

**Univerzita Hradec Králové**  
**Přírodovědecká fakulta**  
**Katedra biologie**

**Výzkum duálních ligandů ovlivňujících 5-HT<sub>3</sub> a  
D<sub>2</sub> receptory**  
**Disertační práce**

**Autor:** Mgr. Radomír Jůza  
**Studijní obor:** Aplikovaná biologie a ekologie

**Školitel:** prof. PharmDr. Kamil Musílek, Ph.D.  
**Odborný konzultant:** RNDr. Eva Mezeiová, Ph.D.

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedl všechny prameny, ze kterých jsem vycházel.

V Hradci Králové dne .....

Mgr. Radomír Jůza

## Poděkování

Rád bych poděkoval všem, kteří mě po celou dobu studia podporovali a umožnili mi napsat tuto disertační práci. Zvláštní poděkování patří mým rodičům, MUDr. Evě Jůzové a Ing. Jaromíru Jůzovi za jejich psychickou podporu. Dále bych chtěl předně poděkovat svým nadřízeným doc. Janu Korábečnému a doc. Ondřeji Soukupovi za jejich rady, a hlavně jejich trpělivost při psaní a opravování našich společných vědeckých pracích, Dr. Evě Mezeiové za její rady v syntetické laboratoři a psaní vědeckých publikací, Dr. Ondřeji Benkovi, Dr. Davidu Maliňákovi a Dr. Kataríně Chalupové za jejich rady ohledně výuky mladých vysokoškolských studentů a studentek a mému školiteli prof. Kamilu Musílkovi za všechny jeho rady a zkušenosti a vedení celého mého PhD studia na Univerzitě Hradce Králové.

Rád bych také poděkoval za finanční podporu Univerzity Hradec Králové v rámci projektů Specifického výzkumu (SV2115-2018, SV2113-2019, SV2105-2020, SV2104-2021, SV2102-2022). Dále děkuji prof. Holgerovi Starkovi a jeho týmu na Henrich Heine University Düsseldorf za možnost uskutečnění odborné stáže, a programu Erasmus+ za finanční podporu.

## **Anotace**

JŮZA, R. *Výzkum duálních ligandů ovlivňujících 5-HT<sub>3</sub> a D<sub>2</sub> receptory*. Hradec Králové, 2022. Disertační práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí disertační práce Kamil Musílek. 95 s.

V rámci této disertační práce byla vypracována rešerše shrnující současné poznatky o schizofrenii, její etiologii, patofyziologii, léčbě, o dopaminových receptorech typu 2 (D<sub>2</sub>R) a serotoninových receptorech typu 3 (5-HT<sub>3</sub>R). Na základě dostupné literatury bylo potvrzeno, že zmíněné receptory představují vhodné biologické cíle pro vývoj nových antipsychotických léčiv.

V rámci experimentální práce byly navrženy celkem 4 nové série molekul, u kterých byly predikovány fyzikálně chemické vlastnosti a následně byly tyto sloučeniny připraveny. U jedné série molekul byly experimentálně zjištěny jejich afinity k vybraným cílovým D<sub>2</sub> a 5-HT<sub>3</sub> receptorům. U další série molekul byly experimentálně zjištěny jejich afinity k D<sub>2</sub>R.

## **Klíčová slova**

Aripiprazol, Kariprazin, 1,4-Disubstituované aromatické piperaziny, Dopaminový receptor typu 2, Serotoninový receptor typu 3, Schizofrenie, Antipsychotikum

## **Anotation**

JUZA, R. *Research of dual ligands affecting 5-HT<sub>3</sub> and D<sub>2</sub> receptors*. Hradec Kralove, 2022. Dissertation thesis at the Faculty of Science of the University of Hradec Kralove. Dissertation thesis supervisor Kamil Musilek. 95 p.

As part of this dissertation, a literature review was prepared summarizing current knowledge about schizophrenia, its etiology, pathophysiology, treatment, dopamine receptors type 2 (D<sub>2</sub>R) and serotonin receptors type 3 (5-HT<sub>3</sub>R). Based on the available literature, it was confirmed that the mentioned receptors represent suitable biological targets for the development of new antipsychotic drugs.

As part of the experimental work, a total of 4 new series of molecules were designed, their physico-chemical properties were predicted and subsequently these compounds were synthesized. For one series of molecules, their affinities to selected target D<sub>2</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptors were experimentally determined. For another series of molecules, their affinities for D<sub>2</sub>R were experimentally determined.

## **Key words**

Aripiprazole, Cariprazine, 1,4-Disubstituted aromatic piperazines, Dopamine receptor type 2, Serotonin receptor type 3, Schizophrenia, Antipsychotic

# Obsah

Seznam použitých zkratek .....	8
1 Úvod .....	12
1.1 Schizofrenie – epidemiologie, příznaky .....	12
1.1.1 Etiologie schizofrenie .....	12
1.1.2 Typy antipsychotik .....	13
1.1.3 Glutamáto-GABA-dopaminová hypotéza schizofrenie .....	14
2.1 Dopaminové receptory typu 2 .....	16
3.1 Limitace léčby schizofrenie .....	17
4.1 Serotoninové receptory typu 3 .....	18
4.1.1 Antagonisté 5-HT <sub>3</sub> R v klinické praxi a při léčbě schizofrenie .....	20
5.1 Vývoj nových léčiv v 21. století .....	21
5.1.1 Ligandy zaměřené na více cílů .....	22
2 Cíl práce .....	24
3 Výsledky a diskuze .....	25
3.1 Finální sloučeniny <b>1-18</b> odvozené od aripiprazolu či kariprazinu .....	26
3.1.1 Design finálních sloučenin <b>1-18</b> odvozených od aripiprazolu či kariprazinu .....	26
3.1.2 Výpočet fyzikálně chemických vlastností finálních sloučenin <b>1-18</b> odvozených od aripiprazolu či kariprazinu .....	29
3.1.3 Syntéza finálních sloučenin <b>1-18</b> odvozených od aripiprazolu či kariprazinu .....	31
3.1.4 Afinita k 5-HT a D <sub>2</sub> receptorům finálních sloučenin <b>1-18</b> .....	34
3.2 Finální sloučeniny <b>44-59</b> odvozené od finálních sloučenin <b>1 a 4</b> .....	39
3.2.1 Design finálních molekul <b>44-59</b> odvozených od finálních sloučenin <b>1 a 4</b> .....	39
3.2.2 Výpočet fyzikálně chemických vlastností finálních sloučenin <b>44-59</b> odvozených od <b>1 a 4</b> ..	41
3.2.3 Syntéza finálních sloučenin <b>44-59</b> odvozených od <b>1 a 4</b> .....	41
3.3 Finální sloučeniny <b>64a-g, 65a-g</b> odvozené od aripiprazolu .....	44
3.3.1 Design finálních sloučenin <b>64a-g, 65a-g</b> odvozených od aripiprazolu .....	44
3.3.2 Výpočet fyzikálně chemických vlastností finálních sloučenin <b>64a-g, 65a-g</b> odvozených od aripiprazolu .....	45
3.3.3 Syntéza finálních sloučenin <b>64a-g, 65a-g</b> odvozených od aripiprazolu .....	46
3.3.4 Vazebné afinity k D <sub>2</sub> R finálních látek <b>64a-g, 65a-g</b> odvozených od aripiprazolu .....	47
3.4 Finální sloučeniny <b>70-81</b> nesoucí 2-methoxyfenylpiperazinový fragment .....	48
3.4.1 Design finálních sloučenin <b>70-81</b> nesoucí 2-methoxyfenylpiperazinový fragment .....	48
3.4.2 Výpočet fyzikálně chemických vlastností finálních látek <b>70-81</b> nesoucí 2-methoxyfenylpiperazinový fragment .....	52
3.4.3 Syntéza finálních sloučenin <b>70-81</b> nesoucí 2-methoxyfenylpiperazinový fragment .....	53

4 Závěr .....	60
5 Experimentální část .....	62
5.1.1 Obecné informace .....	62
5.1.2 Chemická syntéza .....	62
5.1.3 Biologické hodnocení <i>in vitro</i> a <i>in vivo</i> .....	80
6 Zveřejněné práce s podílem autora disertační práce .....	81
6.1 Vědecké publikace s impakt faktorem .....	81
6.2 Sdělení na odborných konferencích .....	82
Literatura .....	83

## Seznam použitých zkratek

1,4-DAP	1,4-disubstituovaný aromatický piperazin nebo piperidin
5-HT <sub>1A</sub> R	serotoninový receptor typu 1A
5-HT <sub>2A</sub> R	serotoninový receptor typu 2A
5-HT <sub>3</sub> R	serotoninový receptor typu 3
5-HT <sub>7</sub> R	serotoninový receptor typu 7
Asp	kyselina asparagová
Boc	chránící skupina <i>tert</i> -butyloxykarbonyl
CADD	techniky počítačově podporovaného navrhování nových léčiv; anglicky computer-aided drug discovery
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CDI	1,1'-karbonyldiimidazol
CHO buňky	buňky vaječníků čínského křečka; anglicky chinese hamster ovary cells
CTV	chromatografie na tenké vrstvě
Cys	cystein
D <sub>1</sub> R	dopaminový receptor typu 1
D <sub>2L</sub> R	dlouhá varianta D <sub>2</sub> R
D <sub>2</sub> R	dopaminový receptor typu 2
D <sub>2S</sub> R	krátká varianta D <sub>2</sub> R
D <sub>3</sub> R	dopaminový receptor typu 3
D <sub>4</sub> R	dopaminový receptor typu 4
DA	dopamin
DCM	dichlormethan
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamin



DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
E1-E3	extracelulární smyčky 1-3
EC <sub>50</sub>	polovina maximální účinné koncentrace
EDC	1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid
EtOAc	ethylacetát
EtOH	ethanol
GABA	kyselina gama-aminomáselná
G $\alpha_{i/o}$	Gi alpha podjednotka
Glu	glutamát
GPCR	receptor spřažený s G proteinem; anglicky G protein-coupled receptor
HBA	akceptor vodíkové vazby; anglicky hydrogen bond akceptor
HBD	donor vodíkové vazby; anglicky hydrogen bond donor
HEB	hematoencefalická bariéra
HEK293	lidská buněčná linie odvozená z embryonálních buněk ledvin; anglicky human embryonic kidney 293 cells
HOBt	1-hydroxybenzotriazol
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie; anglicky highperformance liquid chromatography
HRMS	vysoko-rozlišující hmotnostní spektrometrie; anglicky high-resolution mass spectrometry
I2-I3	intracelulární smyčky 2-3
IC <sub>50</sub>	Poloviční maximální inhibiční koncentrace
iPrOH	isopropanol

$K_b$	rovnovážná disociační konstanta pro kompetitivního antagonistu
$K_i$	inhibiční konstanta
LC-MS	kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií; anglicky liquid chromatography-mass spectrometry
log D	distribuční koeficient
log P	rozdělovací koeficient
$t$	laboratorní teplota
MeCN	acetonitril
MeOH	methanol
Ms	mesyl
MS	hmotnostní spektrometrie; anglicky mass spectrometry
MTDLs	ligandy zaměřené na více cílů; anglicky multitarget-directed ligands
Mw	molekulová hmotnost; anglicky molecular weight
MWHBN	deskriptor obsahující molekulovou hmotnost, donory vodíkové vazby a akceptory vodíkové vazby
n.a.	žádná afinita; anglicky no affinity
NAc	Nucleus accumbens; součást bazálních ganglií koncového mozku
NMDA	<i>N</i> -methyl-D-aspartátový
NMP	<i>N</i> -methyl-2-pyrrolidon
NMR	nukleární magnetická rezonance
Pd/C	palladium na aktivním uhlí
PEG-400	polyethylenglykol 400
PFC	prefrontální kortex; přední část čelního laloku mozkové kůry
$pK_A$	záporný dekadický logaritmus disociační konstanty pro kyselinu

pK <sub>B</sub>	záporný dekadický logaritmus disociační konstanty pro zásady
pK <sub>i</sub>	záporný dekadický logaritmus inhibiční konstanty
ppm	parts per milion
PTSA	<i>para</i> -toluensulfonová kyselina
QSAR	kvantitativní vztahy mezi strukturou a aktivitou; anglicky quantitative structure-activity relationship
Ra-Ni	Raneyův nikl
RNA	ribonukleová kyselina
RVO	rotační vakuová odparka
SAR	vztah mezi chemickou strukturou a biologickou aktivitou; anglicky structure-activity relationship
TEA	triethylamin
TFA	kyselina trifluoroctová
THF	tetrahydrofuran
TPSA	součet povrchu nad polárními atomy; anglicky topological polar surface area
VTA	ventrální tegmentální oblast; centrum mezokortikolimbického okruhu

# 1 Úvod

Předkládaná disertační práce shrnuje výsledky dosažené v oblasti výzkumu a vývoje multipotentních sloučenin s možnou implikací pro léčbu schizofrenie. Práce je zaměřena zejména na návrh a syntézu ligandů ovlivňující D<sub>2</sub> a 5-HT<sub>3</sub> receptory. Z těchto důvodů je úvodní část věnována obecným poznatkům o nemoci, D<sub>2</sub>R, 5-HT<sub>3</sub>R, jejich roli v léčbě schizofrenie a vývoji multipotentních ligandů. Veškeré přílohy disertační práce jsou členěny na původní (P1-P2) a souhrnné (S1-S2) práce, které jsou postupně uvedeny a komentovány.

## 1.1 Schizofrenie – epidemiologie, příznaky

Schizofrenie a její epidemiologie, příznaky, etiologie, léčba antipsychotiky a patofyziologie byly detailně popisovány v S1-S2 pracích. Ve zkratce, schizofrenie je jednou z nejhůře léčitelných duševních chorob, která postihuje přibližně 1 % dospělé populace [1]. Symptomy se obvykle začínají objevovat již v mladém věku, přibližně mezi 18-30 rokem života [2], a lze je rozdělit do tří hlavních tříd – pozitivní, negativní a kognitivní [3,4].

Mezi *pozitivní symptomy* schizofrenie řadíme bludy (odtažení myšlenek a paranoidní bludy), halucinace (sluchové, vizuální nebo hmatové) a poruchy myšlení; tyto příznaky se normálně u zdravých lidí nevyskytují. *Negativní symptomy* schizofrenie zahrnují sociální odtažení, apatii, mnohomluvnost a anhedonii (tj. neschopnost prožívat kladné emoce a city, neschopnost těšit se a radovat se). Tyto příznaky se mohou vyskytovat i u zdravých jedinců, projevují se však mnohem zřetelněji u pacientů s tímto onemocněním. *Kognitivní symptomy* se projevují jako deficit paměti (včetně pracovní paměti), pozornosti, učení a výkonných funkcí [5,6].

### 1.1.1 Etiologie schizofrenie

Ukázalo se, že několik *genů* spolu s negenetickými faktory (jako jsou environmentální faktory), hraje důležitou roli ve vývoji schizofrenie [7]. Související genomické studie identifikovaly velké množství genů odpovědných za propuknutí schizofrenie, ale ve většině případů nebyly tyto geny konzistentně replikovány v nezávislých studiích. V roce 2008 byla

publikována databáze genů související s etiologií schizofrenie, ve které je uvedeno přes 500 genů [8].

*Environmentální faktory* mohou zahrnovat perinatální porodnické problémy, nedostatek výživy, virové infekce, stres matek, drogovou závislost či hormonální nerovnováhu [5]. Etiologie schizofrenie nebyla dosud spolehlivě objasněna. Předpokládá se však, že určité geny interagují mezi sebou a určité environmentálními faktory mohou zvyšovat expresi těchto genů, což ve výsledku vede ke zvýšenému riziku propuknutí schizofrenie [5,6,9].

### 1.1.2 Typy antipsychotik

Látky pro léčbu schizofrenie se nazývají „antipsychotika“ nebo „neuroleptika“ a jsou klasifikovány do tří skupin podle vnitřní aktivity ligandů vůči D<sub>2</sub>R a dalším „antipsychotickým receptorům“ [10].

Antipsychotika *první generace* jsou antagonisté D<sub>2</sub>R a nesou někdy označení jako „typická“ neuroleptika [10]. Většina molekul první generace patří do jedné ze čtyř základních skupin dle podobnosti v chemické struktuře: butyrofenony (např. haloperidol), tricyklické thioxanthy (např. thiothixen), tricyklické fenothiaziny (např. chlorpromazin) a difenylbutylaminy (např. pimozid). Podle výše popsaného mechanismu účinku (antagonismus vůči D<sub>2</sub>R) může být velké množství dalších látek klasifikováno jako neuroleptika první generace. Strukturně však nezapadají do výše popsaných čtyř skupin (např. molindon) [9,10]. Typická neuroleptika nemají selektivitu pro dopaminové dráhy v centrální nervové soustavě (CNS), a proto mohou způsobovat řadu vedlejších nežádoucích účinků, jako jsou zvýšená hladina prolaktinu (antagonismus vůči D<sub>2</sub>R v tuberoinfundibulárním systému), negativní a kognitivní symptomy způsobené bloádou D<sub>2</sub>R v mezokortikální dráze (Obr. 1) ve vysokých dávkách či extrapyramidové symptomy (bloádá D<sub>2</sub>R v nigrostriatální dráze) [10].

Antipsychotika patřící do *druhé generace* jsou antagonisté vůči více druhům receptorů, se silnějším antagonismem pro receptory serotoninu typu 2A (5-HT<sub>2A</sub>R) než pro D<sub>2</sub>R [10]. V 70. letech 20. století byl uveden na trh klozapin. Brzy však byl stažen kvůli závažným vedlejším účinkům, včetně agranulocytózy (tj. snížení počtu bílých krvinek) [11]. Přesto byl klozapin znovu zaveden na trh v roce 1989 poté, co studie prokázaly jeho účinnost, především při rezistentní schizofrenii [9,12]. Znovuzavedení klozapinu znamenalo počátek druhé generace

neuroleptik, označovaných také jako „atypická“ antipsychotika mezi které řadíme léčiva jako olanzapin, kvetiapin, risperidon nebo ziprasidon [9,10]. Rozdíly mezi typickými a atypickými neuroleptiky tedy jsou:

a) velmi nízká frekvence extrapyramidových vedlejších účinků, které jsou časté pro první generaci neuroleptik – tuto skutečnost lze vysvětlit hypotézou, že antagonismus atypických neuroleptik vůči  $D_2R$  je slabší, nebo že se tato léčiva vážou na dopaminové receptory s vysokou mírou disociace [13]

b) receptorový profil – atypická neuroleptika vykazují vyšší schopnost blokovat  $5-HT_{2A}R$  než  $D_2R$  [10]

c) účinnost u rezistentní schizofrenie a proti negativním symptomům (hlavně klozapin) [10]

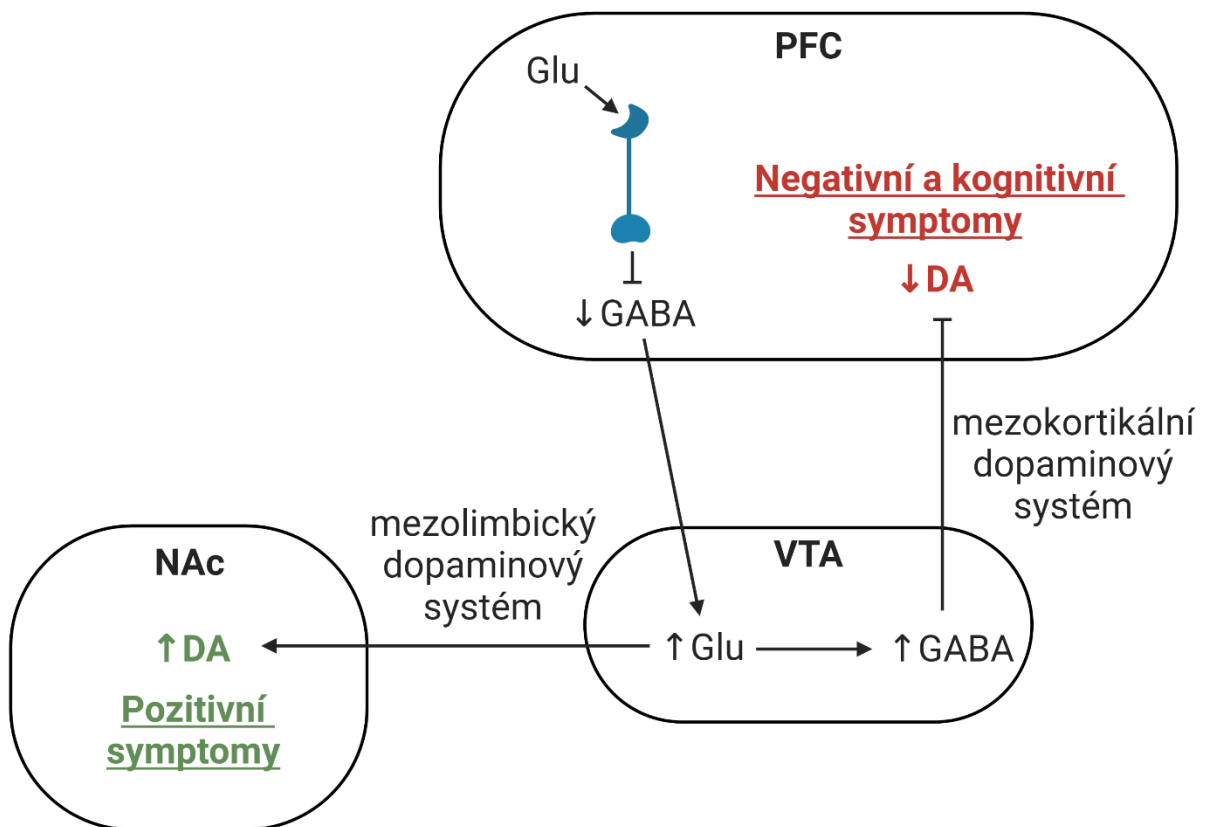
*Třetí generací* antipsychotik jsou multireceptorové ligandy s parciálním agonismem vůči  $D_2R$ . Tato skupina zahrnuje léčiva jako jsou aripiprazol, kariprazin a brexpiprazol [10].

### 1.1.3 Glutamáto-GABA-dopaminová hypotéza schizofrenie

Dopaminová hypotéza zůstává nejběžnějším vysvětlením pro neurochemickou povahu schizofrenie [5,10,14,15]. Kromě této hypotézy existuje celá řada dalších hypotéz, mezi které patří glutamátová [10,16,17], gama-aminomáselná (GABA) [10,18,19], serotoninová [6,10,20,21], nebo acetylcholinová [10,18,22]. Pro účely této práce budeme diskutovat pouze upravenou glutamáto-GABA-dopaminovou hypotézu.

Schematické znázornění pozitivních, negativních a kognitivních symptomů schizofrenie, s ohledem na upravenou glutamátovo-GABA-dopaminovou hypotézu, je znázorněno na Obr. 1. Experimentální studie ukazují sníženou aktivitu glutamatergní neurotransmise v prefrontálním kortexu v mozcích schizofrenních pacientů [23–25]. Hypofunkční glutamátové *N*-methyl-D-aspartátové (NMDA) receptory lokalizované na GABA interneuronech mají za následek zvýšenou aktivitu kortikálních glutamátových výběžků do ventrální tegmentální oblasti. Zvýšená koncentrace glutamátu v této části mozku poté ovlivňuje mezolimbické a mezokortikální dopaminové dráhy vedoucí k propuknutí pozitivních, negativních a kognitivních příznaků schizofrenie [5,23–25]. Zvýšená aktivita glutamátu ve

ventrální tegmentální oblasti způsobuje zvýšenou koncentraci dopaminu v Nucleus accumbens, což vede k pozitivním symptomům schizofrenie [5]. Dále zvýšené množství glutamátu ve ventrální tegmentální oblasti aktivuje GABAergické interneurony, což vede ke sníženému vylučování dopaminu v prefrontálním kortexu. Snížená hladina dopaminu v této části mozku poté vede k negativním a kognitivním symptomům [5,26,27]. Důvod snížené aktivity glutamátových NMDA receptorů na GABA interneuronech v prefrontálním kortexu u schizofrenních pacientů není objasněn, ale zdá se, že to může být způsobeno dysfunkčními geny a/nebo neurovývojovými poruchami [5].



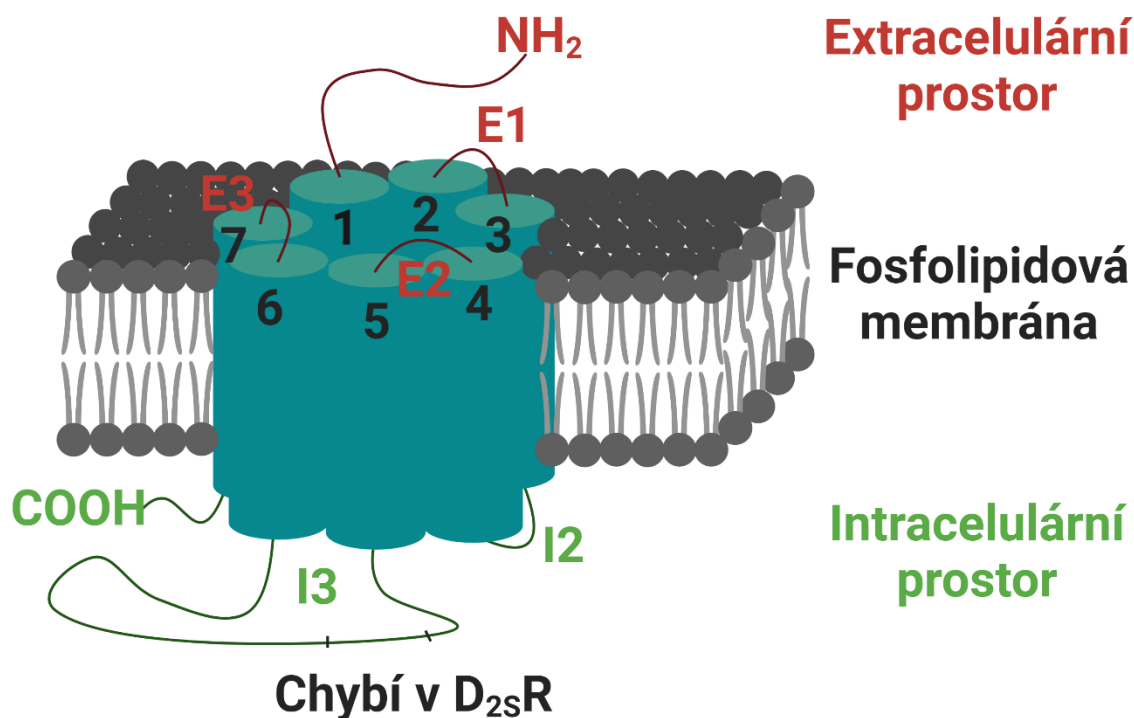
**Obrázek 1** – Schematické znázornění pozitivních, negativních a kognitivních příznaků schizofrenie na základě upravené glutamáto-GABA-dopaminové hypotézy. DA = dopamin; GABA = kyselina gama-aminomáselná; Glu = glutamát; PFC = prefrontální kortex; VTA = ventrální tegmentální oblast; NAc = Nucleus accumbens. Vytvořeno pomocí [BioRender.com](https://www.biorender.com)

## 2.1 Dopaminové receptory typu 2

D<sub>2</sub>R a jejich buněčná signalizace a role při léčbě schizofrenie byly detailně diskutovány v publikaci autora disertační práce S2. Ve stručnosti, gen pro D<sub>2</sub>R produkuje dvě izoformy receptoru alternativním sestřihem mediátorové RNA (Obr. 2): D<sub>2L</sub> (D<sub>2</sub>-long; D<sub>2</sub> dlouhá varianta) a D<sub>2S</sub> (D<sub>2</sub>-short; D<sub>2</sub> krátká varianta) receptorů [28,29]. Tyto dvě izoformy D<sub>2</sub>R se liší o 29 aminokyselin ve třetí intracelulární smyčce (Obr. 2), a proto mají odlišné vlastnosti. „Dlouhá“ verze se nachází především na postsynaptické buňce, zatímco „krátká“ verze D<sub>2</sub>R je exprimována výhradně presynapticky jako autoreceptor [30,31]. Další funkce D<sub>2</sub>R zahrnují podíl na formování pracovní paměti, motivační funkce, vazodilatace, regulace krevního tlaku, funkce ledvin, a ovlivnění gastrointestinální motility [32–36]. Nejvyšší hladiny D<sub>2</sub>R v lidském mozku jsou exprimovány v tuberculu olfactorium, striatu a Nucleus accumbens [34]. D<sub>2</sub>R se dále nacházejí v substantia nigra, amygdale, septu, kortikálních oblastech, hippocampu a ve ventrální tegmentální oblasti [37–40].



## D<sub>2</sub> receptor



**Obrázek 2** – Schematické znázornění D<sub>2</sub>R. E1-E3 = extracelulární smyčky; I2-I3 = intracelulární smyčky; 1-7 = transmembránové domény; NH<sub>2</sub> = N-konec; COOH = C-konec, D<sub>2</sub>sR = D<sub>2</sub>R krátká varianta. Vytvořeno pomocí [BioRender.com](https://www.biorender.com)

D<sub>2</sub>R patří mezi receptory spřažené s G-proteiny (GPCR; anglicky G-protein-coupled receptor). Tyto receptory jsou tak schopny aktivovat heterotrimerní ( $\alpha$ -,  $\beta$ - a  $\gamma$ -podjednotky) G-proteiny vedoucí k aktivaci intracelulárních signálních kaskád [34]. D<sub>2</sub>R jsou spojeny s G<sub>i</sub> alpha podjednotkou ( $G\alpha_{i/o}$ ) a inhibují tak adenylátcyklasu [37,41–43].

Všechna registrovaná antipsychotika vykazují afinitu k D<sub>2</sub>R v terapeutických dávkách a tato vlastnost hraje klíčovou roli v jejich mechanismu účinku [44–47].

### 3.1 Limitace léčby schizofrenie

Neúčinnost současně používaných neuroleptik při léčbě schizofrenie byla detailně diskutována v publikacích autora disertační práce P1-2 a S2. Současně používaná antipsychotika mají stále velká omezení. Kromě často se vyskytujících vedlejších účinků [10,48]

dokáží zmírnit pouze pozitivní symptomy [49–51]. Tento efekt je možné vysvětlit tak, že všechna registrovaná neuroleptika byla primárně cílena na D<sub>2</sub>R. Jak bylo však diskutováno výše, pozitivní symptomy jsou spojeny se zvýšenou aktivitou striatálních D<sub>2</sub>R v důsledku nadměrné stimulace mezolimbické dopaminové dráhy (Obr. 1). Na druhou stranu negativní a kognitivní symptomy jsou spojeny především se sníženou aktivitou dopaminových receptorů typu 1 (D<sub>1</sub>R) v prefrontálním kortexu v důsledku potlačení mezokortikální dopaminové dráhy (Obr. 1) [5,10,26,27,52]. Bylo však prokázáno, že klozapin (silný antagonist dopaminových receptorů typu 4 (D<sub>4</sub>R) a 5-HT<sub>2A</sub>R; K<sub>i</sub> – 150 nM (D<sub>2</sub>R); 9.6 nM (D<sub>4</sub>R) a 3.3 nM (5-HT<sub>2A</sub>R) [53,54]) a kariprazin (parciální agonista D<sub>3</sub>/D<sub>2</sub>R preferující dopaminové receptory typu 3 (D<sub>3</sub>R); pK<sub>i</sub> – 10 (D<sub>3</sub>R); 9.2 (D<sub>2</sub>R) [55]) snižují negativní symptomy [56–59] pravděpodobně z důvodu multitargetového profilu těchto molekul [60].

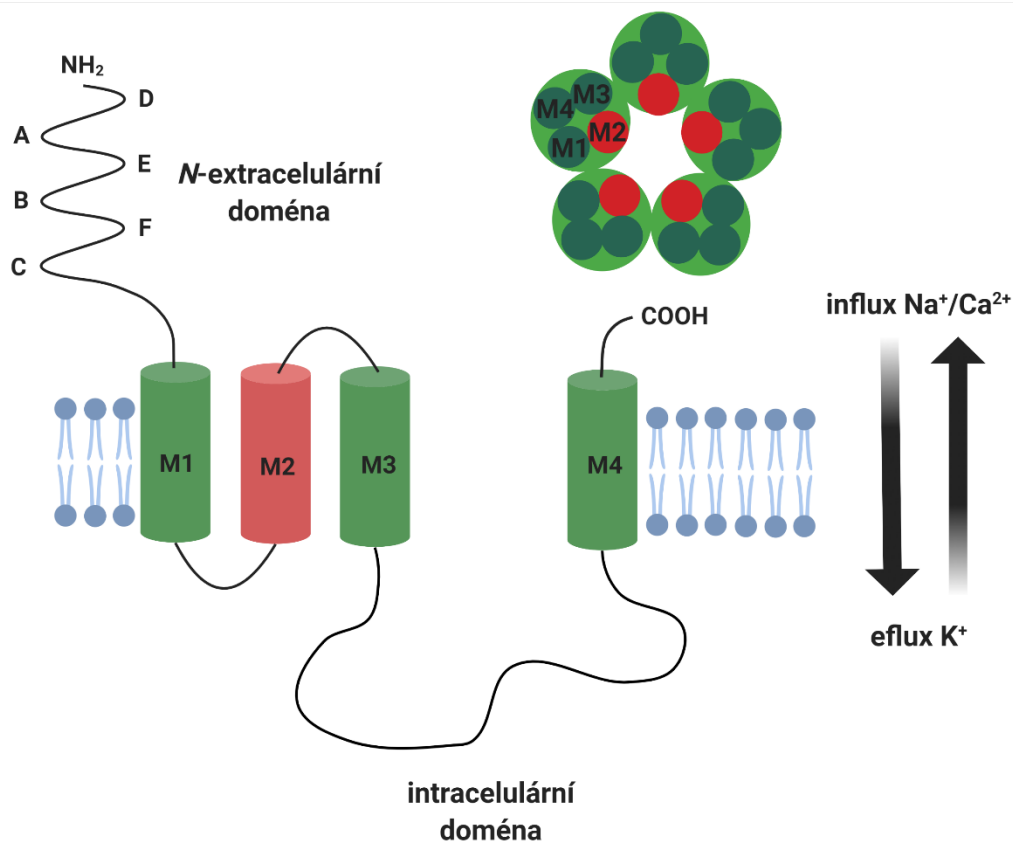
Dalším hlavním omezením antipsychotik je fakt, že 70 % pacientů se schizofrenií potřebuje ke kontrole příznaků dlouhodobou nebo dokonce celoživotní medikaci, a až 20 % pacientů trpí nedostatečnou léčebnou odpovědí na monoterapii neuroleptiky [61,62]. Proto je potřeba vyvinout nová léčiva pro zvládnání tohoto onemocnění především kvůli nedostatečné účinnosti a přetrvávajícím vedlejším účinkům stávajících léčiv [10].

#### 4.1 Serotoninové receptory typu 3

5-HT<sub>3</sub>R představují vhodný biologický cíl pro ovlivnění jak kognitivních, tak i negativních symptomů schizofrenie vzhledem k jejich vysoké expresi v oblastech mozku ovlivňujících emoční chování a motivaci (např. cingulární kůra, Nucleus accumbens, amygdala a ventrální tegmentální oblast) a kognitivní funkce (např. bazální ganglia a *Hippocampus*) [6].

Základní informace o 5-HT<sub>3</sub>R a jejich klinické použití a role ve schizofrenii byly detailně popsány v publikacích autora disertační práce S1 a P1. Ve stručnosti, 5-HT<sub>3</sub>R jsou ligandem řízené iontové kanály [63,64] (eflux K<sup>+</sup> a influx Na<sup>+</sup> a Ca<sup>2+</sup> [65]), které po aktivaci způsobují rychlou, depolarizační odpověď v neuronech. Aktivace postsynaptických 5-HT<sub>3</sub>R vede k rychlé depolarizaci závislé na koncentraci Na<sup>+</sup> a K<sup>+</sup> kationtů. Naopak aktivace presynaptických 5-HT<sub>3</sub>R způsobuje rychlý influx Ca<sup>2+</sup> kationtů [66]. 5-HT<sub>3</sub>R patří k receptorům rodiny tzv. Cys-smyčky spolu s receptory glycinu, GABA<sub>A</sub>, nikotinovými acetylcholinovými receptory a iontovými kanály aktivovanými Zn<sup>2+</sup> kationty [67]. Zástupci těchto receptorů se skládají z pěti

proteinových podjednotek, které tvoří pentamerové uspořádání kolem centrálního póru. Každá podjednotka 5-HT<sub>3</sub>R se skládá z *N*-koncové extracelulární, transmembránové a intracelulární domény [68]. Struktura 5-HT<sub>3</sub>R a jeho jedné podjednotky je vyobrazena na Obr. 3 (byl modifikován z [69]).



**Obrázek 3** – Schematické znázornění celého komplexu 5-HT<sub>3</sub>R a jedné podjednotky 5-HT<sub>3</sub>R, která se skládá z *N*-koncové extracelulární, transmembránové (M1-M4) a intracelulární domény. Vytvořeno pomocí BioRender.com

Vedle exprese v oblastech mozku ovlivňujících kognitivní funkce a emoční chování či motivaci, jsou 5-HT<sub>3</sub>R dále exprimovány v CNS, zejména v dorzálním motorickém jádru bloudivého nervu, *Nucleus tractus solitarii* a *Area postrema* [70–74], kde iniciují a řídí zvracení. V periferním nervovém systému jsou 5-HT<sub>3</sub>R přítomny ve střevě [75–77], kde zprostředkovávají širokou škálu fyziologických funkcí. Hrají důležitou roli v regulaci autonomních funkcí, jako je motilita a peristaltika, sekrece i viscerální vnímání [78], a mohou

tak přispívat k funkčním gastrointestinálním poruchám, jako je dyspepsie nebo syndrom dráždivého tračníku [6].

#### 4.1.1 Antagonisté 5-HT<sub>3</sub>R v klinické praxi a při léčbě schizofrenie

Většina 5-HT<sub>3</sub>R antagonistů se označuje jako setrony. Mezi *první generaci* setronů patří alosetron, cilansetron, ondansetron, bemesetron, tropisetron, granisetron, ramosetron a dolasetron. Palonosetron je řazen do *druhé generace* setronů. Vykazuje vyšší afinitu a delší eliminační poločas než sloučeniny první generace [6,79]. Klinické použití známých setronů je shrnuto v Tabulce 1.

**Tabulka 1** – Klinické použití známých setronů.

<b>Setron</b>	<b>Název značky: klinické použití</b>
alosectron	Lotronex: léčba syndromu dráždivého tračníku s průjmem (IBS-D) u žen[80]
ondansetron	Zofran: léčba nevolnosti a zvracení vyvolané chemoterapií (CINV), radiační terapií nebo chirurgickým zákrokem[81]
tropisetron	Navoban a Setrovel: léčba CINV[82]
granisetron	Kytril, Sancuso, a Sustol: léčba CINV[81]
ramosetron	Irribow a Ibset: léčba CINV[83] a IBS-D[84]
dolasetron	Anzemet: orální podávání u dospělých pacientů, léčba CINV[85]
palonosetron	Aloxi: léčba CINV[81]

Použité zkratky z angličtiny IBS-D: irritable bowel syndrome with diarrhea; CINV: chemotherapy-induced nausea and vomiting

Počáteční monoterapie schizofrenie setrony byla neefektivní, protože návrh klinických studií nebyl dostatečný [86], nebo antipsychotická aktivita 5-HT<sub>3</sub>R antagonistů byla velmi nízká [87]. Proto byly antipsychotické účinky 5-HT<sub>3</sub>R antagonistů dále studovány jako doplňková léčiva ke standardní léčbě neuroleptiky [88–95]. Při těchto studiích došlo ke zlepšení

především v negativních i kognitivních symptomech, nikoli však v symptomech pozitivních. Dále bylo zjištěno, že setrony výhodně snižovaly extrapyramidové vedlejší účinky vyvolané antipsychotiky (např. tardivní dyskineze) [6].

## 5.1 Vývoj nových léčiv v 21. století

Uvedení nového léku na trh je velmi nákladný a zdlouhavý proces. Vývoj léku trvá v průměru 10–15 let s přibližnými náklady 800 milionů až 1,8 miliardy amerických dolarů [96–99]. Využití technik počítačově podporovaného objevování léků (CADD; anglicky computer-aided drug discovery) se stalo nezbytným při vývoji nového léčiva [99,100]. Mnoho licencovaných léků, jako je např. kaptopril, dorzolamid, oseltamivir, aliskiren či nolatrexed, bylo optimalizováno právě pomocí CADD metod [101,102]. Tyto techniky jsou využity především pro urychlení procesu vývoje léčiva, snížení potřebných finančních nákladů a možnosti selhání v posledních fázích schvalování daného léčiva [99,101]. Při použití CADD přístupů mohou být sníženy náklady na objev a vývoj léčiva až o 50 %, protože je lze použít ve většině fází vývoje léčiv: od identifikace po validaci cíle, od objevu vůdčí struktury k její optimalizaci, i v preklinických studiích [101,103].

Obecně se CADD přístupy dělí na dvě základní metody [99,100]:

### 1) Metody založené na struktuře (tzv. přímý přístup)

Poznatky získané z vazebného místa 3D struktury biologického cíle jsou využívány k návrhu a hodnocení ligandů na základě jejich predikovaných interakcí s vazebným místem cíle [99,104,105].

Přímý přístup lze rozdělit do dvou kategorií [106,107]: přístup *de novo* a přístup *virtuálního screeningu*. *De novo* design léčiv využívá informace z 3D receptoru k nalezení malých fragmentů, které se dobře shodují s vazebným místem. Tyto fragmenty mohou být poté spojeny na základě pravidel medicíně chemie, aby byla zajištěna syntetická přístupnost, a tak vznikne strukturně nový ligand, který může být syntetizován pro další screening [108,109]. *Virtuální screening* využívá dostupné knihovny malých molekul k identifikaci sloučenin se specifickou biologickou aktivitou, které působí jako náhrady za existující ligandy cílových biomolekul [99,104,110].

## 2) Metody založené na ligandech (tzv. nepřímý přístup)

V případech, kdy chybí 3D struktura biologického cíle, lze informace získané ze sady ligandů aktivních proti relevantnímu cíli použít k identifikaci významných strukturních a fyzikálně chemických vlastností odpovědných za pozorovanou biologickou aktivitu. Běžnými technikami návrhu na bázi ligandů jsou *kvantitativní vztahy mezi strukturou a aktivitou* (QSAR) a *metody založené na farmakoforech* [99,100]. *Studie QSAR* jsou založeny na předpokladu, že změny v bioaktivitě jsou spojeny se strukturními a molekulárními variacemi v souboru sloučenin [104,111]. Z této korelace je poté generován statistický model pro vývoj a matematickou predikci biologických vlastností nových sloučenin [111]. *Farmakoforový screening* má za cíl identifikovat sloučeniny obsahující různé fragmenty, ale s podobným 3D uspořádáním klíčových interagujících funkčních skupin [99,112].

### 5.1.1 Ligandy zaměřené na více cílů

Od modelu zámku a klíče navrženého E. Fischerem v roce 1894 [113] se výzkum léčiv soustředil hlavně na vývoj selektivních molekul, které se zaměřují na jediný mechanismus u onemocnění, konkrétně tedy na přístup „jeden lék, jeden cíl“ [114]. Komplexní onemocnění, jako je schizofrenie, však zahrnuje více cílových proteinů a/nebo signálních drah [10,115,116], a proto působení pouze na jeden cíl nemusí být dostačující k dosažení uspokojivých terapeutických účinků [10,117,118]. Proto se objevuje trend vyvíjet ligandy zaměřené na více cílů (MTDLs; anglicky MultiTarget-Directed Ligands), které jsou schopny ovlivňovat více biologických cílů současně a tím zvýšit účinnost [115].

Existují tři přístupy k vícecílovému léčení využívaného v klinické praxi [119–121]:

- 1) *multimedikační terapie*, označovaná také jako koktejl léčiv, která obsahuje dvě nebo tři různá jednotlivá aktivní léčiva, která kombinují různé terapeutické mechanismy
- 2) *vícesložková medicína*, známá také jako kombinace léčiv v jedné pilulce, která zahrnuje různá léčiva v jedné formulaci
- 3) *MTDL*, kdy jedno aktivní léčivo moduluje více biologických cílů současně.

I přes některé výhody z předchozích dvou přístupů, jako je flexibilita dávek a nižší náklady na léčbu, mají obvykle nepříznivé účinky, jako jsou interakce léčivo-léčivo a špatná compliance pacientů [122].

Přístup založený na farmakoforech je hlavní metodou používanou při designu a vývoji nových MTDLs [123]. Farmakofory ze selektivních ligandů jsou tak začleněny do jediné molekuly, aby zprostředkovaly požadované biologické aktivity. Na základě stupně integrace mezi farmakofory jsou MTDLs kategorizovány jako spojené, fúzované nebo sloučené [119].

## 2 Cíl práce

Hlavním cílem disertační práce bylo navrhnout a připravit duální molekuly ovlivňující D<sub>2</sub> a 5-HT<sub>3</sub> receptory v CNS. Dílčími cíli práce bylo analyzovat nové připravené sloučeniny, predikovat jejich fyzikálně chemické vlastnosti (zejména s ohledem na prostupu hematoencefalickou bariérou (HEB)), vyhodnotit získaná biologická data *in vitro* a *in vivo* a v neposlední řadě také stanovit vztah mezi chemickou strukturou a biologickou aktivitou (SAR).

Hlavní oblastí předpokládaného výzkumu této disertační práce byl vývoj a syntéza molekul, které obsahují farmakofor aripiprazolu a setronů. Dílčím cílem bylo vytvoření perspektivních molekul, které by měly mít vyvážený dopaminergní a serotoninergní antipsychotický potenciál pro redukci pozitivních, negativních a kognitivních symptomů schizofrenie, a zároveň s nižším rizikem vyvolání extrapyramidových a hematologických účinků. Aripiprazol je antipsychotikum třetí generace, přičemž je parciálním agonistou D<sub>2</sub>R [10]. Aripiprazolu však chybí silný antagonismus na 5-HT<sub>3</sub>R [124,125]. Setrony jsou selektivními antagonisty 5-HT<sub>3</sub>R, které jsou používány především jako antiemetika v rámci chemoterapie nádorových onemocnění [79]. Pokud jsou setrony podávány společně s antipsychotiky (s výjimkou klozapinu), eliminují nebo zmírňují negativní symptomy schizofrenie díky modulaci serotoninových receptorů [86]. Setrony tedy mohou vhodně doplňovat dopaminergní efekt aripiprazolu. Pokud by struktura aripiprazolu byla doplněna o farmakofor setronů, mohla by nově vzniklá molekula mít vhodný receptorový profil, který by ve svém výsledku mohl mít lepší prokognitivní terapeutický efekt, a to ve spojení se zlepšením negativních symptomů schizofrenního onemocnění.



### 3 Výsledky a diskuze

Převážná většina výsledků pro připravené finální deriváty byla publikována v člancích autora disertační práce (P1-2), proto v následující části (3 Výsledky a diskuze) budou komentovány hlavní teze disertační práce, a to predikce jejich fyzikálně chemických vlastností, návrh, příprava duálních ligandů ovlivňujících D<sub>2</sub> a 5-HT<sub>3</sub> receptory a vztah mezi chemickou strukturou a biologickou aktivitou.

Léčiva slouží svému účelu pouze tehdy, pokud neobsahují nečistoty, a proto byla vyvinuta celá řada analytických metod pro analýzu těchto molekul. Mezi nejvíce používané analytické metody patří především nukleární magnetická rezonance (NMR), různé typy chromatografií a hmotnostní spektrometrie (MS) [126,127]. Pro analýzu nově připravených ligandů v rámci této disertační práce byly použity analytické metody NMR, vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) a/nebo MS.

Účinná neuroleptika musí prostupovat do mozku. HEB je hlavním regulátorem transportu léčiv do a z CNS [128]. Pro predikci schopnosti látky překročit HEB byly navrženy různé matematické algoritmy založené na analýze fyzikálně chemických vlastností molekul [129–141]. Autor této disertační práce použil algoritmus vyvinutý Guptou *et al.* [129].

Aby bylo možné vyvinout nová antipsychotika, jsou zapotřebí použít účinné metody jejich studia na modelech schizofrenie *in vitro* a *in vivo* [142]. V rámci předkládané disertační práce jsou komentovány afinity pro některé finální molekuly. Tyto afinity již byly publikovány v publikacích P1-2. Vybrané finální deriváty byly také otestovány v akutním amfetaminovém schizofrením modelu na potkanech. Výsledky jsou publikovány v publikaci P1.

SAR studuje zpravidla sérii malých molekul a jejich souvisejících aktivit či afinit a následně používá zjištěné informace k provedení strukturních úprav i k optimalizaci některé vlastnosti nebo aktivity molekuly [143]. Autor této disertační práce použil SAR studie pro vytvoření nové série finálních molekul (**44-59**) odvozených od skupiny finálních látek (**1-18**), které byly již opublikovány v práci P1. Cílem vytvoření této nové série finálních molekul bylo zvýšit jejich afinitu pro 5-HT<sub>3</sub>R společně se zachováním D<sub>2</sub>R afinit, které byly pozorovány u známých molekul (především **1** a **4**).

Většina experimentálních prací v průběhu doktorského studia byla prováděna na Národním ústavu duševního zdraví v Klecanech. Některé dílčí experimenty byly vykonávány v laboratořích Univerzity Hradec Králové v Hradci Králové, na Centru biomedicínského výzkumu Fakultní nemocnice Hradec Králové v Hradci Králové, v laboratořích Fakulty vojenského zdravotnictví Univerzity obrany v Hradci Králové, v laboratořích Institutu pro farmaceutickou a lékařskou chemii Univerzity Heinricha Heineho v Düsseldorfu, v laboratořích Farmakologického ústavu Maj při Polské akademii věd v Krakově, v laboratořích Lékařské fakulty Jagellonské univerzity v Krakově či laboratořích Fyziologického ústavu Akademie věd České republiky v Praze.

### 3.1 Finální sloučeniny **1-18** odvozené od aripiprazolu či kariprazinu

Finální látky **1-18** byly navrženy pomocí metod molekulárního designu, byl proveden výpočet jejich fyzikálně chemických vlastností, jejich chemická syntéza a byly zjištěny afinity k D<sub>2</sub> a 5-HT<sub>3</sub> receptorům. Dále bylo provedeno *in vivo* testování, které bylo publikováno v práci P1.

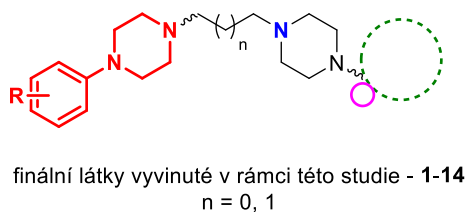
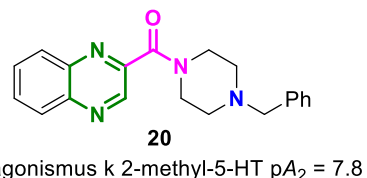
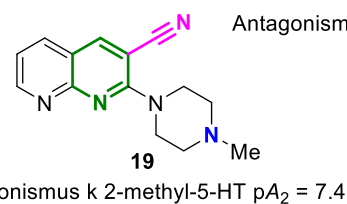
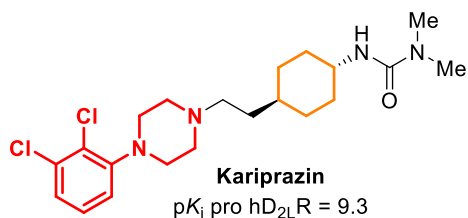
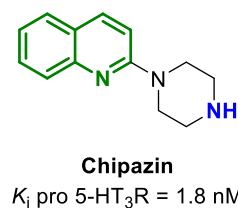
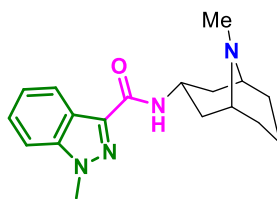
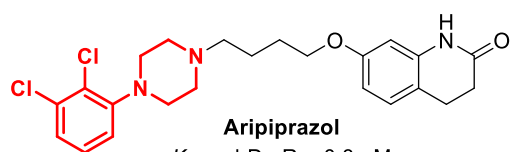
#### 3.1.1 Design finálních sloučenin **1-18** odvozených od aripiprazolu či kariprazinu

Duální ligandy **1-18** (Obr. 4 a 5) zaměřené na ovlivnění D<sub>2</sub>R a 5-HT<sub>3</sub>R byly autorem disertační práce publikovány v článku P1 [144]. Nové ligandy **1-14** (Obr. 4) byly navrženy s využitím farmakoforu pro antagonismus 5-HT<sub>3</sub>R, který je definován třemi hlavními oblastmi, aromatickým kruhem (zeleně, Obr. 4), akceptorem vodíkové vazby (HBA), který je koplanární s aromatickým cyklem (fialově, Obr. 4), a bazickým atomem dusíku, který je součástí cyklického uskupení (modře, Obr. 4) [145]. Karbonitrilová skupina nebo amidická skupina představují HBA v typickém farmakoforu pro antagonismus na 5-HT<sub>3</sub>R [146,147]. Příklady potentních antagonistů na 5-HT<sub>3</sub>R jsou granisetron [79], chipazin [148] a sloučeniny **19** [146] a **20** [147] (Obr. 4), které byly vybrány na základě review (S1), které autor vypracoval. Mnoho z nejúčinnějších a široce používaných neuroleptik patří do skupiny 1,4-disubstituovaných aromatických piperazinů a piperidinů (1,4-DAP). Biologická aktivita 1,4-DAP je kódována aromatickou hlavicí, která řídí vnitřní aktivitu, a amino skupinou, která je zodpovědná za tvorbu vodíkové vazby ke klíčovému zbytku Asp<sup>3.32</sup> v transmembránové šroubovici 3 D<sub>2</sub>R [149]. Spojovací řetězec řídí selektivitu pro dané podtypy dopaminových receptorů. Bylo prokázáno,

že molekuly s tříuhlíkatým spojovacím řetězcem vykazovaly selektivitu k  $D_2R$  [150,151]. Aromatický/heteroaromatický přívěsek na opačné straně molekuly řídí receptorovou afinitu [149]. 2,3-Dichlorfenylpiperazin (reprezentativní aromatická hlavice s bazickým atomem dusíku, který je součástí cyklického uskupení; červená barva, Obr. 4), který je charakteristickým motivem třetí generace antipsychotik aripiprazolu (Obr. 4) a kariprazinu (Obr. 4), je zodpovědný za afinitu k  $D_2R$  [152]. Aripiprazol [125] a kariprazin [55] jsou parciálními agonisty  $D_2R$ . Dále také ovlivňují serotoninové receptory typu 1A ( $5-HT_{1A}R$ ) a jsou antagonisty  $5-HT_{2A}R$ . Cyklohexanový kruh (oranžový, Obr. 4) v molekule kariprazinu může být nahrazen piperazinem, a tím zvyšovat  $5-HT_3R$  antagonismus.

## D<sub>2</sub>R parciální agonismus/antagonismus

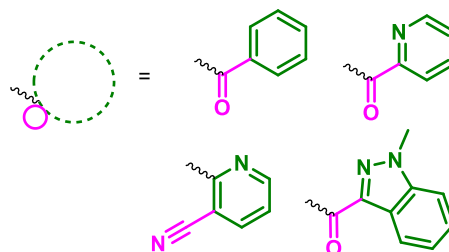
## 5-HT<sub>3</sub>R antagonismus



**D<sub>2</sub>R fragment**

**5-HT<sub>3</sub>R fragment**

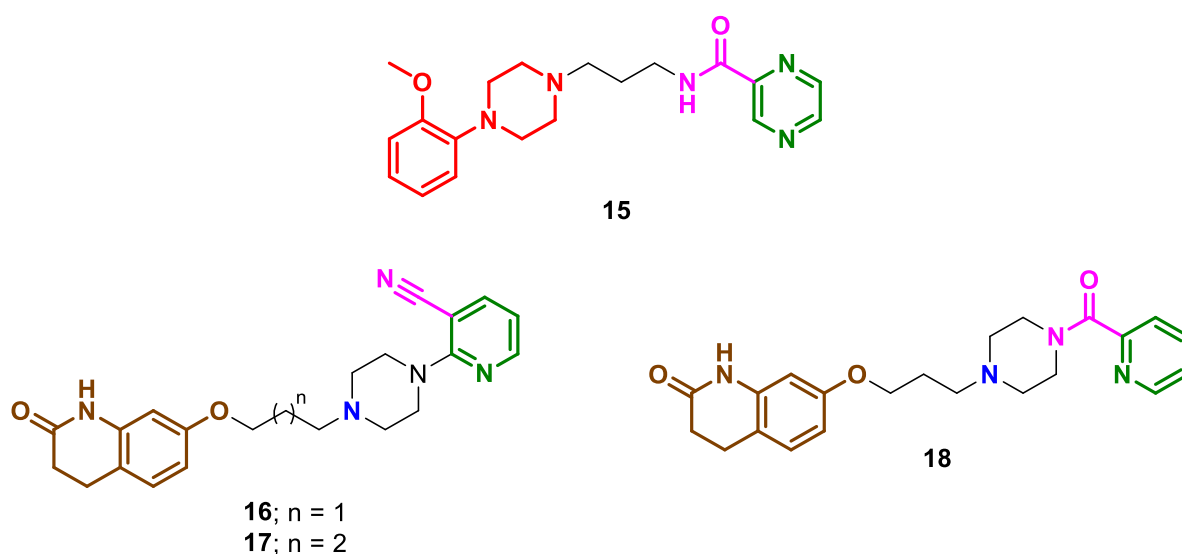
R = H, 2-OMe, 2,3-di-  
Cl, 4-OMe,



**Obrázek 4** – Schematický výkres designu pro finální sloučeniny 1-14.

Níže uvedený design finálních molekul **15-18** byl publikován v práci P1 [144]. Další ligandy s afinitou k D<sub>2</sub>/5-HT<sub>3</sub> receptorům byly navrženy kombinací strukturních fragmentů 2-methoxyfenylpiperazinu nebo 7-hydroxy-3,4-dihydro-2(1H)-chinolinonu s farmakoforem ze sloučenin **19** nebo **20** (Obr. 4). Podobně jako u 2,3-dichlorfenylpiperazinové části (červená barva, Obr. 4), i 2-methoxyfenylpiperazinový (červená barva, Obr. 5) fragment se váže na D<sub>2</sub>R

[152]. Použití 1,3-propan-diyl-aminokarbonylového spojovacího řetězce poskytuje selektivní D<sub>2</sub>R ligandy [150,151]. Jeden derivát byl navržen tímto postupem (**15**, Obr. 5). 7-Hydroxy-3,4-dihydro-2(1*H*)-chinolinon (hnědá barva, Obr. 5) je důležitý fragment aripiprazolu, přičemž tento skelet byl použit při návrhu molekul ovlivňujících D<sub>2</sub>R [153,154]. 3-Propoxy a 4-butoxy spojovací řetězce byly shledány optimálními pro zajištění afinity k D<sub>2</sub>R [153]. V rámci studie byly tímto přístupem získány tři takové deriváty (**16-18**, Obr. 5).



**Obrázek 5** – Chemické struktury finálních sloučenin **15-18**.

### 3.1.2 Výpočet fyzikálně chemických vlastností finálních sloučenin **1-18** odvozených od aripiprazolu či karpiprazinu

Efektivní antipsychotická léčiva musí prostupovat do mozku. HEB je hlavním regulátorem transportu molekul do a z CNS [128]. Pro predikci schopnosti molekuly překročit HEB byly navrženy různé matematické algoritmy založené na analýze fyzikálně chemických vlastností molekul [129–141]. Van der Waterbeemd *et al.* navrhli následující parametry předurčující efektivní prostup léčiv do CNS: molekulová hmotnost (Mw; z angl. molecular weight) < 450 Da, log*D* <1-4> a součet povrchu nad polárními atomy (TPSA; z angl. topological polar surface area) < 90 Å<sup>2</sup> [131]. Dále Kelder *et al.* doporučili TPSA < 70 Å<sup>2</sup> pro většinu CNS léčiv [141]. Norinder *et al.* navrhli, že molekula s počtem atomů kyslíku + dusíku < 5 nebo clog*P*

– (atomy O + N) > 0 má vyšší pravděpodobnost přechodu přes HEB [140]. Ze studie 329 perorálních léčiv bylo zjištěno, že fyzikálně chemické vlastnosti CNS léčiv se významně liší od léčiv bez CNS aktivity, s průměrnými hodnotami Mw 310 Da, 4,3 (atomů kyslíku a dusíku), 2,1 HBA a 4,7 (počtu rotovatelných vazeb) [139]. Doporučené rozsahy fyzikálně chemických vlastností poskytnuté Hitchcockem *et al.* pro zvýšenou penetraci HEB byly: TPSA < 90 Å<sup>2</sup>, donory vodíkové vazby (HBD; z angl. hydrogen bond donor) < 3, clogP <2-5>, clogD (při pH 7,4) <2-5> a Mw < 500 Da [138]. Nedávné studie se pokusily zlepšit Lipinského pravidlo pěti pro návrh léků na CNS. Lipinského pravidlo pěti definuje správné fyzikálně chemické vlastnosti léčiva jako: Mw < 500 Da, logP < 5, HBD < 5 a HBA < 10 [155]. Toto pravidlo ale není specifické pro CNS léčiva [129]. Wager *et al.* vyvinuli algoritmus nazvaný „multiparametrická optimalizace“ pro predikci fyzikálně chemických vlastností léčiv. Střední hodnoty pro CNS molekuly dle těchto autorů byly: Mw = 305,3 Da; clogP = 2,8; clogD = 1,7; TPSA = 44,8 Å<sup>2</sup>; HBD = 1 a pK<sub>A</sub> = 8,4 [135,136].

K výpočtu tzv. HEB skóre nových 5-HT<sub>3</sub>/D<sub>2</sub>R ligandů **1-18** byl použit algoritmus vynalezený Guptou *et al.* [129]. Hodnoty jsou uvedeny v Tabulce 2. Dle tohoto algoritmu derivát vykazující HEB skóre (3,4] má 21,9% pravděpodobnost, že překročí HEB, při (4,5] 54,5% pravděpodobnost a při (5,6] 90,3% pravděpodobnost. Naopak při hodnotě HEB skóre (0,2] má ligand 0% pravděpodobnost překročení HEB a (2,3] 12,8% pravděpodobnost [129]. Software MarvinSketch (ChemAxon Ltd., v. 20.15.0; <https://chemaxon.com/>) byl použit k predikci a výpočtu některých fyzikálně chemických deskriptorů, jako je počet těžkých atomů, MWHBN (deskriptor obsahující Mw, HBD a HBA), TPSA a pK<sub>A</sub> [156].

**Tabulka 2** – Vypočtené HEB skóre pro finální látky **1-18**.

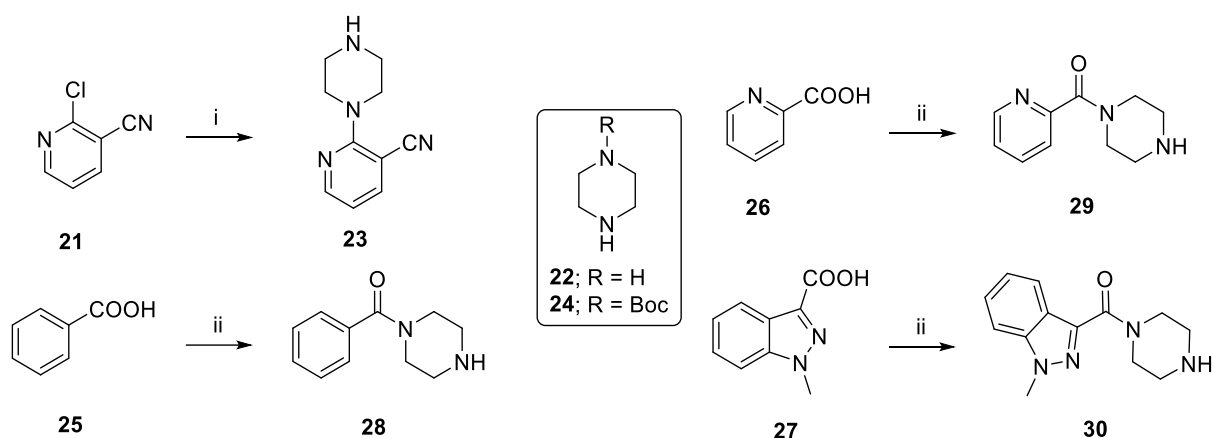
Sloučenina	HEB skóre <sup>a</sup>	Sloučenina	HEB skóre <sup>a</sup>
<b>1</b>	4,8	<b>10</b>	5,0
<b>2</b>	4,8	<b>11</b>	4,4
<b>3</b>	4,4	<b>12</b>	4,8
<b>4</b>	4,4	<b>13</b>	4,3
<b>5</b>	5,1	<b>14</b>	4,5
<b>6</b>	5,4	<b>15</b>	4,3
<b>7</b>	5,1	<b>16</b>	4,1
<b>8</b>	5,2	<b>17</b>	4,1
<b>9</b>	4,8	<b>18</b>	4,4

<sup>a</sup>Pro výpočet HEB skóre byl použit algoritmus vyvinutý Guptou *et al.* [129].

HEB skóre bylo vypočteno pro celkem 18 sloučenin. Čtrnáct molekul (**1-4**, **9-18**) mělo HEB skóre v rozmezí (4,5] a u 4 molekul (**5-8**) bylo vypočteno HEB skóre v rozmezí (5,6].

### 3.1.3 Syntéza finálních sloučenin **1-18** odvozených od aripiprazolu či kariprazinu

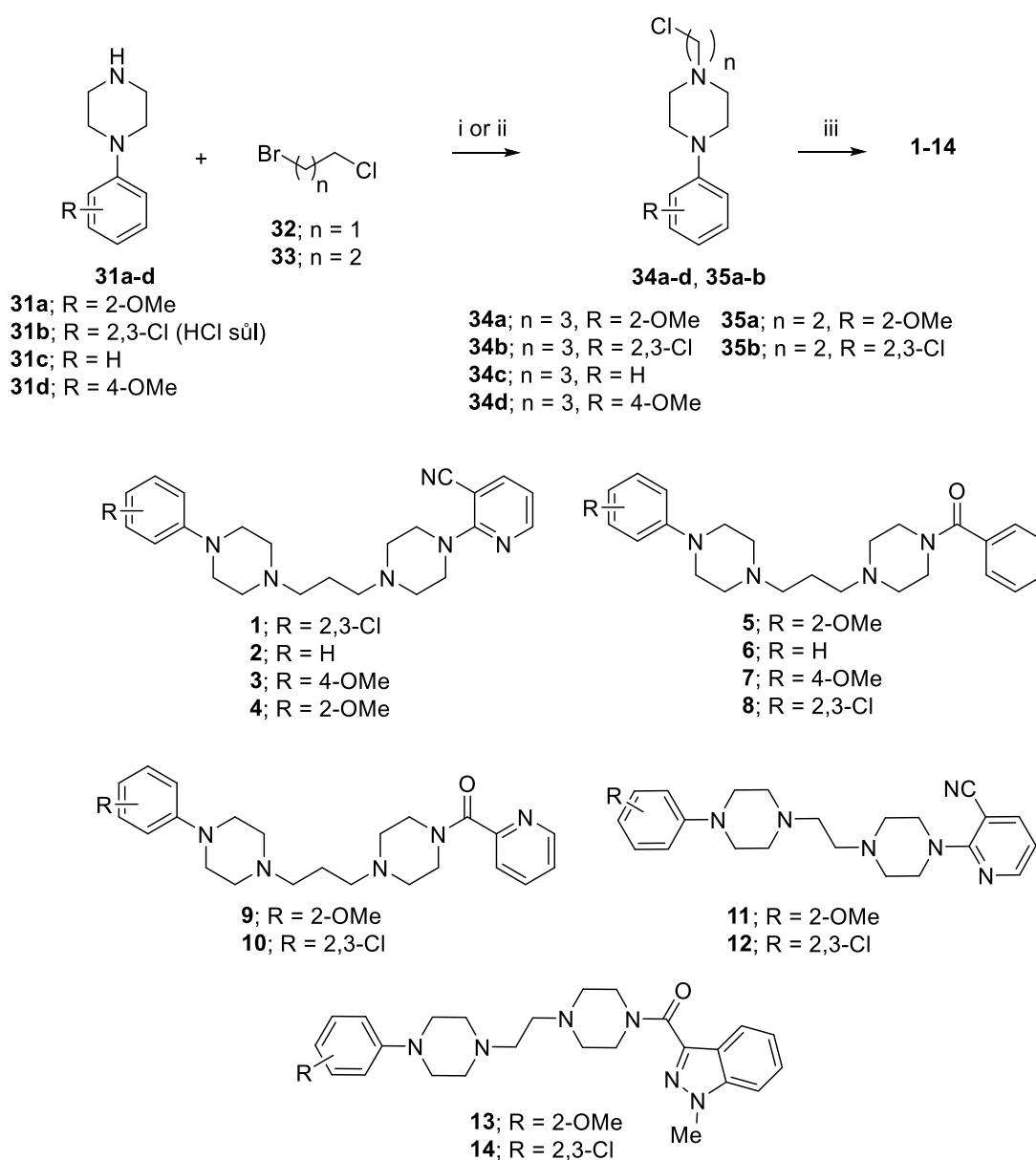
Kompletní syntéza finálních molekul **1-18** i s odpovídajícími meziprodukty byla již publikována v práci P1 [144]. Strukturální fragment zodpovědný za 5-HT<sub>3</sub>R antagonismus (**23**) byl připraven nukleofilní adicí bazického dusíku z piperazinu (**22**) na 2-chlor-3-kyanopyridin (**21**) (Schéma 1) [157]. Další přístup k získání 5-HT<sub>3</sub>R farmakoforů (Schéma 1) využíval nukleofilní adici bazického dusíku z piperazinu chráněného *tert*-butyloxykarbonylovou (Boc) skupinou (**24**) na deriváty karboxylových kyselin (**25-27**), které byly nejprve aktivovány pomocí 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimidu (EDC) a 1-hydroxybenzotriazolu (HOBT). 5-HT<sub>3</sub>R strukturální fragmenty (**28-30**) byly poté připraveny odštěpením chránící Boc skupiny kyselinou trifluoroctovou (TFA) (Schéma 1) [158,159].



**Schéma 1** – Schématické znázornění syntézy aromatických/heteroaromatických hlavicek zodpovědných za 5-HT<sub>3</sub>R antagonismus. Reakční podmínky: i) **22**, EtOH, reflux, 16 h, 90 %; ii) **24**, EDC, HOBT, TEA, DCM, DMF, lt, přes noc a poté TFA, DCM, 0 °C – lt, přes noc, 51–61 %.

K různě substituovaným arylpiperazinům (**31a-d**, Schéma 2) byly zavedeny spojovací řetězce 2-chlorethan-1-yl nebo 3-chlorpropan-1-yl pomocí 1-brom-2-chlorethanu (**32**) nebo 1-

brom-3-chlorpropan (**33**) (Schéma 2) [160,161]. Deriváty **31a**, **31c** a **31d** byly komerčně dostupné, kdy derivát **31b** byl připraven nukleofilní cyklizací mezi 2,3-dichloroanilinem a bis(2-chloroethyl)amin hydrochloridem dle dříve publikovaných podmínek [162]. Finální sloučeniny **1-14** byly získány nukleofilní adicí mezi arylpiperaziny (**34a-d** a **35a-b**), známými D<sub>2</sub>R farmakofory, a **23** a **28-30** (5-HT<sub>3</sub>R strukturální fragmenty) v *N,N*-dimethylformamidu (DMF) v přítomnosti uhličitanu draselného (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) při 90 °C (Schéma 2) [163].

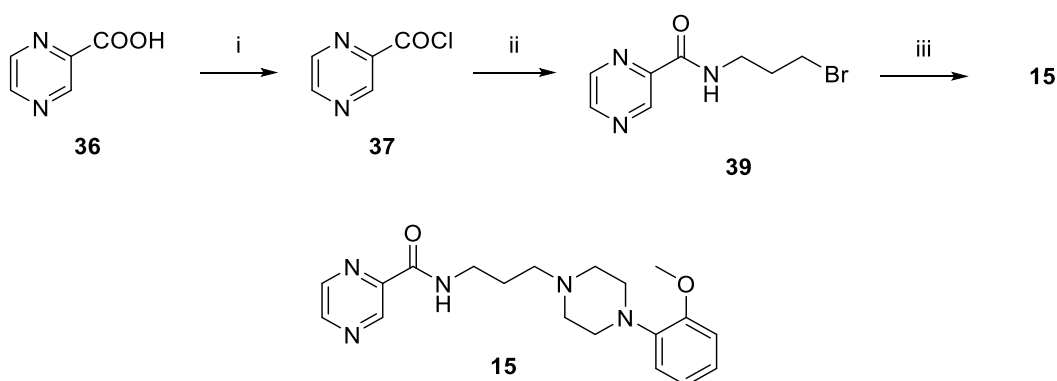


**Schéma 2** – Schématické znázornění syntézy D<sub>2</sub>R farmakoforů **34a-d** a **35a-b** s různě dlouhými spojovacími řetězci a jejich následná transformace ve finální látky **1-14**. Reakční podmínky: i)



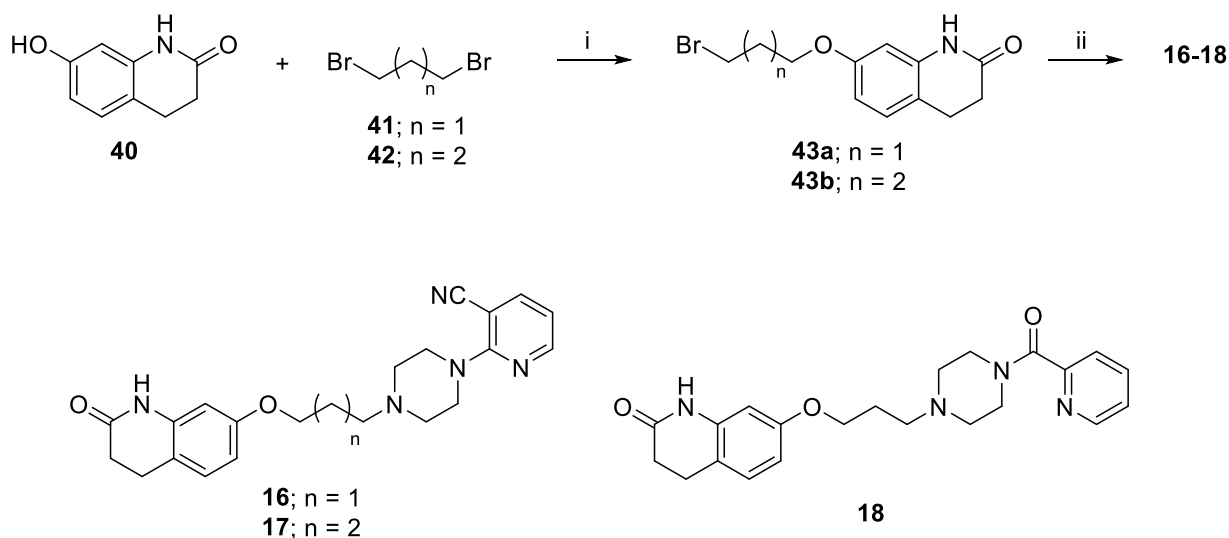
**32**, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, aceton, 0 °C – lt, 48 h, 49 – 53 %; ii) **33**, 25 % NaOH, aceton, 0 °C – lt, 48 h, 57 – 62 %; iii) příslušný 5-HT<sub>3</sub>R farmakofor (**23**, **28-30**), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, 90 °C, 2 h, 27 – 37 %.

Další 5-HT<sub>3</sub>R farmakofor byl připraven aktivací pyrazinkarboxylové kyseliny (**36**) thionylchloridem za vzniku odpovídajícího acylchloridu **37**, který následně reagoval s hydrobromidem 3-brompropylaminu (**38**) za vzniku amidu **39** (Schéma 3). Finální sloučenina **15** byla poté připravena nukleofilní adicí mezi **39** a **31a** (Schéma 3) [164].



**Schéma 3** – Schématické znázornění syntézy finální látky **15**. Reakční podmínky: i) SOCl<sub>2</sub>, toluen, reflux, 1 h; ii) **38**, pyridin, aceton, lt, 18 h, 41 %; iii) **31a**, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeCN, reflux, 18 h, 31 %.

Jiný přístup zavedení D<sub>2</sub>R farmakoforu využíval nukleofilní adici 7-hydroxy-3,4-dihydro-2(1H)-chinolinonu (**40**) buď na spojovací řetězec 1,3-dibrompropanu (**41**) nebo 1,4-dibrombutanu (**42**) (Schéma 4) [165]. Finální sloučeniny **16-18** byly poté připraveny z **43a** nebo **43b** a odpovídajících 5-HT<sub>3</sub>R farmakoforů **23** nebo **29** nukleofilní adicí v acetonu v přítomnosti NaOH (Schéma 4) [166].



**Schéma 4** – Schématické znázornění syntézy finálních sloučenin **16-18**. Reakční podmínky: i)  $K_2CO_3$ , MeCN, reflux, 10 h, 44–49 %; ii) **23** nebo **29**, 6M NaOH, aceton, lt, 24 h, 31–37 %.

Syntéza finálních sloučenin **1** a **4** pro další studie byla optimalizována pomocí reakčních podmínek za použití acetonitrilu (MeCN),  $K_2CO_3$  a refluxu po dobu 20 hodin. Za těchto reakčních podmínek byly finální látky získány ve výtěžcích 79 % a 69 % [144].

### 3.1.4 Afinita k 5-HT a $D_2$ receptorům finálních sloučenin **1-18**

Hodnoty afinit k 5-HT a  $D_2$  receptorům a jejich diskuze pro finální látky **1-18** byly již publikovány v práci P1 [144]. Jak bylo uvedeno výše, hlavním cílem této disertační práce bylo sloučit afinity 5-HT<sub>3</sub>/ $D_2$ R do nově vyvinutých sloučenin (**1-18**, Schémata 2-4). Antipsychotický účinek těchto látek by také podpořily další interakce se serotoninovými receptory, konkrétně s 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> a 5-HT<sub>7</sub> receptory. Je známo, že antagonisté 5-HT<sub>2A</sub>R snižují negativní symptomy schizofrenie při současné redukci extrapyramidových vedlejších účinků [167]. 5-HT<sub>1A</sub>R hrají klíčovou roli prostřednictvím dvou opačných mechanismů [168]:

- 1) stimulace těchto receptorů může zmírnit antipsychotiky indukované extrapyramidové vedlejší účinky
- 2) naopak antagonistické vlastnosti na 5-HT<sub>1A</sub>R mohou zlepšit kognitivní poruchy schizofrenie

Blokáda 5-HT<sub>7</sub>R pozitivně moduluje negativní a kognitivní symptomy schizofrenie [169].

Obecně lze říct, že u testovaných sloučenin nebyly pozorovány žádné podstatné rozdíly mezi relativními afinitami za použití dvou různých vazebných experimentů, tj. [<sup>3</sup>H]-raklopridu na lidské buněčné linii odvozené z embryonálních buněk ledvin (HEK293, z angl. human embryonic kidney 293 cells) exprimujících D<sub>2L</sub>R a [<sup>3</sup>H]-spiperonu na buňkách vaječnicků čínské křečka (CHO, z angl. chinese hamster ovary cells) transfekovaných D<sub>2</sub>R. Výsledky jsou shrnuty v Tabulce 3. Sloučeniny **1** a **17** vykazovaly nejvyšší a **6**, **7** a **18** na druhou stranu nejnižší afinity v obou radioligandových testech.

Z hlediska SAR vztahu sloučeniny obsahující 2,3-dichlorfenylpiperazinový fragment vykazovaly nejvyšší afinitu k D<sub>2L</sub>R ve srovnání s jinými arylpiperaziny. Například analog **1** ( $K_i$  pro D<sub>2L</sub>R = 10 nM) měl 11, 77 a 150krát vyšší afinitu k D<sub>2</sub>R ve srovnání s jeho 2-methoxyfenylpiperazinovým **4** ( $K_i$  pro D<sub>2L</sub>R = 110 nM), fenyl-piperazinovým **2** ( $K_i$  pro D<sub>2L</sub>R = 770 nM) a 4-methoxyfenylpiperazinovým **3** ( $K_i$  pro D<sub>2L</sub>R = 1 500 nM) analogem. Sloučenina **1** s trimethylenovým spojovacím můstkem obsahující dvě piperazinové jednotky vykazovala větší afinitu k D<sub>2</sub>R než analog **12** spojený ethylenovým spojovacím řetězcem ( $K_i$  pro D<sub>2L</sub>R = 210 nM). Podobné strukturní úvahy lze provést v podskupině nesoucí 7-alkoxyoxy-3,4-dihydro-2(1*H*)-chinolinonovou skupinu (**16** vs. **17**). Butyloxyderivát **17** ( $K_i$  pro D<sub>2L</sub>R = 9.0 nM) vykazoval větší afinitu k D<sub>2</sub>R než příbuzný propyloxy derivát **16** ( $K_i$  pro D<sub>2L</sub>R = 81 nM). Analogy nikotinonitrilu, jako je např. derivát **1**, vykazovaly vyšší afinitu k D<sub>2L</sub>R ve srovnání s odpovídajícími analogy benzamidu **8** ( $K_i$  pro D<sub>2L</sub>Rs = 120 nM) a pikolinamidu **10** ( $K_i$  pro D<sub>2L</sub>Rs = 82 nM).

Pokud jde o účinek finálních molekul této série na 5-HT<sub>3</sub>R, sloučeniny vykazovaly různé mechanismy účinku. Zatímco většina sloučenin vykazovala nekompetitivní nebo smíšený mechanismus inhibice, ondansetron a molekuly **10** a **16** vykazovaly kompetitivní mechanismus účinku. U sloučeniny **4** je zajímavé, že snížení maximální kontraktilní odezvy v ileu morčete ukazuje na komplexnější interakci mezi testovanou sloučeninou, 5-HT<sub>3</sub>R a pravděpodobně dalšími přítomnými receptorovými systémy. Možné vysvětlení těchto efektů může být v pomalé disociaci látky z receptoru nebo alosterický účinek na testované receptory [170]. Co se týče inhibiční účinnosti, byl pozorován podobný vztah struktura-aktivita jako v případě afinit k D<sub>2L</sub>R. 2,3-Dichlorfenylpiperazinová sloučenina **1** snížila při testování účinek 5-HT na 32 % při koncentraci 1 μM. Analog **1** měl nejvyšší 5-HT<sub>3</sub>R antagonismus ve srovnání s jinými

arylpiperaziny ve skupině bis-piperazinů: **1** vs **4** (2-OMe;  $pK_B$  pro 5-HT<sub>3</sub>R = 6,2) vs **2** (Ph; IC<sub>50</sub> pro 5-HT<sub>3</sub>R > 3 μM) vs **3** (4-OMe; IC<sub>50</sub> pro 5-HT<sub>3</sub>R = 3-10 μM). Sloučeniny s trimethylenovým spojovacím řetězcem pro spojení dvou piperazinových kruhů vykazovaly vyšší antagonistické vlastnosti k 5-HT<sub>3</sub>R (například **1**) než analog **12** s ethylenovým spojovacím řetězcem (IC<sub>50</sub> pro 5-HT<sub>3</sub>R ≈ 1 μM). Derivát nikotinonitrilu **1** vykazoval nejvyšší antagonismus k 5-HT<sub>3</sub>R oproti benzamidu **8** (IC<sub>50</sub> pro 5-HT<sub>3</sub>R > 3 μM) a pikolinamidu **10** ( $pK_B$  pro 5-HT<sub>3</sub>R = 5,3). Fragment 7-alkoxy-3,4-dihydro-2(1*H*)-chinolinonu (**16-18**) byl vyhodnocen jako nevhodný pro antagonistické vlastnosti vůči 5-HT<sub>3</sub> receptorům. Většina finálních sloučenin vykazovala slabou afinitu k 5-HT<sub>2A</sub>R, což naznačuje selektivitu pro 5-HT<sub>3</sub>R. Pouze u molekuly **1** byla zjištěna submikromolární 5-HT<sub>2A</sub>R afinita.

Na základě receptorového profilu pro hlavní cílové receptory (D<sub>2</sub> a 5-HT<sub>3</sub>) byly vybrány molekuly **1** a **4** jako nejslibnější kandidáti pro další testování. U těchto analogů byly vyhodnoceny vnitřní aktivity na D<sub>2</sub>R a afinity k 5-HT<sub>1A</sub> i 5-HT<sub>7</sub> receptorům pomocí buněk HEK293 a radioligandů [<sup>3</sup>H]-ketanserinu a [<sup>3</sup>H]-5-karboxyamidotryptaminu. Deriváty **1** a **4** byly velmi silnými antagonisty D<sub>2</sub>R ( $K_b$  pro D<sub>2</sub>R = 15 a 9.0 nM, Tab. 4) bez agonistické aktivity až do 10 μM (Obr. 6). Kromě toho měly obě sloučeniny vysokou 5-HT<sub>1A</sub>R a střední až nízkou 5-HT<sub>7</sub>R afinitu (Tab. 3).

Sloučenina **1** vykazovala podobnou D<sub>2</sub>R a 5-HT<sub>1A</sub>R vazebnou afinitu jako aripiprazol, a dokonce vyšší afinitu než atypické antipsychotikum klozapin (Tab. 3). Kromě toho měla molekula **1** podobnou afinitu k 5-HT<sub>3</sub>R ve srovnání s klozapinem a aripiprazolem. Na druhé straně, derivát **4** měl ve srovnání s klozapinem afinitu k D<sub>2</sub>R ve stejném rozsahu, ale o jeden řád vyšší k 5-HT<sub>1A</sub>R. Žádná ze sloučenin vyvinutých v této sérii však nevykazovala srovnatelnou afinitu k 5-HT<sub>2A</sub>R a 5-HT<sub>7</sub>R s aripiprazolem nebo klozapinem.

**Tabulka 3** – Vazebné afinity finálních sloučenin **1-18** k D<sub>2L</sub>, D<sub>2</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> receptorům a jejich funkční antagonismus k 5-HT<sub>3</sub>R a dále vazebné afinity vybraných finálních sloučenin **1** a **4** k 5-HT<sub>1A</sub> a 5-HT<sub>7</sub> receptorům.

Sloučenina	Vazebné afinity $K_i$ (nM)					Funkční antagonismus
	D <sub>2L</sub> R <sup>d</sup>	D <sub>2</sub> R <sup>e</sup>	5-HT <sub>2A</sub> R	5-HT <sub>1A</sub> R	5-HT <sub>7</sub> R	5-HT <sub>3</sub> R <sup>k,l,m</sup>

<b>1</b>	10 ± 3.0	30	470 ± 29	19 ± 4.0	570 ± 70	IC <sub>50</sub> = 0.3–1 μM
<b>2</b>	770 ± 130	80	13000 ± 2200	-	-	IC <sub>50</sub> > 3 μM
<b>3</b>	1500 ± 300	370	40000 ± 9800	-	-	IC <sub>50</sub> = 3–10 μM
<b>4</b>	110 ± 6.0	50	23000 ± 3700	18 ± 2.0	2700 ± 600	pK <sub>B</sub> = 6.2
<b>5</b>	260 ± 43	130	30000 ± 6600	-	-	n.a. <sup>h</sup> při 3 μM
<b>6</b>	2100 ± 400	1400	6500 ± 1200	-	-	n.a. <sup>h</sup> při 3 μM
<b>7</b>	5500 ± 1200	n.a. <sup>h</sup>	30000 ± 5000	-	-	IC <sub>50</sub> > 10 μM
<b>8</b>	120 ± 14	20	1700 ± 110	-	-	IC <sub>50</sub> > 3 μM
<b>9</b>	590 ± 72	230	n.a. <sup>h</sup>	-	-	n.a. <sup>h</sup> při 3 μM
<b>10</b>	82 ± 11	40	2300 ± 320	-	-	pK <sub>B</sub> = 5.3
<b>11</b>	130 ± 7.0	50	n.a. <sup>h</sup>	-	-	IC <sub>50</sub> > 10 μM
<b>12</b>	210 ± 19	40	1300 ± 280	-	-	IC <sub>50</sub> ≈ 1 μM
<b>13</b>	630 ± 120	280	8300 ± 2000	-	-	IC <sub>50</sub> = 3–10 μM
<b>14</b>	130 ± 10	100	1800 ± 330	-	-	IC <sub>50</sub> = 1–3 μM
<b>15</b>	860 ± 100	310	35800 ± 8400	-	-	n.a. <sup>h</sup> při 3 μM
<b>16</b>	81 ± 7.0	240	5300 ± 980	-	-	pK <sub>B</sub> = 5.0

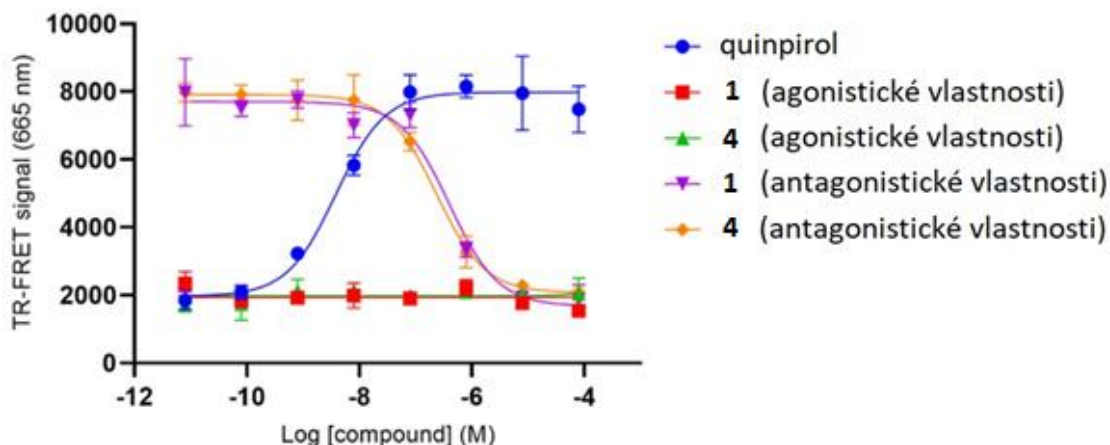
<b>17</b>	9.0 ± 2.0	2.5	6900 ± 760	-	-	IC <sub>50</sub> > 10 μM
<b>18</b>	2100 ± 360	n.a. <sup>h</sup>	7400 ± 1600	-	-	n.a. <sup>h</sup> při 3 μM
ari. <sup>a,b</sup>	4.5 ± 1.0	-	28 ± 3	5.6 <sup>i</sup>	10 <sup>i</sup>	630 <sup>i,n</sup>
klozapin <sup>a</sup>	150 <sup>e</sup>	-	3.3 <sup>e</sup>	180 <sup>e</sup>	21 <sup>e</sup>	110 <sup>e,n</sup>
ondan. <sup>a,c</sup>	>10000 <sup>f</sup>	-	>10000 <sup>f</sup>	>10000 <sup>f</sup>	>1000 <sup>j</sup>	pK <sub>B</sub> = 7.36 <sup>o</sup>

<sup>a</sup>Referenční sloučenina; <sup>b</sup>ari – aripiprazol; <sup>c</sup>ondan – ondansetron; <sup>d</sup>radioligand [<sup>3</sup>H]-raklopid, buňky HEK293 exprimujících D<sub>2L</sub>R, tato assay byla provedena v laboratoři profesora A. J. Bojarského, Farmakologický ústav Maj, v Krakově; <sup>e</sup>[54]; <sup>f</sup>[171]; <sup>g</sup>radioligand [<sup>3</sup>H]-spiperon, buňky CHO transfekovaných D<sub>2</sub>R, tato assay byla provedena doktorkou K. Štefkovou-Mazochovou v Národním ústavu duševního zdraví v Klecanech; <sup>h</sup>žádná afinita (z angl. no affinity); <sup>i</sup>[124]; <sup>j</sup>[172]; <sup>k</sup>v případě kompetitivní vazby byla vypočtena hodnota pK<sub>B</sub>; <sup>l</sup>na základě pozorovaných funkčních antagonismů byl odhadnut rozsah hodnot IC<sub>50</sub>; <sup>m</sup>assay pro určení antagonistických vlastností k 5-HT<sub>3</sub>R byla provedena v laboratoři doktorky M. Kubacký, Lékařská fakulta Jagellonské univerzity v Krakově; <sup>n</sup>K<sub>i</sub> v nM; <sup>o</sup>stanovena také hodnota pA<sub>2</sub> (pA<sub>2</sub> = 7,42).

**Tabulka 4** – Vnitřní aktivity finálních látek **1** a **4** k D<sub>2</sub>R.

Sloučeniny	EC <sub>50</sub> (nM)	K <sub>b</sub> (nM)
<b>1</b>	n.a. <sup>a</sup>	15 ± 4.0
<b>4</b>	n.a. <sup>a</sup>	9.0 ± 2.0

<sup>a</sup>Žádná afinita (z angl. no affinity). Tato funkční assay byla provedena v laboratoři profesora A. J. Bojarského, Farmakologický ústav Maj, v Krakově.



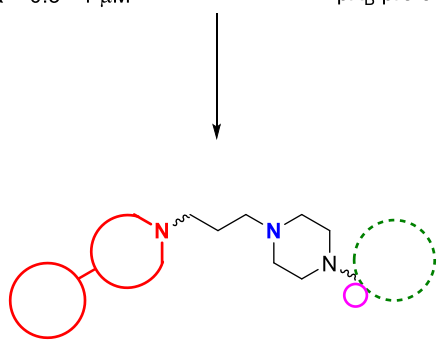
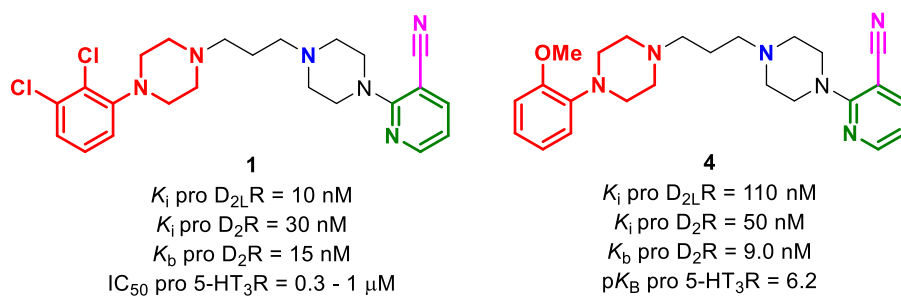
**Obrázek 6** – Výsledky z D<sub>2</sub>R cAMP funkčního testu pro **1** a **4**. Quinpirol byl použit jako referenční sloučenina. Data představují hodnoty z n = 3 technických opakování a body s chybovými úsečkami představují průměr ± SD.

### 3.2 Finální sloučeniny **44-59** odvozené od finálních sloučenin **1** a **4**

Finální látky **44-59** byly navrženy pomocí metod molekulárního designu na základě výsledků aktivity molekul **1** a **4**, byl proveden výpočet jejich fyzikálně chemických vlastností a jejich chemická syntéza.

#### 3.2.1 Design finálních molekul **44-59** odvozených od finálních sloučenin **1** a **4**

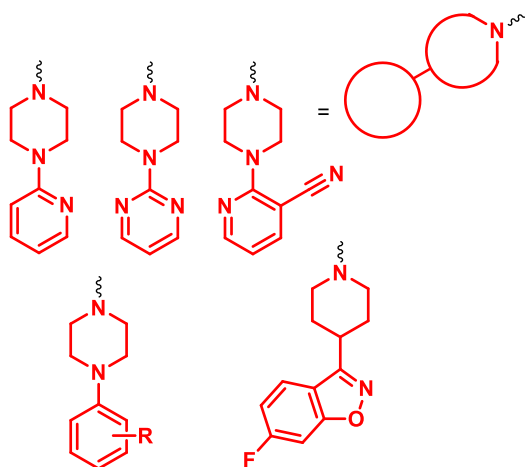
Nové ligandy **44-59** (Obr. 7) 5-HT<sub>3</sub>/D<sub>2</sub> receptorů byly navrženy strukturálními modifikacemi od svých molekul **1** a **4** (Schéma 2), u kterých byly zjištěny vysoké afinity (pro D<sub>2</sub>R) a střední afinity (pro 5-HT<sub>3</sub>R) pro cílové receptory [144]. Cílem těchto modifikací bylo zvýšení afinit pro 5-HT<sub>3</sub>R u nových ligandů a zároveň zachování afinit pro D<sub>2</sub>R v porovnání s molekulami **1** a **4**. D<sub>2</sub>R fragmenty byly vybrány na základě referenční práce S2, kterou autor vypracoval.



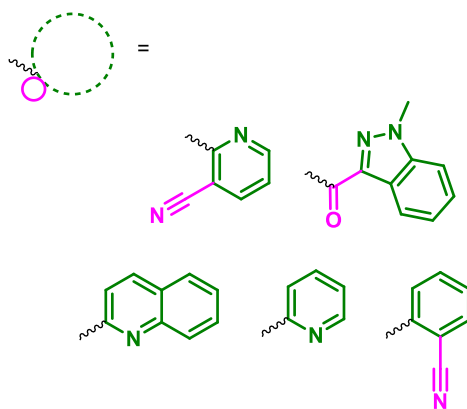
finální látky vyvinuté v rámci této studie - **44-59**

**D<sub>2</sub>R fragment**

**5-HT<sub>3</sub>R fragment**



R = 2-OMe, 2-OEt, 2-Cl, 2-CN, 2,3-di-Cl, 4-OMe, 4-Cl



**Obrázek 7** – Schematický výkres designu pro finální sloučeniny **44-59** odvozených od mateřských molekul **1** a **4**.



### 3.2.2 Výpočet fyzikálně chemických vlastností finálních sloučenin **44-59** odvozených od **1 a 4**

K výpočtu HEB skóre nových D<sub>2</sub>/5-HT<sub>3</sub>R ligandů **44-59** byl použit algoritmus vynalezený Guptou *et al.* [129]. Hodnoty jsou uvedeny v Tabulce 5.

**Tabulka 5** – Vypočtené HEB skóre pro finální látky **44-59**.

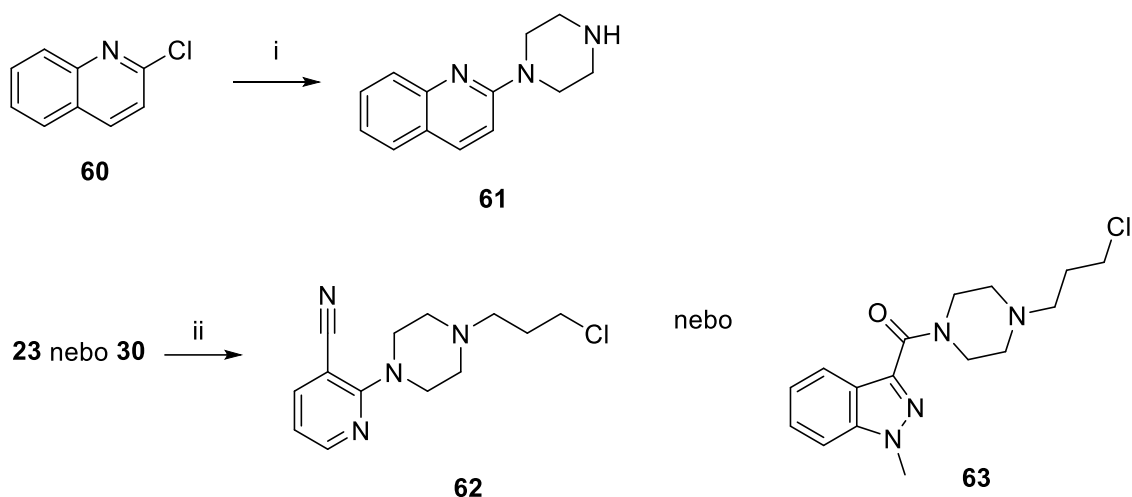
Sloučenina	HEB skóre <sup>a</sup>	Sloučenina	HEB skóre <sup>a</sup>
<b>44</b>	3,7	<b>52</b>	4,3
<b>45</b>	4,2	<b>53</b>	4,5
<b>46</b>	4,4	<b>54</b>	4,8
<b>47</b>	3,9	<b>55</b>	5,0
<b>48</b>	4,4	<b>56</b>	4,6
<b>49</b>	4,1	<b>57</b>	5,1
<b>50</b>	4,8	<b>58</b>	5,4
<b>51</b>	4,8	<b>59</b>	4,9

<sup>a</sup>Pro výpočet HEB skóre byl použit algoritmus vyvinutý Guptou *et al.* [129].

HEB skóre bylo vypočteno pro celkem 16 sloučenin v této sérii molekul. Dvě látky (**44** a **47**) měly HEB skóre v rozmezí (3,4], dvanáct sloučenin (**45-46**, **48-56** a **59**) mělo HEB skóre v rozmezí (4,5] a u dvou látek (**57-58**) bylo vypočteno HEB skóre v rozmezí (5,6].

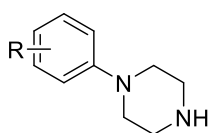
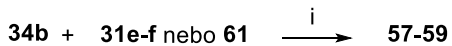
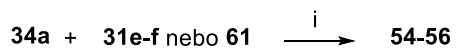
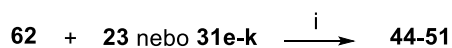
### 3.2.3 Syntéza finálních sloučenin **44-59** odvozených od **1 a 4**

Chipazin (**61**), zodpovědný za 5-HT<sub>3</sub>R antagonismus, byl připraven nukleofilní adicí **22** na 2-chlorchinolin (**60**) (Schéma 5) [173]. Dále 5-HT<sub>3</sub>R farmakofory **23** nebo **30** reagovaly se sloučeninou **33** v acetonu za přítomnosti 25 % NaOH za vzniku **62** a **63** (Schéma 5) [160]. Při těchto reakcích bylo nutné přidat malé množství dimethylsulfoxidu (DMSO) kvůli omezené rozpustnosti výchozích substrátů.



**Schéma 5** – Schématické znázornění syntézy 5-HT<sub>3</sub>R farmakoforů **61** a **62-63** se spojovacím řetězcem 3-chlorpropan-1-yl. Reakční podmínky: i) **22**, PEG-400, 135 °C, 1 h, 76 %; ii) **33**, 25 % NaOH, aceton, DMSO, 0 °C – lt, 48 h, 46–81 %.

Finální sloučeniny **44-59** byly poté připraveny nukleofilní adicí mezi aryl/heteroaryl piperazinem (**62-63** a **34a-b**) a odpovídajícím aryl/heteroaryl piperazinem (**23**, **31a-b**, **31e-k** a **61**) v MeCN za přítomnosti K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> za refluxu (Schéma 6). Výchozí substráty **31e-k** byly komerčně dostupné.

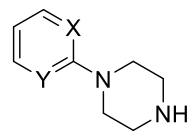


31e; R = 2-CN

31h; R = 2-OEt

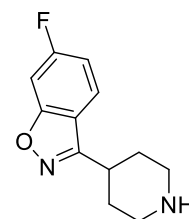
31j; R = 4-Cl

31k; R = 2-Cl

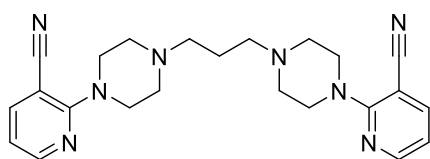


31f; X = N, Y = CH

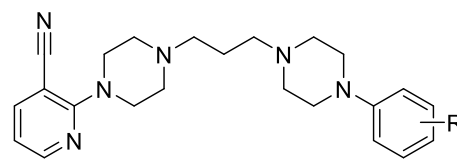
31g; X = N, Y = N



31i



44

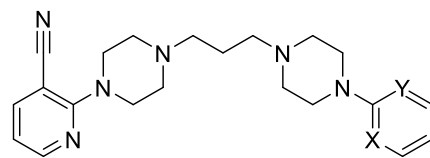


45; R = 2-CN

48; R = 2-OEt

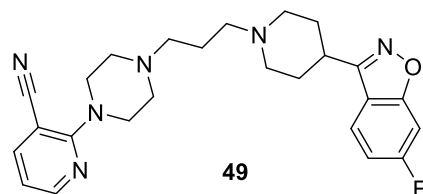
50; R = 4-Cl

51; R = 2-Cl

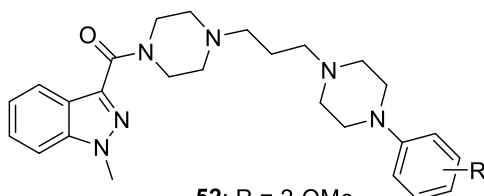


46; X = N, Y = CH

47; X = N, Y = N

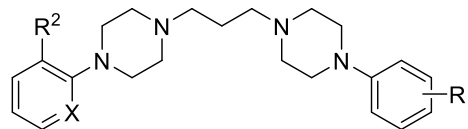


49



52; R = 2-OMe

53; R = 2,3-Cl

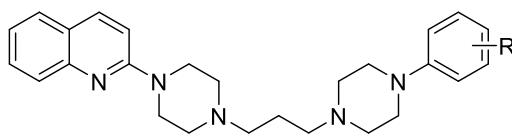


54; R<sup>1</sup> = 2-OMe, X = CH, R<sup>2</sup> = CN

55; R<sup>1</sup> = 2-OMe, X = N, R<sup>2</sup> = H

57; R<sup>1</sup> = 2,3-Cl, X = CH, R<sup>2</sup> = CN

58; R<sup>1</sup> = 2,3-Cl, X = N, R<sup>2</sup> = H



56; R = 2-OMe

59; R = 2,3-Cl

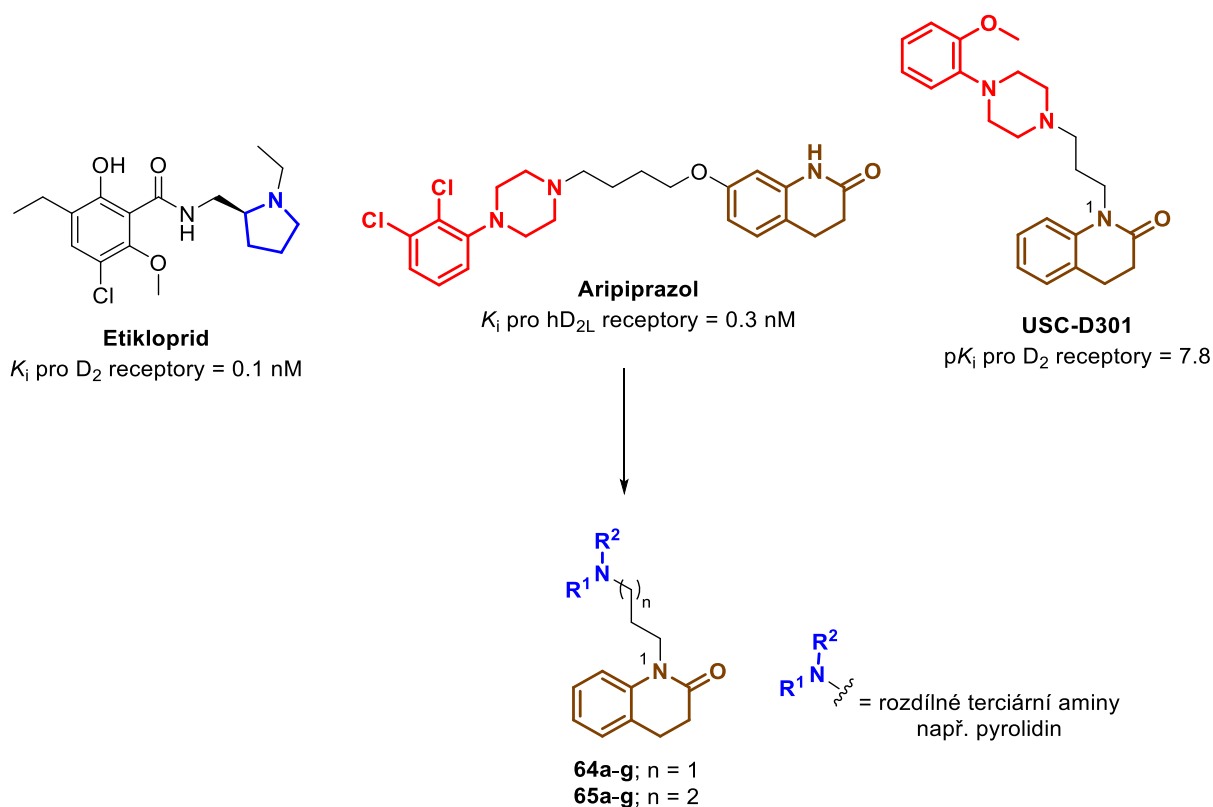
**Schéma 6** – Schématické znázornění syntézy finálních sloučenin **44-59**. Reakční podmínky: i) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeCN, reflux, přes noc, 45 – 90 %.

### 3.3 Finální sloučeniny **64a-g**, **65a-g** odvozené od aripiprazolu

Finální látky **64a-g**, **65a-g** byly navrženy pomocí metod molekulárního designu, byl proveden výpočet jejich fyzikálně chemických vlastností, jejich chemická syntéza a byly zjištěny afinity k D<sub>2</sub>R. Výsledky byly publikovány v práci P2.

#### 3.3.1 Design finálních sloučenin **64a-g**, **65a-g** odvozených od aripiprazolu

Níže popsany design finálních molekul **64a-g**, **65a-g** byl publikován v práci P2 [156]. Spojením různých arylpiperazinových skeletů (červená barva, Obr. 8) s 3,4-dihydrochinolin-2(1*H*)-on fragmentem (hnědá barva, Obr. 8) v poloze 1 přes alifatické spojovací řetězce vedlo k získání účinných D<sub>2</sub>R antagonistů. Reprezentativní příklad těchto D<sub>2</sub>R antagonistů je USC-D301 (Obr. 8) [166]. Etikloprid (Obr. 8) je substituovaný benzamidový analog bez 1,4-disubstituovaného arylpiperazinového fragmentu (červená barva, Obr. 8), který je typický pro některá antipsychotika (např. aripiprazol). Etikloprid obsahuje ve své molekule pouze pyrrolidin (modrá barva, Obr. 8), přesto vykazuje velmi vysokou afinitu k D<sub>2</sub>R [174]. Cílem bylo tedy prozkoumat, zda-li nově připravené deriváty (**64a-g** a **65a-g**, Obr. 8), obsahující pouze cyklický amin bez arylu, budou vykazovat vysokou afinitu k D<sub>2</sub>R jako jejich mateřské molekuly USC-D301 a etikloprid [156].



**Obrázek 8** – Návrh nových derivátů 3,4-dihydrochinolin-2(1H)-onu **64a-g**, **65a-g** z aripiprazolu, etiklopridu a USC-D301.

### 3.3.2 Výpočet fyzikálně chemických vlastností finálních sloučenin **64a-g**, **65a-g** odvozených od aripiprazolu

HEB skóre pro finální látky **64a-g** a **65a-g** byly publikovány v práci P2 [156]. K výpočtu HEB skóre nových  $D_2R$  ligandů **64a-g**, **65a-g** byl použit algoritmus vynalezený Guptou *et al.* [129]. Hodnoty jsou uvedeny v Tabulce 6.

**Tabulka 6** – Vypočtené HEB skóre pro finální látky **64a-g**, **65a-g**.

Sloučenina	HEB skóre <sup>a</sup>	Sloučenina	HEB skóre <sup>a</sup>
<b>64a</b>	5,3	<b>65a</b>	5,2
<b>64b</b>	5,2	<b>65b</b>	5,2
<b>64c</b>	5,4	<b>65c</b>	5,4
<b>64d</b>	5,2	<b>65d</b>	5,3

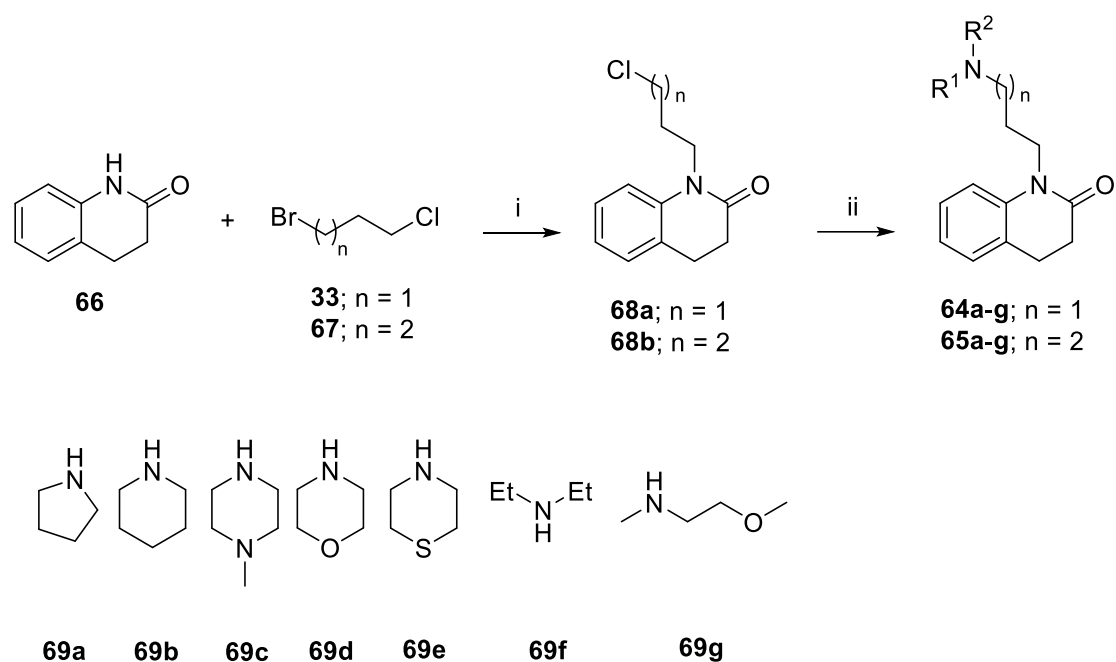
<b>64e</b>	5,2	<b>65e</b>	5,2
<b>64f</b>	5,2	<b>65f</b>	5,2
<b>64g</b>	5,3	<b>65g</b>	5,3

<sup>a</sup>Pro výpočet HEB skóre byl použit algoritmus vyvinutý Guptou *et al.* [129].

HEB skóre bylo vypočteno pro celkem 14 sloučenin. Finální sloučeniny **64a-g**, **65a-g** měly HEB skóre v rozmezí (5,6).

### 3.3.3 Syntéza finálních sloučenin **64a-g**, **65a-g** odvozených od aripiprazolu

Celá syntéza finálních sloučenin **64a-g** a **65a-g** i s odpovídajícími meziprodukty byla publikována v práci P2 [156]. Nukleofilní adice 3,4-dihydro-2(1*H*)-chinolinonu (**66**) na **33** nebo 1-brom-4-chlorbutan (**67**) v přítomnosti hydridu sodného (NaH) v DMF byla použita pro přípravu meziproduktů **68a-b** (Schéma 7) [175]. Finální sloučeniny **64a-g** a **65a-g** byly následně připraveny opět nukleofilní adicí odpovídajícího aminu (**69a-g**) na **68a-b** v přítomnosti K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> [156,176].



**Schéma 7** – Schématické znázornění syntézy finálních sloučenin **64a-g**, **65a-g**. Reakční podmínky: i) NaH, DMF, 0 °C – lt, 4 h nebo přes noc, 70 – 89 %; ii) **69a-g**, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeCN, reflux, přes noc, 45 – 69 %.

### 3.3.4 Vazebné afinity k D<sub>2</sub>R finálních látek **64a-g**, **65a-g** odvozených od aripiprazolu

Hodnoty afinit k D<sub>2</sub>R pro finální molekuly **64a-g**, **65a-g** (Schéma 7) byly publikovány v práci P2 a jsou shrnuty v Tabulce 7. Obecně lze říci, že trimethylenové deriváty **64a-g** vykazovaly mírně silnější antagonismus k D<sub>2</sub>R než jejich tetramethylenové deriváty **65a-g**. Alifatické analogy **64f,g** a **65g** měly mírně nižší antagonismus k D<sub>2</sub>R než molekuly s cyklickými aminy **64a-e** a **65a-c,e**. Sloučenina **65d** obsahující morfolin vykazovala nejnižší antagonismus k D<sub>2</sub>R ze všech analogů s cyklickými aminy (**64a-e** a **65a-e**). Na druhou stranu thiomorfolinový analog **64e** měl nejsilnější antagonistický efekt k D<sub>2</sub>R ze všech připravených finálních sloučenin v této sérii [156].

**Tabulka 7** – Hodnoty vazebných afinit k D<sub>2</sub>R pro finální molekuly **64a-g**, **65a-g**.

Sloučenina	K <sub>i</sub> (μM) ± SEM <sup>b</sup>	Sloučenina	K <sub>i</sub> (μM) ± SEM <sup>b</sup>
<b>64a</b>	24 ± 5.8	<b>65a</b>	23 ± 3.6
<b>64b</b>	9.7 ± 1.6	<b>65b</b>	14 ± 2.5

<b>64c</b>	12 ± 3.2	<b>65c</b>	21 ± 0.6
<b>64d</b>	20 ± 1.6	<b>65d</b>	41 ± 14
<b>64e</b>	7.6 ± 1.9	<b>65e</b>	9.7 ± 2.3
<b>64f</b>	37 ± 8.6	<b>65f</b>	27 ± 4.7
<b>64g</b>	26 ± 6.1	<b>65g</b>	45 ± 11
aripiprazol <sup>a</sup>	4.5 ± 1.0 <sup>c</sup>	-	-

<sup>a</sup>Referenční sloučenina; <sup>b</sup>Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± SEM (μM) (n=3). Radioligand [<sup>3</sup>H]-spiperon, buňky CHO transfekovaných D<sub>2</sub>R, tento test byl proveden doktorkou K. Štefkovou-Mazochovou v Národním ústavu duševního zdraví v Klecanech; <sup>c</sup>K<sub>i</sub> hodnota v nM pro D<sub>2L</sub>R z reference [144].

### 3.4 Finální sloučeniny **70-81** nesoucí 2-methoxyfenylpiperazinový fragment

Finální látky **70-81** byly navrženy pomocí metod molekulárního designu, byl proveden výpočet jejich fyzikálně chemických vlastností a jejich chemická syntéza.

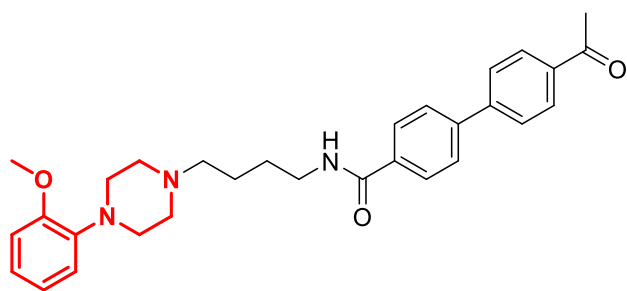
#### 3.4.1 Design finálních sloučenin **70-81** nesoucí 2-methoxyfenylpiperazinový fragment

V rámci pracovní stáže v laboratořích Institutu pro farmaceutickou a lékařskou chemii Univerzity Heinricha Heineho v Düsseldorfu pod vedením prof. H. Starka bylo připraveno celkem 12 nových molekul **70-81** vykazujících možnou selektivitu pro D<sub>3</sub>R.

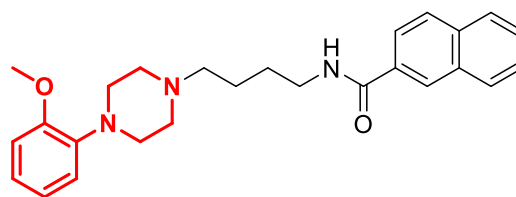
Antagonisté či parciální agonisté D<sub>3</sub>R prokázaly pozitivní účinky při léčbě schizofrenie [177]. Pro mnoho ligandů ovlivňujících D<sub>3</sub>R s antagonistickými vlastnostmi lze použít obecný strukturní vzorec, který je rozdělen do tří částí: aryl, který je připojen k amidu (první část), dále se zde nachází alkylový nebo aromatický spojovací řetězec (druhá část), který spojuje první a třetí část, což je bazický fragment s aromatickým substituentem [178]. Sloučeniny s 4-(2-methoxyfenyl)piperazinem jako třetí podjednotkou (červená barva, Obr. 9) jsou antagonisté D<sub>3</sub>R, např. struktura s označením GR 103,691 (Obr. 9) [179] nebo parciální agonisté, např. sloučenina BP 897 (Obr. 9) [180]. Cyklohexylethylenový (např. u **82**, Obr. 9) nebo methylenbenzylový (např. u **83**, Obr. 9) spojovací řetězec (oranžová barva, Obr. 9) vedl k navýšení selektivity k D<sub>3</sub>R [178,181]. Sloučeniny s *para* substituenty (např. **84a-c**, Obr. 9) v případě první podjednotky (zelená barva, Obr. 9) vykazovaly vysokou selektivitu k D<sub>3</sub>R [178]. Metoklopramid, benzamidový derivát (Obr. 9), je antiemetikum vykazující afinitu k D<sub>2</sub> a 5-HT<sub>3</sub>



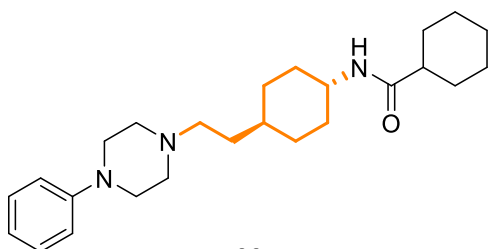
receptorům [182,183]. Na základě těchto údajů byla navržena skupina molekul (**70-76**, Obr. 9) pro studium efektu fenylethylového či methylfenylmethyllového spojovacího řetězce společně s různými substituenty v *para* pozici (H, OMe, NO<sub>2</sub>) v první podjednotce či od metoklopramidu.



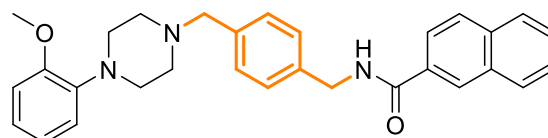
**GR 103,691**  
 $pK_i$  pro D<sub>2</sub> receptor = 7.4  
 $pK_i$  pro D<sub>3</sub> receptor = 9.5



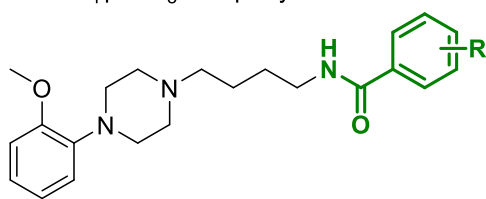
**BP 897**  
 $K_i$  pro D<sub>2</sub> receptor = 61 nM  
 $K_i$  pro D<sub>3</sub> receptor = 0.9 nM



**82**  
 $K_i$  pro D<sub>2</sub> receptor = 38 nM  
 $K_i$  pro D<sub>3</sub> receptor = 0.1 nM



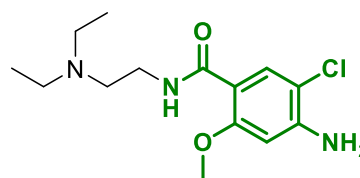
**83**  
 $K_i$  pro D<sub>2</sub> receptor = 200 nM  
 $K_i$  pro D<sub>3</sub> receptor = 40 nM



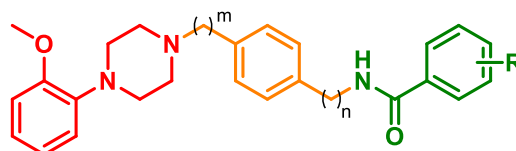
**84a**; R = 4-I  
 $K_i$  pro D<sub>2</sub> receptor = 146 nM  
 $K_i$  pro D<sub>3</sub> receptor = 3.9 nM

**84b**; R = 3-I  
 $K_i$  pro D<sub>2</sub> receptor = 68 nM  
 $K_i$  pro D<sub>3</sub> receptor = 9.2 nM

**84c**; R = 2-I  
 $K_i$  pro D<sub>2</sub> receptor = 15 nM  
 $K_i$  pro D<sub>3</sub> receptor = 7.8 nM



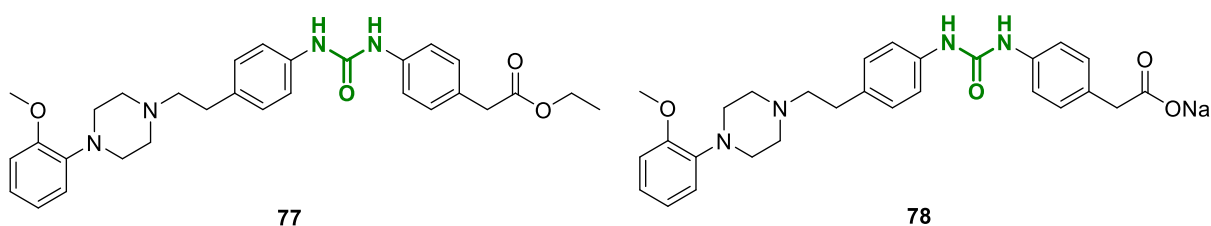
**Metoklopramid**  
 $IC_{50}$  pro D<sub>2</sub> receptor = 480 nM  
 $IC_{50}$  pro 5-HT<sub>3</sub> receptor = 880 nM



**70-76**  
 $m = 1, n = 1$  nebo  $m = 2, n = 0$   
R = např. 4-OMe, 4-NO<sub>2</sub>, H

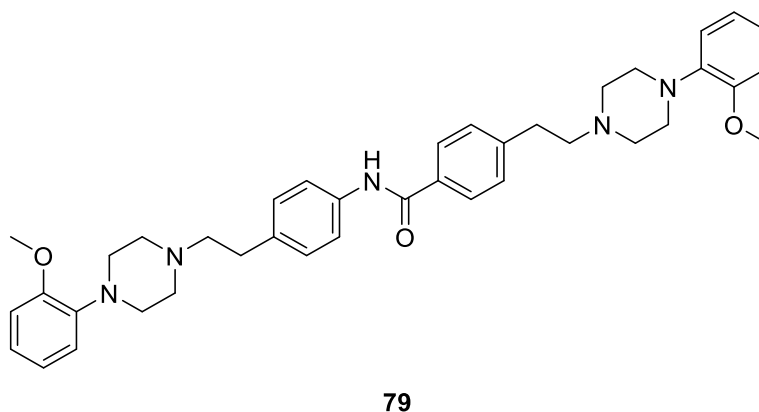
**Obrázek 9** – Schématické znázornění designu finálních látek **70-76** s pravděpodobnou selekcí pro D<sub>3</sub>R.

Amidická skupina v první podjednotce obecného strukturního vzorce pro D<sub>3</sub>R afinitu může být nahrazena močovinou skupinou (zelená barva; Obr. 10). Reprezentativní příklad je kariprazin (parciální agonista D<sub>3</sub>/D<sub>2</sub>R preferující D<sub>3</sub>R; pK<sub>i</sub> – 10 (D<sub>3</sub>R); 9.2 (D<sub>2</sub>R), Obr. 4) [55,184]. Pro studium efektu močoviny skupiny byly připraveny dva deriváty (**77-78**, Obr. 10).



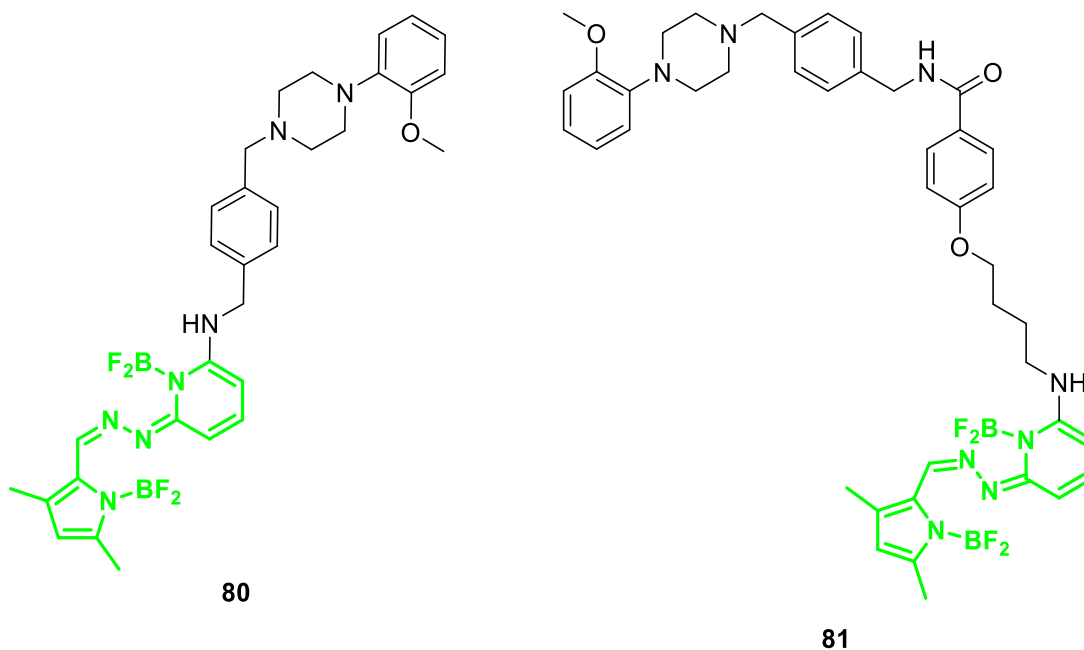
**Obrázek 10** – Chemické struktury močoviny derivátů **77** a **78**.

Dále byl připraven jeden heterobivalentní derivát (**79**, Obr. 11). Návrh **79** je podpořen studii, které demonstrovaly schopnost bivalentních ligandů modifikovat dopaminové receptory [185–188].



**Obrázek 11** – Chemická struktura heterobivalentního derivátu **79**.

Chromofory se staly nezbytnými pro řadu aplikací od zobrazování *in vitro*, snímání a terapie až po fotovoltaiku a optoelektroniku [189–194]. Ve studii Yu *et al.* byla publikována nová rodina nesymetrických bis(BF<sub>2</sub>) fluoroforů [195]. Výhody těchto nových derivátů spočívají v jednoduché přípravě (jednokroková syntéza z komerčně dostupných zdrojů) a ve vynikající světelné a pH stabilitě. Dále tyto deriváty vykazovaly účinnou dvoufotonovou absorpci v širokém spektrálním rozsahu 700–900 nm, díky čemuž jsou vhodné pro zobrazování dvoufotonovou fluorescenční mikroskopií v živých buňkách [195]. Na základě těchto údajů byly navrženy a připraveny dva fluorescenční deriváty (**80** a **81**, fluorofor je vyznačen zelenou barvou, Obr. 12).



**Obrázek 12** – Chemická struktura připravených derivátů **80** a **81** s fluoroforem.

### 3.4.2 Výpočet fyzikálně chemických vlastností finálních látek **70-81** nesoucí 2-methoxyfenylpiperazinový fragment

K výpočtu HEB skóre nových D<sub>3</sub>R ligandů **70-81** byl použit algoritmus vynalezený Guptou *et al.* [129]. Hodnoty jsou uvedeny v Tabulce 8.

**Tabulka 8** – Vypočtené HEB skóre pro finální látky **70-81**.

Sloučenina	HEB skóre <sup>a</sup>	Sloučenina	HEB skóre <sup>a</sup>
<b>70</b>	4,7	<b>76</b>	3,5
<b>71</b>	3,6	<b>77</b>	3,6
<b>72</b>	4,4	<b>78</b>	3,7
<b>73</b>	4,7	<b>79</b>	3,0
<b>74</b>	3,6	<b>80</b>	3,1
<b>75</b>	4,3	<b>81</b>	1,9

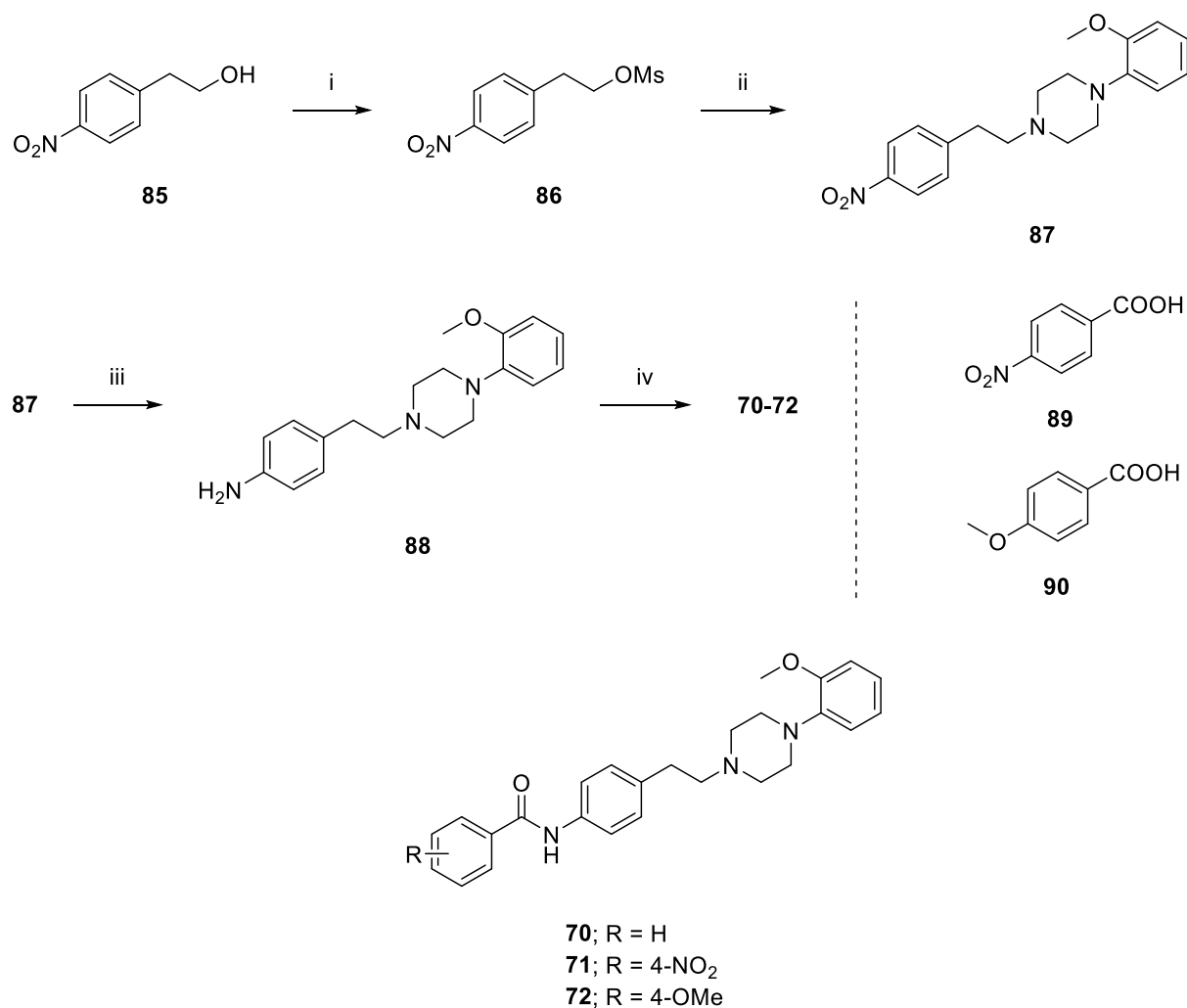
<sup>a</sup>Pro výpočet HEB skóre byl použit algoritmus vyvinutý Guptou *et al.* [129].

HEB skóre bylo vypočteno celkem pro 12 sloučenin. Jedna sloučenina (**81**) vykazovala HEB skóre v rozmezí (0,2], jedna látka (**79**) vykazovala HEB skóre v rozmezí (2,3], šest látek (**71**, **74**, **76-78** a **80**) mělo HEB skóre v rozmezí (3,4] a čtyři látky (**70**, **72-73** a **75**) mělo skóre (4,5].

### 3.4.3 Syntéza finálních sloučenin **70-81** nesoucí 2-methoxyfenylpiperazinový fragment

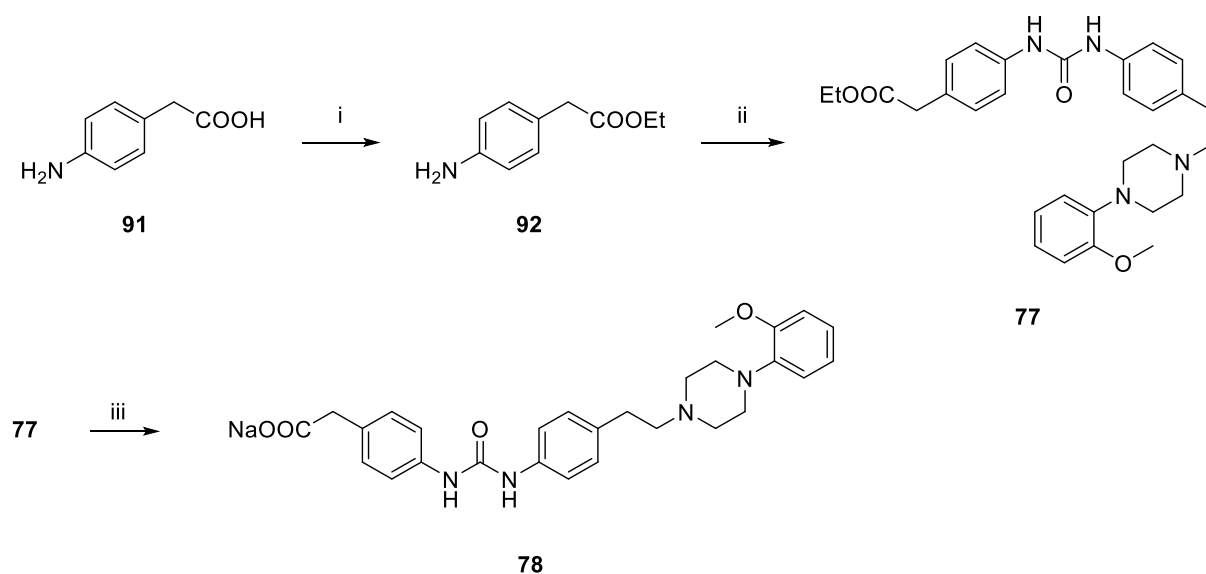
#### 3.4.3.1 Syntéza finálních látek **70-72**, **77-79** nesoucí fenylethylenový spojovací řetězec

Aktivace hydroxylové skupiny u 4-nitrofenethylalkoholu (**85**) pomocí mesylchloridu a následná nukleofilní adice bazického dusíku **31a** poskytovaly meziproduct **87**, který byl následně redukován pomocí vodíku za katalýzy palladia na aktivním uhlí za vzniku meziproductu **88** (Schéma 8) [196]. Finální sloučeniny **70-72** byly poté připraveny ze sloučeniny **88** a odpovídajících karboxylových kyselin (**25**, **89-90**), které byly nejprve aktivovány systémem EDC/HOBt (Schéma 8) [158].



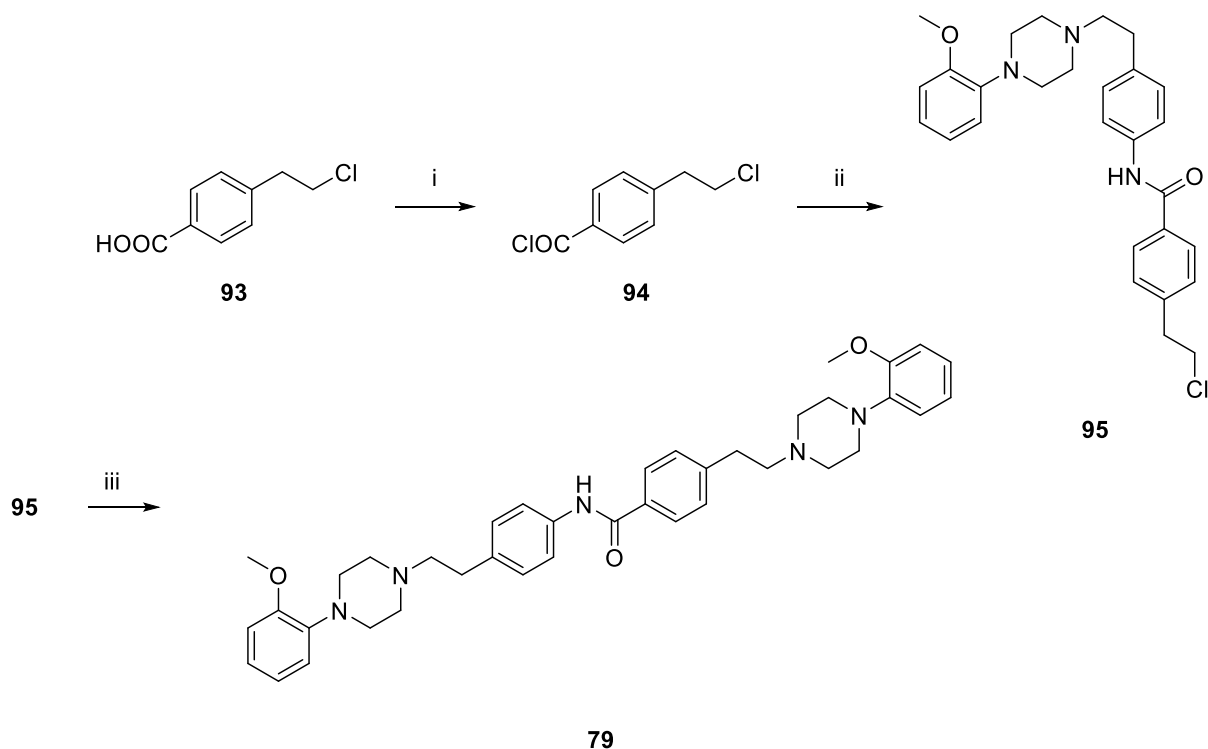
**Schéma 8** – Schématické znázornění syntézy finálních sloučenin **70-72**. Reakční podmínky: i) mesylchlorid, TEA, DCM, 4 °C, 15 min; ii) **31a**, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeCN, reflux, 14 h, 73 %; iii) H<sub>2</sub>, Pd/C, MeOH, lt, přes noc, 94 %; iv) **25** nebo **89-90**, EDC, HOBT, TEA, DCM, DMF, lt, přes noc, 51 – 80 %.

Ethyl-4-aminofenylacetát (**92**) byl připraven kyselé katalyzovanou esterifikací mezi kyselinou 4-aminofenylacetovou (**91**) a ethanolem (Schéma 9) [197]. Finální sloučenina **77** byla poté připravena reakcí mezi **92** a **88** v dichlormethanu (DCM) a za přítomnosti triethylaminu (TEA), kdy pro zavedení močovinové funkční skupiny byl použit 1,1'-karbonyldiimidazol (CDI) (Schéma 9) [198]. Finální sloučenina **78** byla připravena bazickou hydrolýzou **77** (Schéma 9) [199].



**Schéma 9** – Schématické znázornění syntézy finálních sloučenin **77-78**. Reakční podmínky: i) 98 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, toluen, EtOH, reflux, 5 h, 88 %; ii) **88**, CDI, TEA, DCM, 0 °C – lt, 3.5 h, 71 %; iii) 0.5M NaOH, THF, reflux, 2.5 h, 90 %.

Nukleofilní adicí aromatického aminu **88** na chlorid kyseliny 4-(2-chlorethyl)benzoové (**94**), který byl připraven pomocí oxalylchloridu a odpovídající karboxylové kyseliny **93**, byl získán meziprodukt **95** (Schéma 10) [178,200,201]. Finální derivát **79** byl následně připraven opět nukleofilní adicí bazického cyklického aminu **31a** na **95** (Schéma 10) [178,196].

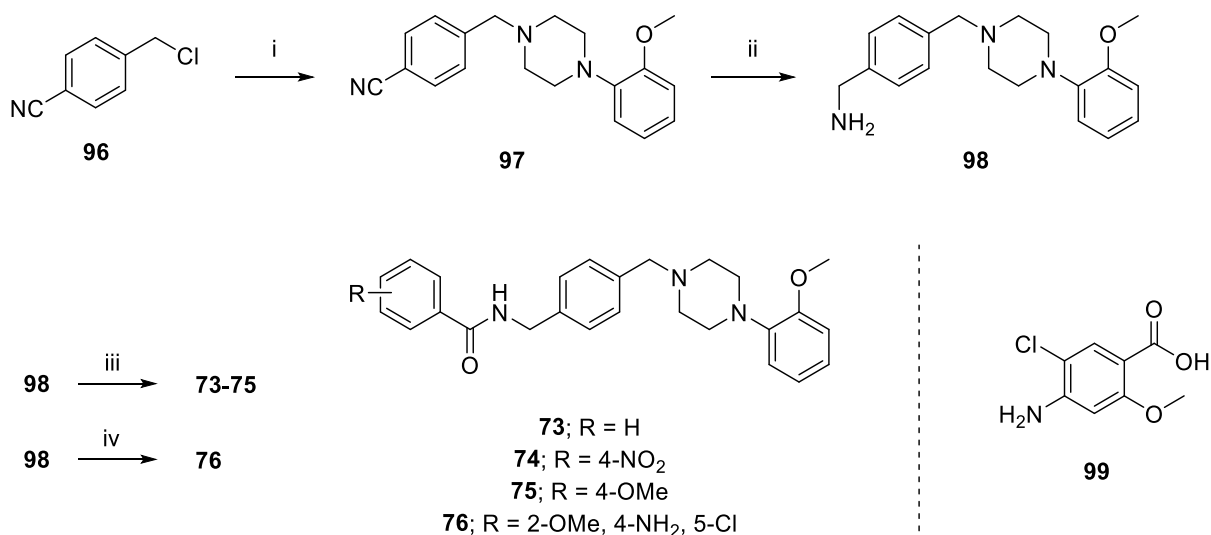


**Schéma 10** – Schématické znázornění syntézy finální látky **79**. Reakční podmínky: i) oxalylchlorid, DCM, DMF, 0 °C – lt, 3 h; ii) **88**, TEA, DCM, 0 °C – lt, 3 h, 69 %; iii) **31a**, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeCN, reflux, přes noc, 52 %.

#### 3.4.3.1 Syntéza finálních látek **73-76** a **80-81** nesoucí methylenbenzylový spojovací řetězec

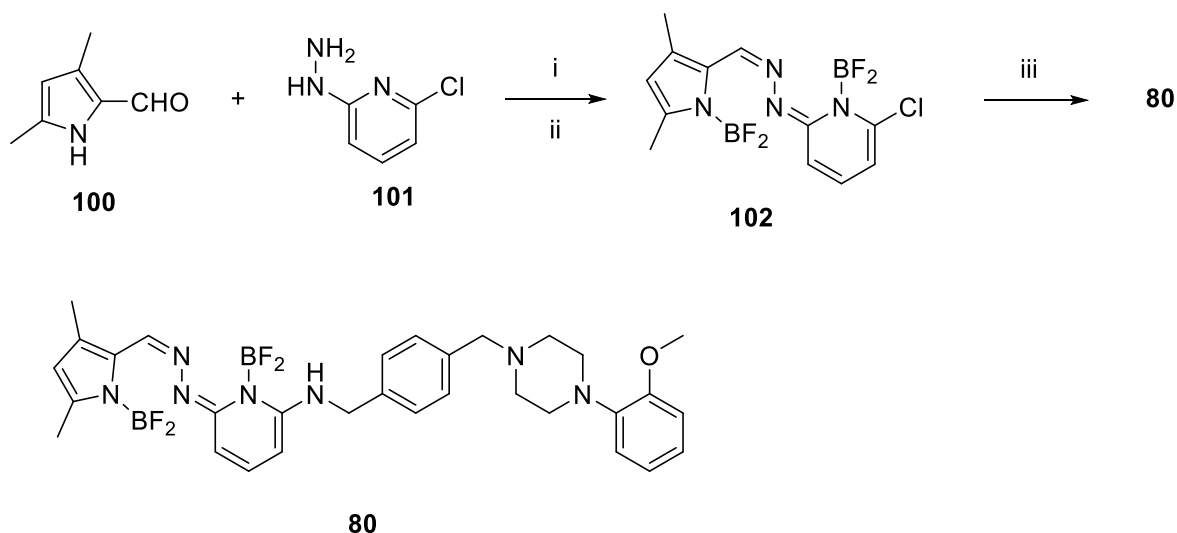
Pro přípravu finálních sloučenin **73-76** bylo nejprve nutno připravit 1-(4-{4-(2-methoxyfenyl)-1-piperazinyl}methyl}fenyl)methanamin (**98**), který byl získán katalytickou hydrogenací 4-{4-(2-methoxyfenyl)-1-piperazinyl}methyl}benzonitrilu (**97**) za přítomnosti Raneyova niklu (Ra-Ni) [202] (Schéma 11), který byl nejprve aktivován pomocí 10 % roztoku NaOH ve vodě při 85 °C [203]. Meziprodukt **97** byl připraven nukleofilní adicí bazického cyklického aminu **31a** na (4-chlormethyl)benzonitril (**96**) (Schéma 11) [178]. Finální sloučeniny **73-75** byly poté připraveny nukleofilní adicí alifatického aminu **98** na příslušné karboxylové kyseliny (**25**, **89-90**), které byly nejdříve aktivovány pomocí systému EDC/HOBt (Schéma 11) [158]. Finální látka **76** byla získána nukleofilní adicí alifatického aminu **98** na příslušnou karboxylovou kyselinu **99**, která byla nejprve aktivována pomocí CDI (Schéma 11) [204].





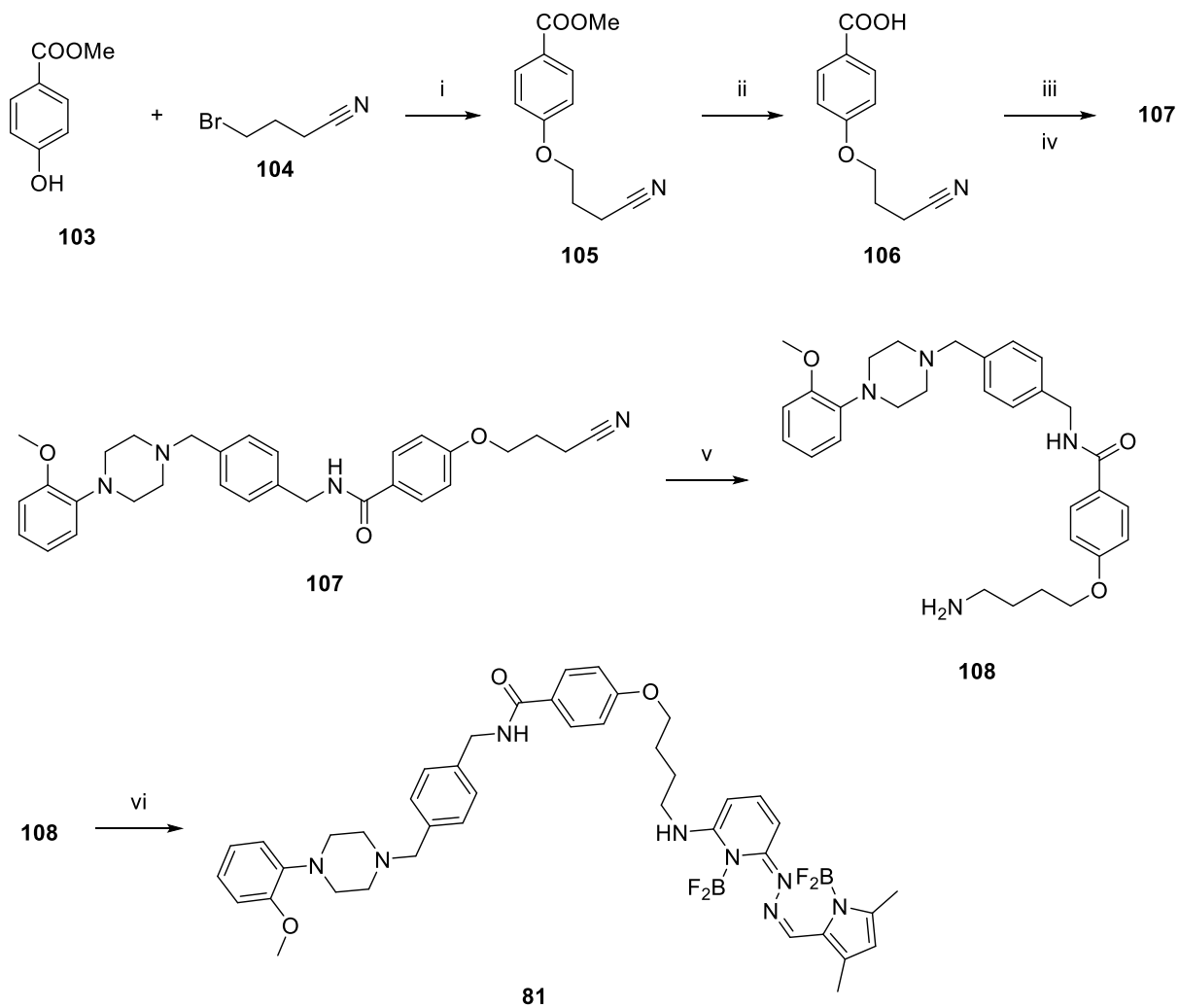
**Schéma 11** – Schématické znázornění syntézy finálních sloučenin **73-76**. Reakční podmínky: i) **31a**, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeCN, reflux, 4 h, 96 %; ii) H<sub>2</sub>, Ra-Ni, MeOH, NH<sub>3</sub>, 40 °C, přes noc, 99 %; iii) **25** nebo **89-90**, EDC, HOBT, TEA, DCM, DMF, lt, přes noc, 49 – 51 %; iv) **99**, CDI, THF, lt, přes noc, 55 %.

Fluorofor (**102**) byl připraven dvoukrokovou syntézou. V prvním kroku proběhla reakce mezi 3,5-dimethylpyrrol-2-karboxaldehydem (**100**) a 2-chlor-6-hydrazinopyridinem (**101**) za refluxu v 1,2-dichlorethanu za přítomnosti *p*-toluensulfonové kyseliny (PTSA) (Schéma 12) [195]. Ve druhém kroku byl přidán v nadbytku *N,N*-diisopropylethylamin (DIPEA) a diethyletherát fluoridu boritého (BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub>) (Schéma 12) [195]. Finální sloučenina **80** byla poté připravena nukleofilním atakem alifatického aminu (**98**) na atom chloru v molekule fluoroforu **102** za přítomnosti TEA (Schéma 12) [195].



**Schéma 12** – Schématické znázornění syntézy finální sloučeniny **80**. Reakční podmínky: i) PTSA, 1,2-dichlorethan, reflux, přes noc; ii) DIPEA,  $\text{BF}_3\text{-OEt}_2$ , reflux, 4 h, 40 %; iii) **98**, TEA, 1,2-dichlorethan, 45 °C, přes noc, 74 %.

Finální sloučenina **81** byla připravena nukleofilní adicí alifatického aminu **108** na atom chloru v molekule fluoroforu **102** v přítomnosti TEA (Schéma 13) [195]. Derivát **108** byl získán katalytickou hydrogenací alifatického nitrilu **107** (Schéma 13) [202]. Jako katalyzátor pro tuto reakci byl použit Ra-Ni, který byl nejprve aktivován pomocí 10 % roztoku NaOH ve vodě při 85 °C [203]. Sloučenina **107** byla připravena nukleofilní adicí alifatického aminu **98** na 4-(3-karbonitrilpropoxy)benzoovou kyselinu (**106**), která byla nejdříve aktivována pomocí oxalylchloridu (Schéma 13) [178,201]. Nukleofilní adice hydroxylové skupiny methylparabenu (**103**) na atom bromu v molekule 4-brombutannitrilu (**104**) vedla k meziprojektu **105**, který byl následně bazicky hydrolyzován pomocí hydroxidu draselného (KOH) v methanolu (MeOH) za vzniku benzoové kyseliny **106** (Schéma 13) [205,206].



**Schéma 13** – Schématické znázornění syntézy finální sloučeniny **81**. Reakční podmínky: i) KI, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NMP, 80 °C, 48 h; ii) KOH, MeOH, 40 °C, 2 h, 63 %; iii) oxalylchlorid, DCM, DMF, 0 °C – lt, 3 h; iv) **98**, TEA, DCM, 0 °C – lt, 2.5 h, 55 %; v) H<sub>2</sub>, Ra-Ni, MeOH, NH<sub>3</sub>, 40 °C, přes noc, 79 %; vi) **102**, TEA, 1,2-dichlorethan, 45 °C, přes noc, 29 %.

## 4 Závěr

Schizofrenie je komplexní porucha s nesčetnými symptomy postihující přibližně 1 % dospělé populace [207,208]. Léčba schizofrenie je účinná pouze u poloviny pacientů s přednostním potlačením pozitivních symptomů. Proto je velká potřeba vyvinout nové léky pro zvládnání tohoto duševního onemocnění, především s cílem řešit nedostatečnou účinnost a přetrvávající vedlejší účinky [10].

D<sub>2</sub>R byly uznány pro svou klíčovou roli v psychóze v roce 1975, kdy účinek první generace neuroleptik byl potvrzen právě díky jejich afinitě k těmto receptorům [209,210]. D<sub>2</sub>R stále zůstávají hlavním cílem v léčbě schizofrenie pro potlačení pozitivních symptomů a všechna registrovaná antipsychotika mají v terapeutických dávkách afinitu k těmto receptorům [10,44–47].

Vzhledem k vysoké expresi 5-HT<sub>3</sub>R v oblastech lidského mozku důležitých pro kognitivní funkce, emoční chování i motivaci představují tyto receptory potenciální cíl pro modulaci jak negativních, tak kognitivních symptomů schizofrenie [86]. Antagonisté 5-HT<sub>3</sub>R, označované jako setrony použité jako doplňkové léky ke standardním antipsychotikům, zlepšily schizofrenní stavy, zejména negativní a kognitivní symptomy, a byly dále schopny snížit extrapyramidové vedlejší účinky vyvolané použitými neuroleptiky [86]. Na základě těchto informací byla hlavní náplň této práce výzkum a příprava nových duálních ligandů ovlivňujících D<sub>2</sub>/5-HT<sub>3</sub> receptory, které by mohly být použity jako nová léčiva proti schizofrenii.

V rámci této disertační práce byla navržena, syntetizována a vyhodnocena nová série 1,4-disubstituovaných aromatických piperazinů (**1-18**) inspirovaných aripiprazolem a kariprazinem. V souladu s designem těchto derivátů bylo zjištěno, že tyto nové sloučeniny současně modulují D<sub>2</sub> a 5-HT<sub>3</sub> receptory.

Na základě úspěšné první série finálních látek (**1-18**, především molekuly **1** a **4**) byla navržena a připravena druhá série látek (**44-59**), u které se předpokládá taktéž ovlivnění D<sub>2</sub>/5-HT<sub>3</sub> receptorů, a které se nyní nachází ve fázi *in vitro* testování.

Dále v rámci této doktorandské práce byla navržena a připravena nová série 3,4-dihydrochinolin-2(1*H*)-on derivátů (**64a-g**, **65a-g**) cílených na D<sub>2</sub>R. Ačkoliv jsou vazebné afinity na D<sub>2</sub>R nových analogů mnohem slabší ve srovnání s mateřskou sloučeninou aripiprazolem,

jsou velmi blízké vazebné afinitě memantinu působícího jako antagonisty na NMDA receptory. Memantin se používá pro léčbu Alzheimerovy choroby [211,212].

V rámci pracovní stáže v laboratořích Institutu pro farmaceutickou a lékařskou chemii Univerzity Heinricha Heineho v Düsseldorfu bylo připraveno celkem 12 nových molekul (**70-81**) s možnou selektivitou pro D<sub>3</sub>R, které se nyní nachází ve fázi *in vitro* testování.

Všechny cíle stanovené v disertační práci byly splněny. Výsledky, které jsou součástí disertační práce, byly publikovány ve 2 rešeršních a 2 experimentálních článcích v časopise s impakt faktorem. Ve všech případech je autor disertační práce také prvním autorem těchto publikací. Jedna z rešeršních prací autora byla vybrána na vnitřní obal časopisu Medicinal Research Reviews (<https://doi.org/10.1002/med.21666>). Některé výsledky uvedené v disertační práci se nacházejí ve stádiu *in vitro* testování. Dílčí výsledky práce byly také publikovány formou sdělení na konferencích (posterů) na odborných konferencích.

## 5 Experimentální část

### 5.1.1 Obecné informace

Chemikálie byly zakoupeny od Sigma-Aldrich Co., LLC (Praha, Česká republika) a byly použity bez dalšího čištění. Analytická chromatografie na tenké vrstvě (CTV) byla prováděna na deskách potažených silikagelem 60 s fluorescenčním indikátorem F254 (Merck, Praha, Česká republika). Destičky pro chromatografii na tenké vrstvě byly vizualizovány vystavením ultrafialovému světlu (254 nm) nebo detekčním činidlem ninhydrinem. Sloupcová chromatografie byla provedena na silikagelu 100 při atmosférickém tlaku (70-230-mesh ASTM, Fluka, Praha, Česká republika). NMR spektra byla zaznamenána na spektrometru Varian S500, Bruker Avance-III 300 nebo Bruker Avance-III 600. Chemické posuny jsou uvedeny v  $\delta$  ppm vzhledem k signálům zbytkového rozpouštědla (pro  $^1\text{H}$  NMR a  $^{13}\text{C}$  NMR: chloroform-*d* ( $\text{CDCl}_3$ ; 7,26 (D) nebo 77,16 (C) ppm), methanol-*d*<sub>4</sub> (MeOD; 3,31 (D<sub>3</sub>) nebo 49,00 (C) ppm), demithylsulfoxid-*d*<sub>6</sub> (DMSO; 2,50 (D<sub>3</sub>) nebo 39,52 (C) ppm) nebo oxid deuterium-*d*<sub>2</sub> ( $\text{D}_2\text{O}$ ; 4,79 (D) ppm). Finální sloučeniny byly analyzovány HPLC s MS se systémem Dionex Ultimate 3000 RS UHPLC spojeným s Q Exactive Plus Orbitrap hmotnostním spektrometrem (Thermo Fisher Scientific, Brémy, Německo) k získání hmotnostních spekter s vysokým rozlišením (HRMS) nebo na pracovní stáži v Německu, v Düsseldorfu na přístroji využívající kapalinovou chromatografii-hmotnostní spektrometrii (LC-MS): Systém Elute SP (HPG 700) Bruker Daltronics amaZonspeed LC/MSn (ESI-MS). Gradientová HPLC s UV detekcí (254 nm) či LC-MS analýza potvrdila vždy >95 % čistotu finálních molekul (nebyla provedena kalibrace) [144,156]. Pro molekulou hmotnost finálních sloučenin **70-76** a **79** byl použit přístroj Advion Expression-L Compact Mass Spectrometer na pracovní stáži v Německu.

### 5.1.2 Chemická syntéza

Finální molekuly **1-18**, jejich syntéza a analytická specifikace byly publikovány v P1. Meziprodukty **23**, **28-30**, **31b**, **34a-d**, **35a-b**, **39** a **43a-b**, jejich syntéza a analytická specifikace byly publikovány v P1.

Finální molekuly **64a-g**, **65a-g**, jejich syntéza a analytická specifikace byly publikovány v P2. Meziprodukty **68a-b**, jejich syntéza a analytická specifikace byly publikovány v P2.

#### 5.1.2.1 Syntéza sloučeniny **61**

K míchanému roztoku sloučeniny **60** (2,1 mmol) v PEG-400 (1,5 ml) byla přidána molekula **22** (21,0 mmol) při lt. Reakční směs byla poté míchána 60 minut při 135 °C [173]. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla reakční směs zředěna CHCl<sub>3</sub> (50 ml) a redestilovanou vodou (20 ml). Výsledný roztok byl intenzivně míchán při lt po dobu 0,5 h. Organická fáze byla oddělena, vysušena nad Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, přefiltrována a odpařena na rotační vakuové odparce (RVO) za sníženého tlaku. Odpařená reakční směs byla přečištěna chromatografií na silikagelu (CHCl<sub>3</sub>:MeOH = 99:1 obj./obj.).

##### 5.1.2.1.1 2-(Piperazin-1-yl)chinolin (**61**)

Nažloutlý prášek. Výtěžek 76 % (0.34 g); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.88 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.70 (dd, *J* = 8.5, 1.1 Hz, 1H), 7.59 (dd, *J* = 7.9, 1.5 Hz, 1H), 7.53 (ddd, *J* = 8.5, 6.9, 1.5 Hz, 1H), 7.22 (ddd, *J* = 8.0, 6.8, 1.2 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 3.73 – 3.68 (m, 4H), 3.03 – 2.98 (m, 4H), 1.82 (s, 1H).

<sup>1</sup>H NMR spektrum pro **61** souhlasí se spektrem uváděným v literatuře [173].

#### 5.1.2.2 Syntéza sloučenin **62-63**

K míchanému roztoku odpovídajícího 4-substituovaného piperazinu **23** (6,9 mmol) nebo **30** (5,3 mmol) v acetonu (17 ml pro **23**; 13 ml pro **30**), 25 % NaOH (1,7 ml pro **23**; 1,3 ml pro **30**) a DMSO (5 ml pro **23**; 3 ml pro **30**) byla pomalu přidána sloučenina **33** (6,9 mmol pro **23**; 5,3 mmol pro **30**) za podmínek chlazení ledem. Po přidání **33** byla reakční směs míchána dalších 15 minut za chlazení a poté 48 hodin při lt [160]. Po požadované reakční době byla reakční směs odpařena na RVO a byly k ní přidány CHCl<sub>3</sub> (300 ml) a redestilovaná voda (100 ml). Výsledný roztok byl intenzivně míchán při lt po dobu 1 hodiny. Organická fáze byla poté oddělena, vysušena nad Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, přefiltrována a odpařena na RVO za sníženého tlaku do sucha s přebytkem toluenu. Odpařená reakční směs byla přečištěna chromatografií na silikagelu za použití čistého ethylacetátu jako mobilní fáze. Správně čisté frakce byly identifikovány pomocí CTV, spojeny a odpařeny do sucha na RVO.

##### 5.1.2.2.1 2-(4-(3-Chlorpropyl)piperazin-1-yl)nikotinonitril (**62**)

Nažloutlé krystalky. Výtěžek 81 % (1,47 g); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.33 (dd, *J* = 4.7, 2.0 Hz, 1H), 7.75 (dd, *J* = 7.6, 2.0 Hz, 1H), 6.73 (dd, *J* = 7.6, 4.8 Hz, 1H), 3.76 – 3.70 (m, 4H), 3.62

(t,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 2.61 – 2.57 (m, 4H), 2.54 (t,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 1.98 (p,  $J = 6.7$  Hz, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  160.6, 152.0, 144.0, 118.3, 114.1, 94.9, 55.4, 53.2, 48.1, 43.2, 29.9.

#### 5.1.2.2.2 (4-(3-Chlorpropyl)piperazin-1-yl)(1-methyl-1H-indazol-3-yl)methanon (**63**)

Nažloutlý olej. Výtěžek: 46 % (0.78 g);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.11 (dt,  $J = 8.2, 1.0$  Hz, 1H), 7.46 – 7.37 (m, 2H), 7.28 – 7.22 (m, 1H), 4.10 (m, 5H), 3.88 (s, 2H), 3.62 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 2.55 (m, 6H), 2.02 – 1.95 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  162.8, 140.5, 138.0, 126.9, 124.4, 122.6, 122.3, 109.1, 55.4, 54.0, 53.1, 47.1, 43.2, 42.5, 36.1, 29.8.

#### 5.1.2.3 Obecný postup pro přípravu finálních sloučenin **44-59**

Směs odpovídajících sloučenin **34a**, **34b**, **62** nebo **63** (1 ekv.), **23**, **31a-b**, **31e-k** nebo **61** (1 ekv.) a  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (3 ekv.) v MeCN (5 ml na 0,6 mmol **23**, **31a-b**, **31e-k** nebo **61**) byla refluxována po dobu 20 hodin. Po požadované reakční době byla reakční směs zředěna  $\text{CHCl}_3$  (200 ml) a přefiltrována. Výsledný filtrát byl odpařen na RVO za sníženého tlaku. Odpařená reakční směs byla přečištěna chromatografií na silikagelu za použití směsi  $\text{CHCl}_3$ :MeOH (92:8 obj./obj.) jako mobilní fáze. Správně čisté frakce byly identifikovány pomocí CTV, spojeny a odpařeny do sucha za použití RVO. Finální sloučeniny **44-59** byly převedeny na příslušné hydrochloridové soli smícháním s několika kapkami kyseliny chlorovodíkové (36 %) v MeOH při  $l_t$  za míchání po dobu 1 hodiny.

##### 5.1.2.3.1 2,2'-(Propan-1,3-diylbis(piperazin-4,1-diyl))dinikotinonitril (**44**)

Nažloutlé krystalky. Výtěžek: 54 % (144.0 mg);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.32 (dd,  $J = 4.8, 2.0$  Hz, 2H), 7.75 (dd,  $J = 7.6, 2.0$  Hz, 2H), 6.72 (dd,  $J = 7.6, 4.8$  Hz, 2H), 3.74 (t,  $J = 5.0$  Hz, 8H), 2.62 – 2.56 (m, 8H), 2.48 – 2.41 (m, 4H), 1.80 – 1.70 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  160.6, 152.0, 144.0, 118.3, 114.0, 94.8, 56.7, 53.2, 48.1, 24.3. LC/HRMS: Calc  $m/z = 417.2517$  pro  $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_8^+ [\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 417.2510$  (209.1293 pro  $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ ); 99 % čistota.

##### 5.1.2.3.2 2-(4-(3-(4-(2-Kyanofenyl)piperazin-1-yl)propyl)piperazin-1-yl)nikotinonitril (**45**)

Nažloutlé krystalky. Výtěžek: 74 % (210.0 mg);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.32 (dd,  $J = 4.7, 1.9$  Hz, 1H), 7.75 (dd,  $J = 7.6, 2.0$  Hz, 1H), 7.55 (dd,  $J = 7.5, 1.7$  Hz, 1H), 7.47 (td,  $J = 7.9, 1.7$  Hz, 1H), 7.03 – 6.95 (m, 2H), 6.72 (dd,  $J = 7.6, 4.7$  Hz, 1H), 3.74 (t,  $J = 5.0$  Hz, 4H), 3.24 (t,  $J = 4.9$  Hz, 4H), 2.67 (t,  $J = 4.8$  Hz, 4H), 2.59 (t,  $J = 5.0$  Hz, 4H), 2.46 (dt,  $J = 12.8, 7.5$  Hz, 4H), 1.75 (p,  $J = 7.7$  Hz, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  160.6, 155.8, 152.0, 144.0, 134.5, 133.9, 121.8, 118.7, 118.6, 118.3, 114.0, 106.1, 94.8, 56.7, 56.6, 53.3, 53.2, 51.6, 48.1, 24.4. LC/HRMS: Calc



$m/z = 416.2564$  pro  $C_{24}H_{30}N_7^+$   $[M+H]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 416.2555$  (208.6316 pro  $[M+2H]^{2+}$ ); 97 % čistota.

#### 5.1.2.3.3 2-(4-(3-(4-(Pyridin-2-yl)piperazin-1-yl)propyl)piperazin-1-yl)nikotinonitril (46)

Nažloutlý olej. Výtěžek: 75 % (213.0 mg);  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.32 (dd,  $J = 4.7$ , 1.9 Hz, 1H), 8.18 (dd,  $J = 5.1$ , 1.9 Hz, 1H), 7.74 (dt,  $J = 7.7$ , 1.6 Hz, 1H), 7.46 (ddt,  $J = 8.4$ , 7.1, 1.6 Hz, 1H), 6.72 (ddd,  $J = 7.7$ , 4.7, 1.1 Hz, 1H), 6.66 – 6.57 (m, 2H), 3.74 (t,  $J = 5.0$  Hz, 4H), 3.55 (t,  $J = 5.1$  Hz, 4H), 2.58 (dt,  $J = 17.0$ , 5.0 Hz, 8H), 2.44 (q,  $J = 7.4$  Hz, 4H), 1.81 – 1.72 (m, 2H).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  160.6, 159.7, 152.0, 148.1, 144.0, 137.5, 118.3, 114.0, 113.4, 107.2, 94.8, 56.8, 56.7, 53.2, 53.2, 48.1, 45.3, 24.4. LC/HRMS: Calc  $m/z = 392.2554$  pro  $C_{22}H_{30}N_7^+$   $[M+H]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 392.2557$  (196.6317 pro  $[M+2H]^{2+}$ ); 99 % čistota.

#### 5.1.2.3.4 2-(4-(3-(4-(Pyrimidin-2-yl)piperazin-1-yl)propyl)piperazin-1-yl)nikotinonitril (47)

Nažloutlý olej. Výtěžek: 67 % (183.0 mg);  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.32 (dt,  $J = 4.8$ , 1.8 Hz, 1H), 8.29 (dd,  $J = 4.7$ , 1.5 Hz, 2H), 7.74 (dt,  $J = 7.6$ , 1.8 Hz, 1H), 6.72 (ddd,  $J = 7.7$ , 4.8, 1.5 Hz, 1H), 6.46 (td,  $J = 4.8$ , 1.5 Hz, 1H), 3.82 (t,  $J = 5.2$  Hz, 4H), 3.74 (t,  $J = 5.0$  Hz, 4H), 2.59 (t,  $J = 5.0$  Hz, 4H), 2.50 (t,  $J = 5.2$  Hz, 4H), 2.47 – 2.37 (m, 4H), 1.80 – 1.71 (m, 2H).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  161.8, 160.6, 157.8, 152.0, 144.0, 118.3, 114.0, 109.9, 94.8, 56.9, 56.7, 53.3, 53.2, 48.1, 43.8, 24.4. LC/HRMS: Calc  $m/z = 393.2517$  pro  $C_{21}H_{29}N_8^+$   $[M+H]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 393.2510$  (197.1294 pro  $[M+2H]^{2+}$ ); 99 % čistota.

#### 5.1.2.3.5 2-(4-(3-(4-(2-Ethoxyfenyl)piperazin-1-yl)propyl)piperazin-1-yl)nikotinonitril (48)

Nažloutlý olej. Výtěžek: 61 % (140.0 mg);  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.33 (dd,  $J = 4.8$ , 2.0 Hz, 1H), 7.75 (dd,  $J = 7.6$ , 2.0 Hz, 1H), 6.97 – 6.88 (m, 3H), 6.84 (dd,  $J = 7.9$ , 1.5 Hz, 1H), 6.73 (dd,  $J = 7.6$ , 4.8 Hz, 1H), 4.06 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 3.75 (dd,  $J = 6.0$ , 4.0 Hz, 4H), 3.13 (s, 4H), 2.71 – 2.64 (m, 4H), 2.63 – 2.57 (m, 4H), 2.46 (q,  $J = 7.4$  Hz, 4H), 1.83 – 1.73 (m, 2H), 1.45 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  160.6, 152.0, 151.7, 144.0, 141.5, 122.8, 121.1, 118.3, 118.3, 114.0, 112.6, 94.8, 63.7, 56.9, 56.8, 53.7, 53.2, 50.6, 48.1, 24.4, 15.1. LC/HRMS: Calc  $m/z = 435.2874$  pro  $C_{25}H_{35}N_6O^+$   $[M+H]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 435.2870$  (218.1473 pro  $[M+2H]^{2+}$ ); 99 % čistota.

#### 5.1.2.3.6 2-(4-(3-(4-(6-Fluorbenzo[*d*]isoxazol-3-yl)piperidin-1-yl)propyl)piperazin-1-yl)nikotinonitril (49)

Bílá pevná látka. Výtěžek: 63 % (158.0 mg);  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.33 (dd,  $J = 4.8$ , 2.0 Hz, 1H), 7.75 (dd,  $J = 7.6$ , 2.0 Hz, 1H), 7.70 (dd,  $J = 8.7$ , 5.1 Hz, 1H), 7.23 (dd,  $J = 8.5$ , 2.1

Hz, 1H), 7.04 (td,  $J = 8.8, 2.1$  Hz, 1H), 6.73 (dd,  $J = 7.6, 4.7$  Hz, 1H), 3.78 – 3.72 (m, 4H), 3.07 (ddt,  $J = 12.5, 9.6, 4.5$  Hz, 3H), 2.63 – 2.57 (m, 4H), 2.45 (dd,  $J = 8.7, 6.3$  Hz, 4H), 2.21 – 2.04 (m, 6H), 1.82 – 1.72 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.2, 164.1, 163.9, 163.2, 161.2, 160.6, 152.0, 144.0, 122.8, 122.7, 118.3, 117.4, 114.0, 112.5, 112.3, 97.7, 97.4, 94.8, 57.0, 56.8, 53.7, 53.2, 48.1, 34.7, 30.6, 24.5. LC/HRMS: Calc  $m/z = 449.2467$  pro  $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{FN}_6\text{O}^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 449.2466$  (225.1270 pro  $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ ); 99 % čistota.

#### 5.1.2.3.7 2-(4-(3-(4-(4-Chlorfenyl)piperazin-1-yl)propyl)piperazin-1-yl)nikotinonitril (**50**)

Bílá pevná látka. Výtěžek: 64 % (155.0 mg);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.33 (dd,  $J = 4.8, 2.0$  Hz, 1H), 7.75 (dd,  $J = 7.6, 2.0$  Hz, 1H), 7.22 – 7.15 (m, 2H), 6.86 – 6.80 (m, 2H), 6.73 (dd,  $J = 7.6, 4.8$  Hz, 1H), 3.77 – 3.72 (m, 4H), 3.19 – 3.13 (m, 4H), 2.62 – 2.57 (m, 8H), 2.48 – 2.41 (m, 4H), 1.80 – 1.71 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  160.6, 152.0, 150.1, 144.0, 129.0, 124.6, 118.3, 117.3, 114.0, 94.8, 56.7, 56.7, 53.3, 53.2, 49.3, 48.1, 24.4. LC/HRMS: Calc  $m/z = 425.2222$  pro  $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{ClN}_6^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 425.2216$  (213.1147 pro  $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ ); 98 % čistota.

#### 5.1.2.3.8 2-(4-(3-(4-(2-Chlorfenyl)piperazin-1-yl)propyl)piperazin-1-yl)nikotinonitril (**51**)

Bezbarvý olej. Výtěžek: 66 % (119.7 mg);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.32 (dd,  $J = 4.8, 2.0$  Hz, 1H), 7.75 (dd,  $J = 7.7, 2.0$  Hz, 1H), 7.34 (dd,  $J = 7.9, 1.5$  Hz, 1H), 7.21 (td,  $J = 7.7, 1.5$  Hz, 1H), 7.04 (dd,  $J = 8.0, 1.5$  Hz, 1H), 6.95 (td,  $J = 7.6, 1.4$  Hz, 1H), 6.72 (dd,  $J = 7.6, 4.7$  Hz, 1H), 3.75 (t,  $J = 5.0$  Hz, 4H), 3.09 (s, 4H), 2.70 – 2.63 (m, 4H), 2.60 (t,  $J = 5.0$  Hz, 4H), 2.47 (dt,  $J = 11.7, 7.5$  Hz, 4H), 1.82 – 1.72 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  160.6, 152.0, 149.4, 144.0, 130.7, 128.9, 127.7, 123.8, 120.5, 118.3, 114.0, 94.8, 56.7, 56.7, 53.5, 53.2, 51.3, 48.1, 24.4. LC/HRMS: Calc  $m/z = 425.2222$  pro  $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{ClN}_6^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 425.2216$  (213.1147 pro  $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ ); 98 % čistota.

#### 5.1.2.3.9 4-(3-(4-(2-Methoxyfenyl)piperazin-1-yl)propyl)piperazin-1-yl)(1-methyl-1H-indazol-3-yl)methanon (**52**)

Bezbarvý olej. Výtěžek: 45 % (114.0 mg);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.10 (dt,  $J = 8.2, 1.0$  Hz, 1H), 7.46 – 7.36 (m, 2H), 7.25 – 7.23 (m, 1H), 7.01 – 6.89 (m, 3H), 6.85 (dd,  $J = 8.0, 1.4$  Hz, 1H), 4.09 (d,  $J = 1.1$  Hz, 5H), 3.88 (s, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.10 (s, 4H), 2.67 (s, 4H), 2.58 (s, 2H), 2.53 – 2.40 (m, 6H), 1.81 – 1.72 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  162.7, 152.4, 141.4, 140.5, 138.1, 126.9, 124.3, 123.0, 122.6, 122.2, 121.1, 118.3, 111.3, 109.1, 56.8, 56.7, 55.5,

54.0, 53.6, 53.2, 50.7, 47.2, 42.6, 36.1, 24.4. LC/HRMS: Calc  $m/z = 477.2980$  pro  $C_{27}H_{37}N_6O_2^+$   $[M+H]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 477.2957$  (239.1516 pro  $[M+2H]^{2+}$ ); 97 % čistota.

5.1.2.3.10 (4-(3-(4-(2,3-Dichlorofenyl)piperazin-1-yl)propyl)piperazin-1-yl)(1-methyl-1*H*-indazol-3-yl)methanon (**53**)

Nažloutlý olej. Výtěžek: 65 % (126.0 mg);  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.10 (dt,  $J = 8.2, 1.0$  Hz, 1H), 7.46 – 7.37 (m, 2H), 7.25 – 7.23 (m, 1H), 7.18 – 7.10 (m, 2H), 6.95 (dd,  $J = 6.9, 2.7$  Hz, 1H), 4.10 (s, 5H), 3.89 (s, 2H), 3.07 (s, 4H), 2.65 (s, 4H), 2.58 (s, 2H), 2.47 (td,  $J = 15.7, 15.0, 8.5$  Hz, 6H), 1.81 – 1.71 (m, 2H).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  162.8, 151.4, 140.5, 138.1, 134.1, 127.6, 127.6, 126.9, 124.7, 124.3, 122.6, 122.2, 118.7, 109.1, 56.7, 54.0, 53.5, 53.3, 51.4, 47.2, 42.6, 36.1, 24.4. LC/HRMS: Calc  $m/z = 515.2095$  pro  $C_{26}H_{33}Cl_2N_6O^+$   $[M+H]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 515.2092$ ; 95 % čistota.

5.1.2.3.11 2-(4-(3-(4-(2-Methoxyfenyl)piperazin-1-yl)propyl)piperazin-1-yl)benzonitril (**54**)

Nažloutlý olej. Výtěžek: 90 % (186.0 mg);  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  7.56 (dd,  $J = 7.6, 1.7$  Hz, 1H), 7.47 (ddd,  $J = 8.8, 7.4, 1.7$  Hz, 1H), 7.03 – 6.88 (m, 5H), 6.86 (dd,  $J = 8.0, 1.4$  Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.25 (t,  $J = 4.9$  Hz, 4H), 3.11 (s, 4H), 2.68 (q,  $J = 7.4, 6.2$  Hz, 8H), 2.52 – 2.44 (m, 4H), 1.83 – 1.73 (m, 2H).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  155.9, 152.4, 141.5, 134.5, 133.9, 123.0, 121.8, 121.1, 118.8, 118.6, 118.3, 111.3, 106.1, 56.9, 56.7, 55.5, 53.6, 53.3, 51.7, 50.8, 24.4. LC/HRMS: Calc  $m/z = 420.2765$  pro  $C_{25}H_{34}N_5O^+$   $[M+H]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 420.2759$  (210.6418 pro  $[M+2H]^{2+}$ ); 97 % čistota.

5.1.2.3.12 1-(2-Methoxyfenyl)-4-(3-(4-(pyridin-2-yl)piperazin-1-yl)propyl)piperazin (**55**)

Nažloutlý olej. Výtěžek: 66 % (165.0 mg);  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.18 (ddd,  $J = 4.9, 2.0, 0.8$  Hz, 1H), 7.46 (ddd,  $J = 8.9, 7.1, 2.0$  Hz, 1H), 7.02 – 6.89 (m, 3H), 6.85 (dd,  $J = 8.0, 1.4$  Hz, 1H), 6.67 – 6.58 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.58 – 3.52 (m, 4H), 3.11 (s, 4H), 2.67 (s, 4H), 2.59 – 2.54 (m, 4H), 2.50 – 2.41 (m, 4H), 1.83 – 1.74 (m, 2H).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  159.7, 152.4, 148.1, 141.5, 137.5, 123.0, 121.1, 118.3, 113.4, 111.3, 107.2, 56.9, 56.9, 55.5, 53.6, 53.2, 50.8, 45.3, 24.5. LC/HRMS: Calc  $m/z = 396.2765$  pro  $C_{23}H_{34}N_5O^+$   $[M+H]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 396.2761$  (198.6418 pro  $[M+2H]^{2+}$ ); 99 % čistota.

5.1.2.3.13 2-(4-(3-(4-(2-Methoxyfenyl)piperazin-1-yl)propyl)piperazin-1-yl)chinolin (**56**)

Nažloutlý olej. Výtěžek: 72 % (135.0 mg);  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  7.88 (dd,  $J = 9.3, 0.8$  Hz, 1H), 7.70 (dq,  $J = 8.4, 0.9$  Hz, 1H), 7.59 (dd,  $J = 8.0, 1.5$  Hz, 1H), 7.53 (ddd,  $J = 8.4, 6.9, 1.5$  Hz, 1H), 7.22 (ddd,  $J = 8.0, 6.9, 1.2$  Hz, 1H), 7.04 – 6.89 (m, 4H), 6.86 (dd,  $J = 8.0, 1.4$  Hz,

1H), 3.86 (s, 3H), 3.80 – 3.74 (m, 4H), 3.13 (s, 4H), 2.72 – 2.67 (m, 4H), 2.63 – 2.57 (m, 4H), 2.48 (ddd,  $J = 18.4, 8.5, 6.7$  Hz, 4H), 1.86 – 1.77 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  157.5, 152.4, 148.0, 141.4, 137.5, 129.6, 127.3, 126.8, 123.2, 123.1, 122.5, 121.1, 118.3, 111.3, 109.6, 56.9, 55.5, 53.6, 53.3, 50.7, 45.2, 24.4. LC/HRMS: Calc  $m/z = 446.2922$  pro  $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_5\text{O}^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 446.2916$  (223.6496 pro  $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ ); 99 % čistota.

#### 5.1.2.3.14 2-(4-(3-(4-(2,3-Dichlorfenyl)piperazin-1-yl)propyl)piperazin-1-yl)benzotrilit (57)

Bezbarvý olej. Výtěžek: 79 % (180.1 mg);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.55 (dd,  $J = 7.6, 1.7$  Hz, 1H), 7.47 (ddd,  $J = 9.0, 7.4, 1.7$  Hz, 1H), 7.18 – 7.10 (m, 2H), 7.02 – 6.94 (m, 3H), 3.27 – 3.22 (m, 4H), 3.08 (s, 4H), 2.71 – 2.60 (m, 8H), 2.52 – 2.44 (m, 4H), 1.82 – 1.72 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  155.8, 151.4, 134.5, 134.1, 133.9, 127.6, 127.6, 124.7, 121.8, 118.8, 118.7, 118.6, 106.1, 56.7, 56.7, 53.5, 53.3, 51.6, 51.4, 24.4. LC/HRMS: Calc  $m/z = 458.1880$  pro  $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_5^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 458.1874$  (229.5976 pro  $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ ); 98 % čistota.

#### 5.1.2.3.15 1-(2,3-Dichlorfenyl)-4-(3-(4-(pyridin-2-yl)piperazin-1-yl)propyl)piperazin (58)

Bezbarvý olej. Výtěžek 59 % (120.0 mg);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.18 (ddd,  $J = 4.9, 2.0, 0.9$  Hz, 1H), 7.46 (ddd,  $J = 8.9, 7.1, 2.0$  Hz, 1H), 7.18 – 7.10 (m, 2H), 6.95 (dd,  $J = 6.9, 2.7$  Hz, 1H), 6.67 – 6.58 (m, 2H), 3.58 – 3.52 (m, 4H), 3.10 – 3.04 (m, 4H), 2.65 (s, 4H), 2.59 – 2.54 (m, 4H), 2.46 (ddd,  $J = 17.9, 8.5, 6.7$  Hz, 4H), 1.83 – 1.73 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  159.7, 151.4, 148.1, 137.6, 134.1, 127.6, 127.6, 124.7, 118.7, 113.4, 107.2, 56.9, 56.8, 53.5, 53.2, 51.4, 45.3, 24.5. LC/HRMS: Calc  $m/z = 434.1880$  pro  $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_5^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 434.1879$  (217.5978 pro  $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ ); 99 % čistota.

#### 5.1.2.3.16 2-(4-(3-(4-(2,3-Dichlorfenyl)piperazin-1-yl)propyl)piperazin-1-yl)chinolin (59)

Bezbarvý olej. Výtěžek: 55 % (153.3 mg);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.88 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 7.70 (dd,  $J = 8.5, 1.0$  Hz, 1H), 7.59 (dd,  $J = 8.0, 1.5$  Hz, 1H), 7.53 (ddd,  $J = 8.5, 6.9, 1.5$  Hz, 1H), 7.22 (ddd,  $J = 8.1, 6.8, 1.2$  Hz, 1H), 7.16 – 7.10 (m, 2H), 7.00 – 6.92 (m, 2H), 3.80 – 3.74 (m, 4H), 3.11 – 3.06 (m, 4H), 2.66 (s, 4H), 2.63 – 2.57 (m, 4H), 2.53 – 2.43 (m, 4H), 1.85 – 1.75 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  157.5, 151.4, 148.0, 137.5, 134.1, 129.6, 127.6, 127.6, 127.3, 126.8, 124.7, 123.2, 122.5, 118.7, 109.6, 56.9, 56.8, 53.5, 53.4, 51.4, 45.2, 24.5. LC/HRMS: Calc  $m/z = 484.2037$  pro  $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{Cl}_2\text{N}_5^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS najito  $m/z = 484.2031$  (242.6055 pro  $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ ); 98 % čistota.

#### 5.1.2.4 Syntéza sloučeniny **88**

K míchanému roztoku sloučeniny **85** (20,0 mmol) v DCM (80 ml) byl přidán TEA (30,0 mmol) při lt. Poté byl přidán mesylchlorid (22,0 mmol) po kapkách za chlazení ledem a výsledná reakční směs byla míchána po dobu 15 min [196]. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla směs nalita na destilovanou vodu s ledem. Organická fáze byla oddělena a promyta 1M HCl, nasyceným roztokem NaHCO<sub>3</sub>, vysušena nad Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, přefiltrována a odpařena na RVO za sníženého tlaku. Surový produkt **86** bez dalšího čištění byl použit hned do další reakce.

K míchanému roztoku **86** v MeCN (90 ml) byly přidány **31a** (20,0 mmol) a K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20,0 mmol) při lt a reakční směs byla poté míchána za refluxu po dobu 14 hodin [196]. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla směs nalita na destilovanou vodu. Organická fáze byla oddělena, vysušena nad Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, přefiltrována a odpařena na RVO za sníženého tlaku. Odpařená reakční směs byla přečištěna chromatografií na silikagelu za použití směsi DCM:MeOH (98:2 obj./obj.) jako mobilní fáze. Čisté frakce byly identifikovány pomocí CTV, spojeny a odpařeny do sucha na RVO.

K míchanému roztoku **87** (10,6 mmol) v MeOH (110 ml) byl přidán při lt katalyzátor Pd/C. Plynný vodík byl hnán k reakční směsi přes noc za použití balonku [196]. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla reakční směs přefiltrována přes krátkou vrstvu Celite. Přefiltrovaná reakční směs byla odpařena na RVO za sníženého tlaku. Následně byla rozpuštěna v DCM (200 ml) a promyta destilovanou vodou (100 ml). Organická fáze s čistou sloučeninou **88** byla oddělena a vysušena nad Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, přefiltrována a odpařena na RVO za sníženého tlaku.

##### 5.1.2.4.1 1-(2-Methoxyfenyl)-4-(4-nitrofenethyl)piperazin (**87**)

Oranžová pevná látka. Výtěžek: 73 % (4.98 g); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.22 – 8.10 (m, 2H), 7.44 – 7.34 (m, 2H), 7.07 – 6.82 (m, 4H), 3.87 (s, 3H), 3.13 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 2.96 (dd, *J* = 9.5, 6.2 Hz, 2H), 2.79 – 2.65 (m, 6H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 152.4, 148.5, 146.7, 141.3, 129.7, 123.8, 123.2, 121.1, 118.3, 111.3, 59.6, 55.5, 53.5, 50.7, 33.5.

##### 5.1.2.4.2 4-(2-(4-(2-Methoxyfenyl)piperazin-1-yl)ethyl)anilin (**88**)

Oranžový olej. Výtěžek: 94 % (3.10 g); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.05 – 6.84 (m, 6H), 6.69 – 6.58 (m, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.57 (s, 2H), 3.19 – 3.10 (m, 4H), 2.85 – 2.71 (m, 6H), 2.69 –

2.59 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  152.4, 144.6, 141.4, 130.3, 129.6, 123.0, 121.1, 118.3, 115.4, 111.3, 61.1, 55.4, 53.5, 50.7, 32.8.

#### 5.1.2.5 Syntéza sloučeniny **92**

K míchanému roztoku **91** (13,2 mmol) v toluenu (6 ml) a EtOH (6 ml) byla pomalu přikapávaná při lt koncentrovaná kyselina sírová (98 %, 29,1 mmol). Za využití Dean-Starkovy aparatury byla výsledná reakční směs zahřívána k refluxu po dobu 5 hodin [197]. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla reakční směs zchlazena za použití ledové lázně a pomalu byl k ní přidán 1M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (30 ml). Výsledná směs byla poté naředěna EtOAc (50 ml) a destilovanou vodou (30 ml). Organická fáze s čistou sloučeninou **92** byla oddělena, vysušena nad  $\text{Mg}_2\text{SO}_4$ , přefiltrována a odpařena na RVO za sníženého tlaku.

##### 5.1.2.5.1 Ethyl-2-(4-aminofenyl)acetát (**92**)

Oranžová pevná látka. Výtěžek: 88 % (2.1 g);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.13 – 7.01 (m, 2H), 6.70 – 6.59 (m, 2H), 4.13 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 3.49 (s, 2H), 3.45 (s, 2H), 1.24 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H).

$^1\text{H}$  NMR spektrum pro **92** souhlasí se spektrem uváděným v literatuře [213].

#### 5.1.2.6 Syntéza finální sloučeniny **77**

K míchanému roztoku CDI (1,7 mmol) v DCM (10 ml) za chlazení ledem byl pomalu přikapán roztok obsahující **92** (1,7 mmol) a TEA (1,7 mmol) v DCM (10 ml). Výsledná reakční směs byla míchána 1 hodinu za stálého chlazení ledem a poté byla reakční směs míchána ještě další 1 hodinu při lt. Po uplynutí reakční doby byla přidána k reakční směsi sloučenina **88** (1,7 mmol) při lt a výsledná reakční směs byla míchána při lt po dobu 1,5 hodiny [198]. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla reakční směs nalita na destilovanou vodu (30 ml). Organická fáze byla oddělena, vysušena nad  $\text{Mg}_2\text{SO}_4$ , přefiltrována a odpařena na RVO za sníženého tlaku. Odpařená reakční směs byla přečištěna chromatografií na silikagelu za použití směsi DCM:MeOH nasyceným amoniakem (99,5:0,5 -> 98:2 obj./obj.) jako mobilní fáze. Čisté frakce byly identifikovány pomocí CTV, spojeny a odpařeny do sucha na RVO.

##### 5.1.2.6.1 Ethyl 2-(4-(3-(4-(2-(4-(2-methoxyfenyl)piperazin-1-yl)ethyl)fenyl)ureido)fenyl)acetát (**77**)

Bílá pevná látka. Výtěžek: 71 % (624.0 mg);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.31 (s, 1H), 7.23 – 7.07 (m, 9H), 7.04 – 6.83 (m, 4H), 4.15 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.53 (s, 2H), 3.12

(t,  $J = 4.6$  Hz, 4H), 2.74 (ddt,  $J = 13.8, 9.2, 5.5$  Hz, 6H), 2.66 – 2.54 (m, 2H), 1.25 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.3, 153.8, 152.5, 141.6, 137.5, 136.4, 136.3, 130.0, 129.5, 129.4, 123.1, 121.3, 121.2, 121.0, 118.5, 111.7, 61.1, 60.6, 55.6, 53.6, 50.9, 40.9, 33.1, 14.3. LC/MS: Calc  $m/z = 517.28$  pro  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{O}_4^+$  [M+H] $^+$ ; MS najito  $m/z = 517.30$ ; 96 % čistota.

#### 5.1.2.7 Syntéza finální sloučeniny **78**

K míchanému roztoku **77** (0,5 mmol) v THF (9 ml) byl přidán při lt 0,5M NaOH (1,2 ml) a výsledná reakční směs byla zahřívána k refluxu po dobu 2,5 hodin [199]. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla reakční směs odpařena na RVO za sníženého tlaku. K odpařené reakční směsi byl přidán absolutní EtOH (5 ml) a směs byla míchána 1 hodinu při lt. Směs byla poté přefiltrována a bílý precipitát **78** byl promyt acetonem (20 ml).

##### 5.1.2.7.1 2-(4-(3-(4-(2-(4-(2-Methoxyfenyl)piperazin-1-yl)ethyl)fenyl)ureido)fenyl)acetát sodný (**78**)

Bílá pevná látka. Výtěžek: 90 % (230.0 mg);  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz, MeOD)  $\delta$  7.36 – 7.34 (m, 2H), 7.34 – 7.28 (m, 2H), 7.27 – 7.21 (m, 2H), 7.19 – 7.13 (m, 2H), 7.03 – 6.88 (m, 4H), 3.85 (s, 3H), 3.44 (s, 2H), 3.09 (s, 4H), 2.84 – 2.78 (m, 2H), 2.73 (s, 4H), 2.67 – 2.61 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, MeOD)  $\delta$  179.2, 154.3, 152.5, 140.8, 137.4, 137.0, 134.2, 132.6, 129.2, 128.7, 123.3, 120.8, 119.3, 119.1, 118.0, 111.4, 60.3, 54.6, 52.9, 50.2, 44.4, 32.0. LC/MS: Calc  $m/z = 489.25$  pro  $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_4^+$  [M+H] $^+$ ; MS najito  $m/z = 489.24$ ; 100 % čistota.

#### 5.1.2.8 Syntéza sloučeniny **95**

K míchanému roztoku **93** (1,7 mmol) v DCM (5,5 ml; sušen pomocí molekulových sít) za chlazení ledem byl pomalu přidán oxalylchlorid (4,3 mmol) a DMF (0,3 mmol; suché). Reakční směs byla poté míchána při lt po dobu 3 hodin [201]. Po požadované reakční době byla reakční směs s **94** odpařena na RVO za sníženého tlaku a bez dalšího čištění použita do další reakce.

K míchanému roztoku **88** (1,6 mmol) a TEA (4,9 mmol) v DCM (9,6 ml; sušen pomocí molekulových sít) byla pomalu přidána sloučenina **94** (počítáno 1,7 mmol) v DCM (5,5 ml; sušen pomocí molekulových sít) za chlazení ledem. Výsledná reakční směs byla poté míchána po dobu 3 hodin při lt [178,200,201]. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla reakční směs odpařena na RVO za sníženého tlaku. Odpařená reakční směs byla přečištěna chromatografií na silikagelu za použití směsi DCM:MeOH (95:5 obj./obj.) jako mobilní fáze. Čisté frakce byly identifikovány pomocí CTV, spojeny a odpařeny do sucha na RVO.

#### 5.1.2.8.1 4-(2-Chlorethyl)-*N*-(4-(2-(4-(2-methoxyfenyl)piperazin-1-yl)ethyl)fenyl)benzamid (**95**)

Bílá pevná látka. Výtěžek: 69 % (528.0 mg);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.98 (s, 1H), 7.87 – 7.77 (m, 2H), 7.62 – 7.51 (m, 2H), 7.34 – 7.27 (m, 2H), 7.25 – 7.17 (m, 2H), 7.07 – 6.82 (m, 4H), 3.86 (s, 3H), 3.73 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 3.13 (dt,  $J = 9.5, 6.0$  Hz, 6H), 2.91 – 2.75 (m, 6H), 2.75 – 2.64 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.5, 152.4, 142.2, 141.2, 136.5, 136.2, 133.7, 129.4, 129.3, 127.5, 123.1, 121.1, 120.6, 118.4, 111.3, 60.4, 55.5, 53.4, 50.5, 44.6, 38.8, 32.8.

#### 5.1.2.9 Syntéza finální sloučeniny **79**

K míchanému roztoku **31a** (0,3 mmol) a  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0,6 mmol) v MeCN (2 ml) byla přidána při lt sloučenina **95** (0,4 mmol) a výsledná reakční směs byla zahřívána k refluxu přes noc [178,196]. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla reakční směs odpařena na RVO za sníženého tlaku. Odpařená reakční směs byla rozpuštěna v DCM (200 ml) a extrahována destilovanou vodou (100 ml). Organická faze byla poté oddělena, vysušena nad  $\text{Mg}_2\text{SO}_4$ , přefiltrována a odpařena na RVO za sníženého tlaku. Odpařená reakční směs byla přečištěna chromatografií na silikagelu za použití směsi  $\text{CHCl}_3$ :*i*PrOH (100:0 -> 95:5 obj./obj.) jako mobilní fáze. Čisté frakce byly identifikovány pomocí CTV, spojeny a odpařeny do sucha na RVO.

#### 5.1.2.9.1 4-(2-(4-(2-Methoxyfenyl)piperazin-1-yl)ethyl)-*N*-(4-(2-(4-(2-methoxyfenyl)piperazin-1-yl)ethyl)fenyl)benzamid (**79**)

Bílá pevná látka. Výtěžek: 52 % (99.0 mg);  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.87 (s, 1H), 7.80 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.56 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.33 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H), 7.22 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.00 (td,  $J = 7.7, 3.9$  Hz, 2H), 6.97 – 6.90 (m, 4H), 6.87 (dt,  $J = 8.0, 1.4$  Hz, 2H), 3.86 (s, 6H), 3.14 (s, 8H), 2.91 (dd,  $J = 9.8, 6.4$  Hz, 2H), 2.88 – 2.82 (m, 2H), 2.76 (s, 8H), 2.73 – 2.65 (m, 4H).  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.7, 152.4, 144.8, 141.3, 141.3, 136.6, 136.2, 132.9, 129.4, 129.2, 127.3, 123.1, 123.1, 121.1, 120.5, 118.3, 111.3, 60.6, 60.1, 55.5, 53.5, 50.7, 50.7, 33.5, 33.0. MS: Calc  $m/z = 634.4$  pro  $\text{C}_{39}\text{H}_{48}\text{N}_5\text{O}_3^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; MS najito  $m/z = 634.4$ .

#### 5.1.2.10 Syntéza sloučeniny **98**

K míchanému roztoku **31a** (6,4 mmol) a  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (6,4 mmol) v MeCN (35 ml) byla přidána při lt sloučenina **96** (5,8 mmol) a výsledná reakční směs byla zahřívána k refluxu po dobu 4 hodin [178]. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla reakční směs odpařena na



RVO za sníženého tlaku. Odpařená reakční směs byla rozpuštěna v EtOAc (200 ml) a extrahována destilovanou vodou (100 ml). Organická faze byla poté oddělena, vysušena nad  $Mg_2SO_4$ , přefiltrována a odpařena na RVO za sníženého tlaku. Odpařená reakční směs byla přečištěna chromatografií na silikagelu za použití směsi DCM:MeOH (100:0 -> 98:2 obj./obj.) jako mobilní fáze. Čisté frakce s **97** byly identifikovány pomocí CTV, spojeny a odpařeny do sucha na RVO.

Pro přípravu sloučeniny **98** byla nejprve nutná aktivace Ra-Ni pomocí 10 % NaOH v destilované vodě.

*Aktivace Ra-Ni:* K míchanému 10 % roztoku NaOH (80 ml) byl přidán při lt Ra-Ni (720,0 mg). Výsledný roztok byl zahříván na 85 °C po dobu 1 hodiny [203]. Po uplynutí požadované reakční doby byla opatrně oddělena kapalina od aktivovaného Ra-Ni a ten byl promyt destilovanou vodou (3 x 50 ml) do neutrálního pH, poté byl Ra-Ni promyt MeOH (3 x 50 ml). K aktivovanému promytému Ra-Ni byl přidán MeOH (40 ml), roztok sloučeniny **97** (5,6 mmol) v MeOH (50 ml) a MeOH nasycený  $NH_3$  (50 ml). Výsledný roztok byl dán do autoklavu, kde byla udržována atmosféra plynného vodíku 3 bary a reakční směs byla zahřívána na 40 °C přes noc [202]. Po uplynutí reakční doby byla směs přefiltrována přes vrstvu Celite a filtrát s čistou sloučeninou **98** byl odpařen na RVO za sníženého tlaku.

*Deaktivace Ra-Ni:* K aktivovanému Ra-Ni byl přidán MeOH (50 ml) a za míchání pomalu koncentrovaná HCl (36 %; 6 ml). Výsledný roztok byl míchán při lt přes noc.

#### 5.1.2.10.1 4-((4-(2-Methoxyfenyl)piperazin-1-yl)methyl)benzotrilitr (97)

Nažloutlý olej. Výtěžek: 96 % (1.71 g);  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  7.68 – 7.58 (m, 2H), 7.53 – 7.44 (m, 2H), 7.03 – 6.90 (m, 3H), 6.86 (dd,  $J = 7.8, 1.3$  Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.62 (s, 2H), 3.09 (t,  $J = 4.9$  Hz, 4H), 2.65 (t,  $J = 4.8$  Hz, 4H).

$^1H$  NMR spektrum pro **97** souhlasí se spektrem uváděným v literatuře [178].

#### 5.1.2.10.2 4-((4-(2-Methoxyphenyl)piperazin-1-yl)methyl)phenyl)methanamine (98)

Bezbarvý olej. Výtěžek: 99 % (1.73 g);  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  7.32 – 7.21 (m, 4H), 6.97 – 6.83 (m, 3H), 6.81 – 6.76 (m, 1H), 3.80 (d,  $J = 8.6$  Hz, 5H), 3.51 (s, 2H), 3.03 (dd,  $J = 10.5, 5.6$  Hz, 6H), 2.59 (t,  $J = 4.8$  Hz, 4H).

$^1H$  NMR spektrum pro **98** souhlasí se spektrem uváděným v literatuře [178].

#### 5.1.2.11 Obecný postup pro přípravu finálních sloučenin **70-75**

K míchanému roztoku odpovídající karboxylové kyseliny (**25**, **89-90**) (1,0 ekv.) a HOBt (1,05 ekv.) v DCM (1,5 ml na 60 mg sloučeniny **88** nebo **98**) a DMF (0,2 ml na 60 mg sloučeniny **88** nebo **98**) byl při lt přidán EDC (1,05 ekv.). Reakční směs byla míchána dalších 30 minut při lt a poté byly přidány TEA (1,0 ekv.) a **88** nebo **98** (1,0 ekv.). Reakční směs byla poté míchána při lt přes noc. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla směs zakoncentrována za sníženého tlaku na RVO a byly přidány DCM (300 ml) a redestilovaná voda (100 ml). Organická vrstva byla vysušena nad Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, přefiltrována a odpařena na RVO [158]. Odpařená reakční směs byla přečištěna chromatografií na silikagelu za použití směsi DCM:MeOH (95:5 obj./obj.) pro **70-72** a DCM:hexan:MeOH nasycený NH<sub>3</sub> (3:3:0,05 obj./obj.) pro **73-75** jako mobilní fáze.

##### 5.1.2.11.1 *N*-(4-(2-(4-(2-Methoxyfenyl)piperazin-1-yl)ethyl)fenyl)benzamid (**70**)

Bezbarvý olej. Výtěžek: 59 % (145.0 mg); <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.95 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H), 7.87 – 7.83 (m, 2H), 7.56 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.55 – 7.49 (m, 1H), 7.45 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.22 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.03 – 6.90 (m, 3H), 6.87 (dd, *J* = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.14 (d, *J* = 9.0 Hz, 4H), 2.87 – 2.81 (m, 2H), 2.75 (s, 4H), 2.69 – 2.64 (m, 2H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 165.7, 152.4, 141.5, 136.8, 136.0, 135.1, 131.7, 129.2, 128.7, 127.0, 122.8, 121.1, 120.5, 118.3, 111.5, 60.5, 55.4, 53.5, 50.7, 33.1. MS: Calc *m/z* = 416.2 pro C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup>; MS najito *m/z* = 416.4.

##### 5.1.2.11.2 *N*-(4-(2-(4-(2-Methoxyfenyl)piperazin-1-yl)ethyl)fenyl)-4-nitrobenzamid (**71**)

Nažloutlá pevná látka. Výtěžek: 80 % (212.0 mg); <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.31 – 8.26 (m, 2H), 8.01 (d, *J* = 8.6 Hz, 3H), 7.55 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.27 – 7.22 (m, 2H), 7.00 (td, *J* = 7.6, 1.9 Hz, 1H), 6.94 (dtd, *J* = 15.0, 7.8, 1.7 Hz, 2H), 6.87 (dd, *J* = 8.1, 1.4 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.13 (s, 4H), 2.88 – 2.82 (m, 2H), 2.75 (s, 4H), 2.70 – 2.64 (m, 2H). <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 163.8, 152.4, 149.8, 141.4, 140.7, 137.7, 135.4, 129.6, 128.4, 124.1, 123.1, 121.1, 120.8, 118.3, 111.3, 60.5, 55.5, 53.6, 50.8, 33.2. MS: Calc *m/z* = 461.2 pro C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup>; MS najito *m/z* = 461.7.

##### 5.1.2.11.3 4-Methoxy-*N*-(4-(2-(4-(2-methoxyfenyl)piperazin-1-yl)ethyl)fenyl)benzamid (**72**)

Bílá pevná látka. Výtěžek: 51 % (156.0 mg); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.61 – 7.54 (m, 2H), 7.48 (s, 1H), 7.34 – 7.24 (m, 2H), 7.03 – 6.90 (m, 2H), 6.78 – 6.57 (m, 6H), 3.60 (s, 6H), 2.88 (s, 4H), 2.58 (dd, *J* = 10.7, 5.6 Hz, 2H), 2.49 (t, *J* = 4.7 Hz, 4H), 2.45 – 2.36 (m, 2H). <sup>13</sup>C NMR (75

MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  165.3, 162.7, 152.6, 141.7, 136.7, 136.4, 129.4, 129.0, 127.5, 123.0, 121.2, 120.5, 118.5, 114.2, 111.6, 60.6, 55.6, 55.6, 53.6, 50.8, 33.2. MS: Calc m/z = 446.2 pro C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup>; MS najito m/z = 446.3.

#### 5.1.2.11.4 *N*-(4-((4-(2-Methoxyphenyl)piperazin-1-yl)methyl)benzyl)benzamide (**73**)

Bezbarvý olej. Výtěžek: 49 % (175.0 mg); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.78 – 7.68 (m, 2H), 7.46 – 7.30 (m, 3H), 7.30 – 7.21 (m, 4H), 6.97 – 6.82 (m, 3H), 6.78 (dd, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 6.51 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.55 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.51 (s, 2H), 3.02 (t, *J* = 4.6 Hz, 4H), 2.58 (t, *J* = 4.7 Hz, 4H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  167.4, 152.5, 141.7, 137.8, 137.2, 134.7, 131.6, 129.8, 128.7, 127.9, 127.1, 122.9, 121.2, 118.4, 111.6, 62.9, 55.5, 53.4, 50.8, 44.1. MS: Calc m/z = 416.2 pro C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup>; MS najito m/z = 416.2.

#### 5.1.2.11.5 *N*-(4-((4-(2-Methoxyfenyl)piperazin-1-yl)methyl)benzyl)-4-nitrobenzamid (**74**)

Nažloutlý olej. Výtěžek: 50 % (165.5 mg); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.21 (dd, *J* = 8.7, 2.3 Hz, 2H), 7.93 (dd, *J* = 8.8, 2.5 Hz, 2H), 7.32 (dd, *J* = 8.1, 5.6 Hz, 4H), 7.06 – 6.80 (m, 5H), 4.60 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.83 (d, *J* = 3.7 Hz, 3H), 3.59 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.11 – 3.01 (m, 4H), 2.64 (d, *J* = 4.8 Hz, 4H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  165.4, 152.5, 149.8, 141.6, 140.1, 138.0, 136.4, 129.9, 128.3, 127.9, 123.8, 123.0, 121.2, 118.4, 111.6, 62.8, 55.5, 53.3, 50.8, 44.3. MS: Calc m/z = 461.2 pro C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup>; MS najito m/z = 461.2.

#### 5.1.2.11.6 4-Methoxy-*N*-(4-((4-(2-methoxyfenyl)piperazin-1-yl)methyl)benzyl)benzamid (**75**)

Bezbarvý olej. Výtěžek: 51 % (164.5 mg); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.78 – 7.67 (m, 2H), 7.29 (d, *J* = 2.2 Hz, 4H), 7.01 – 6.77 (m, 6H), 6.27 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.59 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H), 3.81 (d, *J* = 1.4 Hz, 6H), 3.55 (s, 2H), 3.05 (t, *J* = 4.6 Hz, 4H), 2.61 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H). <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  166.9, 162.4, 152.4, 141.5, 137.6, 137.3, 129.9, 128.9, 128.0, 126.8, 123.0, 121.1, 118.3, 113.9, 111.3, 62.9, 55.5, 55.5, 53.4, 50.8, 44.0. MS: Calc m/z = 446.2 pro C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup>; MS najito m/z = 446.3.

#### 5.1.2.12 Syntéza finální sloučeniny **76**

K míchanému roztoku **99** (0,4 mmol) v THF (0,4 ml) byl přidán CDI (0,8 mmol) při l<sub>t</sub> a reakční směs byla následně míchána po dobu 25 minut. Poté reakční směs byla rozdělena mezi CHCl<sub>3</sub> (50 ml) a destilovanou vodu (15 ml). Organická fáze byla oddělena, vysušena nad Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, přefiltrována a odpařena na RVO za sníženého tlaku. K odpařené reakční směsi byl přidán roztok **98** (0,4 mmol) v THF (0,4 ml). Výsledná reakční směs byla míchána při l<sub>t</sub> přes

noc. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla směs rozdělena mezi  $\text{CHCl}_3$  (100 ml) a nasyceným roztokem  $\text{NaHCO}_3$  (30 ml) [204]. Organická vrstva byla vysušena nad  $\text{Mg}_2\text{SO}_4$ , přefiltrována a odpařena na RVO za sníženého tlaku. Odpařená reakční směs byla přečištěna chromatografií na silikagelu za použití směsi DCM:MeOH (97:3 obj./obj.) jako mobilní fáze.

#### 5.1.2.12.1 4-Amino-5-chlor-2-methoxy-*N*-(4-((4-(2-methoxyfenyl)piperazin-1-yl)methyl)benzyl)benzamid (**76**)

Bezbarvý olej. Výtěžek: 55 % (109.0 mg);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.16 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.36 – 7.28 (m, 4H), 7.04 – 6.80 (m, 4H), 6.29 (s, 1H), 4.64 (d,  $J = 5.7$  Hz, 2H), 4.37 (s, 2H), 3.85 (d,  $J = 1.9$  Hz, 6H), 3.57 (s, 2H), 3.09 (s, 4H), 2.64 (d,  $J = 6.4$  Hz, 4H).  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  164.6, 157.7, 152.6, 146.8, 141.8, 138.1, 137.4, 133.6, 129.7, 127.6, 122.9, 121.2, 118.5, 113.1, 112.0, 111.7, 98.2, 63.0, 56.3, 55.6, 53.6, 50.9, 43.7. MS: Calc  $m/z = 495.2$  pro  $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{ClN}_4\text{O}_3^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; MS najito  $m/z = 495.2$ .

#### 5.1.2.13 Syntéza finální sloučeniny **80**

K míchanému roztoku **100** (3,1 mmol) a **101** (4,2 mmol) v 1,2-dichlorethanu (120 ml) byla při  $l_t$  přidána PTSA (1,0 mmol) a reakční směs byla zahřívána k refluxu přes noc. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla reakční směs nechána zchladnout na  $l_t$  a byl přidán DIPEA (6 ml) a reakční směs byla míchána po dobu 10 minut. Následně byl přidán  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (8 ml) a výsledná reakční směs byla refluxována po dobu 4 hodin. Po ochlazení na  $l_t$  byla reakční směs naředěna DCM (60 ml) a nalita do destilované vody (100 ml). Organická fáze byla oddělena a odpovídající vodná fáze byla extrahována DCM (2 x 30 ml). Organické vrstvy byly spojeny, promyty destilovanou vodou, vysušeny nad  $\text{Mg}_2\text{SO}_4$ , přefiltrovány a odpařeny na RVO za sníženého tlaku. Odpařená reakční směs s **102** byla přečištěna chromatografií na silikagelu za použití směsi DCM:hexan (1:1 obj./obj.) jako mobilní fáze [195].

K míchanému roztoku **98** (1,2 mmol) a TEA (0,3 mmol) v 1,2-dichlorethanu (23 ml) byla přidána při  $l_t$  sloučenina **102** (0,12 mmol) a výsledná reakční směs byla zahřívána na  $45^\circ\text{C}$  přes noc. Po ochlazení na  $l_t$  byla reakční směs naředěna DCM (30 ml) a nalita do destilované vody (50 ml). Organická fáze byla oddělena a odpovídající vodná fáze byla extrahována DCM (3 x 30 ml). Organické vrstvy byly poté spojeny, vysušeny nad  $\text{Mg}_2\text{SO}_4$ , přefiltrovány a odpařeny na RVO za sníženého tlaku [195]. Odpařená reakční směs s **80** byla přečištěna chromatografií na silikagelu za použití směsi DCM:hexan:MeOH nasycený  $\text{NH}_3$  (9:9:0,05 obj./obj.) jako mobilní fáze.

5.1.2.13.1 (Z)-6-Chlor-1-(difluorboranyl)-2-(((Z)-(1-(difluorboranyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrrol-2-yl)methylen)hydrazono)-1,2-dihydropyridin (**102**)

Žlutá pevná látka. Výtěžek: 40 % (427.0 mg);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.72 (dd,  $J = 9.0, 7.5$  Hz, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.41 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 6.84 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 6.17 (s, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.31 (s, 3H).

$^1\text{H}$  NMR spektrum pro **102** souhlasí se spektrem uváděným v literatuře [195].

5.1.2.13.2 (Z)-1-(Difluorboranyl)-6-(((Z)-(1-(difluorboranyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrrol-2-yl)methylen)hydrazono)-N-(4-((4-(2-methoxyfenyl)piperazin-1-yl)methyl)benzyl)-1,6-dihydropyridin-2-amin (**80**)

Žlutá pevná látka. Výtěžek: 74 % (55.0 mg);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.54 – 7.40 (m, 2H), 7.31 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H), 7.22 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 6.96 – 6.75 (m, 4H), 6.62 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 6.06 (s, 1H), 5.83 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 5.60 (t,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 4.41 (d,  $J = 5.6$  Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.52 (s, 2H), 3.02 (s, 4H), 2.59 (t,  $J = 4.8$  Hz, 4H), 2.41 (s, 3H), 2.22 (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  152.2, 151.3, 150.4, 146.5, 144.7, 141.3, 138.1, 135.1, 134.8, 130.0, 127.3, 126.8, 122.9, 122.7, 120.9, 118.2, 117.2, 111.1, 96.5, 95.0, 62.7, 55.3, 53.3, 50.6, 46.5, 13.9, 10.9. LC/MS: Calc  $m/z = 620.31$  pro  $\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{B}_2\text{F}_4\text{N}_7\text{O}^+ [\text{M}+\text{H}]^+$ ; MS najito  $m/z = 620.30$ ; 96 % čistota.

5.1.2.14 Syntéza sloučeniny **106**

K míchanému roztoku **103** (7,9 mmol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (11,8 mmol) a KI (8,7) v NMP (8 ml) byla při  $0^\circ\text{C}$  přidána sloučenina **104** (8,7 mmol) a výsledná reakční směs byla zahřívána na  $80^\circ\text{C}$  po dobu 48 hodin [205]. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla reakční směs naředěna EtOAc (200 ml) a destilovanou vodou (100 ml). Výsledný roztok byl intenzivně míchán při  $0^\circ\text{C}$  po dobu 2 hodin. Organická fáze byla poté oddělena, vysušena nad  $\text{Mg}_2\text{SO}_4$ , přefiltrována a odpařena na RVO za sníženého tlaku. Takto získaná sloučenina **105** byla použita do dalšího reakčního kroku bez další purifikace.

K míchanému roztoku **105** (počítáno jako 100 % z předchozího kroku; 7,9 mmol) v MeOH (6 ml) byl přidán KOH (23,7 mmol) a výsledná reakční směs byla zahřívána po dobu 2 hodin při  $40^\circ\text{C}$  [206]. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla reakční směs naředěna MeOH (60 ml) a odpařena na RVO za sníženého tlaku. Odpařená reakční směs byla rozpuštěna v destilované vodě (30 ml) a extrahována diethyletherem (3 x 50 ml) a EtOAc (3 x 50 ml). Čistá sloučenina **106** byla získána vysrážením z vodné fáze přidáním koncentrované HCl (36 %, 4 ml).

#### 5.1.2.14.1 Kyselina 4-(3-kyanopropoxy)benzoová (**106**)

Bílá pevná látka. Výtěžek: 63 % (1.0 g);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.13 – 8.02 (m, 2H), 7.00 – 6.89 (m, 2H), 4.16 (t,  $J = 5.7$  Hz, 2H), 2.62 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 2.26 – 2.12 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  166.8, 161.8, 131.2, 123.2, 120.0, 114.2, 66.1, 24.5, 13.2.

#### 5.1.2.15 Syntéza sloučeniny **107**

K míchanému roztoku **106** (4,0 mmol) v DCM (13 ml; sušen pomocí molekulových sít) za chlazení ledem byl pomalu přidán oxalylchlorid (10,2 mmol) a DMF (0,8 mmol; suché). Reakční směs byla poté míchána při lt po dobu 3 hodin [201]. Po požadované reakční době byla reakční směs s acylem kyseliny **106** odpařena na RVO za sníženého tlaku a bez dalšího čištění použita do další reakce.

K míchanému roztoku **98** (3,9 mmol) a TEA (11,7 mmol) v DCM (21 ml; sušen pomocí molekulových sít) byl pomalu přidán acyl kyseliny **106** (počítáno jako 100 %; 4,0 mmol) v DCM (13 ml; sušen pomocí molekulových sít) za chlazení ledem. Výsledná reakční směs byla poté míchána po dobu 2,5 hodin při lt [178,201]. Po dokončení reakce (monitorováno pomocí CTV) byla reakční směs odpařena na RVO za sníženého tlaku. Odpařená reakční směs byla přečištěna chromatografií na silikagelu za použití směsi DCM:hexan:MeOH nasycen  $\text{NH}_3$  (6:6:0,2 obj./obj.) jako mobilní fáze. Čisté frakce byly identifikovány pomocí CTV, spojeny a odpařeny do sucha na RVO.

#### 5.1.2.15.1 4-(3-Kyanopropoxy)-*N*-(4-((4-(2-methoxyfenyl)piperazin-1-yl)methyl)benzyl)benzamid (**107**)

Nažloutlá pevná látka. Výtěžek: 55 % (1.1 g);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.82 – 7.71 (m, 2H), 7.39 – 7.27 (m, 4H), 7.03 – 6.82 (m, 6H), 6.35 (t,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 4.62 (d,  $J = 5.6$  Hz, 2H), 4.11 (t,  $J = 5.7$  Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.59 (s, 2H), 3.09 (t,  $J = 4.7$  Hz, 4H), 2.66 (t,  $J = 4.8$  Hz, 4H), 2.59 (t,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 2.23 – 2.08 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.8, 161.1, 152.5, 141.7, 137.7, 137.4, 129.9, 129.0, 128.0, 127.6, 123.0, 121.2, 119.0, 118.4, 114.5, 111.6, 65.7, 62.9, 55.5, 53.5, 50.8, 44.1, 25.6, 14.3.

#### 5.1.2.16 Syntéza sloučeniny **108**

K aktivovanému (aktivace podle postupu syntézy sloučeniny **98** (podkapitola 5.1.2.10)) Ra-Ni byl přidán MeOH (10 ml), roztok sloučeniny **107** (1,4 mmol) v MeOH (13 ml) a MeOH nasycený  $\text{NH}_3$  (13 ml). Výsledný roztok byl dán do autoklavu, kde byla udržována atmosféra plyného vodíku 3 bary a reakční směs byla zahřívána na 40 °C přes noc [202]. Po uplynutí

reakční doby byla směs přefiltrována přes vrstvu Celite a filtrát s čistou sloučeninou **108** byl odpařen na RVO za sníženého tlaku.

Ra-Ni byl deaktivován podle postupu uvedeného v části 5.1.2.10 Syntéza sloučeniny **98**.

#### 5.1.2.16.1 4-(4-Aminobutoxy)-*N*-(4-((4-(2-methoxyfenyl)piperazin-1-yl)methyl)benzyl)benzamid (**108**)

Bezbarvý olej. Výtěžek: 79 % (556.0 mg);  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.69 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.26 (s, 4H), 6.85 (tt,  $J = 13.5, 7.8$  Hz, 6H), 6.34 (s, 1H), 4.59 – 4.51 (m, 2H), 3.94 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.51 (s, 2H), 3.02 (s, 4H), 2.73 (s, 2H), 2.59 (s, 4H), 1.77 (s, 2H), 1.58 (s, 2H).  $^{13}\text{C NMR}$  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167.0, 161.8, 152.4, 141.5, 137.6, 137.3, 129.8, 128.9, 128.0, 126.6, 123.0, 121.1, 118.3, 114.3, 111.3, 68.0, 62.9, 55.4, 53.4, 50.8, 44.0, 41.8, 30.1, 26.7.

#### 5.1.2.17 Syntéza finální sloučeniny **81**

K míchanému roztoku **108** (0,8 mmol) a TEA (0,2 mmol) v 1,2-dichlorethanu (18 ml) byla přidána při lt sloučenina **102** (0,1 mmol) a výsledná reakční směs byla zahřívána na 45 °C přes noc. Po ochlazení na lt byla reakční směs naředěna DCM (30 ml) a nalita do destilované vody (50 ml). Organická fáze byla oddělena a odpovídající vodná fáze byla extrahována DCM (3 x 30 ml). Organické vrstvy byly poté spojeny, vysušeny nad  $\text{Mg}_2\text{SO}_4$ , přefiltrovány a odpařeny na RVO za sníženého tlaku [195]. Odpařená reakční směs byla přečištěna chromatografií na silikagelu za použití směsi  $\text{CHCl}_3$ :MeOH nasycený  $\text{NH}_3$  (98:2 obj./obj.) jako mobilní fáze.

#### 5.1.2.17.1 4-(4-(((*Z*)-1-(Difluorboranyl)-6-(((*Z*)-1-(difluorboranyl)-3,5-dimethyl-1*H*-pyrrol-2-yl)methylen)hydrazono)-1,6-dihydropyridin-2-yl)amino)butoxy)-*N*-(4-((4-(2-methoxyfenyl)piperazin-1-yl)methyl)benzyl)benzamid (**81**)

Žluté krystalky. Výtěžek: 29 % (24.0 mg);  $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.76 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.58 (t,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.36 – 7.29 (m, 4H), 6.99 (ddd,  $J = 8.0, 7.0, 2.1$  Hz, 1H), 6.95 – 6.89 (m, 4H), 6.85 (dd,  $J = 8.0, 1.3$  Hz, 1H), 6.66 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 6.39 (t,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 5.94 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 5.29 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 4.60 (d,  $J = 5.6$  Hz, 2H), 4.06 (t,  $J = 5.4$  Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.60 (s, 2H), 3.36 (q,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 3.10 (s, 4H), 2.67 (s, 4H), 2.47 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 1.98 – 1.89 (m, 4H).  $^{13}\text{C NMR}$  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.9, 161.5, 152.4, 151.5, 150.4, 146.5, 144.8, 141.4, 137.4, 137.1, 135.1, 129.9, 128.9, 128.0, 127.3, 126.9, 123.0, 122.8, 121.1, 118.3, 117.4, 114.3, 111.3, 96.1, 94.6, 67.5, 62.8, 55.4, 53.3, 50.6, 43.9, 42.6,

26.3, 25.7, 14.1, 11.0. LC/MS: Calc m/z = 791.40 pro  $C_{42}H_{48}B_2F_3N_8O_3$  [M-F]; MS najito m/z = 791.34; 96 % čistota.

### 5.1.3 Biologické hodnocení *in vitro* a *in vivo*

Použité pracovní postupy pro biologické hodnocení *in vitro* a *in vivo* pro finální látky **1-18** byly publikovány v práci P1.

Použité pracovní postupy pro biologické hodnocení *in vitro* pro finální látky **64a-g, 65a-g** byly publikovány v práci P2.



## 6 Zveřejněné práce s podílem autora disertační práce

### 6.1 Vědecké publikace s impakt faktorem

Korabecny, J.; Spilovska, K.; Mezeiova, E.; Benek, O.; **Jůza, R.**; Kaping, D.; Soukup, O. A Systematic Review on Donepezil-based Derivatives as Potential Cholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease. *Current Medicinal Chemistry*. 2019, vol. 26, no. 30, p. 5625-5648. <https://doi.org/10.2174/0929867325666180517094023> IF2019 = 4.184 (WoS IF Q1 14/61, AIS Q1 14/61 Medicinal Chemistry)

**Jůza, R.**; Vlcek, P.; Mezeiova, E.; Musilek, K.; Soukup, O.\*; Korabecny, J.\* Recent Advances with 5-HT<sub>3</sub> Modulators for Neuropsychiatric and Gastrointestinal Disorders. *Medicinal Research Reviews*. 2020, vol. 40, no. 5, p. 1593-1678. <https://doi.org/10.1002/med.21666> IF2020 = 12.944 (WoS IF D1/Q1 2/62, AIS D1/Q1 2/62 Medicinal Chemistry) = **S1**

**Jůza, R.**; Musilek, K.; Mezeiova, E.; Soukup, O.\*; Korabecny, J.\* Recent Advances in Dopamine D<sub>2</sub> Receptor Modulators in the Treatment of Neuropsychiatric Disorders. *Medicinal Research Reviews*. 2022, in press. <https://doi.org/10.1002/med.21923> IF2021 = 12.388 (WoS IF D1/Q1 2/62, AIS D1/Q1 2/62 Medicinal Chemistry) = **S2**

**Jůza, R.**; Vojtechova, I.; Stefkova-Mazochova, K.; Dehaen, W.; Petrasek, T.; Prchal, L.; Koblrova, T.; Janousek, J.; Vlcek, P.; Mezeiova, E.; Svozil, D.; Zdarova Karasova, J.; Pejchal, J.; Stark, H.; Satala, G.; Bojarski, A.J.; Kubacka, M.; Mogilski, S.; Randakova, A.; Musilek, K.; Soukup, O.\*; Korabecny, J.\* Novel D<sub>2</sub>/5-HT receptor modulators related to cariprazine with potential implication to schizophrenia treatment. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2022, vol. 232, p. 114193. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114193> IF2020 = 6.514 (WoS IF D1/Q1 5/62, AISQ1 12/63 Medicinal Chemistry) = **P1**

**Jůza, R.**; Stefkova, K.; Dehaen, W.; Randakova, A.; Petrasek, T.; Vojtechova, I.; Koblrova, T.; Muckova, L.; Mecava, M.; Prchal, L.; Mezeiova, E.; Musilek, K.; Soukup, O.\*; Korabecny, J.\* Synthesis and in vitro evaluation of novel dopamine receptor D<sub>2</sub> 3,4-dihydroquinolin-2(1H)-one derivatives related to aripiprazole. *Biomolecules*. 2021, vol. 11, no. 9, p. 1262. <https://doi.org/10.3390/biom11091262> IF2020 = 4.879 (WoS IFQ2 96/295, AISQ2 112/295 Biochemistry & Molecular Biology) = **P2**

## 6.2 Sdělení na odborných konferencích

Juza, R.; Spilovska, K.; Korabecny, J.; Mezeiova, E.; Kaping, D.; Soukup, O.; Synthesis and Biological Testing of 7- Methoxytacrineadamantylamine Heterodimers as Potential Cholinesterase Inhibitors in Alzheimer's disease. 52nd Advances in Organic, Bioorganic and Pharmaceutical Chemistry; Liblice 2017; Lázně Bělohrad (ČR); 3-5. 11. 2017; str. 75; poster P 31.

Juza, R.; Korabecny, J.; Spilovska, K.; Bartolini, M.; Monti, B.; Lamba, D.; Caliandro, R.; Pesaresi, A.; Hepnarova, V.; Jun, D.; Hrabínova, M.; Dolezal, R.; Zdarova, J.; Soukup, O.; Mezeiova, E.; Nepovimova, E.; Bolognesi, M-L.; Kuca, K.; Discovery and characterization of tacrine/huprine-tryptophan heterodimers as novel multipotent compounds against Alzheimer's disease. Winter school on drug Discovery; Rehovot (Izrael); 3-7. 12. 2018; Poster.

Juza, R.; Mazochova, K.; Dehaen, W.; Vojtechova, I.; Petrasek, T.; Prchal, L.; Koblíková, T.; Vlcek, P.; Mezeiova, E.; Svozil, D.; Bojarski, A.; Musilek, K.; Soukup, O.; Korabecny, J.; Design and Synthesis of Dual D<sub>2</sub>/5-HT<sub>3</sub>Rs Ligands as Potential Drugs in the Management of Schizophrenia. Synthesis in Drug Discovery and Development. Velká Británie; 22-23.3.2021; Virtuální poster, P\_12.

Juza, R.; Mazochova, K.; Dehaen, W.; Vojtechova, I.; Petrasek, T.; Prchal, L.; Koblíková, T.; Vlcek, P.; Mezeiova, E.; Svozil, D.; Bojarski, A.; Musilek, K.; Soukup, O.; Korabecny, J.; Design and Synthesis of Dual D<sub>2</sub>/5-HT<sub>3</sub>Rs Ligands as Potential Drugs in the Management of Schizophrenia. Paul Ehrlich Virtual Meeting. Catanzaro (Itálie); 26-28.7.2021; Virtuální poster, P\_31.

## Literatura

- [1] S.S. Kety, P.H. Wender, B. Jacobsen, L.J. Ingraham, L. Janson, B. Faber, D.K. Kinney, Mental Illness in the Biological and Adoptive Relatives of Schizophrenic Adoptees: Replication of the Copenhagen Study in the Rest of Denmark, *Arch Gen Psychiatry*. 51 (1994) 442–455. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1994.03950060006001>.
- [2] H. Häfner, K. Maurer, W. Löffler, A. Riecher-Rössler, The Influence of Age and Sex on the Onset and Early Course of Schizophrenia, *The British Journal of Psychiatry*. 162 (1993) 80–86. <https://doi.org/10.1192/bjp.162.1.80>.
- [3] S.K. Hill, M.S. Keshavan, M.E. Thase, J.A. Sweeney, Neuropsychological Dysfunction in Antipsychotic-Naive First-Episode Unipolar Psychotic Depression, *AJP*. 161 (2004) 996–1003. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.161.6.996>.
- [4] A.J. Saykin, D.L. Shtasel, R.E. Gur, D.B. Kester, L.H. Mozley, P. Stafiniak, R.C. Gur, Neuropsychological Deficits in Neuroleptic Naive Patients With First-Episode Schizophrenia, *Arch Gen Psychiatry*. 51 (1994) 124–131. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1994.03950020048005>.
- [5] I. Ebenezer, *Neuropsychopharmacology and Therapeutics*, 2015. <https://doi.org/10.1002/9781118385777>.
- [6] R. Juza, P. Vlcek, E. Mezeiova, K. Musilek, O. Soukup, J. Korabecny, Recent advances with 5-HT3 modulators for neuropsychiatric and gastrointestinal disorders, *Medicinal Research Reviews*. 40 (2020) 1593–1678. <https://doi.org/10.1002/med.21666>.
- [7] L.J. Siever, K.L. Davis, The Pathophysiology of Schizophrenia Disorders: Perspectives From the Spectrum, *AJP*. 161 (2004) 398–413. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.161.3.398>.
- [8] J. Sun, P.-H. Kuo, B.P. Riley, K.S. Kendler, Z. Zhao, Candidate genes for schizophrenia: A survey of association studies and gene ranking, *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 147B (2008) 1173–1181. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30743>.
- [9] S. Celanire, S. Poli, *Small Molecule Therapeutics for Schizophrenia*, Springer, 2014.
- [10] P. Stępnicki, M. Kondej, A.A. Kaczor, Current Concepts and Treatments of Schizophrenia, *Molecules*. 23 (2018) 2087. <https://doi.org/10.3390/molecules23082087>.
- [11] A. Fitton, R.C. Heel, Clozapine. A review of its pharmacological properties, and therapeutic use in schizophrenia, *Drugs*. 40 (1990) 722–747. <https://doi.org/10.2165/00003495-199040050-00007>.
- [12] J. Crilly, The history of clozapine and its emergence in the US market: a review and analysis, *Hist Psychiatry*. 18 (2007) 39–60. <https://doi.org/10.1177/0957154X07070335>.
- [13] P.G. Strange, Antipsychotic Drugs: Importance of Dopamine Receptors for Mechanisms of Therapeutic Actions and Side Effects, *Pharmacol Rev*. 53 (2001) 119–134.
- [14] J.M. van Rossum, The significance of dopamine-receptor blockade for the mechanism of action of neuroleptic drugs, *Arch Int Pharmacodyn Ther*. 160 (1966) 492–494.
- [15] A. Carlsson, M. Lindqvist, Effect of Chlorpromazine or Haloperidol on Formation of 3-Methoxytyramine and Normetanephrine in Mouse Brain, *Acta Pharmacologica et Toxicologica*. 20 (1963) 140–144. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1963.tb01730.x>.
- [16] Y. Uno, J.T. Coyle, Glutamate hypothesis in schizophrenia, *Psychiatry Clin Neurosci*. 73 (2019) 204–215. <https://doi.org/10.1111/pcn.12823>.
- [17] W. Hu, M.L. MacDonald, D.E. Elswick, R.A. Sweet, The glutamate hypothesis of schizophrenia: evidence from human brain tissue studies, *Ann N Y Acad Sci*. 1338 (2015) 38–57. <https://doi.org/10.1111/nyas.12547>.
- [18] A.C. Yang, S.-J. Tsai, New Targets for Schizophrenia Treatment beyond the Dopamine Hypothesis, *Int J Mol Sci*. 18 (2017). <https://doi.org/10.3390/ijms18081689>.
- [19] J.C. de Jonge, C.H. Vinkers, H.E. Hulshoff Pol, A. Marsman, GABAergic Mechanisms in Schizophrenia: Linking Postmortem and In Vivo Studies, *Front Psychiatry*. 8 (2017) 118. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2017.00118>.

- [20] A. A Baumeister, M. F Hawkins, The Serotonin Hypothesis of Schizophrenia: A Historical Case Study on the Heuristic Value of Theory in Clinical Neuroscience, *Journal of the History of the Neurosciences*. 13 (2004) 277–91. <https://doi.org/10.1080/09647040490510560>.
- [21] A.E. Eggers, A serotonin hypothesis of schizophrenia, *Med Hypotheses*. 80 (2013) 791–794. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2013.03.013>.
- [22] T.J. Raedler, R. Tandon, Cholinergic mechanisms in schizophrenia: Current concepts, *Current Psychosis & Therapeutics Reports*. 4 (2006) 20–26. <https://doi.org/10.1007/BF02629410>.
- [23] G. Gonzalez-Burgos, D.A. Lewis, NMDA receptor hypofunction, parvalbumin-positive neurons, and cortical gamma oscillations in schizophrenia, *Schizophr Bull*. 38 (2012) 950–957. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbs010>.
- [24] D.A. Lewis, A.A. Curley, J.R. Glausier, D.W. Volk, Cortical parvalbumin interneurons and cognitive dysfunction in schizophrenia, *Trends in Neurosciences*. 35 (2012) 57–67. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.10.004>.
- [25] K. Nakazawa, V. Zsiros, Z. Jiang, K. Nakao, S. Kolata, S. Zhang, J.E. Belforte, GABAergic interneuron origin of schizophrenia pathophysiology, *Neuropharmacology*. 62 (2012) 1574–1583. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.01.022>.
- [26] C.-I. Lau, H.-C. Wang, J.-L. Hsu, M.-E. Liu, Does the dopamine hypothesis explain schizophrenia?, *Rev Neurosci*. 24 (2013) 389–400. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2013-0011>.
- [27] K.L. Davis, R.S. Kahn, G. Ko, M. Davidson, Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization, *Am J Psychiatry*. 148 (1991) 1474–1486. <https://doi.org/10.1176/ajp.148.11.1474>.
- [28] B. Giros, P. Sokoloff, M.P. Martres, J.F. Riou, L.J. Emorine, J.C. Schwartz, Alternative splicing directs the expression of two D2 dopamine receptor isoforms, *Nature*. 342 (1989) 923–926. <https://doi.org/10.1038/342923a0>.
- [29] F.J. Monsma, L.D. McVittie, C.R. Gerfen, L.C. Mahan, D.R. Sibley, Multiple D2 dopamine receptors produced by alternative RNA splicing, *Nature*. 342 (1989) 926–929. <https://doi.org/10.1038/342926a0>.
- [30] A. Usiello, J.H. Baik, F. Rougé-Pont, R. Picetti, A. Dierich, M. LeMeur, P.V. Piazza, E. Borrelli, Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors, *Nature*. 408 (2000) 199–203. <https://doi.org/10.1038/35041572>.
- [31] C. De Mei, M. Ramos, C. Iitaka, E. Borrelli, Getting specialized: presynaptic and postsynaptic dopamine D2 receptors, *Curr Opin Pharmacol*. 9 (2009) 53–58. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2008.12.002>.
- [32] G. Ayano, Dopamine: Receptors, Functions, Synthesis, Pathways, Locations and Mental Disorders: Review of Literatures, *Journal of Mental Disorders and Treatment*. 2 (2016). <https://doi.org/10.4172/2471-271X.1000120>.
- [33] S. Hisahara, S. Shimohama, Dopamine receptors and Parkinson’s disease, *Int J Med Chem*. 2011 (2011) 403039. <https://doi.org/10.1155/2011/403039>.
- [34] J.-M. Beaulieu, R.R. Gainetdinov, The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors, *Pharmacol Rev*. 63 (2011) 182–217. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002642>.
- [35] P. Seeman, Historical Overview: Introduction to the Dopamine Receptors, in: K.A. Neve (Ed.), *The Dopamine Receptors*, Humana Press, Totowa, NJ, 2010: pp. 1–21. [https://doi.org/10.1007/978-1-60327-333-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-333-6_1).
- [36] P. Seeman, Dopamine D2 receptors as treatment targets in schizophrenia, *Clin Schizophr Relat Psychoses*. 4 (2010) 56–73. <https://doi.org/10.3371/CSRP.4.1.5>.
- [37] C. Missale, S.R. Nash, S.W. Robinson, M. Jaber, M.G. Caron, Dopamine receptors: from structure to function, *Physiol Rev*. 78 (1998) 189–225. <https://doi.org/10.1152/physrev.1998.78.1.189>.
- [38] C.R. Gerfen, Molecular effects of dopamine on striatal-projection pathways, *Trends Neurosci*. 23 (2000) S64-70. [https://doi.org/10.1016/s1471-1931\(00\)00019-7](https://doi.org/10.1016/s1471-1931(00)00019-7).
- [39] D. Vallone, R. Picetti, E. Borrelli, Structure and function of dopamine receptors, *Neurosci Biobehav Rev*. 24 (2000) 125–132. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(99\)00063-9](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(99)00063-9).

- [40] P. Seeman, Targeting the dopamine D2 receptor in schizophrenia, *Expert Opin Ther Targets*. 10 (2006) 515–531. <https://doi.org/10.1517/14728222.10.4.515>.
- [41] J.W. Kebabian, P. Greengard, Dopamine-sensitive adenylyl cyclase: possible role in synaptic transmission, *Science*. 174 (1971) 1346–1349. <https://doi.org/10.1126/science.174.4016.1346>.
- [42] J.W. Kebabian, D.B. Calne, Multiple receptors for dopamine, *Nature*. 277 (1979) 93–96. <https://doi.org/10.1038/277093a0>.
- [43] A. Enjalbert, J. Bockaert, Pharmacological characterization of the D2 dopamine receptor negatively coupled with adenylyl cyclase in rat anterior pituitary, *Mol Pharmacol*. 23 (1983) 576–584.
- [44] S. Kapur, R. Zipursky, C. Jones, G. Remington, S. Houle, Relationship Between Dopamine D2 Occupancy, Clinical Response, and Side Effects: A Double-Blind PET Study of First-Episode Schizophrenia, *AJP*. 157 (2000) 514–520. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.4.514>.
- [45] A.-L. Nordström, L. Farde, F.-A. Wiesel, K. Forslund, S. Pauli, C. Halldin, G. Uppfeldt, Central D2-dopamine receptor occupancy in relation to antipsychotic drug effects: A double-blind PET study of schizophrenic patients, *Biological Psychiatry*. 33 (1993) 227–235. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(93\)90288-O](https://doi.org/10.1016/0006-3223(93)90288-O).
- [46] N.M. Richtand, J.A. Welge, A.D. Logue, P.E. Keck, S.M. Strakowski, R.K. McNamara, Dopamine and Serotonin Receptor Binding and Antipsychotic Efficacy, *Neuropsychopharmacol*. 32 (2007) 1715–1726. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301305>.
- [47] P. Seeman, T. Lee, M. Chau-Wong, K. Wong, Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors, *Nature*. 261 (1976) 717–719. <https://doi.org/10.1038/261717a0>.
- [48] D. De Berardis, G. Rapini, L. Olivieri, D. Di Nicola, C. Tomasetti, A. Valchera, M. Fornaro, F. Di Fabio, G. Perna, M. Di Nicola, G. Serafini, A. Carano, M. Pompili, F. Vellante, L. Orsolini, G. Martinotti, M. Di Giannantonio, Safety of antipsychotics for the treatment of schizophrenia: a focus on the adverse effects of clozapine, *Ther Adv Drug Saf*. 9 (2018) 237–256. <https://doi.org/10.1177/2042098618756261>.
- [49] M. Carbon, C.U. Correll, Thinking and acting beyond the positive: the role of the cognitive and negative symptoms in schizophrenia, *CNS Spectr*. 19 Suppl 1 (2014) 38–52; quiz 35–37, 53. <https://doi.org/10.1017/S1092852914000601>.
- [50] M.J. Owen, A. Sawa, P.B. Mortensen, Schizophrenia, *Lancet*. 388 (2016) 86–97. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01121-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01121-6).
- [51] C.U. Correll, N.R. Schooler, Negative Symptoms in Schizophrenia: A Review and Clinical Guide for Recognition, Assessment, and Treatment, *Neuropsychiatr Dis Treat*. 16 (2020) 519–534. <https://doi.org/10.2147/NDT.S225643>.
- [52] O.D. Howes, S. Kapur, The Dopamine Hypothesis of Schizophrenia: Version III—The Final Common Pathway, *Schizophr Bull*. 35 (2009) 549–562. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbp006>.
- [53] B.L. Roth, S. Tandra, L.H. Burgess, D.R. Sibley, H.Y. Meltzer, D4 dopamine receptor binding affinity does not distinguish between typical and atypical antipsychotic drugs, *Psychopharmacology (Berl)*. 120 (1995) 365–368. <https://doi.org/10.1007/BF02311185>.
- [54] A. Schotte, P.F.M. Janssen, W. Gommeren, W.H.M.L. Luyten, P. Van Gompel, A.S. Lesage, K. De Loore, J.E. Leysen, Risperidone compared with new and reference antipsychotic drugs: in vitro and in vivo receptor binding, *Psychopharmacology*. 124 (1996) 57–73. <https://doi.org/10.1007/BF02245606>.
- [55] B. Kiss, A. Horváth, Z. Némethy, É. Schmidt, I. Laszlovszky, G. Bugovics, K. Fazekas, K. Hornok, S. Orosz, I. Gyertyán, É. Ágai-Csongor, G. Domány, K. Tihanyi, N. Adham, Z. Szombathelyi, Cariprazine (RGH-188), a Dopamine D3 Receptor-Preferring, D3/D2 Dopamine Receptor Antagonist–Partial Agonist Antipsychotic Candidate: In Vitro and Neurochemical Profile, *J Pharmacol Exp Ther*. 333 (2010) 328–340. <https://doi.org/10.1124/jpet.109.160432>.
- [56] M. Huhn, A. Nikolakopoulou, J. Schneider-Thoma, M. Krause, M. Samara, N. Peter, T. Arndt, L. Bäckers, P. Rothe, A. Cipriani, J. Davis, G. Salanti, S. Leucht, Comparative efficacy and tolerability of 32 oral antipsychotics for the acute treatment of adults with multi-episode

- schizophrenia: a systematic review and network meta-analysis, *The Lancet*. 394 (2019) 939–951. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31135-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31135-3).
- [57] G. Németh, I. Laszlovszky, P. Czobor, E. Szalai, B. Szatmári, J. Harsányi, Á. Barabácssy, M. DeBelle, S. Durgam, I. Bitter, S. Marder, W.W. Fleischhacker, Cariprazine versus risperidone monotherapy for treatment of predominant negative symptoms in patients with schizophrenia: a randomised, double-blind, controlled trial, *The Lancet*. 389 (2017) 1103–1113. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30060-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30060-0).
- [58] L. Citrome, Cariprazine: chemistry, pharmacodynamics, pharmacokinetics, and metabolism, clinical efficacy, safety, and tolerability, *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 9 (2013) 193–206. <https://doi.org/10.1517/17425255.2013.759211>.
- [59] I. Kusumi, S. Boku, Y. Takahashi, Psychopharmacology of atypical antipsychotic drugs: From the receptor binding profile to neuroprotection and neurogenesis, *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. 69 (2015) 243–258. <https://doi.org/10.1111/pcn.12242>.
- [60] S.J. Kaar, S. Natesan, R. McCutcheon, O.D. Howes, Antipsychotics: Mechanisms underlying clinical response and side-effects and novel treatment approaches based on pathophysiology, *Neuropharmacology*. 172 (2020) 107704. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.107704>.
- [61] S.G. Potkin, J.M. Kane, C.U. Correll, J.-P. Lindenmayer, O. Agid, S.R. Marder, M. Olfson, O.D. Howes, The neurobiology of treatment-resistant schizophrenia: paths to antipsychotic resistance and a roadmap for future research, *Npj Schizophr*. 6 (2020) 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41537-019-0090-z>.
- [62] R.S. Wils, D.R. Gotfredsen, C. Hjorthøj, S.F. Austin, N. Albert, R.G. Secher, A.A.E. Thorup, O. Mors, M. Nordentoft, Antipsychotic medication and remission of psychotic symptoms 10 years after a first-episode psychosis, *Schizophrenia Research*. 182 (2017) 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2016.10.030>.
- [63] J. L. Yakel, M. Jackson, 5-HT<sub>3</sub> receptors mediate rapid responses in cultured hippocampus and a clonal cell line, *Neuron*. 1 (1988) 615–21. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(88\)90111-0](https://doi.org/10.1016/0896-6273(88)90111-0).
- [64] V. Derkach, A. Surprenant, R.A. North, 5-HT<sub>3</sub> receptors are membrane ion channels, *Nature*. 339 (1989) 706–709. <https://doi.org/10.1038/339706a0>.
- [65] J. Walstab, G. Rappold, B. Niesler, 5-HT<sub>3</sub> receptors: Role in disease and target of drugs, *Pharmacology & Therapeutics*. 128 (2010) 146–169. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.07.001>.
- [66] K. Krzywkowski, P.A. Davies, P.L. Feinberg-Zadek, H. Bräuner-Osborne, A.A. Jensen, High-frequency HTR3B variant associated with major depression dramatically augments the signaling of the human 5-HT<sub>3</sub>AB receptor, *PNAS*. 105 (2008) 722–727. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708454105>.
- [67] N.M. Barnes, T.G. Hales, S.C.R. Lummis, J.A. Peters, The 5-HT<sub>3</sub> receptor: - the relationship between structure and function, *Neuropharmacology*. 56 (2009) 273–284. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.08.003>.
- [68] A. Maricq, A. S. Peterson, A. J. Brake, R. Myers, D. Julius, Primary Structure and Functional Expression of the 5HT<sub>3</sub> Receptor, a Serotonin-Gated Ion Channel, *Science*. 254 (1991) 432–437. <https://doi.org/10.1126/science.1718042>.
- [69] A.J. Thompson, S.C. Lummis, The 5-HT<sub>3</sub> receptor as a therapeutic target, *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 11 (2007) 527–540. <https://doi.org/10.1517/14728222.11.4.527>.
- [70] G.J. Kilpatrick, B.J. Jones, M.B. Tyers, Binding of the 5-HT<sub>3</sub> ligand, [<sup>3</sup>H]GR65630, to rat area postrema, vagus nerve and the brains of several species, *European Journal of Pharmacology*. 159 (1989) 157–164. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(89\)90700-0](https://doi.org/10.1016/0014-2999(89)90700-0).
- [71] G.D. Pratt, N.G. Bowery, G.J. Kilpatrick, R.A. Leslie, N.M. Barnes, R.J. Naylor, B.J. Jones, D.R. Nelson, JoséM. Palacios, P. Slater, D.J.M. Reynolds, Consensus meeting agrees distribution of 5-HT<sub>3</sub> receptors in mammalian hindbrain, *Trends in Pharmacological Sciences*. 11 (1990) 135–137. [https://doi.org/10.1016/0165-6147\(90\)90058-G](https://doi.org/10.1016/0165-6147(90)90058-G).

- [72] D.R. Gehlert, S.L. Gackenheimer, D.T. Wong, D.W. Robertson, Localization of 5-HT<sub>3</sub> receptors in the rat brain using [3H]LY278584, *Brain Research*. 553 (1991) 149–154. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)90242-N](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)90242-N).
- [73] L. H Tecott, A. Maricq, D. Julius, Nervous system distribution of the serotonin 5-HT<sub>3</sub> receptor mRNA, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 90 (1993) 1430–4.
- [74] M. Morales, S.-D. Wang, Differential Composition of 5-Hydroxytryptamine<sub>3</sub>Receptors Synthesized in the Rat CNS and Peripheral Nervous System, *J. Neurosci*. 22 (2002) 6732–6741. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-15-06732.2002>.
- [75] M. B Tyers, 5-HT<sub>3</sub> receptors, *Annals of the New York Academy of Sciences*. 600 (1990) 194–202; discussion 202. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1990.tb16882.x>.
- [76] M.D. Gershon, Review article: roles played by 5-hydroxytryptamine in the physiology of the bowel, *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 13 (1999) 15–30. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.1999.00002.x-i2>.
- [77] J. Glatzle, C. Sternini, C. Robin, T. T Zittel, H. Wong, J. Reeve, H. E Raybould, Expression of 5-HT<sub>3</sub> receptors in rat gastrointestinal tract, *Gastroenterology*. 123 (2002) 217–26. <https://doi.org/10.1053/gast.2002.34245>.
- [78] M. Gershon, Review article: Serotonin receptors and transporters - Roles in normal and abnormal gastrointestinal motility, *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 20 Suppl 7 (2004) 3–14. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2004.02180.x>.
- [79] M. Apro, 5-HT<sub>3</sub>-Receptor Antagonists in the Management of Nausea and Vomiting in Cancer and Cancer Treatment, *Oncology*. 69 (2005) 97–109. <https://doi.org/10.1159/000087979>.
- [80] N.A. Moore, B.J. Sargent, D.D. Manning, P.R. Guzzo, Partial agonism of 5-HT<sub>3</sub> receptors: a novel approach to the symptomatic treatment of IBS-D, *ACS Chem Neurosci*. 4 (2013) 43–47. <https://doi.org/10.1021/cn300166c>.
- [81] A. Billio, E. Morello, M.J. Clarke, Serotonin receptor antagonists for highly emetogenic chemotherapy in adults, *Cochrane Database Syst Rev*. (2010) CD006272. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006272.pub2>.
- [82] A. Ozkan, I. Yildiz, L. Yüksel, H. Apak, T. Celkan, Tropisetron (Navoban) in the control of nausea and vomiting induced by combined cancer chemotherapy in children, *Jpn. J. Clin. Oncol*. 29 (1999) 92–95. <https://doi.org/10.1093/jjco/29.2.92>.
- [83] Y. Fujii, Y. Saitoh, H. Tanaka, H. Toyooka, Ramosetron for preventing postoperative nausea and vomiting in women undergoing gynecological surgery, *Anesth. Analg*. 90 (2000) 472–475. <https://doi.org/10.1097/00005339-200002000-00043>.
- [84] K. Matsueda, S. Harasawa, M. Hongo, N. Hiwatashi, D. Sasaki, A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial of the effectiveness of the novel serotonin type 3 receptor antagonist ramosetron in both male and female Japanese patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, *Scand. J. Gastroenterol*. 43 (2008) 1202–1211. <https://doi.org/10.1080/00365520802240255>.
- [85] R.M. Navari, 5-HT<sub>3</sub> receptors as important mediators of nausea and vomiting due to chemotherapy, *Biochim. Biophys. Acta*. 1848 (2015) 2738–2746. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.03.020>.
- [86] B. Ellenbroek, E. Prinssen, Can 5-HT<sub>3</sub> antagonists contribute toward the treatment of schizophrenia?, *Behavioural Pharmacology*. 26 (2014). <https://doi.org/10.1097/FBP.000000000000102>.
- [87] H.Y. Meltzer, Role of serotonin in the action of atypical antipsychotic drugs, *Clin Neurosci*. 3 (1995) 64–75.
- [88] P. Sirota, T. Mosheva, H. Shabtay, N. Giladi, A.D. Korczyn, Use of the Selective Serotonin 3 Receptor Antagonist Ondansetron in the Treatment of Neuroleptic-Induced Tardive Dyskinesia, *AJP*. 157 (2000) 287–289. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.2.287>.

- [89] Y. Levkovitz, G. Arnest, S. Mendlovic, I. Treves, S. Fennig, The effect of Ondansetron on memory in schizophrenic patients, *Brain Research Bulletin*. 65 (2005) 291–295. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2003.09.022>.
- [90] Z.-J. Zhang, W.-H. Kang, Q. Li, X.-Y. Wang, S.-M. Yao, A.-Q. Ma, Beneficial effects of ondansetron as an adjunct to haloperidol for chronic, treatment-resistant schizophrenia: A double-blind, randomized, placebo-controlled study, *Schizophrenia Research*. 88 (2007) 102–10. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2006.07.010>.
- [91] S. Akhondzadeh, N. Mohammadi, M. Noroozian, N. Karamghadiri, A. Ghoreishi, A.-H. Jamshidi, S. Forghani, Added ondansetron for stable schizophrenia: A double blind, placebo controlled trial, *Schizophrenia Research*. 107 (2008) 206–12. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2008.08.004>.
- [92] L.E. Adler, E.M. Cawthra, K.A. Donovan, J.G. Harris, H.T. Nagamoto, A. Olincy, M.C. Waldo, Improved p50 auditory gating with ondansetron in medicated schizophrenia patients, *Am J Psychiatry*. 162 (2005) 386–388. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.162.2.386>.
- [93] M. Noroozian, S. Ghasemi, S.-M.-R. Hosseini, A. Modabbernia, M.-R. Khodaie-Ardakani, O. Mirshafiee, M. Farokhnia, M. Tajdini, F. Rezaei, B. Salehi, M. Ashrafi, H. Yekehtaz, M. Tabrizi, S. Akhondzadeh, A placebo-controlled study of tropisetron added to risperidone for the treatment of negative symptoms in chronic and stable schizophrenia, *Psychopharmacology*. 228 (2013) 595–602. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3064-2>.
- [94] K. Koike, K. Hashimoto, N. Takai, E. Shimizu, N. Komatsu, H. Watanabe, M. Nakazato, N. Okamura, K.E. Stevens, R. Freedman, M. Iyo, Tropisetron improves deficits in auditory P50 suppression in schizophrenia, *Schizophr. Res*. 76 (2005) 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2004.12.016>.
- [95] M.-R. Khodaei-Ardakani, S. Seddighi, A. Modabbernia, F. Rezaei, B. Salehi, M. Ashrafi, N. Alizadeh, M. Mohammad-Karimi, G.-R. Esfandiari, R. Hajiaghvae, S. Akhondzadeh, Granisetron as an add-on to risperidone for treatment of negative symptoms in patients with stable schizophrenia: Randomized double-blind placebo-controlled study, *Journal of Psychiatric Research*. 47 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2013.01.011>.
- [96] J.A. DiMasi, R.W. Hansen, H.G. Grabowski, The price of innovation: new estimates of drug development costs, *Journal of Health Economics*. 22 (2003) 151–185. [https://doi.org/10.1016/S0167-6296\(02\)00126-1](https://doi.org/10.1016/S0167-6296(02)00126-1).
- [97] C.M. Song, S.J. Lim, J.C. Tong, Recent advances in computer-aided drug design, *Brief Bioinform*. 10 (2009) 579–591. <https://doi.org/10.1093/bib/bbp023>.
- [98] S.M. Paul, D.S. Mytelka, C.T. Dunwiddie, C.C. Persinger, B.H. Munos, S.R. Lindborg, A.L. Schacht, How to improve R&D productivity: the pharmaceutical industry's grand challenge, *Nat Rev Drug Discov*. 9 (2010) 203–214. <https://doi.org/10.1038/nrd3078>.
- [99] S.J.Y. Macalino, V. Gosu, S. Hong, S. Choi, Role of computer-aided drug design in modern drug discovery, *Arch Pharm Res*. 38 (2015) 1686–1701. <https://doi.org/10.1007/s12272-015-0640-5>.
- [100] S. Surabhi, B.K. Singh, COMPUTER AIDED DRUG DESIGN: AN OVERVIEW, *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 8 (2018) 504–509. <https://doi.org/10.22270/jddt.v8i5.1894>.
- [101] M.M. Salman, Z. Al-Obaidi, P. Kitchen, A. Loreto, R.M. Bill, R. Wade-Martins, Advances in Applying Computer-Aided Drug Design for Neurodegenerative Diseases, *Int J Mol Sci*. 22 (2021) 4688. <https://doi.org/10.3390/ijms22094688>.
- [102] T.T. Talele, S.A. Khedkar, A.C. Rigby, Successful applications of computer aided drug discovery: moving drugs from concept to the clinic, *Curr Top Med Chem*. 10 (2010) 127–141. <https://doi.org/10.2174/156802610790232251>.
- [103] J.J. Tan, X.J. Cong, L.M. Hu, C.X. Wang, L. Jia, X.-J. Liang, Therapeutic strategies underpinning the development of novel techniques for the treatment of HIV infection, *Drug Discov Today*. 15 (2010) 186–197. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.01.004>.
- [104] A. Lavecchia, C. Di Giovanni, Virtual screening strategies in drug discovery: a critical review, *Curr Med Chem*. 20 (2013) 2839–2860. <https://doi.org/10.2174/09298673113209990001>.



- [105] S.Z. Grinter, X. Zou, Challenges, applications, and recent advances of protein-ligand docking in structure-based drug design, *Molecules*. 19 (2014) 10150–10176. <https://doi.org/10.3390/molecules190710150>.
- [106] S. Kalyaanamoorthy, Y.-P.P. Chen, Structure-based drug design to augment hit discovery, *Drug Discovery Today*. 16 (2011) 831–839. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2011.07.006>.
- [107] E. Lionta, G. Spyrou, D.K. Vassilatis, Z. Cournia, Structure-based virtual screening for drug discovery: principles, applications and recent advances, *Curr Top Med Chem*. 14 (2014) 1923–1938. <https://doi.org/10.2174/1568026614666140929124445>.
- [108] P.S. Kutchukian, E.I. Shakhnovich, De novo design: balancing novelty and confined chemical space, *Expert Opin Drug Discov*. 5 (2010) 789–812. <https://doi.org/10.1517/17460441.2010.497534>.
- [109] T. Rodrigues, G. Schneider, Flashback Forward: Reaction-Driven De Novo Design of Bioactive Compounds, *Synlett*. 25 (2014) 170–178. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1340216>.
- [110] A.D. Andricopulo, L.B. Salum, D.J. Abraham, Structure-based drug design strategies in medicinal chemistry, *Curr Top Med Chem*. 9 (2009) 771–790. <https://doi.org/10.2174/156802609789207127>.
- [111] C.C. Melo-Filho, R.C. Braga, C.H. Andrade, 3D-QSAR approaches in drug design: perspectives to generate reliable CoMFA models, *Curr Comput Aided Drug Des*. 10 (2014) 148–159. <https://doi.org/10.2174/1573409910666140410111043>.
- [112] A. Vuorinen, D. Schuster, Methods for generating and applying pharmacophore models as virtual screening filters and for bioactivity profiling, *Methods*. 71 (2015) 113–134. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2014.10.013>.
- [113] E. Fischer, Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme, *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 27 (1894) 2985–2993. <https://doi.org/10.1002/cber.18940270364>.
- [114] J.L. Medina-Franco, M.A. Giulianotti, G.S. Welmaker, R.A. Houghten, Shifting from the single to the multitarget paradigm in drug discovery, *Drug Discov Today*. 18 (2013) 495–501. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.01.008>.
- [115] H. Ma, B. Huang, Y. Zhang, Recent advances in multitarget-directed ligands targeting G-protein-coupled receptors, *Drug Discov Today*. 25 (2020) 1682–1692. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.07.004>.
- [116] M.R. Salleh, The Genetics of Schizophrenia, *Malays J Med Sci*. 11 (2004) 3–11.
- [117] M.L. Bolognesi, Polypharmacology in a single drug: multitarget drugs, *Curr Med Chem*. 20 (2013) 1639–1645. <https://doi.org/10.2174/0929867311320130004>.
- [118] T. Yang, X. Sui, B. Yu, Y. Shen, H. Cong, Recent Advances in the Rational Drug Design Based on Multi-target Ligands, *Curr Med Chem*. 27 (2020) 4720–4740. <https://doi.org/10.2174/0929867327666200102120652>.
- [119] R. Morphy, Z. Rankovic, Designed Multiple Ligands. An Emerging Drug Discovery Paradigm, *J. Med. Chem*. 48 (2005) 6523–6543. <https://doi.org/10.1021/jm058225d>.
- [120] A. Cavalli, M.L. Bolognesi, A. Minarini, M. Rosini, V. Tumiatti, M. Recanatini, C. Melchiorre, Multi-target-directed ligands to combat neurodegenerative diseases, *J Med Chem*. 51 (2008) 347–372. <https://doi.org/10.1021/jm7009364>.
- [121] R. Morphy, Z. Rankovic, Designing multiple ligands - medicinal chemistry strategies and challenges, *Curr Pharm Des*. 15 (2009) 587–600. <https://doi.org/10.2174/138161209787315594>.
- [122] S.A. Eisen, D.K. Miller, R.S. Woodward, E. Spitznagel, T.R. Przybeck, The effect of prescribed daily dose frequency on patient medication compliance, *Arch Intern Med*. 150 (1990) 1881–1884.
- [123] A.L. Hopkins, J.S. Mason, J.P. Overington, Can we rationally design promiscuous drugs?, *Current Opinion in Structural Biology*. 16 (2006) 127–136. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2006.01.013>.
- [124] D.A. Shapiro, S. Renock, E. Arrington, L.A. Chiodo, L.-X. Liu, D.R. Sibley, B.L. Roth, R. Mailman, Aripiprazole, A Novel Atypical Antipsychotic Drug with a Unique and Robust Pharmacology, *Neuropsychopharmacology*. 28 (2003) 1400–1411. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300203>.

- [125] P.E.K. Jr, S.L. McElroy, Aripiprazole: a partial dopamine D2 receptor agonist antipsychotic, *Expert Opinion on Investigational Drugs*. 12 (2003) 655–662. <https://doi.org/10.1517/13543784.12.4.655>.
- [126] M.R. Siddiqui, Z.A. AlOthman, N. Rahman, Analytical techniques in pharmaceutical analysis: A review, *Arabian Journal of Chemistry*. 10 (2017) S1409–S1421. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.04.016>.
- [127] C. Géhin, S.W. Holman, Advances in high-resolution mass spectrometry applied to pharmaceuticals in 2020: A whole new age of information, *Analytical Science Advances*. 2 (2021) 142–156. <https://doi.org/10.1002/ansa.202000149>.
- [128] Y. Sharif, F. Jumah, L. Coplan, A. Krosser, K. Sharif, R.S. Tubbs, Blood brain barrier: A review of its anatomy and physiology in health and disease, *Clinical Anatomy*. 31 (2018) 812–823. <https://doi.org/10.1002/ca.23083>.
- [129] M. Gupta, H.J. Lee, C.J. Barden, D.F. Weaver, The Blood–Brain Barrier (BBB) Score, *J. Med. Chem.* 62 (2019) 9824–9836. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01220>.
- [130] C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings PII of original article: S0169-409X(96)00423-1. The article was originally published in *Advanced Drug Delivery Reviews* 23 (1997) 3–25.1, *Advanced Drug Delivery Reviews*. 46 (2001) 3–26. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0).
- [131] H. van de Waterbeemd, G. Camenisch, G. Folkers, J.R. Chretien, O.A. Raevsky, Estimation of Blood-Brain Barrier Crossing of Drugs Using Molecular Size and Shape, and H-Bonding Descriptors, *Journal of Drug Targeting*. 6 (1998) 151–165. <https://doi.org/10.3109/10611869808997889>.
- [132] A.K. Ghose, T. Herbertz, R.L. Hudkins, B.D. Dorsey, J.P. Mallamo, Knowledge-Based, Central Nervous System (CNS) Lead Selection and Lead Optimization for CNS Drug Discovery, *ACS Chem. Neurosci.* 3 (2012) 50–68. <https://doi.org/10.1021/cn200100h>.
- [133] A.K. Ghose, G.R. Ott, R.L. Hudkins, Technically Extended MultiParameter Optimization (TEMPO): An Advanced Robust Scoring Scheme To Calculate Central Nervous System Druggability and Monitor Lead Optimization, *ACS Chem. Neurosci.* 8 (2017) 147–154. <https://doi.org/10.1021/acchemneuro.6b00273>.
- [134] H. Gunaydin, Probabilistic Approach to Generating MPOs and Its Application as a Scoring Function for CNS Drugs, *ACS Med. Chem. Lett.* 7 (2016) 89–93. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.5b00390>.
- [135] T.T. Wager, R.Y. Chandrasekaran, X. Hou, M.D. Troutman, P.R. Verhoest, A. Villalobos, Y. Will, Defining Desirable Central Nervous System Drug Space through the Alignment of Molecular Properties, in Vitro ADME, and Safety Attributes, *ACS Chem. Neurosci.* 1 (2010) 420–434. <https://doi.org/10.1021/cn100007x>.
- [136] T.T. Wager, X. Hou, P.R. Verhoest, A. Villalobos, Moving beyond Rules: The Development of a Central Nervous System Multiparameter Optimization (CNS MPO) Approach To Enable Alignment of Druglike Properties, *ACS Chem. Neurosci.* 1 (2010) 435–449. <https://doi.org/10.1021/cn100008c>.
- [137] T.T. Wager, X. Hou, P.R. Verhoest, A. Villalobos, Central Nervous System Multiparameter Optimization Desirability: Application in Drug Discovery, *ACS Chem. Neurosci.* 7 (2016) 767–775. <https://doi.org/10.1021/acchemneuro.6b00029>.
- [138] S.A. Hitchcock, L.D. Pennington, Structure–Brain Exposure Relationships, *J. Med. Chem.* 49 (2006) 7559–7583. <https://doi.org/10.1021/jm060642i>.
- [139] P.D. Leeson, A.M. Davis, Time-Related Differences in the Physical Property Profiles of Oral Drugs, *J. Med. Chem.* 47 (2004) 6338–6348. <https://doi.org/10.1021/jm049717d>.
- [140] U. Norinder, M. Haeberlein, Computational approaches to the prediction of the blood–brain distribution, *Advanced Drug Delivery Reviews*. 54 (2002) 291–313. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(02\)00005-4](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(02)00005-4).

- [141] J. Kelder, P.D.J. Grootenhuis, D.M. Bayada, L.P.C. Delbressine, J.-P. Ploemen, Polar Molecular Surface as a Dominating Determinant for Oral Absorption and Brain Penetration of Drugs, *Pharm Res.* 16 (1999) 1514–1519. <https://doi.org/10.1023/A:1015040217741>.
- [142] O. Koszła, K.M. Targowska-Duda, E. Kędzierska, A.A. Kaczor, In Vitro and In Vivo Models for the Investigation of Potential Drugs Against Schizophrenia, *Biomolecules.* 10 (2020) E160. <https://doi.org/10.3390/biom10010160>.
- [143] R. Guha, On exploring structure-activity relationships, *Methods Mol Biol.* 993 (2013) 81–94. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-342-8\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-342-8_6).
- [144] R. Juza, I. Vojtechova, K. Stefkova-Mazochova, W. Dehaen, T. Petrasek, L. Prchal, T. Kobrlova, J. Janousek, P. Vlcek, E. Mezeiova, D. Svozil, J.Z. Karasova, J. Pejchal, H. Stark, G. Satala, A.J. Bojarski, M. Kubacka, S. Mogilski, A. Randakova, K. Musilek, O. Soukup, J. Korabecny, Novel D2/5-HT receptor modulators related to cariprazine with potential implication to schizophrenia treatment, *European Journal of Medicinal Chemistry.* 232 (2022) 114193. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114193>.
- [145] A.J. Thompson, Recent developments in 5-HT<sub>3</sub> receptor pharmacology, *Trends in Pharmacological Sciences.* 34 (2013) 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2012.12.002>.
- [146] R. Mahesh, R. Venkatesha Perumal, P. Vijaya Pandi, Microwave assisted synthesis of 2-(4-substituted piperazin-1-yl)-1,8-naphthyridine-3-carbonitrile as a new class of serotonin 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 14 (2004) 5179–5181. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.07.060>.
- [147] R. Mahesh, T. Devadoss, D.K. Pandey, S.K. Yadav, Quinoxalin-2-carboxamides: synthesis and pharmacological evaluation as serotonin type-3 (5-HT<sub>3</sub>) receptor antagonists, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry.* 26 (2011) 610–615. <https://doi.org/10.3109/14756366.2010.543419>.
- [148] A. Cappelli, M. Anzini, S. Vomero, L. Mennuni, F. Makovec, E. Doucet, M. Hamon, G. Bruni, M.R. Romeo, M.C. Menziani, P.G. De Benedetti, T. Langer, Novel Potent and Selective Central 5-HT<sub>3</sub> Receptor Ligands Provided with Different Intrinsic Efficacy. 1. Mapping the Central 5-HT<sub>3</sub> Receptor Binding Site by Arylpiperazine Derivatives, *J. Med. Chem.* 41 (1998) 728–741. <https://doi.org/10.1021/jm970645i>.
- [149] S. Löber, H. Hübner, N. Tschammer, P. Gmeiner, Recent advances in the search for D<sub>3</sub>- and D<sub>4</sub>-selective drugs: probes, models and candidates, *Trends in Pharmacological Sciences.* 32 (2011) 148–157. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2010.12.003>.
- [150] L. Bettinetti, K. Schlotter, H. Hübner, P. Gmeiner, Interactive SAR Studies: Rational Discovery of Super-Potent and Highly Selective Dopamine D<sub>3</sub> Receptor Antagonists and Partial Agonists, *J. Med. Chem.* 45 (2002) 4594–4597. <https://doi.org/10.1021/jm025558r>.
- [151] K. Ehrlich, A. Götz, S. Bollinger, N. Tschammer, L. Bettinetti, S. Härterich, H. Hübner, H. Lanig, P. Gmeiner, Dopamine D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, and D<sub>4</sub> Selective Phenylpiperazines as Molecular Probes To Explore the Origins of Subtype Specific Receptor Binding, *J. Med. Chem.* 52 (2009) 4923–4935. <https://doi.org/10.1021/jm900690y>.
- [152] A.H. Newman, T. Beuming, A.K. Banala, P. Donthamsetti, K. Pongetti, A. LaBounty, B. Levy, J. Cao, M. Michino, R.R. Luedtke, J.A. Javitch, L. Shi, Molecular Determinants of Selectivity and Efficacy at the Dopamine D<sub>3</sub> Receptor, *J Med Chem.* 55 (2012) 6689–6699. <https://doi.org/10.1021/jm300482h>.
- [153] S. Vangveravong, Z. Zhang, M. Taylor, M. Bearden, J. Xu, J. Cui, W. Wang, R.R. Luedtke, R.H. Mach, Synthesis and characterization of selective dopamine D<sub>2</sub> receptor ligands using aripiprazole as the lead compound, *Bioorg Med Chem.* 19 (2011) 3502–3511. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.04.021>.
- [154] B. Männel, D. Dengler, J. Shonberg, H. Hübner, D. Möller, P. Gmeiner, Hydroxy-Substituted Heteroarylpiperazines: Novel Scaffolds for  $\beta$ -Arrestin-Biased D<sub>2</sub>R Agonists, *J. Med. Chem.* 60 (2017) 4693–4713. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00363>.
- [155] C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings,

- Advanced Drug Delivery Reviews. 23 (1997) 3–25. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1).
- [156] R. Juza, K. Stefkova, W. Dehaen, A. Randakova, T. Petrasek, I. Vojtechova, T. Kobrlova, L. Pulkrabkova, L. Muckova, M. Mecava, L. Prchal, E. Mezeiova, K. Musilek, O. Soukup, J. Korabecny, Synthesis and In Vitro Evaluation of Novel Dopamine Receptor D2 3,4-dihydroquinolin-2(1H)-one Derivatives Related to Aripiprazole, *Biomolecules*. 11 (2021) 1262. <https://doi.org/10.3390/biom11091262>.
- [157] T.M. Dolak, Isoindolyl-alkyl-piperazines, US4585773A, 1986. <https://patents.google.com/patent/US4585773/en> (accessed February 17, 2021).
- [158] K. Takao, K. Toda, T. Saito, Y. Sugita, Synthesis of Amide and Ester Derivatives of Cinnamic Acid and Its Analogs: Evaluation of Their Free Radical Scavenging and Monoamine Oxidase and Cholinesterase Inhibitory Activities, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 65 (2017) 1020–1027. <https://doi.org/10.1248/cpb.c17-00416>.
- [159] C.E. Hendrick, S.L. McDonald, Q. Wang, Insertion of Arynes into N-Halo Bonds: A Direct Approach to o-Haloaminoarenes, *Org. Lett.* 15 (2013) 3444–3447. <https://doi.org/10.1021/ol401518c>.
- [160] R. Mahesh, V. Perumal, V. Pandey, Microwave-Assisted Solvent-Free Synthesis of 3-[(4-Substituted Piperazin-1-yl)alkyl] Imidazo[2,1-b][1,3]benzothiazol-2(3H)-ones as Serotonin<sub>3</sub> (5-HT<sub>3</sub>) Receptor Antagonists, *Die Pharmazie*. 60 (2005) 411–4. <https://doi.org/10.1002/chin.200539143>.
- [161] S. Paudel, S. Acharya, K.-M. Kim, S.H. Cheon, Design, synthesis, and biological evaluation of arylpiperazine–benzylpiperidines with dual serotonin and norepinephrine reuptake inhibitory activities, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 24 (2016) 2137–2145. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.03.044>.
- [162] L. Ravilla, N. Venkata Subba Naidu, K. Nagarajan, An efficient scale up process for synthesis of N-aryl piperazines, *Tetrahedron Letters*. 56 (2015) 4541–4544. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2015.06.003>.
- [163] K. Ishizumi, A. Kojima, F. Antoku, Synthesis and Anxiolytic Activity of N-Substituted Cyclic Imides (1R<sup>\*</sup>, 2S<sup>\*</sup>, 3R<sup>\*</sup>, 4S<sup>\*</sup>)-N-[4-[4-(2-Pyrimidinyl)-1-piperazinyl]butyl]-2, 3-bicyclo[2.2.1]heptanedicarboximide (Tandospirone) and Related Compounds, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 39 (1991) 2288–2300. <https://doi.org/10.1248/cpb.39.2288>.
- [164] S. Zhou, S. Yang, G. Huang, Design, synthesis and biological activity of pyrazinamide derivatives for anti-Myco bacterium tuberculosis, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 32 (2017) 1183–1186. <https://doi.org/10.1080/14756366.2017.1367774>.
- [165] Z. Sang, W. Pan, K. Wang, Q. Ma, L. Yu, W. Liu, Design, synthesis and biological evaluation of 3,4-dihydro-2(1H)-quinoline-O-alkylamine derivatives as new multipotent cholinesterase/monoamine oxidase inhibitors for the treatment of Alzheimer’s disease, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 25 (2017) 3006–3017. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.03.070>.
- [166] L. López, J. Selent, R. Ortega, C.F. Masaguer, E. Domínguez, F. Areias, J. Brea, M.I. Loza, F. Sanz, M. Pastor, Synthesis, 3D-QSAR, and Structural Modeling of Benzolactam Derivatives with Binding Affinity for the D2 and D3 Receptors, *ChemMedChem*. 5 (2010) 1300–1317. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201000101>.
- [167] C.J. Schmidt, S.M. Sorensen, J.H. Kenne, A.A. Carr, M.G. Palfreyman, The role of 5-HT<sub>2A</sub> receptors in antipsychotic activity, *Life Sciences*. 56 (1995) 2209–2222. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(95\)00210-W](https://doi.org/10.1016/0024-3205(95)00210-W).
- [168] Y. Ohno, Therapeutic Role of 5-HT<sub>1A</sub> Receptors in The Treatment of Schizophrenia and Parkinson’s Disease, *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 17 (2011) 58–65. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00211.x>.

- [169] K.M. Blattner, D.J. Canney, D.A. Pippin, B.E. Blass, Pharmacology and Therapeutic Potential of the 5-HT<sub>7</sub> Receptor, *ACS Chem. Neurosci.* 10 (2019) 89–119. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.8b00283>.
- [170] T. Kenakin, S. Jenkinson, C. Watson, Determining the Potency and Molecular Mechanism of Action of Insurmountable Antagonists, *J Pharmacol Exp Ther.* 319 (2006) 710–723. <https://doi.org/10.1124/jpet.106.107375>.
- [171] I. van Wijngaarden, D. Hamminga, R. van Hes, P.J. Standaar, J. Tipker, M.T.M. Tulp, F. Mol, B. Olivier, A. de Jonge, Development of high-affinity 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists. Structure-affinity relationships of novel 1,7-annulated indole derivatives. 1, *J. Med. Chem.* 36 (1993) 3693–3699. <https://doi.org/10.1021/jm00075a026>.
- [172] Y. Shen, F. Monsma, M. Metcalf, P. Jose, M. Hamblin, D. Sibley, Molecular cloning and expression of a 5-hydroxytryptamine<sub>7</sub> serotonin receptor subtype, *The Journal of Biological Chemistry.* 268 (1993) 18200–4. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)46830-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)46830-X).
- [173] A. Asagarasu, T. Matsui, H. Hayashi, S. Tamaoki, Y. Yamauchi, K. Minato, M. Sato, Discovery of a Novel 5-HT<sub>3</sub> Antagonist/5-HT<sub>1A</sub> Agonist 3-Amino-5,6,7,8-tetrahydro-2-[4-[4-(quinolin-2-yl)piperazin-1-yl]butyl]quinazolin-4(3H)-one (TZB-30878) as an Orally Bioavailable Agent for Irritable Bowel Syndrome, *J. Med. Chem.* 53 (2010) 7549–7563. <https://doi.org/10.1021/jm1002292>.
- [174] J.L. Martelle, M.A. Nader, A Review of the Discovery, Pharmacological Characterization, and Behavioral Effects of the Dopamine D<sub>2</sub>-Like Receptor Antagonist Eticlopride, *CNS Neurosci Ther.* 14 (2008) 248–262. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2008.00047.x>.
- [175] M. Niso, M.L. Pati, F. Berardi, C. Abate, Rigid versus flexible anilines or anilides confirm the bicyclic ring as the hydrophobic portion for optimal  $\sigma_2$  receptor binding and provide novel tools for the development of future  $\sigma_2$  receptor PET radiotracers, *RSC Adv.* 6 (2016) 88508–88518. <https://doi.org/10.1039/C6RA15783A>.
- [176] W. Shi, Y. Wang, C. Wu, F. Yang, W. Zheng, S. Wu, Y. Liu, Z. Wang, Y. He, J. Shen, Synthesis and biological investigation of triazolopyridinone derivatives as potential multireceptor atypical antipsychotics, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 30 (2020) 127027. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127027>.
- [177] B. Kiss, I. Laszlovszky, B. Krámos, A. Visegrády, A. Bobok, G. Lévy, B. Lendvai, V. Román, Neuronal Dopamine D<sub>3</sub> Receptors: Translational Implications for Preclinical Research and CNS Disorders, *Biomolecules.* 11 (2021) 104. <https://doi.org/10.3390/biom11010104>.
- [178] A. Hackling, R. Ghosh, S. Perachon, A. Mann, H.-D. Höltje, C.G. Wermuth, J.-C. Schwartz, W. Sippl, P. Sokoloff, H. Stark, N-( $\omega$ -(4-(2-Methoxyphenyl)piperazin-1-yl)alkyl)carboxamides as Dopamine D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> Receptor Ligands, *J. Med. Chem.* 46 (2003) 3883–3899. <https://doi.org/10.1021/jm030836n>.
- [179] P. John Murray, L.A. Harrison, M.R. Johnson, G.M. Robertson, D.I.C. Scopes, D.R. Bull, E.A. Graham, A.G. Hayes, G.J. Kilpatrick, I.D. Daas, C. Large, M.J. Sheehan, C.M. Stubbs, M.P. Turpin, A novel series of arylpiperazines with high affinity and selectivity for the dopamine D<sub>3</sub> receptor, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 5 (1995) 219–222. [https://doi.org/10.1016/0960-894X\(95\)00011-H](https://doi.org/10.1016/0960-894X(95)00011-H).
- [180] M. Pilla, S. Perachon, F. Sautel, F. Garrido, A. Mann, C.G. Wermuth, J.-C. Schwartz, B.J. Everitt, P. Sokoloff, Selective inhibition of cocaine-seeking behaviour by a partial dopamine D<sub>3</sub> receptor agonist, *Nature.* 400 (1999) 371–375. <https://doi.org/10.1038/22560>.
- [181] T.R. Belliotti, S.R. Kesten, J.R. Rubin, D.J. Wustrow, L.M. Georgic, K.T. Zoski, H.C. Akunne, L.D. Wise, Novel cyclohexyl amides as potent and selective D<sub>3</sub> dopamine receptor ligands, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 7 (1997) 2403–2408. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(97\)00443-5](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(97)00443-5).
- [182] R.J. Surawski, D.K. Quinn, Metoclopramide and Homicidal Ideation: A Case Report and Literature Review, *Psychosomatics.* 52 (2011) 403–409. <https://doi.org/10.1016/j.psym.2011.02.001>.

- [183] Y. Hirokawa, N. Yoshida, S. Kato, Synthesis of N-(1-ethyl-4-methylhexahydro-1,4-diazepin-6-yl)nicotinamides and their affinities for 5-HT<sub>3</sub> and dopamine D<sub>2</sub> receptors, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 8 (1998) 1551–1554. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(98\)00258-3](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(98)00258-3).
- [184] A.K. Ghosh, M. Brindisi, Urea Derivatives in Modern Drug Discovery and Medicinal Chemistry, *J. Med. Chem.* 63 (2020) 2751–2788. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01541>.
- [185] F.M. McRobb, I.T. Crosby, E. Yuriev, J.R. Lane, B. Capuano, Homobivalent Ligands of the Atypical Antipsychotic Clozapine: Design, Synthesis, and Pharmacological Evaluation, *J. Med. Chem.* 55 (2012) 1622–1634. <https://doi.org/10.1021/jm201420s>.
- [186] J. Kühhorn, H. Hübner, P. Gmeiner, Bivalent Dopamine D<sub>2</sub> Receptor Ligands: Synthesis and Binding Properties, *J. Med. Chem.* 54 (2011) 4896–4903. <https://doi.org/10.1021/jm2004859>.
- [187] J. Kühhorn, A. Götz, H. Hübner, D. Thompson, J. Whistler, P. Gmeiner, Development of a Bivalent Dopamine D<sub>2</sub> Receptor Agonist, *J. Med. Chem.* 54 (2011) 7911–7919. <https://doi.org/10.1021/jm2009919>.
- [188] D. Huber, S. Löber, H. Hübner, P. Gmeiner, Bivalent molecular probes for dopamine D<sub>2</sub>-like receptors, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 20 (2012) 455–466. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.10.063>.
- [189] M. Vendrell, D. Zhai, J.C. Er, Y.-T. Chang, Combinatorial Strategies in Fluorescent Probe Development, *Chem. Rev.* 112 (2012) 4391–4420. <https://doi.org/10.1021/cr200355j>.
- [190] L. Yuan, W. Lin, K. Zheng, L. He, W. Huang, Far-red to near infrared analyte-responsive fluorescent probes based on organic fluorophore platforms for fluorescence imaging, *Chem. Soc. Rev.* 42 (2012) 622–661. <https://doi.org/10.1039/C2CS35313J>.
- [191] M. Krzeszewski, D. Gryko, D.T. Gryko, The Tetraarylpyrrolo[3,2-b]pyrroles—From Serendipitous Discovery to Promising Heterocyclic Optoelectronic Materials, *Acc. Chem. Res.* 50 (2017) 2334–2345. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.7b00275>.
- [192] L.A. Tatum, X. Su, I. Aprahamian, Simple Hydrazone Building Blocks for Complicated Functional Materials, *Acc. Chem. Res.* 47 (2014) 2141–2149. <https://doi.org/10.1021/ar500111f>.
- [193] A.P. Demchenko, V.I. Tomin, P.-T. Chou, Breaking the Kasha Rule for More Efficient Photochemistry, *Chem. Rev.* 117 (2017) 13353–13381. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00110>.
- [194] C. Wang, M. Taki, Y. Sato, A. Fukazawa, T. Higashiyama, S. Yamaguchi, Super-Photostable Phosphole-Based Dye for Multiple-Acquisition Stimulated Emission Depletion Imaging, *J. Am. Chem. Soc.* 139 (2017) 10374–10381. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b04418>.
- [195] C. Yu, Z. Huang, X. Wang, W. Miao, Q. Wu, W.-Y. Wong, E. Hao, Y. Xiao, L. Jiao, A Family of Highly Fluorescent and Unsymmetric Bis(BF<sub>2</sub>) Chromophore Containing Both Pyrrole and N-Heteroarene Derivatives: BOPPY, *Org. Lett.* 20 (2018) 4462–4466. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.8b01752>.
- [196] M. Reuman, S. Beish, J. Davis, M.J. Batchelor, M.C. Hutchings, D.F.C. Moffat, P.J. Connolly, R.K. Russell, Scalable Synthesis of the VEGF-R2 Kinase Inhibitor JNJ-17029259 Using Ultrasound-Mediated Addition of MeLi–CeCl<sub>3</sub> to a Nitrile, *J. Org. Chem.* 73 (2008) 1121–1123. <https://doi.org/10.1021/jo7021372>.
- [197] C. Modrakowski, S. Flores, M. Beinhoff, A. Schlüter, Synthesis of Pyrene Containing Building Blocks for Dendrimer Synthesis, *Synthesis*. 2001 (2001) 2143–2155. <https://doi.org/10.1055/s-2001-18066>.
- [198] G. Dong, W. Chen, X. Wang, X. Yang, T. Xu, P. Wang, W. Zhang, Y. Rao, C. Miao, C. Sheng, Small Molecule Inhibitors Simultaneously Targeting Cancer Metabolism and Epigenetics: Discovery of Novel Nicotinamide Phosphoribosyltransferase (NAMPT) and Histone Deacetylase (HDAC) Dual Inhibitors, *J. Med. Chem.* 60 (2017) 7965–7983. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00467>.
- [199] J. Baldwin, E. McDonald, K. Moriarty, C. Sarko, N. Machinaga, A. Nakayama, J. Chiba, S. Iimura, Y. Yoneda, VLA-4 inhibitor compounds, US20030078249A1, 2003.

- <https://patents.google.com/patent/US20030078249A1/en?q=+US+2003%2f0078249+A1> (accessed February 4, 2022).
- [200] T. c/o S.C.L. Kimura, N. c/o S.C.L. Ohkawa, A. c/o S.C.L. Nakao, T. c/o S.C.L. Nagasaki, T. c/o S.C.L. Shimozato, Cyclic tertiary amine compound, EP1632488A1, 2006.  
<https://patents.google.com/patent/EP1632488A1/zh> (accessed February 4, 2022).
- [201] R.D. Youssefyeh, E. Magnien, T.D. Lee, W.K. Chan, C.J. Lin, R.A. Galemno, W.H. Johnson, J. Tan, H.F. Campbell, F.C. Huang, Development of a novel series of (2-quinolinylmethoxy)phenyl-containing compounds as high-affinity leukotriene receptor antagonists. 1. Initial structure-activity relationships, *J Med Chem.* 33 (1990) 1186–1194.  
<https://doi.org/10.1021/jm00166a016>.
- [202] H. Tian, H. Zhao, X. Cao, Catalytic transfer hydrogenation of 7-ketolithocholic acid to ursodeoxycholic acid with Raney nickel, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry.* 19 (2013) 606–613. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2012.09.021>.
- [203] S. Nishimura, S. Ikeda, M. Kinoshita, M. Kawashima, The Preparation of a Highly Active Raney Nickel Catalyst with Formation of a Recoverable Bayerite, *BCSJ.* 58 (1985) 391–392.  
<https://doi.org/10.1246/bcsj.58.391>.
- [204] T. Rosen, K.J. Guarino, Kinetically-controlled displacement by azide on an allylic chloride: Synthesis of a highly potent serotonin-3 receptor ligand prototype, *Tetrahedron.* 47 (1991) 5391–5400. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)80973-X](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)80973-X).
- [205] S. Chappellet, J.-F. Eckert, M. Ibn-Elhj, V. Kannookadan, F. Lincker, S. Palika, Q. Tang, E. Veenstra, Photoaligning materials, WO2013050122A1, 2013.  
<https://patents.google.com/patent/WO2013050122A1/en?q=WO+2013%2f050122+A1> (accessed February 4, 2022).
- [206] J.M. Khurana, S. Chauhan, G. Bansal, Facile Hydrolysis of Esters with KOH-Methanol at Ambient Temperature, *Monatshefte Für Chemie.* 135 (2004) 83–87. <https://doi.org/10.1007/s00706-003-0114-1>.
- [207] M.J. Marcisin, J.B. Rosenstock, J.M. Gannon, *Schizophrenia and Related Disorders*, Oxford University Press, n.d.  
<https://oxfordmedicine.com/view/10.1093/med/9780199331505.001.0001/med-9780199331505> (accessed January 5, 2021).
- [208] A.S. Brown, F.S. Lau, Chapter 2 - A Review of the Epidemiology of Schizophrenia, in: M.V. Pletnikov, J.L. Waddington (Eds.), *Handbook of Behavioral Neuroscience*, Elsevier, 2016: pp. 17–30. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800981-9.00002-X>.
- [209] P. Seeman, M. Chau-Wong, J. Tedesco, K. Wong, Brain receptors for antipsychotic drugs and dopamine: direct binding assays, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 72 (1975) 4376–4380.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.72.11.4376>.
- [210] I. Creese, D.R. Burt, S.H. Snyder, Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs, *Science.* 192 (1976) 481–483.  
<https://doi.org/10.1126/science.3854>.
- [211] W. Limapichat, W.Y. Yu, E. Branigan, H.A. Lester, D.A. Dougherty, Key Binding Interactions for Memantine in the NMDA Receptor, *ACS Chem Neurosci.* 4 (2012) 255–260.  
<https://doi.org/10.1021/cn300180a>.
- [212] M.R. Farlow, S.M. Graham, G. Alva, Memantine for the Treatment of Alzheimer’s Disease, *Drug Safety.* 31 (2008) 577–585. <https://doi.org/10.2165/00002018-200831070-00003>.
- [213] V. Zubar, A. Dewanji, M. Rueping, Chemoselective Hydrogenation of Nitroarenes Using an Air-Stable Base-Metal Catalyst, *Org. Lett.* 23 (2021) 2742–2747.  
<https://doi.org/10.1021/acs.orglett.1c00659>.