

ORIGINAL SCIENTIFIC PAPER

Sinteza, karakterizacija i ispitivanje antioksidativne aktivnosti estarskih i amidnih derivata 2,6-dimetil-4-supstituisane-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilne kiseline

Tamara Mijatović¹ | Milica Perić¹ | Luka Matović² | Marija Ristović² | Saša Drmanić³

¹Inovacioni Centar Mašinskog Fakulteta, Univerzitet u Beogradu, Kraljice Marije 16, 11120 Beograd, Srbija.

²Inovacioni Centar Tehnološko-Metalurškog fakulteta, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, 11070 Beograd, Srbija.

³Tehnološko-Metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, 11070 Beograd, Srbija.

Odgovorni Autor:

Milica Perić, Inovacioni Centar Mašinskog Fakulteta, Univerzitet u Beogradu, Kraljice Marije 16, 11120 Beograd, Srbija.

Email: milica.peric81@gmail.com

Ključne reči: 1,4-dihidropiridini, estri, amidi, antioksidativna aktivnost, DPPH, slobodni radikali.

Izvod

U ovom radu je izvršena sinteza šest estarskih derivata 2,6 dimetil-4-supstituisane-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilne kiseline: dietil-2,6-dimetil-4-fenil-1,4-dihidropiridin-3,5 dikarboksilata, dietil-2,6-dimetil-4-(3'-nitrofenil)-1,4 dihidropiridin-3,5-dikarboksilata, dietil-2,6-dimetil-4-(4' nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilata, dietil-4-(2'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilata, dietil-4-(3'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilata i dietil-4-(4'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilata.

Dobijena jedinjenja su zatim korišćena kao polazna za sintezu sledećih amida: 2,6-dimetil-4-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamida, 2,6-dimetil-4-(3'-nitrofenil)-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamida, 2,6-dimetil-4-(4'-nitrofenil)-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamida, 4-(2'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamida, 4-(3'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamida i 4-(4'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamida. Amidni derivati 2,6-dimetil-4-supstituisane-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilne kiseline su sintetisani u cilju utvrđivanja uticaja tipa i položaja supstituenta u molekulu na antioksidativnu aktivnost. Iz ove serije, najnižu vrednost IC₅₀, tj. najbolju antioksidativnu aktivnost je pokazao 4-(2'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamid, dok su zanemarljive vrednosti pokazali 2,6-dimetil-4-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamid i 2,6-dimetil-4-(3'-nitrofenil)-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamid. Ispitivanje antioksidativne aktivnosti je izvršeno merenjem sposobnosti jedinjenja da hvataju slobodne radikale primenom metode inhibicije pomoću DPPH (1,1-difenil-2-pikril-hidrazil) radikala. Sintetisana jedinjenja su okarakterisana temperaturom topljenja, elementalnom analizom i FT-IR spektroskopijom.

1. UVOD

Sinteza jedinjenja koja poseduju terapijska svojstva je oduvek bio izazov organske, a samim tim i medicinske i farmaceutske hemije. Shodno

tome, razna heterociklična jedinjenja su su se pokazala kao validna za strukturno modifikovanje u cilju pronalazanja optimalnih terapijskih agenasa u lečenju raznovrsnih tipova oboljenja (Datar & Auti, 2016). Derivati 1,4-dihidropiridina (1,4-DHP)

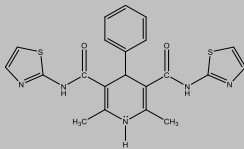
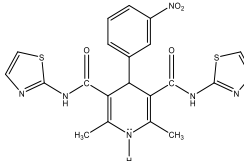
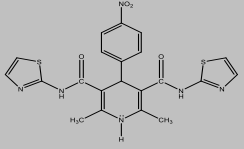
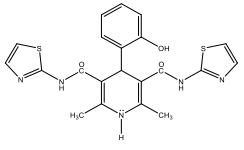
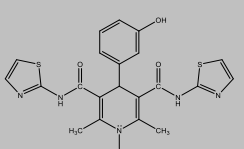
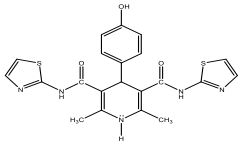
su poslednjih godina u jeku istraživanja, zbog njihove značajne biološke i farmakološke aktivnosti. Lekovi koji sadrže 1,4-DHP, kao što su nifedipin, nikardipin, amlodipin, felodipin i mnogi drugi, koriste se kao blokatori kalcijumovih kanala (antagonisti kalcijuma) i kao kardiovaskularni agensi za lečenje hipertenzije (Debache, et al., 2009). Antagonisti kalcijuma bazirani na 1,4-DHP se razmatraju i kao potencijalni lekovi za anginu pektoris (Godfraind, 2005). Pored ovih, derivati 1,4-DHP-a našli su još i primenu kao antihipertenzivi (Love, et al., 1974), kao antimikrobna, antiinflamatorna (Mutha, et al., 2013) i antitrombozna jedinjenja (Sunkel, et al., 1990) kao analgetici (Gullapalli, & Ramarao, 2002), itd. U cilju proučavanja antimikrobne i antikoagulantne aktivnosti derivata 1,4-DHP, Ahamed i saradnici (Ahamed, et al., 2018) sintetisali su 18 amida, kombinacijom različito supstituisanih 1,4-DHP i tri amina: amino-4-feniltiazola, 5-fenil-1,3,4-tiadiazol-2-amina i 5-fenil-1,3,4-oksadiazol-2-amina. Hlorfenil- i nitrofenil-supstituisani 1,4-DHP derivati su se pokazali kao potentni agensi protiv bakterija *Escherischia Coli* i *Candida Albicans*, respektivno. Hidroksifenil-supstituisano jedinjenje je pokazalo izuzetnu antikoagulantnu aktivnost u odnosu na referentni heparin. Tirzitis i sar. (Tirzitis, et al., 2001) su se bavili proučavanjem antioksidativne aktivnosti 2,6-dimetil-3,5-dialkoksikarbonil-1,4-dihidropiridina koji poseduju alkil lance različitih dužina u estarskoj grupi (CH₃-C₁₆H₃₃). Jedinjenja 2,6-dimetil-3,5-dibutiloksikarbonil-1,4-dihidropiridin i 2,6-dimetil-3,5-dietiloksikarbonil-1,4-dihidropiridin su pokazala visoku aktivnost u poređenju sa antioksidativnom aktivnošću troloksa i probukola koji su uzeti kao referentna jedinjenja. Na sličan način je ispitivana i serija derivata 5-acetil-2-alkiltio-4-aril-6-metil-1,4-dihidropiridin-nitrila karboksilne kiseline. Dokazano je da je jedinjenje sa dihidroksifenil grupom u *p*-položaju najaktivnije u poređenju sa standardnom antioksidativnom aktivnošću troloksa (Tirzite, et al., 2002). Kumar i sar. (Kumar, et al., 2010), proučili su antioksidativnu aktivnost *N*-aril-1,4-dihidropiridina. Sva jedinjenja su okarakterisana temperaturom topljenja, elementarnom analizom i FT-IR spektroskopijom i prikazana su Tabelama 1. i 2. Pokazano je da terc-butil estri 2-metil-1,4-difenil-1,4-dihidropiridin-3-karboksilne kiseline i 1-(4-hlorofenil)-2-metil-1,4-dihidropiridin-3-karboksilne kiseline pokazuju značajnu antioksidativnu aktivnost zbog prisustva terc-butil estarske grupe. U ovom radu, prikazana je sinteza i karakterizacija šest novih estarskih i amidnih derivata 2,6-dimetil-4-supstituisane-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilne

kiseline, radi određivanja uticaja supstituenta na antioksidativnu aktivnost.

Tabela 1. Prikaz sintetisanih 4-supstituisanih 1,4-DHP.

Oznaka jedinjenja	Naziv	Strukturna formula
1a	dietil-2,6-dimetil-4-fenil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat	
2a	dietil-2,6-dimetil-4-(3'-nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat	
3a	dietil-2,6-dimetil-4-(4'-nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat	
4a	dietil-4-(2'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat	
5a	dietil-4-(3'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat	
6a	dietil-4-(4'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat	

Tabela 2. Prikaz supstituisanih amidnih derivata 4-supstituisanih 1,4-DHP.

Oznaka jedinjenja	Naziv	Strukturna formula
1b	2,6-dimetil-4-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamid	
2b	2,6-dimetil-4-(3'-nitrofenil)-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamid	
3b	2,6-dimetil-4-(4'-nitrofenil)-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamid	
4b	4-(2'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamid	
5b	4-(3'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamid	
6b	4-(4'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiami d	

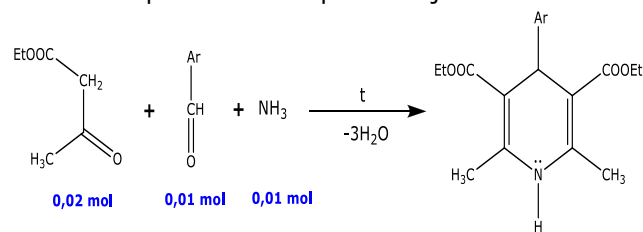
2. MATERIJALI I METODE

Sva jedinjenja korišćena u sintezi bila su čistoće p.a. (Acros Organics, Sigma-Aldrich, Fluka). Sintetisana jedinjenja su okarakterisana FT-IR sprektoskopijom. U okviru karakterizacije jedinjenja izvršena je i elementalna analiza i određivanje temperature topljenja. FT-IR spektri jedinjenja su snimljenina BOMEM (*Hartmann&Braun*) aparatu, MB serije, u obliku KBr peleta.

2.1. Sinteza estarskih i amidnih derivata 2,6-dimetil-4-supstituisane-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilne

2.1.1. Sinteza estarskih derivata 2,6-dimetil-4-supstituisane-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilne kiseline

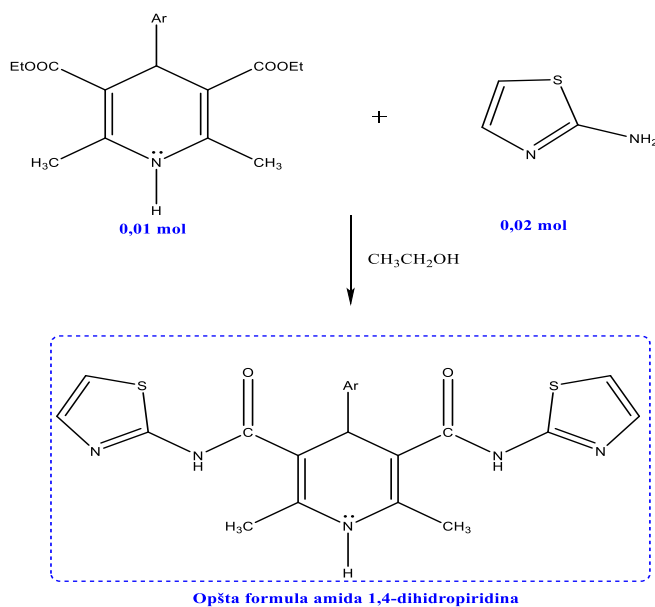
Svi estarski derivati 2,6-dimetil-4-supstituisane-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilne kiseline su dobijeni Hančovom (*Hantzsch*) sintezom. U balon sa okruglim dnom stavi se smeša 0,01 mol odgovarajućeg aldehida, 0,02 mol etil acetoacetata, 0,01 mol amonijaka i 20 ml metanola. Smeša se meša na uljanom kupatilu uz refluks oko 6 sati, a zatim izlije u čašu i meša na sobnoj temperaturi dok se ne ohladi. Nakon hlađenja, ostavi se preko noći, a zatim se proizvod procedi na vakuumu, a potom rekristališe iz metanola (*Debache, et al., 2009*). Shematski prikaz sinteze prikazan je na slici 1.



Slika 1. Shematski prikaz reakcije dobijanja estarski derivati 2,6-dimetil-4-supstituisane-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilne kiseline

2.1.2. Sinteza amidnih derivata 2,6-dimetil-4-supstituisane-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilne kiseline

Smeša 0,3 mol 1,4-dihidropiridina i 0,02 mol 2-aminotiazola se rastvori u određenoj zapremini etanola, a zatim drži 5 minuta u ultrazvučnom kupatilu. Reakciona smeša se ostavi da odstoji neko vreme, a zatim se ispira destilovanom vodom i rekristališe etil-acetatom da bi se dobio čist proizvod (*Ahamed, et al., 2018*). Reakcija dobijanja amida 4-supstituisanih 1,4-dihidropiridina je prikazana na Slici 2.



Slika 2. Shematski prikaz sinteze amidnih derivata 2,6-dimetil-4-supstisuane-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilne kiseline

2.2. Priprema uzoraka za ispitivanje antioksidativne aktivnosti

Sposobnost doniranja protona je testirana protokolom za određivanje aktivnosti neutralizacije radikala. Supstance su rastvorene u DMSO-u, a zatim razblažene u deset različitih koncentracija. Komercijalno dostupan DPPH radikal (Fluka Chemie AG Buchs) je rastvoren u metanolu u koncentraciji od $6,58 \cdot 10^{-5}$ M. U mikrotitar ploču sa 96 bunarčića, 140 μ L DPPH rastvora je uliveno 110 μ L DMSO rastvora testiranih supstanci, kao i čist DMSO (10 μ L) kao kontrola. Mikrotitar je ostavljen u mraku 30 min na sobnoj temperaturi. Nakon toga je merena apsorbancija na 517 nm korišćenjem *Thermo Scientific Appliskan (TS Labor)* spektrofotometra. Sva merenja su urađena tri puta. Inhibicija je izračunata na osnovu Formule 1 (Okoh, et al., 2014; Garcia, et al., 2012; Zheleva-Dimitrova et al., 2010).

$$\text{Inhibicija}(\%) = \left(\frac{A_{\text{kontrola}} - A_{\text{uzorak}}}{A_{\text{kontrola}}} \right) \times 100 \quad (1)$$

IC₅₀ je izračunata za sve supstance na osnovu procenata neutralisanog DPPH radikala. Askorbinska kiselina je korišćena kao referentna supstanca (pozitivna kontrola) u koncentracijama od 50 do 500 mg/ml.

3. REZULTATI I DISKUSIJA

3.1. FT-IR analiza estarskih i amidnih derivata 2,6-dimetil-4-supstisuane-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilne kiseline

Diethyl-2,6-dimetil-4-fenil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat (1a)

Prinos: 72%. Temperatura topljenja: 157 °C. C₁₉H₂₂NO₄ (M_w=329,40 g/mol); Elementalna analiza (%): C, 69,28; H, 7,04; N, 4,25; O, 19,43, nađeno: C, 69,30; H, 7,02; N, 4,20; O, 19,48. FT-IR(KBr, cm⁻¹) ν_{max} : 3339,60 (N-H), 3033,27 (Ar-H), 2981,98 (C-H), 1685,90 (C=O), 827,13 (Ar-H);

Diethyl-2,6-dimetil-4-(3'-nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat (2a)

Prinos: 52%. Temperatura topljenja: 163 °C. C₁₉H₂₂N₂O₆ (M_w=374,39 g/mol); Elementalna analiza (%): C, 60,95; H, 5,92; N, 7,48; O, 25,65, nađeno: C, 60,90; H, 5,97; N, 7,50; O, 25,63; FT-IR(KBr, cm⁻¹) ν_{max} : 3342,76 (N-H), 3102,27 (Ar-H), 2990,79 (C-H), 1703,28 (C=O), 1643,16 (C-NO₂), 826,35 (Ar-H);

Diethyl-2,6-dimetil-4-(4'-nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilata (3a)

Prinos: 84%. Temperatura topljenja: 120 °C. C₁₉H₂₂N₂O₆ (M_w=374,39 g/mol); Elementalna analiza (%): C, 60,95; H, 5,92; N, 7,48; O, 25,65, nađeno: C, 60,88; H, 5,99; N, 7,45; O, 25,68. FT-IR (KBr, cm⁻¹) ν_{max} : 3316,31 (N-H), 3100,27 (Ar-H), 2978,05 (C-H), 1699,76 (C=O), 1644,22 (C-NO₂), 823,29 (Ar-H);

Diethyl-4-(2'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat (4a)

Prinos: 73%. Temperatura topljenja: 297 °C. C₁₉H₂₃NO₅ (M_w=345,16 g/mol); Elementalna analiza (%): C, 66,07; H, 6,71; N, 4,06; O, 23,16, nađeno: C, 66,01; H, 6,77; N, 4,00; O, 23,22; FT-IR(KBr, cm⁻¹) ν_{max} : 3341,52 (N-H), 3027,11 (Ar-H), 2991,97 (C-H), 1720,79 (C=O), 1452,79 (C-OH), 809,15 (Ar-H);

Dietil-4-(3'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat (5a)

Prinos: 53%. Temperatura topljenja: 184 °C. C₁₉H₂₃NO₅ (M_w=345,16 g/mol); Elementalna analiza (%): C, 66,07; H, 6,71; N, 4,06; O, 23,16, nađeno: C, 66,00; H, 6,78; N, 4,09; O, 23,13; FT-IR(KBr, cm⁻¹) ν_{\max} : 3348,23 (N-H), 3027,11 (Ar-H vibracija), 2978,54 (C-H), 1702,04 (C=O), 1443,47 (C-OH), 818,27 (Ar-H);

Dietil-4-(4'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilata (6a)

Prinos: 81%. Temperatura topljenja: 230 °C. C₁₉H₂₃NO₅ (M_w=345,16 g/mol); Elementalna analiza: C, 66,07; H, 6,71; N, 4,06; O, 23,16, nađeno: C, 66,10; H, 6,68; N, 4,05; O, 23,17; FT-IR(KBr, cm⁻¹) ν_{\max} : 3341,89 (N-H), 3107,12 (Ar-H), 2988,47 (C-H), 1701,75 (C=O), 1485,22 (C-OH), 826,31 (Ar-H);

2,6-Dimetil-4-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamid (1b)

Prinos: 72%. Temperatura topljenja: 124 °C. C₂₁H₁₉N₅O₂S₂ (M_w=437,54 g/mol); Elementalna analiza (%): C, 57,65; H, 4,38; N, 16,01; O, 7,31; S, 14,65, nađeno: C, 55,65; H, 4,38; N, 18,01; O, 7,01; S, 14,95; FT-IR(KBr, cm⁻¹) ν_{\max} : 3339,34(N-H), 1649,04 (HNCO), 737,54 (C-S-C), 1486,63 (C=N) i 3085,82 (C-H arom.);

2,6-Dimetil-4-(3'-nitrofenil)-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamid (2b)

Prinos: 52%. Temperatura topljenja: 128 °C. C₂₁H₁₈N₆O₄S₂ (M_w=482,53 g/mol); Elementalna analiza (%): C, 52,27; H, 3,76; N, 17,42; O, 13,26; S, 13,29, nađeno: C, 52,00; H, 4,03; N, 17,01; O, 13,76; S, 13,20; FT-IR(KBr, cm⁻¹) ν_{\max} : 3180,01 (N-H), 1643,61 (HNCO), 740,59 (C-S-C), 1484,01 (C=N) i 3074,47 (C-H arom.).

2,6-Dimetil-4-(4'-nitrofenil)-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamid (3b)

Prinos: 84%. Temperatura topljenja: 105 °C. C₂₁H₁₈N₆O₄S₂ (M_w=482,53 g/mol); Elementalna analiza (%): C, 52,27; H, 3,76; N, 17,42; O, 13,26; S, 13,29 %. Nađeno: C, 53,27; H, 2,76; N, 17,72; O, 13,26; S, 12,99 %. IR (KBr, cm⁻¹) ν_{\max} : 3104,06 (N-H), 1643,97 (HNCO), 746,11 (C-S-C), 1483,35 (C=N) i 2978,34 (C-H arom.);

4-(2'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamid (4b)

Prinos: 73%. Temperatura topljenja: 251 °C. C₂₁H₁₉N₅O₃S₂ (M_w=453,54 g/mol); Elementalna analiza (%): C, 55,61; H, 4,22; N, 15,44; O, 10,58; S, 14,14, nađeno: C, 54,21; H, 5,62; N, 15,48; O, 10,59; S, 14,10; FT-IR(KBr, cm⁻¹) ν_{\max} : 3144,35 (N-H), 1606,77 (HNCO), 740,46 (C-S-C), 1452,53 (C=N) i 3049,71 (C-H arom.);

4-(3'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamid (5b)

Prinos: 53%. Temperatura topljenja: 141 °C. C₂₁H₁₉N₅O₃S₂ (M_w=453,54 g/mol); Elementalna analiza (%): C, 55,61; H, 4,22; N, 15,44; O, 10,58; S, 14,14, nađeno: C, 54,25; H, 5,59; N, 15,50; O, 10,57; S, 14,09; FT-IR(KBr, cm⁻¹) ν_{\max} : 3348,94 (N-H), 1647,21 (HNCO), 736,52 (C-S-C), 1479,70 (C=N) i 3085,57 (C-H arom.);

4-(4'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamid (6b)

Prinos: 81%. Temperatura topljenja: 164 °C. C₂₁H₁₉N₅O₃S₂ (M_w=453,54 g/mol); Elementalna analiza (%): C, 55,61; H, 4,22; N, 15,44; O, 10,58; S, 14,14, nađeno: C, 53,21; H, 6,62; N, 15,57; O, 10,45; S, 14,15; FT-IR (KBr, cm⁻¹) ν_{\max} : 3343,03 (N-H), 1655,40 (HNCO), 739,38 (C-S-C), 1485,29 (C=N) i 3074,12 (C-H arom.).

3.2. Određivanje antioksidativne aktivnosti

Prema eksperimentalno određenim vrednostima IC₅₀ (Tabela 3), od šest analiziranih amida 2,6-dimetil-4-supstisusane-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilne kiseline, antioksidativnu aktivnost poseduju hidroksifenil-supstisusana jedinjenja, kao i jedinjenje koje u svojoj strukturi sadrži -NO₂ grupu u *p*-položaju.

Jedinjenje **4b** pokazuje najveću antioksidativnu aktivnost. tj. najnižu vrednost koncentracije koja je potrebna za inhibiranje 50% DPPH radikala. Pretpostavlja se da primaran značaj na njegovu aktivnost ima upravo prisustvo -OH grupe i njen položaj. Ostala dva hidroksifenil-supstisusana jedinjenja **5b** i **6b** pokazuju nešto veću vrednost IC₅₀, odnosno slabiju antioksidativnu aktivnost. Pored toga, primećuje se slabija antioksidativna aktivnost jedinjenja **6b** u odnosu na jedinjenje **5b**, na osnovu čega je uočeno da pomeranje -OH grupe duž benzenovog jezgra, tj. njegovo udaljšavanje od bočnog niza utiče na

smanjenje antioksidativne aktivnosti. Od sintetisanih amidnih derivata koji sadrže $-NO_2$ grupu kao supstituent, jedinjenje **3b** je pokazalo relativno visoke vrednosti IC_{50} , dok jedinjenje **2b** ne poseduje sposobnost neutralizacije ili generisanja slobodnog radikala pri interakciji sa slobodnim DPPH radikalom, tj. ne pokazuje svojstvo antioksidativne aktivnosti. Jedinjenje **1b** je pokazalo zanemarljivu antioksidativnu aktivnost.

Tabela 3. Eksperimentalno određene vrednosti IC_{50} sintetisanih amidnih derivata 2,6-dimetil-4 supstituisane-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilne kiseline

Jedinjenje	IC_{50} , [mmol]
1b	-
2b	-
3b	1,848
4b	0,578
5b	1,640
6b	1,377

4. ZAKLJUČAK

U okviru ovog rada je izvršena sinteza šest estarskih derivata 2,6-dimetil-4-supstituisane-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilne kiseline: dietil-2,6-dimetil-4-fenil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilata, dietil-2,6-dimetil-4-(3'-nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilata, dietil-2,6-dimetil-4-(4'-nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilata, dietil-4-(2'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilata, dietil-4-(3'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilata i dietil-4-(4'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilata. Navedena jedinjenja su zatim korišćena za dobijanje sledećih amidnih derivata: 2,6-dimetil-4-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamida, 2,6-dimetil-4-(3'-nitrofenil)-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamida, 2,6-dimetil-4-(4'-nitrofenil)-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamida, 4-(2'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamida, 4-(3'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamida i 4-(4'-hidroksifenil)-2,6-dimetil-N3,N5-di(tiazol-2-il)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksiamida. Sintetisana jedinjenja su okarakterisana primenom FT-IR spektroskopske metode, a izvršeno je i merenje temperature topljenja i elementalna analiza. Na osnovu sprovedenog ispitivanja antioksidativne aktivnosti, primenom DPPH metode, utvrđeno je da neki od sintetisanih amida 2,6-dimetil-4-supstituisane-1,4-

dihidropiridin-3,5 dikarboksilne kiseline poseduju izvesnu antioksidativnu sposobnost. Najbolju antioksidativnu aktivnost su pokazala hidroksifenil-supstituisana jedinjenja, pri čemu se na osnovu malih razlika između njihovih IC_{50} primećuje uticaj položaja $-OH$ grupe u benzenovom jezgru, što je detaljnije objašnjeno u eksperimentalnom delu rada. *p*-Nitrofenil-supstituisano jedinjenje poseduju veću vrednost IC_{50} , tj. slabiju antioksidativnu aktivnost. Odsustvo antioksidativne aktivnosti pokazao je amid koji kao supstituent poseduje samo benzenov prsten i *m*-nitrofenil-susptituisani amid.

REFERENCES

- Ahamed A., Arif I. A., Mateen M., Kumar S. R. & A. Idhayadhulla A. (2018), Antimicrobial, anticoagulant, and cytotoxic evaluation of multidrug resistance of new 1,4-dihydropyridine derivatives. *Saudi J. Biol. Sci.*, 25(6), 1227-1235.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.03.001>
- Datar P. A. & Auti P. B. (2016), Design and synthesis of novel 4-substituted 1,4-dihydropyridine derivatives as hypotensive agents. *Journal of Saudi Chemical Society*, 20(5), 510-516.
<https://doi.org/10.1016/j.jscs.2012.08.003>
- Debache A., Ghalem W., Boulcina R., Belfaitah A., Rhouati S. & Carboni B. (2009), An efficient one-step synthesis of 1,4-dihydropyridines via a triphenylphosphine-catalyzed three-component Hantzsch reaction under mild conditions. *Tetrahedron Lett.*, 50(37), 5248-5250.
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2009.07.018>
- Garcia E. J., Oldoni T. L. C., Alencar S. M., Reis A., Loguercio A. D. & Grande R. H. M. (2012), Antioxidant Activity by DPPH Assay of Potential Solutions to be Applied on Bleached Teeth. *Braz Dent J.* 23(1).
<https://doi.org/10.1590/S01036440201200010004>
- Godfraind, T. (2005), Antioxidant effects and the therapeutic mode of action of calcium channel blockers in hypertension and atherosclerosis. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.*, 360(1464), 2259-2272
<https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1774>
- Gullapalli, S. & Ramarao, P. (2002), L-type Ca^{2+} channel modulation by dihydropyridines potentiates kappa-opioid receptor agonist induced acute analgesia and inhibits development of tolerance in rats. *Neuropharmacology* 42(4), 467-475.

- [https://doi.org/10.1016/S00283908\(01\)00200-3](https://doi.org/10.1016/S00283908(01)00200-3)
- Kumar A., Maurya R. A., Sharma S., Kumar M. & Bhatia G. (2010), Synthesis and biological evaluation of N-aryl-1,4-dihydropyridines as novel antidyslipidemic and antioxidant agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 45(2), 501–509. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.10.036>
- Love B., Goodman M., Snader K., Tedeschi R. & Macko E. (1974), Hantzsch-type dihydropyridine hypertensive agent. *J. Med. Chem.* 17(9), 956–965. <https://doi.org/10.1021/jm00255a010>
- Mutha M., Antre R., Baheti K. & More P. (2013), study of Structure Based Drug Design for 1,4-Dihydropyridine derivatives as Cox-II Inhibitors. *J. Biol. Sci* 13(6), 545-549. <https://doi.org/10.3923/jbs.2013>
- Okoh S. O., Asekun O. T., Familioni O. B. & Afolayan A. J (2014), Antioxidant and Free Radical Scavenging Capacity of Seed and Shell Essential Oils Ectracted from *Abrus precatorius* (L), *Antioxidants*, 3(2), 278-287. <https://doi.org/10.3390/antox3020278>
- Sunkel C. E., Juana M. F. & Santos L. (1990), 4-alkyl-1,4-dihydropyridines as specific PAF-acether antagonists. *J. Med. Chem.* 33(12), 3205–3210. <https://doi.org/10.1021/jm00174a017>
- Tirzitis G., Tiryite D. & Hyvonen Z. (2001), Antioxidant activity of 2,6-dimethyl- 3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydropyridines in Metal-Ion Catalyzed Lipid Peroxidation. *Sci, Czech J Food*, 19(3), pp. 81–84. <https://doi.org/10.17221/6581-CJFS>
- Tirzite D., Krauze A., Zubareva A., Tirzitis G. & Duburs G. (2002), Synthesis and antiradical activity of 5-acetyl-2-alkylthio-4-aryl-6-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylic acid nitriles. *Chem. Heterocycl. Compd.* 38(7), 795–800. <https://doi.org/10.1023/A:1020625519073>
- Zheleva-Dimitrova D., Nedialkov P. & Kitanov G. (2010), Radical scavenging and antioxidant activities of methanolic extract from *Hypericum* species growing in Bulgaria. *Pharmacognosy magazine*, 6(22), 74-78. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.62889>

Synthesis, characterization and antioxidative assay of ester and amide derivatives of 2,6-dimethyl-4-(substituted)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylic acid

ABSTRACT

Six ester and amide derivatives of 2,6-dimethyl-4-(substituted)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylic acid have been synthesized in this paper, including: diethyl 2,6-dimethyl-4-phenyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate, diethyl 2,6-dimethyl-4-(3-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate, diethyl 2,6-dimethyl-4-(4-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate, diethyl 4-(2-hydroxyphenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate, diethyl 4-(3-hydroxyphenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate and diethyl 4-(4-hydroxyphenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate.

Obtained ester derivatives were used afterwards as a starting compounds for synthesis of amide derivatives, including: 2,6-dimethyl-4-phenyl-*N*3,*N*5-di(thiazol-2-yl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxamide, 2,6-dimethyl-4-(3-nitrophenyl)-*N*3,*N*5-di(thiazol-2-yl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxamide, 2,6-dimethyl-4-(4-nitrophenyl)-*N*3,*N*5-di(thiazol-2-yl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxamide, 4-(2-hydroxyphenyl)-2,6-dimethyl-*N*3,*N*5-di(thiazol-2-yl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxamide, 4-(3-hydroxyphenyl)-2,6-dimethyl-*N*3,*N*5-di(thiazol-2-yl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxamide and 4-(4-hydroxyphenyl)-2,6-dimethyl-*N*3,*N*5-di(thiazol-2-yl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxamide.

Obtained compounds were characterized by melting point, elementary analysis and FT-IR spectroscopy.

In order to determine the effect of the substituent, the antioxidative activity assay of obtained 1,4-dihydropyridines was performed by using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) free radical scavenging method.

Keywords: 1,4-dihydropyridines, esters, amides, antioxidative activity, DPPH, free radicals