ATR): 3329, 2913, 2814, 1602, 1502, 1452, 1317, 1236, 1133, 753, 693 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,30$ (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 7,19 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H); 6,96 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H); 6,88 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,71 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,63 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H); 3,53 (br. s, 1H); 3,34 (dt, $J_1 = 10,4; J_2 = 5,6$ Hz, 1H); 3,24 (t, $J = 5,0$ Hz, 4H); 2,93 (d, $J = 11,4$ Hz, 2H); 2,63 (t, $J = 5,0$ Hz, 4H); 2,48 – 2,32 (m, 4H); 2,23 – 2,01 (m, 4H); 1,69 – 1,48 (m, 6H); 1,44 – 1,32 (m, 4H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 151,5; 147,2; 129,5; 129,2; 119,8; 117,4; 116,2; 113,4; 58,9; 53,5; 52,7; 50,1; 49,3; 32,6; 27,8; 27,7; 27,2; 27,0$ ppm.

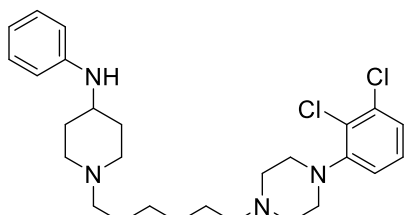
4.1.16.11. 1-(6-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)hexil)-N-fenilpiperidin-4-amin (226)



226

Dobija se iz jedinjenja **210**. Prinos: 0,34 g (77 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. $R_f = 0,5$ (SiO_2 ; $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 95:5$, 2 kapi MeOH/NH_3). IR (ATR): 3389, 2940, 2823, 1599, 1503, 1451, 1320, 1237, 1154, 752, 691 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,18$ (t, $J = 7,9$ Hz, 2H); 7,05 – 6,90 (m, 3H); 6,88 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H); 6,69 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 6,61 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H); 3,88 (br. s, 3H); 3,53 (br. s, 1H); 3,32 (br. s, 1H); 3,13 (br. s, 4H); 2,90 (d, $J = 10,8$ Hz, 2H); 2,67 (s, 4H); 2,46 – 2,40 (m, 2H); 2,39 – 2,34 (m, 2H); 2,18 – 2,01 (m, 4H); 1,62 – 1,45 (m, 6H); 1,42 – 1,32 (m, 4H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 152,4; 147,2; 141,5; 129,4; 122,9; 121,1; 118,3; 117,2; 113,3; 111,2; 58,9; 55,4; 53,6; 52,6; 50,7; 50,1; 32,6; 27,7; 27,2; 27,0$ ppm.

4.1.16.12. 1-(6-(4-(2,3-Dihlorfenil)piperazin-1-il)hexil)-N-fenilpiperidin-4-amin (231)

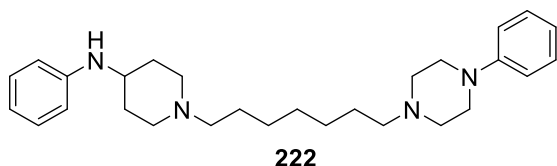


231

Dobija se iz jedinjenja **215**. Prinos: 0,39 g (80,0 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca $R_f = 0,5$ (SiO_2 ; $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 95:5$, 2 kapi MeOH/NH_3). IR (ATR): 3322, 2929, 2853, 1600, 1501, 1450, 1375, 1242, 1098, 806, 748, 695 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,12 - 7,04$ (m, 3H), 6,91 – 6,84 (m, 1H), 6,59 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 6,52 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 3,35 (s, 1H), 3,27 – 3,15 (m, 1H), 3,00 (s, 4H), 2,80 (d, $J = 11,4$ Hz, 2H), 2,56 (s, 4H), 2,37 – 2,29 (m, 2H), 2,26 (dd, $J = 9,2, 6,2$ Hz, 2H), 2,10 – 1,91 (m, 4H),

1.52 – 1.34 (m, 6H), 1.26 (s, 5H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): δ = 151.4, 147.2, 134.1, 129.4, 127.5, 124.6, 122.9, 121.1, 118.7, 117.2, 113.3, 58.9, 58.8, 53.6, 53.4, 52.6, 51.4, 50.7, 45.1, 32.6, 27.7, 27.7, 27.2, 26.9 ppm.

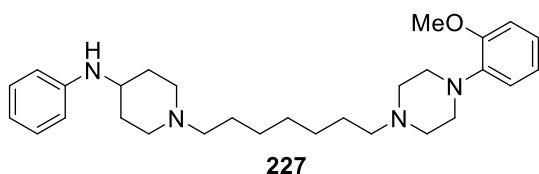
4.1.16.13. *N*-Fenil-1-(7-(4-fenilpiperazin-1-il)heptil)piperidin-4-amin (222)



Dobija se iz jedinjenja **206**. Prinos: 0,36 g (83,1 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. R_f = 0,6 (SiO_2 ; CH_2Cl_2 :MeOH = 95:5, 2 kapi MeOH/ NH_3). ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ = 7,28 (t, J = 7,9 Hz, 2H); 7,18 (t, J = 7,8 Hz, 2H); 6,95 (d, J = 8,0 Hz, 2H); 6,87 (t, J = 7,2 Hz, 1H); 6,70 (t, J = 7,3 Hz, 1H); 6,61 (d, J = 7,8

Hz, 2H); 3,57 (br. s, 1H); 3,39 – 3,29 (m, 1H); 3,28 – 3,16 (m, 4H); 2,98 (d, J = 10,7 Hz, 2H); 2,68 – 2,58 (m, 4H); 2,50 – 2,36 (m, 4H); 2,23 (t, J = 10,2 Hz, 2H); 2,11 (d, J = 11,6 Hz, 2H); 1,66 – 1,49 (m, 6H); 1,36 (br. s, 6H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): δ = 151,4; 147,1; 129,4; 129,2; 119,7; 117,4; 116,1; 113,4; 58,8; 58,7; 53,4; 52,4; 49,7; 49,2; 32,1; 29,5; 27,6; 26,9; 26,8 ppm.

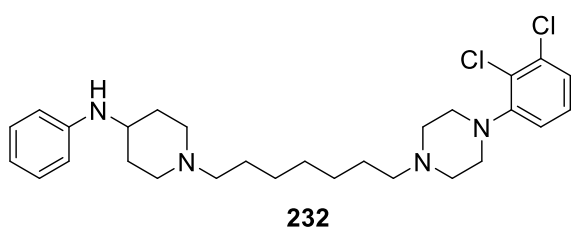
4.1.16.14. 1-(7-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)heptil)-*N*-fenilpiperidin-4-amin (227)



Dobija se iz jedinjenja **211**. Prinos: 0,39 g (85 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. R_f = 0,6 (SiO_2 ; CH_2Cl_2 :MeOH = 95:5, 2 kapi MeOH/ NH_3). IR (ATR): 3365, 2934, 2812, 1601, 1502, 1451, 1311, 1240, 1104, 749, 694 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ = 7,18 – 7,11 (m, 2H); 7,02 – 6,87 (m, 3H); 6,85 (d, J = 7,9 Hz,

1H); 6,66 (t, J = 7,3 Hz, 1H); 6,58 (d, J = 8,0 Hz, 2H); 3,85 (s, 3H); 3,48 – 3,39 (m, 1H); 3,29 (dt, J_1 = 10,1; J_2 = 5,6 Hz, 1H); 3,10 (br. s, 4H); 2,87 (d, J = 11,4 Hz, 2H); 2,65 (br. s, 4H); 2,45 – 2,36 (m, 2H); 2,36 – 2,29 (m, 2H); 2,15 – 2,00 (m, 4H); 1,58 – 1,40 (m, 6H); 1,38 – 1,25 (m, 6H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): δ = 152,3; 147,2; 141,4; 129,4; 122,9; 121,1; 118,3; 117,2; 113,3; 111,2; 59,0; 55,4; 53,6; 52,6; 50,7; 50,0; 32,5; 29,6; 27,7; 27,6; 27,2; 26,9 ppm.

4.1.16.15. 1-(7-(4-(2,3-Dihlorfenil)piperazin-1-il)heptil)-*N*-fenilpiperidin-4-amin (232)

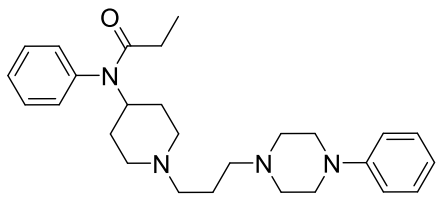


Dobija se iz jedinjenja **216**. Prinos: 0,36 g (73,2 %); svetlo-žuta, uljasta supstanca. R_f = 0,6 (SiO_2 ; CH_2Cl_2 :MeOH = 95:5, 2 kapi MeOH/ NH_3). IR (ATR): 3315, 2937, 2854, 1600, 1449, 1319, 1139, 964, 780, 743, 693 cm^{-1} . ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ = 7,12 – 7,02 (m, 4H); 6,88 (dd, J_1 = 7,0; J_2 = 2,6 Hz, 1H); 6,59 (t, J = 7,3 Hz, 1H); 6,51 (d, J = 8,0 Hz,

2H); 3,44 – 3,32 (m, 1H); 3,22 (tt, J_1 = 9,8; J_2 = 4,1 Hz, 1H); 3,00 (br. s, 4H); 2,80 (d, J = 10,4 Hz, 2H); 2,56 (br. s, 4H); 2,40 – 2,31 (m, 2H); 2,30 – 2,21 (m, 2H); 2,07 – 1,93 (m, 4H); 1,52 – 1,33 (m, 6H); 1,33 – 1,19 (m, 6H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): δ = 151,2; 147,0; 133,9; 129,2; 127,3; 124,4; 118,5; 117,1; 113,2; 58,8; 58,7; 53,2; 52,4; 51,2; 49,9; 32,4; 29,4; 27,5; 27,4; 27,0; 26,7 ppm.

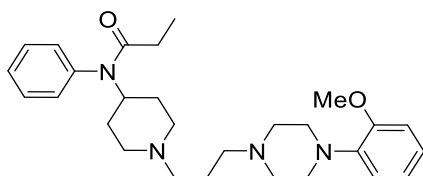
4.1.17. Opšta procedura za dobijanje jedinjenja 233-247

U jednogrlom balonu od 50 mL, opremljenim uspravnim kondenzatorom sa kalcijum hloridnom cevi, pomeša se rastvor jedinjenja **218-232** (1,0 ekv.) u CH_2Cl_2 (10 mL), Et_3N (1,5 ekv.) i propionil-hlorid (3,0 ekv.). Smesa se meša na 25 °C i reakcija se prati pomoći TLC, na SiO_2 pločicama, sa mešavinom CH_2Cl_2 :MeOH = 95:5, kao eluentom. Nakon 3.5 h doda se MeOH u višku, a višak tastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Rastvor K_2CO_3 (1,5 M) se doda (pH~11) i smesa se ekstrahuje pomoću CH_2Cl_2 (2 x 25 mL). Organski slojevi se spoje, isperu zasićenim rastvorom NaCl i višak tastvarača se upari pod sniženim pritiskom. Proizvod se prečišćava "dry-column flash" hromatografijom (SiO_2 ; CH_2Cl_2 :MeOH = 100:0 to 95:5).

4.1.17.1. *N-Fenil-N-(1-(3-(4-fenilpiperazin-1-il)propil)piperidin-4-il)propionamid (233)*

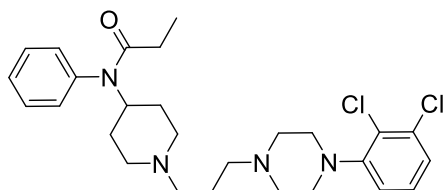
233

Dobija se iz jedinjenja **218**. Prinos: 0,18 g (89,1 %); žuta, viskozna supstanca. $R_f = 0,3$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 3 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3058, 2938, 2817, 1654, 1598, 1497, 1379, 1265, 1239, 1152, 759, 705 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,42 - 7,33$ (m, 3H); 7,29 – 7,21 (m, 2H); 7,10 – 7,04 (m, 2H); 6,91 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H); 6,84 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 4,66 (tt, $J = 12,2$; 3,9 Hz, 1H); 3,18 (t, $J = 4,9$ Hz, 4H); 3,03 – 2,91 (m, 2H); 2,57 (t, $J = 5,0$ Hz, 4H); 2,43 – 2,32 (m, 4H); 2,19 – 2,04 (m, 2H); 1,92 (q, $J = 7,4$ Hz, 2H); 1,85 – 1,74 (m, 2H); 1,75 – 1,62 (m, 2H); 1,42 (qd, $J_1 = 12,5$; $J_2 = 3,8$ Hz, 2H); 1,01 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 173,7$; 151,4; 138,9; 130,5; 129,4; 129,2; 128,4; 119,8; 116,1; 77,4; 77,2; 76,9; 56,6; 56,5; 53,3; 53,2; 52,2; 49,1; 30,4; 28,6; 24,4; 9,7 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 435,31184; nađeno 435,31227.

4.1.17.2. *N-(1-(3-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)propil)piperidin-4-il)-N-fenilpropionamid (238)*

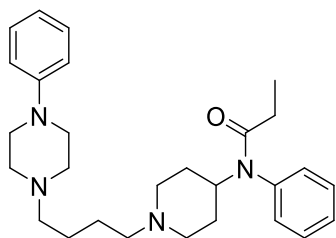
238

Dobija se iz jedinjenja **223**. Prinos: 0,21 g (94 %); žuta, viskozna supstanca. $R_f = 0,3$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 3 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3059, 2939, 2812, 1657, 1594, 1499, 1453, 1377, 1242, 1150, 749, 707 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,42 - 7,33$ (m, 3H); 7,07 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H); 7,01 – 6,96 (m, 1H); 6,95 – 6,88 (m, 2H); 6,84 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H); 4,66 (ddd, $J_1 = 12,2$; $J_2 = 8,5$; $J_3 = 3,9$ Hz, 1H); 3,85 (br. s, 3H); 3,07 (s, 4H); 2,92 (d, $J = 11,3$ Hz, 2H); 2,61 (br. s, 4H); 2,34 (dt, $J_1 = 21,8$; $J_2 = 7,7$ Hz, 4H); 2,07 (t, $J = 11,3$ Hz, 2H); 1,92 (q, $J = 7,4$ Hz, 2H); 1,78 (d, $J = 11,7$ Hz, 2H); 1,72 – 1,58 (m, 2H); 1,39 (qd, $J_1 = 12,1$; $J_2 = 3,2$ Hz, 2H); 1,01 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 173,6$; 152,4; 141,5; 139,0; 130,5; 129,4; 128,3; 122,9; 121,1; 118,3; 111,3; 56,9; 56,7; 55,4; 53,5; 53,3; 52,3; 50,7; 30,6; 28,6; 24,7; 9,7 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 465,32240; nađeno 465,32221.

4.1.17.3. *N-(1-(3-(4-(2,3-Dihlorfenil)piperazin-1-il)propil)piperidin-4-il)-N-fenilpropionamid (243)*

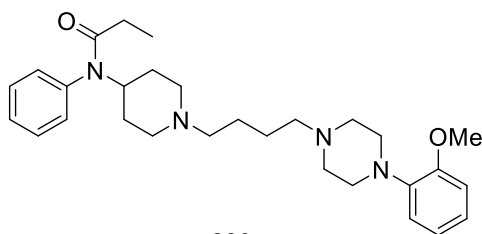
243

Dobija se iz jedinjenja **228**. Prinos: 0,23 g (90 %); žuta, viskozna supstanca. $R_f = 0,3$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 3 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3059, 2941, 2815, 1654, 1579, 1450, 1376, 1264, 1143, 964, 783, 736, 708 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,45 - 7,33$ (m, 3H); 7,19 – 7,10 (m, 2H); 7,08 (d, $J = 6,9$ Hz, 2H); 6,95 (dd, $J_1 = 7,0$; $J_2 = 2,6$ Hz, 1H); 4,68 (tt, $J_1 = 12,3$; $J_2 = 4,0$ Hz, 1H); 3,06 (br. s, 4H, delimično preklopljen); 2,98 (d, $J = 11,2$ Hz, 2H, delimično preklopljen); 2,63 (br. s, 4H); 2,48 – 2,34 (m, 4H); 2,20 – 2,07 (m, 2H); 1,93 (q, $J = 7,3$ Hz, 2H); 1,84 – 1,76 (m, 2H); 1,70 (h, $J_1 = 7,5$; $J_2 = 6,4$ Hz, 2H); 1,44 (qd, $J_1 = 12,3$; $J_2 = 3,9$ Hz, 2H); 1,02 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 173,7$; 151,3; 138,9; 134,1; 130,5; 129,4; 128,4; 127,6; 127,5; 124,7; 118,7; 56,5; 56,5; 53,3; 53,1; 52,2; 51,2; 30,4; 28,6; 24,2; 9,7 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 503,23389; nađeno 503,23436.

4.1.17.4. *N-Fenil-N-(1-(4-(4-fenilpiperazin-1-il) butil) piperidin-4-il) propionamid (234)*

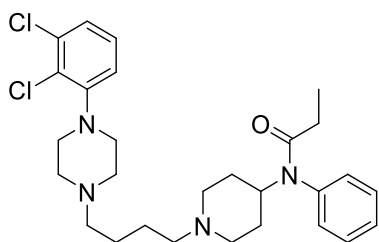
234

Dobija se iz jedinjenja **219**. Prinos: 0,22 g (83 %); žuta, viskozna supstanca. $R_f = 0,35$ (SiO₂; CH₂Cl₂:MeOH = 95:5, 3 kapi MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3058, 2939, 2812 1656, 1598, 1497, 1377, 1268, 1238, 759, 705 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7,49 - 7,32$ (m, 3H); 7,29 - 7,20 (m, 2H); 7,11 - 7,00 (m, 2H); 6,94 - 6,88 (m, 2H); 6,89 - 6,81 (m, 1H); 4,73 - 4,58 (m, 1H); 3,22 - 3,15 (m, 4H); 2,94 (d, $J = 11,4$ Hz, 2H); 2,62 - 2,53 (m, 4H); 2,34 (dt, $J_1 = 20,1$; $J_2 = 6,2$ Hz, 4H); 2,08 (t, $J = 11,5$ Hz, 2H); 1,92 (q, $J = 7,3$ Hz, 2H); 1,78 (d, $J = 11,6$ Hz, 2H); 1,53 - 1,44 (4 m, H, delimično preklopljen); 1,44 - 1,35 (m, 2H, delimično preklopljen); 1,01 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): $\delta = 173,6$; 151,4; 138,9; 130,5; 129,4; 129,2; 129,2; 128,4; 119,7; 116,1; 58,5; 58,4; 53,3; 53,2; 52,2; 49,1; 30,5; 28,6; 25,1; 24,9; 9,7 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za C₂₈H₄₀N₄O [M+H]⁺ 449,32749; nađeno 449,32844.

4.1.17.5. *N-(1-(4-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)butil)piperidin-4-il)-N-fenilpropionamid (239)*

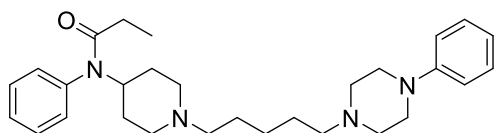
239

Dobija se iz jedinjenja **224**. Prinos: 0,25 g (87 %); žuta, viskozna supstanca. $R_f = 0,35$ (SiO₂; CH₂Cl₂:MeOH = 95:5, 3 kapi MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3058, 2938, 2807, 1654, 1595, 1496, 1374, 1242, 747, 706 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7,40 - 7,30$ (m, 3H); 7,08 - 7,01 (m, 2H); 7,00 - 6,93 (m, 1H); 6,94 - 6,85 (m, 2H); 6,83 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H); 4,64 (tt, $J_1 = 12,6$; $J_2 = 3,9$ Hz, 1H); 3,83 (s, 3H); 3,06 (br. s, 4H); 2,91 (d, $J = 11,4$ Hz, 2H); 2,61 (br. s, 4H); 2,37 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H); 2,29 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H); 2,11 - 1,98 (m, 2H); 1,90 (q, $J = 7,3$ Hz, 2H); 1,81 - 1,71 (m, 2H); 1,54 - 1,30 (m, 6H); 0,99 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): $\delta = 175,0$; 153,8; 142,9; 140,4; 131,9; 130,8; 129,8; 124,4; 122,5; 119,7; 112,7; 60,0; 59,9; 56,9; 55,0; 54,7; 53,7; 52,1; 32,0; 30,1; 26,6; 26,4; 11,2 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za C₂₉H₄₂N₄O₂ [M+H]⁺ 479,33805; nađeno 479,33825.

4.1.17.6. *N-(1-(4-(4-(2,3-Dihlorfenil) piperazin-1-il) butil) piperidin-4-il)-N-fenilpropionamid (244)*

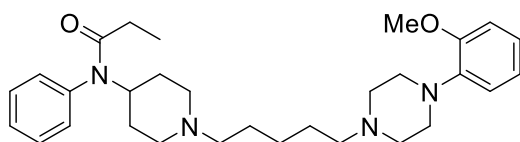
244

Dobija se iz jedinjenja **229**. Prinos: 0,26 g (84,2 %); žuta, viskozna supstanca $R_f = 0,35$ (SiO₂; CH₂Cl₂:MeOH = 95:5, 3 kapi MeOH/NH₃). **IR** (ATR): 3058, 2940, 2811, 1654, 1578, 1450, 1375, 1268, 1137, 782, 736, 707 cm⁻¹. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7,45 - 7,33$ (m, 3H); 7,16 - 7,10 (m, 2H); 7,10 - 7,02 (m, 2H); 6,99 - 6,89 (m, 1H); 4,71 - 4,60 (m, 1H); 3,05 (s, 4H); 2,96 (d, $J = 11,5$ Hz, 2H); 2,62 (s, 4H); 2,47 - 2,37 (m, 2H); 2,37 - 2,30 (m, 2H); 2,10 (t, $J = 11,6$ Hz, 2H); 1,97 - 1,88 (m, 2H); 1,78 (d, $J = 12,6$ Hz, 2H); 1,53 - 1,46 (m, 4H, delimično preklopljen); 1,46 - 1,35 (m, 2H, delimično preklopljen); 1,01 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃): $\delta = 173,6$; 151,3; 138,9; 134,1; 130,4; 129,4; 128,4; 127,5; 124,6; 118,7; 58,4; 58,3; 53,3; 53,1; 52,2; 51,2; 30,4; 28,6; 24,9; 24,8; 9,7 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za C₂₈H₃₈Cl₂N₄O [M+H]⁺ 517,24954; nađeno 517,25082.

4.1.17.7. *N*-Fenil-*N*-(1-(5-(4-fenilpiperazin-1-il)pentil)piperidin-4-il)propionamid (235)

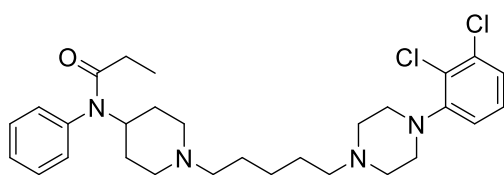
235

Dobija se iz jedinjenja **220**. Prinos: 0,21 g (92,1 %); žuta, viskozna supstanca. $R_f = 0,4$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 3 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3059, 2937, 2813, 1656, 1598, 1498, 1378, 1238, 759, 705 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,34 - 7,23$ (m, 3H); 7,22 – 7,13 (m, 2H); 6,99 (d, $J = 7,1$ Hz, 2H); 6,85 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H); 6,77 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 4,59 (tt, $J_1 = 12,3$; $J_2 = 4,1$ Hz, 1H); 3,12 (t, $J = 4,9$ Hz, 4H); 2,86 (d, $J = 11,3$ Hz, 2H); 2,50 (t, $J = 5,0$ Hz, 4H); 2,35 – 2,25 (m, 2H); 2,26 – 2,17 (m, 2H); 2,00 (t, $J = 11,8$ Hz, 2H); 1,85 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H); 1,75 – 1,65 (m, 2H); 1,53 – 1,29 (m, 6H); 1,26 – 1,15 (m, 2H); 0,94 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 173,6$; 151,4; 138,9; 130,5; 129,4; 129,2; 128,3; 119,7; 116,1; 58,6; 58,6; 53,3; 53,2; 52,2; 49,2; 30,5; 28,6; 27,0; 26,8; 25,6; 9,7 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 463,34314; nađeno 463,34340.

4.1.17.8. *N*-(1-(5-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)pentil)piperidin-4-il)-*N*-fenilpropionamid (240)

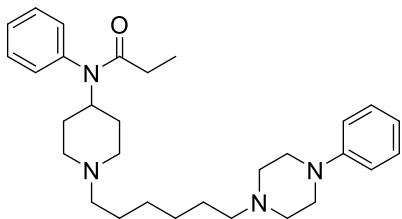
240

Dobija se iz jedinjenja **225**. Prinos: 0,22 g (89,8 %); žuta, viskozna supstanca. $R_f = 0,4$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 3 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3056, 2937, 2812, 1652, 1594, 1499, 1377, 1241, 1026, 746, 706 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,43 - 7,33$ (m, 3H); 7,07 (d, $J = 6,7$ Hz, 2H); 7,04 – 6,96 (m, 1H); 6,96 – 6,87 (m, 2H); 6,86 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H); 4,68 (ddd, $J_1 = 12,4$; $J_2 = 8,5$; $J_3 = 3,9$ Hz, 1H); 3,85 (s, 3H); 3,16 (br. s, 4H); 3,06 (d, $J = 11,5$ Hz, 2H); 2,78 (br. s, 4H); 2,51 (dd, $J_1 = 9,4$; $J_2 = 6,3$ Hz, 2H); 2,46 – 2,35 (m, 2H); 2,23 (t, $J = 11,8$ Hz, 2H); 1,93 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H); 1,88 – 1,76 (m, 2H); 1,68 – 1,47 (m, 6H); 1,38 – 1,28 (m, 2H); 1,01 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 173,6$; 152,2; 140,8; 138,6; 130,2; 129,4; 128,4; 123,2; 121,0; 118,3; 111,2; 58,1; 57,9; 55,4; 53,1; 52,8; 51,7; 49,8; 29,7; 28,5; 26,1; 25,8; 25,2; 9,6 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 493,35370; nađeno 493,35412.

4.1.17.9. *N*-(1-(5-(4-(2,3-Dihlorfenil)piperazin-1-il)pentil)piperidin-4-il)-*N*-fenilpropionamid (245)

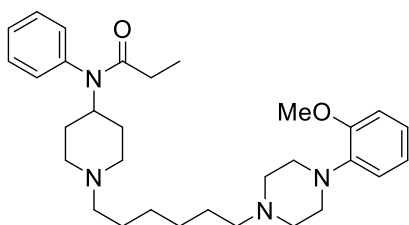
245

Dobija se iz jedinjenja **230**. Prinos: 0,24 g (91,7 %); žuta, viskozna supstanca. $R_f = 0,4$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 3 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3060, 2937, 2814, 1654, 1579, 1450, 1376, 1241, 1142, 959, 783, 740, 709 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,40 - 7,31$ (m, 3H); 7,16 – 7,10 (m, 2H); 7,06 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H); 6,94 (dd, $J_1 = 6,7$; $J_2 = 2,7$ Hz, 1H); 4,66 (ddd, $J_1 = 12,2$; $J_2 = 8,5$; $J_3 = 3,9$ Hz, 1H); 3,04 (br. s, 4H); 2,91 (d, $J = 11,6$ Hz, 2H); 2,60 (br. s, 4H); 2,44 – 2,31 (m, 2H); 2,33 – 2,20 (m, 2H); 2,04 (t, $J = 11,4$ Hz, 2H); 1,91 (q, $J = 7,4$ Hz, 2H); 1,77 (d, $J = 11,8$ Hz, 2H); 1,56 – 1,34 (m, 6H); 1,27 (p, $J = 7,4$ Hz, 2H); 1,00 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 173,6$; 151,4; 139,0; 134,1; 130,5; 129,4; 128,3; 127,6; 127,5; 124,6; 118,7; 58,7; 53,4; 53,3; 52,4; 51,4; 30,7; 28,6; 27,2; 26,9; 25,7; 9,7 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 531,26519; nađeno 531,26545.

4.1.17.10. *N-Fenil-N-(1-(6-(4-fenilpiperazin-1-il)heksil)piperidin-4-il)propionamid (236)*

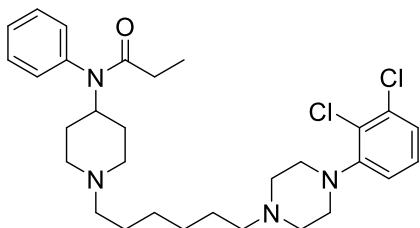
236

Dobija se iz jedinjenja **221**. Prinos: 0,23 g (96 %); žuta, viskozna supstanca. $R_f = 0,45$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 3 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3059, 2933, 2810, 1657, 1598, 1497, 1377, 1237, 1137, 757, 704 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,42 - 7,32$ (m, 3H); 7,29 – 7,21 (m, 2H); 7,07 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H); 6,92 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 6,84 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H); 4,66 (ddd, $J_1 = 12,2$; $J_2 = 8,1$; $J_2 = 4,0$ Hz, 1H); 3,25 – 3,14 (m, 4H); 2,91 (d, $J = 11,5$ Hz, 2H); 2,66 – 2,53 (m, 4H); 2,41 – 2,30 (m, 2H); 2,30 – 2,22 (m, 2H); 2,04 (t, $J = 11,9$ Hz, 2H); 1,92 (q, $J = 7,3$ Hz, 2H); 1,77 (d, $J = 11,5$ Hz, 2H); 1,61 – 1,44 (m, 2H, delimično preklopljen); 1,47 – 1,33 (m, 4H, delimično preklopljen); 1,35 – 1,22 (m, 4H, delimično preklopljen); 1,01 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 173,6$; 151,5; 139,0; 130,6; 129,3; 129,2; 128,3; 119,7; 116,1; 58,8; 58,8; 53,4; 53,3; 52,4; 49,2; 30,7; 28,6; 27,7; 27,6; 27,2; 26,9; 9,7 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 477,35879; nađeno 477,35880.

4.1.17.11. *N-(1-(6-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)heksil)piperidin-4-il)-N-fenilpropionamid (241)*

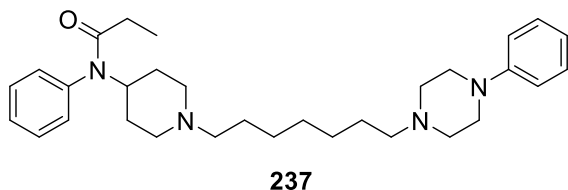
241

Dobija se iz jedinjenja **226**. Prinos: 0,23 g (93,4 %); žuta, viskozna supstanca. $R_f = 0,45$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 3 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3058, 2935, 2810, 1656, 1594, 1498, 1375, 1241, 1027, 805, 748, 707 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,42 - 7,32$ (m, 3H); 7,07 (d, $J = 6,9$ Hz, 2H); 7,02 – 6,95 (m, 1H, delimično preklopljen); 6,97 – 6,89 (m, 2H, delimično preklopljen); 6,85 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H); 4,66 (ddd, $J_1 = 12,1$; $J_2 = 8,4$; $J_3 = 4,0$ Hz, 1H); 3,86 (br. s, 3H); 3,10 (s, 4H); 2,93 (d, $J = 11,5$ Hz, 2H); 2,64 (br. s, 4H); 2,44 – 2,35 (m, 2H); 2,33 – 2,24 (m, 2H); 2,06 (td, $J_1 = 12,2$; $J_2 = 2,5$ Hz, 2H); 1,92 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H); 1,78 (d, $J = 11,9$ Hz, 2H); 1,57 – 1,46 (m, 2H, delimično preklopljen); 1,48 – 1,35 (m, 4H, delimično preklopljen); 1,36 – 1,24 (m, 4H, delimično preklopljen); 1,01 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 173,6$; 152,3; 141,4; 138,9; 130,5; 129,3; 128,3; 122,9; 121,1; 118,3; 111,2; 58,8; 58,7; 55,4; 53,5; 53,3; 52,3; 50,6; 30,6; 28,6; 27,7; 27,6; 27,1; 26,8; 9,7 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za $\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 507,36935; nađeno 507,36902.

4.1.17.12. *N-(1-(6-(4-(2,3-Dihlorfenil)piperazin-1-il)heksil)piperidin-4-il)-N-fenilpropionamid (246)*

246

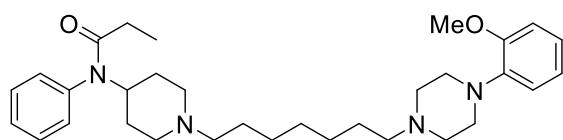
Dobija se iz jedinjenja **231**. Prinos: 0,24 g (88,5 %); žuta, viskozna supstanca. $R_f = 0,45$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 3 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3060, 2932, 2817, 1656, 1578, 1449, 1375, 1260, 1138, 783, 743, 708 cm^{-1} . **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,41 - 7,31$ (m, 3H); 7,15 – 7,08 (m, 2H); 7,06 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H); 6,98 – 6,90 (m, 1H); 4,65 (ddd, $J_1 = 12,2$; $J_2 = 8,6$; $J_2 = 3,9$ Hz, 1H); 3,04 (br. s, 4H); 2,90 (d, $J = 11,5$ Hz, 2H); 2,59 (br. s, 4H); 2,39 – 2,33 (m, 2H); 2,30 – 2,19 (m, 2H); 2,03 (t, $J = 11,4$ Hz, 2H); 1,91 (q, $J = 7,4$ Hz, 2H); 1,76 (d, $J = 11,8$ Hz, 2H); 1,59 – 1,33 (m, 6H, delimično preklopljen); 1,32 – 1,20 (m, 4H, delimično preklopljen); 1,00 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 173,6$; 151,4; 139,0; 134,1; 130,5; 129,3; 128,3; 127,5; 124,6; 118,7; 58,8; 53,4; 53,3; 52,4; 51,4; 30,7; 28,6; 27,7; 27,6; 27,2; 26,9; 9,7 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 545,28084; nađeno 545,28083.

4.1.17.13. *N-Fenil-N-(1-(7-(4-fenilpiperazin-1-il)heptil)piperidin-4-il)propionamid (237)*

237

Dobija se iz jedinjenja **222**. Prinos: 0,24 g (95 %); žuta, viskozna supstanca. $R_f = 0,5$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 3 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3058, 2932, 2812, 1655, 1598, 1378, 1262, 1094, 805, 758, 703 cm^{-1} . **^1H NMR** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,42 - 7,32$ (m, 3H); 7,26 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H); 7,08 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H); 6,93 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H);

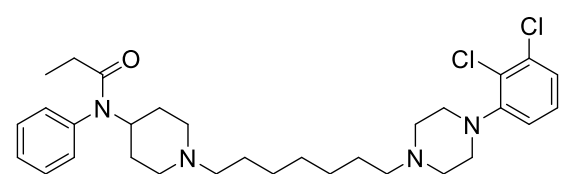
6,85 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H); 4,67 (tt, $J_1 = 12,3$; $J_2 = 4,0$ Hz, 1H); 3,27 – 3,15 (m, 4H); 2,97 (d, $J = 10,9$ Hz, 2H); 2,69 – 2,53 (m, 4H); 2,41 – 2,34 (m, 2H); 2,35 – 2,27 (m, 2H); 2,11 (t, $J = 11,4$ Hz, 2H); 1,93 (q, $J = 7,4$ Hz, 2H); 1,79 (d, $J = 11,8$ Hz, 2H); 1,57 – 1,40 (m, 6H); 1,34 – 1,22 (m, 6H); 1,02 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **^{13}C NMR** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 173,6$; 151,4; 138,9; 130,4; 129,4; 129,1; 128,4; 119,7; 116,1; 58,8; 58,6; 53,3; 53,2; 52,2; 49,1; 30,4; 29,5; 28,6; 27,6; 27,5; 26,9; 26,8; 9,7 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za $\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 491,37444; nađeno 491,37464.

4.1.17.14. *N-(1-(7-(4-(2-Metoksifenil)piperazin-1-il)heptil)piperidin-4-il)-N-fenilpropionamid (242)*

242

Dobija se iz jedinjenja **227**. Prinos: 0,24 g (91,2 %); žuta, viskozna supstanca. $R_f = 0,5$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 3 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3059, 2810, 1659, 1595, 1499, 1453, 1242, 1028, 807, 748, 707 cm^{-1} . **^1H NMR** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,42 - 7,31$ (m, 3H); 7,07 (d, $J = 6,9$ Hz, 2H); 7,03 – 6,95 (m, 1H, delimično preklopljen); 6,97 – 6,87 (m, 2H,

delimično preklopljen); 6,85 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H); 4,66 (tt, $J_1 = 12,2$; $J_2 = 4,0$ Hz, 1H); 3,85 (s, 3H); 3,10 (br. s, 4H); 2,93 (d, $J = 12,0$ Hz, 2H); 2,65 (br. s, 4H); 2,43 – 2,34 (m, 2H); 2,30 – 2,21 (m, 2H); 2,06 (td, $J_1 = 12,1$; $J_2 = 2,3$ Hz, 2H); 1,92 (q, $J = 7,4$ Hz, 2H); 1,77 (d, $J = 12,3$ Hz, 2H); 1,56 – 1,47 (m, 2H); 1,47 – 1,36 (m, 4H); 1,32 – 1,21 (m, 6H); 1,01 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **^{13}C NMR** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 173,6$; 152,4; 141,4; 138,9; 130,5; 129,3; 128,3; 123,0; 121,1; 118,3; 111,3; 58,9; 58,7; 55,4; 53,5; 53,2; 52,3; 50,6; 30,5; 29,5; 28,6; 27,6; 27,6; 27,1; 26,8; 9,7 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 521,38500; nađeno 521,38566.

4.1.17.15. *N-(1-(7-(4-(2,3-Dihlorfenil)piperazin-1-il)heptil)piperidin-4-il)-N-fenilpropionamid (247)*

247

Dobija se iz jedinjenja **232**. Prinos: 0,26 g (93 %); žuta, viskozna supstanca $R_f = 0,5$ (SiO_2 ; CH_2Cl_2 : $\text{MeOH} = 95:5$, 3 kapi MeOH/NH_3). **IR** (ATR): 3061, 2933, 2811, 1658, 1658, 1578, 1450, 1375, 1260, 1142, 783, 743, 708 cm^{-1} . **^1H NMR** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,43 - 7,33$ (m, 3H); 7,18 – 7,12 (m, 2H); 7,07 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H); 6,96 (dd, $J_1 = 6,7$; $J_2 = 2,8$ Hz, 1H); 4,76 – 4,54 (m, 1H); 3,07 (br. s, 4H); 2,93 (d, $J = 11,5$ Hz, 2H);

2,63 (br. s, 4H); 2,47 – 2,34 (m, 2H); 2,32 – 2,22 (m, 2H); 2,06 (t, $J = 11,4$ Hz, 2H); 1,92 (q, $J = 7,4$ Hz, 2H); 1,77 (d, $J = 12,0$ Hz, 2H); 1,62 – 1,46 (m, 2H, delimično preklopljen); 1,49 – 1,34 (m, 4H, delimično preklopljen); 1,34 – 1,20 (m, 6H, delimično preklopljen); 1,01 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. **^{13}C NMR** (126 MHz, CDCl_3): $\delta = 173,6$; 151,4; 139,0; 134,1; 130,5; 129,4; 128,3; 127,5; 124,6; 118,7; 58,8; 58,8; 53,4; 53,3; 52,3; 51,4; 30,6; 29,6; 28,6; 27,7; 27,6; 27,1; 26,9; 9,7 ppm. **HRMS-HESI-Orbitrap**: izračunato za $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 559,29649; nađeno 559,29701.

4.2. Farmakološko ispitivanje

4.2.1. *In vitro* ispitivanje vezivanja za D₂DR

4.2.1.1. Izolovanje sinaptosomalnih membrana iz mozga pacova

Pacovi su žrtvovani dekapitacijom pomoću aparature za giljotiranje. Lobanje su odmah otvarane, mozgovi kompletno izvađeni i potapani u hladni fiziološki rastvor, da bi potom na ledu disekcijom bilo izdvojeno tkivo striatuma kao izvor D₂DR. Ovo tkivo je sakupljeno iz mozгова 30 životinja, izmerena im je ukupna masa m_t , koja je potom resuspendovana u desetostruko većoj zapremini V_t ($V_t:m_t=10:1$) ledenog pufera za homogenizaciju (50 mM Tris, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 2 mM CaCl₂, pH 7,5). Tkiva su homogenizovana u staklenom homogenizeru sa teflonskim tučkom (6 zaveslaja, 800 r.p.m.), a homogenati su dva puta taloženi centrifugiranjem (15 min., 4 °C, 20000 r.p.m.). Finalni talozi su resuspendovani u puferu za homogenizaciju u 20 puta većoj zapremini u odnosu na početnu masu i sa završnim koncentracijama proteina oko 0,5-0,8 mg/ml.¹⁸⁵ Kao takvi su zamrznuti u tečnom azotu, i čuvani na -70 °C do upotrebe u testovima kompeticije u kojima su korišteni kao izvor D₂R.

4.2.1.2. Test kompetitivnog vezivanja radioaktivnog liganda na membranama izolovanim iz mozga pacova

Za specifično obeležavanje D₂DR radioaktivnim ligandima korišćen je: 0,2 nM [³H]-spiperon. Finalne koncentracije radioaktivnog liganda su odgovarale literaturnim vrednostima K_d, jer je pri tim uslovima reakcija najosetljivija. Pošto [³H]-spiperon pokazuje afinitet vezivanja za D₂ i 5HT_{2a} receptore, da bi se sprečilo njegovo vezivanje za 5HT_{2a} receptore, obeleženom spiperonu je dodat neobeleženi ketanserin u finalnoj koncentraciji od 50 nM. Finalne koncentracije ispitivanog liganda bile su u rasponu od 10⁻⁴-10⁻¹⁰ M. Nespecifično vezivanje za D₂DR je odrađeno u prisustvu 10 μM spiperona. Reakcija kompeticije je izvođena u ukupnoj zapremini od 400 μl. Uzorci su inkubirani 10 min. na 37 °C a reakcija je prekinuta hladnim puferom (1 ml). Uzorci su zatim filtrirani na vakuumu kroz Whatman GF/C filtre. Filtri su ispirani dva puta sa po 5 ml pufera (50 mM Tris, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 2 mM CaCl₂, pH 7,5) da bi se uklonio nevezani obeleženi ligand. Nakon sušenja u trajanju od 2h na temperaturi od 80 °C, filtri su unošeni u scintilacioni koktel na bazi toluola i merena je radioaktivnost na scintilacionom brojaču. Svi eksperimenti su rađeni u triplikatu i ponovljeni najmanje dva puta. Dobijeni rezultati su obrađeni u programu Graph Pad Prism.¹⁸⁶

4.2.2. *In vivo* ispitivanje antinociceptivne aktivnosti

Ispitivanje je vršeno na 186 odraslih muških Wistar pacova (200-250 g) koje je obezbedila Vojnomedicinska akademija (VMA, Beograd, Srbija). Životinje su čuvane u grupama od po tri po kavezu (42,5×27×19 cm) pod standardnim uslovima temperature (22±1°C), relativne vlažnosti (60%) i 12 h dugih ciklusa svetlosti i mraka sa uključivanjem svetala u 8:00. Hrana i voda su životinjama bile dostupne u svakom trenutku osim za vreme eksperimenata. Životinje su hranjene standardnom hranom za pacove obezbeđenom od strane Veterinarskog instituta iz Subotice, Srbija. Eksperimenti su izvođeni od strane istog eksperimentatora svakim danom, u isto vreme između 8:00 i 14:00 da bi se izbegle dnevne varijacije u testovima ponašanja. Životinje nisu bile sputane tokom testova. Svaka životinja je korišćena samo u jednom eksperimentu nakon koga je eutanazirana i.p. injekcijom natrijum tiopental (200 mg/kg). Pre svakog eksperimenta, životinje su navikavane na eksperimentalnu proceduru tokom tri uzastopna dana.

Analgetička aktivnost je određivana pomoću testa potapanja repa u toplu vodu (tail-immersion test)¹⁷⁰ i formalinskog testa.¹⁸⁷

Sva jedinjenja su u obliku soli, hlorhidrata rastvorena u fiziološkom rastvoru i injektovana i.p. u maksimalnoj zapremini od 2 ml/kg.¹⁷⁰ Nalokson hlorhidrat (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) je rastvoren u fiziološkom rastvoru i injektovan s.c. u kičmu, pre i.p. injekcije ispitivanih jedinjenja, u koncentraciji 0,01 mg/kg. Kontrolne životinje su primile odgovarajuću zapreminu fiziološkog rastvora umesto naloksona i ispitivano jedinjenje.

4.2.2.1. Test potapanja repa u toplu vodu

U eksperimentu su korišćeni mužjaci Wistar pacova težine 200-250 g. Životinja je postavljena u cilindrični kavez za pacove, tako da rep pacova visi slobodno izvan kaveza. Donjih 5cm repa pacova uronjeno je u vodeno kupatilo čija je temperatura podešena na $55 \pm 0,5$ °C. Vreme koje je bilo potrebno da pacov izvuče rep iz tople vode, računa se kao vreme reakcije na bol. Maksimalna dužina izloženosti repa pacova toploj vodi bila je 10 s, da bi se izbeglo oštećenje tkiva usled ponavljanja testa. Vreme reakcije na bol pre davanja jedinjenja i.p., dobijeno je 5 minuta pre davanja jedinjenja. Vreme reakcije na bol posle davanja jedinjenja i.p. putem, mereno je nakon 5, 10, 15, 20 itd. minuta. Vreme reakcije na bol je izraženo kao procenat maksimalnog mogućeg efekta (%MPE) i računato je prema sledećoj formuli:

$$\%MPE = \frac{\text{vreme reakcije na bol posle - pre administracije jedinjenja}}{\text{vreme trajanja izloženosti} - \text{vreme reakcije na bol pre administracije jedinjenja}} \times 100$$

Krive zavisnosti vremena reakcije na bol od primenjene doze su analizirane linearnom regresijom. ED₅₀ i intervali pouzdanosti od 95% su izvedeni iz te krive.¹⁷⁷ Vreme trajanja analgezije određeno je koristeći ekvianalgetske doze testiranih jedinjenja (npr. ED₉₉, najmanja doza kojom se postiže maksimalna analgezija). Da bi se uporedio tok efekta koji su proizvela različita jedinjenja, podaci su izraženi kao površina ispod krive (AUC); npr. površina serije trapezoida kod kojih je visina predstavljala razliku između brzine kojom se javio bol nakon davanja jedinjenja i pre davanja jedinjenja, a baza trapezoida predstavljala je interval između merenja (min). Na ovaj način dobijen je indeks sa dimenzijama sekunda-minut.¹⁸⁸ Nagibi regresionih krivih su poređeni testom za paralelizam.⁴⁴

Da bi se utvrdilo da li injekcija fiziološkog rastvora kod kontrolnih životinja ima bilo kakav efekat na vreme proteklo do povlačenja repa iz tople vode, korišćen je t-test za parne vrednosti.¹⁸⁸ P vrednost manja od 0,05 je smatrana statistički značajnom.

4.2.2.2. Formalinski test

Formalinski test je hemijski indukovani inflamatorni bol.^{187,189} Životinjama je dato 100 µL 2.5% formalina u ravnu površinu zadnje, desne šape koristeći mikrolitarski špric i iglu od 29 G. Jedinjenja su davana i.p. putem 10 min pre formalina. Posle formalinske injekcije, životinje su pojedinačno stavljene u opservacione komore od pleksiglasa. Podaci su sakupljeni kao ukupno vreme (s) provedeno u ponašanju karakterističnom za osećaj bola (drhtanje i lizanje ili ujedanje) nakon injekcije formalina. Sakupljanje podataka je vršeno u 9 intervala od po 5 min. U svakom vremenskom intervalu (npr. 0-5, 5-10, 10-15 min, itd.) značenje \pm SEM nociceptivnog vremena u sekundama (s) je dobijeno kod 6-8 pacova. Reakcije na prvu fazu bola su primećene u intervalima od 0–10 min dok su reakcije u na drugu fazu bile uočljive u intervalima od 10–45 min.

Vremenski tok analgetičkog odgovora za pojedinačna jedinjenja je dobijen pomoću grafičkog prikaza vremena koje je životinja provela u ponašanju karakterističnom za osećaj bola u funkciji vremena. Površine određene ponašanjem karakterističnim za bol i vremenskim krivama (AUC) su izračunate koristeći trapezoidni model.¹⁸⁶ AUC je izračunat za drugu fazu bola (10-45 min) a, procenat analgetičkog efekta je izračunat prema sledećoj jednačini: Procenat antinocicepcije (AA%) = $[(AUC_{\text{vehicle}} - AUC_{\text{posle jedinjenja}}) / AUC_{\text{vehicle}}] \times 100$.¹⁸⁷

4.3. Doking analiza

4.3.1. Priprema receptora

Kristalne strukture receptora μ OR i D₂R preuzete su iz PDB databaze¹⁷³ (pod nazivom 6DDE¹⁷⁸ i 6CM4.¹⁸¹ Ligand i molekuli vode iz kristalnih struktura su uklonjeni u programu Chimera.¹⁹⁰ Kristalne strukture su zatim pripremljene za doking pomoću programa AutoDock tools,¹⁹¹ gde su im dodati polarni vodonikovi atomi, određen tip i naelektrisanje atoma pod fiziološkim uslovima (pH=7,4+/-0,2). Vezivno mesto u protein je definisano na osnovu literaturnih podataka.^{178,181,192}

4.3.2. Priprema liganada

Strukture liganada su inicijalno konstruisane koristeći ChemDraw 17,0 program za crtanje.¹⁹³ Zatim su dodata i naelektrisanja primarnih i tercijarnih amino grupa pod fiziološkim uslovima (pH=7,4+/-0,2). Strukture su optimizovane pomoću Chem3D 17,0 programa, gde je izvršena molekulska mehanička minimizacija, Merck Molecular Force Field 94x (MMFF94x), pri čemu je dobijena optimalna početna konformacija liganda.¹⁹³ Strukture su sačuvane kao pdb fajlovi i uvezene su u AutoDock tools program gde su im dodata Gaseiger naelektrisanja, određeni tipovi atoma i rotabilne veze.

4.3.3. Doking simulacija

Doking simulacija vezivanja liganada u vezivno mesto receptora izvršena je pomoću programa AutoDock Vina¹⁹¹ koristeći prethodno pripremljene kristalne strukture receptora i liganada. Iscrpnost pretrage prostora bila je 100. Sve hiralne strukture dokovane su u obliku pojedinačnih enantiomera.

Rezultati doking analize interpretirani su pomoću AutoDock Tools programa i Discovery Studio Visualizer programa.¹⁹³ Dobijene doking strukture su ispitane i za nalizu su izabrane one koje su imale optimalnu konformaciju, ostvarivale soni most i najveći broj receptor-ligand interakcija.

4.3.4. Prikaz rezultata

Rezultati su prikazani kao 2D projekcije 3D modela, dobijeni pomoću Discovery Studio Visualizer 2017 programa.¹⁹⁴

5. ZAKLJUČAK

U okviru ove disertacije sintetisano je i farmakološki testirano 30 anilidopiperidina, analoga jakog opioidnog analgetika fentanila od kojih su 28 nova jedinjenja. Dva biciklična analoga fentanila, dobijena prethodno u našoj laboratoriji, sintetisana su modifikovanom metodom. Svih 30 anilidopiperidina mogu se podeliti u dve serije:

1. U prvoj seriji sintetisano je 13 novih analoga fentanila sa različitim azotnim grupama u položaju C₃ piperidinskog prstena i to: karboksamidna (-CONH₂), nitrilna (-CN), karbamatna (-NHCO₂R), kondenzovana cikloureidna (-NHCONHR) i primarna i sekundarna amino (-NH₂, -NHR) kao i *N*-acilamino (-NHCOR) grupa. Od toga četiri diastereomernih *cis/trans* parova i pet *trans* diastereomera.

2. 15 Novih analoga fentanila iz druge serije sadrže piperidinski prsten fentanila povezan preko polimetilenskih mostova različite dužine sa različitim arilpiperazinima.

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

1. Aminolizu sterno zaštićenih estara formamidom;
2. Alkanoilovanje sterno zaštićenih sekundarnih anilina;
3. Dehidrataciju sterno zaštićenih karboksamida;
4. Hofmann-ovo premeštanje, prema našoj ranije publikovanoj metodi;
5. Formilovanje sterno zaštićenih primarnih amina formamidom.

Sva novosintetisana jedinjenja su strukturno potpuno okarakterisana spektroskopskim metodama i to: 1D i 2D NMR (HSQC), IR i HRMS. Relativna konfiguracija svih *cis/trans* diastereomernih parova određena je uz pomoć 2D NMR-NOESY eksperimenata.

Analgetička aktivnost 30 jedinjenja uključujući i dva prethodno sintetisana analoga fentanila ispitana je *in vivo*. Samo su četiri nova anilidopiperidina pokazala antinociceptivnu aktivnost. Jedinjenje *cis*-**155** je pokazalo ~1.8 puta slabiju analgetičku aktivnost od fentanila što ga čini najaktivnijim opioidnim analgetikom od svih jedinjenja sintetisanih i ispitanih u okviru ove disertacije. Kao i fentanil, jedinjenje *cis*-**155** karakteriše visoka analgetička aktivnost, brzo i kratko dejstvo analgetičkog efekta, pa stoga može biti dobar kandidat za neka buduća farmakološka ispitivanja u oblasti tretmana bola. Jedinjenja *cis*-**149**, *trans*-**150** i *trans*-**156** takođe su pokazala brže i kraće dejstvo, sa znatno slabijom analgetičkom aktivnošću u odnosu na fentanil. Dok su *cis*- i *trans*-diastereomeri **149** i **150** pokazali slično dejstvo koje je oko 100 puta slabije od fentanila, najslabiji efekat imalo je jedinjenje *trans*-**156** koje je približno 180 puta slabije od svog *cis* diastereomera, a oko 300 puta slabije od fentanila. Eventualna dalja ispitivanja će proceniti sporedne efekte kao i odnos analgetičke i toksične doze. Ostala ispitivana jedinjenja nisu pokazala antinociceptivnu aktivnost dozama do 2mg / kg. Razlozi za to mogu da budu nedovoljna lipofilnost, metabolička razgradnja i/ili nedostatak strukturnih karakteristika neophodnih za optimalne interakcije sa receptorom, posebno za jedinjenja druge serije.

S obzirom na to da su jedinjenja druge serije dizajnirana da budu potencijalni μ OR/D₂DR heterobivalentni ligandi, ispitivan je njihov afinitet prema D₂DR testom kompeticije koristeći ³H spiperon kao radioaktivni ligand. Od svih jedinjenja druge serije samo su jedinjenja sa tri metilenske grupe u alkil-lancu i to **233**, **237** i **243** pokazala merljiv afinitet prema D₂DR (500-900 nM) dok su ostalih 13 jedinjenja bila neaktivna (>1000 nM).

Preliminarnom doking analizom jedinjenja *cis*-149, *trans*-150, *cis*-155 i *trans*-156, nađeno je da zauzimaju odgovarajući položaj u μ OR i grade soni most sa Asp 147 (TM3), što su prema literaturnim podacima ključne karakteristike interakcija fenatnila sa μ OR.

Preliminarnom doking analizom jedinjenja **233**, **237** i **243** nađeno je da se arilpiperazinski deo liganada smešta u OBP region D₂DR i ostvaruje ključne receptor-ligand interakcije karakteristične sa visoko aktivne arilpiperazine, među kojima je najvažniji soni most sa Asp 114 (TM3). Ipak, anilidopiperidinski deo strukture se vezuje u EBP receptora što omogućava građenje dodatnog sonog mosta između piperidinskog azota sa Asp 114 (TM3) zbog čega je intenzitet sonog mosta slabiji. Moguće je da je zbog toga afinitet ovih jedinjenja prema D₂DR smanjen. U skladu sa ovom hipotezom, nedostatak aktivnosti ostalih jedinjenja druge serije prema D₂DR moguće je objasniti time što povećanje dužine alkil-lanca između dva protonovana azota, potencijalno dovodi do još izraženijeg smanjenja intenziteta sonog mosta.

Jedinjenja sintetisana u okviru ove disertacije, a posebno sam sintetički put, imaju značaja za organsku i medicinsku hemiju. Jedinjenja prve serije predstavljaju prve poznate analoge fentanila sa azotnim grupama u položaju C₃. Razvijeni sintetički put je od značaja za sintezu drugih, funkcionalizovanih piperidina. Jedinjenja druge serije su prvi put sintetisana i farmakološki testirana kao potencijalni μ OR/D₂DR heterobivalentni ligandi koji poseduju fentanil kao μ OR farmakoforu. Međutim, tokom pisanja ove disertacije, u literaturi su se pojavili primeri μ OR/D₂DR heterobivalentnih liganda drugačije strukture, koji su pokazali afinitet prema ovim receptorima.

6. CONCLUSION

This PhD thesis encompasses the synthesis and pharmacological evaluation of 30 anilidopiperidines, analogues of a highly potent opioid fentanyl, among which 28 are novel. Two bicyclic fentanyl analogues, prepared previously in this laboratory, were synthesized by improved method. All 30 anilidopiperidines represent two distinct series:

1. The first series includes 15 compounds, all having C₃ position of the piperidine ring substituted with nitrogen-containing groups, i.e.: carboxamide (-CONH₂), nitrile (-CN), carbamate (-NHCO₂Me), condensed cycloureide (-NHCONHR), primary and secondary amine (-NH₂, -NHR) and *N*-acylamino (-NHCOR). Four compounds are diastereomeric *cis/trans* pairs, while five are *trans* diastereomers only.

2. All 15 compounds of the second series consist of fentanyl and arylpiperazine moieties, connected at the respective nitrogen atoms, via variable-length polymethylene linkers.

Preparation of all of the compounds, from both series, required development of novel, efficient and scalable synthetic approaches. The modifications and optimizations of the known synthetic procedures developed in this thesis, have been published, in part, in the original scientific papers and include:

1. Formamide-mediated, base-catalyzed aminolysis of sterically hindered esters;
2. Alkanoylation of sterically hindered secondary anilines;
3. Dehydration of sterically hindered carboxamides;
4. Hofmann's rearrangement, according to our earlier published method;
5. Formamide-mediated, base-catalyzed formylation of sterically hindered amines.

Structures of all synthesized compounds were confirmed by spectroscopic methods: 1D and 2D NMR (HSQC), IR and HRMS. The relative configuration of *cis/trans* diastereomeric pairs was determined by 2D NMR-NOESY experiments.

The analgesic activity of 30 compounds was assayed *in vivo*. Out of 30 compounds, only four exhibited antinociceptive activity, all of them from the first series.

The most active compound is *cis*-**155** some ~1.8 times less potent than fentanyl. Like fentanyl, *cis*-**155** has fast onset and short duration of analgesia and might have a therapeutic potential in various pain-treatment formulations. Compounds of *cis*-**149**, *trans*-**150**, and *trans*-**156** also showed faster and shorter effects than fentanyl, however, with significantly lower analgesic activity than fentanyl. While the *cis*- and *trans*-diastereomers **149** and **150** showed similar effect, which was about 100-fold weaker than fentanyl, the *trans*-**156** showed approximately 180-fold lower activity than its *cis* diastereomer, and it was about 300-fold weaker analgesic than fentanyl. Possible further studies could estimate the safety margins and side effects. All other examined compounds, were inactive, in doses up to 2mg/kg. The inactivity may result from insufficient lipophilicity, metabolic inactivation and/or lack of structural features necessary for receptor interactions. That might be the case especially with the compounds in the second series.

Since the second series compounds have been designed to be potential for μ OR/D₂DR heterobivalent ligands, their D₂DR affinities were assayed. Only compounds **233**, **237** and **243**, all having three methylene groups in the linker, are found to exhibit some D₂DR affinity (500-900 nM). The remaining 13 compounds are inactive, up to the concentrations of 1000 nM.

Docking analysis of compounds *cis*-**149**, *trans*-**150**, *cis*-**155** and *trans*-**156**, revealed that each of them occupy the appropriate position in the μ OR active site while forming of the salt bridge with Asp 147 (TM3) in a manner similar to fentanyl / μ OR complex, according to the literature data.

CONCLUSION

Docking simulations of compounds **233**, **237** and **243** revealed that the arylpiperazine moiety is located in OBP region of the D₂DR, and can establish key receptor-ligand interactions, specific for the known, highly active arylpiperazine ligands. The most significant is the salt bridge with Asp 114 (TM3). However, the anilidopiperidine part of the structure binds to the EBP region of the D₂DR where it can form an additional salt bridge of piperidine nitrogen with Asp 114 (TM3), thus leading to decrease of the salt bridge intensity. Therefore, the affinity of these compounds to D₂DR is reduced. Increasing the length of the methylene linker between the two nitrogen in the other compounds of the second series, possibly leads to an even more pronounced decrease in the intensity of the salt bridge, which may explain the lack of D₂DR affinity of these compounds.

The compounds synthesized during the course of this research, and especially the novel synthetic pathways, have certain significance to organic and medicinal chemistry. The compounds of the first series represent the first known fentanyl analogues possessing any nitrogen substituent at C₃ position of the piperidine ring. The synthetic approach has a considerable significance for various functionalized piperidines. At the time of this research, the compounds of the second series represented the first known attempt, albeit unsuccessful, to design heterobivalent μ OR/D₂DR ligands. However, during the writing of the thesis, the synthesis of active heterobivalent μ OR/D₂DR ligands, having a different structure, was reported in literature.

7. LITERATURA

1. Simpson D. M.; Messina J.; Xie, F.; Hale, M. *Clin. Ther.* **2007**, *29*, 588.
2. Bidlack J. M.; Knapp B. I. Research and Development of Opioid-Related Ligands, *ACS Symposium Series*, Vol. 1131, Chapter 14, pp 257–272.
3. Harvey J. H.; Long D. H.; England P. M.; Whistler J.L. *Med. Chem. Lett.* **2012**, *3*, 640
4. Aceto M. D.; Harris L. S.; Negus S. S.; Banks M. L.; Hughes L.D.; Akgün E.; Portoghese P. S. *Int. J. Med. Chem.* **2012**, *2012*, 1.
5. Bird M. F.; Vardanyan R. S.; Hruby V J.; Calo` G.; Guerrini R.; Salvadori S.; Trapella C.; McDonald J.; Rowbotham D. J.; Lambert D. G. *Br. J. Anaesth.* **2015**, *114*, 646.
6. Vardanyan R. S.; Cain J. P.; Haghighi S. M.; Kumirov V. K.; McIntosh M. I.; Sandweiss A. J.; Porreca F.; Hruby V. J. *J. Heterocycl. Chem.* **2016**, *54*, 1228.
7. Petrov R. R.; Lee Y. S.; Vardanyan R. S.; Liu L.; Ma S.-W.; Davis P.; Lai J.; Porreca F.; Vanderah T. W.; Hruby V. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 3434.
8. Turnaturi R.; Aricò G.; Ronsisvalle G.; Parenti C.; Pasquinucci L. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *108*, 211.
9. Naour M. L.; Akgün E.; Yekkirala A.; Lunzer M. M.; Powers M. D.; Kalyuzhny A. E.; Portoghese P. S. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 5505.
10. Mollica A.; Pelliccia S.; Famigliani V.; Stefanucci A.; Macedonio G.; Chiavaroli A.; Orlando G.; Brunetti L.; Ferrante C.; Pieretti S.; Novellino E.; Benyhe S.; Zador F.; Erdei A.; Szucs E.; Samavati R.; Dvoracsko S.; Tomboly C.; Ragno R.; Patsilinakos A.; Silvestri R. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2016**, *32*, 444.
11. Peterson C. D.; Kitto K.F.; Akgün E.; Lunzer M. M.; Riedl M. S.; Vulchanova L.; Wilcox G. L.; Portoghese P. S.; Fairbanks C. A. *Pain* **2017**, *158*, 2431.
12. Akgün E.; Javed M. I.; Lunzer M. M.; Smeester B. A.; Beitz A. J.; Portoghese P. S. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America- PNAS* **2013** *110*, 11595.
13. Dutta R.; Lunzer M. M.; Auger J. L.; Akgün E.; Portoghese P. S.; Binstadt B. A. *Arthritis Res. Ther.* **2018**, *20*, 154.
14. Akgün E.; Javed M. I.; Lunzer M. M.; Powers M. D.; Sham Y. Y.; Watanabe Y.; Portoghese P. S. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 8647.
15. Vardanyan R.; Vijay G.; Nichol G. S.; Liu L.; Kumarasinghe I.; Davis P.; Vanderah T.; Porreca F.; Lai J.; Hruby V. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 5044.
16. Mollica A.; Costante R.; Novellino E.; Stefanucci A.; Pieretti S.; Zador F.; Samavati R.; Borsodi A.; Benyhe S.; Vetter I.; Lewis R. J. *Chem. Biol. Drug. Des.* **2015**, *86*, 156.
17. Chen Y.; Fu Y.; An Y.; Cao J.; Wang J.; Zhang J. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **2017**, *1*.
18. Heal D. J.; Hallam M.; Prow M.; Gosden J.; Cheetham S.; Choi Y. K.; Tarazi F.; Hutson P.; J. *Psychopharmacol.* **2017**, *31*, 770.
19. Weber S. C.; Beck-Schimmer B.; Kajdi M.-E.; Müller D.; Tobler P. N.; Quednow B. B. *Trans. Psychiatry* **2016**, *6*, 850.
20. Desai R. I.; Grandy D. K.; Lupica C. R.; Katz J. L. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2014**, *348*, 106.

21. Kumar V.; Bonifazi A.; Ellenberger M. P.; Keck T. M.; Pommier E.; Rais R.; Slusher B. S.; Gardner E.; You Z.-B.; Xi Z.-X.; Newman A. H. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 7634.
22. Volker N. D. *Biol. Psychiatry* **2010**, *68*, 685.
23. German D. C.; Speciale S. G.; Manaye K. F.; Sadeq M. *J. Neural. Transm.* **1993**, *91*, 39.
24. Colantuoni C.; Schwenker J.; McCarthy J.; Rada P.; Ladenheim B.; Cadet J.-L.; Schwartz G. J.; Moran T. H.; Hoebel B. G. *Neuroreport* **2001**, *12*, 3549.
25. Ambrose L. M.; Unterwald E. M.; Van Bockstaele E. J. *Anat. Rec. Part A* **2004**, *279*, 583.
26. Rivera A.; Cuéllar B.; Girón F. J.; Grandy D. K.; de la Calle A.; Moratalla R. *J. Neurochem.* **2002**, *80*, 219.
27. Gago B.; Suárez-Boomgaard D.; Fuxe K.; Bren S.; Reina-Sánchez M. D.; Rodríguez-Pérez L. M.; Agnati L. F.; de la Calle A.; Rivera A. *Brain. Res.* **2011**, *1407*, 47.
28. Gago B.; Fuxe K.; Agnati L.; Pe Çafiel A.; de la Calle A.; Rivera A. *J. Comp. Neurol.* **2007**, *502*, 358.
29. Hagelberg N.; Kajander J. K.; Nägren K.; Hinkka S.; Hietala J.; Scheinin H. *Synapse* **2002**, *45*, 25.
30. Park Y.; Ho I. K.; Fan L. W.; Loh H. H.; Ko K. H. *Brain Res.* **2001**, *894*, 31.
31. Qian M.; Vasudevan L.; Huysentruyt J.; Risseuw M. D. P.; Stove C.; Vanderheyden P. M. L.; Van Craenenbroeck K.; Van Calenbergh S. *ChemMedChem* **2018**, *13*, 944.
32. Rice K. C. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 3135.
33. White, J. D.; Hrcniar, P.; Stappenbeck, F. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 5250.
34. Chu, S.; Münster, N.; Balan, T.; Smith, M. D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 14306.
35. The Merck Index, 13th Ed., Merck&Co., Inc., **2001**, Monograph Number: 2987
36. The Merck Index, 13th Ed., Merck&Co., Inc., **2001**, Monograph Number: 6388
37. The Merck Index, 13th Ed., Merck&Co., Inc., **2001**, Monograph Number: 6389
38. The Merck Index, 13th Ed., Merck&Co., Inc., **2001**, Monograph Number:5490
39. The Merck Index, 13th Ed., Merck&Co., Inc., **2001**, Monograph Number:7198
40. The Merck Index, 13th Ed., Merck&Co., Inc., **2001**, Monograph Number:5874
41. The Merck Index, 13th Ed., Merck&Co., Inc., **2001**, Monograph Number:5970
42. The Merck Index, 13th Ed., Merck&Co., Inc., **2001**, Monograph Number:4029
43. Labroo, R. B.; Paine, M. F.; Thummel, K. E.; Kharasch, E. D. *Drug Metab. Dispos.* **1997**, *25*, 1072.
44. Wang, H.; Li, E.Y.; Xu, G.W.; Wang, C.S.; Gong, Y.L.; Li, P. *J. Int. Med. Res.* **2009**, *37*, 1158.
45. Vučković, S.; Prostran, M.; Ivanović, M.; Ristović, Z.; Stojanović, R. *J. Pharmacol.* **2000**, *84*, 188.
46. Janssen, P. A. J. 1-Aralkyl- 4 - (N -Aryl - Carbonyl Amino) Piperidines and Related Compounds *US Patent 3,164,600*, **1965**.
47. Mićović, I. V.; Ivanović, M. D.; Piatak, D. M.; Bojić, V. D. *Synthesis* **1991**, *11*, 1043.
48. Walz, A. J.; Hsu, F.-L.; *Org. Prep. Proced. Int.* **2017**, *49*, 467.
49. Zee, S.-H.; Wang, W.-K. *J. Chin. Chem. Soc.* **1980**, *27*, 147.

50. Riley, T. N.; Hale, D. B.; Wilson, M. C. *J. Pharm. Sci.* **1973**, *62*, 983.
51. Van Bever, W. F. M.; Niemegeers, C. J. E.; Janssen, P. A. J. *J. Med. Chem.* **1974**, *17*, 1047.
52. Ivanović, M. D.; Mićović, I. V.; Vučković, S. M.; Prostran, M. Š.; Todorović, Z. M.; Kiricojević, V. D.; Đorđević, J. B.; Došen-Mićović, Lj. I. *J. Serb. Chem. Soc.* **2004**, *69*, 511.
53. Mićović, I. V.; Ivanović, M. D.; Vučković, S.; Jovanović-Mićić, D.; Beleslin, D.; Došen-Mićović, Lj.; Kiricojević, V. D. *Heterocycl. Commun.* **1998**, *4*, 171.
54. Scheunemann, M.; Hennig, L.; Funke, U.; Steinbach, J. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 3448
55. Janssen, P. A. J.; Van Daele, G. H. P. N-(4-Piperidinyl)-N-Phenylamides and Carbamates. *US Patent 3,998,834*, 1976.
56. Lalinde, N. L.; Moliterni, J.; Spencer, H. K. N-aryl-N-(1-substituted-3-alkoxy-4-piperidinyl) amides and pharmaceutical compositions and method employing such compounds. *US Patent 4 994 471*, 1991.
57. Brackeen, M. F.; Feldman, P. L. Analgesic N-phenyl-N-(3-or 1-3-Me-4-piperidinyl) amides. *US Patent 5 130 321*, 1992.
58. Feldman, P. L.; Brackeen, M. F. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4207.
59. Feldman, P. L.; James, M. K.; Brackeen, M. F.; Bilotta, J. M.; Schuster, S. V.; Lahey, A. P.; Lutz, M. W.; Johnson, M. R.; Leighton, H. J. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2202.
60. Malaquin, S.; Jida, M.; Gesquiere, J.-C.; Deprez-Poulain, R.; Deprez, B.; Laconde, G. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 2983.
61. Janssens Farm. N-phenyl-N-(4-piperidinyl) amides. *US Patent 4167574*, **1979**.
62. Huang, B.-S.; Deutsehe, K. H.; Lalinde, N. L.; Terrell, R. C.; Kudzma, L. V. N-Aryl-N-(4-Piperidinyl)amides and compositions and meods employing such compounds. *EP 0160 422*, 1985.
63. Huang, B.-S.; Terrell, R. C.; Deutsche, K. H.; Kudzm, L. V.; Lalinde, N. L. N-Aryl-N-(4-Piperidinyl)amides and pharmaceutical compositions and methods employing such compounds. *US Patent 4,584,303*, 1986.
64. Kudzma, L. V.; Severnak, S.A.; Benvenga, M. J.; Ezell, E.F.; Ossipov, M.H.; Knight, V.V.; Rudo, F. G.; Spencer, H. K.; Spaulding, T. C. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 2534.
65. Mićović, I. V.; Ivanović, M. D.; Vuckovic, S. M.; Prostran, M. Š.; Došen-Mićović, Lj.; Kiricojević, V. D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 2011.
66. Peckys, D.; Landwehrmeyer, G. B. *Neuroscience* **1999**, *88*, 1093.
67. Ravert, H.; Bencherif, B.; Madar, I.; Frost, J. *Curr. Pharm. Des.* **2004**, *10*, 759.
68. Kivell, B.; Prisinzano, T. E. *Psychopharmacology* **2010**, *210*, 109.
69. Neumeyer, J. L.; Zhang, A.; Xiong, W.; Gu, X.-H.; Hilbert, J. E.; Knapp, B.I.; Negus, S. S.; Mello, N. K.; Bidlack, J. M. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5162.
70. Zhang, B.; Zhang, T.; Sromek, A. W.; Scrimale, T.; Bidlack, J. M.; Neumeyer, J. L. *J. Med. Chem.* **2011**, *19*, 2808.
71. Abdelhamid, E. E.; Sultana, M.; Portoghese, P. S.; Takemori, A. E. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1991**, *258*, 299.
72. kest, B.; Lee, C. E.; McLemore, G. L.; Inturrisi, C. E. *Brain Res.Bull.* **1996**, *39*, 185.
73. Zhu, Y.; King, M. A.; Schuller, A. G.; Nitsche, J. F.; Reidl, M.; Elde, R. P.; Unterwald, E.; Pasternak, G. W.; Pintar, J. E. *Neuron* **1999**, *24*, 243.

74. Nitsche, J. F.; Schuller, A. G.; King, M. A.; Zengh, M.; Pasternak, G. W.; Pintar, J. E. *J. Neurosci.* **2002**, *22*, 10906.
75. Gomes, I.; Gupta, A.; Filipovska, J.; Szeto, H. H.; Pintar, J. E.; Devi, L. A. "A role for heterodimerization of μ and δ opiate receptors in enhancing morphine analgesia," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 101, no. 14, pp. 5135–5139, **2004**.
76. Gomes, I.; Jordan, B. A.; Gupta, A.; Trapaidze, N.; Nagy, V.; Devi, L. A. *J. Neurosci.* **2000**, *20*, 110.
77. Cichewicz, D. L.; Martin, Z. L.; Smith, F. L.; Welch, S. P. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1999**, *289*, 859.
78. Trang, T.; Sutak, M.; Jhamandas, K. *Neuroscience* **2007**, *146*, 1275.
79. Castane, A.; Robledo, P.; Matifas, A.; Kieffer, B. L.; Maldonado, R. *Eur. J. Neurosci.* **2003**, *17*, 155.
80. Hojo, M.; Sudo, Y.; Ando, Y.; Minami, K.; Takada, M.; Matsubara, T.; Kanaide, M.; Taniyama, K.; Sumikawa, K.; Uezono, Y. *J. Pharmacol. Sci.* **2008**, *108*, 308.
81. Rios, C.; Gomes, I.; Devi, L. A. *Br. J. Pharmacol.* **2006**, *148*, 387.
82. Guo, Y.; Wang, H. L.; Xiang, X. H.; Zhao, Y. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2009**, *33*, 864.
83. Parsadaniantz, S. M.; Rivat, C.; Rostene, W.; Goazigo, A. R.-L. *Nat. Rev. Neurosci.* **2015**, *16*, 69.
84. Hutchinson, M. R.; Shavit, Y.; Grace, P. M.; Rice, K. C.; Maier, S. F.; Watkins, L. R. *Pharmacol. Rev.* **2011**, *63*, 772.
85. Schwarz, J. M.; Hutchinson, M. R.; Bilbo, S. D. *J. Neurosci.* **2011**, *31*, 17835.
86. Milligan, E. D.; Watkins, L. R. *Nat. Rev. Neurosci.* **2009**, *10*, 23.
87. Patel, S.; Hamill, T. G.; Connolly, B.; Jagoda, E.; Raymond, W. L.; Gibson, E. *Nucl. Med. Biol.* **2007**, *34*, 1009.
88. Schröder, H.; Wu, D. F.; Seifert, A.; Rankovic, M.; Schulz, S.; Höllt, V.; Koch, T. *Neuropharmacology* **2009**, *56*, 768.
89. Suzuki, S.; Chuang, L. F.; Yau, P.; Doi, R. H.; Chuang, R. Y. *Exp. Cell Res.* **2002**, *280*, 192.
90. Chen, C.; Li, J.; Bot, G.; Szabo, I.; Rogers, T. J.; Liu-Chen, L.-Y. *Eur. J. Pharmacol.* **2004**, *483*, 175.
91. Jevtić, I. I.; Došen-Mićović, Lj.; Ivanović, E.; Ivanović, M. D. *Synthesis*, **2016**, *48*, 1550.
92. Jevtić, I. I.; Došen-Mićović, Lj.; Ivanović, E. R.; Todorović, N. M.; Ivanović, M. D.; *Synthesis* **2017**, *49*, 3126.
93. Popović-Djordjević, J.; Stepanović, S.; Došen-Mićović, Lj.; Ivanović, E.; Ivanović, M. D. *Green Chem. Lett. Rev.* **2016**, *9*, 61.
94. Kiss, L.; Kazi, B.; Forró, E.; Fülöp, F. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 339–342.
95. Kiss, L.; Fülöp, F. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 1116.
96. Würdemann, M.; Christoffers, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 7421.
97. Olofson, R. A.; Abbott, D. E. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 2795.
98. Deekonda, S.; Wugalter, L.; Kulkarni, V.; Rankin, D.; Largent-Milnes, T. M.; Davis, P.; Bassirrad, N. M.; Lai, J. T.; Vanderah, W.; Porreca, F.; Hruby, V. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 6185.
99. Bull, S. D.; Davies, S. G.; Fenton, G.; Mulvaney, A. W.; Prasad, R. S.; Smith, A. D. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 2000, 3765.
100. Zhang, Y.; Zhang, K.; Zhao, M.; Zhang, L.; Qin, M.; Guo, S.; Zhao, Y.; Gong, P. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 4591.

101. Wuts, G. M.; Greene T. W. in *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, **2006**, Chapter 7.
102. Mićović, I.V.; Ivanović, M.D.; Vučković, S.; Jovanović-Mićić, D.; Beleslin, D.; Došen-Mićović, Lj.; Kiricojević, V.D. *Heterocycl. Commun.* **1998**, *4*, 171.
103. El-Faham, A.; Albericio, F. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6557.
104. Giubellina, N.; Stabile, P.; Laval, G.; Perboni, A.D.; Cimarosti, Z.; Westerduin, P.; Cooke, J. W. B. *Org. Process Res. Dev.* **2010**, *14*, 859.
105. Abrecht, S.; Adam, J.-M.; Bromberger, U.; Diodone, R.; Fettes, A.; Fischer, R.; Goeckel, V.; Hildbrand, S.; Moine, G.; Weber, M. *Org. Process Res. Dev.* **2011**, *15*, 503.
106. Ramirez, A.; Mudryk, B.; Rossano, L.; Tummala, S. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 775.
107. Krynitsky, J. A.; Carhart, H. W. *Org. Synth. Coll. Vol.* **1963**, *4*, 436.
108. Goldstein, H.; Voegeli, R., *Helv. Chim. Acta* **1943**, *26*, 1125.
109. Thurman, J. C. *Chem. Ind.* **1964**, 752.
110. Corson, B. B.; Scott, R. W.; Vose, C. E. *Org. Synth.* **1930**, *10*, 66.
111. Ding, R.; Liu, Y.; Han, M.; Jiao, W.; Li, J.; Tian, H.; Sun, B. *J. Org. Chem.*, **2018**, *83*, 12939.
112. Shipilovskikh, S. A.; Vaganov, V. Yu.; Denisova, E. I.; Rubtsov, A. E.; Malkov, A. V. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 728.
113. Huang, X.; Keillor, J. W. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 313.
114. Keillor, J. W.; Huang, X. *Org. Synth.* **2002**, *78*, 234;
115. Hakogi, T.; Monden, Y.; Iwama, S.; Katsumura, S. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2627.
116. Yoshimura, A.; Luedtke, M. W.; Zhdankin, V. V. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 2087.
117. Kimishima, A.; Umihara, H.; Mizoguchi, A.; Yokoshima, S.; Fukuyama, T. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 6244.
118. Abrecht, S.; Adam, J.; Bromberger, U.; Diodone, R.; Fettes, A.; Fischer, R.; Goeckel, V.; Hildbrand, S.; Moine, G.; Weber, M. *Org. Process Res. Dev.* **2011**, *15*, 503.
119. Aubé, J.; Fehl, C.; Liu, R.; McLeod, M. C.; Motiwala, H.F. Hofmann, Curtius, Schmidt, Lossen, and Related Reactions. *Comp. Org. Synth.* (2nd Ed.); Knochel, P.; Molander, G. A., Ed.; Elsevier, **2014**; Vol. 6, p 598.
120. M. Bruncko; G. Schlingloff; K. B. Sharpless. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 1483.
121. D. M. Coltart. *Tetrahedron* **56** (2000) 3449.
122. Kramer, U.; Guggisberg, A.; Hesse, M.; Schmid, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1977**, *16*, 861.
123. Beshore, D. C.; Dinsmore, C. J. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1201.
124. Petrov, A. A.; Pakal'nis, V. V.; Zerov, A. V.; Yakimovich, S. I. *Russ. J. Org. Chem.* **2017**, *53*, 381.
125. Méndez, L. Y. V.; Kouznetsov, V. V. *Cent. Eur. J. Chem.* **2011**, *9*, 877.
126. Verho, O.; Lati, M. P.; Oschmann, M. *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 4464.
127. Doll, M. K.-H.; Guggisberg, A.; Hesse, M. *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 541.
128. Colapret, J. A.; Diamantidis, G.; Spencer, H. K.; Spaulding, T. C.; Rudog, F. G. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 968.

129. Chen, W.-Q.; Ma, J.-A. "Stabilized Nucleophiles with Electron Deficient Alkenes, Alkynes, Allenes" *Comprehensive Organic Synthesis* 2nd Ed, ed. P. Knochel, G. A. Molander. Elsevier, New York, **2014**, 4, p. 1.
130. Ivanović, M. D. Doktorska disertacija "Sinteze Analoga Fentanila", Hemijski Fakultet, Univerziteta u Beogradu, 1998.
131. Sheehan, J. C.; Yang, D. D. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, 80, 1154.
132. Suchy, M.; Elmehriki, A. A. H.; Hudson, R. H. E. *Org. Lett.* **2011**, 13, 3952.
133. Kotha, S.; Behera, M.; Khedkar, P. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 758.
134. Jackson, A.; Meth-Cohn, O. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 1319.
135. Chen, B.-C.; Bednarz, M. S.; Zhao, R.; Sundeen, J. E.; Chen, P.; Shen, Z.; Skoumbourdis, A. P.; Barrish, J. C. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 5453.
136. Kobayashi, K.; Nagato, S.; Kawakita, M.; Morikawa, O.; Konishi, H. *Chem. Lett.* **1995**, 575–576.
137. Kakehi, A.; Ito, S.; Hayashi, S.; Fujii, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1995**, 68, 3573.
138. Downie, I. M.; Earle, M. J.; Heaney, H.; Shuhaibar, K. F. *Tetrahedron* **1993**, 49, 4015.
139. Kobayashi, S.; Nishio, K. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 6620.
140. Kobayashi, S.; Yasuda, M.; Hachiya, I. *Chem. Lett.* **1996**, 407.
141. Iseki, K.; Mizuno, S.; Kuroki, Y.; Kobayashi, Y. *Tetrahedron* **1999**, 55, 977.
142. Kraus, N. A. *Synthesis* **1973**, 361.
143. Kizuka, H.; Elmaleh, D. R. *Nucl. Med. Biol.* **1993**, 20, 239.
144. Gerack, C. J.; McElwee-White, L. *Molecules* **2014**, 19, 7689.
145. Reddy, P. G.; Kumar, G. D. K.; Baskaran, S. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 9149.
146. Ohshima, T.; Hayashi, Y.; Agura, K.; Fujii, Y.; Yoshiyama, A.; Mashima, K. *Chem. Commun.* **2012**, 48, 5434.
147. Lei, M.; Ma, L.; Hu, L. *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 4186.
148. Suchy, M.; Elmehriki, A. A. H.; Hudson, R. H. E. *Org. Lett.* **2011**, 13, 3952.
149. Olah, G. A.; Ohannesian, L.; Arvanaghi, M. *Chem. Rev.* **1987**, 87, 671.
150. Yale, H. L. *J. Org. Chem.* **1971**, 36, 3238.
151. Kisfaludy, L.; Laszlo, O. *Synthesis* **1987**, 510.
152. Duzek, W.; Deutsch, J.; Vieth, S.; Niclas, H. J. *Synthesis* **1996**, 37.
153. Firouzabadi, H.; Iranpoor, N.; Farahi, S. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2008**, 289, 61.
154. Niknam, K.; Saberi, D. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 5210.
155. Blackburn, G. M.; Jencks, W. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, 90, 2638.
156. Price, K. E.; Larrive'e-Aboussafy, C.; Lillie, B. M.; McLaughlin, R. W.; Mustakis, J.; Hettenbach, K. W.; Hawkins, J. M.; Vaidyanathan, R. *Org. Lett.* **2009**, 1, 2003.
157. Shieh, W.-C.; Dell, S.; Repic, O. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 2188.
158. Joseph, S.; Das, P.; Srivastava, B.; Nizar, H.; Prasad, M. *Tetrahedron Lett.* **2013**, 54, 929.

159. Jevtić, I. I.; Penjišević, J. Z.; Ivanović, M. D.; Kostić-Rajačić, S. V. *J. Serb. Chem. Soc.* **2019**, *84*, 639.
160. Jevtić, I. I.; Penjišević, J. Z.; Savić-Vujović, K. R.; Srebro, D. P.; Vučković, S. M.; Ivanović, M. D.; Kostić-Rajačić, S. V. *J. Serb. Chem. Soc.* **2019** <https://doi.org/10.2298/JSC190912118J>
161. Andrić, D.; Roglić, G.; Šukalović, V.; Šoškić, V.; Kostić-Rajačić, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1696.
162. Penjišević J.; Šukalović V.; Andrić D.; Kostić-Rajačić S.; Šoškić V.; Roglić G. *Archiv Der Pharmazie*, **2007**, *340*, 456.
163. Šukalović V.; Bogdan A. E.; Tovilović G.; Ignjatović Đ.; Andrić D.; Šoškić V.; Kostić-Rajačić S. *Archiv Der Pharmazie*, **2013**, *346*, 708.
164. Gates, M.; Tschudi, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1952** *74*, 1109.
165. Hu, L.-Y.; Ryder, T. R.; Rafferty, M. F.; Taylor, C. P.; Rose Feng, M.; Kuo, B.-S.; Lotarski, S. M.; Miljanich, G. P.; Millerman, E.; Siebers, M.; Szoke, B. G. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 1203.
166. W. F. Van Bever, C. J. Niemegeers, K. H. Schellekens, P. A Janssen, *Arzneimittelforschung* **1976**, *26*, 1548-1551.
167. A. F. Casy and R. T. Parfitt in *The Opioid Analgesics, Chemistry and Receptors*, Plenum Press, New York, 1986.
168. A. F. Casy, F. O. Ogungbamil, *J. Pharm. Pharmacol.* 1982, *34*, 210.
169. S. Vučković, M. Prostran, M. Ivanović, Lj. Došen-Mićović, Z. Todorović, Z. Nešić, R. Stojanović, N. Divac, Z. Miković, *Curr. Med. Chem.* **2009**, *16*, 2468-2474.
170. Vučković, S.; Prostran, M.; Ivanović, M.; Ristović, Z.; Stojanović, R. *Jpn. J. Pharmacol.* **2000** *84*, 188.
171. G. M. Pitcher, J. L. Henry, *Eur. J. Neurosci.* 2002, *15*, 1509-1515.
172. K. Vissers, V. Hoffmann, F. Geenen, R. Biermans, T. Meert, *Pain Pract.* 2003, *3*, 298-309.
173. T. F. Meert, H. A. Vermeirsch, *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2005**, *80*, 309-326.
174. S. Vučković K. Savić-Vujović, M. Ivanović, Lj. Došen-Mićović, Z. Todorović, Č. Vučetić, M. Prostran, M. Prostran, *Acta veterinaria*, **2012**, *62*, 3-15.
175. Manglik, A.; Kruse, A. C.; Kobilka, T. S.; Thian, F. S.; Mathiesen, J. M.; Sunahara, R. K.; Pardo, L.; Weis, W. I.; Kobilka, B. K.; Granier, S. *Nature* **2012**, *485*, 321.
176. Huang, W.; Manglik, A.; Venkatakrishnan, A. J.; Laeremans, T.; Feinberg, E. N.; Sanborn, A. L.; Kato, H. E.; Livingston, K. E.; Thorsen, T. S.; Kling, R.; Granier, S.; Gmeiner, P.; Husbands, S. M.; Traynor, J. R.; Weis, W.I.; Steyaert, J.; Dror, R. O.; Kobilka, B. K. *Nature* **2015**, *524*, 315.
177. Koeh, A.; Hu, H.; Maeda, S.; Zhang, Y.; Qu, Q.; Paggi, J. M.; Latorracal, N. R.; Hilger, D.; Dawson, R.; Matile, H.; Schertler, G. F. X.; Granier, S.; Weis, W. I.; Dror, R.O.; Manglik, A.; Skiniotis, G.; Kobilka, B. K. *Nature* **2018**, *558*, 547.
178. <https://www.rcsb.org/>
179. Ellis, C. R.; Kruhlak, N.L.; Kim, M. T.; Hawkins, E. G.; Stavitskay, L. *PLoS One* **2018**, *13*, 1.
180. Lipiński, P. F. J.; Kosson, P.; Matalińska, J.; Roszkowski, P.; Czarnocki, Z.; Jarończyk, M.; Misicka, A.; Dobrowolski, J. Cz.; Sadlej, J. *Molecules* **2019**, *24*, 740.

181. Wang, S.; Che, T.; Levit, A.; Shoichet, B. K.; Wacker, D.; Roth, B. L.; *Nature* **2018**, *555*, 269.
182. Penjišević, J. Z.; Andrić, D. B.; Šukalović, V. B.; Roglić, G. M.; Šoškić, V.; Kostić-Rajačić, S. *V. J. Serb. Chem. Soc.* **2018**, *83*, 1.
183. Harwood, L. M.; *Aldrichimica Acta* **1985**, *18*, 25.
184. Furniss, B. S.; Hannaford, A. J.; Smith, P. W. G.; Tatchell, A. R. *Vogel's textbook of practical organic chemistry, 5th ed.* John Wiley & Sons, New York, 1989.
185. Markwell, M. A. K.; Haas, S. M.; Bieber, L. L.; Tolbert, N.; *Analytical Biochemistry*, **1978**, *87*, 206.
186. GraphPad Prism, GraphPad Software (<http://www.graph-pad.com>)
187. K. S. Vujović, S. Vučković, D. Vasović, B. Medić, N. Knežević, M. Prostran, *Acta Neurobiol. Exp. (Wars)*. 2017, *77*, 137-146.
188. Tallarida, R. J.; Murray, R. B. *Manual of pharmacologic calculations with computer programs*. 2nd Ed. Springer-Verlag: New York, 1986.
189. D. Dubuisson, S. G. Dennis, *Pain* **1977**, *4*, 161-174.
190. UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. Pettersen, E. F., Goddard, T. D.; Huang, C. C.; Couch, G. S.; Greenblatt, D. M.; Meng, E. C.; Ferrin, T. E. *J Comput Chem.* **2004** *13*, 1605.
191. Trott, O.; Olson, A. J. *J. Comp. Chem.* **2010**, *31*, 455.
192. Soskic, V.; Sukalovic, V.; Kostic-Rajacic, S. *Mini Rev. Med. Chem.* **2015**, *15*, 988.
193. http://www.cambridgesoft.com/Ensemble_for_Chemistry/details/Default.aspx?fid=16
194. Dassault Systèmes BIOVIA, [Discovery Studio Visualizer], [17.2.0.16349], San Diego: Dassault Systèmes, **2016**. (<https://www.3dsbiovia.com/products/collaborative-science/biovia-discovery-studio/visualization-download.php>)

