

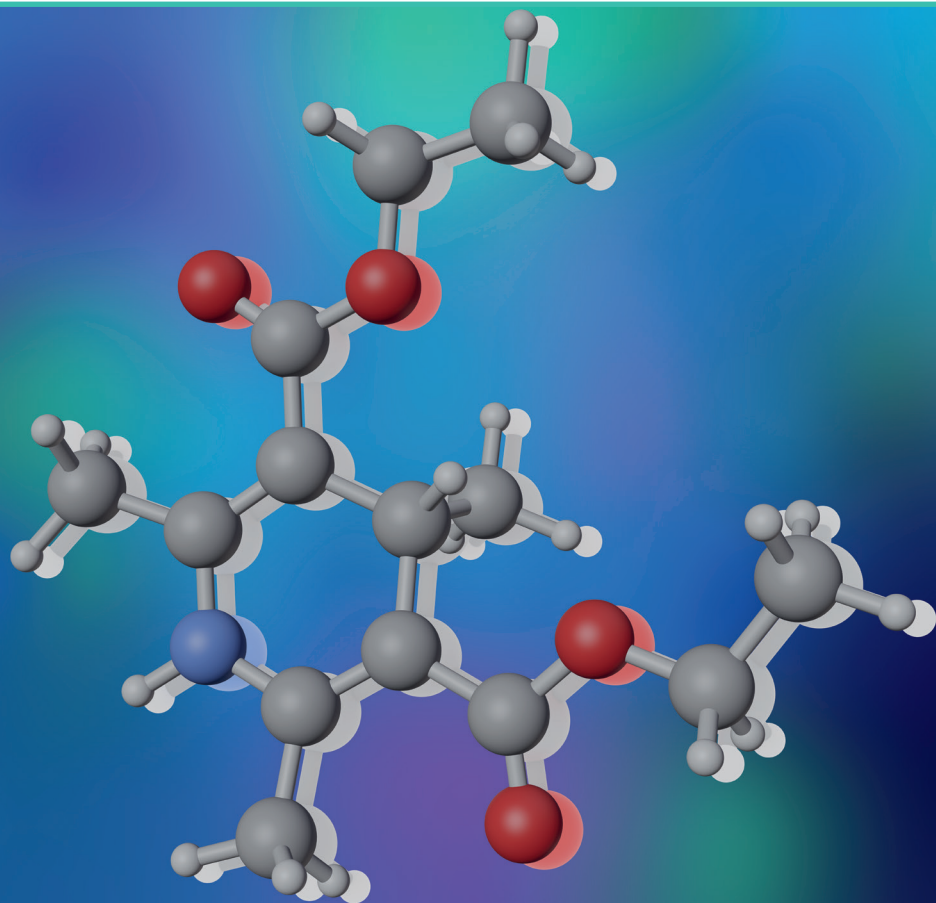


RĪGAS TEHNISKĀ  
UNIVERSITĀTE

**Ruslans Muhamadejevs**

# 1,4-DIHIDROPIRIDĪNA ATVASINĀJUMU FIZIKĀLI-ĶĪMISKĀ UN *IN SILICO* IZPĒTE

Promocijas darba kopsavilkums



# RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE

Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte

Lietišķās ķīmijas institūts

**Ruslans Muhamadejevs**

Doktora studiju programmas “Ķīmija” doktorants

## **1,4-DIHIDROPIRIDĪNA ATVASINĀJUMU FIZIKĀLI-ĶĪMISKĀ UN *IN SILICO* IZPĒTE**

**Promocijas darba kopsavilkums**

Zinātniskie vadītāji:

*Dr. chem.* MARINA PETROVA,

asociētā profesore *Dr. chem.* MĀRA PLOTNIECE,

profesors *Dr. habil. chem.* EDVARDŠ LIEPIŅŠ,

profesors *Dr. habil. chem.* VALDIS KAMPARS

RTU Izdevniecība

Rīga 2023

Muhamadejevs, R. 1,4-Dihidropiridīna atvasinājumu fizikāli-ķīmiskā un *in silico* izpēte. Promocijas darba kopsavilkums. Rīga: RTU Izdevniecība, 2023. 42 lpp.

Iespiests saskaņā ar RTU promocijas padomes "RTU P-01" 2023. gada 23. marta lēmumu, protokols Nr. 04030-9.1/42.



**Latvijas  
Organiskās  
sintēzes  
institūts**



**RTU  
MATERIĀLZINĀTNES  
UN LIETIŠĶĀS ĶĪMIJAS  
FAKULTĀTE**

Vāka attēla autors – Ruslans Muhamadejevs

<https://doi.org/10.7250/9789934229145>

ISBN 978-9934-22-914-5 (pdf)

# PROMOCIJAS DARBS IZVIRZĪTS ZINĀTNES DOKTORA GRĀDA IEGŪŠANAI RĪGAS TEHNISKAJĀ UNIVERSITĀTĒ

Promocijas darbs zinātnes doktora (*Ph. D.*) grāda iegūšanai tiek publiski aizstāvēts 2023. gada 19. jūnijā plkst. 14.00 Rīgas Tehniskās universitātes Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultātē, Paula Valdena ielā 3, 272. auditorijā.

## OFICIĀLIE RECENZENTI:

Vadošais pētnieks *Dr. chem.* Artis Kinēns,  
Latvijas Organiskās sintēzes institūts, Latvija

Asociētais profesors *Dr. chem.* Agris Bērziņš,  
Latvijas Universitāte, Latvija

Asociētais profesors *Dr. chem.* Raivis Žalubovskis,  
Rīgas Tehniskā universitāte

## APSTIPRINĀJUMS

Apstiprinu, ka esmu izstrādājis šo promocijas darbu, kas iesniegts izskatīšanai Rīgas Tehniskajā universitātē zinātnes doktora (*Ph. D.*) grāda iegūšanai. Promocijas darbs zinātniskā grāda iegūšanai nav iesniegts nevienā citā universitātē.

Ruslans Muhamadejevs..... (paraksts)

Datums: .....

Promocijas darbs uzrakstīts latviešu valodā, tajā ir ievads, trīs nodaļas, secinājumi, literatūras saraksts un pielikumi, 78 attēli, 21 tabula, četri pielikumi, kopā 145 lpp. Literatūras sarakstā ir 328 atsauces uz literatūras avotiem.

## ANOTĀCIJA

**Atslēgvārdi:** 1,4-dihidropiridīna atvasinājumi, kvantu ķīmiskie aprēķini, iekšmolekulārā ūdeņraža saite, izotermālā titrēšanas kalorimetrija, H/D izotopa efekti, kodolu magnētiskā rezonanses spektroskopija, bromēšana, *N*-bromsukcinimīds.

Promocijas darbs “1,4-Dihidropiridīna atvasinājumu fizikāli-ķīmiskā un *in silico* izpēte” ir veltīts 1,4-dihidropiridīna atvasinājumu pētījumiem ar kodolu magnētiskās rezonanses spektroskopijas, Furjē transformācijas infrasarkanās spektroskopijas, izotermālo titrēšanas kalorimetrijas un citām fizikāli-ķīmiskajām metodēm, kā arī kvantu ķīmiskajiem aprēķiniem. Promocijas darbā ir ievads, literatūras apskats, rezultātu izvērtējums, eksperimentālā daļa, secinājumi, izmantotās literatūras saraksts un pielikumi.

Bromējot 2,6-dimetil-1,4-dihidropiridīna (1,4-DHP) atvasinājumus ar *N*-bromsukcinimīdu (NBS), identificēti līdz šim neaprašīti reakcijas starpprodukti, kas pastāv tikai reakcijas šķīdumā un kuru eksistenci var pierādīt tikai ar daudzkodolu ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  un  $^{15}\text{N}$ ) KMR spektroskopijas palīdzību.

Ar dinamisko  $^1\text{H}$  KMR spektroskopijas metodi atklāta 1,4-DHP cikla 2. un 6. metilēngrupu AB sistēmas neparasta protonu diastereotopijas atkarība no temperatūras.

Pirmo reizi ar daudzkodolu KMR un IS spektroskopijas eksperimentiem dažiem 1,4-DHP atvasinājumiem noteikta anomāla  $|\text{N-H}|$  saites saīsināšanās iekšmolekulārai  $|\text{N-H}| \cdots \text{O}$  ūdeņraža saitei.

Ar izotermālās titrēšanas kalorimetrijas, kā arī KMR spektroskopijas metodēm raksturota 5'-mononukleotīdu monofosfātu (kā prozāļu modelis) saistība ar lipīdveida 1,4-DHP atvasinājumiem, kas satur garas alkilķēdes cikla esteru grupējumos (kā potenciālas gēnu transfekcijas sistēmu kandidātu molekulas).

Promocijas darbs uzrakstīts latviešu valodā, tā apjoms ir 145 lpp. Darbā ir 78 attēli, 21 tabula, 328 izmantotie literatūras avoti.

## PATEICĪBAS

Vislielākais paldies promocijas darba vadītājiem *Dr. chem.* Marinai Petrovai, *Dr. hab. chem.* Edvardam Liepiņam, *Dr. chem.* Mārai Plotniecei un *Dr. hab. chem.* Valdim Kamparam par zinātniskajām idejām, atsaucību, pacietību, atbalstu un ieguldījumu promocijas darba izstrādes gaitā!

Īpašs paldies *Dr. chem.* Laurai Krasnovai, *Dr. chem.* Brigitai Vīgantei, *Dr. chem.* Aivai Plotniecei, *Dr. chem.* Brigitai Čekavičus, *Dr. chem.* Arkādijam Soboļevam, *Dr. chem.* Kārlim Pajustem, *Dr. chem.* Gunāram Duburam un citiem Latvijas Organiskās sintēzes institūta Membrānaktīvo savienojumu un  $\beta$ -diketonu laboratorijas līdzstrādniekiem par sintezētajiem savienojumiem, zinātniskajām idejām un diskusijām!

Liels paldies *Dr. chem.* Jurim Popelīm par nozīmīgu palīdzību darba gaitā un Latvijas Organiskās sintēzes institūta Fizikāli organiskās ķīmijas laboratorijas vadītājam *Dr. chem.* Kristapam Jaudzemam par atbalstu!

Sirsnīgs paldies manai ģimenei par pacietību un atbalstu promocijas darba izstrādāšanas laikā!

# SATURS

LIETOTIE SAĪSINĀJUMI .....	7
PROMOCIJAS DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS.....	8
Ievads .....	8
Promocijas darba mērķis un galvenie uzdevumi.....	8
Promocijas darba zinātniskā nozīme un novitāte .....	9
Promocijas darba praktiskā nozīme.....	9
Aizstāvamās tēzes .....	9
Promocijas darba aprobācija un publikācijas .....	10
PROMOCIJAS DARBA GALVENIE REZULTĀTI.....	12
1. 1,4-DHP 2. un 6. pozīciju metilgrupu bromēšana ar NBS .....	12
1.1. 1,4-DHP atvasinājuma 1a bromēšanas reakcija ar vienu NBS ekvivalentu.....	13
1.2. 1,4-DHP atvasinājuma 1a bromēšanas reakcija ar diviem ekvivalentiem NBS ...	14
1.3. 1,4-DHP atvasinājumu 1a bromēšanas ar NBS reakcijas kinētika.....	16
2. 2. un 6. pozīcijās aizvietoto 1,4-DHP atvasinājumu strukturālās īpašības.....	18
2.1. 1,4-DHP atvasinājumi ar $ \text{C-H} \cdots\text{O}=\text{C}$ tipa iekšmolekulārām ūdeņraža saitēm ...	19
2.2. 1,4-DHP atvasinājumi ar $ \text{N-H} \cdots\text{O}=\text{C}$ tipa iekšmolekulārām ūdeņraža saitēm ...	23
3. Katjonu lipīdi uz 1,4-DHP atvasinājumu bāzes un to saistīšanās ar mononukleotīdiem.....	28
3.1. Katjonu amfifilio lipīdiem līdzīgo 1,4-DHP atvasinājumu pašagregācijas pētījumi .....	29
3.2. RNS 5'-mononukleotīdu saistība ar 1,4-DHP atvasinājumiem, $^1\text{H}$ KMR titrēšana.....	31
3.3. RNS 5'-mononukleotīdu saistība ar 1,4-DHP atvasinājumiem, $^1\text{H}$ KMR un ITK pētījumu salīdzinājums .....	32
3.4. RNS 5'-mononukleotīdu kompleksu un dažū 1,4-DHP atvasinājumu kompleksu veidošanās salīdzinājums.....	33
SECINĀJUMI .....	36
LITERATŪRAS SARAKSTS .....	38

## LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

AMF	adenozīna 5'-monofosfāts
CMF	citidīna 5'-monofosfāts
DPPC	dipalmitoilfosfatidilholīns
GMF	guanozīna 5'-monofosfāts
IE	izotopu efekts
ITK	izotermāla titrēšanas kalorimetrija ( <i>Isothermal Titration Calorimetry, ITC</i> )
$K_D$	kompleksa disociācijas konstante
KMR	kodolu magnētiskā rezonanse
KOE	kodolu Overhauzera efekts
KVK	kritiskā vezikulu koncentrācija
milj. d.	miljonā daļa
mljrd. d.	miljardā daļa
<i>NBO</i>	dabiskās saites orbitāļu metode ( <i>Natural Bond Orbital</i> )
NBS	<i>N</i> -bromsukcinimīds
NHS	sukcinimīds
PEV	potenciālās enerģijas virsma
PPDS	piesātinājuma pārneses dubultstarpība
sav.	savienojums
UMF	uridīna 5'-monofosfāts



# PROMOCIJAS DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS

## Ievads

1,4-Dihidropiridīna (1,4-DHP) cikls tiek uzskatīts par vienu no privilēģētām ķīmiskām struktūrām medicīnas ķīmijā (1,4-DHP atvasinājumiem piemīt dažādas farmakoloģiskas īpašības) [1, 2], un 1,4-DHP atvasinājumi ir ļoti svarīgi farmācijā. Piemēram, nifedipīns un amlodipīns ir Pasaules Veselības organizācijas (PVO) nozīmīgo zāļu sarakstā [3]. 1,4-Dihidropiridīna atvasinājumiem piemīt ne tikai kalcija kanālu antagonistu un antihipertensīvās [4] īpašības, tiem ir arī antiaritmiska [5], neurotransmiteru [6], pretkrampju [7], antioksidantu [8], antiradikālā [9], pretvēža [10], antidiabētiskā [11], antibakteriālā [12], šūnu augšanas modulatoru [13], antikoagulantu [14], adenozīna receptoru antagonistu [15], zāļu multirezistences (*multidrug resistance*) modulējoša [16] un daudzas citas aktivitātes [1, 2].

Latvijas Organiskās sintēzes institūta Membrānaktīvo savienojumu un  $\beta$ -diketonu laboratorijā sintezēti 1,4-DHP atvasinājumi (katjoni amfifili lipīdiem līdzīgi savienojumi) ar garām alkilķēdēm. Pierādīts, ka šiem atvasinājumiem piemīt pašagregācijas īpašības, ūdens šķīdumos tie veido dažāda veida vezikulas un tos var lietot kā nevirālos gēnu transfekcijas līdzekļus [17]. Tomēr joprojām ir nezināms RNS / DNS un katjonus aizvietotājus saturošu lipīdveida 1,4-DHP atvasinājumu kompleksu veidošanās mehānisms, un to 1,4-DHP atvasinājumu pašagregācijas īpašības nav pietiekami labi izpētītas.

Turklāt 1,4-DHP atvasinājumi, kas satur katjonus (piridīnija) aizvietotājus 2. un 6. pozīcijās un karboksigrupas 3. un 5. pozīcijās, nav pilnībā raksturoti ar fizikālās ķīmijas un spektroskopisko metožu palīdzību. Kā parādīts literatūrā, dažiem 1,4-DHP atvasinājumiem ar ketonu grupām 3. un 5. vietās eksistē iekšmolekulāras ūdeņraža saites, un 1,4-DHP bioloģiskā aktivitāte ir saistīta ar konformēru veidu un savstarpējo aizvietotāju orientāciju tajos [18].

## Promocijas darba mērķis un galvenie uzdevumi

Promocijas darba mērķis ir raksturot 1,4-dihidropiridīna atvasinājumu 2., 6. pozīciju aizvietotāju struktūras ģeometriskās īpatnības, veicot eksperimentālos un teorētiskos pētījumus ar fizikāli-ķīmiskajām un *in silico* metodēm.

Mērķa sasniegšanai noteikti šādi uzdevumi:

- 1) noskaidrot 1,4-DHP atvasinājumu 2. un 6. pozīcijās esošo metilgrupu bromēšanas reakcijas mehānismu, bromējot ar *N*-bromsukcinimīdu (NBS) metanolā;
- 2) izpētīt strukturālās īpašības, kas izraisa 2,6-bisbrommetil-1,4-DHP atvasinājumu 2. un 6. pozīcijas  $\text{CH}_2$  grupas protonu diastereotopiju;
- 3) ar KMR spektroskopijas metodēm un kvantu ķīmiskajiem aprēķiniem veikt iekšmolekulāro ūdeņraža saišu īpašību raksturojumu dažādiem 1,4-DHP atvasinājumiem;
- 4) noteikt pašagregācijas termodinamiskos parametrus vezikulām, kas iegūtas no lipīdiem līdzīgiem 1,4-DHP atvasinājumiem ar garām alkilesteru grupām, un raksturot savienojumu mijiedarbību ar mononukleotīdiem kā prozāļu (*prodrug*) modeļiem.

## Promocijas darba zinātniskā nozīme un novitāte

Identificēti un aprakstīti līdz šim nezināmi 2,6-dimetil-1,4-dihidropiridīna atvasinājumu bromēšanas ar *N*-bromsukcinimīdu reakcijas starpprodukti, kā arī iegūta izpratne par bromēšanas reakcijas mehānismu.

Atklāta 1,4-DHP cikla 2. un 6. metilēngrupu AB sistēmas neparasta protonu diastereotopijas atkarība no temperatūras, un pierādīta iekšmolekulāro ūdeņraža saišu eksistence šajās molekulās un konformēru maiņa atkarībā no temperatūras.

Pirmo reizi noteikta anomāla 1,4-DHP atvasinājumiem  $|N-H|$  saites saīsināšanās, ja veidojas ūdeņraža saite.

Ar kodolu magnētiskās rezonanses spektroskopijas un izotermālās titrēšanas kalorimetrijas palīdzību aprakstīta lipīdiem līdzīgo 1,4-DHP atvasinājumu ar garām alkilesteru grupām mijiedarbība ar 5'-mononukleotīdu monofosfātiem.

## Promocijas darba praktiskā nozīme

Pētot 1,4-dihidropiridīna atvasinājumu 2. un 6. metilgrupu bromēšanas reakciju metanolā, variējot *N*-bromsukcinimīda daudzumu, iegūta izpratne par bromēšanas reakcijas mehānismu, identificēti līdz šim neaprakstīti reakcijas starpprodukti, to eksistence ir pierādīta ar KMR spektroskopijas palīdzību. Veikti kvantu ķīmiskie aprēķini, kas apraksta šīs reakcijas mehānismu, ņemot vērā iegūtos KMR spektroskopijas rezultātus. Veiktie pētījumi dod iespēju prognozēt reakcijas galaproduktus un uzlabot sintēzes iznākumu.

Lipīdiem līdzīgajiem 1,4-DHP atvasinājumiem ir noteikti gan saistības ar 5'-mononukleotīdu monofosfātiem, gan kritiskās vezikulu veidošanās koncentrācijas, gan termodinamiskie parametri, kas ļauj prognozēt saistības spēju un iespēju veidot vezikulas zemās koncentrācijās.

## Aizstāvamās tēzes

1. Bromējot 1,4-DHP 2. un 6. pozīcijās esošās metilgrupas ar *N*-bromsukcinimīdu metanolā, ar KMR spektroskopijas palīdzību var identificēt un kvantu ķīmiskajiem aprēķiniem apstiprināt līdz šim neaprakstītus produktus.
2. Dažādiem 1,4-DHP atvasinājumiem magnētiski anizotropo aizvietotāju un  $|C-H|\cdots O$  tipa iekšmolekulāro ūdeņraža saišu kopējā ietekme atsevišķos konformēros rada ievērojamu atšķirību diastereotopo metilēngrupu protonu ekranēšanā, ietekmējot 2. un 6. pozīcijas diastereotopo metilēngrupu protonu magnētisko neekvivalenci.
3. Ar KMR spektroskopijas metodēm, IS spektru datiem un kvantu ķīmiskajiem aprēķiniem var veikt iekšmolekulāro ūdeņraža saišu raksturojumu dažādiem 2- vai 2,6-aizvietotiem 1,4-DHP atvasinājumiem.
4. KMR un izotermālās titrēšanas kalorimetrijas metodes ļauj pētīt lipīdiem līdzīgo 1,4-DHP atvasinājumu spēju veidot kompleksus ar 5'-mononukleotīdu monofosfātiem un raksturot veidoto vezikulu kompleksu stabilitāti un saīsināšanās mijiedarbību.

## Promocijas darba aprobācija un publikācija

Promocijas darba galvenie rezultāti publicēti četros zinātniskajos oriģinālrakstos, kas indeksēti *Scopus* un *Web of Science* datubāzēs. Pētījumu rezultāti atspoguļoti septiņos ziņojumos, kas prezentēti sešās konferencēs.

### Zinātniskās publikācijas

1. **Muhamadejev, R.**; Petrova, M.; Smits, R.; Plotniece, A.; Pajuste, K.; Duburs, G.; Liepinsh, E. Study of interactions of mononucleotides with 1,4-dihydropyridine vesicles using NMR and ITC techniques. *New J. Chem.* **2018**, *42*, 6942–6948, doi:10.1039/C8NJ00160J.
2. Petrova, M.; **Muhamadejev, R.**; Vigante, B.; Duburs, G.; Liepinsh, E. Intramolecular hydrogen bonds in 1,4-dihydropyridine derivatives. *R. Soc. Open Sci.* **2018**, *5*, 180088, doi:10.1098/rsos.180088.
3. Petrova, M.; **Muhamadejev, R.**; Cekavicus, B.; Vigante, B.; Plotniece, A.; Sobolev, A.; Duburs, G.; Liepinsh, E. Experimental and Theoretical Studies of Bromination of Diethyl 2,4,6-Trimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate. *Heteroat. Chem.* **2014**, *25*, 114–126, doi:10.1002/hc.21145.
4. Petrova, M.; **Muhamadejev, R.**; Chesnokov, A.; Vigante, B.; Cekavicus, B.; Plotniece, A.; Duburs, G.; Liepinsh, E. Spectral and Quantum-Chemical Study of Nonequivalence of Methylene Protons in 1,4-Dihydropyridine Derivatives\*. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2014**, *49*, 1631–1639, doi:10.1007/s10593-014-1414-6.

### Referāti konferenču tēžu krājumos

1. **Muhamadejev, R.**; Petrova, M.; Liepinsh, E. 11th Paul Walden Symposium, Diethyl 2,4,6-trimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate bromination with N-bromosuccinimide. Theoretical and multinuclear NMR study of the reaction mechanism. D-10, Riga, Latvia, 19–20 September, **2019**.
2. Petrova, M.; **Muhamadejev, R.**; Vigante, B.; Liepinsh, E. EUROISMAR2019 (EUROMAR 2019, ISMAR 2019), Intramolecular hydrogen bonds in 1,4-dihydropyridine derivatives. P366, Berlin, Germany, 25–30 August, **2019**.
3. **Muhamadejev, R.**; Petrova, M.; Liepinsh, E. EUROISMAR2019 (EUROMAR 2019, ISMAR 2019), Theoretical and multinuclear NMR study of the reaction mechanism of diethyl 2,4,6-trimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate with N-bromosuccinimide. P313, Berlin, Germany, 25–30 August, **2019**.
4. **Muhamadejev, R.**; Petrova, M.; Liepinsh, E. 10th Paul Walden Symposium, Intramolecular hydrogen bonds in 1,4-dihydropyridine derivatives. P-D6, Riga, Latvia, 15–16 June, **2017**.
5. **Muhamadejev, R.**; Petrova, M.; Cekavicus, B.; Plotniece, A.; Duburs, G.; Liepinsh, E. Riga Technical University 57th International Scientific Conference “Materials Science and Applied Chemistry”, Binding of mononucleotides to 1,4-DHP vesicles. 129–134 p., Riga, Latvia, 21–22 October, **2016**.

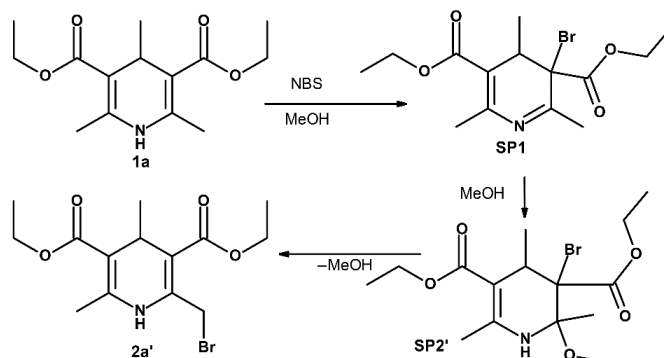
6. **Muhamadejev, R.;** Vigante, B.; Petrova, M.; Duburs, G.; Liepinsh, E. Congress on the Heterocyclic Chemistry “KOST-2015”, Synthesis and structural characterization of 1,4-dihydropyridine derivatives with intramolecular hydrogen bond., P-060, Moscow, Russia, 18–23 October, **2015**.
7. **Muhamadejev, R.;** Petrova, M.; Cekavicus, B.; Plotniece, A.; Duburs, G.; Liepinsh, E. Riga Technical University 55th International Scientific Conference, Section Material Science and Applied Chemistry, Experimental and in silico studies of self-assembling cationic and phospholipids. 30 p., Riga, Latvia 14–17 October, **2014**.

# PROMOCIJAS DARBA GALVENIE REZULTĀTI

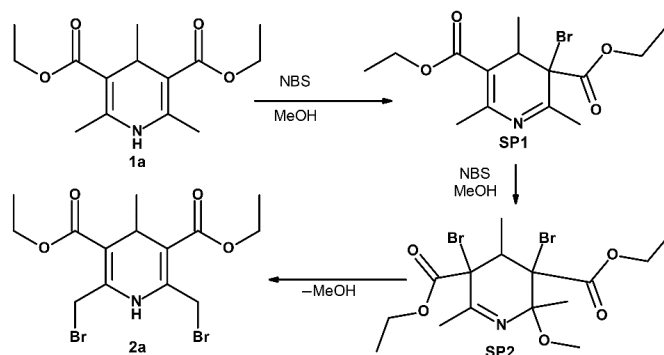
## 1. 1,4-DHP atvasinājumu 2. un 6. pozīciju metilgrupu bromēšana ar NBS

Metilgrupu bromēšana 1,4-DHP cikla 2. un 6. pozīcijā ir viens no svarīgākajiem soļiem katjonu amfifilo 1,4-DHP atvasinājumu kā potenciālo gēnu transfekcijas sistēmu kandidātu izstrādē, tālāk attiecīgajiem 2,6-bisbrommetil-1,4-DHP atvasinājumiem veicot broma nukleofilu aizvietošanu ar piridīnu, tā atvasinājumiem vai citiem amīniem. Ļoti bieži 2,6-bisbrommetil-1,4-DHP atvasinājumi netiek izdalīti no reakcijas vides, bet uzreiz *in situ* lietoti nukleofilās aizvietošanas reakcijā [19].

Bromēšanas reakcijas 1,4-DHP atvasinājumam **1a** ar *N*-bromsukcinimīdu veiktas tieši KMR stobriņos (Ø 5 mm) metanola šķīdumā ar KMR spektru reģistrēšanu reakcijas laikā. Konstatēts, ka reakcijas norit vairākos posmos (1. un 2. att.).



1. att. 1,4-DHP atvasinājuma **1a** 2. pozīciju metilgrupu bromēšanas reakcijas shēma, izmantojot vienu ekvivalentu NBS metanola šķīdumā.



2. att. 1,4-DHP atvasinājuma **1a** 2. un 6. pozīciju metilgrupu bromēšanas reakcijas shēma, izmantojot divus ekvivalentus NBS metanola šķīdumā.

No reakcijas maisījuma neizdevās izolēt starpproduktus **SP1**, **SP2** un **SP2'**, tomēr tie bija pietiekami stabili, lai būtu identificējami ar daudzkodolu ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  un  $^{15}\text{N}$ ) KMR spektroskopijas palīdzību, kas ļauj veikt starpproduktu **SP1**, **SP2**, **SP2'** un galaproduktu **2a'** un **2a** protonu,

oglekļa un slāpekļa signālu analīzi. Starpproduktu veidošanās procesu var novērot, izmantojot KMR spektroskopiju, dati par to  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  un  $^{15}\text{N}$  signālu nobīdēm ir apkopoti 1. tabulā (parādīti tikai daļēji, pilna tabula – promocijās dabā 1. pielikumā).

1. tabula

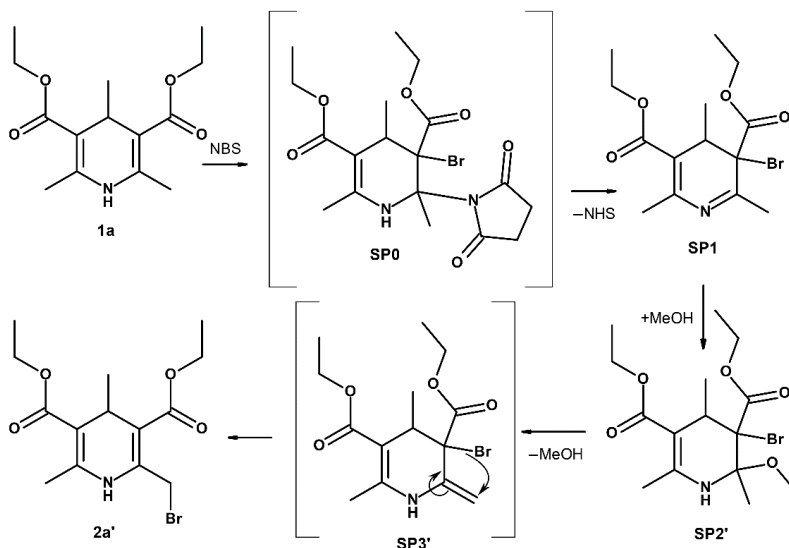
$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  un  $^{15}\text{N}$  KMR dati 1,4-DHP atvasinājuma **1a** bromēšanas starpproduktiem metanolā

Sav.	$\delta^1\text{H}$ , milj. d.			$\delta^{13}\text{C}$ , milj. d.						$\delta^{15}\text{N}$ , milj. d.
	C <sub>2</sub> -R	C <sub>6</sub> -R	C <sub>4</sub> H	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	N <sub>1</sub>	
<b>1a</b>	2,23	2,23	3,77	146,18	102,96	28,09	102,96	146,18	135,21	
<b>SP1</b>	2,38	2,48	3,35	165,29	59,44	38,44	116,75	150,56	311,35	
<b>SP2'</b>	1,84	2,26	3,54	86,63	65,22	39,66	97,78	149,21	112,82	
<b>SP2</b>	2,17	1,63	3,03	157,01	66,85	43,69	73,38	91,38	325,15	
<b>2a</b> *	4,44, 4,71	2,26	3,81	144,71	105,10	28,34	102,40	146,49	130,12	
<b>2a</b> *	4,88, 4,51	4,88, 4,51	3,89	142,12	106,77	29,37	106,77	142,12	126,20	

\* Spektri tika reģistrēti deiterētā hloroformā.

### 1.1. 1,4-DHP atvasinājuma **1a** bromēšanas reakcija ar vienu NBS ekvivalentu

Tūlīt pēc ekvimolāra 1,4-DHP atvasinājuma **1a** daudzuma sajaukšanas ar NBS, vienīgais ar KMR spektroskopijas metodi novērotais savienojums šķīdumā bija starpprodukts **SP1**. Piedāvātais mehānisms 1,4-DHP atvasinājuma **1a** bromēšanas reakcijai ar vienu ekvivalentu NBS metanolā redzams 3. attēlā.

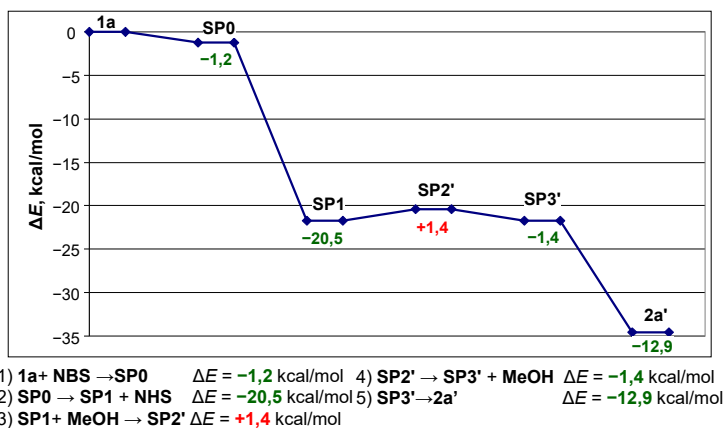


3. att. Piedāvātais reakcijas mehānisms 2,4,6-trimetil-1,4-dihidropiridīna **1a** bromēšanai ar vienu ekvivalentu NBS.

Pirmais solis ir **1a** savienojuma reakcija ar NBS, kur veidojas iespējamais starpprodukts **SP0**, kas līdzīgs bromā un sukcinimīda (NHS) adduktam, to ir aprakstījuši Massone (*Masson*) un līdzstrādnieki [20]. Tad ātra NHS eliminācija izraisa starpprodukta **SP1** veidošanos. Tālāk notiek metanola piesaistīšanās pie **SP1** molekulas N<sub>1</sub>=C<sub>2</sub> saitei, veidojot starpproduktu **SP2'**.

Līdzīgi novērojumi aprakstīti hlorēšanas reakcijām [21]. Var pieņemt, ka starpprodukta **SP2'** pārveidošanās par **2a'** notiek ar metanola molekulas atdalīšanos no savienojuma **SP2'**, veidojot atbilstošo iespējamo starpproduktu **SP3'**, kam seko [1,3]-sigmatropā pārgrupēšanās līdz monobromētam produktam **2a'**.

Šāda reakcijas mehānisma apstiprināšanai ir veikti kvantu ķīmiskie aprēķini (*Jaguar 8.0* programmatūras pakotne [22]); aprēķini veikti teorētiskajā līmenī *HF/LACV3P\*\*++*, lai noteiktu optimālo starpproduktu struktūru un novērtētu iekšējās enerģijas visiem starpproduktiem, kas piedalās reakcijā, kā arī to relatīvās enerģijas izmaiņas reakcijas gaitā. Iespējamās reakcijas shematisks attēlojums, izmantojot reaģentu relatīvās enerģijas, parādīts 4. attēla diagrammā. Grafiks ir mērogots, pamatojoties uz relatīvajām enerģijām, kā parādīts uz Y ass.



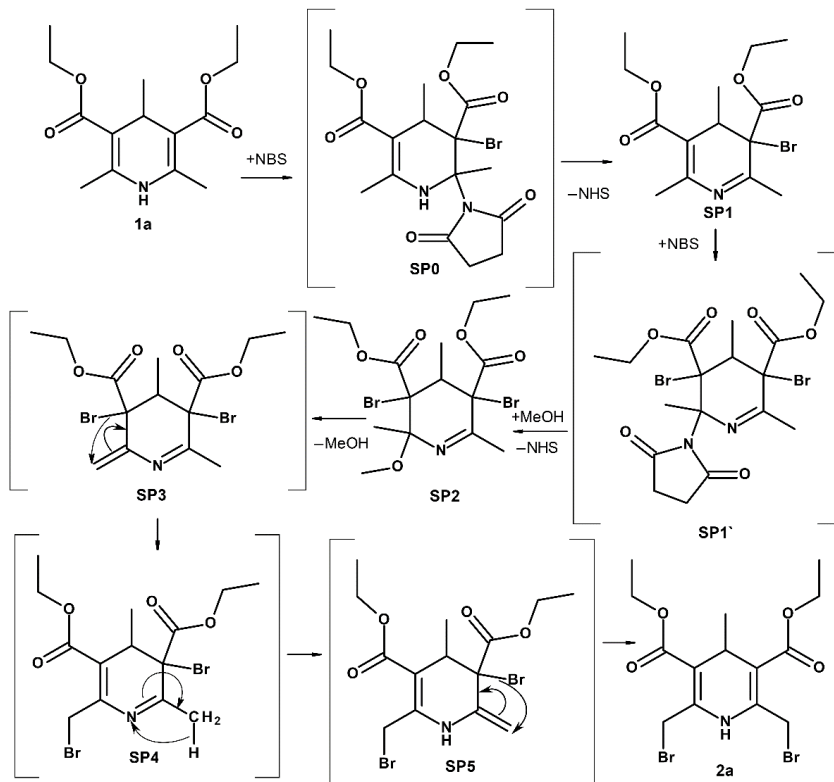
4. att. Enerģijas diagramma 1,4-DHP atvasinājuma **1a** bromēšanas reakcijai ar vienu ekvivalentu NBS, iegūta pamatojoties uz kvantu ķīmiskajiem aprēķiniem.

Aprēķinātās soļu iekšējās enerģijas atšķirības parāda NBS pievienošanu pie **1a**, kas sekmē starpprodukta **SP0** veidošanās. Šis process ir labvēlīgs ( $\Delta E = -1,2$  kcal/mol). NHS fragmentu eliminēšana no starpprodukta **SP0** un starpprodukta **SP1** veidošanās pēc kvantu ķīmiskiem aprēķiniem ar enerģijas starpību  $-20,5$  kcal/mol ir termodinamiski ļoti labvēlīga. Sekojoša metanola pievienošanās pie starpprodukta **SP1** un starpprodukta **SP2'** veidošanās ir nedaudz termodinamiski nelabvēlīgākas un prasa enerģiju  $1,4$  kcal/mol. Tas rezultējas ar relatīvi ilgu starpproduktu **SP1** un **SP2'** stabilitāti. Pēc piedāvātā bromēšanas mehānisma starpprodukta **SP2'** pārveidošana par produktu **2a'** notiek, veidojoties starpproduktam **SP3'** ( $\Delta E = -1,4$  kcal/mol), kam seko [1,3]-sigmatropā pārgrupēšanās. Tika konstatēts, ka pēdējais solis  $SP3' \rightarrow 2a'$  ir enerģētiski ļoti labvēlīgs ( $\Delta E = -12,9$  kcal/mol).

### 1.2. 1,4-DHP atvasinājuma **1a** bromēšanas reakcija ar diviem ekvivalentiem NBS

Piedāvātais savienojuma **1a** bromēšanas reakcijas mehānisms ar diviem ekvivalentiem NBS metanolā redzams 5. attēlā. Savienojuma **1a** reakcijā ar diviem ekvivalentiem NBS pirmais un otrais posms ir tāds pats kā monobromēšanas gadījumā – **SP1** starpprodukta veidošanās. Nākamais solis ietver NBS molekulas pievienošanu starpproduktam **SP1**, izveidojot iespējamo

starpproduktu **SP1'**. Tālāk notiek metanola molekulas pievienošana pie **SP1'** ar sekojošu NHS atbrīvošanos – **SP2** veidošanās, tad metanola molekulas atdalīšana no starpprodukta **SP2**, kā rezultātā veidojas starpprodukts **SP3**. Tālāk seko [1,3]-sigmatropā pārgrupēšanās starpproduktam **SP3** → **SP4**. Nākamais solis ir eksocikliskās dubultsaites veidošanās, pēc tam – pārgrupēšanās **SP4** → **SP5** un **SP5** → **2a**.

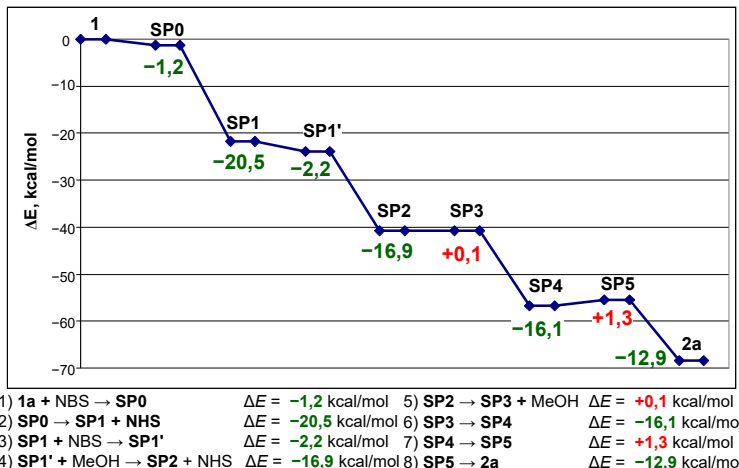


5. att. Piedāvātais reakcijas mehānisms 2,4,6-trimetil-1,4-dihidropiridīna **1a** bromēšanai ar diviem ekvivalentiem NBS.

Tāpat kā iepriekšējā bromēšanas gadījumā ar vienu ekvivalentu NBS, ar KMR noteiktie transformāciju soļi tika salīdzināti ar kvantu ķīmisko aprēķinu rezultātiem. 6. attēlā apkopotie dati parāda iesaistīto starpproduktu relatīvās enerģijas dažādos bromēšanas procesa posmos. Pirmie divi posmi (starpprodukta **SP1** veidošanās caur starpproduktu **SP0**) notiek tāpat kā monobromēšanas reakcijas gadījumā (3. un 4. att.). Nākamais solis ir NBS molekulas pievienošana pie starpprodukta **SP1**, kur izveidojas starpprodukts **SP1'**. Šis process ir enerģētiski mazlabvēlīgs ( $\Delta E = -2,2$  kcal/mol). Nākamais solis ir termodinamiski labvēlīgs ( $\Delta E = -16,9$  kcal/mol) un ietver metanola molekulas pievienošanu pie **SP1'** ar sekojošu NHS atbrīvošanos, kā rezultātā veidojas starpprodukts **SP2**. Turpmāka metanola molekulas atdalīšana no starpprodukta **SP2** ir nedaudz enerģētiski nelabvēlīgāka ( $\Delta E = +0,1$  kcal/mol), kā rezultātā veidojas starpprodukts **SP3**. Nākamie posmi ir sigmatropās pārgrupēšanās, kur broms atoms migrē uz eksociklisko dubultsaiti, kas izraisa atbilstošā starpprodukta **SP4** veidošanos.



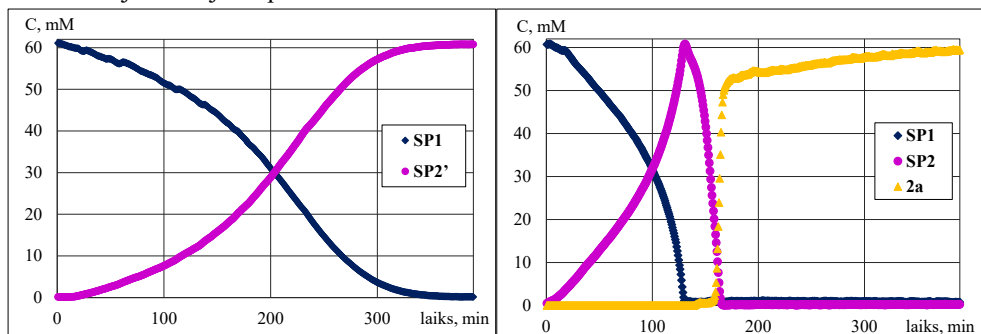
Aprēķinu rezultāti parāda, ka konversija **SP3** → **SP4** ir enerģētiski labvēlīga ( $\Delta E = -16,1$  kcal/mol). Pāreja no starpprodukta **SP4** uz produktu **2a** notiek, veidojot atbilstošo starpproduktu **SP5** ( $\Delta E = +1,3$  kcal/mol), kam seko otrā [1,3]-sigmatropā pārgrupēšanās. Pēdējais posms, bisbromprodukta **2a** veidošanās, ir enerģētiski labvēlīgs ( $\Delta E = -12,9$  kcal/mol).



6. att. Enerģijas diagramma 2,4,6-trimetil-1,4-dihidropiridīna **1a** bromēšanas reakcijai ar diviem ekvivalentiem NBS, iegūta pamatojoties uz kvantu ķīmiskajiem aprēķiniem.

### 1.3. 1,4-DHP atvasinājumu **1a** bromēšanas ar NBS reakcijas kinētika

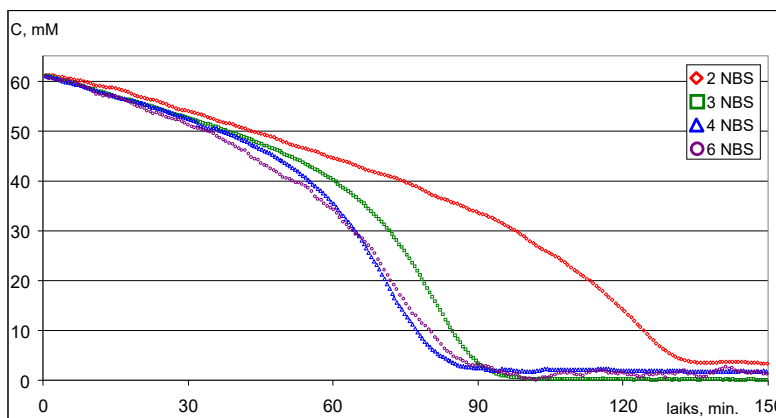
Ņemot vērā starpprodukta koncentrāciju izmaiņas 1,4-dihidropiridīna atvasinājuma **1a** bromēšanas reakcijā ar vienu vai diviem NBS ekvivalentiem (7. att.), ir svarīgi atzīmēt, ka starpprodukta **SP2** (vai **SP2'** viena NBS ekvivalenta gadījumā) veidošanās ātrums pilnībā atbilst starpprodukta **SP1** koncentrācijas samazināšanās ātrumam (koncentrāciju izmaiņas ir pilnīgi simetriskas). Šāds novērojums liecina, ka reakcija ir ļoti ātra un, visticamāk, NBS ir tieši iesaistīts šajā reakcijā kā promotors nevis tikai kā broms avots.



7. att. Ar  $^1\text{H}$  KMR spektroskopijas metodi novērotās vielu koncentrācijas izmaiņas laikā 1,4-DHP atvasinājuma **1a** bromēšanas reakcijā ar vienu (pa kreisi) un diviem (pa labi) ekvivalentiem NBS metanolā pie 25 °C.

Bromējot dihidropiridīna **1a** atvasinājumu ar diviem ekvivalentiem NBS, tiek novērota asimetriska starpprodukta **SP2** koncentrācijas samazināšanās attiecībā pret galaprodukta **2a** veidošanos (koncentrācijas palielināšanos). Ir svarīgi atzīmēt, ka starpprodukta **SP2** koncentrācijas samazināšanās notiek daudz ātrāk nekā galaprodukta **2a** veidošanās. Pāreja no **SP2** sākas tikai pēc tam, kad **SP1** ir pilnībā izreaģējis ar NBS. Reakcijas laikā tiek novērots arī moments/situācija, kad starpprodukts **SP2** šķīdumā vairs netiek konstatēts, bet galaprodukts **2a** vēl nav izveidojies pilnībā. Ņemot vērā aprēķinu rezultātus, šis galaprodukta veidošanas palēninājums ir saistīts ar enerģētiski nelabvēlīgu pāreju esamību starpproduktiem (**SP2** → **SP3** un **SP4** → **SP5**), kas izraisa galaprodukta **2a** veidošanās aizkavēšanos (7. att.).

Ņemot vērā starpprodukta **SP1** veidošanās enerģētisko izdevību, rodas jautājums, kāpēc bisbromēšanas gadījumā nav novērots attiecīgais starpprodukts **SP2'**, kā tika novērots monobromēšanas reakcijā. Iemesls varētu būt tāds, ka metanola molekulas pievienošanās  $N_1=C_2$  divkāršajai saitei starpproduktā **SP1**, lai izveidotu starpproduktu **SP2'** ( $\Delta E = +1,4$  kcal/mol), tika pierādīta kā termodinamiski nedaudz nelabvēlīga (4. att.). NBS pārākuma klātbūtnē ir lielāka varbūtība, ka starpprodukts **SP1** piesaistītu NBS molekulu 1,4-DHP cikla  $C_5=C_6$  divkāršajai saitei un pēc tam aizstātu to ar metanolu. Pēc aprēķiniem šie divi posmi **SP1** → **SP1'** → **SP2** ( $\Delta E = -19,1$  kcal/mol) (6. att.) ir enerģētiski izdevīgāki nekā **SP1** → **SP2'** ( $\Delta E = +1,4$  kcal/mol) (4. att.), kas nodrošina ne tikai starpprodukta **SP2** veidošanos, bet arī paātrina reakciju, ja tiek izmantoti divi vai vairāk ekvivalenti NBS (8. att.)



8. att. Ar  $^1\text{H}$  KMR spektroskopijas metodi novērotās starpprodukta **SP1** koncentrācijas izmaiņas laikā 1,4-DHP atvasinājuma **1a** bromēšanas reakcijas ar dažādu NBS ekvivalentu daudzumu metanolā pie 25 °C.

Eksperimentu rezultātā secināts, ka NBS koncentrācijas palielināšana, sākot no diviem ekvivalentiem, nemaina sākuma starpproduktus bromēšanas reakcijā, bet palielina starpproduktu **SP1** uz **SP2** transformācijas ātrumu. 1,4-DHP atvasinājuma **1a** bromēšanas reakcijas maisījumos ar diviem un vairākiem ekvivalentiem NBS netika novērota starpsavienojuma **SP2'** klātbūtne un reakcijā ar vienu ekvivalentu NBS – tikai starpprodukta **SP2** pēdas.

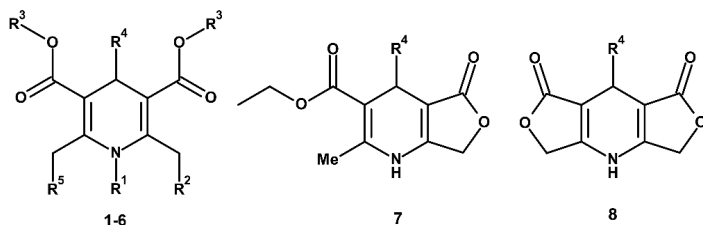
## 2. 2. un 6. pozīcijās aizvietoto 1,4-DHP atvasinājumu strukturālās īpašības

Pēdējos 30 gados veikts liels skaits pētījumu, kuros mēģināts modificēt 1,4-DHP cikla 2. un 6. pozīcijās esošās metilgrupas ar dažādiem aizvietotājiem [12, 17, 23–27]. Nozīmi ieguvuši arī katjonie amfifīlie 1,4-DHP atvasinājumi kā perspektīvas transportmolekulas nukleotīdu ievadīšanai mērķa šūnās [19].

Jau maģistra darba [28] izstrādes laikā sākām pētījumus, kas turpinājās promocijas darba izstrādes laikā. Visi pētāmie savienojumi (2. tab.) sintezēti Latvijas Organiskās sintēzes institūta Membrānaktīvo un  $\beta$ -diketonu laboratorijā.

1,4-Dihidropiridīna gredzena 2. un 6. pozīcijās aizvietotu metilēngrupu  $\text{CH}_2\text{X}$  protoniem piemīt interesanta īpašība (savienojumi **2-6** (2. tab.)) – tie ir diastereotopi, un attiecīgajā  $^1\text{H}$  KMR spektrā šie protoni novērojami kā AB spinu sistēmas. Šo neekivalenci var ietekmēt gan molekulas aizvietotāju konformācija, gan aizvietotāju anizotropija.

2. tabula



1,4-DHP atvasinājumu **1-8** ķīmiskās struktūras

N. p. k.	Sav.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>
1.	<b>1a</b>	H	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H
2.	<b>1b</b>	H	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph	H
3.	<b>1c</b>	H	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7-n</sub>	PhOCHF <sub>2-o</sub>	H
4.	<b>2a**</b>	H	Br	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Br
5.	<b>2b*</b>	CH <sub>3</sub>	Br	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph	Br
6.	<b>2c**</b>	H	Br	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	PhCF <sub>3-o</sub>	Br
7.	<b>2d**</b>	H	Br	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7-n</sub>	PhOCHF <sub>2-o</sub>	Br
8.	<b>2e**</b>	H	Cl	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	COOCH <sub>3</sub>	Cl
9.	<b>2f*</b>	H	Br	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph	Br
10.	<b>2g**</b>	H	Br	CH <sub>3</sub>	PhOCHF <sub>2-o</sub>	Br
11.	<b>2h**</b>	H	Br	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	Ph	Br
12.	<b>2i**</b>	CH <sub>3</sub>	Br	CH <sub>3</sub>	PhOCHF <sub>2-o</sub>	Br
13.	<b>3a*</b>	H	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>
14.	<b>3b*</b>	CH <sub>3</sub>	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>
15.	<b>3c**</b>	H	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	PhCF <sub>3-o</sub>	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>
16.	<b>3d**</b>	H	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7-n</sub>	PhOCHF <sub>2-o</sub>	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>
17.	<b>3e**</b>	H	Py <sup>+</sup> Cl <sup>-</sup>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	COOCH <sub>3</sub>	Py <sup>+</sup> Cl <sup>-</sup>
18.	<b>3f**</b>	H	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>
19.	<b>3g*</b>	H	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>	CH <sub>3</sub>	PhOCHF <sub>2-o</sub>	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>
20.	<b>3h**</b>	CH <sub>3</sub>	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>	CH <sub>3</sub>	PhOCHF <sub>2-o</sub>	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>
21.	<b>4a**</b>	H	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>21</sub>	Ph	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>
22.	<b>4b*</b>	H	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	Ph	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>
23.	<b>4c**</b>	H	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>29</sub>	Ph	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>
24.	<b>4d*</b>	H	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>33</sub>	Ph	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>
25.	<b>4e*</b>	CH <sub>3</sub>	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	Ph	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>

N. p. k.	Sav.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>
26.	<b>4f*</b>	H	Py <sup>+</sup> CH <sub>3</sub> -4 Br <sup>-</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	Ph	Py <sup>+</sup> CH <sub>3</sub> -4 Br <sup>-</sup>
27.	<b>4g*</b>	H	Py <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -3,5 Br <sup>-</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	Ph	Py <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -3,5 Br <sup>-</sup>
28.	<b>4h*</b>	H	Py <sup>+</sup> (N-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )-4 Br <sup>-</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	Ph	Py <sup>+</sup> (N-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )-4 Br <sup>-</sup>
29.	<b>4i*</b>	H	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> -CF <sub>3</sub>	Ph	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>
30.	<b>4j*</b>	H	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	Ph-CF <sub>3</sub> - <i>p</i>	Py <sup>+</sup> Br <sup>-</sup>
31.	<b>5a</b>	H	OOCCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H
32.	<b>5b</b>	H	OOCCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H
33.	<b>5c</b>	H	OOCCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph	H
34.	<b>5d</b>	H	OOCCH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub> - <i>n</i>	PhOCHF <sub>2</sub> - <i>o</i>	H
35.	<b>5e</b>	H	OOCCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph-F- <i>o</i>	H
36.	<b>5f</b>	H	OOCCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph-NO <sub>2</sub> - <i>m</i>	H
37.	<b>6a</b>	H	OOCCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OOCCH <sub>3</sub>
38.	<b>6b</b>	H	OOCCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph	OOCCH <sub>3</sub>
39.	<b>6c</b>	H	OOCCH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub> - <i>n</i>	PhOCHF <sub>2</sub> - <i>o</i>	OOCCH <sub>3</sub>
40.	<b>7a**</b>				Ph	
41.	<b>7b**</b>				PhOCHF <sub>2</sub> - <i>o</i>	
42.	<b>8a*</b>				Ph	
43.	<b>8b*</b>				PhOCHF <sub>2</sub> - <i>o</i>	

\* – savienojums iepriekš bija aprakstīts maģistra darbā [28].

\*\* – savienojums iepriekš bija aprakstīts publikācijā [29], kas izveidota, ņemot vērā maģistra darba izstrādes gaitā iegūtos datus, un nebija aprakstīts maģistra darbā.

Tabulā savienojumiem ir izmantota specifiska numerācija, jo tie ir iedalīti dažādās grupās.

Aizvietotājs 1,4-DHP cikla 4. pozīcijā molekulā atrodas ievērojamā attālumā no 2. un 6. metilēngrupas. Tāpēc eksperimentāli novērotā CH<sub>2</sub> grupas protonu <sup>1</sup>H KMR ķīmisko nobīžu atšķirība cikliskajos laktonos **7** un **8** nepārsniedz 0,08 milj. d. Par līdzīgu atšķirību 1,4-DHP atvasinājumiem ziņots literatūrā, un ir skaidrs, ka CH<sub>2</sub> grupai piemīt diastereotopas īpašības tikai tad, ja 1,4-DHP cikls nav oksidēts, jo piridīna atvasinājumu <sup>1</sup>H KMR spektros CH<sub>2</sub> grupas protonu signāli novērojami kā singleti [30].

Vēl svarīgs anizotropijas faktors monocikliskajos atvasinājumos **2–6** varētu būt 3,5-etoksikarbonilgrupu konformācija; šajos savienojumos ķīmisko nobīžu atšķirība CH<sub>2</sub>X protoniem kļūst ievērojama. Var pieņemt, ka šādu atšķirību savienojumos **2–6**, ko izraisījusi 4. pozīcijā esošu aizvietotāju anizotropija, papildus ietekmē arī atšķirības protonu novietojumā attiecībā pret 3,5-alkoksikarbonilaizvietotāju.

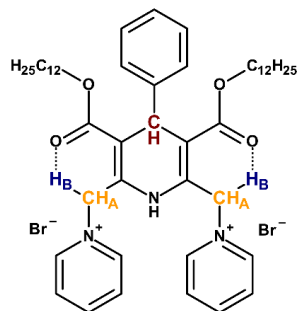
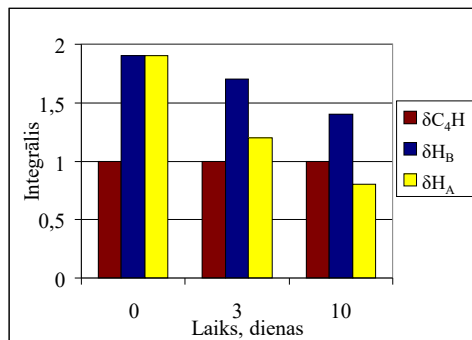
### 2.1. 1,4-DHP atvasinājumi ar |C-H|···O=C tipa iekšmolekulārām ūdeņraža saitēm

Savienojumu **2–6** 2. un 6. metilēngrupu AB protonu signāli <sup>1</sup>H KMR spektros viegli identificējami pēc to 11–15 Hz lielajām geminālajām (<sup>2</sup>J) spinu mijiedarbības konstantēm. Savienojumam **2** konstante ir mazāka nekā savienojumiem **3** un **4**. Blakus esošās piridīna π-saites atvasinājumos **3** un **4** parasti izraisa konstantes <sup>2</sup>J absolūtās vērtības pieaugumu.

Kodolu Overhauzera efekta (KOE) analīze savienojumu **2–4** <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H NOESY spektros ļauj noteikt metilēngrupas AB protonu relatīvo pozīciju – korelācijas signāls KOE pārnesi no N<sub>1</sub> protona uz stiprāk ekranēto protonu H<sub>A</sub> ir divreiz intensīvāks nekā pārnesi uz H<sub>B</sub> [29]. Tas nozīmē, ka H<sub>A</sub> protons, kas rezonē zemākas frekvences laukā, atrodas tuvāk N<sub>1</sub>H protonam.

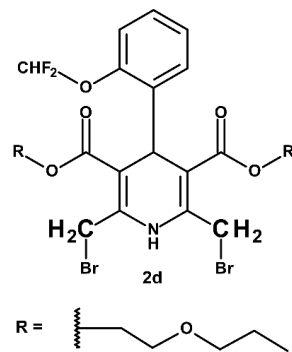
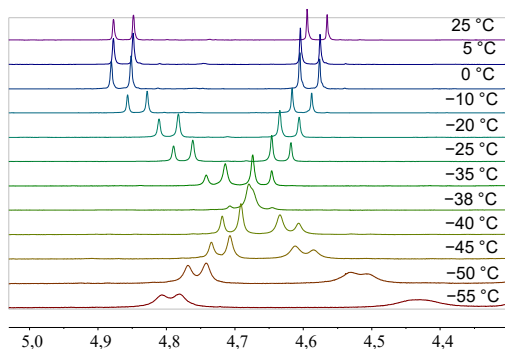
Šāds CH<sub>2</sub> protonu izkārtojums veido labvēlīgus apstākļus iekšmolekulāram kontaktam starp ūdeņraža atomu H<sub>B</sub> un C<sub>3</sub> ogleklim piesaistīto karboksilgrupu, un tā rezultātā veidojas |C-H<sub>B</sub>|···O=C ūdeņraža saite. Papildu apstiprinājums par |C-H|···O ūdeņraža saites eksistenci

savienojumos **2–4** izriet no 2,6-CH<sub>2</sub> protonu deiterēšanas ātruma (9. att.). Savienojuma **4b** D<sub>2</sub>O šķīdumā stiprāk ekranētā protonu H<sub>A</sub> rezonanses signāla intensitāte samazinās ātrāk nekā dezekranētā protona H<sub>B</sub> intensitāte. Tas ir tāpēc, ka ūdeņraža saitē iesaistītos protonus parasti mazāk ietekmē starpmolekulārā H/D apmaiņa. Šis fakts apstiprina to, ka starp H<sub>B</sub> metilēngrupas protonu un karboksilgrupu veidojas ūdeņraža saite.



9. att. <sup>1</sup>H KMR spektru dati 1,4-DHP atvasinājuma **4b** 2,6-CH<sub>2</sub> protonu deiterēšanas ātrumam pie 25 °C [29].

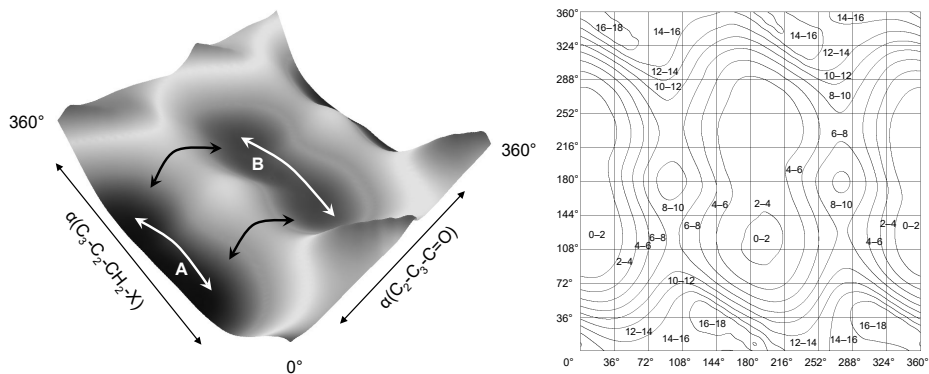
Kā konstatēts iepriekš, dažiem 1,4-DHP atvasinājumiem [C-H]⋯O=C tipa iekšmolekulārā ūdeņraža saite ir cēlonis neekvivalento protonu lielai atšķirībai ķīmiskajās nobīdēs. Jāatzīmē, ka gandrīz visiem pētītajiem savienojumiem (**2-6**) KMR spektros metilēngrupu protonu <sup>1</sup>H rezonanses signāliem raksturīga neparasta temperatūras atkarība (10. att.). Pētīto savienojumu AB-tipa signālu atgriezeniska attīstība, mainoties šķīduma temperatūrai, izslēdz iespēju procesu aplūkot kā parastu apmaiņu, jo šiem savienojumiem nav novērojama rezonanses signālu paplašināšanās, kas raksturīga apmaiņai pirms to koalescences, turklāt mainās H<sub>A</sub> un H<sub>B</sub> protonu ķīmiskās nobīdes.



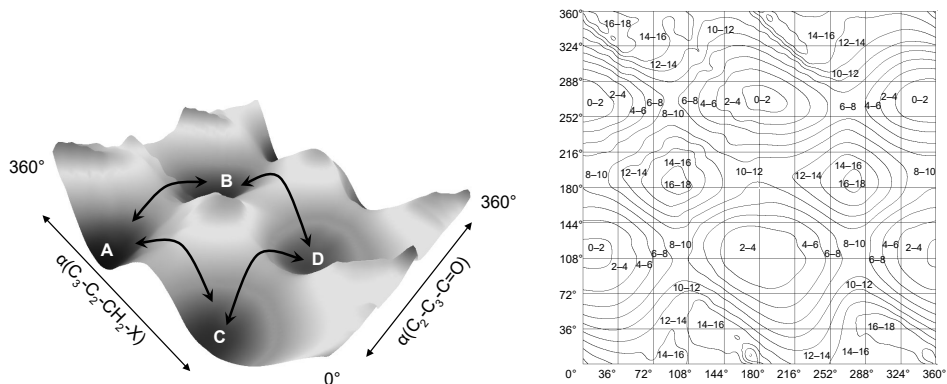
10. att. Savienojuma **2d** metilēngrupas protonu C<sub>2,6</sub>-CH<sub>2</sub> <sup>1</sup>H KMR spektru signālu atkarība no temperatūras CDCl<sub>3</sub> šķīdumā.

Saskaņā ar literatūras datiem [31], pētāmajiem savienojumiem ir ļoti kustīgs 1,4-DHP cikls, kurā norisinās strauja konformāciju vanna-krēsls maiņa, ko praktiski nav iespējams apstādināt pat zemās temperatūrās. Līdz ar to 1,4-DHP cikla inversija nevarētu būt metilēngrupu protonu

galvenais neekvivalences cēlonis. Monocikliskajiem savienojumiem **2**, nosakot iespējamākās telpiskās struktūras, ir jāapsver kavētās rotācijas ap saitēm  $C_{2,6}-CH_2$  un  $C_{3,5}-COO$  iespēja. Viens no paņēmieniem, kā identificēt iespējamus konformērus molekulās ar vairākām brīvības pakāpēm, ir aprēķināt iespējamo konformēru potenciālās enerģijas virsmas (PEV).



11. att. Potenciālās enerģijas virsma un tās projekcija savienojumam **2f**. X ass – leņķi rotācijai ap  $C_3-CO_2$  saiti, Y ass – rotācijai ap  $C_2-CH_2$  saiti, enerģijas mērvienība – kcal/mol. Ar bultiņām norādītas pārejas barjeras starp konformācijām.

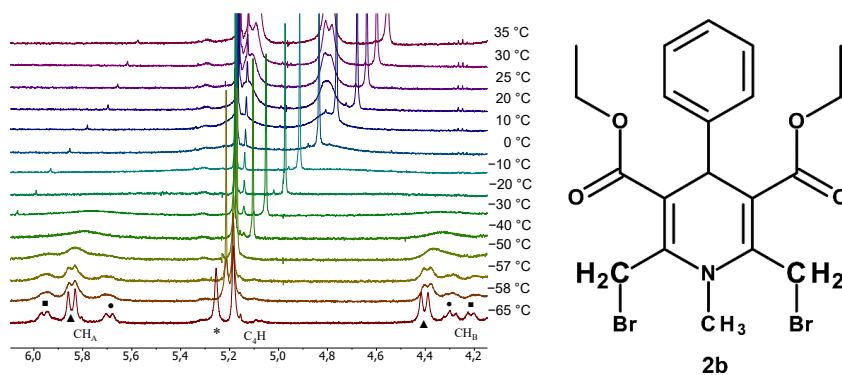


12. att. Potenciālās enerģijas virsma un tās projekcija savienojumam **2b**. X ass – leņķi rotācijai ap  $C_3-CO_2$  saiti, Y ass – rotācijai ap  $C_2-CH_2$  saiti, enerģijas mērvienība – kcal/mol. Ar bultiņām norādītas pārejas barjeras starp konformācijām.

Savienojumiem **2f** un **2b** skenēšana veikta, rotējot ap saitēm  $C_3-CO_2$  un  $C_2-CH_2$  (mainot divplakņu kakta leņķus  $C_2-C_3-C=O$  un  $C_3-C_2-CH_2-X$  ar soli 10 leņķiskie grādi), optimizējot visu atlikušo molekulas daļu. PEV aprēķini, izmantojot blīvuma-funkcionālā teorijas metodi (*Jaguar 8.0* programmatūras pakotne [22]), aprēķini veikti teorētiskajā līmenī *DFT B3LYP/6-31G\**, veikti struktūrām, kas ir modeļsavienojumi atvasinājumiem **2b** un **2f** (lai pārtrinātu aprēķinus, broms atomi aizstāti ar hlora atomiem). Aprēķinos iegūtās trīsdimensionālās PEV un to projekcijas redzamas 11. un 12. attēlos, kā atskaites punkts pieņemta optimālās konformācijas enerģija. Savienojumam **2f**, kam nav aizvietots  $N_1$ , rotācijai ap  $C_{2,6}-CH_2$  saiti PEV identificējami tikai divi plati minimumi A un B. Savienojumam **2b** lokalizēti četri enerģijas minimumi (A, B, C un D).

Enerģētiskās barjeras karboksilgrupas iekšējai rotācijai ap  $C_{3,5}$ -COOR<sub>1</sub> saiti (ja divplakņu leņķis  $C_2$ - $C_3$ -C=O ir 80–110° un 260–290°) savienojumiem **2f** un **2b** ir aptuveni vienādas, 8–10 kcal/mol. Savienojumā **2f** rotācijai ap  $C_{2,6}$ -CH<sub>2</sub> saiti ir divas ļoti atšķirīgas barjeras (viena ~ 0,4–2,2 kcal/mol, otra ~ 16–18 kcal/mol). Konformāciju **A** otrā barjera ir 0,4 kcal/mol, bet **B** konformācijām ir ~ 2,2 kcal/mol. Šāda neliela barjera rada savienojuma **2f** metilēngrupu protonu  $C_{2,6}$ -CH<sub>2</sub> brīvu svārstīšanos divu platu, izstieptu enerģijas minimumu divdimensijas leņķa  $C_3$ - $C_2$ -CH<sub>2</sub>-X 70–300° diapazonā. Samazinot temperatūru, nav iespējams palēnināt šo procesu tiktāl, lai rastos iespēja reģistrēt atsevišķu konformēru signālus. Tāpēc pētāmo savienojumu **2f** un **2b** metilēngrupas AB-protonu absorbciju pārstāv konformēru vidējoti rezonanses signāli, kuru populācija, kā arī pati potenciālās enerģijas virsma atkarīga no temperatūras.

Tātad to ekranēšanās var sasniegt punktu, kurā tie kļūst izohroni ar vienādām ķīmiskām nobīdēm. Savienojumā **2b** papildus novērotajai rotācijas barjerai ap  $C_{2,6}$ -CH<sub>2</sub> saiti, kas kopēja ar savienojumu **2f** un atbilst 16–18 kcal/mol (divplakņu kakta leņķis  $C_3$ - $C_2$ -CH<sub>2</sub>-X 100–120°), ir vēl viena 8–12 kcal/mol liela barjera; divplakņu kakta leņķis  $C_3$ - $C_2$ -CH<sub>2</sub>-X 300–320°. Ievērojama barjera rotācijai ap  $C_{2,6}$ -CH<sub>2</sub> saiti 1,4-DHP atvasinājumā **2b** ļauj reģistrēt atsevišķu konformēru metilēngrupu protonu rezonanses signālus zemas temperatūras KMR eksperimentā (13. att.).



13. att. Savienojuma **2b**  $C_{2,6}$ -CH<sub>2</sub> metilēngrupas protonu rezonanses signālu atkarība no temperatūras KMR spektroskopijas eksperimentos tetrahidrofurāna-D<sub>8</sub> šķīdumā (■, ▲, ● – AB spinu sistēmu apzīmējumi, \* – labilo protonu piemaisījums šķīdinātājā) [28].

Izvērtējot savienojuma **2b** <sup>1</sup>H KMR spektru atkarību no temperatūras, var aptuveni novērtēt metilēngrupas protonu rezonanses signālu koalescences temperatūru ( $T_c$ ) CDCl<sub>3</sub> (–25 °C) un THF (–15 °C) šķīdumos. Izmantojot Eiringa (*Eyring*) vienādojumu [32], varēja aptuveni novērtēt brīvo aktivācijas enerģiju konformāciju pārejām ( $A \leftrightarrow B$ ,  $A \leftrightarrow C$ ,  $C \leftrightarrow D$  un  $B \leftrightarrow D$ ) pie attiecīgajām  $T_c$  THF (~ 11,3 kcal/mol) un CDCl<sub>3</sub> (~ 10,7 kcal/mol) vērtībām. Iegūtās enerģētisko barjeru vērtības ir tikai nedaudz augstākas par to aprēķinātajiem lielumiem. Šo pāreju norises laikā mainās tikai vienas mobilās molekulas daļas konformācija: halogēna vai karboksilgrupas. Vismaz trīs konformēru pastāvēšana, iespējams, liecina par ievērojamu  $C_{2,6}$  pozīciju aizvietotāju asimetrisko konformēru populāciju zemā temperatūrā. Aizvietotāju pie

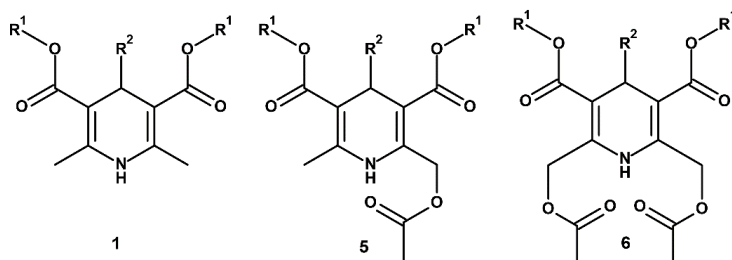
C<sub>3,5</sub> un C<sub>2,6</sub> oglekļa atomiem orientāciju vienlaicīga maiņa (pārejas **A** ↔ **D** un **B** ↔ **C**) ir mazvarbūtīga, jo šādu pāreju enerģētiskās barjeras ir ar kārtu 16–18 kcal/mol.

## 2.2. 1,4-DHP atvasinājumi ar [N-H]⋯O=C tipa iekšmolekulārām ūdeņraža saitēm

1,4-DHP atvasinājumu 3,5-mono- un 3,5-dikarboksilātu struktūras rentgenogrāfiskā analīze, kā arī kvantu ķīmiskie aprēķini [33] liecina, ka karbonilgrupa ir *s-cis*, *s-cis* konformācijā relatīvi pret C<sub>3</sub>=C<sub>2</sub> vai C<sub>6</sub>=C<sub>5</sub> dubultsaiti. Tas ir neparasti, jo labi zināms, ka labākai konjugācijai priekšroka dodama *s-trans* orientācijai, kā arī *s-trans* orientācija ir stabilāka [34]. Fragmenta C=C-C=O savdabīgās *s-cis* uzbūves iemesls nav skaidrs. Tomēr 1,4-DHP atvasinājumu gadījumā izvirzīta hipotēze, ka *s-cis* orientāciju atbalsta vāja iekšmolekulārā ūdeņraža saites |C-H|⋯O=C mijiedarbība. Šāda mijiedarbība iespējama arī savienojumos **1**, **5** un **6** (3. tab.)

3. tabula

1,4-DHP atvasinājumu **1**, **5** un **6** ķīmiskās struktūras



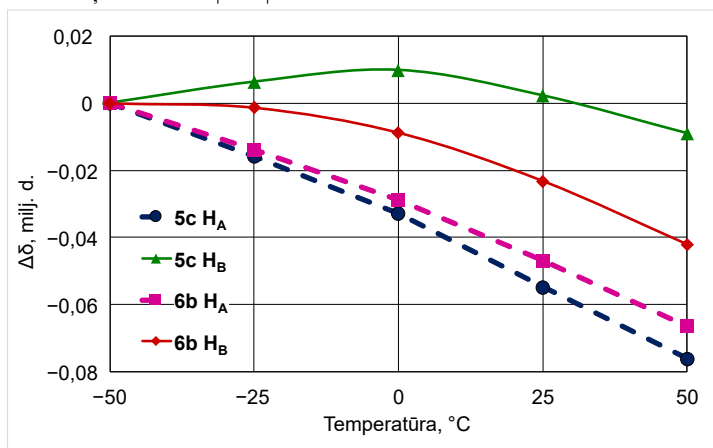
N. p. k.	Sav.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
1.	<b>1a</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
2.	<b>1b</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph
3.	<b>1c</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7-n</sub>	PhOCHF <sub>2-o</sub>
4.	<b>5a</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
5.	<b>5b</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
6.	<b>5c</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph
7.	<b>5d</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7-n</sub>	PhOCHF <sub>2-o</sub>
8.	<b>5e</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph-F-o
9.	<b>5f</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph-NO <sub>2-m</sub>
10.	<b>6a</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
11.	<b>6b</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph
12.	<b>6c</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7-n</sub>	PhOCHF <sub>2-o</sub>

Alkoksikarbonilķēžu metilēngrupu signāli 1,4-DHP 3. un 5. pozīcijās savienojumu **5** un **6** <sup>1</sup>H KMR spektros uzrāda šķelšanos, jo C<sub>4</sub> oglekļa atoms ir hirālais (vai prohirālais) centrs. Pārējie signāli <sup>1</sup>H KMR spektros atbilst aromātisko vai alifātisko ūdeņraža atomu dabai. Savienojumu **5** un **6** <sup>1</sup>H KMR spektros divi metilēngrupu protoni aizvietotajos C<sub>2</sub> un C<sub>6</sub> arī ir diastereotopi, un to signāli aprakstāmi kā AB sistēmas diapazonā 5,24–5,44 milj. d. Šo protonu neekvivalenci raksturo <sup>1</sup>H ķīmisko nobīžu atšķirība (δ(H<sub>A</sub>)-δ(H<sub>B</sub>)), ko var iespaidot tādi faktori kā 1,4-DHP gredzena konformācija, aizvietotāju anizotropā ietekme, C<sub>2</sub> un C<sub>6</sub> oglekļa atomiem pievienoto aizvietotāju kavētā rotācija un |C-H|⋯O tipa iekšmolekulārā ūdeņraža saite. Geminālās spin-spinu mijiedarbības konstantes <sup>2</sup>J(H<sub>A</sub>, H<sub>B</sub>) protoniem nedaudz palielinās no



14,8 Hz (**5**) līdz 15,2 Hz (**6**). Savienojumiem **5** atkarībā no aizvietotājiem pie C<sub>4</sub> oglekļa AB metilēngrupas protonu novērojamā ķīmisko nobīžu starpība ir robežās 0,04–0,13 mlj. d.

Mainoties temperatūrai, protona H<sub>A</sub> ķīmiskā nobīde savienojumiem **5** un **6** mainās lineāri ar tādu pašu koeficientu kā metilgrupas protonu ķīmiskā nobīde savienojumiem **1** pie C<sub>2</sub> un C<sub>6</sub>. Tātad, protonam H<sub>A</sub> jābūt tikpat pieejamam šķīdinātājam (hloroformam) kā savienojumos **1**. Tajā pat laikā protona H<sub>B</sub> signāls mainās nelineāri un līknes forma ir tuva negatīvai parabolai (14. att.). Vērtības  $\delta(\text{H}_B)/T$  nelineārā atkarība liecina par to, ka protons H<sub>B</sub> iesaistīts vājā iekšmolekulārās ūdeņraža saites [C-H]⋯O=C veidošanā.



14. att. Savienojumu **5c** un **6b** C<sub>2,6</sub>-CH<sub>2</sub> metilēngrupas protonu ķīmisko nobīžu atkarība no temperatūras CDCl<sub>3</sub> šķīdumos. Nepārtrauktās un pārtrauktas līnijas attēlo vērtības, attiecīgi protonu H<sub>B</sub> un H<sub>A</sub> atkarību. Katra protona ķīmisko nobīdi pie -50 °C pieņem kā nulles punktu. **5c** H<sub>A</sub> (●), **5c** H<sub>B</sub> (▲), **6b** H<sub>A</sub> (■) un **6b** H<sub>B</sub> (◆).

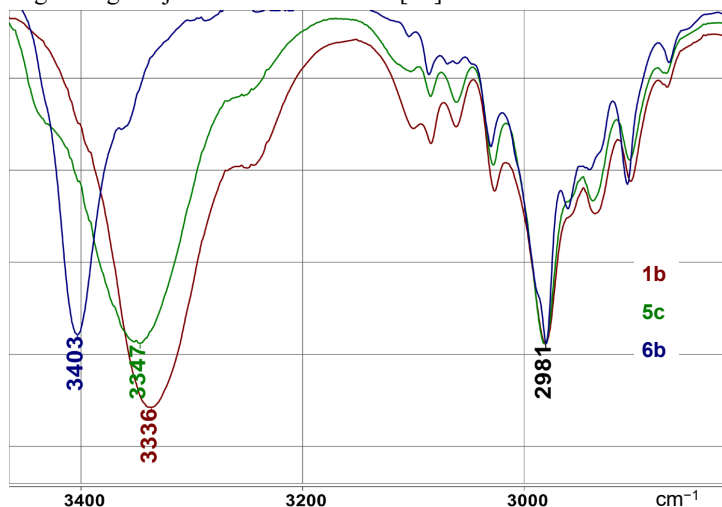
<sup>1</sup>H KMR spektros novērojami plati NH protona signāli intervālos 5,54–5,73 mlj. d. (sav. **1**), 6,48–6,67 mlj. d. (sav. **5**) un 7,55–7,77 mlj. d. (sav. **6**). N<sub>1</sub>H protona signāla nobīde vājākos laukos attiecīgi savienojumiem **1** → **5** → **6** var atspoguļot iekšmolekulārās [N<sub>1</sub>-H]⋯O ūdeņraža saites veidošanos starp N<sub>1</sub>H protonu un COOCH<sub>3</sub> skābekļa atomiem aizvietotajos pie C<sub>2</sub> un C<sub>6</sub> oglekļa savienojumiem **5** un **6** [35].

Protonu N<sub>1</sub>H KMR signāla temperatūras koeficientu ( $\Delta\delta/\Delta T$ ) parasti izmanto iekšmolekulārās ūdeņraža saites klātbūtnes noteikšanai [35]. Ūdeņraža saišu pārraušana, ko izraisa temperatūras paaugstināšana, ekranē N<sub>1</sub>H protona rezonanses signālu. Temperatūras koeficienti, kuru vērtība lielāka par -4,5 mljrd. d./K, ir ļoti indikatīvi attiecībā uz iekšmolekulārām ūdeņraža saitēm. Savienojumu **1**, **5** un **6** N<sub>1</sub>H protonu rezonanses temperatūras koeficienti izmērīti, reģistrējot <sup>1</sup>H KMR spektus vielu CDCl<sub>3</sub> šķīdumā temperatūras diapazonā -50...+50 °C. Iegūtās vērtības ir starp -2,5 un -10,4 mljrd. d./K. Savienojuma **6** NH protona  $\Delta\delta/\Delta T$  vērtība ir lielāka nekā -4,5 mljrd. d./K (aptuveni -3 mljrd. d./K), kas liecina par šī protona iesaistīšanos iekšmolekulārajā ūdeņraža saites veidošanā. Savienojumos **6**, kam ir divi acetoksimetilaizvietotāji un līdz ar to var veidoties divas ūdeņraža saites,  $\Delta\delta/\Delta T$  vērtības ir zemākas nekā savienojumiem **5** (aptuveni

-3,6 mljrd. d./K). Tā sekas varētu būt vājāka  $|\text{N-H}|\cdots\text{O}=\text{C}$  ūdeņraža saite savienojumiem **6**, salīdzinot ar savienojumiem **5**.

Izmērīto spin-spinu mijiedarbības konstanšu absolūtās vērtības  $^1J(^{15}\text{N},^1\text{H})$  92-96 Hz nedaudz pieaug savienojumiem rindā **1** → **5** → **6** un liecina, ka ūdeņradis ir stabili saistīts ar slāpekļa atomu un pārstāv neliela starpmolekulārā apmaiņa, kas ir pretrunā ar literatūras datiem [36], jo  $\text{N}_1\text{H}$  protonu pozitīvā lādiņa pieaugumam vai deekranēšanai vajadzētu samazināt  $^1J(^{15}\text{N},^1\text{H})$  absolūto vērtību. Taču, ja protona donora slāpekklis ir  $sp^2$  hibridizēts,  $^1J(^{15}\text{N},^1\text{H})$  izmaiņas ir saistītas ar attiecīgo  $\text{N}_1$  slāpekļa bāzes attālumu kvadrātā: īsākā  $\text{N}_1\text{-H}$  saite atbilst lielākai  $^1J(^{15}\text{N},^1\text{H})$  vērtībai [37]. Tas varētu liecināt par nelielu  $\text{N-H}$  attāluma samazināšanos savienojumiem rindā **1** → **5** → **6**.

Saskaņā ar literatūras datiem [38], ja  $\text{NH}$  piedalās  $|\text{N-H}|\cdots\text{X}$  ūdeņraža saites veidošanā, spin-spinu sadarbības konstanti  $^1J(^{15}\text{N},^1\text{H})$  galvenokārt ietekmē divi faktori – elektrostatiskā iedarbība un  $(\text{X})\rightarrow(\text{N-H})$  lādiņa pārnese. Zināms, ka pirmais faktors izraisa  $^1J(^{15}\text{N},^1\text{H})$  absolūtās vērtības pieaugumu, savukārt otrais – samazina  $^1J(^{15}\text{N},^1\text{H})$  absolūtās vērtības. Šo pašu faktoru ietekme uz  $\text{N}_1\text{-H}$  saites  $\text{IS}$  valences svārstību frekvenci arī ir pretēja, tāpēc lādiņu pārnese atbilst sarkanai nobīdei, savukārt elektrostatisks efekts izraisa zilo nobīdi. Parasti ūdeņraža saites izraisa  $\text{X-H}$  kovalentās saites pagarināšanos, un tās valences svārstības  $\nu\text{XH}$  ir ar mazāku viļņu skaitli (sarkanā nobīde) [35, 39].  $\nu(\text{NH})$  pāreja uz lielākiem viļņu skaitļiem ūdeņraža saīšu gadījumā, iespējams, saistīta ar  $\text{N-H}$  attāluma samazināšanos (zilā nobīde). Šāda veida efektus agrāk reģistrēja  $\text{C-H}$  un  $\text{N-H}$  saitēm [40].



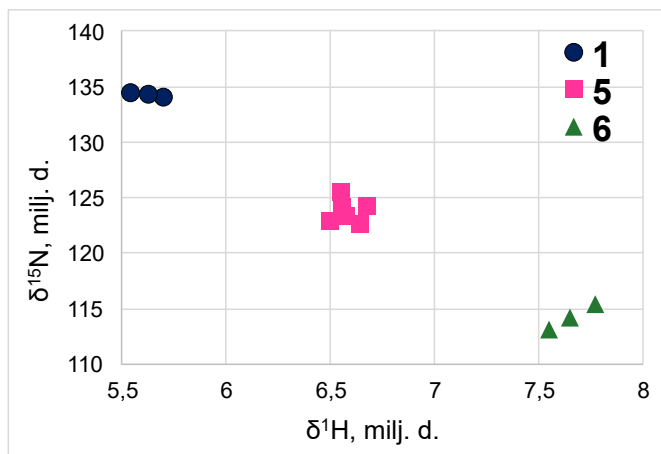
15. att. Savienojumu **1b**, **5c** un **6b**  $\text{N-H}$  un  $\text{C-H}$  valences svārstību frekvences  $\text{IS}$  spektros.

Savienojumu **1a-c** (bez ūdeņraža saitēm)  $\text{IS}$  spektros novēro raksturīgo valences svārstību  $\nu(\text{NH})$  joslu diapazonā  $3344\text{--}3336\text{ cm}^{-1}$ .  $\text{NH}$  grupas, kas iesaistītas vienas ūdeņraža saites veidošanā, savienojumiem **5a-d** uzrāda  $\text{N-H}$  valences svārstību joslu intervālā  $3347\text{--}3348\text{ cm}^{-1}$ ,  $\text{NH}$  grupas, kas iesaistītas divās ūdeņraža saitēs savienojumiem **6a-c**,  $\nu(\text{N-H})$  joslas ir intervālā  $3363\text{--}3437\text{ cm}^{-1}$  (15. att.). Novērotā joslas  $\nu(\text{N-H})$  nobīde ir  $11\text{ cm}^{-1}$ , pārejot no savienojuma **1b** uz savienojumu **5c**, un pieaug līdz  $67\text{ cm}^{-1}$ , pārejot no **1b** uz **6b**.  $\text{IS}$  valences

svārstību joslas  $\nu(\text{N-H})$  frekvence un konstanšu  $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H})$  vērtības savienojumiem **1**, **5** un **6** liecina, ka abu šo parametru maiņu ( $\nu(\text{NH})$  un  $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H})$ ) daļēji var izraisīt viens un tas pats iemesls – atšķirības N-H saites garumā [41].

Lai izmērītu slāpekļa kodola ķīmisko nobīdi, tika izmantoti  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HMQC spektri ar N-H tiešās saites konstanšu vērtību ( $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H}) = 95 \text{ Hz}$ ) [33,42].  $^{15}\text{N}$  rezonanses signāli novērojami trīs skaidri izteiktos reģionos: 134,53–134,01 milj. d. (**1**), 123,31–124,42 milj. d. (**5**) un 114,18–115,58 milj. d. (**6**).

$\text{N}_1\text{H}$  protonu signāla nobīdi vājākos laukos ( $^1\text{H}$  deekranēšanu) pavada  $^{15}\text{N}$  signālu nobīde stiprākos laukos ( $\text{N}_1$  ekranēšana) secīgi savienojumiem **1** → **5** → **6** (16. att.). Tas ir pārsteidzoši, jo parasti ar  $\text{N}_1\text{H}$  protona ekranēšanu notiek arī slāpekļa atoma ekranēšana [43]. N-H saite pagarinās, kad izveidojas ūdeņraža saite [44]. Saskaņā ar literatūras datiem [45], novērotās amīdu slāpekļa kodolu  $^{15}\text{N}$  ķīmiskās nobīdes palielinās, saīsinoties N-H saitei veidotajā  $|\text{N-H}\cdots\text{O}=\text{C}|$  ūdeņraža saitē. Tādējādi apgrieztā  $\delta(^{15}\text{N})/\delta(^1\text{H})$  atkarība savienojumu rindā **1** → **5** → **6**, iespējams, liecina par N-H saites saīsināšanos, taču nevar kvantitatīvi izskaidrot  $^{15}\text{N}$  rezonanses signāla ievērojamo nobīdi stipros laukos, secīgi pārejot rindā no **1** uz **5** un **6**.



16. att. Sakarība starp  $^{15}\text{N}$  un  $^1\text{H}$  ķīmiskajām nobīdēm savienojumos **1**(●), **5**(■) un **6**(▲).

Tātad  $\delta(^1\text{H})$  nobīdi vājos un  $\delta(^{15}\text{N})$  nobīdi stipros laukos savienojumiem rindā **1** → **5** → **6** daļēji var izraisīt N-H saites saīsināšanās. To apstiprina  $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H})$  absolūtās vērtības pieaugums rindā **1** → **5** → **6**. Iespējamais skaidrojums smago kodolu diamagnētiskajai nobīdei ir stēriskās perturbācijas tuvā elektronu mākoņa dēļ. Šajā gadījumā tas var būt saistīts ar telpisko afinitāti starp acetoksiaizvietotāju un  $^{15}\text{N}$  kodolu. Saskaņā ar literatūras datiem [46], šāda ietekme novirza  $^{15}\text{N}$  rezonanses signālu pat līdz 10 milj. d. uz stiprākiem laukiem.

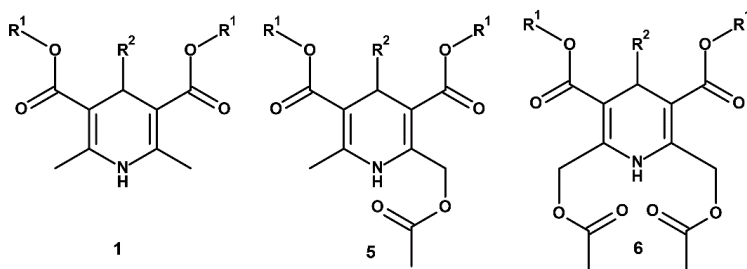
Sekundārā  $^{13}\text{C}(\text{H}/\text{D})$  deitērija-protonu izotopu efekta (IE) mērījumi ir ļoti labs instruments iekšmolekulārās ūdeņraža saites izpētei [47]. Visus efektus no protonu aizvietošanu ar deitēriju var ātri detektēt ar  $^{13}\text{C}$  KMR spektroskopijas palīdzību, jo IE ir novērojams ne tikai caur ķīmiskajām saitēm, bet arī caur telpu. Savienojumos **1**, **5**, **6** pie slāpekļa atoma piesaistītā protona aizstāšana ar deitēriju rada tikai raksturīgo izotopu iedarbību, jo  $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H})$  vērtības

(~ 92–96 Hz) ļauj ignorēt līdzsvara procesus. Raksturīgajam izotopu efektam ir vibrācijas izcelsme, un tas saistīts ar  $[N-H] \cdots X$  saites potenciālās līknes anharmoniskumu. Ūdeņraža saite palielina šo anharmoniskumu. Izmaiņas KMR  $^{13}C$  nobīdes vērtībās rada N-H/D saites saīsināšanās dīterēšanas rezultātā [48].

IE vērtības ( ${}^n\Delta^{13}C(H/D) = \delta(^{13}C(N_1H)) - \delta(^{13}C(N_1D))$ ) tika izmērītas daļēji deiterētu paraugu  $^{13}C$  spektros, jo abu izomēru signālus varēja viegli identificēt, ņemot vērā to relatīvo intensitāti (4. tab.). Visi izmērītie izotopu efekti savienojumiem **1**, **5** un **6** ir pozitīvi. Aizvietotāju ietekmi uz IE vērtībām galvenokārt raksturo divi faktori: ūdeņraža saite un aizvietotāju elektronisko efektu pārnese [49]. Reģistrēta H/D izotopu ietekme uz acetoksimetilkarbonilgrupas  $^{13}C$  atomiem (4. tab.). Savienojumiem **5**, kam  $N_1H$  protons iesaistīts vienā ūdeņraža saitē,  ${}^5\Delta^{13}C_{COO}$  H/D vērtības ir diapazonā 3–5 mljrd. d. Tajā pat laikā  ${}^5\Delta^{13}C_{COO}$  H/D IE vērtības karboksilgrupas oglekļiem savienojumiem **6** ir 3–5 reizes lielākas (~ 15–18 mljrd. d.) nekā savienojumiem **5**.

4. tabula

Ķīmiskās struktūras un H/D IE uz  $^{13}C$  kodoliem (mljrd. d.) savienojumos **1**, **5** un **6**



N. p. k.	Sav.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	COO···H	C <sub>6</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> -CH <sub>3</sub>	C <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub>
1.	<b>1a</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	–	85	85	50	50	81	–
2.	<b>1b</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph	–	84	84	51	51	82	–
3.	<b>1c</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7-n</sub>	PhOCHF <sub>2-o</sub>	–	90	90	47	47	84	–
4.	<b>5a</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	–	86	78	59	44	84	37
5.	<b>5b</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	–	88	79	59	45	84	37
6.	<b>5c</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph	3	87	80	59	42	84	36
7.	<b>5d</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7-n</sub>	PhOCHF <sub>2-o</sub>	5	96	88	58	41	84	36
8.	<b>5e</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph-F-o	5	94	87	58	41	84	35
9.	<b>5f</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph-NO <sub>2-m</sub>	4	91	85	57	43	84	37
10.	<b>6a</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	15	82	82	56	56	–	32
11.	<b>6b</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ph	18	85	85	55	55	–	33
12.	<b>6c</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7-n</sub>	PhOCHF <sub>2-o</sub>	18	91	91	53	53	–	34

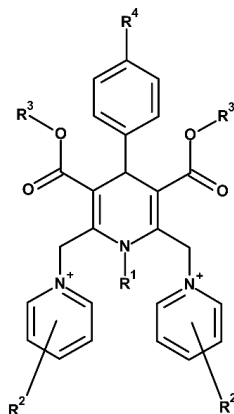
Aplūkojot H/D aizvietošanas ietekmi uz  $^{13}C$  oglekļa atomu KMR spektriem 1,4-DHP ciklam, novērojams, ka izmaiņas savienojumu rindā **1** → **5** → **6** ir nelielas. Tas atbilst tikpat nelielām izmaiņām  $^{13}C$  spektru signālu ķīmiskajās nobīdēs. Interesanti, ka H/D IE ietekme uz C<sub>2,6</sub>- $^{13}CH_3$  atomu metilgrupā, kas atdalīta no  $N_1H$  protonu ar trim saitēm (~ 81–84 mljrd. d.), ir

līdzīga IE ietekmei uz  $^{13}\text{C}_{2,6}$  oglekli, kas atdalītas tikai ar divām saitēm (~ 80–96 mljrd. d.). Tajā pašā laikā IE vērtības  $^{13}\text{C}_{3,5}$  atomiem ir daudz mazākas (~ 41–59 mljrd. d.).  $^{13}\text{C}$  izotopā nobīde metilgrupām pie 1,4-DHP cikla 2. un 6. pozīcijā savienojumiem **1** un **5** ir ievērojami lielāka nekā metilēnagrūpām pie tiem pašiem oglekļa atomiem savienojumiem **5** un **6**.

Veiktie kvantu ķīmiskie aprēķini (*Gaussian 09 (D.01)*) programmatūras pakotne [50]; aprēķini veikti teorētiskajā līmenī *DFT B3LYP/6-311G++(d,p)* rāda, ka savienojumos **5**  $\text{N}_1\text{H}$  protons ar alkoksigrupas skābekli vislabāk varētu veidot pieclocēkļu H-helāta tipa ciklu. Savienojumu **6** divi septiņlocēkļu H-helāta cikli veidojas ar  $\text{C}=\text{O}$  skābekli aizvietotajos 2. un 6. pozīcijā. Dažāda tipa  $|\text{N}-\text{H}|\cdots\text{O}$  saites savienojumos **5** un **6** var būt iemesls 2. un 6. pozīcijas aizvietotāju karboksilgrupas oglekļa sekundārās  $^{\Delta}^{13}\text{C}(\text{NH}/\text{D})$  izotopu nobīdes pieaugumam  $^{13}\text{C}$  KMR spektrā, pārejot no savienojumiem **5** uz **6**. Tas, ka  $\text{NH}/\text{D}$  aizstāšanas izotopais efekts sešu ķīmisko saišu attālumā uz 2. un 6. pozīcijā esošo karboksilgrupu oglekļa  $^{13}\text{C}$  ķīmisko nobīdi **6** ( $^{\Delta}^{13}\text{C}(\text{NH}/\text{D})$ ) ir lielāks par efektu četru ķīmisko saišu attālumā ( $^{\Delta}^{13}\text{C}(\text{NH}/\text{D})$ ) **5**, pierāda, ka  $|\text{N}-\text{H}|\cdots\text{O}$  ūdeņraža saite septiņlocēkļu H-helāta ciklā, ko veido  $\text{C}=\text{O}$  grupa, ir spēcīgāka par saiti alkoksigrupas izveidotajā pieclocēkļu H-helāta ciklā.

### 3. Katjonu lipīdi uz 1,4-DHP atvasinājumu bāzes un to saistīšanās ar mononukleotīdiem

Pētījums veikts, lai noteiktu mononukleotīdu (kā prozāļu modeļu) saistīšanās spēju ar katjonu amfifiliem lipīdiem līdzīgiem 1,4-DHP atvasinājumiem **4** (5. tab. un 17. att.). Šādi savienojumi ūdens šķīdumos uzrāda spēju asociēties un veidot vezikulas [17, 51, 52]. Starp divus katjonus aizvietotājus saturošiem katjonu amfifiliem 1,4-DHP atvasinājums **4b** ar divām C12 alkilķēdēm esteru grupējumos uzrādīja augstāko transfekcijas aktivitāti. Metil aizvietotāja ievadīšana pie 1,4-DHP cikla  $\text{N}_1$  atoma, kā arī C12 alkilķēžu (3. un 5. pozīcijā) saīsināšana vai pagarināšana samazināja transfekcijas aktivitāti pat līdz pilnīgam tās zudumam [19].



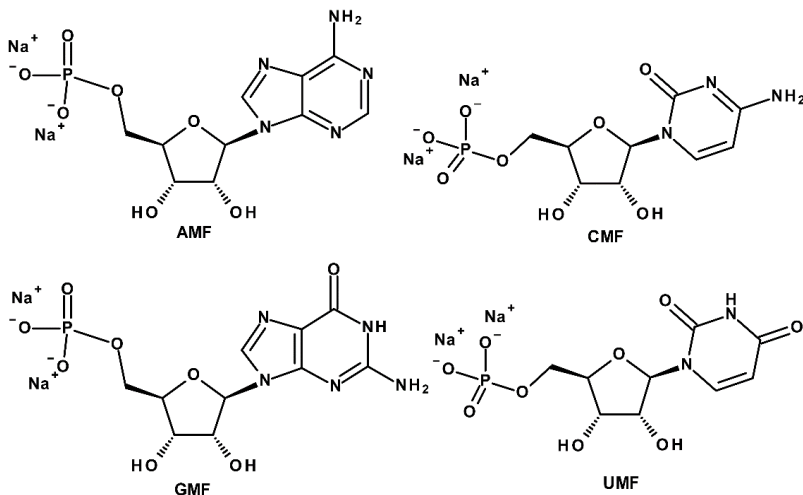
17. att. Pētāmo savienojumu **4** vispārīga formula.

Pētītie katjonie amfifīlie 1,4-DHP atvasinājumi **4**

N. p. k.	Sav.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>
1.	<b>4b</b>	H	H	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	H
2.	<b>4d</b>	H	H	C <sub>16</sub> H <sub>33</sub>	H
3.	<b>4e</b>	CH <sub>3</sub>	H	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	H
4.	<b>4f</b>	H	<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	H
5.	<b>4g</b>	H	3,5-CH <sub>3</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	H
6.	<b>4h</b>	H	<i>p</i> -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	H
7.	<b>4i<sup>a</sup></b>	H	H	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> -CF <sub>3</sub>	H
8.	<b>4j</b>	H	H	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	CF <sub>3</sub>

*a* perhlorāti, visi pārējie – bromīdi.

DNS vai RNS un 1,4-DHP **4** kompleksēšanās mehānisms nav pilnībā skaidrs, bet asociācija ir atkarīga no nukleīnskābes veidojošiem mononukleotīdiem [53]. Tāpēc ir saprātīgi salīdzināt 5'-mononukleotīdu (18. att.) spēju piesaistīt katjonu 1,4-DHP tipa amfifīlus **4**. Tas būtu svarīgi, lai racionāli prognozētu, meklētu un sintezētu jaunus katjonus amfifīlus ar optimālu struktūru efektīvai zāļu piegādei un gēnu transfekcijai. Lai noteiktu saistīšanās enerģiju, tika pētīta kompleksu struktūra četriem RNS 5'-mononukleotīdiem ar 1,4-DHP atvasinājumiem **4**, izmantojot izotermālo titrēšanas kalorimetriju (ITK) un KMR spektroskopiju. Pirmais solis bija novērtēt aktīvāko **4b** saistīšanos ar 5'-mononukleotīdiem, tad analizēt, kā aizvietotāju variācija **4** struktūrā ietekmē to kompleksēšanās spēju.



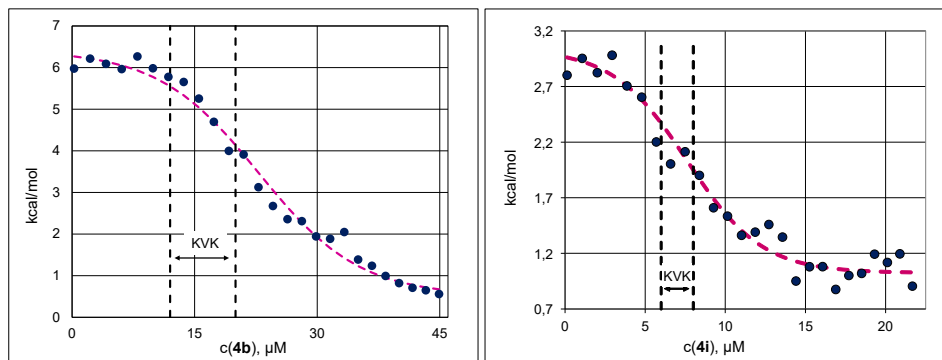
18. att. RNS 5'-mononukleotīdi.

### 3.1. Katjonu amfifīlo lipīdiem līdzīgo 1,4-DHP atvasinājumu pašagregācijas pētījumi

ITK metode ir ļoti nozīmīga dažādu saistības termodinamisko parametru noteikšanai, un to bieži izmanto kritisko vezikulu koncentrācijas (KVK) noteikšanai [54]. ITK datus (19. att.) labi apraksta Bolcmaņa (*Boltzmann*) sigmoīda vienādojums:

$$Q^{\text{devez}} = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{\frac{c_{\text{det}} - \text{KVK}}{\Delta}}} + A_2, \quad (1.)$$

kur  $c_{\text{det}}$  – savienojuma (deterģenta) koncentrācija ITC200 titrēšanas šūniņā;  $\Delta$  – pārejas reģiona platums.  $Q^{\text{devez}}$ , devezikulācijas siltums (vezikulu atšķaidīšana) tika ņemts kā starpība starp  $A_1$  – sākuma un  $A_2$  – beigu vērtību bāzes līnijām. Izmantojot koncentrāciju šļircē un KVK,  $Q^{\text{devez}}$  tika normalizēts.



19. att. ITC dati savienojumu **4b** un **4i** KVK noteikšanai (katjonu lipīdu **4b** koncentrācija injekcijas/titrēšanās šļircē – 270  $\mu\text{M}$ , **4i** – 130  $\mu\text{M}$ ). Rozā līknes – datu pielāgojums saskaņā ar 1. vienādojumu. Uz x-ass – savienojumu koncentrācija KVK iekārtas titrēšanas šūniņas nodalījumā.

Titrēšanas sākumā 1,4-DHP atvasinājumu **4** koncentrācija šūnas nodalījumā bija zemāka par KVK. Titrēšanas līkne (19. att.) liecina, ka vezikulu disociācija ir endotermisks process. Pēc KVK sasniegšanas disociācijas enerģija samazinājās gandrīz līdz nullei, jo vezikulas vairs nedisociēja un novēroja tikai atšķaidīšanas termisko iedarbību. KVK vērtības un termodinamiskie dati savienojumiem **4** apkopoti 6. tabulā. Pašagregēšanās virzītājspēks ir hidrofobais efekts, kas atkarīgs no molekulu lipofilitātes. Labi zināms, ka KVK samazinās, palielinoties virsmas aktīvās vielas lipofilitātei [55]. KVK vērtības 1,4-DHP atvasinājumiem **4**, kas iegūtas ar ITC, ir samērā zemas. Savienojumi **4g**, **4h**, **4i** un **4j** raksturojas ar mazākām KVK vērtībām, jo tiem ir lielāka lipofilitāte [56]. Lai novērtētu lipofilitāti atvasinājumiem **4**, tika aprēķinātas oktanola/ūdens sadalījuma koeficienta ( $\log P$ ) vērtības (6. tab.). KVK un  $\log P$  vērtības 1,4-DHP atvasinājumiem **4** korelē, uzrādot lipofilitātes palielināšanos.

6. tabula

$\log P$  vērtības, KVK un termodinamiskie parametri 1,4-DHP atvasinājumiem **4**

Sav.	$\log P$	KVK, $\mu\text{M}$	$\Delta G^{\circ, \text{vez}}$ , kcal/mol	$\Delta H^{\circ, \text{vez}}$ , kcal/mol	$-\Delta S^{\circ, \text{vez}}$ , kcal/mol
<b>4b</b>	15,2	$16 \pm 4$	-8,9	-6,6	-2,3
<b>4e</b>	15,0	$17 \pm 2$	-8,9	-7,6	-1,3
<b>4f</b>	15,9	$17 \pm 3$	-8,9	-6,7	-2,2
<b>4g</b>	16,5	$10 \pm 2$	-9,2	-5,3	-3,9
<b>4h</b>	16,0	$11 \pm 2$	-9,1	-7,2	-1,9
<b>4i</b>	17,7	$7 \pm 1$	-9,4	-2,2	-7,2
<b>4j</b>	16,2	$10 \pm 2$	-9,2	-3,1	-6,1

Vezikulācijas laikā ūdens izdalās no vezikulu iekšējās daļas (jo amfifilajiem molekulām ir hidrofoba daļa), ūdens struktūra kļūst nesakārtota, un tā rezultātā palielinās entropija [57]. Ņemot vērā 6. tabulā dotos rezultātus, var vispārināt, ka savienojumiem **4** vezikulācija 25 °C temperatūrā ir eksotermisks process. Gibbsa brīvā enerģija ( $\Delta G^{o,vez}$ ) kā arī entalpija ( $\Delta H^{o,vez}$ ) ir ar negatīvu vērtību, entropija ( $S^{o,vez}$ ) – ar pozitīvu vērtību.

### 3.2. RNS 5'-mononukleotīdu saistība ar 1,4-DHP atvasinājumiem, <sup>1</sup>H KMR titrēšana

Kompleksu veidošanās notiek sastāvdaļu asociācijas un disociācijas procesā. Kompleksa stabilitāti nosaka tā dzīves laiks. 1,4-DHP **4** un 5'-mononukleotīdu kompleksu raksturošanai veikti <sup>1</sup>H KMR titrēšanas eksperimenti. <sup>1</sup>H KMR titrēšanas eksperimenti ir informatīvi noderīgi, jo dod iespēju noteikt sistēmas termodinamiskos datus. Mononukleotīdu **CMF** un **UMF** gadījumā apmaiņas process ar savienojumiem **4** (<sup>1</sup>H KMR laika skalā) bija ātrs un tika reģistrēti gan brīvo, gan saistīto molekulu vidējie KMR protonu signāli (2. vienādojums):

$$\delta_{\text{novērots}} = Y_{\text{brīvs}} \times \delta_{\text{brīvs}} + Y_{\text{saistīts}} \times \delta_{\text{saistīts}} \quad (2.)$$

Kompleksu disociācijas konstantes ( $K_D$ ) savienojumiem **4** ar **CMF** un **UMF** aprēķināja, izmantojot 3. vienādojumu, reģistrējot inducēto <sup>1</sup>H protonu signālu maiņu pie dažādām **4** un mononukleotīdu koncentrācijās attiecībām [58]. Divi nezināmie – disociācijas konstante ( $K_D$ ) un saistīto RNS 5'-mononukleotīdes un 1,4-DHP **4** ķīmiskā nobīde ( $\delta_{\text{saist}}$ ) – tika novērtēti, izmantojot nelineāro pielāgošanu:

$$\delta_{\text{novērots}} = (\delta_{\text{brīvs}} - \delta_{\text{saistīts}}) \frac{K_D + C_S + C_V - \sqrt{(K_D + C_S + C_V)^2 - 4 \times C_V \times C_S}}{2} + \delta_{\text{brīvs}}, \quad (3.)$$

kur  $C_S$  un  $C_V$  attiecīgi – “saimnieka” (*host*) un “viesa” (*guest*) koncentrācija.

Disociācijas konstantes “saimnieka” (mononukleotīdu) un “viesa” (1,4-DHP) mijiedarbībai aprēķināja no 5'-mononukleotīdu H1' protonu signāla titrēšanas līknēm, pievienojot pieaugošu **4** daudzumu šķīdumam. Visu “saimnieks”/“viesis” sistēmu disociācijas konstantes ( $K_D$ ) ir ar vienādu kārtu (7. tab.). Konstanšu mazākās vērtības nozīmē spēcīgāku saistīšanos. Dati liecina, ka enerģētiski visizdevīgākos kompleksus veido **4i** ar **CMF** un **UMF**.

7. tabula

Disociācijas konstantes  $K_D$  (nM) savienojumu **4** un mononukleotīdu kompleksiem

5'-mononukleotīds	<b>4b</b>	<b>4d</b>	<b>4e</b>	<b>4f</b>	<b>4g</b>	<b>4h</b>	<b>4i</b>	<b>4j</b>	<b>4b/DPPC</b>
<b>CMF</b>	23	98	33	16	26	16	4	32	31
<b>UMF</b>	26	92	28	24	22	21	10	56	60

Aizvietotāji piridīnija gredzenā (**4f**, **4g** un **4h**) nedaudz izmainīja attiecīgo savienojumu kompleksu ar mononukleotīdiem stabilitāti. Savukārt N-CH<sub>3</sub> aizvietota 1,4-DHP atvasinājuma **4e**, ka arī savienojuma **4j** ar trifluormetil aizvietotāju benzola gredzena *para*- pozīcijā 1,4-DHP 4. vietā un savienojuma **4b** maisījuma ar dipalmitoilfosfatidilholīnu (DPPC) (1:3) vezikulas uzrādīja lielāku disociācijas konstantes vērtību nekā tīrs savienojums **4b**. 1,4-DHP atvasinājums **4d** ar C<sub>16</sub> estera grupu alkilķēdēs uzrāda vājāku saistīšanās spēju.



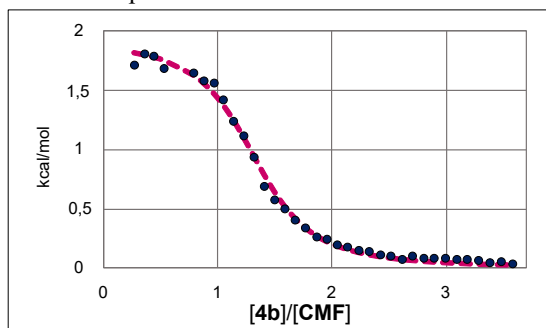
**AMF** un **GMF** gadījumā apmaiņas ātrums 25 °C temperatūrā bija KMR laika skalas vidējā diapazonā, tāpēc nebija iespējams novērtēt  $K_D$  vērtības ievērojami paplašināto signālu dēļ (pie koncentrācijas attiecības no 0,3 līdz 1,2). **AMF** uzrādīja mazāk paplašinātus signālus, bet konkrētajā temperatūrā izmērītā ķīmiskā nobīde nav piemērota  $K_D$  noteikšanai.

Tātad, 1,4-DHP atvasinājumu vezikulu spēja veidot kompleksus ir atkarīga no alkilķēžu garuma aizvietotājiem 1,4-DHP cikla 3. un 5. pozīcijās. Atvasinājums **4i** ar garām alkilķēdēm, kur gala metilgrupas ir nomainītas pret trifluormetilgrupām, parāda spēcīgāku saistīšanas spēju ar RNS 5'-mononukleotīdēm. Šādu uzlabotu saistīšanos varētu izskaidrot ar atšķirīgu ķēžu dinamiku fluora atomu hidrofobās mijiedarbības dēļ. Tas atspoguļojas mazākās KVK vērtībās savienojumam **4i**, salīdzinot ar pārējiem pētītajiem 1,4-DHP atvasinājumiem **4**. Dažādi aizvietotāji 1,4-DHP cikla 2. un 6. pozīcijās tikai nedaudz ietekmē saistīšanās spēju. 1,4-DHP cikla 4. pozīcijā esošā fenilgredzena *para*- vietas modifikācija ar  $CF_3$  grupu samazina attiecīgo 1,4-DHP atvasinājumu saistību ar mononukleotīdiem. Kompozīcija, kas veidota no savienojuma **4b** kopā ar DPPC (lai izveidotu kopīgas vezikulas), samazina iegūto vezikulu spēju saistīties ar 5'-mononukleotīdiem, salīdzinot ar vezikulām, ko veido tikai tīrs 1,4-DHP atvasinājums **4b**.

### 3.3. RNS 5'-mononukleotīdu saistība ar 1,4-DHP atvasinājumiem, $^1H$ KMR un ITK pētījumu salīdzinājums

Papildus  $^1H$  KMR titrēšanai disociācijas konstanti noteica arī ar ITK metodi. Šī metode arī ir ļoti populāra afinitātes/saistīšanās noteikšanai *in vitro*, jo tā ir operatīva, vienkārša un tieša [59]. Tā ar lielāku precizitāti sniedz lielisku ieskatu saistīšanas procesos, salīdzinot ar citām metodēm [60]. Savukārt metode ir jutīga ne tikai pret molekulāro saistīšanos. Tā reaģē arī uz citiem dažādiem procesiem titrēšanas šūniņā (bufera neatbilstību, atšķaidījumu, piemaisījumiem utt.), kas ievērojami apgrūtina iegūto rezultātu interpretāciju.

Visos saistīšanās ITK titrēšanas eksperimentos savienojumu **4** koncentrācija (ITK titrēšanās šūniņā) pēc otrās injekcijas bija augstāka nekā tā KVK vērtība (**4** koncentrācija titrēšanas šļircē bija ~ 3,5 mM). Lai no saistīšanās enerģijas atdalītu vezikulu reorganizācijas enerģiju, tika veikti titrēšanas references eksperimenti (**4** vezikulas tika injicētas šūniņā, kas piepildīta ar tīru ūdeni) [61]. Parasti ITK titrēšanas eksperimenti uzrāda līkni ar S-veida formu (20. att.), no kuras izrēķina termodinamiskos parametrus.



20. att. ITK eksperimentālie dati **CMF** (šūniņa) titrēšanai ar **4b** (šļirce), (aprēķinātos lielumus apraksta līkne).

Disociācijas konstantes  $K_D$  vērtības un termodinamiskie parametri apkopoti 8. tabulā. Papildus  $^1\text{H}$  KMR spektroskopijas metodēm kompleksu termodinamiskos parametrus noteica ar ITK. Ar ITK metodi noteiktās  $K_D$  vērtības ir mazākas nekā tās, kas iegūtas ar  $^1\text{H}$  KMR titrēšanu. Tas nav pārsteigums, jo ķīmisko nobīžu izmaiņas, ko novēro  $^1\text{H}$  KMR titrēšanas eksperimentos, rodas tikai tad, ja attiecīgais protons ir iesaistīts kompleksa veidojošās mijiedarbībās (un ķīmiskā nobīde ne vienmēr atbilst kompleksa veidošanai) atšķirībā no ITK mērījumiem, kas reģistrē jebkādu saistīšanos (siltuma izmaiņu) neatkarīgi no mijiedarbības veida [62]. Saistīšanās raksturojumu kompleksiem rāda entalpijas ( $\Delta H$ ) un entropijas ( $-T\Delta S$ ) ieguldījums saistības Gibbsa brīvajā enerģijā ( $\Delta G$ ). Pretējie entalpijas un entropijas ieguldījumi rezultējoties dod pieticīgas Gibbsa brīvas enerģijas izmaiņas ( $\Delta G \approx -7$  kcal/mol). Labvēlīgo brīvo enerģiju veido nelabvēlīgā pozitīvā entalpijas un labvēlīgā entropijas vērtības. Negatīvus entropijas faktorus galvenokārt izraisa nespecifiskā hidrofobā mijiedarbība un desolvācija.

8. tabula

Ar ITK un  $^1\text{H}$  KMR metodēm noteiktie  $K_D$  lielumi un termodinamiskie parametri  
5'-mononukleotīdu titrēšanai ar **4b**

Mononukleotīds	KMR	ITK	KMR		ITK	
	$K_D$ , nM		$\Delta G$ , kcal/mol		$\Delta H$ , kcal/mol	$\Delta S$ , cal/(mol×K)
<b>AMF</b>	–	10 ± 6	–	-7,0 ± 0,4	2,1 ± 0,3	30 ± 1
<b>CMF</b>	23 ± 7	15 ± 6	-6,3 ± 0,8	-6,6 ± 0,3	5,1 ± 1,0	39 ± 1
<b>UMF</b>	26 ± 9	6 ± 2	-6,3 ± 0,9	-7,2 ± 0,2	4,6 ± 0,5	39 ± 3

$\Delta G$ ,  $\Delta H$  un  $\Delta S$  vērtības liecina, ka saistīšanās procesos dominē entropiskā mijiedarbība [63], kas atbilst publicētajiem datiem par amonija lipīdu vezikulām [64]. Hidrofobās mijiedarbības entropija padara labvēlīgu 1,4-DHP atvasinājumu **4** un 5'-mononukleotīdu saistīšanos.

**GMF** titrēšanas rezultāti atšķiras. Pirms līkne sasniedz plato (pie attiecības (3:2)), tika reģistrēti divi papildu pārlikuma punkti (ar izliekuma un ieliekuma starpību ap 1 kcal/mol). Eksperiments atkārtots vairākkārt, un katru reizi tika iegūts viens un tas pats rezultāts – pirms plato sasniegšanas ir novērots enerģijas palielinājums. Iespējams, ka šīs anomālijas iemesls bija **GMF** īpašība – tendence uz pašagregāciju, kas minēts literatūrā [65]. Var pieņemt, ka **GMF** mijiedarbība ar 1,4-DHP atvasinājumiem **4** norisinājās divos posmos: vispirms brīvās **GMF** molekulas saistās ar **4**; pēc tam **GMF** klasteri izkļiedējas – palielinās siltuma daudzums [66]. Tāpēc **GMF** mononukleotīdam ar šo metodi neizdevās novērtēt  $K_D$  vērtību asociātiem ar lipīdveida 1,4-DHP atvasinājumiem.

### 3.4. RNS 5'-mononukleotīdu kompleksu un dažu 1,4-DHP atvasinājumu kompleksu veidošanās salīdzinājums

KMR  $T_{1\rho}$  relaksācijas metode ļauj detektēt ligandu asociāciju, pateicoties mazo un lielo molekulu relaksācijas atšķirībām [67]. 1,4-DHP vezikulas var uzskatīt par lielajām molekulām, savukārt mononukleotīdus – par mazajām.  $T_{1\rho}$  eksperimentā protonu signālu intensitātes samazinājums mononukleotīdiem saistīts ar relaksācijas laika saīsināšanos un ir proporcionāls “lielo molekulu” un “mazo molekulu” saistīšanas spējai. Parādīta integrālo intensitāšu izmaiņa, kas novērota RNS 5'-mononukleotīdu spektros, tiem saistoties ar 1,4-DHP atvasinājumu **4b**

veidotajām vezikulām (9. tab.). Mononukleotīdu saistīšanas spēja samazinās rindā **CMF** → **UMF** → **AMF** → **GMF**.

9. tabula

RNS 5'-mononukleotīdu signālu integrālo vērtību samazināšanās (%) T<sub>1ρ</sub> eksperimentos

Sav.		H8	H6, H1'	H6	H5	H1'	H2', H3'	H2'	H3'	H4'	H5'
<b>AMF</b>	<b>4b</b>	23				48		23		22	25
	<b>4e</b>	23				64		26		26	34
	<b>4i</b>	50				80		58		53	57
<b>CMF</b>	<b>4b</b>			97	94	89	96			94	98
	<b>4e</b>			49	32	38	56			56	69
	<b>4i</b>			86	75	65	84			80	97
<b>GMF</b>	<b>4b</b>	23				40			18	19	19
	<b>4e</b>	14				20			13	11	10
	<b>4i</b>	19				24			16	14	16
<b>UMF</b>	<b>4b</b>		36		32			43	41	42	40
	<b>4e</b>		8		9			21	14	15	18
	<b>4i</b>		76		73			93	91	85	95

Salīdzinot nukleotīdu saistīšanos ar 1,4-DHP atvasinājumu **4b**, **4e** un **4i** vezikulām, integrālo intensitāšu vidējās vērtības <sup>1</sup>H uzrāda samazināšanos rindā **4b** → **4i** → **4e** mononukleotīdu **CMF** un **GMF** gadījumos un rindā **4i** → **4b** → **4e** mononukleotīdu **AMF** un **UMF** gadījumos. 1,4-DHP molekulā N<sub>1</sub>H protona aizstāšana ar metilgrupu samazina 1,4-DHP atvasinājuma **4e** saistīšanās spēju ar mononukleotīdiem, kas apstiprina N<sub>1</sub>H grupas nozīmīgumu šīs saistības mehānismā. Iespējams, N<sub>1</sub>H grupa piedalās starpmolekulāras ūdeņraža saites veidošanā starp 1,4-DHP atvasinājumiem un mononukleotīdiem.

10. tabula

Normalizētas PPDS integrālās intensitātes mononukleotīdu saistībai ar sav **4**

Sav.		H8	H6	H5	H2	H6, H1'	H5, H1'	H1'	H2', H3'	H2'	H3'	H4'	H5'
<b>AMF</b>	<b>4b</b>	9			15			10		9		36	21
	<b>4e</b>	2			6			9		12		41	30
	<b>4i</b>	7			15			10		9		31	28
<b>CMF</b>	<b>4b</b>		12				9		35			24	21
	<b>4e</b>		9				3		28			25	34
	<b>4i</b>		11				7		32			26	25
<b>GMF</b>	<b>4b</b>	18									5	63	14
	<b>4e</b>	18									11	56	15
	<b>4i</b>	22									15	44	19
<b>UMF</b>	<b>4b</b>			8		0				12	26	26	28
	<b>4e</b>			0		6				2	25	32	36
	<b>4i</b>			8		4				12	24	29	23

Vislielākā mononukleotīdu KMR signālu integrālo intensitāšu pazemināšanās novērojama cukura daļai. Tas nozīmē, ka saistīšanās vieta, visticamāk, ir fosfātu grupa. Purīnu un pirimidīnu protonu signāliem integrālās intensitātes nedaudz samazinātas, un tas liecina, ka eksistē hidrofobās mijiedarbības starp 1,4-DHP atvasinājumiem (ar garām alkilķēdēm 1,4-DHP cikla 3. un 5. pozīcijā) un RNS 5'-mononukleotīdu slāpekļa bāzēm.

Lai būtu pārlicība par saistīšanās procesā iekļauto mononukleotīdu atomu pareizu identifikāciju, tika izmantoti  $^1\text{H}$  piesātinājuma pārnese dubultstarpības (PPDS) (*saturation transfer double difference, STDD*) KMR eksperimenti. PPDS pamatā ir magnetizācijas starpmolekulārā pārnese no receptoriem uz piesaistītajiem mazajiem ligandiem [68].

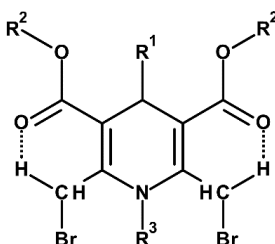
$^1\text{H}$  PPDS dati liecina par dažām atšķirībām mononukleotīdu un **4** saistībā (10. tab.). Mononukleotīdā **GMF** augstākā intensitāte ir  $\text{H4}'$  protonu signālam. Mononukleotīdam **AMF** visintensīvākie signāli ir reģistrēti  $\text{H4}'$  un  $\text{H5}'$  protoniem. **CMF** un **UMF** mononukleotīdiem maksimālā intensitāte novērota  $\text{H3}'$ ,  $\text{H4}'$  un  $\text{H5}'$  protoniem, liecinot par spēcīgāku saistīšanos ar 1,4-DHP atvasinājumiem. Neskatoties uz minētajām atšķirībām, mononukleotīdu saistīšanas spēja ar **4b** samazinās tādā pat rindā (**CMF**  $\rightarrow$  **UMF**  $\rightarrow$  **AMF**  $\rightarrow$  **GMF**) un atbilst  $\text{T}_{1\rho}$  KMR eksperimentu rezultātiem.

Kompleksu veidošanas procesam ir divas daļas – negatīvo lādiņu saturošās fosfāta grupu elektrostatiskās piesaistes pozitīvu lādiņu saturošajiem piridīnija gredzeniem 1,4-DHP cikla 2. un 6. vietās (par to liecina fakts, ka cukura cikla protoni, novērojami PPDS spektrā) un hidrofobās mijiedarbības starp garajām alkilķēdēm un mononukleotīdu heterocikliem.

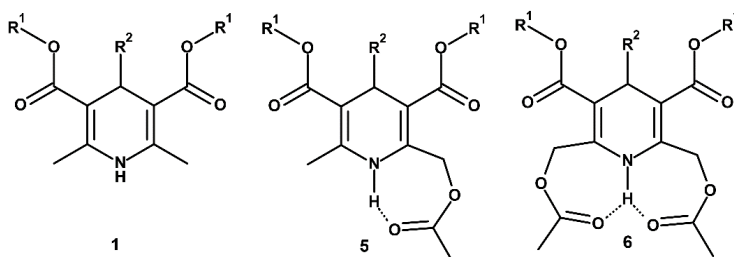
Neskatoties uz to, ka mononukleotīdu un katjonu amfifilo lipīdiem līdzīgo 1,4-DHP atvasinājumu **4** saistīšanās dominē hidrofobās mijiedarbības, NH fragments ir svarīgs, jo, slāpekļa atoma protonu aizstājot ar metilgrupu, novēro saistīšanās aktivitātes samazināšanos. Tajā pašā laikā savienojumam **4d** ar garākām alkilķēdēm (C16) tika novērots saistīšanas samazinājums, kas līdzīgs 1,4-DHP atvasinājuma **4b** maisījumam ar cviterjonisko DPPC. Tika konstatēts, ka pirimidīna mononukleotīda atvasinājumiem **CMF** un **UMF** ir lielāka saistīšanās aktivitāte ar 1,4-DHP atvasinājumu **4** nekā purīna mononukleotīda atvasinājumiem **AMF** un **GMF**.

## SECINĀJUMI

1. Pētot 1,4-dihidropiridīna atvasinājumu 2. un 6. metilgrupu bromēšanas reakciju metanolā, variējot *N*-bromsukcinimīda daudzumu, ir identificēti līdz šim neaprašīti reakcijas starpprodukti, un to eksistenci var pierādīt ar KMR spektroskopijas palīdzību. Kvantu ķīmiskie aprēķini, kas apraksta šīs reakcijas mehānismu, balstās uz iegūtajiem KMR spektroskopijas rezultātiem.
2. Analizējot 1,4-dihidropiridīna atvasinājumu strukturālās īpatnības, kas ietekmē 2. un 6. pozīcijas diastereotopo metilēngrupas protonu magnētisko neekvivalenci, pierādīts, ka magnētiski anizotropo aizvietotāju un C-H...O tipa iekšmolekulāro ūdeņraža saišu kopējā ietekme atsevišķos konformēros rada ievērojamu atšķirību diastereotopo metilēngrupas protonu ekranēšanā.



3. Pierādīts, ka diastereotopo 1,4-DHP cikla 2. un 6. pozīcijas metilēngrupas protonu KMR signālu netipisko temperatūras atkarību 1,4-dihidropiridīna spektrā izraisa divi konformacionāli procesi – aizvietotāju rotācija ap C<sub>2,6</sub>-CH<sub>2</sub> un C<sub>3,5</sub>-CO<sub>2</sub> saitēm.
4. Analizējot <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N KMR un IS spektrālos datus un kvantu ķīmisko aprēķinu rezultātus, apstiprināts, ka 2- un 2,6-acetoksimetil-1,4-dihidropiridīn-3,5-dikarboksilāti veido NH...O un CH...O tipa iekšmolekulārās ūdeņraža saites, tā definējot optimālo molekulu struktūru.



5. Pamatojoties uz kvantu ķīmisko aprēķinu un KMR spektroskopijas rezultātiem, pierādīts, ka acetoksimetil-1,4-DHP atvasinājumos veidojas iekšmolekulāra ūdeņraža saite. Monoaizvietotajos 2-acetoksimetil-1,4-DHP atvasinājumos N<sub>1</sub>H protons ar alkoksigrupas skābekli veido pieclocēkļu H-helāta ciklu, bet diaizvietotajos 2,6-diacetoksimetil-1,4-DHP atvasinājumos izdevīgāka ir divu septiņlocekļu H-helāta ciklu veidošanās, ko N<sub>1</sub>H veido ar 2. un 6. aizvietotāju karboksilgrupu karbonilgrupas skābekli. Turklāt ūdeņraža saite septiņlocekļu H-helāta ciklā ir stiprāka par saiti attiecīgajā pieclocēkļu H-helāta ciklā.

6. Parādīts, ka KMR spektros  $N_1H$  protonu signālu nobīde uz vājākiem laukiem, ko pavada  $^{15}N$  signālu nobīde uz stiprākiem laukiem un  $^1J(^{15}N, ^1H)$  vērtību pieaugums pētīto 1,4-dihidropiridīnu rindā **1**→**5**→**6** liecina par N-H saišu garuma samazināšanos, ja veidojas ūdeņraža saite. To apstiprina arī N-H valences svārstību zilā nobīde uz lielākiem viļņu skaitļiem savienojumu **1**, **5** un **6** FTIS spektros.
7. Izmantojot KMR un izotermālās titrēšanas kalorimetrijas (ITK) metodes, iespējams pētīt lipīdiem līdzīgo 1,4-DHP atvasinājumu spēju veidot kompleksus ar 5'-mononukleotīdu monofosfātiem un noteikt to veidoto vezikulu kompleksu disociācijas konstantes  $K_D$ .
8. Analizējot iegūtos ITK un KMR spektroskopijas datus, secināts, ka mononukleotīdu un katjono 1,4-DHP atvasinājumu saistīšanās procesos dominē entropiskā mijiedarbība.

## LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Carosati, E.; Ioan, P.; Micucci, M.; Broccatelli, F.; Cruciani, G.; Zhorov, B. S.; Chiarini, A.; Budriesi, R. 1,4-Dihydropyridine Scaffold in Medicinal Chemistry, The Story So Far And Perspectives (Part 2): Action in Other Targets and Antitargets. *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 4306–4323, doi:10.2174/092986712802884204.
2. Ioan, P.; Carosati, E.; Micucci, M.; Cruciani, G.; Broccatelli, F.; S. Zhorov, B.; Chiarini, A.; Budriesi, R.; Zhorov, B. S.; Chiarini, A.; Budriesi, R. 1,4-Dihydropyridine Scaffold in Medicinal Chemistry, The Story so Far And Perspectives (Part 1): Action in Ion Channels and GPCRs. *Curr. Med. Chem.* **2011**, *18*, 4901–4922, doi:10.2174/092986711797535173.
3. WHO model list of essential medicines – 22nd list, 2021 Available online: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MHP-HPS-EML-2021.02>.
4. Balaev, A. N.; Eleev, A. F.; Eremin, O. G.; Fedorov, V. E. Search for new drugs. *Pharm. Chem. J.* **2010**, *44*, 56–57, doi:10.1007/s11094-010-0396-7.
5. Abrego, V. H.; Martínez-Pérez, B.; Torres, L. A.; Ángeles, E.; Martínez, L.; Marroquín-Pascual, J. L.; Moya-Hernández, R.; Amaro-Recillas, H. A.; Rueda-Jackson, J. C.; Rodríguez-Barrientos, D. Antihypertensive and antiarrhythmic properties of a parahydroxy[bis(ortho-morpholinylmethyl)]phenyl-1,4-DHP compound: Comparison with other compounds of the same kind and relationship with logP values. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4622–4630, doi:10.1016/j.ejmech.2010.07.027.
6. Hirasawa, M.; Pittman, Q. J. Nifedipine facilitates neurotransmitter release independently of calcium channels. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2003**, *100*, 6139–6144, doi:10.1073/pnas.0936131100.
7. Kale, S. H.; Gaware, V. M.; Chavan, P. A. Synthesis and evaluation of some new substituted 1,4-dihydro pyridine derivatives and their anticonvulsant activity. *J. Chem. Pharm. Res.* **2010**, *2*, 246–252.
8. da Costa Cabrera, D.; Santa-Helena, E.; Leal, H. P.; de Moura, R. R.; Nery, L. E. M.; Gonçalves, C. A. N.; Russowsky, D.; Montes D'Oca, M. G. Synthesis and antioxidant activity of new lipophilic dihydropyridines. *Bioorg. Chem.* **2019**, *84*, 1–16, doi:10.1016/j.bioorg.2018.11.009.
9. Andzans, Z.; Adlere, I.; Versilovskis, A.; Krasnova, L.; Grinberga, S.; Duburs, G.; Krauze, A. Effective Method of Lipase-Catalyzed Enantioresolution of 6-Alkylsulfanyl-1,4-dihydropyridines. *Heterocycles* **2014**, *89*, 43, doi:10.3987/COM-13-12839.
10. Valente, S.; Mellini, P.; Spallotta, F.; Carafa, V.; Nebbioso, A.; Polletta, L.; Carnevale, I.; Saladini, S.; Trisciuglio, D.; Gabellini, C.; Tardugno, M.; Zwergel, C.; Cencioni, C.; Atlante, S.; Moniot, S.; Steegborn, C.; Budriesi, R.; Tafani, M.; Del Bufalo, D.; Altucci, L.; Gaetano, C.; Mai, A. 1,4-Dihydropyridines Active on the SIRT1/AMPK Pathway Ameliorate Skin Repair and Mitochondrial Function and Exhibit Inhibition of Proliferation in Cancer Cells. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 1471–1491, doi:10.1021/acs.jmedchem.5b01117.
11. Briede, J.; Stivrina, M.; Vigante, B.; Stoldere, D.; Duburs, G. Acute effect of antidiabetic 1,4-dihydropyridine compound cerebrocrast on cardiac function and glucose metabolism in the isolated, perfused normal rat heart. *Cell Biochem. Funct.* **2008**, *26*, 238–245, doi:10.1002/cbf.1442.
12. Niemirowicz-Laskowska, K.; Głuszek, K.; Piktel, E.; Pajuste, K.; Durnaś, B.; Król, G.; Wilczewska, A.; Janmey, P.; Plotniece, A.; Bucki, R. Bactericidal and immunomodulatory properties of magnetic nanoparticles functionalized by 1,4-dihydropyridines. *Int. J. Nanomedicine* **2018**, *Volume 13*, 3411–3424, doi:10.2147/IJN.S157564.

13. Bruvere, I.; Bisenieks, E.; Poikans, J.; Uldrikis, J.; Plotniece, A.; Pajuste, K.; Rucins, M.; Vigante, B.; Kalme, Z.; Gosteva, M.; Domracheva, I.; Velena, A.; Vukovic, T.; Milkovic, L.; Duburs, G.; Zarkovic, N. Dihydropyridine Derivatives as Cell Growth Modulators In Vitro. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2017**, *2017*, 1–15, doi:10.1155/2017/4069839.
14. Hjemdahl, P.; Wallen, N. H. Calcium antagonist treatment, sympathetic activity and platelet function. *Eur. Heart J.* **1997**, *18*, 36–50, doi:10.1093/eurheartj/18.suppl\_A.36.
15. Li, A.-H.; Chang, L.; Ji, X.; Melman, N.; Jacobson, K. A. Functionalized Congeners of 1,4-Dihydropyridines as Antagonist Molecular Probes for A<sub>3</sub> Adenosine Receptors. *Bioconjug. Chem.* **1999**, *10*, 667–677, doi:10.1021/bc9900136.
16. Cindric, M.; Cipak, A.; Serly, J.; Plotniece, A.; Jaganjac, M.; Mrakovcic, L.; Lovakovic, T.; Dedic, A.; Soldo, I.; Duburs, G.; Zarkovic, N.; Molnár, J. Reversal of multidrug resistance in murine lymphoma cells by amphiphilic dihydropyridine antioxidant derivative. *Anticancer Res.* **2010**, *30*, 4063–4069.
17. Pajuste, K.; Hyvönen, Z.; Petrichenko, O.; Kaldre, D.; Rucins, M.; Cekavicus, B.; Ose, V.; Skrivele, B.; Gosteva, M.; Morin-Picardat, E.; Plotniece, M.; Sobolev, A.; Duburs, G.; Ruponen, M.; Plotniece, A. Gene delivery agents possessing antiradical activity: self-assembling cationic amphiphilic 1,4-dihydropyridine derivatives. *New J. Chem.* **2013**, *37*, 3062, doi:10.1039/c3nj00272a.
18. Giorgi, G.; Adamo, M. F. A.; Ponticelli, F.; Ventura, A. Synthesis, structural and conformational properties, and gas phase reactivity of 1,4-dihydropyridine ester and ketone derivatives. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 5339, doi:10.1039/c0ob00494d.
19. Hyvönen, Z.; Plotniece, A.; Reine, I.; Chekavichus, B.; Duburs, G.; Urtti, A. Novel cationic amphiphilic 1,4-dihydropyridine derivatives for DNA delivery. *Biochim. Biophys. Acta – Biomembr.* **2000**, *1509*, 451–466, doi:10.1016/S0005-2736(00)00327-8.
20. Alix, A.; Lalli, C.; Retailleau, P.; Masson, G. Highly enantioselective electrophilic  $\alpha$ -bromination of enecarbamates: chiral phosphoric acid and calcium phosphate salt catalysts. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 10389–10392, doi:10.1021/ja304095z.
21. Skrastin'sh, I. P.; Liepin'sh, E. E.; Kastron, V. V.; Dubur, G. Y. Y. Reactions of N-chlorosuccinimide with 4-phenyl-1,4-dihydropyridines. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1990**, *26*, 421–424, doi:10.1007/BF00497214.
22. Jaguar, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2011.
23. Pajuste, K.; Plotniece, A.; Kore, K.; Intenberga, L.; Cekavicus, B.; Kaldre, D.; Duburs, G.; Sobolev, A. Use of pyridinium ionic liquids as catalysts for the synthesis of 3,5-bis(dodecyloxycarbonyl)-1,4-dihydropyridine derivative. *Open Chem.* **2011**, *9*, 143–148, doi:10.2478/s11532-010-0132-x.
24. Plotniece, A.; Pajuste, K.; Kaldre, D.; Cekavicus, B.; Vigante, B.; Turovska, B.; Belyakov, S.; Sobolev, A.; Duburs, G. Oxidation of cationic 1,4-dihydropyridine derivatives as model compounds for putative gene delivery agents. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 8344–8349, doi:10.1016/j.tet.2009.08.012.
25. Skrastin'sh, I. P.; Kastron, V. V.; Chekavichus, B. S.; Sausin'sh, A. é. é. E.; Zolotoyabko, R. M.; Dubur, G. Y. Y. Bromination of 4-aryl-3,5-dialkoxycarbonyl-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridines. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1991**, *27*, 989–994, doi:10.1007/BF00484364.
26. Ozolins, R.; Plotniece, M.; Pajuste, K.; Putralis, R.; Pikun, N.; Sobolev, A.; Plotniece, A.; Rucins, M. 1,1'-{[3,5-Bis((dodecyloxycarbonyl)-4-phenyl-1,4-dihydropyridine-2,6-diyl]bis(methylene)}bis[4-(anthracen-9-yl)pyridin-1-ium] Dibromide. *Molbank* **2022**, *2022*, M1438, doi:10.3390/M1438.
27. Petrichenko, O.; Plotniece, A.; Pajuste, K.; Rucins, M.; Dimitrijevs, P.; Sobolev, A.;



- Sprugis, E.; Cēbers, A. Evaluation of Physicochemical Properties of Amphiphilic 1,4-Dihydropyridines and Preparation of Magnetoliposomes. *Nanomaterials* **2021**, *11*, 593, doi:10.3390/nano11030593.
28. Muhamadejevs, R. Uz 1,4-dihidropiridīnu bāzes veidotu katjono vezikulu pētīšana ar KMR metodēm. Maģistra darbs, Rīgas Tehniskā universitāte, Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte, 2012, <https://ndr.rtu.lv/lv/view/6382/>.
  29. Petrova, M.; Muhamadejev, R.; Vigante, B.; Cekavicus, B.; Plotniece, A.; Duburs, G.; Liepinsh, E. Intramolecular C-H...O hydrogen bonding in 1,4-dihydropyridine derivatives. *Molecules* **2011**, *16*, 8041–8052, doi:10.3390/molecules16098041.
  30. Görlitzer, K.; Bartke, U.; Schmidt, E. Zur Reaktion von Nifedipin mit Pyridiniumbromidperbromid. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **1991**, *324*, 105–109, doi:10.1002/ardp.19913240209.
  31. Секацис И. П.; Лиепиньш, Э. Э.; Дубур, Г. Я. Конформационная подвижность 1,4-дигидропиридинов. *Изв. АН ЛатвССР. Сер. хим.* **1979**, *1*, 111–112.
  32. Mazzanti, A.; Drakopoulos, A.; Christina, T.; Kolocouris, A. Rotation Barriers of 1-Adamantyl-Csp 3 Bonds Measured with Dynamic NMR. *ChemistrySelect* **2019**, *4*, 7645–7648, doi:10.1002/slct.201901042.
  33. Goba, I.; Turovska, B.; Belyakov, S.; Liepinsh, E. Synthesis, spectroscopic and conformational analysis of 1,4-dihydroisonicotinic acid derivatives. *J. Mol. Struct.* **2014**, *1074*, 549–558, doi:10.1016/j.molstruc.2014.06.044.
  34. Feller, D.; Craig, N. C. High Level ab Initio Energies and Structures for the Rotamers of 1,3-Butadiene. *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 1601–1607, doi:10.1021/jp8095709.
  35. Gellman, S. H.; Dado, G. P.; Liang, G. B.; Adams, B. R. Conformation-directing effects of a single intramolecular amide-amide hydrogen bond: variable-temperature NMR and IR studies on a homologous diamide series. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1164–1173, doi:10.1021/ja00004a016.
  36. Ishikawa, R.; Kojima, C.; Ono, A.; Kainosho, M. Developing model systems for the NMR study of substituent effects on the N-H...N hydrogen bond in duplex DNA. *Magn. Reson. Chem.* **2001**, *39*, S159–S165, doi:10.1002/mrc.941.
  37. Del Bene, J. E.; Elguero, J. Systematic ab Initio Study of 15 N– 15 N and 15 N– 1 H Spin–Spin Coupling Constants Across N–H + –N Hydrogen Bonds: Predicting N–N and N–H Coupling Constants and Relating Them to Hydrogen Bond Type. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 7496–7502, doi:10.1021/jp0613642.
  38. Contreras, R. Angular dependence of spin–spin coupling constants. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2000**, *37*, 321–425, doi:10.1016/S0079-6565(00)00027-3.
  39. Joseph, J.; Jemmis, E. D. Red-, Blue-, or No-Shift in Hydrogen Bonds: A Unified Explanation. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4620–4632, doi:10.1021/ja067545z.
  40. Ghosh, S.; Wategaonkar, S. C–H...Y (Y=N, O,  $\pi$ ) Hydrogen Bond: A Unique Unconventional Hydrogen Bond. *J. Indian Inst. Sci.* **2020**, *100*, 101–125, doi:10.1007/s41745-019-00145-5.
  41. Contreras, R. H.; Peralta, J. E.; Giribet, C. G.; Ruiz de azúa, M. C.; Facelli, J. C. Advances in theoretical and physical aspects of spin-spin coupling constants. In *Annual Reports on NMR Spectroscopy*; Publisher Academic Press Inc., 2000; Vol. 41, pp. 55–184 ISBN 012505341X.
  42. Goba, I.; Liepinsh, E. 15 N NMR of 1,4-dihydropyridine derivatives. *Magn. Reson. Chem.* **2013**, *51*, 391–396, doi:10.1002/mrc.3959.
  43. Kyogoku, Y. Application of 15 N NMR Spectroscopy to Studies of the Intermolecular Interaction of Biomolecules. *Appl. Spectrosc. Rev.* **1981**, *17*, 279–335, doi:10.1080/05704928108060407.
  44. Bagheri, S.; Masoodi, H. R.; Abadi, M. N. Estimation of individual NH...X (X = N, O)

- hydrogen bonding energies in some complexes involving multiple hydrogen bonds using NBO calculations. *Theor. Chem. Acc.* **2015**, *134*, 127, doi:10.1007/s00214-015-1738-z.
45. Kuroki, S.; Ando, S.; Ando, I.; Shoji, A.; Ozaki, T.; Webb, G. A. Hydrogen-bonding effect on <sup>15</sup>N NMR chemical shifts of the glycine residue of oligopeptides in the solid state as studied by high-resolution solid-state NMR spectroscopy. *J. Mol. Struct.* **1990**, *240*, 19–29, doi:10.1016/0022-2860(90)80492-3.
  46. Witanowski, M.; Stefaniak, L.; Webb, G. A. Nitrogen NMR Spectroscopy. In *Annual Reports on NMR Spectroscopy*; 1982; Vol. 7, pp. 1–486 ISBN 9780125053181.
  47. Dziembowska, T.; Hansen, P. E.; Rozwadowski, Z. Studies based on deuterium isotope effect on <sup>13</sup>C chemical shifts. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2004**, *45*, 1–29, doi:10.1016/j.pnmrs.2004.04.001.
  48. Sobczyk, L.; Obrzud, M.; Filarowski, A. H/D Isotope Effects in Hydrogen Bonded Systems. *Molecules* **2013**, *18*, 4467–4476, doi:10.3390/molecules18044467.
  49. Buncel, E.; Jones, J. R. *Isotopes in the Physical and Biomedical Sciences: Isotopic applications in NMR studies*; Isotopes in the Physical and Biomedical Sciences; Elsevier Science Publishes, 1991; ISBN 9780444890900.
  50. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V.; Keith, T.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. *Gaussian 09, Revision D.01. Gaussian 09, Revis. D.01, Gaussian, Inc., Wallingford, CT 06492, USA 2013.*
  51. Apsite, G.; Timofejeva, I.; Vezane, A.; Vigante, B.; Rucins, M.; Sobolev, A.; Plotniece, M.; Pajuste, K.; Kozlovskas, T.; Plotniece, A. Synthesis and Comparative Evaluation of Novel Cationic Amphiphile C12-Man-Q as an Efficient DNA Delivery Agent In Vitro. *Molecules* **2018**, *23*, 1540, doi:10.3390/molecules23071540.
  52. Petrichenko, O.; Rucins, M.; Vezane, A.; Timofejeva, I.; Sobolev, A.; Cekavicus, B.; Pajuste, K.; Plotniece, M.; Gosteva, M.; Kozlovskas, T.; Plotniece, A. Studies of the physicochemical and structural properties of self-assembling cationic pyridine derivatives as gene delivery agents. *Chem. Phys. Lipids* **2015**, *191*, 25–37, doi:10.1016/j.chemphyslip.2015.08.005.
  53. Schumaker, K. S.; Gizinski, M. J. G Proteins Regulate Dihydropyridine Binding to Moss Plasma Membranes. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 21292–21296, doi:10.1074/jbc.271.35.21292.
  54. Textor, M.; Keller, S. Automated analysis of calorimetric demicellization titrations. *Anal. Biochem.* **2015**, *485*, 119–121, doi:10.1016/j.ab.2015.06.009.
  55. Jungnickel, C.; Łuczak, J.; Ranke, J.; Fernández, J.; Müller, A.; Thöming, J. Micelle formation of imidazolium ionic liquids in aqueous solution. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2008**, *316*, 278–284, doi:10.1016/j.colsurfa.2007.09.020.
  56. Ottaviani, G.; Wendelspiess, S.; Alvarez-Sánchez, R. Importance of critical micellar concentration for the prediction of solubility enhancement in biorelevant media. *Mol. Pharm.* **2015**, *12*, 1171–9, doi:10.1021/mp5006992.

57. Fiscaro, E.; Compari, C.; Duce, E.; Biemmi, M.; Peroni, M.; Braibanti, A. Thermodynamics of micelle formation in water, hydrophobic processes and surfactant self-assemblies. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10*, 3903, doi:10.1039/b719630j.
58. Fielding, L. NMR Methods for the Determination of Protein- Ligand Dissociation Constants. *Curr. Top. Med. Chem.* 2003, *3*, 39–53.
59. Leavitt, S.; Freire, E. Direct measurement of protein binding energetics by isothermal titration calorimetry. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2001**, *11*, 560–566, doi:10.1016/S0959-440X(00)00248-7.
60. Baranauskiene, L.; Petrikaite, V.; Matuliene, J.; Matulis, D. Titration calorimetry standards and the precision of isothermal titration calorimetry data. *Int. J. Mol. Sci.* **2009**, *10*, 2752–2762, doi:10.3390/ijms10062752.
61. Salim, N. N.; Feig, A. L. Isothermal titration calorimetry of RNA. *Methods* **2009**, *47*, 198–205, doi:10.1016/j.ymeth.2008.09.003.
62. Sessler, J. L.; Gross, D. E.; Cho, W.-S.; Lynch, V. M.; Schmidtchen, F. P.; Bates, G. W.; Light, M. E.; Gale, P. A. Calix[4]pyrrole as a Chloride Anion Receptor: Solvent and Counteranion Effects. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 12281–12288, doi:10.1021/ja064012h.
63. Frasca, V. Biophysical characterization of antibodies with isothermal titration calorimetry. *J. Appl. Bioanal.* **2016**, *2*, 90–102, doi:10.17145/jab.16.013.
64. Matulis, D.; Rouzina, I.; Bloomfield, V. A. Thermodynamics of Cationic Lipid Binding to DNA and DNA Condensation: Roles of Electrostatics and Hydrophobicity. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7331–7342, doi:10.1021/ja0124055.
65. Cassidy, L. M.; Burcar, B. T.; Stevens, W.; Moriarty, E. M.; McGown, L. B. Guanine-Centric Self-Assembly of Nucleotides in Water: An Important Consideration in Prebiotic Chemistry. *Astrobiology* **2014**, *14*, 876–886, doi:10.1089/ast.2014.1155.
66. Eimer, W.; Dorfmueller, T. Self-aggregation of guanosine 5'-monophosphate, studied by dynamic light scattering techniques. *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 6790–6800, doi:10.1021/j100195a048.
67. Meyer, B.; Peters, T. NMR Spectroscopy Techniques for Screening and Identifying Ligand Binding to Protein Receptors. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2003**, *42*, 864–890, doi:10.1002/anie.200390233.
68. Mayer, M.; Meyer, B. Characterization of Ligand Binding by Saturation Transfer Difference NMR Spectroscopy. *Angew. Chemie Int. Ed.* **1999**, *38*, 1784–1788, doi:10.1002/(SICI)1521-3773(19990614)38:12<1784::AID-ANIE1784>3.0.CO;2-Q.



**Ruslans Muhamadejevs** dzimis 1987. gadā Liepājā. Rīgas Tehniskajā universitātē ieguvis bakalaura grādu ķīmijā (2010) un inženierzinātņu maģistra grādu nanotehnoloģijās (2012). Kopš 2007. gada strādā Latvijas Organiskās sintēzes institūtā Fizikāli organiskās ķīmijas laboratorijā, galvenokārt pievēršoties kodolmagnētiskās rezonanses un skaitļošanas ķīmijas jomām. Ir 16 oriģinālu publikāciju, kas indeksētas *Scopus* un *Web of Science* datubāzē, līdzautors. Patlaban ir Latvijas Organiskās sintēzes institūta zinātniskais asistents.