

**Univerzita Karlova v Praze**

**Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**

**Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv**



**Syntéza a biologické hodnocení nových  
takrin-tryptofanových derivátů**

**Diplomová práce**

Školitel: doc. RNDr. Veronika Opletalová, Ph.D.

Konzultant: PharmDr. Jan Korábečný, Ph.D.

Hradec Králové 2016

Michaela Jarošová

## Prohlášení:

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové

Michaela Jarošová

**Práce byla vytvořena s podporou SVV 260 291.**

## **Poděkování:**

Děkuji své školitelce doc. RNDr. Veronice Opletalové, Ph.D., svému konzultantovi PharmDr. Janu Korábečnému, Ph.D. a Mgr. Kataríně Špilovské za odborné vedení, ochotný přístup a trpělivost, kterou mi věnovali během zpracování mé diplomové práce.

Děkuji také PharmDr. Jiřímu Kunešovi, CSc. a Mgr. Anně Horové za pomoc při analytickém a biologickém hodnocení.

# Abstrakt

**Univerzita Karlova v Praze**

**Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**

**Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv**

Student: **Michaela Jarošová**

Školitel: **doc. RNDr. Veronika Opletalová, Ph.D.**

Konzultant: **PharmDr. Jan Korábečný, Ph.D.**

Název diplomové práce: **Studium a biologické hodnocení nových  
takrin-tryptofanových derivátů**

Alzheimerova nemoc (AD) je chronické neurodegenerativní onemocnění s charakteristickými histopatologickými změnami mozku. Je nejčastější příčinou demence. V současnosti žije jen v Evropě asi 7.4 milionů lidí postižených touto chorobou. V souvislosti se stárnutím populace lze v následujících letech očekávat jejich nárůst. Za poškozením nervové tkáně stojí agregovaný  $\beta$ -amyloid ( $A\beta$ ), který narušuje neurony tvorbou gliového lemu s následnými zánětlivými procesy. Hyperfosforylovaný  $\tau$ -protein působí intracelulární poškození neuronů formováním tzv. neurofibrillary tangles (klubek). To vede k makroskopicky patrné atrofii mozku a úbytku neuronů.

Současná farmakoterapie AD je založena na ovlivnění centrálního cholinergního systému. Za tímto účelem se využívají inhibitory acetylcholinesterasy (AChEIs) – rivastigmin, donepezil a galantamin. Pro terapii středně těžkých až těžkých stádií AD byl schválen antagonist *N*-methyl-D-aspartátových receptorů (NMDA) – memantin. Tato léčiva sice zmírňují projevy nemoci, ale nezabraňují její progresi.

Cílem předkládané diplomové práce bylo připravit nové hybridní sloučeniny, které budou schopné současně ovlivňovat více patologických procesů onemocnění najednou. Za tímto účelem byly vyvinuty takrin-tryptofanové deriváty. Jedná se o novou řadu heterodimerů, které představují nový, v posledních letech intenzivně zkoumaný, přístup k léčbě AD v podobě tzv. multipotentních léčiv (MTDLs).

# Abstract

**Charles University in Prague**

**Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove**

**Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control**

Student: **Michaela Jarošová**

Supervisor: **Assoc. Prof. RNDr. Veronika Opletalová, Ph.D.**

Consultant: **PharmDr. Jan Korábečný, Ph.D.**

Title of thesis: **Study and biological evaluation of new tacrine-tryptophan derivatives**

Alzheimer's disease (AD) is a chronic neurodegenerative disease with characteristic histopathological changes in the brain. It is the most common cause of dementia. There is about 7.4 million people affected by AD in Europe today. In connection with aging of the population a significant increase of patients affected by the disease can be expected in the coming years.

The cause of neural tissue damage is aggregated amyloid  $\beta$  ( $A\beta$ ), which disrupts neurons by creating glial hem with consequent inflammatory processes. Hyperphosphorylated  $\tau$ -protein causes neuronal damage intracellularly by forming so-called neurofibrillary tangles. This leads to macroscopically visible brain atrophy and loss of neurons.

Current AD pharmacotherapy is based on influencing the cholinergic system. Acetylcholinesterase inhibitors (AChEIs) - rivastigmine, donepezil and galanthamine are used for this purpose. Memantine, antagonist of *N*-methyl-D-aspartate receptors (NMDA) has been approved for the treatment of moderate to severe stages of AD. These drugs alleviate the symptoms of the disease but do not prevent its progression.

The aim of this thesis was to prepare compounds that are able to simultaneously affect multiple pathological processes of the disease. For this purpose derivatives of tacrine-tryptophan have been developed. This is a new series of heterodimers that represent new, in recent years intensively researched, approach to the treatment of AD in the form of so-called multi-target-directed ligands (MTDLs).

# OBSAH

SEZNAM ZKRATEK .....	8
1 ÚVOD.....	11
2 TEORETICKÁ ČÁST .....	12
2.1 Počátky výzkumu .....	12
2.2 Symptomy .....	12
2.3 Diagnostika .....	13
2.4 Prevalence .....	14
2.5 Rizikové faktory.....	15
2.6 Protektivní faktory .....	15
2.7 Patofyziologie .....	15
2.7.1 Amyloidní kaskáda v patogenezi AD.....	16
2.7.2 Neurofibrilární klubka.....	17
2.7.3 Cholinergní hypotéza .....	17
2.7.4 Glutamátergní hypotéza .....	19
2.8 Farmakoterapie AD.....	19
2.8.1 Inhibitory acetylcholinesterasy.....	20
2.8.2 Memantin - antagonist NMDA receptorů.....	22
2.8.3 Další léčiva .....	23
2.9 Multipotentní léčiva (MTDLs) .....	23
2.9.1 Takrin-melatoninové deriváty .....	24
2.9.2 Naftochinon-tryptofanové deriváty.....	25

2.9.3	Takrin-naftochinonové deriváty .....	26
2.9.4	Takrin-troloxové deriváty .....	27
2.9.5	7-MEOTA-donepezilové deriváty.....	27
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	29
3.1	Syntéza.....	29
3.1.1	Schéma syntézy a obecná syntetická část .....	29
3.1.2	Syntéza <i>terc</i> -butyl-[3-(1 <i>H</i> -indol-3-yl)-1-({[(1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]alkyl}amino)-1-oxopropan-2-yl]- karbamátových derivátů(27–47).....	35
3.1.3	Obecný postup pro syntézu takrin-tryptofanových derivátů (48–68).....	35
3.2	Biologické testování.....	78
3.2.1	Princip a postup měření.....	78
3.2.2	Výsledky měření.....	79
4	DISKUZE .....	80
5	ZÁVĚR .....	82
6	SEZNAM CITOVANÝCH ZDROJŮ .....	83

## SEZNAM ZKRATEK

7-MEOTA	7-methoxytakrin
acetyl-CoA	acetyl-koenzym A
AD	Alzheimerova nemoc
ADI	Alzheimer's Disease International
ACh	acetylcholin
AChEI	inhibitor acetylcholinesterasy
ApoE $\epsilon$ 4	alela $\epsilon$ 4 apolipoproteinu E
APP	prekurzor amyloidního proteinu
A $\beta$	beta amyloid
A $\beta$ <sub>40</sub>	beta amyloid tvořený 40 aminokyselinami
A $\beta$ <sub>42</sub>	beta amyloid tvořený 42 aminokyselinami
BACE-1	beta-sekretasa
BCh	butyrylcholin
BChE	butyrylcholinesterasa
BChEI	inhibitor butyrylcholinesterasy
Boc <sub>2</sub> O	di- <i>terc</i> -butyl-dikarbonát
BOP	(benzotriazol-1-yloxy)tris(dimethylamino)fosforium-hexafluorofosfát
CAS	katalytické anionické místo
CNS	centrální nervová soustava
DMF	dimethylformamid



DTNB	5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoová kyselina
EOAD	Early-onset Alzheimer's disease
GSK3	glykogensynthasa 3
<i>hAChE</i>	lidská acetylcholinesterasa
<i>hBChE</i>	lidská butyrylcholinesterasa
ChAT	cholinacetyltransferasa
ChE	cholinesterasa
ChEI	inhibitor cholinesteras
IC <sub>50</sub>	koncentrace sloučeniny, která sníží aktivitu enzymu na polovinu původní hodnoty
IMAO-B	inhibitor monoaminoxidasy B
LOAD	late onset Alzheimer's disease
MeOH	methanol
MTDLs	multi-target-directed ligands
NFTs	neurofibrilární klubka
NINCDS-ADRA	National Institute of Neurological and Communicative Disorders – Alzheimer's Disease and Related Dementias Association
NMDA	<i>N</i> -methyl-D-aspartát
NMR	nukleární magnetická rezonance
PAS	periferní aniontové místo
PHFs	zdvojená helikální vlákna
PPAR $\alpha$	peroxisome proliferator activated receptor $\alpha$

PSEN1	presenilin 1
PSEN2	presenilin 2
p-TSA	kyselina <i>p</i> -toluensulfonová
ROS	reaktivní kyslíkové formy
RT	laboratorní teplota
sAPP $\alpha$	solubilní protein vzniklý po rozštěpení APP $\alpha$ -sekretasou
SFs	přímá vlákna
THA	takrin
TLC	tenkovrstvá chromatografie
TMS	tetramethylsilan
VAcHT	vesikulární acetylcholinový přenašeč
WHO	Světová zdravotnická organizace

# 1 ÚVOD

Alzheimerova nemoc (AD) je považována za nejčastější příčinu demence. Představuje asi 60 % všech demencí.<sup>1</sup> Jedná se o neléčitelné progresivní neurodegenerativní onemocnění centrálního nervového systému (CNS). Projevuje se postupně zhoršujícími se poruchami paměti a vštěpování, intelektu, orientace, ztrátou schopnosti abstraktního myšlení, emotivity a udržení pozornosti. Lidé s touto nemocí pozbývají soběstačnosti a pokročilá stádia vedou ke smrti pacientů. Nemoc se vyznačuje charakteristickými cerebrálními lézemi – extracelulárními senilními plaky, které se skládají z  $\beta$ -amyloidu (A $\beta$ ) a intracelulárními neurofibrilárními klubky.<sup>2</sup> Zejména v hipokampu dochází k odumírání neuronů.

Původ choroby není dosud zcela objasněn. Hypotéz o vzniku onemocnění je celá řada. Nejznámější z nich jsou cholinergní, amyloidní a glutamátergní hypotéza, teorie oxidačního poškození a teorie hyperfosforylovaného proteinu  $\tau$ .<sup>3</sup> Hledání efektivní léčby či prevence komplikuje fakt, že AD je nemoc multifaktoriálního původu.

V současnosti dostupná farmakoterapie AD je symptomatická. Účinnost je prokázána při léčbě donepezilem, rivastigminem, galantaminem a memantinem. První tři jmenovaná léčiva působí jako centrální cholinergika, inhibují enzymy odbourávající acetylcholin (ACh). Jedná se o inhibitory acetyl- a butyrylcholinesterasy (AChEIs a BChEIs).<sup>4</sup> Používají se pro zpomalení ztráty paměti, ale nedokáží zabránit neurodegeneraci. Obdobně účinný je také memantin – antagonist *N*-methyl-D-aspartátových receptorů (NMDA), který se používá ve středně těžkých a těžkých stádiích AD.<sup>5</sup> Zmíněná léčiva tedy představují pro pacienty nekomplexní a přechodné řešení. Kandidáty pro novou farmakoterapii jsou, mimo jiné, molekuly navržené tak, aby účinně kombinovaly neuroprotektivní účinek s pozitivním ovlivněním patobiochemických procesů. Od těchto multipotentních molekul se očekává nejen vyšší symptomatologická aktivita, ale také možnost efektivně zamezit rozvoji nemoci na molekulární úrovni.<sup>6</sup>

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Počátky výzkumu

Objev AD je připisován lékaři německého původu, A. Alzheimerovi. S případem Augusty Deter se poprvé setkal 25. listopadu 1901 v ordinaci městského sanatoria pro duševně choré a epileptiky ve Frankfurtu nad Mohanem. Tato jednapadesátiletá pacientka, navzdory svému poměrně mladému věku, působila dezorientovaně, zmateně, náladově a na jednoduché otázky odpovídala slovy, která neměla k položeným dotazům žádný vztah.

A. Deter zemřela v dubnu roku 1906. Alzheimer v této době již působil na Královské psychiatrické klinice v Mnichově, která byla tehdy věhlasným pracovištěm kapacit německé psychiatrie. Pustil se do studia lékařských spisů a zkoumání mozku zemřelé. Ze záznamů bylo patrné, že duševní stav paní Deter se v posledních letech rapidně zhoršoval. Posmrtným mikroskopickým vyšetřením mozkové tkáně byly, kromě atrofie mozkové kůry charakteristické pro starší pacienty, nalezeny další abnormality. Bílkovinné usazeniny – do té doby neznámé amyloidní plaky a neurofibrilární klubka, která způsobují změny v cytoskeletu nervových buněk.

Na začátku listopadu 1906 Alzheimer prezentoval příběh zemřelé A. Deter a nálezy spojené s její chorobou před neurology a psychiatry na sympoziu v Tübingenu.

Následujícího roku došlo k publikaci jeho článku, ve kterém upozorňuje na formu senilní demence u osoby překvapivě nízkého věku. Předpokládá, že jde o typ demence, který se může vyskytovat u mladších lidí. Úpadek kognitivních funkcí u osob mladších 65 let je tedy oprávněně označován jako presenilní demence Alzheimerova typu. V současné době se však i senilní demence nazývá AD. Obě formy jsou si jak strukturálně, tak klinicky blízké. Kromě odlišného věku nemocných se však časná forma demence objevuje především familiárně, naproti tomu se pozdní forma vyskytuje bez zjevné příčiny.<sup>7</sup>

### 2.2 Symptomy

Nástup AD bývá velmi nenápadný a pozvolný. Lehké stádium se vyznačuje poruchami paměti a zejména časovou i prostorovou zmateností. Pacienti se začínají ztrácet na místech, která dříve dobře poznávali. Postupně dochází k omezení ve výkonu běžných

denních aktivit. Ztrácí se profesní znalosti a dovednosti i schopnost logického uvažování. Přestávají se starat o domácnost i o sebe. Ve středním stádiu dochází ke stupňování poruch paměti. Pacienti nejsou schopni si zapamatovat jednoduchou informaci, na stejnou věc se ptají několikrát po sobě v krátkém časovém odstupu, vytrácí se plynulost řeči, nemocní hledají slova a nevybavují si jejich význam. Přestávají poznávat své blízké. Často jsou dezorientovaní a vždy odkázáni na pomoc druhých. Obvykle se přidružují afektivní poruchy, poruchy spánku a vnímání cirkadiálních rytmů. Při těžkém stádiu dochází ke stupňování jmenovaných problémů. Vyskytnout se mohou halucinace, úzkost a deprese. Celý příběh končí po různě dlouhé době smrtí.<sup>8,9</sup>

## 2.3 Diagnostika

Včasná diagnostika AD je velmi důležitá. Pokud je nemoc léčena již v jejím počátku, je možné prodloužit dobu trvání jejích lehčích stádií a naopak odložit nástup stádií těžších. To má veliký vliv na kvalitu pacientova života a jeho prognózu v několika nejbližších letech.<sup>10</sup>

AD se projevuje charakteristickým plíživým rozvojem příznaků. Jejich rozlišení od příznaků normálního stárnutí nemusí být zpočátku zřejmé. Prvními známkami nástupu preklinického stádia nemoci bývají typicky poruchy recentní epizodické paměti. Délka trvání tohoto stádia není jasná, zdroje většinou uvádějí trvání nejméně několika let.<sup>11</sup> Klinická kritéria pro diagnózu AD zahrnují pomalý nástup a postupné zhoršování se paměti a jiných kognitivních funkcí.<sup>12</sup>

Diagnostika kognitivních poruch není snadná. Většinou vše začíná návštěvou praktického lékaře, který stanoví anamnézu a provede řadu neurologických testů.

V roce 2011 byla vydána nová diagnostická kritéria AD pro demenci při AD i pro její časná stádia. Mají nalézt využití jak v klinické praxi, tak i ve výzkumu. Vycházejí z diagnostických kritérií NINCDS-ADRA (National Institute of Neurological and Communicative Disorders – Alzheimer's Disease and Related Dementias Association), které vypracoval Mc. Kahn a spol. už v roce 1984. Fungují na základě hodnocení kognitivních funkcí. Pro pokrok ve studiu i klinické praxi AD byla tato kritéria doplněna o nová, vypracovaná vědeckou skupinou prof. Dubiose roku 2007.<sup>13</sup> Tato nová kritéria

jsou založená na zkoumání proteinového tripletu a některých dalších, moderních metodách.

## 2.4 Prevalence

Dle Světové zprávy Alzheimer 2015 vydané Alzheimer's Disease International (ADI) trpí demencí 7.4 milionů Evropanů. Na předních místech, s počty postižených přesahujícími milion obyvatel, stojí Německo, Francie a Itálie. V České republice žije v současné době asi 150 tisíc nemocných.

Celosvětový výskyt AD se dohaduje téměř na 50 milionů lidí. Podle odhadů ADI se prevalence demence v jednotlivých regionech u lidí starších 60 let nachází v rozmezí od 4.6 % v zemích střední Evropy, do 8.7 % v Severní Americe a v zemích Středního východu. V ostatních oblastech se pohybuje mezi 5.6 % a 7.6 %.<sup>14</sup>

Vzhledem k demografickému vývoji, který je dán rostoucí průměrnou délkou života a vyšším podílem starých lidí v populaci, je předpokládán globální nárůst počtu osob postižených demencí. Alzheimerova choroba přitom tvoří na celkovém počtu demencí asi sedmdesátiprocentní podíl.<sup>15</sup>

Incidence demence exponenciálně roste se zvyšujícím se věkem. Každých 6.3 roku věku se zdvojnásobuje. U lidí ve věku 60-64 let připadá každý rok na 1000 osob 3.9 nových případů. U osob starších 90 let je to na 1000 osob 104.8 případů ročně.<sup>14</sup>

Na vážnost problematiky narůstajícího výskytu demence upozorňuje například Světová zdravotnická organizace (WHO), která ve spolupráci s ADI vydala v roce 2012 zprávu, která nese název „Dementia, prioritní pro systém zdravotnictví“ („Dementia: A public health priority“). V ní se podrobně zabývá socioekonomickou stránkou onemocnění v globálním kontextu. Má přispět k tomu, aby zdravotní a sociální systémy jednotlivých zemí byly připraveny na očekávaný rychlý nárůst prevalence AD a na zdravotní, sociální i ekonomické dopady této nemoci. WHO doporučuje zaměřit na demenci zdravotní politiku i výzkum.

## 2.5 Rizikové faktory

AD je komplexní multifaktoriální onemocnění. Na jejím vzniku a následné progresi se podílejí různou mírou ovlivnitelné i neovlivnitelné rizikové faktory. Dominující roli hraje podle současných poznatků věk. Nástup AD před šedesátým pátým rokem života (EOAD – Early-onset AD) se vyskytuje v 1–5 %. Z 95 % se tedy AD vyskytuje po překročení této věkové hranice (LOAD – Late-onset AD). EOAD je spojena většinou s velmi rychlou progresí a dědičnou mutací v genech kódujících prekursor amyloidního proteinu (APP), apolipoproteinu E (APOE $\epsilon$ 4) a presenilinu 1 a 2 (PSEN1, PSEN2).<sup>16</sup> Rozvoj demence a AD jde stejně jako rozvoj mnoha dalších vážných chorob ruku v ruce s životním stylem a prostředím. Rizikovými faktory jsou například kouření,<sup>17</sup> obezita,<sup>18</sup> hypertenze,<sup>19</sup> diabetes II. typu<sup>20</sup> i dlouhotrvající stres.<sup>21</sup> Nebezpečí představují rovněž neurokraniální traumatická poranění.<sup>22,23</sup>

## 2.6 Protektivní faktory

AD se stejně jako řadě dalších chorob dá do určité míry předcházet dlouhodobým dodržováním zdravého životního stylu. V oblasti výživy se doporučuje především konzumace stravy bohaté na antioxidanty a polynenasycené mastné kyseliny. Profit byl prokázán zejména ze zvýšeného přísunu vitamínů E a C. Pro své cenné obsahové látky je vhodný i nízký pravidelný příjem červeného vína.<sup>24</sup> Další doporučení se týkají fyzické aktivity. Při aerobní činnosti dochází k vyššímu prokrvení mozku, okysličení a aktivaci růstových faktorů.<sup>25</sup> Krom toho, bylo studiem na hlodavcích prokázáno, že fyzickou aktivitou dochází ke zpomalení agregace A $\beta$ .<sup>24</sup> Pro snížení rizika úbytku kognitivních funkcí se ukazuje jako vhodné trénování paměti, učení, čtení a hraní her.<sup>23</sup>

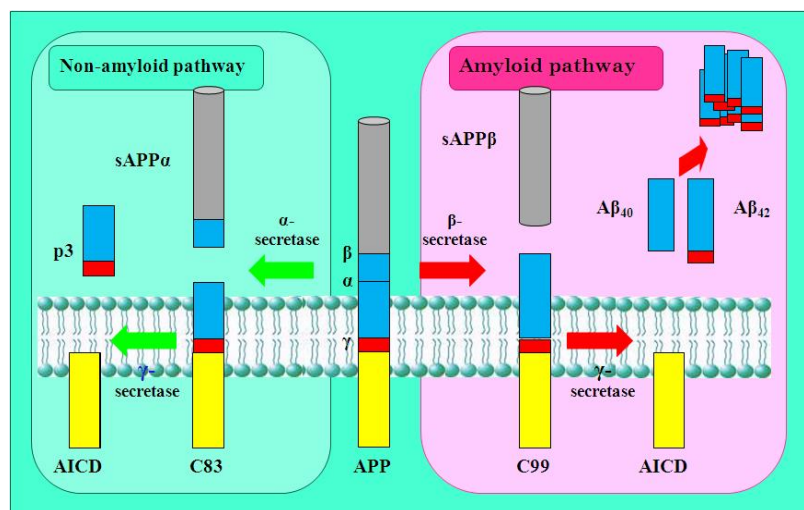
## 2.7 Patofyziologie

V důsledku navazujících patobiochemických procesů dochází k patologickým změnám mozkové tkáně, které se manifestují v klinickém stádiu AD zejména jako amyloidní plaky, neurofibrilární klubka a úbytek neuronů.<sup>26</sup> Důležitou roli v těchto změnách hraje oxidativní stres související s tvorbou reaktivních kyslíkových forem (ROS), abnormalitami ve funkcích mitochondrií a disbalancí redoxně aktivních prvků.<sup>27,28,29</sup> Další roli hraje genetika, zánět, imunita, porucha apoptózy, disbalance vápenatých iontů

a excitotoxicita, špatná funkce sekretas a monoaminoxidas, ApoE  $\epsilon 4$  a další.<sup>65</sup> Patogeneze AD je komplikovaná. Podle možných příčin vzniku onemocnění ji lze přehledně popsat celou řadou hypotéz, které byly vytvořeny rozsáhlými vědeckými výzkumy.

### 2.7.1 Amyloidní kaskáda v patogenezi AD

Neuritické plaky agregovaného  $A\beta$  jsou charakteristickým histopatologickým znakem AD.  $A\beta$  vzniká z amyloidové prekurzorového proteinu (APP). Specifická fyziologická role APP není dosud zcela objasněná. Předpokládá se, že přispívá ke správné neuronální funkci a mozkovému vývoji. Za fyziologických podmínek je APP štěpen  $\alpha$ -sekretasou na solubilní protein označovaný jako  $sAPP\alpha$ . Proteolytickým štěpením APP  $\beta$ - (BACE1) a následně  $\gamma$ -sekretasou vznikají nerozpustné fragmenty o délce 36–43 aminokyselin. Nejvíce zastoupeny jsou  $A\beta_{40}$  a  $A\beta_{42}$  o délkách 40 a 42 aminokyselin. Právě  $A\beta_{42}$  je hlavní komponentou senilních plaků (Obr. 1).<sup>30</sup>



**Obr. 1.** Proteolytické štěpení APP neamyloidní a amyloidní cestou.

Převzato z citace 27

EOAD je zapříčiněna autozomálně dominantní dědičností mutace v genech pro APP a/nebo PSEN1 a PSEN2. Presenilin je součástí  $\gamma$ -sekretasy. Jeho mutací dochází ke změně v poměru  $A\beta_{40}/A\beta_{42}$  ve prospěch  $A\beta_{42}$ .<sup>31</sup>



## 2.7.2 Neurofibrilární klubka

Kromě extracelulární depozice senilních plaků, dochází k intraneuronálním patologickým změnám v podobě takzvaných neurofibrilárních klubek (NFTs – Neurofibrillary Tangles). Ty se skládají z helikálních zdvojených (PHFs – Paired Helical Filaments) a přímých vláken (SFs - Straight Filaments). Hlavní komponentou PHFs je  $\tau$ -protein.<sup>30</sup> Ten se za fyziologických podmínek podílí na stabilizaci mikrotubulů v axonech a plní důležitou funkci v axonálním transportu.<sup>32,33</sup> Za patologických podmínek dochází k hyperfosforylaci  $\tau$ -proteinu, který tak nemůže plnit svou roli.<sup>32,34</sup> Ve zdravém mozku je  $\tau$ -protein fosforylován na dvou až třech reziduích aminokyselin, nejčastěji threoninu, tyrosinu a serinu. Při AD díky narušené rovnováze mezi kinasami (zejm. glykogen-synthasa 3 – GSK3) a fosfatasami dochází k fosforylaci až na trojnásobném počtu aminokyselin.<sup>35</sup> Hyperfosforylovaný  $\tau$ -protein se neasociuje s tubulinem a způsobuje rozpad mikrotubulárních struktur neuronů. Mikrotubuly přitom hrají zásadní roli při udržování strukturální i fyziologické integrity neuronů. Cytoskeletální dysfunkce se odráží jak na architekturu buňky, tak na její funkčnosti. Dochází ke změnám tvaru neuronů, zánikům dendritických výběžků a nadměrné akumulaci cytoskeletálních proteinů ve formě NFTs. Vlivem anatomických odchylek postižených neuronů se snižuje až ztrácí synaptická vodivost a plasticita.<sup>36</sup>

## 2.7.3 Cholinergní hypotéza

Ztráta cholinergní transmise v centrálním nervovém systému výrazně přispívá k poruchám kognitivních funkcí, které jsou spojovány s AD.<sup>37</sup> Poměrně záhy po popsání případu A. Deter, v polovině sedmdesátých let 20. století, přicházejí vědci s vysvětlením biochemické příčiny AD. Pacienti s AD mají postiženy všechny oblasti cholinergního systému. Shledáváme u nich deficit cholinacetyltransferasy (ChAT), která je zodpovědná za syntézu ACh i acetylcholinesterasy (AChE), která ACh odbourává. Dále snížené uvolňování ACh<sup>38</sup> a patologické změny v nukleus basalis Meynerti. Snížení aktivity ChAT a syntézy ACh ostře koreluje se stupněm rozvoje kognitivních poruch při AD.<sup>39</sup>

### 2.7.3.1 Acetylcholin

ACh má zásadní úlohu v neurotransmisi v periferním i centrálním nervovém systému. Je syntetizován v cytoplazmě cholinacetyltransferasou (ChAT) z cholinu a acetyl-koenzymu



Trp286 a Tyr341 (číslování odpovídá lidské AChE). Váže ACh a ovlivňuje alosterickou modulaci enzymu. Bývá cílem specifických inhibitorů AChE. PAS navíc plní i jiné, necholinergní funkce. Mimo jiné má vliv na rozvoj amyloidózy při AD. Katalytické, neboli acylační místo (CAS) AChE se nachází na dně dlouhé úzké dutiny. V této dutině se nachází celá řada menších podjednotek důležitých pro katalytický proces. Anionická podjednotka (Trp86, Tyr133, Tyr337, Phe338) váže kvartérní trimethylamoniovou cholinovou část substrátu a tím stabilizuje prostřednictvím kation- $\pi$ -interakcí pozici esteru v acylačním místě. Acylová kapsa (Phe295, Phe297) zodpovídá za substrátovou specifitu enzymu. Donorem vodíkových vazeb, které zprostředkovávají stabilizaci tetrahedrálního uspořádání substrátu je oxyaniontová komora. V esteratickém (acylačním) místě dochází k rozštěpení esterové vazby molekuly ACh. To je tvořeno tzv. katalytickou triádou Ser203, His447, Glu334.<sup>44,45</sup>

ChEs se vyskytují v mnoha molekulárních formách, které jsou dány jejich kvartérní strukturou. Většinu celkové AChE v centrální nervové soustavě představuje amfiliní tetramerní G4 forma, která je P-podjednotkou spojena s buněčnou membránou. Monomerní (G1) a dimerní (G2) AChE se vyskytují spíše minoritně. Při AD je popsán selektivní úbytek tetramerní AChE v některých částech mozku.<sup>43,46,47</sup>

#### 2.7.4 Glutamátergní hypotéza

Vzestup excitačního neuromediátoru glutamátu vede k excitotoxickému působení na NMDA receptory. Ty fungují jako ligandem ovládané kanály a stejně jako napěťově řízené vápníkové kanály zprostředkovávají vstup vápenatých iontů do cytosolu. V případě excitotoxického působení glutamátu dochází k disbalanci těchto iontů v mozku. Intracelulární homeostáza vápníku je přitom nezbytná pro jeho funkci, přežití neuronů a je základem synaptického přenosu.<sup>48,49</sup>

### 2.8 Farmakoterapie AD

Přes veškeré úsilí věnované výzkumu farmakoterapeutických cílů a hledání nových léčiv pro léčbu demence je současná farmakoterapie AD omezena na AChEI a antagonistu NMDA – memantin. Předmětem zkoumání stále zůstávají A $\beta$  a  $\beta$ -sekretasa jako potenciální cíle terapie, pozornost se zaměřuje také na vliv antioxidantů

a protizánětlivých látek, ať už přírodního nebo syntetického původu. Klinické studie narážejí na složitost a komplexnost patogeneze nemoci a bohužel dosud nepřinášejí dostatečně uspokojivé výsledky.<sup>50</sup>

## 2.8.1 Inhibitory acetylcholinesterasy

AChEIs pozitivně ovlivňují symptomatologickou stránku AD. Snižují kognitivní deficit a zlepšují projevy onemocnění. Pro současnou lékařskou praxi v ČR jsou registrována tři léčiva této skupiny. Jedná se o donepezil, galantamin a rivastigmin. Takrin, který rovněž inhibuje AChE, byl pro svou hepatotoxicitu a nežádoucí účinky v oblasti gastrointestinálního traktu stažen z užívání (Tab. 1).

**Tab. 1.** Terapeuticky využívané AChEI

Takrin	Donepezil	Galantamin	Rivastigmin
Nespecifický, nekompetitivní, BuChE preferenční inhibitor cholinesteras.	Specifický, nekompetitivní, rychle reverzibilní AChEI.	Kompetitivní AChEI, zesiluje účinek ACh na nikotinových receptorech.	Pseudoirreverzibilní inhibitor AChE i BuChE.

### 2.8.1.1 Takrin

#### 9-amino-1,2,3,4-tetrahydroakridin

Takrin patří mezi nejstarší schválené AChEI v léčbě AD. Dříve byl známý jako lék Cognex. Dnes se k léčbě již nepoužívá. Vykazuje výborné farmakokinetické vlastnosti – prochází hematoencefalickou bariérou a inhibice AChE, kde se váže do katalytického místa, je schopen v submikromolární koncentraci.<sup>6</sup> Jeho analogy jsou předmětem celé řady výzkumů. Současně připravované deriváty lze rozdělit do tří základních skupin – monotakriny s modifikovaným základním tricyklickým skeletem, takrinové homodimery a takrinové heterodimery. Poslední dvě skupiny vycházejí z poznatků o duální inhibici AChE.<sup>51</sup>

### 2.8.1.2 Donepezil

(*RS*)-2-[(1-benzyl-4-piperidyl)methyl]-5,6-dimethoxy-2,3-dihydroinden-1-on

Donepezil je stejně jako takrin nekompetitivním inhibítozem. Je nejpoužívanějším léčivem ze skupiny AChEIs v léčbě AD. Používá se v zahajovací dávce 5 mg/den a max. denní dávce 10 mg/den. Jedná se o vysoce AChE-selektivní piperidinový derivát s dobrým farmakokinetickým profilem. Reverzibilně obsazuje katalytické místo, do kterého se váže *N*-benzylaminovou částí molekuly a alosterickou modulací brání deacetylaci ACh. Dihydroindenonová část interaguje s PAS a její obměnou za jiné heterocyklické celky byla připravena celá řada duálních AChEI.<sup>52</sup> Zpomaluje progresi onemocnění a přináší zlepšení kognitivních funkcí. Zvyšuje cholinergní neurotransmisi, poskytuje ochranu před glutamátem indukovanou excitotoxicitou, iniciuje neamyloidogenní zpracování APP a nepřímými účinky na cévní funkce zvyšuje prokrvení mozku.<sup>53</sup> Výhodou jeho použití je dlouhý poločas účinku, dobrá biologická dostupnost s minimálními nežádoucími účinky.

### 2.8.1.3 Galantamin

(*4aS,6R,8aS*)-5,6,9,10,11,12-hexahydro-3-mezhoxy-11-methyl-4aH-[1]benzofuro[3*a*,3,2-*ef*][2]benzazepin-6-ol

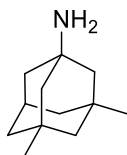
V případě galantaminu se jedná o kompetitivní AChEI. Alkaloid, původně izolovaný z rostliny *Galanthus woronovii*, byl zaveden pro léčbu AD v teprve roce 2001. Je charakteristický svou tetracyklickou strukturou, kterou tvoří benzofurobenzazepinový skelet.<sup>54</sup> Kromě inhibice cholinesteras přispívá k potenciaci cholinergní neurotransmise alosterickou modulací nikotinových receptorů.<sup>4</sup> U galantaminu byl popsán také antiapoptotický účinek ochraňující buňky před smrtí způsobenou Aβ.<sup>55</sup> Léčivo se vyznačuje velmi dobrou biologickou dostupností po perorálním podání. Nežádoucími účinky jsou zejména gastrointestinální potíže (nauzea, zvracení, břišní křeče, dyspepsie, průjem) způsobené účinky na periferní nervový systém. Lze jim většinou předcházet pomalým zvyšováním dávek léčiva. Vhodná počáteční denní dávka je 8 mg/den. Ta se po čtyřech týdnech užívání obvykle zvyšuje na 16mg/den. K dispozici jsou i perorální tablety s dávkou 24mg/den. Obvykle je využíván při mírném až středně těžkém stádiu AD.<sup>56</sup>

#### 2.8.1.4 Rivastigmin

##### (S)-3-[1-(dimethylamino)ethyl]fenyl-N-ethyl-N-methylkarbamát

Rivastigmin je neselektivní pseudoireverzibilní inhibitor AChE i BChE. Z chemického hlediska se jedná o karbamát.<sup>54</sup> Rivastigmin je dostupný ve čtyřech lékových formách – tobolky, tablety dispergovatelné v ústech, roztok a transdermální náplasti. Pro lepší snášenlivost a snížení nežádoucích účinků spojených s gastrointestinálním traktem se při terapii rivastigminem titruje jeho konečná dávka velmi opatrně, čtyřstupňově. Biologická dostupnost rivastigminu je velmi dobrá, rychle a kompletně se vstřebává. Obvykle se dává dvakrát denně po 6 mg společně s jídlem.<sup>57</sup> Užívá se při mírných, až středně pokročilých stádiích AD.

#### 2.8.2 Memantin - antagonist NMDA receptorů



**Obr. 2.** Struktura memantinu

Memantin (3,5-dimethyltricyclo[3.3.1.1]dekan-1-amin) je jediným, při AD terapeuticky významným, zástupce antagonistů NMDA receptorů. Jeho chemická struktura vychází z amantadinu. Inhibuje indukci apoptózy a excitotoxické poškození nervových buněk, tím, že brání vstupu vápenatých iontů do buněk. Při zvýšené hladině glutamátu, který je v nadměrné koncentraci přítomen v CNS při AD, brání aktivaci NMDA receptoru svou vazbou uvnitř kanálu tohoto receptoru.<sup>54</sup> Snižuje agregaci A $\beta$  a vznik neurofibrilárních tangles. Memantin se vyznačuje vysokou biologickou dostupností. Kompletně se vstřebává ze zažívacího traktu. Hematoencefalickou bariérou prochází velmi dobře, většinou do 30 min po podání léku. Obvyklé dávkování memantinu je jednou denně, ve stejnou dobu, nezávisle na příjmu potravy. Pro snížení nežádoucích účinků, kterými jsou nejčastěji nespavost, netečnost, časté usínání v krátkých časových periodách, hypertenze a závratě, je vhodná pomalá titrace dávek. Dávka se zvyšuje od 5mg v prvním týdnu, přes 10 mg ve druhém, na 20 mg v jedné denní dávce v týdnu třetím. Memantin je indikován při středně těžkých a těžkých stádiích AD.<sup>5,57</sup>

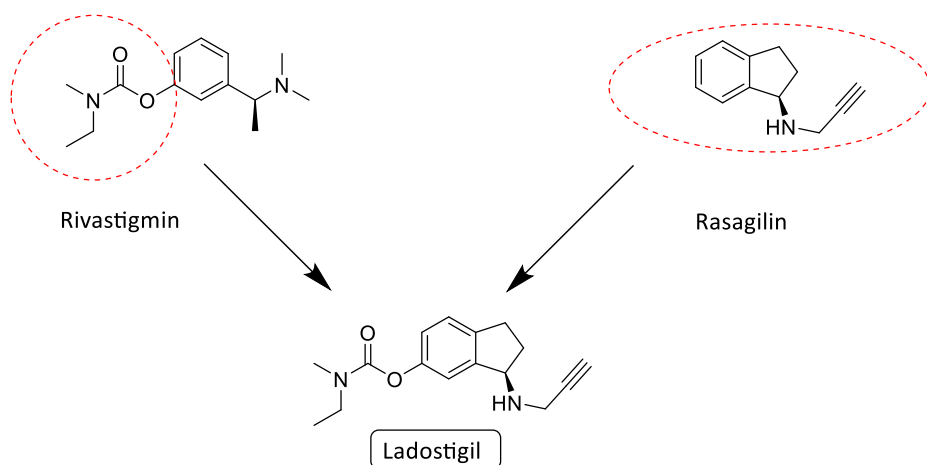
### 2.8.3 Další léčiva

Mezi další léčiva podporující terapii AD patří nootropika, která zlepšují mozkovou činnost a metabolismus nervových buněk, a ostatní léčiva, která mírní projevy nemoci – antidepressiva, neuroleptika, anxiolytika a hypnotika.

Snahy o nalezení účinných látek v terapii AD se upínají k molekulám potenciálně schopným léčby zánětlivých změn centrální nervové soustavy, eliminace tvorby amyloidních plaků a zabraňující hyperfosforylaci  $\tau$ -proteinu.<sup>57</sup> V současné době probíhají také klinické testy například na inhibitoru  $\gamma$ -sekretasy LY450139, modulátoru presenilinu, antagonistovi PPAR $\gamma$  rosiglitazonu a mnoha dalších.<sup>58</sup>

## 2.9 Multipotentní léčiva (MTDLs)

Současně používaná konvenční léčiva AD nabízejí pouze omezené možnosti terapie. Pro pacienty představují pouze přechodné řešení, nikoli vyléčení nebo zastavení progresu onemocnění. MTDLs jsou představiteli nové léčebné strategie AD, kteří zahrnují molekuly navržené tak, aby ovlivňovaly hned několik patologických procesů onemocnění najednou. Jedná se o bi- nebo polyfunkční sloučeniny, které jsou účinným nástrojem v terapii nejen AD, ale i dalších multifaktoriálních onemocnění, jako je např. Parkinsonova choroba. Navržené molekuly by měly účinně kombinovat dvě nebo více vlastností – zpravidla inhibují cholinesterasy, aktivují nebo inhibují jednotlivé subtypy acetylcholinových receptorů nebo  $\alpha$ -adrenoreceptory, mají protizánětlivý účinek, podporují produkci oxidu dusného, inhibují indukci apoptózy, působí neuroprotektivně, aktivují mitochondriálně-závislé geny a proteiny zajišťující přežití buněk,<sup>59</sup> inhibují produkci patologického A $\beta$  a působí antioxidačně.<sup>58</sup> Design MTDLs je založen na spojení více farmakoforů s různými farmakologickými účinky a to buď prostřednictvím linkeru, nebo tzv. conjunctive approach (Schéma 2).<sup>60</sup> Výsledkem je vznik hybridní struktury schopné interagovat s několika biologickými cíli najednou.<sup>61</sup>

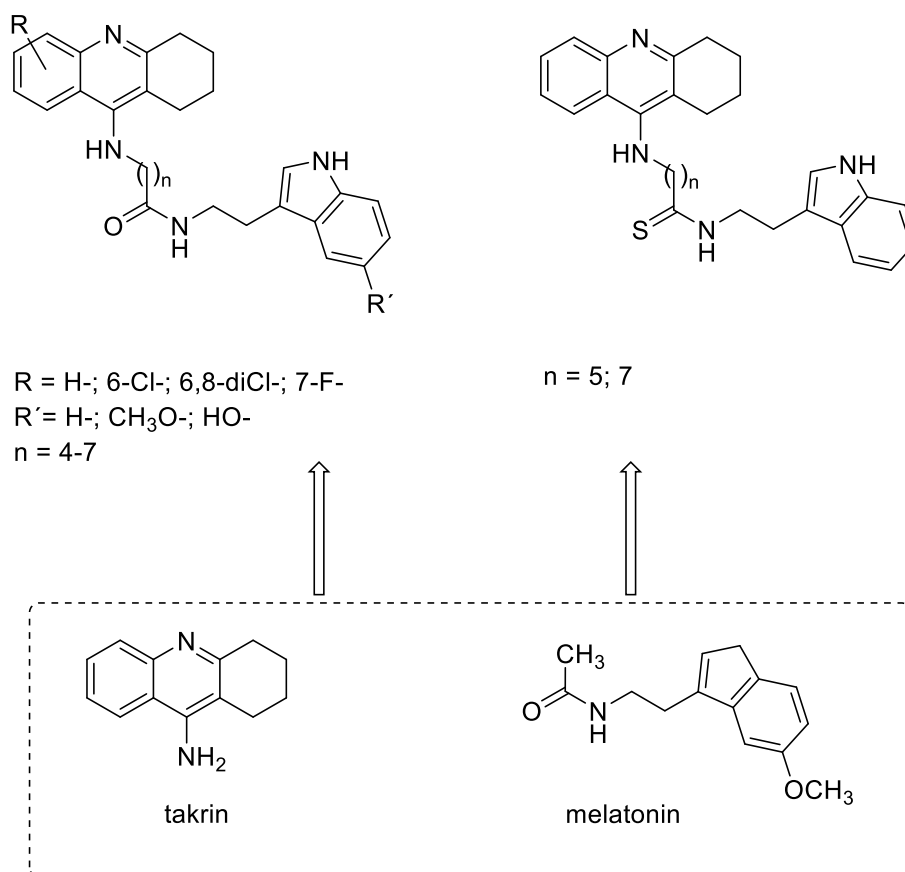


**Schéma 2.** Znáznění „conjunctive approach“ MTDLs na příkladu ladostigilu. Design této molekuly spočívá v částečném překryvu molekuly rivastigminu a rasagilinu – AChEI a selektivního IMAO-B.<sup>60</sup>

### 2.9.1 Takrin-melatoninové deriváty

Fernandéz-Bachiller a kol. publikovali v r. 2009 výsledky svého výzkumu, který byl věnován takrin-melatoninovým derivátům. Takrinový skelet byl spojen uhlovodíkovým řetězcem s amidovou vazbou k melatoninu za vzniku duálního inhibitoru AChE (Schéma 3). Molekulově modelovací studie prokázaly vazbu takrinové části do CAS, zatímco melatoninová část interaguje s PAS. Z hlediska inhibice vykazovala nejaktivnější molekula *in vitro* 43 000× vyšší inhibiční aktivitu než samotný takrin a přibližně 1000× vyšší selektivitu k AChE než k BChE. U těchto hybridních struktur byl prokázán také vysoký antioxidační a neuroprotektivní potenciál.<sup>58</sup>

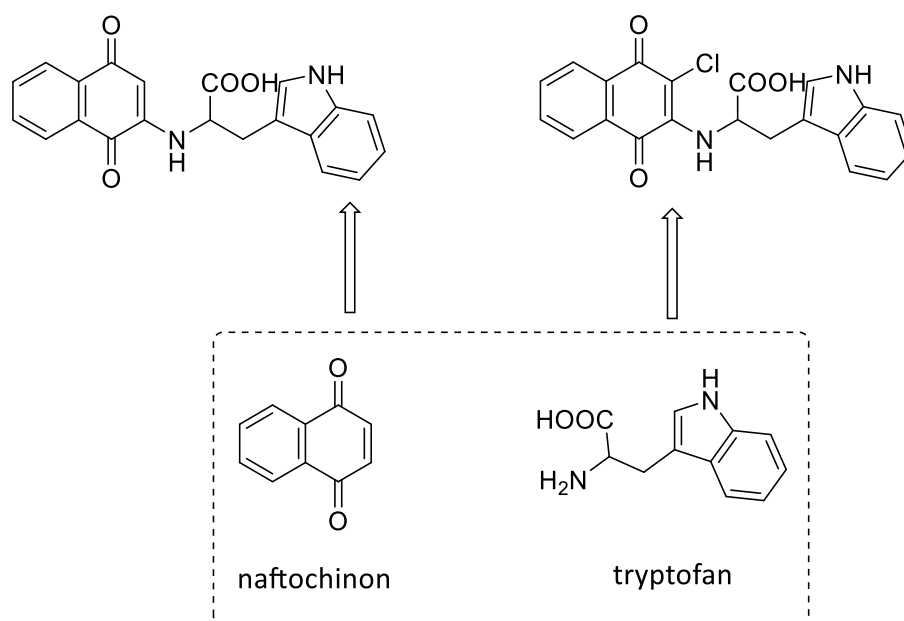




**Schéma 3.** Východí a výsledné struktury multipotentních takrin-melatoninových derivátů

## 2.9.2 Naftochinon-tryptofanové deriváty

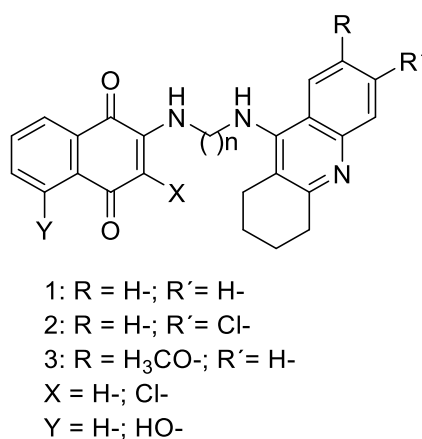
Vlivem naftochinon-tryptofanových derivátů (Schéma 4) na agregaci A $\beta$  se zabýval Scherzer-Attali a kol. Testována byla schopnost inhibovat amyloidogenní proteiny zahrnující  $\alpha$ -synuklein, lysozym, kalcitonin a insulin. Tryptofan, biologický prekurzor melatoninu, zabraňuje formaci amyloidních plaků. Chinony jsou známé svými protinádorovými, antivirovými a antibakteriálními vlastnostmi.<sup>61</sup> U těchto hybridních molekul bylo *in vitro* prokázáno, že inhibují agregaci několika amyloidogenních proteinů.<sup>62</sup> Nejnovější zveřejněné výsledky studií stejných molekul navíc hovoří o schopnosti inhibovat hyperfosforylaci  $\tau$ -proteinu a současně tím snižovat neurotoxicitu.<sup>63</sup>



**Schéma 4.** Výchozí a výsledné struktury naftochinon-tryptofanových konjugátů.

### 2.9.3 Takrin-naftochinonové deriváty

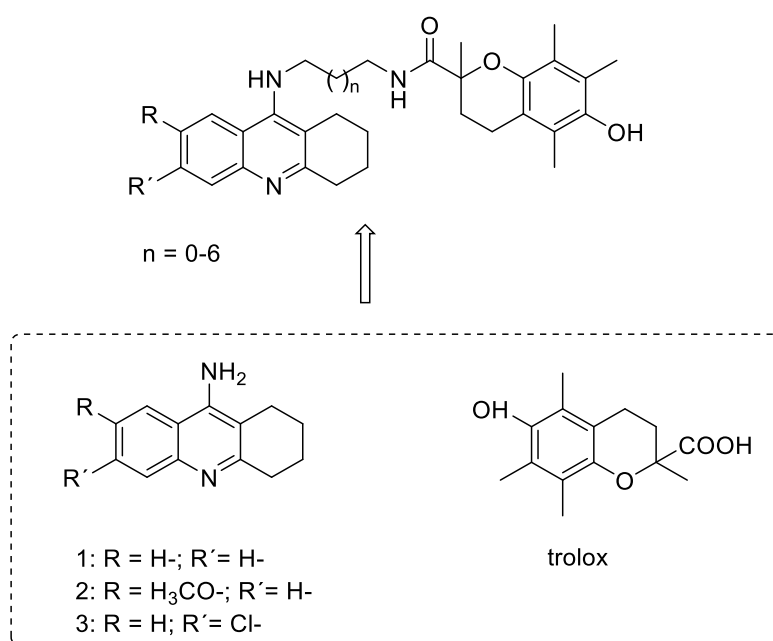
Syntézou a testováním takrin-naftochinonových derivátů (Schéma 5) se zabýval česko-italský tým vědců. Podařilo se jim vyvinout několik úspěšných sloučenin, které *in vitro* vykazují výborné inhibiční vlastnosti vůči AChE a efektivně zabraňují agregaci A $\beta$ . Molekuly navíc vykazují účinky proti ROS, pouze nízkou neurotoxicitu a snadno prostupují hematoencefalickou bariérou.<sup>64</sup>



**Schéma 5.** Výsledná obecná struktura takrin-naftochinonových derivátů

## 2.9.4 Takrin-troloxové deriváty

Trolox je ve vodě rozpustná molekula s antioxidačním potenciálem odvozená od tokoferolu – vitamínu E. Jeho spojením s AChEI, takrinem vznikly deriváty, které vykazují ve srovnání s takrinem vyšší inhibiční účinnost, navíc jsou schopné snižovat hladinu volných kyslíkových radikálů (Schéma 6). Jejich další výhodou je minimální hepatotoxicita a schopnost prostupu HEB. Modelovací studie a kinetické analýzy prokázaly vazbu těchto molekul do PAS i CAS. Některé molekuly této skupiny derivátů jsou v souvislosti s Alzheimerovou nemocí předmětem dalšího výzkumu.<sup>65</sup>



**Schéma 6.** Výchozí a obecná výsledná struktura takrin-troloxových konjugátů

## 2.9.5 7-MEOTA-donepezilové deriváty

7-MEOTA-donepezilové deriváty jsou dalšími představiteli multipotentních molekul. 7-methoxytakrin je terapeuticky dosud nepoužívaným, netoxickým derivátem takrinu. Jeho spojením s donepezilem byly připraveny molekuly, které vykazují inhibiční potenciál v mikro- až submikromolárních hodnotách (Schéma 7). Molekulově modelovací studie ukazují, že deriváty interagují současně s aktivním i periferním místem ChE.<sup>66</sup>



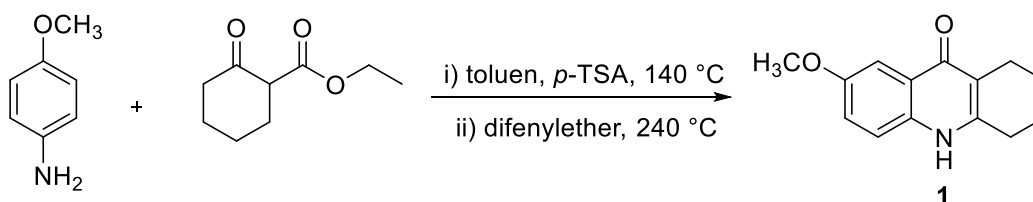
### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Syntéza

##### 3.1.1 Schéma syntézy a obecná syntetická část

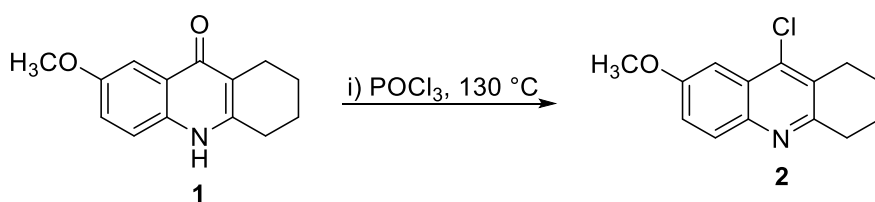
Syntéza nových takrin-tryptofanových hybridů (**48–68**) je zobrazena na Schématu 8. V první fázi byly cyklokondenzační reakcí připraveny výchozí takrinové skelety (**2–4**).

##### Příprava 7-methoxy-1,2,3,4,9,10-hexahydroakridin-9-on (**1**)



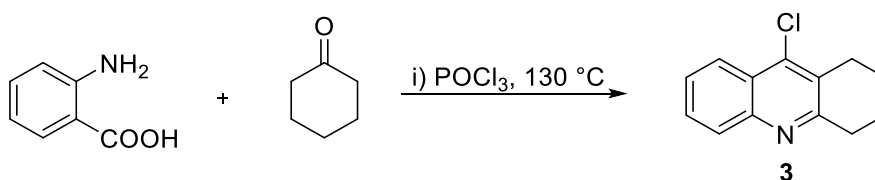
Směs 4-methoxyanilinu (162.40 mmol) a ethyl-2-oxocyklohexan-1-karboxylátu (178.66 mmol) byla rozpuštěna v 500 ml toluenu spolu s katalytickým množstvím monohydrátu *p*-toluensulfonové kyseliny (*p*-TSA). Reakční směs byla zahřívána při 140 °C po dobu 8 hodin s použitím Dean-Starkovy aparatury, která sloužila pro odstranění vody z reakce. Po 8 hodinách byl toluen vakuově oddestilován a do baňky byl přidán difenylether (130 ml). Reakční směs byla opět opatřena Dean-Starkovou aparaturou (pro odstraňování ethanolu) a zahřívána při 240 °C po dobu 2 hodin. Následně byla tato směs ochlazená na laboratorní teplotu a bylo do ní přidáno 200 ml hexanu. Vzniklý krystalický produkt měl nažloutlou barvu a výtěžek byl 81 %. Spektrální údaje byly v souladu s literaturou.<sup>68</sup>

### Příprava 9-chlor-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroakridinu (2)



Fosforylchlorid (44.80 mmol) byl za chlazení přidán k 7-methoxy-1,2,3,4,9,10-hexahydroakridin-9-onu (**1**; 8,72 mmol) a směs byla zahřívána pod zpětným chladičem při 130 °C po dobu 2 hodin. Následně byla reakční směs ochlazena a fosforylchlorid oddestilován za sníženého tlaku. Směs byla dále smíchaná s ledovou tříští (500 g), chloroformem (100 ml) a 25% roztokem amoniaku (100 ml). Organická fáze byla vytřepána 100 ml vody a vysušena CaCl<sub>2</sub>. Po odfiltrování bylo rozpouštědlo oddestilováno za sníženého tlaku a produkt byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie použitím silikagelu upraveného triethylaminem. Jako mobilní fáze byla zvolena směs CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:EtOAc v poměru 9:1. Produktem byly žluté krystaly s 85% výtěžností. Spektrální údaje byly v souladu s literaturou.<sup>68</sup>

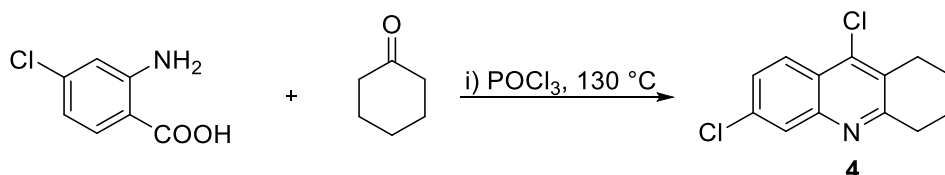
### Příprava 9-chlor-1,2,3,4-tetrahydroakridinu (3)



Ke kyselině anthranilové (53.90 mmol) byl za chlazení přidán cyklohexanon (51.70 mmol) a fosforylchlorid (322.44 mmol) a reakční směs byla zahřívána pod zpětným chladičem při teplotě 130 °C po dobu 2 hodin. Následně byla reakční směs ochlazena a fosforylchlorid oddestilován za sníženého tlaku. Směs byla dále smíchaná s ledovou tříští (200 g), chloroformem (50 ml) a 25% roztokem amoniaku (50 ml). Organická fáze byla vytřepána 50 ml vody a vysušena CaCl<sub>2</sub>. Po odfiltrování bylo rozpouštědlo oddestilováno za sníženého tlaku. Produkt byl čištěn sloupcovou gradientovou chromatografií použitím mobilní fáze: 100 % petroletheru až 15 % EtOAc v petroletheru.

Silikagel byl upraven triethylaminem. Žlutohnědý prášek byl získán se 74% výtěžností. Spektrální údaje byly v souladu s literaturou.<sup>67</sup>

#### **Příprava 6,9-dichlor-1,2,3,4-tetrahydroakridinu (4)**



Ke kyselině 4-chloranthranilové (50.00 mmol) byl za chlazení přidán cyklohexanon (50.00 mmol) a fosforylchlorid (322.44 mmol) a reakční směs byla zahřívána pod zpětným chladičem při teplotě 130 °C po dobu 2 hodin. Následně byla reakční směs ochlazena a fosforylchlorid oddestilován za sníženého tlaku. Směs byla dále smíchána s ledovou tříští (200 g), chloroformem (50 ml) a 25% roztokem amoniaku (50 ml). Organická fáze byla vytřepána s 50 ml vody a vysušena CaCl<sub>2</sub>. Po odfiltrování bylo rozpouštědlo oddestilováno za sníženého tlaku. Produkt byl čištěn sloupcovou gradientovou chromatografií použitím mobilní fáze: 100 % petroletheru až 5 % EtOAc v petroletheru. Silikagel byl upraven triethylaminem. Žlutohnědý prášek byl získán se 70% výtěžností. Spektrální údaje byly v souladu s literaturou.<sup>67</sup>

K takrinovým meziproductům byly prostřednictvím nukleofilní substituce připojeny koncové  $\alpha,\omega$ -diaminoalkany v délce 2–8 C (**5–25**). Fenol (35.91 mmol) a příslušný takrinový derivát (**2–4**; 3.96 mmol) byly míchány v baňce při teplotě 85–90 °C dokud se nevytvořila homogenní směs. Následně byl přidán příslušný  $\alpha,\omega$ -alkyldiamin (7.93 mmol) a teplota byla zvýšena na 125–130 °C. Směs byla zahřívána pod zpětným chladičem po dobu 2–4 hodin. Průběh reakce byl kontrolován pomocí TLC. Poté byla reakční směs ochlazena na laboratorní teplotu a rozpuštěna v chloroformu. Po následném vytřepání 20% hydroxidem sodným, nasyceným vodným roztokem chloridu sodného a vodou byla organická fáze vysušena s bezvodým síranem sodným. Po odfiltrování sušidla bylo rozpouštědlo odpařeno za sníženého tlaku a produkt byl vyčištěn sloupcovou gradientovou chromatografií použitím mobilní fáze

EtOAc:MeOH:Et<sub>3</sub>N v poměru 8:1:0,2 až 6:2:0,2. Hnědožluté produkty (**5–25**) byly získány s výtěžky 80–90 %. Spektrální údaje byly v souladu s literaturou.<sup>67,69</sup>

Dalším krokem syntézy bylo ochránění aminoskupiny L-tryptofanu reakcí s di-*tert*-butyl-dikarbonátem (Boc<sub>2</sub>O) za přítomnosti triethylaminu (Et<sub>3</sub>N) v methanolu. Reakční směs, kterou tvořil L-tryptofan (4.89 mmol), triethylamin (9.79 mmol) a di-*tert*-butyl-dikarbonát (Boc<sub>2</sub>O; 6.36 mmol), byla za laboratorní teploty míchána v methanolu v dusíkové atmosféře po dobu 24 hodin. Po odpaření methanolu za sníženého tlaku byla jako výsledný produkt izolována kyselina 2-[(*tert*-butoxykarbonyl)amino]-3-(1*H*-indol-3-yl)propanová (**26**). Výtěžek činil 87 %.

Spojení sloučeniny **26** s intermediáty **5–25** proběhlo v prostředí suchého *N,N*-dimethylformamidu a Et<sub>3</sub>N za katalýzy (benzotriazol-1-yloxy)tris(dimethylamino)-fosfonium-hexafluorofosfátem při laboratorní teplotě. Takto vznikly struktury **27–47**. V poslední fázi syntézy byla provedena *N*-deprotektace a převedení sloučenin na dihydrochloridy působením vodného roztoku kyseliny chlorovodíkové v methanolu (**48–68**).

Výchozí látky použité k syntéze byly komerčně dodány firmou Sigma-Aldrich (Praha, ČR).

Experimenty probíhaly v ochranné atmosféře dusíku (Schéma 8).

TLC byla prováděna na hliníkových deskách pokrytých silikagelem 60 F254 (Merck, Praha, ČR).

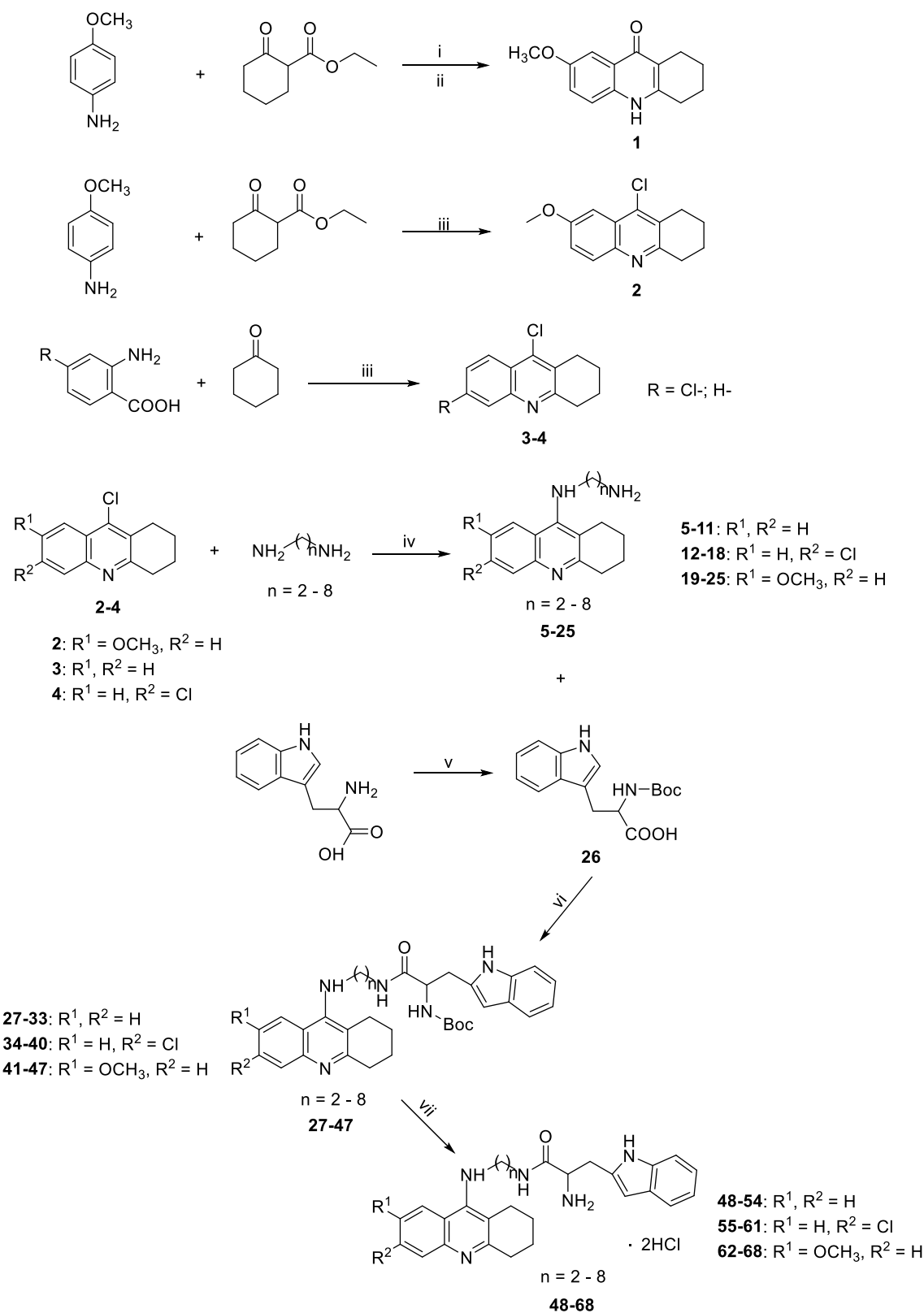
Sloupcová chromatografie probíhala za atmosférického tlaku na silikagelu 100 (velikost částic 0.063–0.200 mm, 70–230 mesh ASTM, Fluka, Praha, ČR).

Hmotnostní spektrometrie byla provedena za využití analytického systému Dionex Ultimate 3000 LC-MS spojený se spektrometrem Orbitrap Q Exactive Plus (Thermo Fisher Scientific, Brémy, Německo). Systém LC-MS se skládá z binárního čerpadla HHG-3400RS, který je spojen s vakuovým degaserem. Dále se skládá z vyhřívaného sloupcového kompartmentu TCC-3000, autosampleru WTS-3000 a ultrafialového detektoru VWD-3000. Kvadrupolový hmotnostní spektrometr byl vybavený elektron-sprejovým ionizačním zdrojem a data byla zaznamenávána v pozitivním módu



s následujícími parametry: sprejové napětí bylo 3,2 kV, kapilární teplota byla 350 °C, teplota plynu byla 300 °C.

$^1\text{H}$ -NMR a  $^{13}\text{C}$ -NMR spektra byla změřena pomocí Varian S500 spektrometru (500 a 126 MHz) nebo Varian Mercury-Vx BB 300 (300 a 75 MHz) v  $\text{D}_2\text{O}$ , methanolu- $d_4$  nebo hexadeuteriodimethylsulfoxidu ( $\text{DMSO-}d_6$ ; 2.50 ppm (D), 39.7 ppm (C) s použitím tetramethylsilanu (TMS) jako interního standardu. Multiplicity spinů jsou označeny jako s (singlet), d (dublet), t (triplet) nebo m (multiplet). Chemické posuny jsou udávány v ppm (parts per milion,  $\delta$ ) vzhledem k TMS. Přiřazení chemických posunů vychází ze standardních NMR experimentů ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC, HMBC, DEPT).



**Schéma 8.** Schéma syntézy takrin-tryptofanových derivátů (**48–68**) (i) toluen/*p*-TSA/140°C (ii) difenylether/240°C (iii) POCl<sub>3</sub>/130°C (iv) fenol/125–130°C (v) Et<sub>3</sub>N/Boc<sub>2</sub>O/MeOH/dusíková atmosféra/RT (vi) Et<sub>3</sub>N/BOP/DMF/RT (vii) HCl/MeOH /RT

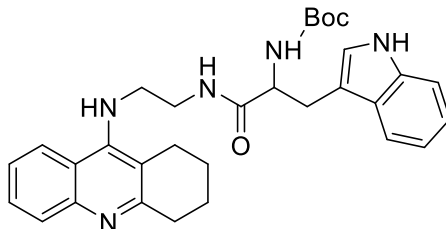
### 3.1.2 Syntéza *terc*-butyl-[3-(1*H*-indol-3-yl)-1-({[(1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]alkyl}amino)-1-oxopropan-2-yl]-karbamátových derivátů (27–47)

Kyselina 2-[(*terc*-butoxykarbonyl)amino]-3-(1*H*-indol-3-yl)propanová (1,59 mmol) byla rozpuštěna v suchém *N,N*-dimethylformamidu (10 ml) a k ní byl přidán triethylamin (4.14 mmol). Směs byla míchána při laboratorní teplotě v atmosféře dusíku. Po 30 minutách byl do reakční směsi přidán (benzotriazol-1-yl)oxy)tris(dimethylamino)fosfonium-hexafluorofosfát (BOP; 2.06 mmol). Po uplynutí jedné hodiny byl do směsi přidán meziprodukt (5–25) (1.59 mmol). Po následujících 48 hodin probíhalo míchání reakční směsi za laboratorní teploty v dusíkové atmosféře. Reakční směs byla následně extrahována ve směsi ethylacetát:voda (1:1). Surový produkt byl dosucha odpařen a přečištěn sloupcovou chromatografií. Mobilní fáze byla složena z chloroformu a methanolu v poměru 50:1. Výtěžek sloučenin byl 15.0 – 91.0%.

### 3.1.3 Obecný postup pro syntézu takrin-tryptofanových derivátů (48–68)

Meziprodukty (27-47) (2.46 mmol) byly rozpuštěny v methanolu (20 ml). K roztoku byla přidána 35% kyselina chlorovodíková (20 ml). Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 24 hodin. Takto byly připraveny konjugáty takrinu tryptofanu ve formě dihydrochloridových solí (48-68). Výtěžky se pohybovaly od 38.1 do 98.5%.

***tert*-butyl-[3-(1*H*-indol-3-yl)-1-({2-[(1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]ethyl}amino)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (27)**



Výtěžek: 27.6 %

Teplota tání: -

Vzhled: žlutý olej

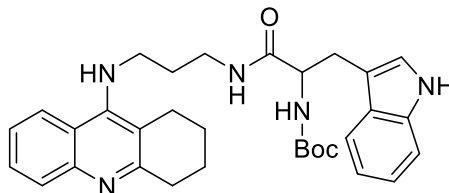
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8.04 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.73 (m, 1H), 7.57 (m, 1H), 7.52 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.37 (m, 1H), 7.24 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.95 (m, 2H), 4.28 (m, 1H), 3.51 (m, 2H), 3.30 (m, 2H), 2.93 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.62 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 1.87 (m, 4H), 1.34 (s, 9H), 1.17 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 176.35, 175.80, 157.82, 157.52, 153.59, 137.95, 130.41, 128.75, 126.57, 125.07, 124.72, 124.54, 122.37, 120.45, 119.75, 119.33, 116.33, 112.21, 110.83, 80.67, 57.20, 49.51, 41.16, 33.35, 29.20, 28.62, 25.85, 23.87, 23.33, 22.06, 20.85

Mol. hm.: 527.3

ESI-MS: *m/z* 528.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>31</sub>H<sub>38</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> 528.3)

***tert*-butyl-[3-(1*H*-indol-3-yl)-1-({3-[(1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]propyl} amino)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (28)**



Výtěžek: 23.0 %

Teplota tání: 88.3 – 92.7°C

Vzhled: žlutý prášek

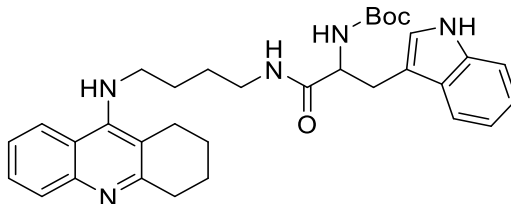
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8.05 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.74 (m, 1H), 7.54 (m, 2H), 7.36 (m, 1H), 7.26 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.98 (m, 2H), 4.28 (m, 1H), 3.16 (m, 2H), 2.95 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.69 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 1.92 (m, 4H), 1.88 (m, 2H), 1.60 (m, 2H), 1.34 (s, 9H), 1.18 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 175.18, 172.95, 158.45, 157.52, 153.39, 147.02, 137.97, 130.11, 128.77, 127.18, 125.02, 124.55, 122.38, 120.96, 119.74, 119.41, 116.74, 112.22, 110.96, 80.62, 61.51, 57.28, 46.10, 37.52, 33.71, 31.62, 28.61, 26.12, 23.97, 23.49, 22.06, 20.85

Mol. hm.: 541.3

ESI-MS: *m/z* 542.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro: [C<sub>32</sub>H<sub>40</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> 542.3)

***tert*-butyl-[3-(1*H*-indol-3-yl)-1-({4-[(1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]butyl}amino)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (29)**



Výtěžek: 42.0 %

Teplota tání: -

Vzhled: žlutý olej

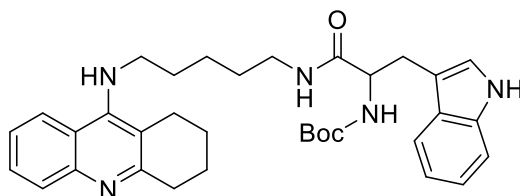
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8.02 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.74 (dd, *J* = 8.5, 1.2 Hz, 1H), 7.52 (m, 2H), 7.33 (m, 1H), 7.26 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.98 (m, 2H), 4.26 (m, 1H), 3.38 (m, 2H), 3.14 (m, 2H), 2.94 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.67 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 1.86 (m, 4H), 1.33 (m, 13H), 1.18 (s, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 174.65, 172.94, 159.10, 157.46, 153.03, 147.90, 137.98, 129.70, 128.82, 127.94, 124.73, 124.37, 122.37, 121.27, 119.74, 119.46, 116.80, 112.20, 110.98, 80.58, 61.51, 57.18, 39.95, 34.17, 29.39, 28.63, 28.32, 27.54, 26.10, 24.07, 23.66, 22.06, 20.85

Mol. hm.: 555.3

ESI-MS: *m/z* 556.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>33</sub>H<sub>42</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> 556.3)

***tert*-butyl-[3-(1*H*-indol-3-yl)-1-({5-[(1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]pentyl} amino)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (30)**



Výtěžek: 25.0 %

Teplota tání: 73.3 – 76.8°C

Vzhled: žlutý prášek

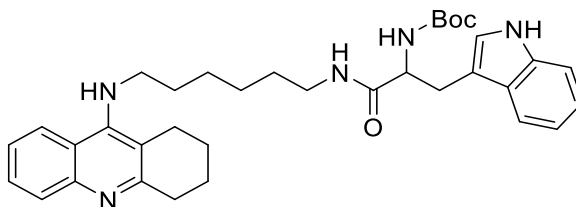
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8.04 (m, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.52 (m, 2H), 7.33 (m, 1H), 7.24 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.97 (m, 3H), 4.25 (m, 1H), 3.39 (m, 2H), 3.11 (m, 2H), 2.94 (m, 4H), 2.69 (m, 2H), 1.95 (m, 2H), 1.87 (m, 6H), 1.50 (m, 2H), 1.34 (s, 9H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 174.58, 172.92, 159.07, 157.44, 153.17, 147.91, 137.96, 129.71, 128.79, 127.93, 124.70, 124.42, 122.35, 121.30, 119.71, 119.42, 116.78, 112.18, 110.96, 80.55, 61.50, 57.14, 40.14, 34.16, 31.91, 29.83, 29.42, 28.63, 26.09, 25.01, 24.07, 23.68, 22.06, 20.85

Mol. hm.: 569.3

ESI-MS: *m/z* 570.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>34</sub>H<sub>44</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> 570.3)

***tert*-butyl-[3-(1*H*-indol-3-yl)-1-({6-[(1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]hexyl}amino)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (31)**



Výtěžek: 25.3 %

Teplota tání: -

Vzhled: hnědý olej

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8.08 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.54 (m, 2H), 7.35 (m, 1H), 7.28 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.00 (m, 3H), 4.26 (m, 1H), 3.51 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.10 (m, 2H), 2.96 (m, 2H), 2.72 (m, 2H), 1.89 (m, 4H), 1.60 (m, 2H), 1.36 (s, 9H), 1.27 (m, 10H).

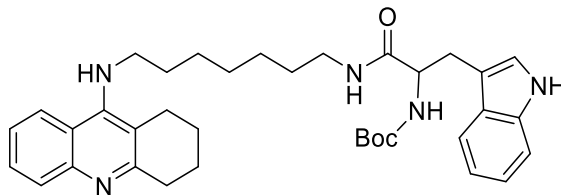
<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 171.61, 170.49, 156.68, 155.25, 151.29, 136.19, 128.71, 127.52, 127.09, 123.71, 123.62, 123.50, 120.93, 119.74, 118.62, 118.26, 115.32, 111.37, 110.41, 78.06, 59.92, 55.35, 48.03, 38.56, 32.87, 30.67, 29.10, 28.29, 26.21, 26.16, 25.07, 22.67, 22.32, 20.92

Mol. hm.: 583.4

ESI-MS: *m/z* 584.4 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>35</sub>H<sub>46</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> 584.4)



***tert*-butyl-[3-(1*H*-indol-3-yl)-1-({7-[(1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]heptyl} amino)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (32)**



Výtěžek: 52.0 %

Teplota tání: -

Vzhled: hnědý olej

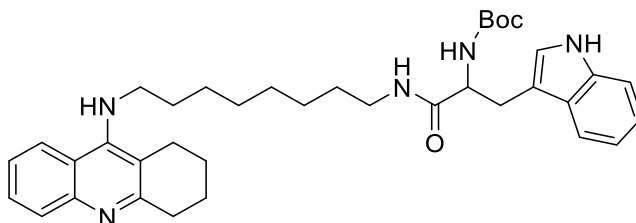
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8.08 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.54 (m, 2H), 7.35 (m, 1H), 7.28 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.00 (m, 3H), 4.26 (m, 1H), 3.51 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.10 (m, 2H), 2.96 (m, 2H), 2.72 (m, 2H), 1.89 (m, 4H), 1.60 (m, 2H), 1.36 (s, 9H), 1.27 (m, 10H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 174.55, 172.96, 158.90, 157.48, 153.40, 147.71, 138.01, 129.85, 128.82, 127.74, 124.73, 124.47, 122.36, 121.20, 119.73, 119.42, 116.66, 112.21, 111.00, 80.59, 61.52, 57.13, 40.27, 34.05, 33.06, 32.22, 30.74, 29.97, 29.46, 28.64, 27.80, 27.59, 26.10, 24.07, 23.66, 20.85

Mol. hm.: 597.4

ESI-MS: *m/z* 598.4 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>36</sub>H<sub>48</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> 598.4)

***tert*-butyl-[3-(1*H*-indol-3-yl)-1-({8-[(1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]oktyl}amino)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (33)**



Výtěžek: 82.6 %

Teplota tání: -

Vzhled: žlutý olej

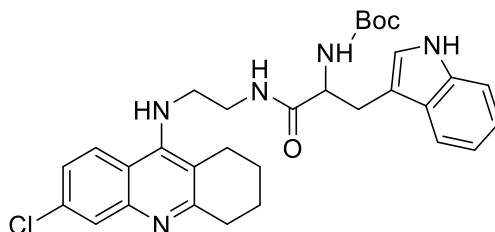
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.78 (s, 1H), 8.33 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.78 (m, 2H), 7.53 (m, 2H), 7.43 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.09 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 6.98 (m, 1H), 6.68 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.77 (m, 2H), 3.03 (m, 2H), 2.95 (m, 2H), 2.64 (m, 2H), 2.52 (m, 6H), 1.82 (m, 6H), 1.69 (m, 2H), 1.29 (s, 9H), 1.17 (m, 4H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 171.85, 155.26, 151.50, 139.03, 136.19, 132.37, 127.51, 125.00, 124.25, 123.71, 120.92, 120.31, 118.60, 118.24, 116.18, 111.99, 111.87, 111.38, 110.41, 78.06, 55.36, 47.56, 45.92, 38.63, 36.64, 36.61, 30.05, 29.11, 28.75, 28.72, 28.30, 28.09, 26.29, 26.20, 24.16, 21.73, 20.73

Mol. hm.: 611.4

ESI-MS: *m/z* 612.4 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>37</sub>H<sub>50</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> 612.4)

***tert*-butyl-[1-({2-[(6-chlor-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]ethyl}amino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (34)**



Výtěžek: 90.5 %

Teplota tání: -

Vzhled: žlutý olej

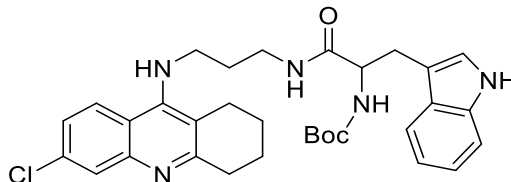
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8.13 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.66 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.47 (dt, *J* = 7.7, 1.1 Hz, 1H), 7.39 (dd, *J* = 9.2, 2.2 Hz, 1H), 7.15 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.84 (m, 2H), 4.29 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 3.68 (m, 2H), 3.45 (m, 2H), 2.88 (m, 2H), 2.46 (s, 2H), 1.93 (s, 9H), 1.35 (s, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 176.36, 172.99, 157.20, 155.73, 143.20, 138.22, 137.76, 128.71, 127.99, 125.99, 124.56, 122.25, 121.79, 119.67, 119.17, 116.84, 114.67, 112.11, 110.60, 80.73, 61.52, 57.09, 40.62, 31.12, 29.02, 28.61, 25.02, 23.19, 22.34, 22.06, 20.85

Mol. hm.: 561.3

ESI-MS: *m/z* 562.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>31</sub>H<sub>37</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>562.3)

***tert*-butyl-[1-({3-[(6-chlor-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]propyl}amino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (35)**



Výtěžek: 82.6 %

Teplota tání: -

Vzhled: žlutý olej

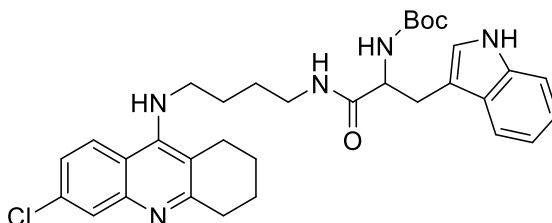
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8.04 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.53 (m, 1H), 7.32 (dd, *J* = 9.1, 2.2 Hz, 1H), 7.24 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.97 (m, 2H), 4.26 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 3.37 (m, 1H), 3.16 (m, 2H), 2.92 (m, 2H), 2.66 (m, 2H), 1.92 (s, 9H), 1.88 (m, 3H), 1.34 (m, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 175.32, 172.96, 157.53, 154.11, 146.30, 137.95, 136.49, 128.74, 126.82, 125.56, 124.82, 124.57, 122.36, 119.73, 119.38, 118.55, 116.23, 112.21, 110.92, 80.62, 61.52, 57.32, 46.01, 37.35, 33.10, 31.49, 29.23, 28.60, 25.78, 23.69, 23.11, 22.06

Mol. hm.: 575.3

ESI-MS: *m/z* 576.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>32</sub>H<sub>39</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>576.3)

***tert*-butyl-[1-({4-[(6-chlor-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]butyl}amino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (36)**



Výtěžek: 91.0 %

Teplota tání: -

Vzhled: hnědý olej

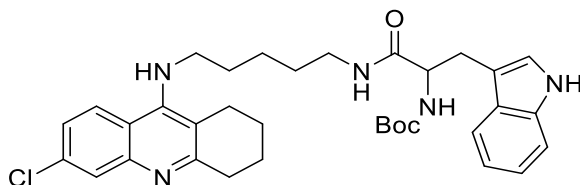
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8.13 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.66 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.47 (dt, *J* = 7.7, 1.1 Hz, 1H), 7.39 (dd, *J* = 9.2, 2.2 Hz, 1H), 7.15 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.84 (m, 2H), 4.29 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 3.68 (m, 2H), 3.45 (m, 2H), 2.88 (m, 2H), 2.46 (s, 2H), 1.93 (s, 9H), 1.35 (s, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 171.98, 170.49, 157.15, 155.28, 151.59, 136.19, 133.52, 127.51, 126.02, 125.13, 123.93, 123.75, 120.94, 118.63, 118.25, 117.86, 115.23, 111.38, 110.41, 78.07, 59.92, 55.37, 47.66, 38.33, 32.61, 28.29, 28.10, 27.87, 24.94, 22.68, 22.51, 22.04, 20.93

Mol. hm.: 589.3

ESI-MS: *m/z* 590.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>33</sub>H<sub>41</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>590.3)

***tert*-butyl-[1-({5-[(6-chloro-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]pentyl}amino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (37)**



Výtěžek: 45.7 %

Teplota tání: -

Vzhled: žlutý olej

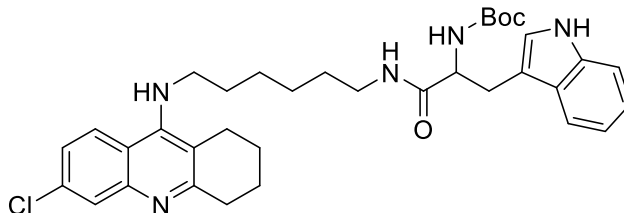
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.76 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.20 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.79 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.71 (dd, *J* = 2.3, 0.9 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.40 (m, 1H), 7.29 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.09 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 6.97 (m, 2H), 6.67 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.11 (m, 1H), 3.50 (m, 2H), 3.01 (m, 3H), 2.87 (m, 3H), 2.65 (m, 2H), 1.78 (m, 4H), 1.75 (m, 2H), 1.58 (m, 2H), 1.34 (m, 2H), 1.28 (s, 9H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 171.92, 171.63, 155.28, 152.36, 136.20, 134.19, 127.51, 126.37, 124.18, 124.02, 123.93, 123.75, 120.94, 118.62, 118.26, 117.24, 114.68, 111.39, 110.40, 78.08, 59.93, 55.38, 47.98, 38.50, 30.13, 28.85, 28.30, 28.09, 24.74, 23.65, 22.68, 22.32, 21.77, 20.93

Mol. hm.: 603.3

ESI-MS: *m/z* 604.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>34</sub>H<sub>43</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>604.3)

***tert*-butyl-[1-({6-[(6-chlor-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]hexyl}amino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (38)**



Výtěžek: 41.0 %

Teplota tání: 77.5 – 81.9°C

Vzhled: žlutý prášek

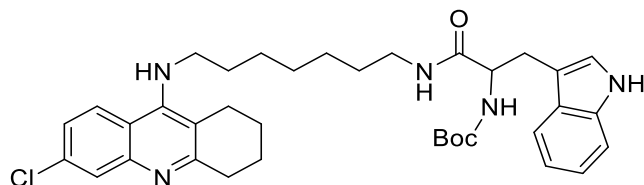
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.72 (m, 1H), 7.87 (m, 2H), 7.63 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.26 (m, 1H), 7.11 (m, 2H), 7.01 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 4.38 (m, 1H), 3.44 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.07 (m, 6H), 2.65 (m, 3H), 1.89 (m, 5H), 1.55 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.21 (m, 4H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 171.57, 158.81, 155.41, 151.11, 147.32, 136.21, 134.30, 127.33, 126.65, 124.73, 124.28, 123.16, 122.07, 119.54, 118.81, 117.97, 115.38, 111.19, 110.50, 80.01, 55.28, 49.23, 39.11, 33.47, 31.41, 29.05, 28.53, 28.25, 26.31, 26.21, 24.42, 22.74, 22.41

Mol. hm.: 617.3

ESI-MS: *m/z* 618.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>35</sub>H<sub>45</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>618.3)

**tert-butyl-[1-({7-[(6-chlor-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]heptyl}amino)-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (39)**



Výtěžek: 73.6 %

Teplota tání: -

Vzhled: žlutý olej

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8.08 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.31 (dd, *J* = 9.2, 2.2 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.99 (m, 3H), 4.26 (m, 1H), 3.56 (m, 2H), 3.30 (m, 2H), 3.12 (m, 2H), 2.93 (m, 3H), 2.65 (m, 2H), 1.87 (m, 4H), 1.62 (m, 2H), 1.35 (s, 9H), 1.27 (m, 5H), 1.11 (m, 2H).

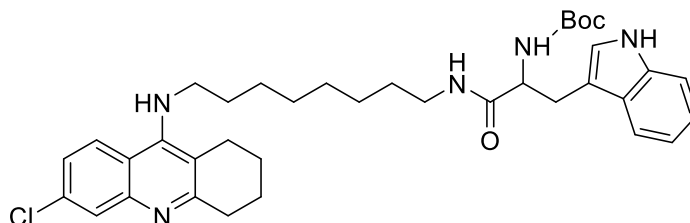
<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 174.57, 158.82, 157.46, 154.03, 147.18, 137.98, 136.22, 128.78, 126.90, 125.31, 125.24, 124.50, 122.33, 119.70, 119.38, 118.71, 116.06, 112.20, 110.97, 80.59, 61.52, 57.13, 40.23, 33.40, 32.02, 29.95, 29.89, 29.44, 28.63, 27.71, 27.53, 25.70, 23.74, 23.23, 22.05, 2085

Mol. hm.: 631.3

ESI-MS: *m/z* 631.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>36</sub>H<sub>47</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>631.3)



***tert*-butyl-[1-({8-[(6-chlor-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]oktyl}amino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (40)**



Výtěžek: 42.6 %

Teplota tání: -

Vzhled: hnědý olej

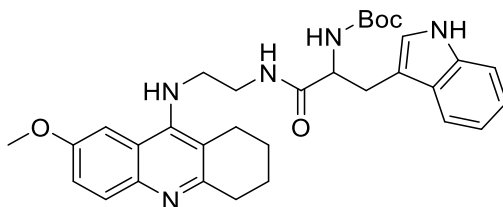
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8.14 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.35 (dd, *J* = 9.1, 2.2 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.00 (m, 3H), 4.26 (m, 1H), 3.63 (m, 2H), 3.13 (m, 2H), 2.93 (m, 2H), 2.66 (m, 2H), 1.93 (m, 10H), 1.89 (m, 4H), 1.67 (m, 2H), 1.35 (s, 9H), 1.10 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 174.58, 172.98, 157.66, 154.69, 146.01, 137.98, 136.89, 128.78, 127.21, 125.50, 124.50, 124.23, 122.33, 119.70, 119.37, 118.17, 115.64, 112.21, 110.98, 80.58, 61.52, 57.14, 40.28, 32.69, 31.91, 30.14, 30.09, 29.43, 28.63, 28.32, 27.70, 27.55, 25.53, 23.59, 22.98, 22.06, 20.85

Mol. hm.: 645.3

ESI-MS: *m/z* 646.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>37</sub>H<sub>49</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>646.3)

***tert*-butyl-[3-(1*H*-indol-3-yl)-[1-({2-[(7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]ethyl}amino)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (41)**



Výtěžek: 44.2 %

Teplota tání: -

Vzhled: žlutý olej

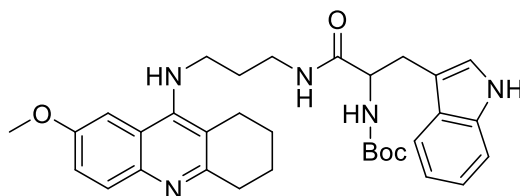
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.77 (m, 1H), 8.08 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.40 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.22 (dd, *J* = 9.1, 2.7 Hz, 1H), 7.09 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.98 (m, 2H), 6.73 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.13 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.29 (m, 2H), 2.98 (m, 1H), 2.87 (m, 3H), 2.71 (m, 2H), 2.49 (m, 2H), 1.98 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.28 (s, 9H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 172.82, 170.52, 155.75, 155.34, 155.17, 149.94, 136.20, 129.10, 127.49, 123.75, 120.97, 120.88, 120.55, 118.60, 118.29, 116.73, 111.40, 110.33, 101.83, 78.16, 59.94, 55.62, 55.41, 47.50, 32.89, 29.17, 28.29, 27.95, 25.23, 22.88, 22.49, 20.94

Mol. hm.: 557.3

ESI-MS: *m/z* 558.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>32</sub>H<sub>40</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>558.3)

***tert*-butyl-[3-(1*H*-indol-3-yl)-[1-({3-[(7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]propyl}amino)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (42)**



Výtěžek: 15.0 %

Teplota tání: 83.3 – 87.6°C

Vzhled: žlutý prášek

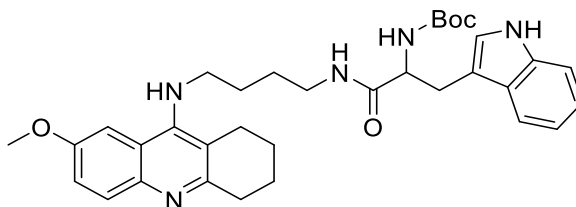
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 7.66 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.47 (m, 1H), 7.30 (m, 1H), 7.26 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.98 (m, 2H), 4.27 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.42 (m, 2H), 3.30 (m, 3H), 3.19 (m, 3H), 2.95 (m, 2H), 2.73 (m, 2H), 1.89 (m, 2H), 1.67 (m, 2H), 1.34 (s, 9H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 176.36, 175.37, 158.12, 157.55, 154.47, 154.05, 137.97, 128.76, 126.34, 124.55, 123.41, 122.38, 121.08, 119.73, 119.37, 112.23, 111.38, 110.96, 103.27, 80.64, 61.53, 57.33, 56.35, 45.44, 37.36, 31.75, 29.20, 28.61, 26.22, 23.76, 22.11, 22.07, 20.86

Mol. hm.: 571.3

ESI-MS: *m/z* 572.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>33</sub>H<sub>42</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>572.3)

***tert*-butyl-[3-(1*H*-indol-3-yl)-[1-({4-[(7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]butyl}amino)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (43)**



Výtěžek: 79.4 %

Teplota tání: -

Vzhled: hnědý olej

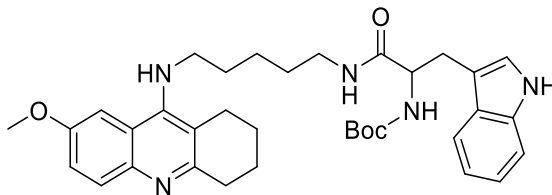
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 7.66 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.23 (dd, *J* = 9.2, 2.7 Hz, 1H), 7.05 (s, 1H), 7.02 (m, 1H), 6.96 (m, 1H), 4.25 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.38 (m, 2H), 3.13 (m, 2H), 3.00 (m, 2H), 2.92 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.70 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 1.93 (s, 9H), 1.87 (m, 4H), 1.45 (m, 2H), 1.18 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 176.34, 174.69, 172.96, 157.68, 156.20, 152.70, 142.54, 137.97, 128.69, 124.55, 123.26, 121.30, 119.57, 117.66, 112.19, 110.98, 102.99, 80.59, 61.51, 57.18, 56.13, 48.48, 39.97, 33.40, 29.37, 28.62, 27.63, 26.17, 24.00, 23.53, 22.06, 20.85

Mol. hm.: 585.3

ESI-MS: *m/z* 586.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>34</sub>H<sub>44</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>586.3)

***tert*-butyl-[3-(1*H*-indol-3-yl)-[1-({5-[(7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]pentyl}amino)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (44)**



Výtěžek: 28.8 %

Teplota tání: 72.7 – 75.4°C

Vzhled: žlutý prášek

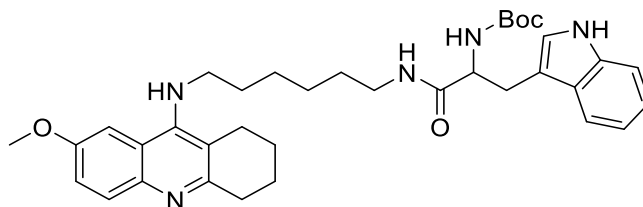
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.77 (m, 1H), 7.83 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.40 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.18 (dd, *J* = 9.1, 2.7 Hz, 1H), 6.99 (m, 2H), 6.66 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 4.12 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.00 (m, 2H), 2.86 (t, *J* = 6.4 Hz, 3H), 2.71 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.50 (m, 3H), 1.80 (m, 2H), 1.75 (m, 4H), 1.49 (m, 2H), 1.40 (m, 2H), 1.28 (s, 9H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 171.68, 170.53, 155.74, 155.60, 149.61, 142.76, 136.21, 129.93, 127.54, 123.75, 121.39, 120.96, 120.10, 118.67, 118.28, 117.22, 111.40, 110.44, 101.72, 78.10, 59.95, 55.58, 55.36, 47.44, 38.35, 33.37, 28.31, 28.14, 26.76, 25.46, 23.00, 22.71, 22.69, 22.28, 20.95

Mol. hm.: 599.4

ESI-MS: *m/z* 600.4 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>35</sub>H<sub>46</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>600.4)

***tert*-butyl-[3-(1*H*-indol-3-yl)-[1-({6-[(7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]hexyl}amino)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (45)**



Výtěžek: 73.9 %

Teplota tání: -

Vzhled: žlutý olej

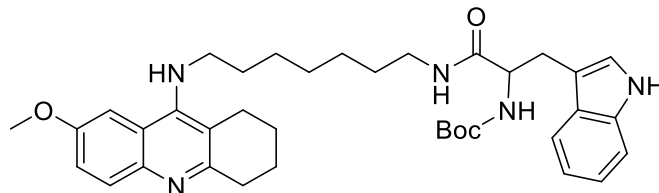
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.79 (m, 1H), 7.78 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.18 (dd, *J* = 9.1, 2.7 Hz, 1H), 7.10 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.98 (m, 2H), 6.69 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.31 (m, 6H), 3.01 (m, 3H), 2.87 (m, 3H), 2.71 (m, 2H), 2.49 (m, 2H), 1.78 (m, 6H), 1.28 (s, 9H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 171.87, 155.76, 155.56, 149.61, 142.86, 136.19, 130.02, 127.52, 126.11, 124.37, 123.73, 121.47, 120.94, 118.64, 117.27, 111.38, 110.42, 101.68, 78.05, 59.93, 55.53, 47.70, 38.57, 33.42, 32.46, 30.81, 30.78, 29.18, 28.29, 26.36, 25.50, 25.11, 23.00, 22.75, 20.93

Mol. hm.: 614.4

ESI-MS: *m/z* 615.4 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>36</sub>H<sub>48</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>615.4)

***tert*-butyl-[3-(1*H*-indol-3-yl)-[1-({7-[(7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]heptyl}amino)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (46)**



Výtěžek: 85.9 %

Teplota tání: -

Vzhled: žlutý olej

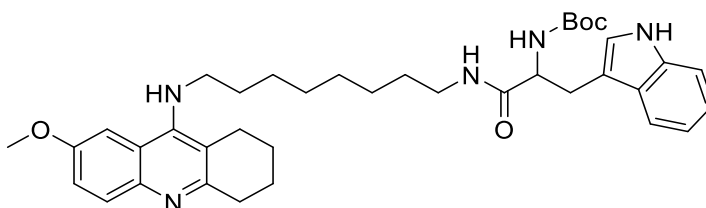
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.79 (s, 1H), 7.77 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.63 (dd, *J* = 9.1, 1.6 Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.18 (m, 1H), 7.10 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 6.99 (m, 2H), 6.68 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.13 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.31 (m, 8H), 3.00 (m, 4H), 2.87 (m, 2H), 2.71 (m, 2H), 2.49 (m, 2H), 1.79 (m, 6H), 1.29 (s, 9H)

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 171.83, 170.50, 155.70, 149.69, 142.77, 136.19, 129.94, 127.53, 123.72, 121.40, 121.37, 120.93, 120.06, 118.64, 118.26, 117.19, 111.38, 110.42, 101.73, 78.05, 59.93, 55.53, 55.34, 47.73, 38.62, 33.37, 30.81, 29.07, 28.76, 28.30, 28.10, 26.57, 26.42, 25.46, 22.98, 22.73, 20.94

Mol. hm.: 627.4

ESI-MS: *m/z* 628.4 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>37</sub>H<sub>50</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>628.4)

***tert*-butyl-[3-(1*H*-indol-3-yl)-[1-({8-[(7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl)amino]oktyl}amino)-1-oxopropan-2-yl]karbamát (47)**



Výtěžek: 40.0 %

Teplota tání: -

Vzhled: hnědý olej

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 7.65 (dd, *J* = 9.2, 1.1 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.52 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.48 (m, 1H), 7.28 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 7.01 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.94 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 4.25 (m, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.87 (m, 2H), 3.14 (m, 2H), 2.98 (m, 2H), 2.68 (m, 2H), 1.93 (s, 16H), 1.78 (m, 2H), 1.35 (s, 9H).

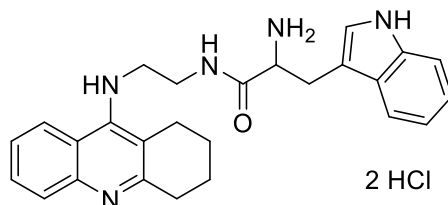
<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 176.37, 174.61, 158.47, 157.15, 150.50, 137.94, 134.50, 128.72, 125.38, 124.51, 122.31, 121.70, 119.68, 119.32, 118.51, 112.87, 112.22, 110.94, 104.96, 80.62, 57.16, 56.47, 49.28, 48.74, 40.80, 40.26, 31.80, 30.06, 30.00, 29.39, 29.14, 28.60, 27.55, 27.23, 25.28, 23.04, 22.06, 21.79

Mol. hm.: 641.4

ESI-MS: *m/z* 642.4 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>38</sub>H<sub>52</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>642.4)



**2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-{2-[(1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]ethyl} propanamid-dihydrochlorid (48)**



Výtěžek: 86.7 %

Teplota tání: 192.4 – 195.3°C

Vzhled: žlutý prášek

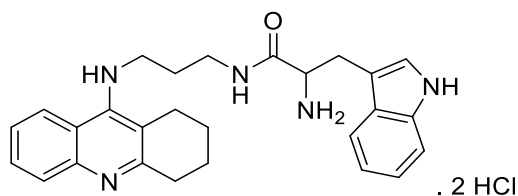
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 14.25 (s, 1H), 11.06 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 9.36 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 8.44 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 8.02 (dd, *J* = 8.6, 1.2 Hz, 1H), 7.83 (m, 2H), 7.55 (m, 2H), 7.23 (m, 2H), 6.90 (m, 2H), 4.26 (m, 2H), 3.99 (m, 1H), 3.85 (m, 2H), 3.13 (m, 2H), 2.98 (m, 2H), 2.59 (m, 2H), 1.78 (m, 4H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 169.65, 155.74, 150.68, 138.05, 136.28, 132.65, 127.22, 125.42, 125.20, 124.92, 121.12, 119.26, 118.60, 118.46, 115.64, 111.48, 111.42, 107.05, 56.19, 53.04, 46.96, 34.17, 28.07, 27.14, 24.09, 21.66

Mol. hm.: 427.2

ESI-MS: *m/z* 428.2 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>N<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>428.2)

**2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-{3-[(1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]propyl} propanamid-dihydrochlorid (49)**



Výtěžek: 92.1 %

Teplota tání: 148.8 – 152.0°C

Vzhled: žlutý prášek

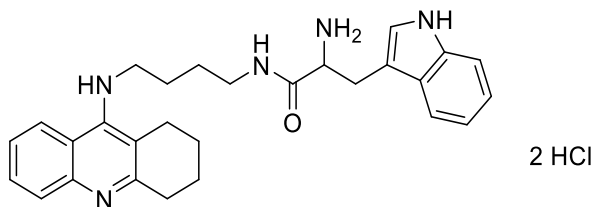
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8.28 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 4.0 Hz, 2H), 7.54 (m, 2H), 7.23 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.10 (s, 1H), 6.94 (m, 2H), 4.28 (m, 1H), 3.18 (m, 2H), 3.02 (m, 2H), 2.68 (m, 2H), 1.94 (m, 8H), 1.80 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 175.48, 157.91, 151.69, 139.64, 137.92, 133.98, 128.76, 126.44, 126.36, 124.68, 122.30, 120.12, 119.69, 119.40, 117.05, 112.95, 112.26, 110.85, 57.42, 45.69, 37.07, 31.27, 29.36, 28.64, 25.02, 23.01, 21.83

Mol. hm.: 441.3

ESI-MS: *m/z* 442.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>N<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>442.3)

**2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-{4-[(1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]butyl} propanamid-dihydrochlorid (50)**



Výtěžek: 52.6 %

Teplota tání: 76.3 – 82.0°C

Vzhled: žlutý prášek

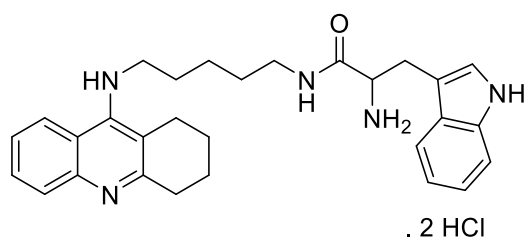
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.78 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.83 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.69 (dd, *J* = 8.3, 1.2 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.50 (ddd, *J* = 8.2, 6.7, 1.2 Hz, 1H), 7.32 (m, 2H), 7.10 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 6.99 (m, 2H), 6.67 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.02 (m, 2H), 2.88 (m, 2H), 2.70 (m, 2H), 1.79 (m, 4H), 1.50 (m, 2H), 1.38 (m, 2H), 1.29 (m, 4H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 171.92, 157.91, 155.26, 150.51, 146.89, 136.19, 128.25, 127.52, 123.74, 123.40, 123.23, 120.93, 120.31, 118.65, 118.25, 115.87, 111.37, 110.42, 78.05, 55.34, 47.83, 38.43, 33.57, 28.30, 26.64, 25.22, 22.90, 22.57

Mol. hm.: 455.3

ESI-MS: *m/z* 456.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>N<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>456.3)

**2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-{5-[(1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]pentyl} propanamid-dihydrochlorid (51)**



Výtěžek: 83.0 %

Teplota tání: 118.5 – 121.1°C

Vzhled: hnědý prášek

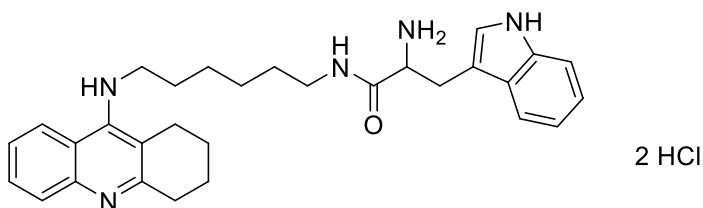
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ (ppm) 7.73 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.27 (m, 2H), 7.14 (m, 1H), 7.04 (m, 2H), 6.69 (m, 2H), 4.08 (m, 1H), 3.65 (m, 2H), 3.37 (m, 2H), 3.03 (m, 2H), 2.44 (m, 2H), 2.22 (m, 4H), 1.65 (m, 4H), 1.41 (m, 2H), 0.95 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 168.82, 154.52, 148.87, 136.93, 135.46, 132.25, 126.23, 124.58, 124.51, 124.38, 121.14, 118.60, 118.18, 117.53, 114.21, 111.05, 110.34, 105.77, 57.28, 53.42, 46.97, 39.06, 30.10, 29.26, 27.11, 26.77, 22.93, 20.92, 19.80

Mol. hm.: 469.3

ESI-MS: *m/z* 470.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>N<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>470.3)

**2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-{6-[(1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]hexyl} propanamid-dihydrochlorid (52)**



Výtěžek: 62.7 %

Teplota tání: -

Vzhled: hnědý olej

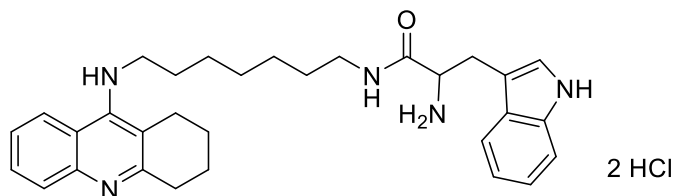
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8.36 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.80 (m, 2H), 7.58 (m, 2H), 7.32 (m, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.00 (m, 2H), 4.09 (m, 1H), 3.90 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 3.30 (m, 2H), 2.99 (m, 2H), 2.68 (m, 2H), 2.16 (m, 4H), 1.93 (m, 4H), 1.76 (m, 2H), 1.31 (m, 4H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 169.86, 157.77, 151.51, 139.63, 138.02, 133.97, 128.37, 126.48, 126.30, 125.53, 122.64, 120.09, 120.06, 119.27, 116.94, 112.71, 112.47, 108.08, 58.30, 55.18, 40.40, 31.33, 29.69, 27.28, 27.23, 24.97, 22.95, 21.80, 20.82, 20.79

Mol. hm.: 483.3

ESI-MS: *m/z* 484.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>30</sub>H<sub>38</sub>N<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>484.3)

**2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-{7-[(1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]heptyl} propanamid-dihydrochlorid (53)**



Výtěžek: 38.1 %

Teplota tání: 148.7 – 150.8°C

Vzhled: bílo-žlutý prášek

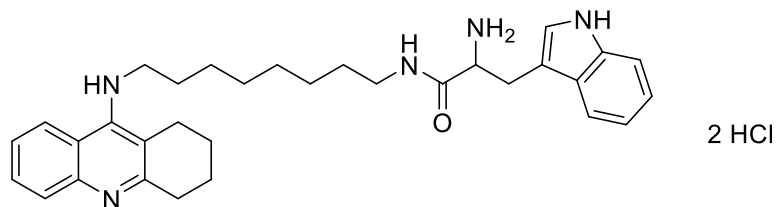
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.78 (m, 1H), 7.55 (m, 1H), 7.24 (m, 2H), 7.11 (m, 2H), 6.94 (m, 1H), 6.76 (m, 2H), 3.96 (m, 1H), 3.50 (m, 2H), 2.95 (m, 2H), 2.49 (m, 2H), 2.11 (m, 2H), 1.63 (m, 4H), 1.55 (m, 2H), 1.19 (m, 2H), 1.08 (m, 8H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 169.03, 157.77, 155.03, 149.12, 137.35, 135.75, 132.42, 126.25, 124.69, 124.54, 121.57, 118.93, 118.48, 117.55, 114.48, 111.41, 110.68, 105.89, 57.40, 53.55, 47.31, 39.30, 29.45, 27.56, 27.45, 27.04, 25.43, 25.40, 22.79, 21.11, 20.04

Mol. hm.: 497.3

ESI-MS: *m/z* 498.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>31</sub>H<sub>40</sub>N<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>498.3)

**2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-{8-[(1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]oktyl} propanamid-dihydrochlorid (54)**



Výtěžek: 83.3 %

Teplota tání: -

Vzhled: žlutý olej

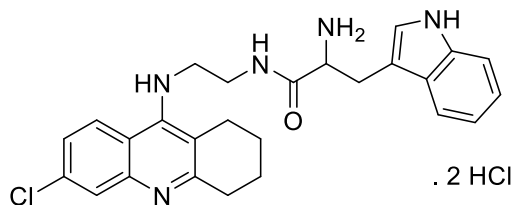
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 14.20 (s, 1H), 11.09 (s, 1H), 8.43 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.03 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.83 (m, 1H), 7.58 (m, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.99 (m, 2H), 3.94 (m, 1H), 3.83 (m, 2H), 3.17 (m, 2H), 3.02 (m, 2H), 2.66 (m, 2H), 1.81 (m, 4H), 1.70 (m, 2H), 1.20 (m, 10H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 168.23, 155.80, 150.76, 138.06, 136.35, 132.69, 127.33, 125.25, 125.17, 124.86, 121.14, 119.30, 118.69, 118.47, 115.73, 111.54, 111.21, 107.26, 53.06, 52.57, 47.30, 36.65, 34.22, 29.99, 28.78, 28.72, 28.67, 28.07, 27.42, 26.36, 24.25, 21.67

Mol. hm.: 511.3

ESI-MS: *m/z* 512.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>32</sub>H<sub>42</sub>N<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>512.3)

**2-amino-*N*-{2-[(6-chlor-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]ethyl}-3-(1*H*-indol-3-yl)propanamid-dihydrochlorid (55)**



Výtěžek: 56.2 %

Teplota tání: 65.1 – 68.5°C

Vzhled: žlutý prášek

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.63 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H), 7.35 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.14 (m, 3H), 6.72 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.26 (m, 1H), 3.51 (m, 2H), 3.29 (m, 2H), 2.67 (dt, *J* = 7.9, 4.1 Hz, 2H), 2.01 (m, 6H), 1.67 (m, 2H).

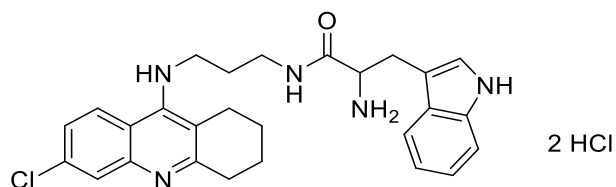
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 171.34, 154.92, 150.15, 138.59, 138.43, 135.68, 127.25, 126.83, 125.54, 121.66, 119.30, 117.90, 117.77, 113.93, 111.98, 111.28, 105.97, 53.73, 39.50, 30.83, 30.20, 28.23, 26.55, 23.06, 21.77

Mol. hm.: 461.2

ESI-MS: *m/z* 462.2 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>ClN<sub>5</sub>O]<sup>+</sup> 462.2)



**2-amino-N-{3-[(6-chlor-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]propyl}-3-(1H-indol-3-yl)propanamid-dihydrochlorid (56)**



Výtěžek: 53.0 %

Teplota tání: 82.2 – 85.3°C

Vzhled: žluto-hnědý prášek

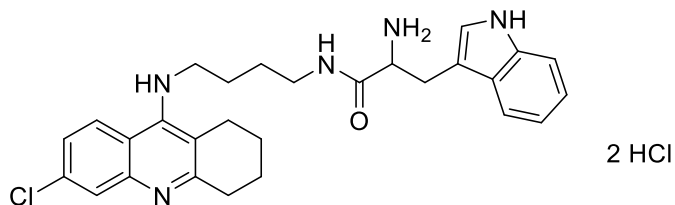
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.56 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.32 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.18 (m, 3H), 6.83 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.62 (m, 2H), 4.13 (m, 1H), 3.17 (m, 2H), 3.11 (m, 2H), 2.74 (m, 2H), 2.22 (m, 4H), 1.81 (m, 4H), 1.41 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 169.05, 154.72, 149.89, 137.89, 135.32, 126.42, 124.95, 124.50, 124.46, 121.18, 121.06, 118.62, 117.57, 117.30, 112.87, 111.51, 110.91, 106.10, 53.90, 44.63, 36.37, 30.23, 28.68, 27.66, 26.53, 22.85, 21.02

Mol. hm.: 475.2

ESI-MS: *m/z* 476.2 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>27</sub>H<sub>31</sub>ClN<sub>5</sub>O]<sup>+</sup> 476.2)

**2-amino-*N*-{4-[(6-chloro-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]butyl}-3-(1*H*-indol-3-yl)propanamid-dihydrochlorid (57)**



Výtěžek: 82.8 %

Teplota tání: 88.5 – 91.7°C

Vzhled: hnědý prášek

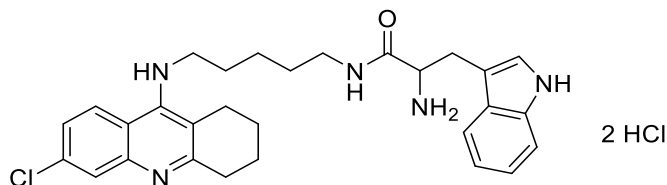
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.09 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.75 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 8.44 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 8.30 (d, *J* = 5.5 Hz, 3H), 8.11 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.63 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.56 (dd, *J* = 9.3, 2.2 Hz, 1H), 7.30 (m, 1H), 7.21 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.01 (dd, *J* = 8.2, 6.9 Hz, 1H), 6.93 (m, 1H), 3.94 (m, 1H), 3.77 (m, 2H), 3.12 (m, 3H), 3.00 (m, 1H), 2.98 (m, 2H), 2.49 (m, 2H), 1.79 (m, 4H), 1.62 (m, 2H), 1.37 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 168.38, 155.55, 151.21, 138.80, 137.09, 136.33, 127.84, 127.26, 125.38, 124.87, 121.13, 118.69, 118.46, 118.03, 114.30, 111.70, 111.50, 107.23, 53.06, 46.89, 38.32, 34.19, 28.07, 27.43, 25.88, 24.21, 22.67, 21.54

Mol. hm.: 489.2

ESI-MS: *m/z* 490.2 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>28</sub>H<sub>33</sub>ClN<sub>5</sub>O]<sup>+</sup> 490.2)

**2-amino-*N*-{5-[(6-chlor-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]pentyl}-3-(1*H*-indol-3-yl)propanamid-dihydrochlorid (58)**



Výtěžek: 73.9 %

Teplota tání: 83.4 – 87.8°C

Vzhled: hnědý prášek

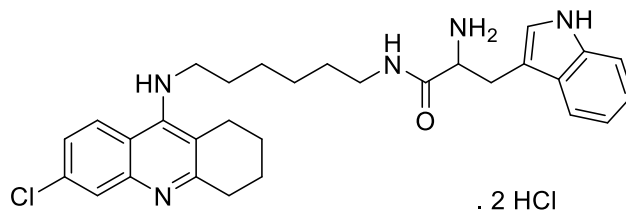
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.12 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 8.69 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 8.45 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 8.31 (d, *J* = 5.5 Hz, 3H), 8.12 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.63 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.56 (dd, *J* = 9.2, 2.2 Hz, 1H), 7.44 (m, 1H), 7.30 (m, 2H), 7.20 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.97 (m, 2H), 3.94 (m, 1H), 3.78 (m, 2H), 3.13 (m, 3H), 2.98 (m, 3H), 2.63 (m, 2H), 1.78 (m, 4H), 1.67 (m, 2H), 1.33 (m, 2H), 1.22 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 168.31, 155.53, 151.40, 138.86, 137.10, 136.36, 127.89, 127.30, 125.39, 124.87, 121.15, 118.73, 118.49, 118.05, 114.27, 111.67, 111.55, 107.26, 56.21, 53.06, 47.26, 34.21, 29.54, 28.36, 28.07, 27.46, 23.54, 21.54, 20.35

Mol. hm.: 503.3

ESI-MS: *m/z* 504.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>29</sub>H<sub>35</sub>ClN<sub>5</sub>O]<sup>+</sup> 504.3)

**2-amino-N-{6-[(6-chlor-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]hexyl}-3-(1H-indol-3-yl)propanamid-dihydrochlorid (59)**



Výtěžek: 75.0 %

Teplota tání: 141.1 – 143.5°C

Vzhled: šedý prášek

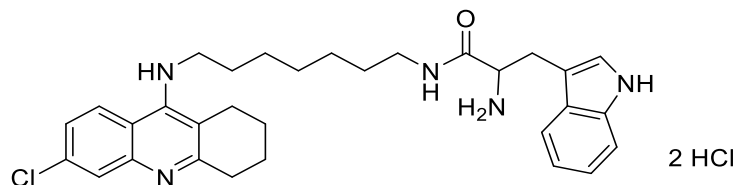
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.12 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 8.65 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 8.46 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 8.32 (d, *J* = 5.5 Hz, 3H), 8.15 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.55 (dd, *J* = 9.2, 2.2 Hz, 1H), 7.20 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.97 (m, 2H), 3.95 (m, 1H), 3.80 (m, 2H), 3.17 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 2.99 (m, 4H), 2.63 (m, 2H), 1.79 (m, 4H), 1.66 (m, 2H), 1.22 (m, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 168.23, 155.49, 151.17, 138.82, 137.04, 136.32, 127.80, 127.29, 125.33, 124.79, 121.09, 118.68, 118.43, 118.02, 114.29, 111.62, 111.50, 107.24, 56.16, 53.03, 47.16, 29.78, 28.63, 28.05, 27.38, 25.97, 25.87, 24.20, 22.66, 21.53, 20.34

Mol. hm.: 517.3

ESI-MS: *m/z* 518.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>30</sub>H<sub>37</sub>ClN<sub>5</sub>O]<sup>+</sup> 518.3)

**2-amino-*N*-{7-[(6-chlor-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]heptyl}-3-(1*H*-indol-3-yl)propanamid-dihydrochlorid (60)**



Výtěžek: 84.0 %

Teplota tání: 121.8 – 125.9°C

Vzhled: hnědý prášek

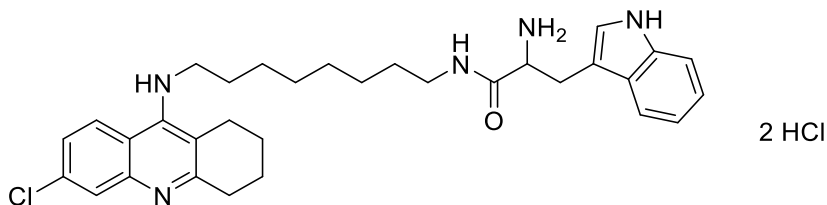
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.82 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.39 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 8.01 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.82 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.55 (m, 2H), 7.29 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.08 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 6.97 (m, 2H), 6.68 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.81 (m, 2H), 3.67 (m, 2H), 3.00 (m, 4H), 2.60 (m, 2H), 1.79 (m, 4H), 1.70 (m, 2H), 1.28 (s, 8H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 171.87, 155.58, 155.25, 151.10, 138.80, 137.18, 136.17, 127.74, 125.34, 123.70, 120.88, 118.58, 118.20, 114.20, 111.66, 111.37, 110.36, 78.04, 55.39, 48.75, 47.43, 29.81, 29.02, 28.44, 26.24, 26.17, 23.97, 22.66, 21.46, 20.34

Mol. hm.: 531.3

ESI-MS: *m/z* 532.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>31</sub>H<sub>39</sub>ClN<sub>5</sub>O]<sup>+</sup> 532.3)

**2-amino-N-{8-[(6-chlor-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]oktyl}-3-(1H-indol-3-yl)propanamid-dihydrochlorid (61)**



Výtěžek: 76.0 %

Teplota tání: 151.9 – 154.3°C

Vzhled: hnědý prášek

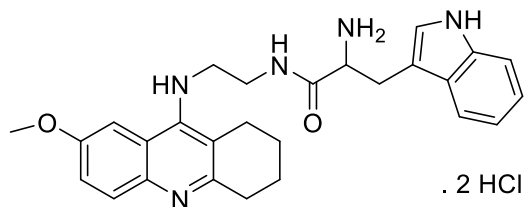
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8.36 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.51 (m, 2H), 7.32 (m, 1H), 7.01 (m, 2H), 4.08 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 3.91 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 3.18 (m, 2H), 2.99 (m, 3H), 2.66 (m, 3H), 1.93 (m, 4H), 1.81 (m, 2H), 1.40 (m, 2H), 1.27 (m, 6H), 1.14 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 168.28, 155.62, 151.21, 138.89, 137.15, 136.39, 127.84, 127.34, 125.38, 124.89, 121.20, 118.72, 118.51, 118.10, 114.34, 111.71, 111.57, 107.28, 67.19, 53.10, 47.41, 34.36, 31.52, 29.88, 28.76, 28.11, 27.48, 27.06, 24.17, 22.46, 21.57, 20.40

Mol. hm.: 545.3

ESI-MS: *m/z* 546.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>32</sub>H<sub>41</sub>ClN<sub>5</sub>O]<sup>+</sup> 546.3)

**2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-{2-[(7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]ethyl}propanamid-dihydrochlorid (62)**



Výtěžek: 98.5 %

Teplota tání: 97.1 – 99.2°C

Vzhled: žlutý prášek

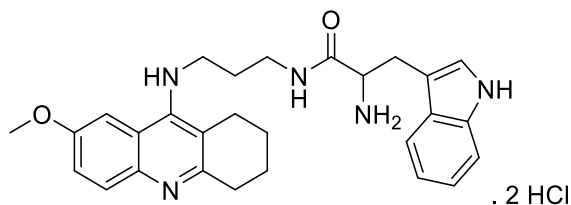
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.05 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 9.29 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 8.38 (d, *J* = 5.5 Hz, 3H), 7.96 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J* = 9.2, 2.4 Hz, 1H), 7.28 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.20 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.94 (m, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.37 (m, 2H), 3.11 (m, 2H), 2.99 (m, 2H), 2.71 (m, 2H), 2.49 (m, 2H), 1.77 (m, 5H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 169.39, 156.85, 154.96, 150.05, 136.33, 132.63, 127.22, 124.91, 124.18, 121.16, 118.63, 118.47, 117.77, 111.51, 111.30, 107.09, 103.74, 56.53, 53.07, 45.97, 34.20, 28.08, 27.17, 25.10, 21.98, 20.41, 18.76

Mol. hm.: 457.3

ESI-MS: *m/z* 458.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 458.3)

**2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-{3-[(7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]propyl}propanamid-dihydrochlorid (63)**



Výtěžek: 61.0 %

Teplota tání: 97.2 – 101.4°C

Vzhled: šedý prášek

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.08 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 9.06 (m, 1H), 8.35 (d, *J* = 5.2 Hz, 3H), 7.98 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 7.84 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.66 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J* = 9.2, 2.4 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.23 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.97 (m, 2H), 3.93 (m, 4H), 3.76 (m, 2H), 3.15 (m, 4H), 3.00 (m, 2H), 2.71 (m, 2H), 1.75 (m, 6H).

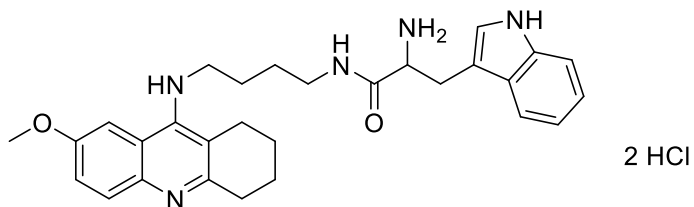
<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 168.87, 157.11, 155.12, 150.21, 136.62, 132.87, 127.53, 125.19, 124.36, 121.42, 121.25, 119.01, 118.74, 117.95, 111.78, 111.50, 107.50, 103.88, 56.76, 43.77, 36.05, 30.40, 28.32, 27.61, 25.33, 23.06, 22.21, 20.70

Mol. hm.: 471.3

ESI-MS: *m/z* 472.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 472.3)



**2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-{4-[(7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]butyl}propanamid-dihydrochlorid (64)**



Výtěžek: 61.0 %

Teplota tání: 98.5°C

Vzhled: šedý olej

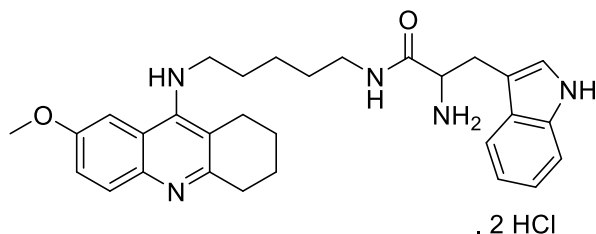
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 7.75 (dd, *J* = 9.2, 1.7 Hz, 1H), 7.65 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.60 (dt, *J* = 7.3, 1.2 Hz, 1H), 7.49 (dt, *J* = 4.7, 2.0 Hz, 2H), 7.21 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.00 (m, 2H), 4.08 (m, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.81 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.20 (m, 2H), 2.99 (m, 2H), 2.73 (m, 2H), 1.92 (m, 6H), 1.61 (m, 2H), 1.40 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 170.01, 158.64, 157.04, 150.75, 138.06, 134.40, 128.41, 125.63, 125.40, 122.67, 121.79, 120.09, 119.34, 118.73, 112.90, 112.46, 108.12, 104.95, 56.78, 55.25, 48.06, 40.01, 29.26, 29.10, 28.81, 27.14, 25.77, 23.18, 21.84

Mol. hm.: 485.3

ESI-MS: *m/z* 486.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 486.3)

**2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-{5-[(7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]pentyl}propanamid-dihydrochlorid (65)**



Výtěžek: 73.0 %

Teplota tání: 155.0 – 157.7°C

Vzhled: šedý prášek

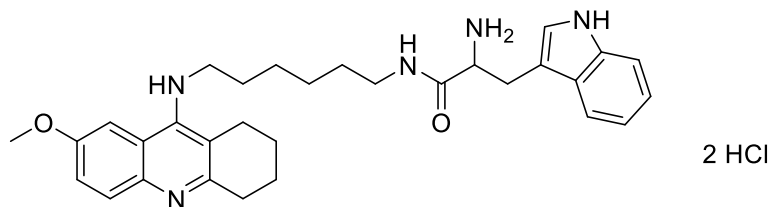
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.13 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 8.75 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 8.32 (d, *J* = 5.5 Hz, 3H), 7.97 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.51 (s, 2H), 7.30 (d, *J* = 2.7 Hz, 3H), 7.20 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.97 (m, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.75 (m, 2H), 3.10 (m, 3H), 2.99 (m, 3H), 2.70 (m, 2H), 2.49 (m, 3H), 1.78 (m, 4H), 1.60 (m, 2H), 1.35 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 169.39, 156.85, 154.96, 150.05, 136.33, 132.63, 127.22, 124.91, 124.18, 121.16, 118.63, 118.47, 117.77, 111.51, 111.30, 107.09, 103.74, 56.53, 56.21, 53.07, 45.97, 40.20, 39.20, 34.20, 28.08, 27.17, 25.10, 21.98, 20.41, 18.76

Mol. hm.: 499.3

ESI-MS: *m/z* 500.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>30</sub>H<sub>38</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 500.3)

**2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-{6-[(7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]hexyl}propanamid-dihydrochlorid (66)**



Výtěžek: 98.5 %

Teplota tání: 132.4 – 135.6°C

Vzhled: hnědý prášek

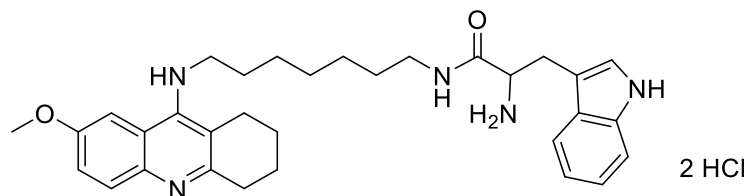
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 7.73 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.47 (dd, *J* = 9.1, 2.3 Hz, 1H), 7.32 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.01 (m, 2H), 4.07 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.87 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.30 (m, 2H), 3.18 (m, 2H), 2.99 (m, 2H), 2.73 (m, 2H), 1.91 (m, 4H), 1.74 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.31 (m, 4H), 1.17 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 169.87, 158.54, 157.06, 150.60, 138.05, 134.41, 128.36, 125.51, 122.67, 121.76, 120.08, 119.23, 118.60, 112.78, 112.48, 108.09, 104.93, 56.68, 55.20, 53.83, 40.44, 31.81, 29.73, 29.23, 28.82, 27.38, 27.31, 25.67, 23.15, 21.85, 21.66

Mol. hm.: 513.3

ESI-MS: *m/z* 514.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>31</sub>H<sub>40</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 514.3)

**2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-{7-[(7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]heptyl}propanamid-dihydrochlorid (67)**



Výtěžek: 85.0 %

Teplota tání: 125.1 – 128.9°C

Vzhled: žlutý prášek

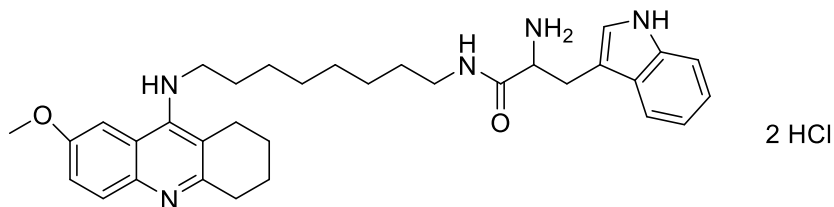
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.11 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 8.61 (s, 1H), 8.30 (d, *J* = 5.3 Hz, 3H), 7.98 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.50 (dd, *J* = 9.2, 2.5 Hz, 1H), 7.33 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.20 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.99 (m, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.78 (m, 2H), 3.18 (m, 2H), 3.01 (m, 3H), 2.69 (m, 3H), 1.78 (m, 5H), 1.67 (m, 2H), 1.22 (m, 6H), 1.12 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 168.24, 156.66, 154.92, 149.78, 136.35, 132.74, 127.31, 124.85, 123.95, 121.14, 120.98, 118.70, 118.46, 117.46, 111.54, 110.97, 107.25, 103.90, 56.31, 53.05, 46.63, 38.84, 30.50, 28.69, 28.47, 28.01, 27.43, 26.32, 26.17, 24.95, 21.92, 20.47

Mol. hm.: 527.3

ESI-MS: *m/z* 528.3 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>32</sub>H<sub>42</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 528.3)

**2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-{8-[(7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]oktyl}propanamid-dihydrochlorid (68)**



Výtěžek: 79.2 %

Teplota tání: 163.5 – 166.2°C

Vzhled: žlutý prášek

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 7.75 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.65 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.49 (m, 1H), 7.33 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.03 (m, 2H), 4.06 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.89 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.18 (m, 2H), 3.00 (m, 4H), 2.73 (m, 2H), 1.92 (m, 4H), 1.79 (m, 2H), 1.39 (m, 2H), 1.25 (m, 8H).

<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 169.85, 158.55, 157.14, 150.61, 138.08, 134.47, 128.37, 125.52, 125.37, 122.71, 121.79, 120.14, 119.21, 118.61, 112.83, 112.51, 108.10, 104.98, 58.31, 56.64, 55.23, 40.62, 31.94, 30.14, 30.11, 29.82, 29.24, 28.84, 27.67, 25.62, 23.15, 21.87, 21.35

Mol. hm.: 541.4

ESI-MS: *m/z* 542.4 [M+H]<sup>+</sup> (vypočteno pro [C<sub>33</sub>H<sub>44</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> 542.4)

## 3.2 Biologické testování

### 3.2.1 Princip a postup měření

Tři série nových připravených hybridních sloučenin takrinu a L-tryptofanu byly zkoumány pro svůj inhibiční potenciál vůči *hAChE* a *hBChE*. Aktivita byla stanovena Ellmanovou metodou na modelu lidské rekombinantní AChE a BChE z lidské plazmy. Princip této metody spočívá v hydrolýze acetylcholinu/butyrylcholinu cholinesterasami za vzniku thiocholinu a příslušné kyseliny. Thiocholin následně reaguje se 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoovou kyselinou (DTNB) a dochází k uvolnění spektrofotometricky detekovatelného, žlutě zbarveného chromoforu, 5-thio-2-nitrobenzenového anionu.<sup>70</sup> Výsledky měření byly porovnány s inhibičními parametry referenčních sloučenin – L-tryptofanem, THA, 6-Cl-THA a 7-MEOTA.

Pro měření cholinesterasové aktivity byl použit multikanálový spektrofotometr Sunrise (Tecan, Salzburg, Rakousko) a 96 jamkové fotometrické mikrodestičky vyrobené z tvrzeného polystyrenu (Nunc Rockilde, Dánsko). Cholinesterasy byly suspendovány ve fosfátovém pufru (pH 7,4) na konečnou aktivitu 0,002 U/  $\mu$ l. Tento roztok cholinesterasy (5  $\mu$ l), roztok 0.4 mg/ml DTNB (40  $\mu$ l), 1 mM acetylthiocholin-chloridu ve fosfátovém pufru (20  $\mu$ l) byl smíchán v jamce s příslušným množstvím inhibitoru (1 mM–0.1 nM; 5  $\mu$ l). Absorbance byla měřena při 412 nm po 5 minutové inkubaci a automatickém třepání mikrodestičky. Z naměřených dat byla vypočítána procentuální inhibice (I) dle následujícího vzorce:

$$I = 1 - \frac{\Delta A_i}{\Delta A_0}$$

$\Delta A_i$  změna absorbance vyvolaná ChE vystavenou působení inhibitoru

$\Delta A_0$  změna absorbance vyvolaná ChE, kde místo inhibitoru byl použit fosfátový pufr

Hodnoty  $IC_{50}$  byly stanoveny za použití programu Prism GrapPad 6. (La Jolla, CA, USA). Všechny výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ze tří nezávislých měření.

### 3.2.2 Výsledky měření

**Tab. 2.** Výsledky měření  $IC_{50}$

Sloučenina	n	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	$IC_{50}$ (nM) $\pm$ SEM <i>hAChE</i> <sup>a</sup>	$IC_{50}$ (nM) $\pm$ SEM <i>hBChE</i> <sup>a</sup>	SI <sup>b</sup>
THA	-	H	H	319.5 $\pm$ 13.3	217.5 $\pm$ 8.8	0.68
<b>48</b>	<b>2</b>	H	H	734.8 $\pm$ 32.1	56.28 $\pm$ 2.07	0.08
<b>49</b>	<b>3</b>	H	H	582.4 $\pm$ 32.8	40.05 $\pm$ 0.96	0.07
<b>50</b>	<b>4</b>	H	H	1298 $\pm$ 93	123.4 $\pm$ 2.4	0.10
<b>51</b>	<b>5</b>	H	H	316.9 $\pm$ 15.5	23.21 $\pm$ 0.69	0.07
<b>52</b>	<b>6</b>	H	H	122.6 $\pm$ 3.8	<b>3.94 <math>\pm</math> 0.11</b>	0.03
<b>53</b>	<b>7</b>	H	H	115.9 $\pm$ 3.5	24.94 $\pm$ 1.04	0.22
<b>54</b>	<b>8</b>	H	H	<b>76.15 <math>\pm</math> 1.10</b>	64.15 $\pm$ 1.69	0.84
6-Cl-THA	-	H	Cl	17.60 $\pm$ 0.55	1772 $\pm$ 97	100.68
<b>55</b>	<b>2</b>	H	Cl	161.6 $\pm$ 8.23	337.9 $\pm$ 16.9	2.09
<b>56</b>	<b>3</b>	H	Cl	69.75 $\pm$ 4.45	138.6 $\pm$ 6.2	1.99
<b>57</b>	<b>4</b>	H	Cl	61.67 $\pm$ 2.20	120.5 $\pm$ 3.9	1.95
<b>58</b>	<b>5</b>	H	Cl	75.70 $\pm$ 1.79	73.74 $\pm$ 1.02	0.97
<b>59</b>	<b>6</b>	H	Cl	<b>11.28 <math>\pm</math> 0.43</b>	<b>36.06 <math>\pm</math> 0.59</b>	3.20
<b>60</b>	<b>7</b>	H	Cl	19.00 $\pm$ 0.45	52.37 $\pm$ 1.09	2.76
<b>61</b>	<b>8</b>	H	Cl	49.87 $\pm$ 1.25	144.2 $\pm$ 2.8	2.89
7-MEOTA	-	OCH <sub>3</sub>	H	10000 $\pm$ 974	17560 $\pm$ 795	1.76
<b>62</b>	<b>2</b>	OCH <sub>3</sub>	H	5701 $\pm$ 367	481.3 $\pm$ 15.0	0.08
<b>63</b>	<b>3</b>	OCH <sub>3</sub>	H	1268 $\pm$ 53	1781 $\pm$ 68	1.40
<b>64</b>	<b>4</b>	OCH <sub>3</sub>	H	12400 $\pm$ 769	515.6 $\pm$ 22.5	0.04
<b>65</b>	<b>5</b>	OCH <sub>3</sub>	H	<b>616.3 <math>\pm</math> 20.5</b>	187.5 $\pm$ 6.7	0.30
<b>66</b>	<b>6</b>	OCH <sub>3</sub>	H	939.1 $\pm$ 61.1	<b>55.27 <math>\pm</math> 1.18</b>	0.06
<b>67</b>	<b>7</b>	OCH <sub>3</sub>	H	980.5 $\pm$ 46.8	78.14 $\pm$ 2.66	0.08
<b>68</b>	<b>8</b>	OCH <sub>3</sub>	H	1329 $\pm$ 76	130.6 $\pm$ 3.9	0.10
L-Tryptofan	-	-	-	n.a. <sup>c</sup>	n.a. <sup>c</sup>	-

<sup>a</sup> Uvedené výsledky jsou průměrnou hodnotou alespoň tří experimentů. <sup>b</sup> Index selektivity (SI) pro *hAChE* vyjadřuje poměr *hBChE*  $IC_{50}$ /*hAChE*  $IC_{50}$ . <sup>c</sup>n.a. = Látka v testovaném koncentračním rozmezí neinhubuje.

## 4 DISKUZE

Naměřené hodnoty  $IC_{50}$  byly porovnány se třemi referenčními standardy – THA, 6-Cl-THA a 7-MEOTA (Tab. 2). THA je selektivnější k *hBChE*, zatímco 6-Cl-THA a 7-MEOTA jsou preferenčními *hAChE* inhibitory. Ze standardů vykazuje nejvyšší inhibiční potenciál vůči *hAChE* 6-Cl-THA ( $IC_{50} = 17.60$  nM).

Celkem bylo testováno 21 nově připravených takrin-tryptofanových konjugátů. Připravené takrin-tryptofanové deriváty mají rozdílnou délku spojovacího řetězce. Tento faktor se ukázal důležitým při inhibici obou cholinesteras. Deriváty s vyšším počtem methylenových skupin ve spojovacím řetězci vykazují lepší inhibiční aktivitu vůči *hAChE* i *hBChE*. Optimální délka spojovacího řetězce je 5–8 atomů uhlíku.

Všechny nové heterodimery účinně inhibují *hAChE* i *hBChE* s  $IC_{50}$  v mikro- až nanomolárních hodnotách. Nové deriváty vykazují v porovnání se standardy, 7-MEOTA a 6-chlortakrin, vyšší *hBChE*-inhibiční účinnost. Nejlepšími inhibitory *hBChE* z každé série nových konjugátů jsou heterodimery **52**, **59** a **66**. Sloučenina **52** navíc jako jediná z připravené série vykazuje inhibiční aktivitu vůči *hBChE* v nanomolární koncentraci hodnoty  $IC_{50}$  ( $IC_{50} = 3.94$  nM). Oproti svému referenčnímu standardu, THA, je 55× silnějším inhibitorem *hBChE*.

V porovnání se 7-MEOTA jsou téměř všechny nové deriváty ze série 7-MEOTA-tryptofanových derivátů účinnějšími inhibitory *hAChE*. S výjimkou sloučeniny **64**, se  $IC_{50}$  pro *hAChE* pohybují v mikro- až submikromolárních hodnotách.

Většina konjugátů s THA (**48–54**) jsou lepšími inhibitory *hAChE* než THA samotný. Nejúčinnějším AChEI z této skupiny je heterodimer **54** ( $IC_{50} = 76.15$  nM). Oproti standardu THA je 4.2× silnějším inhibitorem AChE. Nejlepší inhibiční potenciál vůči BChE z této série vykazuje již výše zmíněný konjugát **52**. Ale i ostatní deriváty ze série inhibují *hBChE* účinněji než standard THA.

Všechny konjugáty 6-Cl-THA (**55–61**) jsou účinnějšími inhibitory *hBChE*, než standard 6-Cl-THA. Nejlepší inhibiční vlastnosti vůči *hBChE* z této skupiny má heterodimer **59** ( $IC_{50} = 36.06$  nM). Oproti standardu 6-Cl-THA je 49.2× silnějším BChEI. Navíc má, jako jediný



konjugát této série, vyšší inhibiční aktivitu také vůči *hAChE*, je 1.5× účinnější než referenční standard 6-Cl-THA.

Ze série 7-methoxytakrinových hybridů je nejlepším inhibitorem *hAChE* sloučenina **65** ( $IC_{50} = 616.3 \text{ nM}$ ). Vůči *hAChE* vykazuje 16× vyšší aktivitu než standard 7-MEOTA. V inhibici *hBChE* se jako nejlepší z této série ukázal heterodimer **66**. Jeho účinnost je 317.7× vyšší než pro samotný 7-MEOTA. Konjugát **60** je v inhibici *hAChE* přibližně stejně účinný.

Většina nových takrin-tryptofanových derivátů se chová selektivněji vůči *hBChE* ( $SI \leq 1.0$ ). Konjugáty 6-chlortakrinu vykazují vyšší preferenci pro *hAChE*.

L-tryptofan nemá v testovaném koncentračním rozmezí inhibiční aktivitu.

## 5 ZÁVĚR

V rámci diplomové práce bylo připraveno 21 zcela nových takrin-tryptofanových derivátů ve třech sériích lišící se v takrinové části a délkou spojovacího řetězce mezi příslušným takrinem a L-tryptofanem. S využitím Ellmanovy metody byly *in vitro* stanoveny inhibiční aktivity nových heterodimerů vůči *hAChE* i *hBChE* a ty byly porovnány se standardy L-tryptofanem, takrinem, 6-chlortakrinem a 7-methoxytakrinem. Všechny nové heterodimery účinně inhibují *hAChE* i *hBChE* s hodnotami  $IC_{50}$  v mikro- až nanomolárních hodnotách. Nejvyšší účinnost vůči *AChE* vykázal heterodimer **59**. Právě deriváty 6-chlortakrinu vykazují oproti dalším sériím selektivnější chování vůči *hAChE*. Nejvíce účinnými *BChEI* jsou konjugáty takrinu a tryptofanu – **52**, **51** a **53**.

## 6 SEZNAM CITOVANÝCH ZDROJŮ

- (1) Pidrman, V. *Demence*, 1.vyd.; Grada Publishing: Praha, 2007, 192 s.
- (2) Wong, C. W.; Quaranta, V.; Glenner, G. G. Neuritic Plaques and Cerebrovascular Amyloid in Alzheimer Disease Are Antigenically Related. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1985**, *82* (24), 8729–8732.
- (3) Lau, L.-F.; Brodney, M. A. Therapeutic Approaches for the Treatment of Alzheimer's Disease: An Overview. In *Alzheimer's Disease*; Lau, L.-F., Brodney, M. A., Eds.; Topics in Medicinal Chemistry; Springer: Berlin Heidelberg, 2007; pp 1–24.
- (4) Wilkinson, D. G.; Francis, P. T.; Schwam, E.; Payne-Parrish, J. Cholinesterase Inhibitors Used in the Treatment of Alzheimer's Disease: The Relationship between Pharmacological Effects and Clinical Efficacy. *Drugs Aging* **2004**, *21* (7), 453–478.
- (5) Robinson, D. M.; Keating, G. M. Memantine: A Review of Its Use in Alzheimer's Disease. *Drugs* **2006**, *66* (11), 1515–1534.
- (6) Tumiatti, V.; Minarini, A.; Bolognesi, M. L.; Milelli, A.; Rosini, M.; Melchiorre, C. Tacrine Derivatives and Alzheimer's Disease. *Curr. Med. Chem.* **2010**, *17* (17), 1825–1838.
- (7) Hippus, H.; Neundörfer, G. The Discovery of Alzheimer's Disease. *Dialogues Clin. Neurosci.* **2003**, *5* (1), 101–108.
- (8) E. Mintzer, J.; F. Mirski, D.; S. Hoernig, K. Behavioral and Psychological Signs and Symptoms of Dementia: A Practicing Psychiatrist's Viewpoint. *Dialogues Clin. Neurosci.* **2000**, *2* (2), 139–155.
- (9) Kalvach, Z.; Zadák, Z.; Jiráček, R.; Závázalová, H.; Sucharda, P. a kol. *Geriatric a gerontologie*, 1.vyd.; Grada Publishing. Praha, 2004, 864 s.
- (10) Jiráček, R. Stará a nová diagnostická kritéria pro Alzheimerovu chorobu v podmínkách ČR. *Neurol. praxi* [online] **2011**, *12* (2), 135–137. Dostupné z: [http://www.neurologiepropraxi.cz/artkey/neu-201102-0014\\_Stara\\_a\\_nova\\_diagnosticka\\_kriteria\\_pro\\_Alzheimerovu\\_chorobu\\_v\\_podminkac](http://www.neurologiepropraxi.cz/artkey/neu-201102-0014_Stara_a_nova_diagnosticka_kriteria_pro_Alzheimerovu_chorobu_v_podminkac)

h\_CR.php?back=%2Fsearch.php%3Fquery%3DDiagnostick%E1%20s%EDla%20klinick%F  
Dch%20testov%20a%20statickej%20posturografie%20v%20predikci%20p%E1dov%20u  
%20pacientov%20s%20Parkinsonovou%20chorobou%26sfrom%3D0%26spage%3D30  
(cit. 2016-03-10).

(11) Newton, M. Communication and Cognition in Normal Aging and Dementia. *J. Gerontol.* **1987**, *42* (5), 571–572.

(12) McKhann, G.; Drachman, D.; Folstein, M.; Katzman, R.; Price, D.; Stadlan, E. M. Clinical Diagnosis of Alzheimer's Disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the Auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* **1984**, *34* (7), 939–944.

(13) Vyhnálek, M.; Laczó, J.; Nikolai, T.; Sheardová, K.; Hort, J. *Neurol. praxi* [online] **2012**, *13* (6), 325–329.

Dostupné z: [http://www.neurologiepropraxi.cz/artkey/neu-201206-0009\\_Casna\\_diagnostika\\_Alzheimerovy\\_nemoci\\_ve\\_svetle\\_novych\\_diagnostickych\\_kriterii.php](http://www.neurologiepropraxi.cz/artkey/neu-201206-0009_Casna_diagnostika_Alzheimerovy_nemoci_ve_svetle_novych_diagnostickych_kriterii.php) (cit. 2016-03-10).

(14) World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia. Alzheimer's Disease International [online]. Dostupné z: <http://www.alz.co.uk/research/world-report-2015> (cit. 2016-03-04).

(15) Ballard, C.; Gauthier, S.; Corbett, A.; Brayne, C.; Aarsland, D.; Jones, E. Alzheimer's Disease. *Lancet Lond. Engl.* **2011**, *377* (9770), 1019–1031.

(16) Reitz, C.; Mayeux, R. Alzheimer Disease: Epidemiology, Diagnostic Criteria, Risk Factors and Biomarkers. *Biochem. Pharmacol.* **2014**, *88* (4), 640–651.

(17) Merchant, C.; Tang, M. X.; Albert, S.; Manly, J.; Stern, Y.; Mayeux, R. The Influence of Smoking on the Risk of Alzheimer's Disease. *Neurology* **1999**, *52* (7), 1408–1412.

(18) Whitmer, R. A.; Gustafson, D. R.; Barrett-Connor, E.; Haan, M. N.; Gunderson, E. P.; Yaffe, K. Central Obesity and Increased Risk of Dementia More than Three Decades Later. *Neurology* **2008**, *71* (14), 1057–1064.

- (19) Posner, H. B.; Tang, M.-X.; Luchsinger, J.; Lantigua, R.; Stern, Y.; Mayeux, R. The Relationship of Hypertension in the Elderly to AD, Vascular Dementia, and Cognitive Function. *Neurology* **2002**, *58* (8), 1175–1181.
- (20) Luchsinger, J. A. Adiposity, Hyperinsulinemia, Diabetes and Alzheimer's Disease: An Epidemiological Perspective. *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, *585* (1), 119–129.
- (21) Aleisa, A. M.; Alzoubi, K. H.; Gerges, N. Z.; Alkadhi, K. A. Chronic Psychosocial Stress-Induced Impairment of Hippocampal LTP: Possible Role of BDNF. *Neurobiol. Dis.* **2006**, *22* (3), 453–462.
- (22) Plassman, B. L.; Havlik, R. J.; Steffens, D. C.; Helms, M. J.; Newman, T. N.; Drosdick, D.; Phillips, C.; Gau, B. A.; Welsh-Bohmer, K. A.; Burke, J. R.; Guralnik, J. M.; Breitner, J. C. Documented Head Injury in Early Adulthood and Risk of Alzheimer's Disease and Other Dementias. *Neurology* **2000**, *55* (8), 1158–1166.
- (23) Mayeux, R.; Stern, Y. Epidemiology of Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2012**, *2* (8).
- (24) Engelhart, M. J.; Geerlings, M. I.; Ruitenberg, A.; van Swieten, J. C.; Hofman, A.; Witteman, J. C. M.; Breteler, M. M. B. Dietary Intake of Antioxidants and Risk of Alzheimer Disease. *JAMA* **2002**, *287* (24), 3223–3229.
- (25) Abbott, R. D.; White, L. R.; Ross, G. W.; Masaki, K. H.; Curb, J. D.; Petrovitch, H. Walking and Dementia in Physically Capable Elderly Men. *JAMA* **2004**, *292* (12), 1447–1453.
- (26) Swerdlow, R. H. Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Clin. Interv. Aging* **2007**, *2* (3), 347–359.
- (27) Yan, M. H.; Wang, X.; Zhu, X. Mitochondrial Defects and Oxidative Stress in Alzheimer Disease and Parkinson Disease. *Free Radic. Biol. Med.* **2013**, *62*, 90–101.
- (28) Babusikova, E.; Evinova, A.; Hatok, J.; Dobrota, D.; Jurecekov, J. Oxidative Changes and Possible Effects of Polymorphism of Antioxidant Enzymes in Neurodegenerative Disease. In *Neurodegenerative Diseases*; Kishore, U., Ed.; InTech: Rijeka, HRV, 2013, s. 421–455.

- (29) Kim, G. H.; Kim, J. E.; Rhie, S. J.; Yoon, S. The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Exp. Neurobiol.* **2015**, *24* (4), 325–340.
- (30) Koudelková, M. Praktické zkušenosti s laboratorní diagnostikou Alzheimerovy nemoci pomocí tau proteinu, fosfo-tau proteinu a beta amyloidu v likvoru. *Neurol. prax* [online] **2009**, *10* (5), 271–274.  
Dostupné z: <http://www.neurologiepropraxi.cz/pdfs/neu/2009/05/05.pdf> (cit. 2016-03-04)
- (31) Citron, M.; Westaway, D.; Xia, W.; Carlson, G.; Diehl, T.; Levesque, G.; Johnson-Wood, K.; Lee, M.; Seubert, P.; Davis, A.; Kholodenko, D.; Motter, R.; Sherrington, R.; Perry, B.; Yao, H.; Strome, R.; Lieberburg, I.; Rommens, J.; Kim, S.; Schenk, D.; Fraser, P.; St George Hyslop, P.; Selkoe, D. J. Mutant Presenilins of Alzheimer's Disease Increase Production of 42-Residue Amyloid Beta-Protein in Both Transfected Cells and Transgenic Mice. *Nat. Med.* **1997**, *3* (1), 67–72.
- (32) Gong, C.-X.; Liu, F.; Grundke-Iqbal, I.; Iqbal, K. Post-Translational Modifications of Tau Protein in Alzheimer's Disease. *J. Neural Transm. (Vienna)* **2005**, *112* (6), 813–838.
- (33) Wolfe, M. S. The Role of Tau in Neurodegenerative Diseases and Its Potential as a Therapeutic Target. *Scientifica* [online] **2012**, *2012* (4), Article ID 796024. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/scientifica/2012/796024/> (cit. 2016-03-04).
- (34) Armstrong, R. A. Plaques and Tangles and the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Folia Neuropathol. Assoc. Pol. Neuropathol. Med. Res. Cent. Pol. Acad. Sci.* **2006**, *44* (1), 1–11.
- (35) Medeiros, R.; Baglietto-Vargas, D.; LaFerla, F. M. The Role of Tau in Alzheimer's Disease and Related Disorders. *CNS Neurosci. Ther.* **2011**, *17* (5), 514–524.
- (36) Li, B.; Chohan, M. O.; Grundke-Iqbal, I.; Iqbal, K. Disruption of Microtubule Network by Alzheimer Abnormally Hyperphosphorylated Tau. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **2007**, *113* (5), 501–511.
- (37) Bartus, R. T.; Dean, R. L.; Beer, B.; Lippa, A. S. The Cholinergic Hypothesis of Geriatric Memory Dysfunction. *Science* **1982**, *217* (4558), 408–414.

- (38) Brunovský, M. *Neurol. praxi* [online] **2007**, 8 (2) 112–117. Dostupné z: <http://www.neurologiepropraxi.cz/artkey/neu-200702-0012.php> (cit. 2016-03-04).
- (39) Dumas, J. A.; Newhouse, P. A. The Cholinergic Hypothesis of Cognitive Aging Revisited Again: Cholinergic Functional Compensation. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2011**, 99 (2), 254–261.
- (40) Ferreira-Vieira, T. H.; Guimaraes, I. M.; Silva, F. R.; Ribeiro, F. M. Alzheimer's Disease: Targeting the Cholinergic System. *Curr. Neuropharmacol.* **2016**, 14 (1), 101–115.
- (41) Vyskočil, F. Acetylcholin hodný a zlý. *Vesmír* [online] **2009**, 88 (3), 153–154. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/acetylcholin-hodny-a-zly> (cit. 2016-03-04).
- (42) Acetylcholinesterase: A gorge-ous enzyme. Protein Data Bank in Europe [online]. Dostupné z: <http://www.ebi.ac.uk/pdbe/quips?story=AChE> (cit. 2016-03-04).
- (43) Massoulié, J.; Pezzementi, L.; Bon, S.; Krejci, E.; Vallette, F. M. Molecular and Cellular Biology of Cholinesterases. *Prog. Neurobiol.* **1993**, 41 (1), 31–91.
- (44) Johnson, G.; Moore, S. W. The Peripheral Anionic Site of Acetylcholinesterase: Structure, Functions and Potential Role in Rational Drug Design. *Curr. Pharm. Des.* **2006**, 12 (2), 217–225.
- (45) Silman, I.; Sussman, J. L. Acetylcholinesterase: How Is Structure Related to Function? *Chem. Biol. Interact.* **2008**, 175 (1–3), 3–10.
- (46) Younkin, L. H.; Lockett, G.; Usiak, M.; Younkin, S. G.; Roessmann, U. Molecular Forms of Acetylcholinesterase in Alzheimer's Disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **1986**, 45 (3), 377.
- (47) Fernandez, H. L.; Moreno, R. D.; Inestrosa, N. C. Tetrameric (G4) Acetylcholinesterase: Structure, Localization, and Physiological Regulation. *J. Neurochem.* **1996**, 66 (4), 1335–1346.
- (48) An, Y.; Zhang, C.; He, S.; Yao, C.; Zhang, L.; Zhang, Q. Main hypotheses, concepts and theories in the study of Alzheimer's disease. *Life Sci. J.* [online] **2008**, 5 (4), 1–5.

Dostupné z: [http://www.lifesciencesite.com/ljsj/life0504/01\\_lsj0504\\_1\\_5\\_main.pdf](http://www.lifesciencesite.com/ljsj/life0504/01_lsj0504_1_5_main.pdf) (cit. 2016-03-04).

(49) Chakroborty, S.; Stutzmann, G. E. Early Calcium Dysregulation in Alzheimer's Disease: Setting the Stage for Synaptic Dysfunction. *Sci. China Life Sci.* **2011**, *54* (8), 752–762.

(50) Geldenhuys, W. J.; Darvesh, A. S. Pharmacotherapy of Alzheimer's Disease: Current and Future Trends. *Expert Rev. Neurother.* **2015**, *15* (1), 3–5.

(51) Korábečný, J.; Špilovská, K.; Benek, O.; Musílek, K.; Soukup, O.; Kuča, K. Takrin a jeho deriváty v terapii Alzheimerovy choroby. *Čes. Slov. Farm.* **2012**, *61* (5), 210–221.

(52) Szałaj, N.; Bajda, M.; Dudek, K.; Brus, B.; Gobec, S.; Malawska, B. Multiple Ligands Targeting Cholinesterases and  $\beta$ -Amyloid: Synthesis, Biological Evaluation of Heterodimeric Compounds with Benzylamine Pharmacophore. *Arch. Pharm. (Weinheim)* **2015**, *348* (8), 556–563.

(53) Cacabelos, R. Donepezil in Alzheimer's Disease: From Conventional Trials to Pharmacogenetics. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **2007**, *3* (3), 303–333.

(54) Doležal, M.; Kučerová, M.; Miletín, M.; Musílek, M.; Opletalová, V.; Zimčík, P. *Farmaceutická chemie léčiv působících na centrální nervový systém*, 1. vyd. Karolinum: Praha 2013, 188 s.

(55) Arias, E.; Alés, E.; Gabilan, N. H.; Cano-Abad, M. F.; Villarroja, M.; García, A. G.; López, M. G. Galantamine Prevents Apoptosis Induced by Beta-Amyloid and Thapsigargin: Involvement of Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Neuropharmacology* **2004**, *46* (1), 103–114.

(56) Cibičková, L.; Palička, V. Galantamin v terapii Alzheimerovy demence. *Čes. Ger. Rev.* [online] **2005**, *3* (2), 29–34. Dostupné z: [http://www.prolekare.cz/pdf?ida=gr\\_05\\_02\\_05.pdf](http://www.prolekare.cz/pdf?ida=gr_05_02_05.pdf) (cit. 2016-03-04).

(57) Drtinová, L.; Pohanka, M. Alzheimerova demence: aspekty současné farmakologické léčby. *Čes. Slov. Farm.* [online] **2011**, *60* (5), 219–228. Dostupné z:



<http://www.prolekare.cz/ceska-slovenska-farmacie-clanek/alzheimerova-demence-aspekty-soucasne-farmakologicke-lecby-36422> (cit. 2016-03-04).

(58) Fernández-Bachiller, M. I.; Pérez, C.; Campillo, N. E.; Páez, J. A.; González-Muñoz, G. C.; Usán, P.; García-Palomero, E.; López, M. G.; Villarroya, M.; García, A. G.; Martínez, A.; Rodríguez-Franco, M. I. Tacrine-Melatonin Hybrids as Multifunctional Agents for Alzheimer's Disease, with Cholinergic, Antioxidant, and Neuroprotective Properties. *ChemMedChem* **2009**, *4* (5), 828–841.

(59) Youdim, M. B. H.; Buccafusco, J. J. Multi-Functional Drugs for Various CNS Targets in the Treatment of Neurodegenerative Disorders. *Trends Pharmacol. Sci.* **2005**, *26* (1), 27–35.

(60) Weinreb, O.; Amit, T.; Bar-Am, O.; Youdim, M. B. H. A Novel Anti-Alzheimer's Disease Drug, Ladostigil Neuroprotective, Multimodal Brain-Selective Monoamine Oxidase and Cholinesterase Inhibitor. *Int. Rev. Neurobiol.* **2011**, *100*, 191–215.

(61) León, R.; Garcia, A. G.; Marco-Contelles, J. Recent Advances in the Multitarget-Directed Ligands Approach for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Med. Res. Rev.* **2013**, *33* (1), 139–189.

(62) Scherzer-Attali, R.; Shaltiel-Karyo, R.; Adalist, Y. H.; Segal, D.; Gazit, E. Generic Inhibition of Amyloidogenic Proteins by Two Naphthoquinone-Tryptophan Hybrid Molecules. *Proteins* **2012**, *80* (8), 1962–1973.

(63) Frenkel-Pinter, M.; Tal, S.; Scherzer-Attali, R.; Abu-Hussien, M.; Alyagor, I.; Eisenbaum, T.; Gazit, E.; Segal, D. Naphthoquinone-Tryptophan Hybrid Inhibits Aggregation of the Tau-Derived Peptide PHF6 and Reduces Neurotoxicity. *J. Alzheimers Dis.* **2016**, *51* (1), 165–178.

(64) Nepovimova, E.; Uliassi, E.; Korabecny, J.; Peña-Altamira, L. E.; Samez, S.; Pesaresi, A.; Garcia, G. E.; Bartolini, M.; Andrisano, V.; Bergamini, C.; Fato, R.; Lamba, D.; Roberti, M.; Kuca, K.; Monti, B.; Bolognesi, M. L. Multitarget Drug Design Strategy: Quinone-Tacrine Hybrids Designed to Block Amyloid- $\beta$  Aggregation and to Exert Anticholinesterase and Antioxidant Effects. *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (20), 8576–8589.

- (65) Nepovimova, E.; Korabecny, J.; Dolezal, R.; Babkova, K.; Ondrejicek, A.; Jun, D.; Sepsova, V.; Horova, A.; Hrabino, M.; Soukup, O.; Bukum, N.; Jost, P.; Muckova, L.; Kassa, J.; Malinak, D.; Andrs, M.; Kuca, K. Tacrine-Trolox Hybrids: A Novel Class of Centrally Active, Nonhepatotoxic Multi-Target-Directed Ligands Exerting Anticholinesterase and Antioxidant Activities with Low In Vivo Toxicity. *J. Med. Chem.* **2015**, *58* (22), 8985–9003.
- (66) Misik, J.; Korabecny, J.; Nepovimova, E.; Cabelova, P.; Kassa, J. The Effects of Novel 7-MEOTA-Donepezil like Hybrids and *N*-Alkylated Tacrine Analogues in the Treatment of Quinuclidinyl Benzilate-Induced Behavioural Deficits in Rats Performing the Multiple T-Maze Test. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacký Olomouc Czechoslov.* **2015**, *159* (4), 547–553.
- (67) Bornstein, J. J.; Eckroat, T. J.; Houghton, J. L.; Jones, C. K.; Green, K. D.; Garneau-Tsodikova, S. Tacrine-Mefenamic Acid Hybrids for Inhibition of Acetylcholinesterase. *MedChemComm* **2011**, *2* (5), 406–412.
- (68) Del Giudice, M. R.; Borioni, A.; Mustazza, C.; Gatta, F.; Meneguz, A.; Volpe, M. T. Synthesis and Cholinesterase Inhibitory Activity of 6-, 7-Methoxy-(and Hydroxy-) Tacrine Derivatives. *Farmaco* **1996**, *51*(11), 693–698.
- (69) Spilovska, K.; Korabecny, J.; Kral, J.; Horova, A.; Musilek, K.; Soukup, O.; Drtinova, L.; Gazova, Z.; Siposova, K.; Kuca, K. 7-Methoxytacrine-Adamantylamine Heterodimers as Cholinesterase Inhibitors in Alzheimer's Disease Treatment – Synthesis, Biological Evaluation and Molecular Modeling Studies. *Molecules* **2013**, *18* (2), 2397–2418.
- (70) Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres, V.; Feather-Stone, R. M. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochem. Pharmacol.* **1961**, *7*, 88–95.