

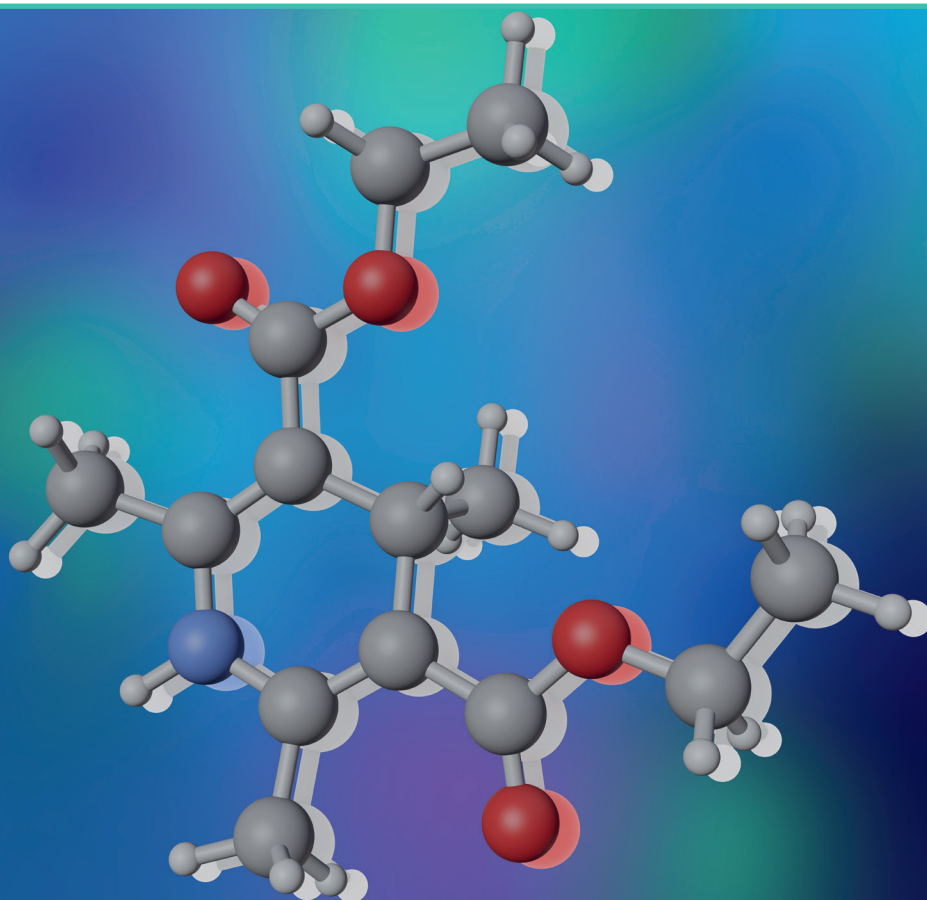


RĪGAS TEHNISKĀ
UNIVERSITĀTE

Ruslans Muhamadejevs

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

Promocijas darbs



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 darbs

Zinātniskie vadītāji:

Dr. chem. MARINA PETROVA,

asociētā profesore *Dr. chem.* MĀRA PLOTNIECE,

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

profesors *Dr. habil. chem.* VALDIS KAMPARS

RTU Izdevniecība
Rīga 2023

Muhamadejevs, R. 1,4-Dihidropiridīna
atvasinājumu fizikāli-ķīmiskā un *in silico* izpēte.
Promocijas darbs. Rīga: RTU Izdevniecība, 2023.
145 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**

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 (^1H , ^{13}C un ^{15}N) KMR spektroskopijas palīdzību.

Ar dinamisko ^1H 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.

ANNOTATION

Keywords: 1,4-dihydropyridine derivatives, quantum chemical calculations, intramolecular hydrogen bonding, isothermal titration calorimetry, H/D isotope effects, nuclear magnetic resonance spectroscopy, bromination, *N*-bromosuccinimide.

The Doctoral Thesis is dedicated to the study of 1,4-dihydropyridine derivatives using nuclear magnetic resonance spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, isothermal titration calorimetry, and other physical-chemical methods as well as quantum chemical calculations. The Thesis consists of an introduction, a literature review, an evaluation of results, an experimental section, conclusions, a list of references and applications.

The bromination of the 2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine (1,4-DHP) derivatives with *N*-bromosuccinimide (NBS) leads to previously unknown intermediates that exist only in the reaction mixture. Their structures were identified by multinuclear (^1H , ^{13}C and ^{15}N) NMR spectral data.

An unusual temperature dependence of the diastereotopic protons of the AB system of the 2- and 6-methylene groups in the 1,4-DHP cycle was revealed by dynamic ^1H NMR spectroscopy.

For the first time for some 1,4-DHP derivatives, an anomalous shortening of the $|\text{N-H}|$ bond upon the intramolecular $|\text{N-H}|\cdots\text{O}$ hydrogen bond formation was registered by multinuclear NMR and IR spectroscopy.

By isothermal titration calorimetry and NMR technique, binding of 5'-mononucleotide monophosphates (as a prodrug model) to the lipid-like 1,4-dihydropyridine derivatives with long alkyl chains of the ester groups at positions 3 and 5 of the 1,4-DHP cycle (as potential candidate molecules for gene transfection systems) was characterized.

The Thesis is written in Latvian, its volume is 145 pages. It contains 78 figures, 21 tables, and 328 references.

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 β -diketonu laboratorijas līdzstrādniekiem par sintezētajiem savienojumiem, zinātniskajām idejām un diskusijām!

Liels paldies *Dr. chem.* Jurim Popelim 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	9
PROMOCIJAS DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS	10
Ievads	10
Promocijas darba mērķis un galvenie uzdevumi	10
Promocijas darba zinātniskā nozīme un novitāte	11
Promocijas darba praktiskā nozīme	11
Aizstāvamās tēzes	11
Promocijas darba rezultātu aprobācija un publikācijas	12
1. LITERATŪRAS APSKATS	14
1.1. 1,4-DHP atvasinājumu halogenēšanas reakcijas	14
1.1.1. Bromēšanas reakcijas pētījumi	15
1.1.2. 1,4-DHP atvasinājumu 2. un 6. metilgrupu bromēšana ar NBS	20
1.1.3. 1,4-DHP atvasinājumu 2. un 6. metilgrupu hlorēšana ar <i>N</i> -hlorosukcinimīdu	23
1.1.4. 1,4-DHP cikla oksidēšana ar NBS	25
1.2. 1,4-DHP atvasinājumu struktūras ģeometrijas īpatnības	27
1.2.1. 1,4-DHP gredzena struktūrīpatnības	28
1.2.2. Aizvietotāju dinamiskās īpašības 1,4-DHP atvasinājumos	30
1.2.3. 1,4-DHP atvasinājumu polimorfisms	35
1.3. 1,4-DHP atvasinājumi ar gariem alkilaizvietotājiem kā iespējamie gēnu transfekcijas aģenti	36
1.3.1. 1,4-DHP atvasinājumu katjono lipīdu pašagregācija	38
1.3.2. 1,4-DHP atvasinājumu veidotie lipopleksi	39
2. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS	42
2.1. 1,4-DHP atvasinājumu 2. un 6. pozīciju metilgrupu bromēšana ar NBS	42
2.1.1. 1,4-DHP atvasinājuma 1a bromēšanas reakcija ar vienu NBS ekvivalentu	44
2.1.2. 1,4-DHP atvasinājuma 1a bromēšanas reakcija ar diviem ekvivalentiem NBS	48
2.1.3. 1,4-DHP atvasinājuma 1a bromēšanas ar NBS reakcijas kinētika	51
2.2. 2. un 6. pozīcijās aizvietoto 1,4-DHP atvasinājumu strukturālās īpašības	53
2.2.1. 1,4-DHP atvasinājumi ar C-H ···O=C tipa iekšmolekulārām ūdeņraža saitēm	56
2.2.2. 1,4-DHP atvasinājumi ar N-H ···O=C tipa iekšmolekulārām ūdeņraža saitēm	66
2.3. Katjonu lipīdi uz 1,4-DHP atvasinājumu bāzes un to saistīšanās ar mononukleotīdiem	77
2.3.1. Katjonu amfifilio lipīdiem līdzīgo 1,4-DHP atvasinājumu pašagregācijas pētījumi	78
2.3.2. RNS 5'-mononukleotīdu saistība ar 1,4-DHP atvasinājumiem, ¹ H KMR titrēšana	80
2.3.3. RNS 5'-mononukleotīdu saistība ar 1,4-DHP atvasinājumiem, ¹ H KMR un ITK pētījumu salīdzinājums	82
2.3.4. RNS 5'-mononukleotīdu kompleksu un dažu 1,4-DHP atvasinājumu kompleksu veidošanās salīdzinājums	85
3. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA	87
3.1. Reaģenti	87
3.2. Fizikāli-ķīmiskās metodes	87
3.2.1. KMR spektroskopija	87
3.2.2. Infrasarkanā Furjē spektroskopija	87
3.2.3. Izotermāla titrēšanas kalorimetrija	87
3.3. Aprēķini	87
3.3.1. Kvantu ķīmiskie aprēķini	87

3.3.2. LogP aprēķini.....	88
3.4. Eksperimentu apraksti	88
3.4.1. KMR 1,4-DHP bromēšanas eksperimenti.....	88
3.4.2. 1,4-DHP atvasinājumu bromēšanas reakcijas kvantu ķīmiskie aprēķini	88
3.4.3. Kvantu ķīmiskie aprēķini 1,4-DHP atvasinājumiem 2b, 2f, 3b, 3f un 4b.....	88
3.4.4. Temperatūras KMR eksperimenti 1,4-DHP atvasinājumu pētījumos	89
3.4.5. Kvantu ķīmiskie aprēķini 1,4-DHP 2b un 2f atvasinājumu konformēru noteikšanai	89
3.4.6. Temperatūras mērījumi 1,4-DHP 1, 5 un 6 atvasinājumu KMR pētījumos	89
3.4.7. Infrasarkanās Furjē spektroskopijas mērījumi 1,4-DHP 1, 5 un 6 atvasinājumiem	89
3.4.8. Kvantu ķīmiskie aprēķini 1,4-DHP atvasinājumu iekšmolekulārās ūdeņraža saites izpētei	89
3.4.9. Katjonu amfifilo lipīdiem līdzīgo 1,4-DHP atvasinājumu paraugu sagatavošana KMR un ITK eksperimentiem	90
3.4.10. KMR eksperimenti 1,4-DHP atvasinājumu un mononukleotīdu saistīšanās pētījumos.....	90
3.4.11. ITK eksperimenti 1,4-DHP atvasinājumu saistīšanās ar mononukleotīdiem noteikšanai, un 1,4-DHP atvasinājumu pašagregācijas pētījumi	90
SECINĀJUMI	91
CONCLUSIONS	93
LITERATŪRAS SARAKSTS	95
PIELIKUMI	117
1. Pielikums	118
2. Pielikums	119
3. Pielikums	132
4. Pielikums	139

LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

(BzO) ₂	dibenzilperoksīds
AcOH	etiķskābe
AMF	adenozīna 5'-monofosfāts
ASM	atomspēku mikroskopija
BFT	blīvuma-funkcionālā teorija (<i>Density-Functional Theory, DFT</i>)
CMF	citidīna 5'-monofosfāts
CP-MAS	šķērspolarizācijas eksperimenti zem maģiskā (54.4°) leņķa
DGI	dinamiskā gaismas izkliede (<i>Dynamic Light Scattering, DLS</i>)
DHP	dihidropiridīns
DIPEA	N,N-diizopropiletilamīns
DNS	dezoksiribonukleīnskābe
DPPC	dipalmitoilfosfatidilholīns
DSK	diferenciālā skenējošā kalorimetrija
EPR	elektronu paramagnētiskā rezonanse
FT	Furjē transformācijas (<i>Fourier transform</i>)
FTIS	Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopija
GMF	guanozīna 5'-monofosfāts
HOMO	augstākā aizņemtā molekulārā orbitāle (<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>)
IE	izotopu efekts
IS	infrasarkanais
ITK	izotermāla titrēšanas kalorimetrija (<i>Isothermal Titration Calorimetry, ITC</i>)
kcal	kilokalorija
K _D	kompleksa disociācijas konstante
kJ	kilodžouls
KMK	kritiskā micellu koncentrācija
KMR	kodolu magnētiskā rezonanse
KOE	kodolu Overhauzera efekts
KVK	kritiskā vezikulu koncentrācija
LUMO	zemākā neaizņemtā molekulārā orbitāle (<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>)
milj. d.	miljonā daļa
mljrd. d.	miljardā daļa
NBO	dabiskās saites orbitāļu metode (<i>Natural Bond Orbital</i>)
NBS	N-bromsukcinimīds
NCS	N-hlorsukcinimīds
NHS	sukcinimīds
NIF	nifedipīns
pDNS	plazmīdu DNS
PEV	potenciālās enerģijas virsma
PPDS	piesātinājuma pārnese dubultstarpība
PVO	Pasaules Veselības organizācija
RNS	ribonukleīnskābe
sav.	savienojums
šķīd.	šķīdinātājs
TEM	caurejošā starojuma elektronmikroskopija (<i>Transmission Electron Microscopy</i>)
UMF	uridīna 5'-monofosfāts
UV-Vis	ultravioletā-redzamā spektroskopija (<i>Ultraviolet-visible</i>)

PROMOCIJAS DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS

Ievads

1,4-Dihidropiridīna (1,4-DHP) cikls tiek uzskatīts par vienu no privilēģētām ķīmiskām struktūrām medicīnas ķīmijā [1–4] un tāpat 1,4-DHP atvasinājumi ir ļoti svarīgi sintētiskajā, farmaceitiskajā un bioorganiskajā ķīmijā. Piemēram, nifedipīns un amlodipīns ir Pasaules Veselības organizācijas (PVO) nozīmīgo zāļu sarakstā [5].

1,4-Dihidropiridīna atvasinājumiem piemīt ne tikai kalcija kanālu antagonistu un antihipertensīvās [6,7] īpašības, tiem ir arī antiaritmiska [8], neurotransmiteru [9], pretkrampju [10], antioksidantu [11–15], antiradikālā [16,17], pretvēža [18–20], anti-diabētiskā [21,22], antibakteriālā [19,23,24], šūnu augšanas modulatoru [25], antikoagulantu [26], adenoziņa receptoru antagonistu [27], zāļu multirezistences (*multidrug resistance*) modulējoša [28–30] un daudzas citas aktivitātes [1,3,30–33].

Latvijas Organiskās sintēzes institūta Membrānaktīvo savienojumu un β -diketonu laboratorijā sintezēti 1,4-DHP atvasinājumi (katjoni amfifili lipīdiem līdzīgi savienojumi) ar garām alkilķēdēm 1,4-DHP cikla 3. un 5. esteru grupējumos un piridīnija aizvietotājiem 1,4-DHP cikla 2. un 6. vietās. Pierādīts, ka šiem atvasinājumiem piemīt pašagregācijas īpašības, ūdens šķīdumos tie veido dažāda veida vezikulas un tos var lietot kā nevirālos gēnu transfekcijas līdzekļus [34,35]. Nevirālo gēnu transfekcijas līdzekļu lietošana salīdzinot ar virālajiem transfekcijas aģentiem, neizraisa imūno reakciju un tos var sintezēt diezgan ātri lielos apjomos [36]. Tomēr joprojām nav skaidrs RNS/DNS un katjonu aizvietotāju saturošu lipīdveida 1,4-DHP atvasinājumu kompleksu veidošanās mehānisms, kā arī katjonu lipīdu pašagregācija nav pietiekami labi izpētīta.

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 [37].

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 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, kuras ir 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|...O tipa iekšmolekulāro ūdeņraža saišu kopējā ietekme atsevišķos konformēros rada ievērojamu atšķirību diasterotopo metilēngrupu protonu ekranēšanā, ietekmējot 2. un 6. pozīcijas diastereotopo metilēngrupu protonu magnētisko neekvivalenci.

- 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.
- 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 saistīšanās mijiedarbību.

Promocijas darba rezultātu aprobācija un publikācijas

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

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

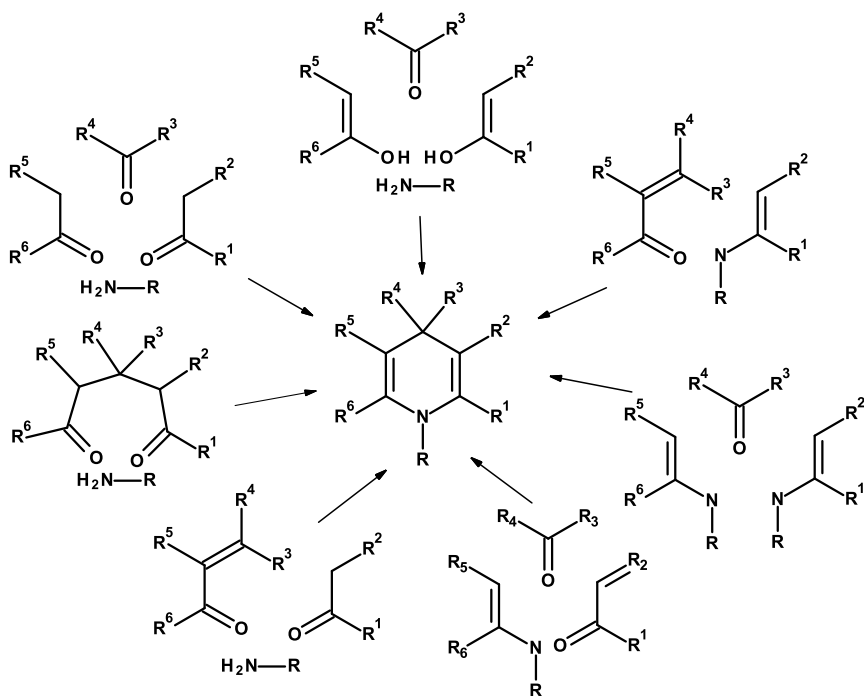
Referāti konferenču tēžu krājumos

- 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**.
- 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**.
- 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**.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1,4-Dihidropiridīni (1,4-DHP) pieder pie slāpekli saturošo 6-locekļu heterociklu klases. Pirmo 4-neaizvietoto 1,4-DHP 3,5-dikarboksilātu sintēzi veica Artūrs Hančs (*Arthur Rudolf Hantzsch*) 1881. gadā [38], tāpēc bieži tos sauc par Hanča dihidropiridīniem vai Hanča esteriem un tie ir visvairāk pētīti. Sintēze, kas tika nosaukta Hanča vārdā, bija aldehīda, aktīvo metilēngrupu saturošā karbonsavienojuma un amonjaka vai pirmējā amīna kondensācija. Pašlaik Hanča sintēze ir visplašāk izmantotā metode simetrisku 1,4-dihidropiridīnu ar augstu produkta iznākumu un tīrību iegūšanai. Izmantojot dažādus reaģentus, ir iespējams modificēt visas sešas 1,4-dihidropiridīna savienojuma pozīcijas (1.1. att.) [39–43]. Izmantojot Hanča reakciju, ir iespējams iegūt arī kondensētus 1,4-DHP atvasinājumus, piemēram, tetrahidrohinolīna vai heksahidrohinolīna analogus, kuriem piemīt 1,4-DHP atvasinājumiem raksturīgās bioloģiskās īpašības (kalcijs kanālu regulējošas, pretmalārijas un daudzas citas) [44–47].



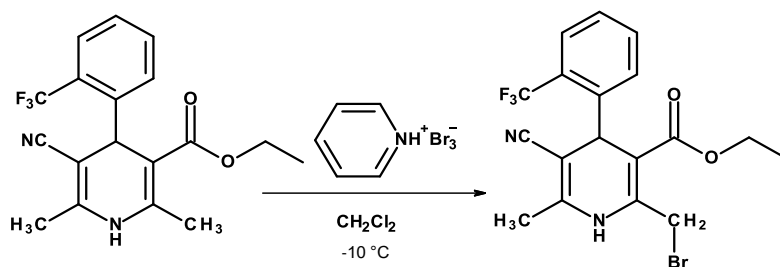
1.1. att. Dažādas 1,4-dihidropiridīna atvasinājumu iegūšanas vispārīgās stratēģijas shēmas [39–43].

1.1. 1,4-DHP atvasinājumu halogenēšanas reakcijas

Lai detalizēti varētu analizēt 1,4-DHP atvasinājumu struktūras aktivitātes attiecības un iegūtu savienojumus ar iespējami dažādām īpašībām, viens no variantiem ir veikt metilgrupu modificēšanu 1,4-DHP cikla 2. un 6. pozīcijās (R¹, R⁶ aizvietotāji) (1.1. att.). Lai

funkcionalizētu minētos aizvietotājus, sākotnēji veic to halogēnēšanu (visbiežāk bromēšanu), kam parasti seko halogēna nukleofīla aizvietošana ar dažādām funkcionālām grupām (piridīns, ciānogrups, alkilgrups un citi) [48–52]. Tomēr padziļināti halogēnēšanas/bromēšanas reakcijas mehānismi nav pētīti un literatūrā nav plaši aprakstīti.

1,4-DHP cikla metilgrupu 2. un 6. pozīcijās bromēšana ir nepieciešams solis tālākai broma nukleofīlai aizvietošanai [16,48,53,54]. 1,4-DHP atvasinājumu metilgrupu bromēšanai parasti izmanto NBS [48,55,56], kā arī piridīnija vai kolidīnija bromīda perbromīdu [7,52,53,57,58], 4-dimetilaminopiridīnija bromīdu [59], bromu [60,61] vai dioksāna dibromīdu [60].



1.2. att. 1,4-DHP atvasinājuma 2. un 6. metilgrupu bromēšana ar NBS metanolā [62].

Veicot nesimetrisku 1,4-DHP atvasinājumu 2. vietas bromēšanas reakcijas, lietojot ekvimolāru daudzumu piridīnija bromīda perbromīda, reakciju veicot $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūrā, reģioselektīvi iegūst monobromatvasinājumus ar 70-90% iznākumu (1.2. att.) [62].

1.1.1. Bromēšanas reakcijas pētījumi

Reakciju mehānismu izpēte ir nepieciešama, lai labāk izprastu reakcijas norises kārtību, kā arī prognozētu iespējamo reakcijas produktu struktūru. Ķīmisko reakciju mehānismu pētīšanai tiek pielietotas dažādas metodes [63,64]. Starpproduktu analīzei un identificēšanai tiek izmantotas tādas eksperimentālās metodes kā infrasarkanā (IS) spektroskopija, elektronu paramagnētiskās rezonanses (EPR) spektroskopija, masspektrometrija, rentgendifraktometrija, hromatogrāfijas metodes, KMR spektroskopija, ultravioletā-redzamā (UV-Vis) spektroskopija u.c. Plaši tiek pielietotas arī teorētiskās metodes, piemēram, kvantu ķīmiskie aprēķini, kas ļauj prognozēt potenciāli iespējamo reakcijas starpproduktu veidošanos, īpaši gadījumos, kad to klātbūtni ir sarežģīti vai nav pat iespējams noteikt eksperimentāli.

Nedestruktīvās metodes – KMR, IS, EPR, UV-Vis ļauj izsekot visam reakcijas procesam, to nepārtraucot. Savukārt destruktīvās hromatogrāfijas metodes/masspektrometrija sniedz informāciju tikai par atsevišķiem procesa posmiem. Šo trūkumu kompensē biežāka paraugu ņemšana no reakcijas maisījuma vai vairāku dažādu metožu vienlaicīga pielietošana.

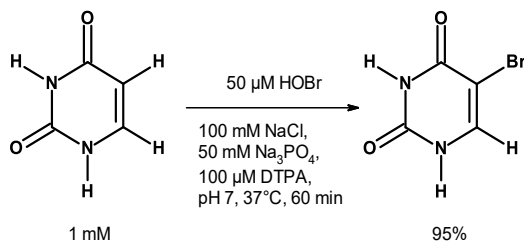
Ir zināmas vairākas pamatmetodes kā identificēt starpproduktus:

1. Stabīlu starpproduktu izdalīšana no reakcijas maisījuma un to analīze ar dažādām metodēm (masspektrometrija, rentgenstruktūranalīze, šķidrums/gāzu hromatogrāfija, KMR spektroskopija).
2. Nedestruktīvo metožu (IS, KMR, EPR) izmantošana, lai detektētu un noteiktu starpproduktu struktūru tieši reakcijas maisījumā, ja tos nevar izolēt vai tie nav pietiekami stabili analizējot ar citām metodēm [65–68].

3. Starpproduktu identifikācija/”noķeršana” (*trapping*), pievienojot reakcijas maisījumam īpašus reaģentus, kas maina reakcijas gala rezultātu [69–71].
4. Potenciālo atsevišķi sintezēto reakcijas starpproduktu pievienošanas procedūra, lai pierādītu teorētisko reakcijas mehānismu [72].
5. Atomu aizstāšana ar to izotopiem izejmateriālos (Izotopu marķēšanas tehnika) ļauj noteikt, kā specifiski atomi vai molekulu fragmenti ķīmisko reakciju laikā migrē no izejvielām un starpproduktiem pārvēršoties galaproduktos [73–75].

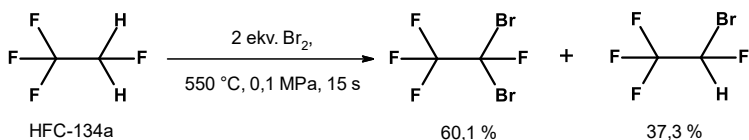
Dažām savienojumu klasēm bromēšanas reakcija ir pietiekami detalizēti pētīta, pielietojot dažādas eksperimentālas un teorētiskas metodes, tai skaitā arī aprēķinu metodi. Aprēķinu metožu izmantošana ļauj prognozēt konkrētas ķīmiskās reakcijas gaitas varbūtību, īpaši situācijā, kad starpproduktus nav iespējams izpētīt vai tos var detektēt tikai ar ļoti specifiskām metodēm, veicot aprēķinus ir iespējams izsekot atomu pārvietošanās gaitai ķīmiskajās reakcijās.

Piemēram, uracila bromēšanas reakcija iegūstot 5-bromuracilu (1.3. att.), kas ir zināms ar savu mutagenitāti, tika izpētīta gan teorētiski [76], gan eksperimentāli (UV-Vis, IS un KMR) [77–80]. Teorētiskā pētījuma rezultāti ne tikai apstiprināja, bet arī papildināja iepriekš iegūtos eksperimentālos datus. Informācija par iespējamajiem reakcijas starpproduktiem un ķīmiskā procesa kinētiku ļāva saprast, kāpēc dažus starpproduktus praktiski nav iespējams “notvert” eksperimentāli un atsevišķi reakcijas posmi notiek ļoti lēni. Zināšanas par šādu savienojumu bromēšanas mehānismu var sniegt labāku izpratni par 5-bromuracila veidošanas apstākļiem un iespēju nepieciešamības gadījumā tos sekmēt, parādot, ka notiek hipobromskābes pievienošanās uracila cikla dubultsaietei un produkta veidošanās ātrums ir atkarīgs no reakcijas vides pH.



1.3. att. Uracila bromēšana ar hipobromskābi [81].

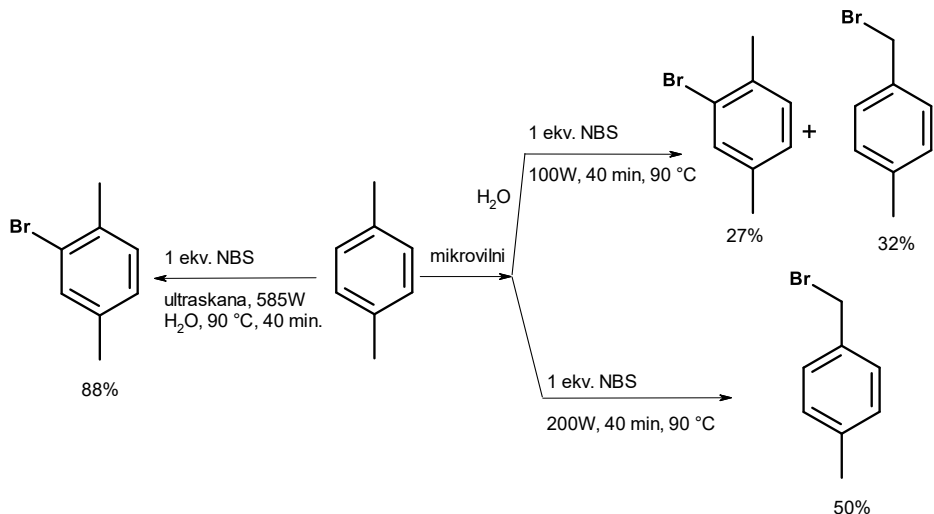
Pētot gāzveida 1,1,1,2-tetrafluoretāna (aukstumagēnts HFC-134a) bromēšanas reakciju ar molekulāro bromu (1.4. att.), aprēķinu metodes ļauj noteikt iespējamās reakcijas starpproduktus pat tad, ja instrumentālas analīzes metodes (gāzu hromatogrāfija-masspektrometrija) nav spējīgas tos detektēt [82]. Reakcija notiek pēc radikālu mehānisma ar maksimālu 98% izejvielas konversiju, un dibromatvasinājums kā mērķa produkts rodas ar 60,1% iznākumu. Reakcijai optimāla ir 550 °C temperatūra, jo augstākās temperatūrās rodas daudz blakusproduktu.



1.4. att. 1,1,1,2-Tetrafluoretāna bromēšana [82].

Instrumentālas metodes bieži izmanto reakcijas produktu raksturošanai, lai novērtētu reakcijas iznākumu vai bromēšanas selektivitāti.

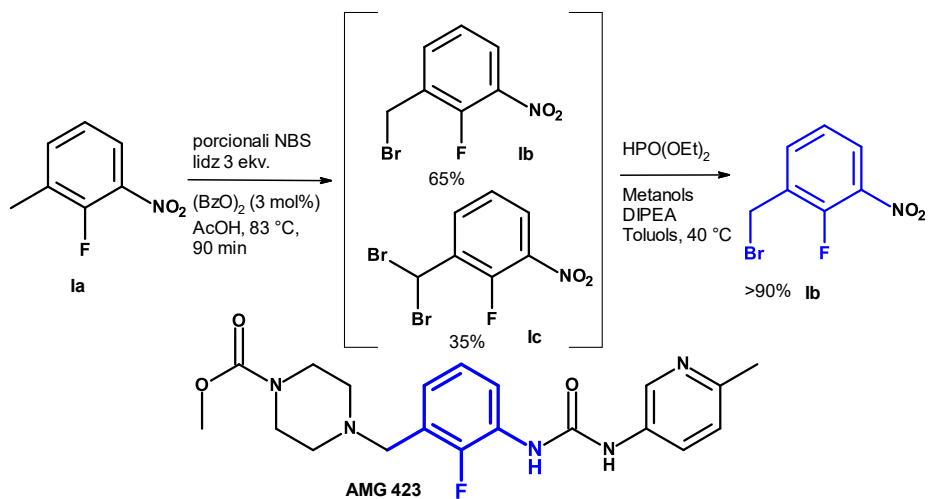
Mehānismi bromēšanas reakcijām ar NBS galvenokārt tika apstiprināti, pamatojoties uz reakcijas galaproduktu struktūru, bez starpproduktu analīzes bromēšanas procesā [83,84,93,85–92]. Sākumā tika pieņemts, ka bromēšana ar NBS notiek pēc radikāļu mehānisma [94,95], un bija aprēķināts, ka bromēšanas ar NBS selektivitāte ir ļoti augsta [96,97]. Turklāt literatūrā ir pārlicinoši pierādījumi par bromēšanas reakciju jonu dipolu vai jonu uzbrukuma mehānismu, nevis par radikāļu mehānismu [98,99].



1.5. att. *p*-Ksilola bromēšanas ar NBS dažādos apstākļos, shēma [100].

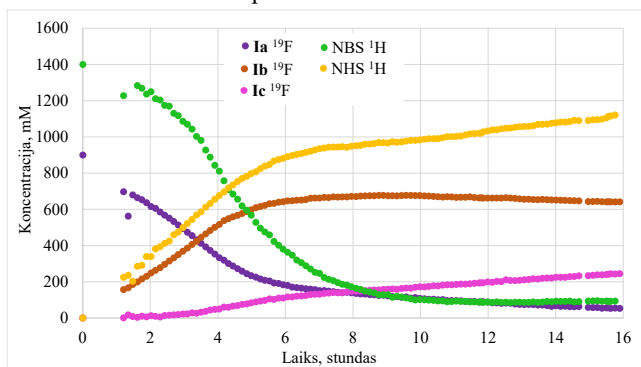
Ir reakcijas, kurās izvēlētie apstākļi nosaka, kura grupa vai molekulas daļa tiks pakļauta bromēšanai. Piemēram, izmantojot NBS dažādos apstākļos tika veikta selektīva *p*-ksilola bromēšana (1.5. att.) [100,101]. Pētījuma rezultāti rāda, ka, sonificējot reakcijas maisījumu ūdens klātbūtnē, notiek tikai *p*-ksilola aromātiskā gredzena bromēšana, t.i., notiek elektrofilā aizvietošanās *o*-pozīcijā pret vienu metilgrupu. Savukārt, pievienojot NBS un apstrādājot reakcijas maisījumu ar mikroviļņu starojumu, tiek veicināta sānu ķēdes alkilaizvietotāja bromēšanas reakcija, kas liecina par reakcijas norisi pēc radikāļu mehānisma. Veicot reakciju ar NBS mikroviļņu starojumā ūdens klātbūtnē, tiek novērota abu iepriekšminēto produktu maisījuma veidošanās, tātad vienlaicīgi notiek gan elektrofilā aizvietošanās aromātiskajā gredzenā, gan sānu ķēdes metilaizvietotāja bromēšana.

Nitrobenzola atvasinājuma **Ia**¹ bromēšanas, izmantojot NBS etiķskābē ar (BzO)₂ kā radikāļu iniciatoru, reakcijas kinētikas pētījumos, tika pielietota ¹H un ¹⁹F KMR spektroskopija [65], noskaidrojot, ka kā reakcijas starpprodukti rodas attiecīgie monobrommetil- **Ib** un dibrommetilatvasinājumi **Ic**. Starpproduktus neizdalot, bet apstrādājot ar HPO(EtO)₂, DIPEA un metanolu toluola šķīdumā 40 °C temperatūrā, tiek izolēts tikai monobromatvasinājums **Ib** (1.6. att.).



1.6. att. 2-Fluor-1-metil-3-nitrobenzola **Ia** bromēšanas reakcija ar NBS etiķskābē [65].

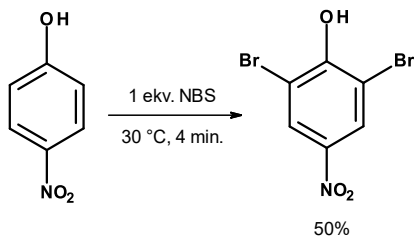
Rūpīgi izpētot bromēšanas kinētiku (nitrotoluola atvasinājuma sākotnējā koncentrācija ir 0,9M, NBS – 1,51M un benzoilperoksīda – 27mM) (1.7. att.) [65], var redzēt, ka sukcinimīda veidošanās ātrums nekorelē ar bromēto produktu veidošanās ātrumu.



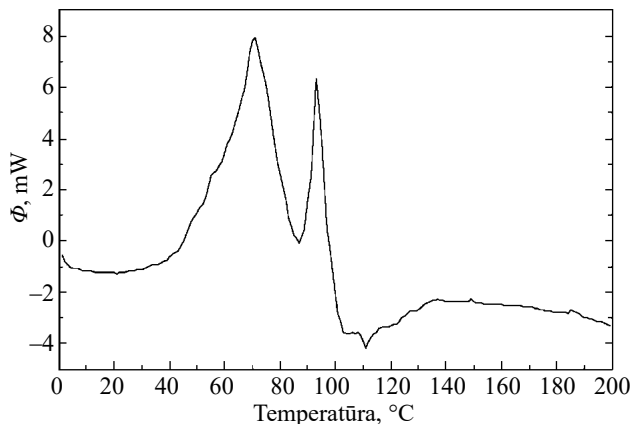
1.7. att. Ar ¹H un ¹⁹F kriogēno KMR novērotā 2-fluor-1-metil-3-nitrobenzola **Ia** bromēšanas reakcijas kinētika 83 °C temperatūrā [65].

¹ Šeit un turpmāk autors nelieto zinātniskajā literatūrā izmantoto vienoto savienojumu numerāciju, bet atsaucas uz konkrētajos darbos minēto savienojumu numerāciju, kas atvieglo darba salīdzināšanu ar oriģinālajiem avotiem.

Pēc kāda laika monobromatvazinātā savienojuma koncentrācija sāk samazināties, kas nozīmē, ka monobromatvazinājuma veidošanās ātrums ir kļuvis mazāks par dibromatvazinājuma veidošanās ātrumu. Pēc autoru domām, šī reakcija pierāda, ka NBS sekmē aktīvo savienojumu (piemēram, Br₂) veidošanās šķīdumā. Aktīvie savienojumi iesaistās bromēšanas reakcijā, un izraisa bromēto produktu veidošanās aizkavēšanos attiecībā pret bromēšanas ātrumu un sukcinimīda (NHS) veidošanās ātrumu. Fakts, ka N-halogēnimīdi ir ne tikai halogēnu katjonu, bet arī halogēnu molekulu avots, tika atzīmēts jau agrāk [102,103].



1.8. att. *p*-Nitrofenola bromēšanas ar NBS reakcija cietajā fāzē [104].



1.9. att. DSK termogramma *p*-nitrofenola reakcijai ar NBS [104].

Used with permission of the Royal Society of Chemistry, from Solid state nuclear bromination with N-bromosuccinimide. Part 1. Experimental and theoretical studies on some substituted aniline, phenol and nitro aromatic compounds, Jagarlapudi A. R. P. Sarma, Akula Nagarajua, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2000**, 1113-1118; permission conveyed through Copyright Clearance Center, Inc."

Darbu [104,105] autori eksperimentāli un teorētiski pētīja dažu aizvietotu anilīna, fenola un nitroaromātisko savienojumu bromēšanu ar NBS cietajā fāzē, novērojot labu produktu iznākumu un selektivitāti. Tajā pašā laikā autori pieņēma, ka daļa reakciju notiek nevis starp cietajām fāzēm, bet gan starp cietajām un gāzveida fāzēm, jo reakcijas laikā no NBS izdalījās Br₂. Tā kā bromēšanas reakcija ar NBS cietajās fāzēs ir ļoti eksotermisks process, lai iegūtu optimālu produkta iznākumu, temperatūra jāsauglabā zem reaģentu kušanas temperatūrām. NBS un *p*-nitrofenola attiecībā 1:1 molekvalenti reakcijas (1.8. att.) pētīšanai izmantota diferenciālās skenējošās kalorimetrijas (DSK) metode, termogramma dota attēlā (1.9. att.). Pirmie divi eksotermiskie maksimumi 43 un 60 °C temperatūrās (plecs) atbilst mono- un dibrom-produktu veidošanās procesam, trešā eksotermiskā virsotne 89 °C temperatūrā

visticamāk atbilst citu produktu veidošanās vai NBS sadalīšanās procesam. Reakcijas maisījuma kušanas dēļ tiek novērots neliels endotermiskais maksimums pie 110 °C [104].

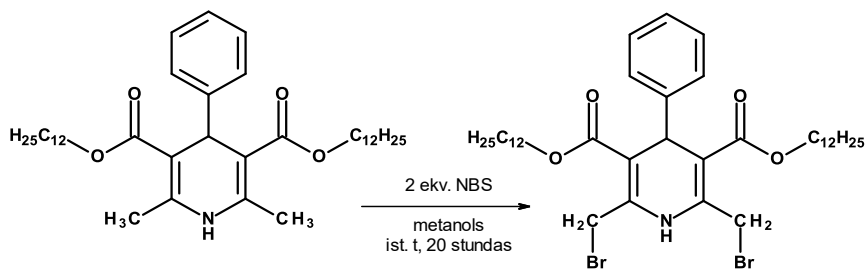
Tā kā daži no pētītajiem savienojumiem nereaģēja ar NBS, izmantojot aprēķinu metodes, tika konstatēts, ka lielākajai to daļai HOMO (augstākā aizņemtā molekulārā orbitāle) ir ievērojami zemāka nekā reaģentiem, kā arī enerģijas starpība starp HOMO un LUMO (zemākā neaizņemtā molekulārā orbitāle) ir lielāka tiem savienojumiem, kas nereaģēja ar NBS.

Kā redzams no iepriekšminētā, NBS ir bromēšanas reaģents, ko var izmantot selektīvai bromēšanai šķidrā vai cietā fāzē, iegūstot augstu reakcijas produkta iznākumu. Tomēr joprojām nav pilnībā izprasts dažu praksē lietoto bromēšanas reakciju mehānisms izmantojot NBS, lai gan ir izpratne par to, kā var ietekmēt reakcijas selektivitāti, kā arī par to, kā ierosināt vai novērst reakciju norisi pēc radikāļu mehānisma.

1.1.2. 1,4-DHP atvasinājumu 2. un 6. metilgrupu bromēšana ar NBS

Bromēšanas reakcijā ar NBS zemā temperatūrā (līdz 40 °C) var izmantot sausus šķīdinātājus, piemēram, acetonitrilu, dihlormetānu, metilformiātu, etilacetātu vai metanolu un acetonu [48,106–111]. Veicot salīdzinoši īsus (metil-/butil-) 3,5-alkilaizvietotājus saturošu 4-aryl-3,5-dialkoksikarbonil-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridīnu, tai skaitā arī N-aizvietotu atvasinājumu bromēšanu ar NBS un variējot tā daudzumu istabas temperatūrā 1 stundu, iegūti attiecīgie mono-, di-, tri- un tetrabromatvasinājumi ar 28-80% iznākumiem [55].

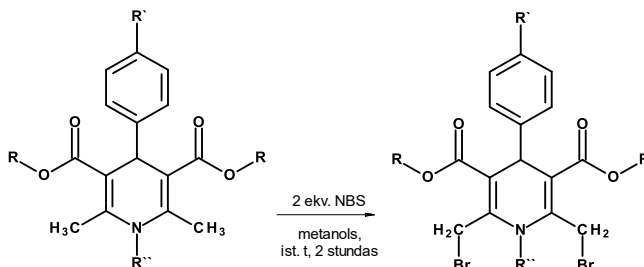
Pēdējā desmitgadē daudz pētīta lipīdiem-līdzīgu 4-aryl-3,5-dialkoksikarbonil-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridīnu, kas estera grupējumos satur garākas alkilķēdes (dodecil- un garākas) bromēšana. Piemērām, rakstā [48] bromēšana metanolā notiek istabas temperatūrā 20 stundu laikā iegūstot produktu ar 72% iznākumu (1.10. att.). Pirms tam šī reakcija tika veikta 0 °C temperatūrā 40 min. laikā, iegūstot produktu ar 34% iznākumu [112] vai vispār neizdalot attiecīgo 2,6-bisbrommetil-1,4-DHP atvasinājumu [50].



1.10. att. 1,4-DHP atvasinājumu 2. un 6. metilgrupu bromēšana ar NBS metanolā [48].

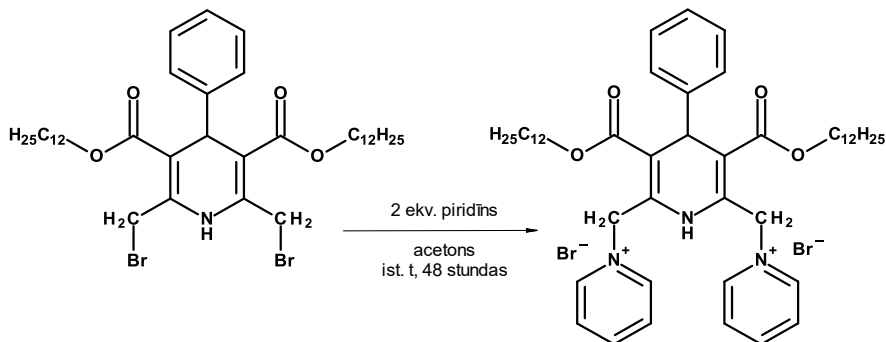
Bromējot citus 4-aryl- vai 4-arilaizvietotus 1,4-DHP ar lipīdiem līdzīgiem aizvietotājiem 3,5-esteru grupējumos, autori piedāvā NBS šķīdumu pievienot reakcijas maisījumam pakāpeniski, reakciju veikt istabas temperatūrā 2 stundas (1.1. tab.), produktu iznākumi bija 15-73% [54]. Autori atzīmē, ka 2,6-bisbrommetil-1,4-DHP atvasinājumi, kas 4. vietā satur aizvietotas arilgrupas tiek iegūti ar zemākiem iznākumiem un uzglabāšanas laikā veido laktonus [54].

1,4-DHP atvasinājumu brošēšana ar NBS [54]



N. p. k.	R	R'	R''	Iznākums, %
1.	C ₁₄ H _{29-n}	H	H	73
2.	C ₁₆ H _{33-n}	H	H	53
3.	C ₁₂ H _{25-n}	H	CH ₃	48
4.	C ₁₄ H _{29-n}	OH	H	17
5.	C ₁₀ H _{24-n}	OCH ₃	H	52
6.	C ₁₀ H _{24-n}	OC ₇ H _{15-n}	H	15

Bromēšanu ar tai sekojošu broma nukleofilu aizvietošanu var veikt viena reaktora sintēzē, neatdalot bromētos produktus [7,52]; izdalītie bromētie 1,4-DHP atvasinājumi ir ilgstoši stabili [55,62]. 2,6-Bisbrommetil-1,4-dihidropiridīna atvasinājumi tiek izmantoti kā starpprodukti 2. un 6. aizvietotu 1,4-DHP atvasinājumu sintēzē, piemēram, rakstā [48] ar iznākumu 82% 2,6-bisbrommetil-1,4-DHP atvasinājumam broma atomi tiek aizvietoti ar piridīnu acetona istabas temperatūrā 48 stundu laikā (1.11. att.). 1,4-DHP 2,6-bisbrommetilatvasinājumos bromu var aizvietot ar dažādām funkcionālām grupām [48,50–52,59,109].



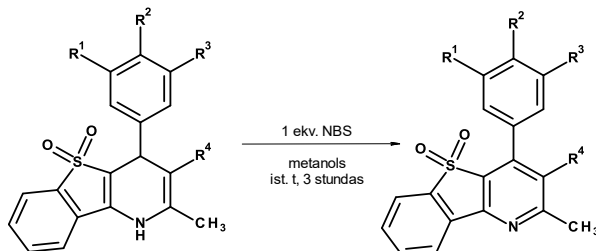
1.11. att. Broma nukleofila aizvietošana 2,6-bisbrommetil-1,4-DHP atvasinājumam ar piridīnu [48].

Veicot metilgrupas bromēšanu policikliskajiem 1,4-dihydrobenzotieno[3,2-*b*]piridīna 5,5-dioksīdiem (1.2. tab.) vai 4,5-dihidro-1*H*-indeno[1,2-*b*]piridīniem ar esteru vai ciāngrupu dihidropiridīna gredzena 3. pozīcijā (1.3. tab.) ar NBS tika iegūti atšķirīgi reakcijas produkti [113]. Ir konstatēts, ka NBS metanolā viegli oksidē 1,4-dihydrobenzotieno[3,2-*b*]piridīna 5,5-dioksīdus istabas temperatūrā ar augstu iznākumu dodot oksidētos savienojumus. Savukārt, 4,5-dihidro-1*H*-indeno[1,2-*b*]piridīnu reakcijā ar NBS metanolā reakcijas gaita ir atkarīga no

aizvietotāja 3. pozīcijā. Šie savienojumi tiek bromēti 4a pozīcijā, iegūstot stabilus dihidroindenopiridīna-3-esterus vai nestabilus 3-nitrilus, kas ātri tiek pakļauti dehidrobromēšanas reakcijai, kā rezultātā veidojas attiecīgie indenopiridīna-3-nitrili [113].

1.2. tabula

1,4-Dihidrobenzotieno[3,2-*b*]piridīna 5,5-dioksīda reakcija ar NBS [113]

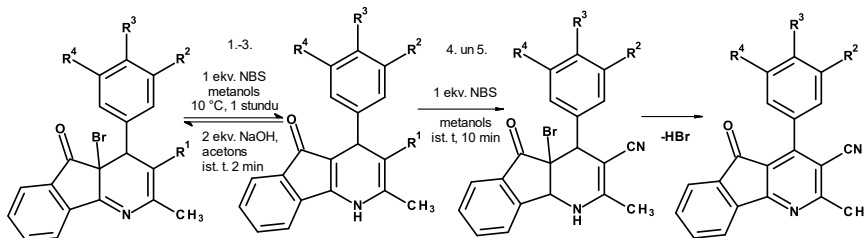


N. p. k.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Iznākums, %
1.	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	COOCH ₂ CH ₃	86
2.	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	COOC ₂ H ₄ CN	89
3.	H	Cl	H	CN	81
4.	H	Br	H	CN	87
5.	H	Cl	H	COOCH ₃	95

Reprinted from Tetrahedron, Volume 69, Issue 26, Brigita Cekavicus, Brigita Vigante, Martins Rucins, Kintija Birkmane, Marina Petrova, Sergey Belyakov, Liga Zuka, Aiva Plotniece, Karlis Pajuste, Marina Gosteva, Arkadij Sobolev, Contrasting behaviour of NBS towards 1,4-dihydrobenzothieno[3,2-*b*]pyridine 5,5-dioxides and 4,5-dihydro-1*H*-indeno[1,2-*b*]pyridines, Pages 5550-5557, Copyright (2013), with permission from Elsevier.

1.2. tabula

1,4-Dihidrobenzotieno[3,2-*b*]piridīna 5,5-dioksīda reakcija ar NBS [113]



N. p. k.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Iznākums, %		
					bromētais produkts	dehidrobromēšana	debromētais produkts
1.	COOCH ₃	H	CH ₃	H	70	-	92
2.	COOCH ₂ CH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	82	-	87
3.	COO(CH ₂) ₂ CN	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	79	-	85
4.	CN	H	CH ₃	H	91*	81	-
5.	CN	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	95*	79	-

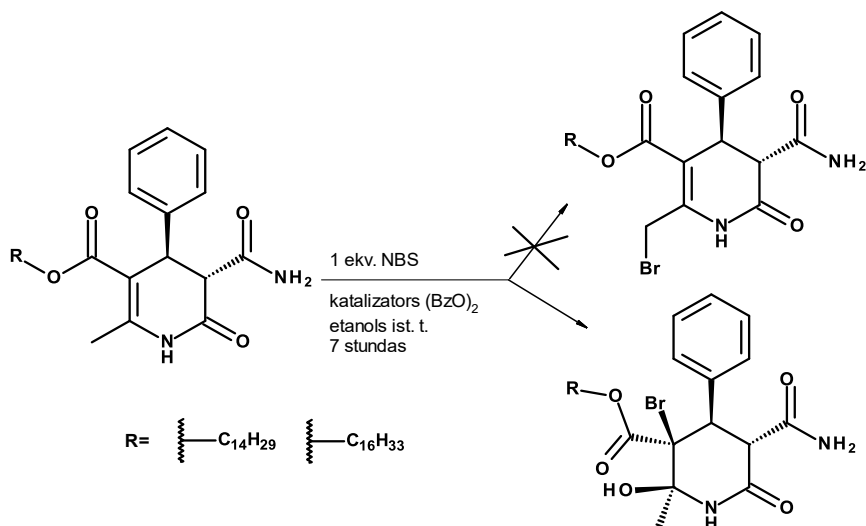
* – Nestabils

Reprinted from Tetrahedron, Volume 69, Issue 26, Brigita Cekavicus, Brigita Vigante, Martins Rucins, Kintija Birkmane, Marina Petrova, Sergey Belyakov, Liga Zuka, Aiva Plotniece, Karlis Pajuste, Marina Gosteva, Arkadij Sobolev, Contrasting behaviour of NBS towards 1,4-dihydrobenzothieno[3,2-*b*]pyridine 5,5-dioxides and 4,5-dihydro-1*H*-indeno[1,2-*b*]pyridines, Pages 5550-5557, Copyright (2013), with permission from Elsevier.

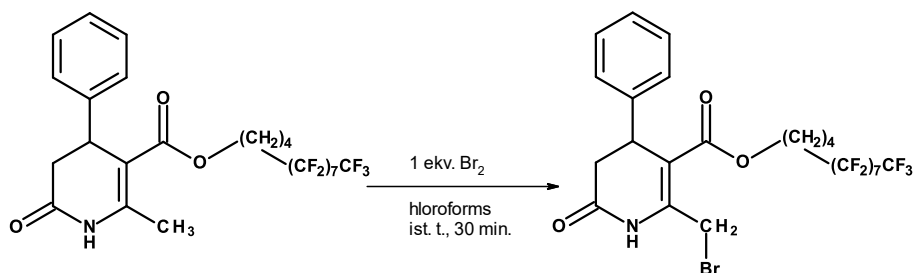
Pretstatā 1,4-DHP atvasinājumiem, ar garām alkilķēdēm aizvietoti 3,4-dihidropiridīn-2(1*H*)-ona atvasinājumi ar NBS reaģē savādāk, brommetilgrupas vietā veidojot produktu, kurā

notikusi broma pievienošanās reakcija piridona cikla dubultsaitei [114]. Reakcijas produkts satur arī hidroksilgrupu no ūdens kā šķīdinātāja (1.12. att.).

Tas nozīmē, ka pat strukturāli ļoti līdzīgi savienojumi nespēj precīzi reproducēt 1,4-DHP reakciju ar NBS un 1,4-DHP ciklam ir noteikta loma bromēšanas reakcijas mehānismā, un galaprodukta izveidē, kā arī tiek parādīts, ka šķīdinātājs var būt viens no reaģentiem šādā bromēšanas reakcijā.



1.12. att. 1,4-Dihidropiridīn-2(1*H*)-onu reakcija ar NBS [114].



1.13. att. Heptadekafluordodecil-2-metil-6-okso-4-fenil-1,4,5,6-tetrahidropiridīn-3-karboksilāta reakcija ar Br₂ [115].

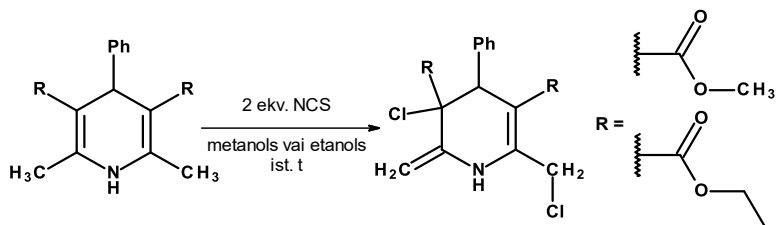
Citā piemērā parādīts, ka heptadekafluordodecil-2-metil-6-okso-4-fenil-1,4,5,6-tetrahidropiridīn-3-karboksilāta metilgrupa veiksmīgi nobromēta ar Br₂ hloroformā (1.13. att.), reakciju veicot 30 min. Produkts iegūts ar 72% iznākumu [115].

1.1.3. 1,4-DHP atvasinājumu 2. un 6. metilgrupu hlorēšana ar *N*-hlorosukcinimīdu

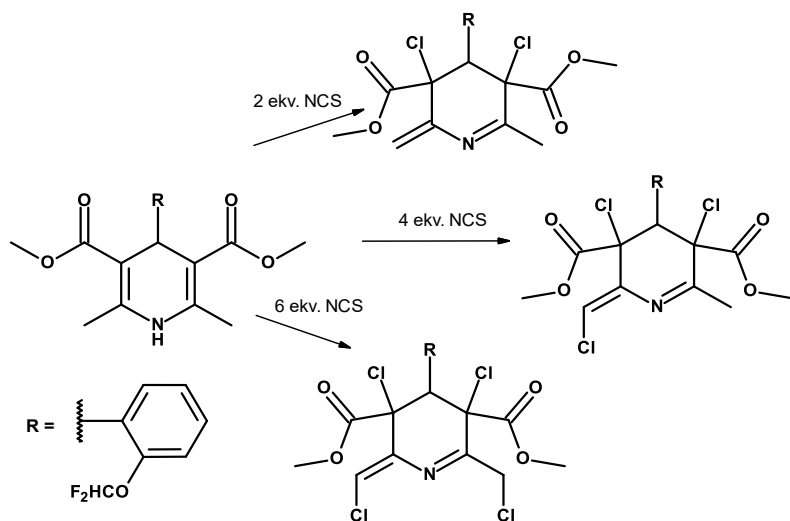
Literatūrā ir ļoti maz datu par 1,4-DHP atvasinājumu 2. un 6. pozīciju metilgrupu halogenēšanas reakcijas mehānismu. 3,5-Diciāno-1,4-DHP pat nereaģē ar NBS [60], lai augstāk apskatītajos apstākļos varētu bromēt šo 1,4-DHP atvasinājumu metilgrupas 2. un 6. pozīcijās. Šajos gadījumos ir ieteicams izmantot broma šķīdumu hloroformā vai etiķskābē. Autori ziņo

[60], ka alkilgrupu halogenēšana nenotiek pēc radikāļu mehānisma. To apstiprina radikāļu reakcijas ierosinātāja (benzoilperoksīda) pievienošana un parauga apstarošana, kā rezultātā produkta iznākums un reakcijas gaita netiek ietekmēta.

Ir vairāki pētījumi par līdzīgām reakcijām 1,4-DHP atvasinājumu 2. un 6. vietu metilgrupu hlorēšanai ar *N*-hlorsukcinimīdu (NCS), tomēr šo reakciju mehānisms, kā arī starpprodukti un galaprodukti ievērojami atšķiras no 1,4-DHP bromēšanas reakcijas produktiem (1.14. un 1.15. att.) [116–118]. Reakcija ar NCS sākumā notiek ar hlora pievienošanu 1,4-DHP dubultsaitei. Tātad hlorēšanas rezultātus nevar izmantot 1,4-DHP bromēšanas produktu, kā arī starpproduktu un mehānisma prognozēšanai.



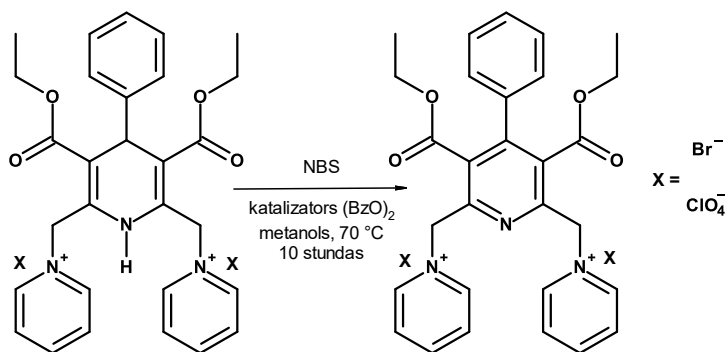
1.14. att. 4-Fenil-1,4-DHP atvasinājumu hlorēšanas reakcija ar NCS [116].



1.15. att. 1,4-DHP atvasinājumu reakcija ar 2, 4 vai 6 ekvivalentiem NCS metanolā vai etanolā istabas temperatūrā [53,118].

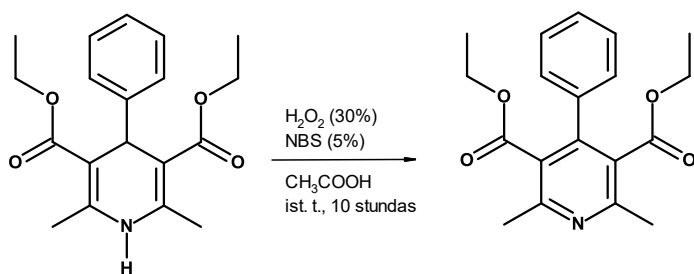
Tas ir pretrunā ar iepriekšējiem un vēlāk publicētajiem datiem, kas pierāda, ka 1,4-DHP cikla 2. un 6. pozīcijas metilgrupas tiek veiksmīgi bromētas ar NBS metanola šķīdumā. Agrāk ir ziņots, ka šādās reakcijās nenotiek 1,4-DHP cikla oksidēšana un bromēto produktu iznākumi ir ļoti augsti (līdz 72%) [48]. Tas ir pretrunā ar iepriekšējiem un vēlāk publicētajiem datiem, kas pierāda, ka 1,4-DHP cikla 2. un 6. pozīcijas metilgrupas tiek veiksmīgi bromētas ar NBS metanola šķīdumā.

Citā literatūras avotā minēts, ka 1,4-DHP cikla oksidēšana ar NBS metanolā notiek salīdzinoši augstā temperatūrā (10 stundas 70 °C) tikai tiem 1,4-DHP atvasinājumiem, kas 2. un 6. pozīcijās satur piridīnija fragmentu un 3. un 5. pozīcijās etilesterus (1.17. att.) [49]. Oksidēšanas reakcijās produktu iznākums ir 48% bromīdam un 63% perchlorātam.



1.17. att. 2. un 6. vietās katjonus aizvietotājus saturošu 1,4-DHP atvasinājumu oksidēšana ar NBS metanolā [49].

Literatūrā ir atzīmēts, ka 1,4-DHP atvasinājumus, kas 2. un 6. pozīcijās satur piridīnija fragmentu un 3. un 5. pozīcijās dodecilesterus, šādos reakcijas apstākļos nooksidēt nevar, kā arī atbilstošā 2,6-dimetilpiridīnija atvasinājuma metilgrupas nevar nobromēt ne ar NBS, ne ar Br_2 etiķskābē [120].



1.18. att. 1,4-DHP atvasinājumu oksidēšana ar H_2O_2 etiķskābē NBS klātbūtnē [121].

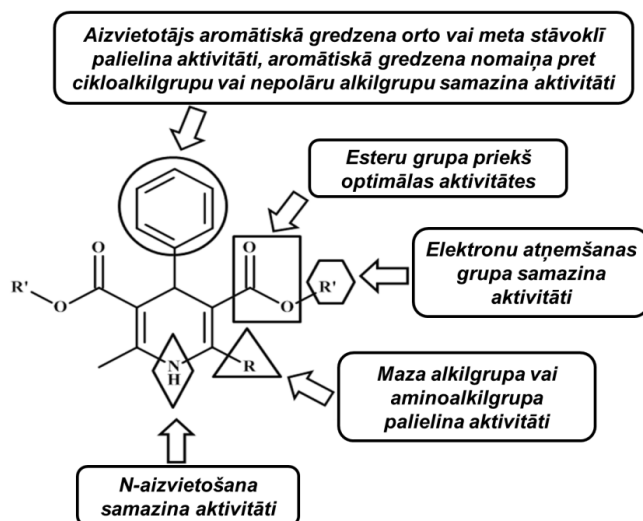
Saskaņā ar literatūras datiem [121], NBS tiek lietots kā katalizators 4-fenilaizvietotāju saturoša 1,4-DHP cikla oksidēšanas reakcijā ar ūdeņraža peroksīdu etiķskābē, reakciju veicot 10 stundas istabas temperatūrā, iegūstot oksidēto formu ar 75% iznākumu (1.18. att.). Minētajā rakstā gan aplūkota arī virkne citu katalizatoru, kuru klātbūtnē reakcija notiek ievērojami īsākā laikā ar augstāku oksidētā produkta iznākumu.

Literatūrā ir maz datu par 1,4-DHP cikla 2. un 6. pozīcijās esošu metilgrupu halogenēšanas reakcijas mehānismu un halogenēto atvasinājumu īpašībām. Dažos gadījumos starpproduktu atdalīšana pat nav iespējama, ja izmanto bromēšanai cietās fāzes lodīšu malšanu [122] vai bromēšanu jonu šķīdumā [123]. Ir dažas publikācijas ar pretrunīgi vērtējamiem rezultātiem – iegūtie produkti un uzrādītie starpprodukti ir atšķirīgi no produktiem, kuri ir iegūti līdzīgās reakcijās ar NBS [116,117] (reakcija ar *N*-hlorsukcinimīdu varētu radīt atšķirīgu savienojumu, salīdzinot ar NBS reakcijas rezultātu). Daži 1,4-DHP 3,5-diciāno-atvasinājumi nereaģē ar NBS [60]. 3,4-Dihidropiridīn-2(1*H*)-onu reakcijā ar NBS etanolā, veidojas piridona gredzenā bromēti produkti un ciklam pievienojas hidroksilgrupa [114]. Rakstu autori nav veikuši reakcijas mehānisma pētījumus.

Lai gan literatūrā pēdējās desmitgadēs 1,4-DHP cikla 2. un 6. pozīcijās esošu metilgrupu bromēšanas ar NBS reakcijas ir visai plaši minētas [35,48,54,120,124–127], atbilstošie 2,6-bisbrommetil-1,4-DHP atvasinājumi tiek izmantoti kā starpprodukti bioloģiski aktīvu vai fluorescentu savienojumu iegūšanai, bet netiek pētīts un skaidrots reakcijas mehānisms. Tādējādi, būtu vēlams noskaidrot 1,4-DHP atvasinājumu 2. un 6. pozīcijās esošo metilgrupu bromēšanas reakcijas mehānismu, veicot bromēšanu ar *N*-bromsukcinimīdu metanolā.

1.2. 1,4-DHP atvasinājumu struktūras ģeometrijas īpatnības

1,4-DHP atvasinājumiem jau agrāk atrasta daudzveidīga farmakoloģiskā aktivitāte. Šī iemesla dēļ notiek plaši struktūras-aktivitātes pētījumi, arī lai noskaidrotu, kā savienojumu struktūras īpatnības ietekmē to bioloģisko aktivitāti, un, secīgi, veidotu un radītu efektīvākus medicīniskos preparātus. Šobrīd 1,4-DHP atvasinājumiem veikts liels skaits struktūras-aktivitātes pētījumu, izmantojot fizikāli-ķīmiskās un aprēķinu metodes [128,129,138–145,130–137].

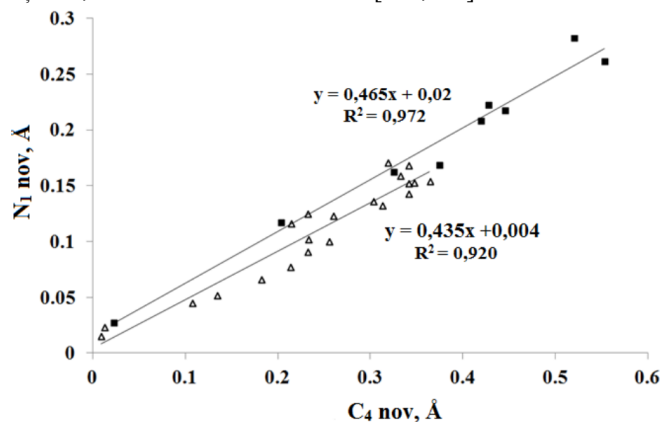


1.19. att. Kardioprotektīvo 1,4-DHP atvasinājumu dizains [146].

Daudzu pētījumu rezultātā definētas pamattendences un izstrādāti ieteikumi potenciālu aktīvo savienojumu radīšanai, pamatojoties uz 1,4-DHP atvasinājumiem (1.19. att.) [30,147,148]. Saskaņā ar literatūras datiem, lai 1,4-DHP atvasinājumam būtu kardioprotektīva aktivitāte, tam 4. pozīcijā jābūt aromātiskai grupai, 3. un 5. pozīcijā jābūt estera grupām. Pēc rentgenstruktūranalīzes datiem, arilgrupa 4. pozīcijā visbiežāk izvietojusies pseidoaksiāli un pagriezta ortogonāli attiecībā pret 1,4-DHP ciklu [132]. Ir pētījumi, kas apstiprina, ka 4. pozīcijas aizvietotāja ortogonālais stāvoklis ir svarīgs faktors, un ietekmē savienojuma farmakoloģisko aktivitāti [149].

1.2.1. 1,4-DHP gredzena struktūrpātnības

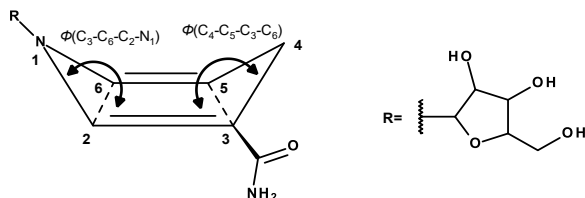
Veicot 1,4-DHP struktūras-aktivitātes sakarību pētījumus, ir svarīgi izvērtēt savienojumu telpisko uzbūvi. Saskaņā ar literatūrā pieejamajiem rentgenstruktūranalīzes un datormodelēšanas datiem [129,132,133,136,150,151] 1,4-DHP cikls ir plakanas vannas formā, bet vannas dziļums atkarīgs no aizvietotājiem pie 1,4-DHP cikla. 1,4-DHP cikla plakanums ir svarīgs parametrs, no tā ir atkarīga savienojumu bioloģiska aktivitāte piemēram, nifedipīna un nisoldipīna analogiem konstatēta aktivitātes atkarība no 1,4-DHP cikla plakanuma. Jo plakanāks cikls, jo augstāka savienojuma aktivitāte [129,134,152–155]. Saskaņā ar rentgenstruktūranalīzes datiem 1,4-DHP atvasinājumi, kas nesatur aizvietotāju 4. pozīcijā, ir gandrīz pilnībā planāri [132,156–158]. 1,4-DHP atvasinājumu kristāliskajās struktūrās slāpekļa atoms N_1 atrodas gandrīz heterocikliskās sistēmas plaknē, savukārt C_4 atoms ievērojami izvirzīts no šīs plaknes, par ko liecina N_1 un C_4 novirzes no C_2 - C_3 - C_5 - C_6 plaknes [159]. Konstatēts, ka 1,4-DHP ciklā atomu N_1 un C_4 novirze no cikla plaknes ir savstarpēji saistīta: jo vairāk novirzīts viens atoms – jo vairāk atvirzīts arī otrs [129,136,137,153,159]. Attēlā (1.20. att.) sniegto datu salīdzinošā analīze liecina, ka C_4 un N_1 atomu novirzes no DHP cikla plaknes ir atkarīgas no aizvietotājiem 3. un 5. pozīcijā. 3(5)-Ciano-1,4-DHP atvasinājuma cikls ir plakanāks, ja salīdzina ar savienojumiem, kas satur 3(5)-metoksikarbonil- vai 3(5)-acetilaizvietotājus. 1,4-DHP cikla slāpekļa atomam N_1 piesaistītā protona aizstāšana ar metilgrupu padziļina 1,4-DHP cikla vannas formu [137,160].



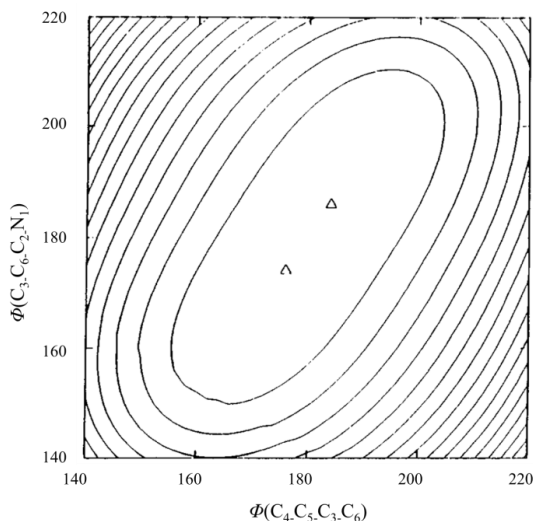
1.20. att. Korelācija starp C_4 un N_1 novirzēm no heterocikla plaknes N-neaizvietotam (Δ) un N-metilaizvietotam (\blacksquare) 1,4-DHP atvasinājumiem [159].

Atbilstoši aprēķinu datiem (gāzes fāzē) 1,4-DHP gredzenam bioloģiski aktīvos dihidropiridīna atvasinājumos piemīt zināma konformacionālā mobilitāte, pēc autoru domām, cikls var viegli mainīt konformācijas pakāpi, tādējādi radot vislabvēlīgākos nosacījumus efektīvai mijiedarbībai ar bioloģisko receptoru [161–163]. Saskaņā ar datormodelēšanas datiem, 1,4-DHP cikla vannas formas dziļuma būtiskai izmaiņai (divplakņu leņķa novirze līdz 20°) ir ļoti zema enerģijas barjera, kas mazāka par 2 kcal/mol [139,163–166]. Tomēr cietā stāvoklī šo mobilitāti ne vienmēr var atklāt, ne vienmēr tā var izpausties, jo dažādas starpmolekulāras mijiedarbības fiksē tikai konkrētas konformācijas [160,161,166–168].

Saskaņā ar datoraprēķiniem 1,4-DHP savienojumam (1.21. att.) [165] cikla vanna-vanna inversijai praktiski nav enerģētiskas barjeras, ģeometrijas izmaiņas “šķērs” plato 1,5 kcal/mol robežās (1.22. att.). Šādu dihidropiridīna cikla konformacionālo uzvedību nosaka 1,2-alil- un piesātinātā oglekļa atoma valences leņķu spriegumu konkurence, kā arī slāpekļa atoma nesaistošā elektronu pāra pārklāšanās ar cikla π -sistēmu [161,167,169].



1.21. att. 1,4-DHP atvasinājuma cikla N₁ un C₄ novirzei atbilst cikla divplakņu kakta leņķi $\Phi(C_4-C_5-C_3-C_6)$ un $\Phi(C_3-C_6-C_2-N_1)$ [165].



1.22. att. Potenciālās enerģijas kontūras diviem divplakņu leņķiem. Trijstūri nav kontūru kartes daļa, bet enerģijas minimuma punkti (176, 174) un (184, 186). Atstarpe starp enerģijas kontūru līnijām 1,5 kcal/mol [165].

Aadapted with permission from Free energy calculations involving internal coordinate constraints to determine puckering of a six-membered ring molecule, L. Young, Carol Beth Post, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 5, 1964–1970. Copyright © 1993, American Chemical Society.

Aizvietotiem 1,4-DHP atvasinājumiem šķīdumos nav cikla kustīguma ierobežojumu, tādu kā kristālos bez apjomīgu aizvietotāju klātbūtnes. Saskaņā ar ^1H KMR spektroskopijas datiem aktivācijas entalpijas pāreja no vannas uz plakano ciklu mainās 3–7 kcal/mol robežās atkarībā no aizvietotājiem [170]. Veikti sistemātiski KMR pētījumi, lai noskaidrotu aizvietotāju (1., 3., 4. un 5. pozīcijās) ietekmi uz 1,4-DHP konformāciju īpašībām šķīdumos [136]. Visai informatīvi izrādījās ^{15}N un ^{13}C KMR spektru dati. Autori parādīja [136], ka, līdzīgi rentgenstruktūranalīzes un datormodelēšanas datiem, 1,4-DHP cikla dziļuma maiņu ietekmē 3. un 5. pozīciju aizvietotāju elektroniskie efekti, kā arī slāpekļa atoma nesaistošā elektronu pāra delokalizācijas pakāpe un piramidālās inversijas līdzsvara maiņa.

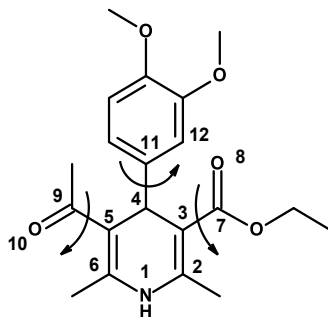
^{15}N ķīmiskās nobīdes un sadarbības konstantes $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H})$ 1,4-DHP atvasinājumu NH grupām novēroja, attiecīgi, 142-128 milj. d. (miljonā daļa) un 97-94 Hz intervālos, kas liecināja par slāpekļa atoma sp^2 hibridizāciju. Mazāk planāros $\text{N}_1\text{-CH}_3$ 1,4-DHP atvasinājumos $^{15}\text{N}_1$ rezonances signālu reģistrēja stiprākos laukos (128-119 milj.d). Šis nobīdes cēlonis ir slāpekļa atoma nesaistošā elektronu pāra vājāka dalība heterocikla kopējā konjugācijas sistēmā un metil aizvietotā slāpekļa ($\text{N}_1\text{-CH}_3$) atoma daļējs sp^3 rakstura pieaugums salīdzinājumā ar NH analogiem.

Zināms, ka spinu mijiedarbības konstantu $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H})$ absolūtie lielumi ir proporcionāli slāpekļa atoma sp^2 hibridizācijas raksturam. 1,4-DHP N_1H atvasinājumos šīs konstantes intervāls (97-94 Hz) atbilst praktiski planāram N_1H . Absolūtās $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H})$ vērtības pieaugums ievadot cianogrupas heterocikla 3. un 5. pozīcijās liecina, ka 3(5)-cianoatvasinājuma cikls ir vēl plakanāks nekā 3(5)-metoksikarbonil vai 3(5)-acetil atvasinājumiem. Līdzīga tendence novērojama arī konstantei $^1J(^{13}\text{C}_4, ^1\text{H})$. Šīs konstantes vērtības ir lielākas 3(5)-ciano-1,4-DHP atvasinājumiem, kuriem ir raksturīga planārāka heterocikliskā struktūra.

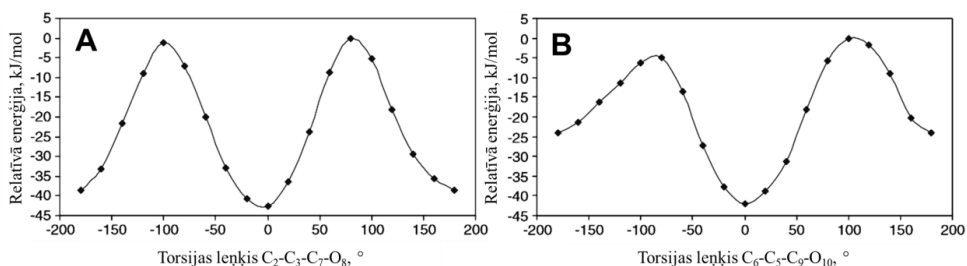
Izvērtējot literatūrā pieejamo informāciju redzams, ka galvenie secinājumi par 1,4-DHP heterocikla uzbūves iezīmēm, kas iegūti ar dažādām metodēm, ir savstarpēji salīdzināmi: cikls ir ļoti kustīgs un tā kustīgumu modificē 1,4-DHP cikla aizvietotāji.

1.2.2. Aizvietotāju dinamiskās īpašības 1,4-DHP atvasinājumos

Ar *ab initio* aprēķiniem izpētīta 1,4-DHP 3., 4. un 5. pozīciju aizvietotāju rotācija un parādīts, ka tiem piemīt augsta mobilitāte [143].



1.23. att. 1,4-DHP atvasinājuma **IIIa** struktūra ar atomu numerāciju [143].

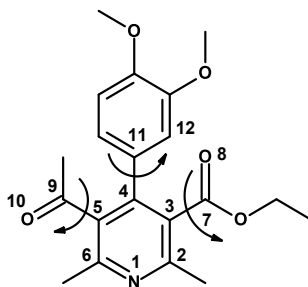


1.24. att. 1,4-DHP atvasinājuma **IIIa** aizvietotāju rotācijas relatīvās enerģijas līknes. **A** – rotācijas enerģētiskais grafiks karboksilgrupai 3. pozīcija (torsijas leņķis $C_2-C_3-C_7-O_8$), **B** – karbonilaizvietotājam 5. pozīcijā (torsijas leņķis $C_6-C_5-C_9-O_{10}$) [143].

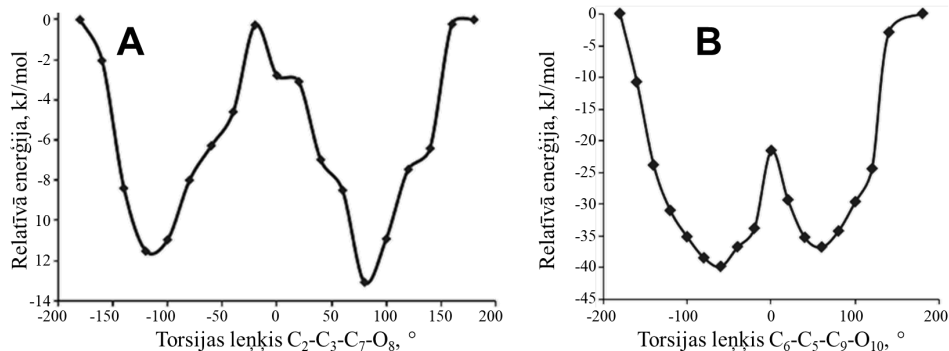
Used with permission of Springer Nature, from Theoretical studies on the rotamers and dynamic behaviors of ethyl-5-acetyl-4-(3',4'-dimethoxyphenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate, Masumeh Abdoli-Senejani, Avat Arman Taherpour, Hamid Reza Memarian, Mehrdad Khosravani, *Structural Chemistry*. **2013**, 24, 191–200; permission conveyed through Copyright Clearance Center, Inc."

Savienojuma **IIIa** (1.23. att.) 1,4-DHP cikla 3. un 5. pozīcijās esošo aizvietotāju rotācijas profilu grafikos (1.24. att.) redzams, ka karboksil- un karbonilgrupu rotācijas barjeru lielumi ir tuvi (10,16 un 10,02 kcal/mol [42,501 un 41,943 kJ/mol], attiecīgi). Galvenā atšķirība starp šiem aizvietotājiem ir tā, ka karboksilgrupai 3. pozīcijā starpība starp *s-cis* un *s-trans* konformēru enerģijas minimumiem ir 0,97 kcal/mol [4,067 kJ/mol], kas ir ievērojami mazāk nekā karbonilgrupai 5. pozīcijā (4,25 kcal/mol [17,796 kJ/mol]). Karboksil un karbonilgrupai ir divas rotācijas barjeras ar tuvām vērtībām, attiecīgi 10,16/9,84 kcal/mol [42,501/41,186 kJ/mol] un 10,02/8,81 kcal/mol [41,943 un 36,863 kJ/mol].

Saīdināšanai tika veikti rotācijas barjeru aprēķini tiem pašiem aizvietotājiem pie oglekļa atomiem C_3 , C_4 un C_5 līdzīgā planāra pīridīna ciklā – oksidētā 1,4-DHP atvasinājuma **IIIa** forma (1.25. att.) [143].



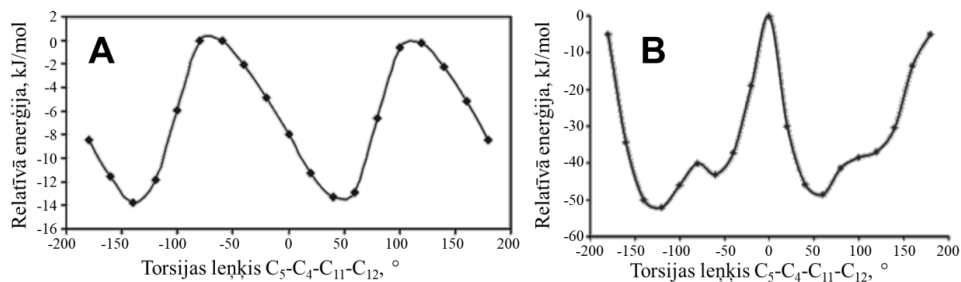
1.25. att. Pīridīna atvasinājuma **IIIb** struktūra ar atomu numerāciju [143].



1.26. att. Piridīna atvasinājumu **IIIb** aizvietotāju rotācijas relatīvās enerģijas līknes. **A** – rotācijas enerģētiskais grafiks karboksilgrupai 3. pozīcijā (torsijas leņķis $C_2-C_3-C_7-O_8$), **B** – karbonilaizvietotājam 5. pozīcijā (torsijas leņķis $C_6-C_5-C_9-O_{10}$) [143].

Used with permission of Springer Nature, from Theoretical studies on the rotamers and dynamic behaviors of ethyl-5-acetyl-4-(3',4'-dimethoxyphenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate, Masumeh Abdoli-Senejani, Avat Arman Taherpour, Hamid Reza Memarian, Mehrdad Khosravani, *Structural Chemistry*. **2013**, 24, 191–200; permission conveyed through Copyright Clearance Center, Inc."

Attēlā (1.26. att.) parādīti rotācijas enerģētiskie profili savienojuma **IIIb** 3-karbonil- un 5-karboksilgrupām. Piridīna atvasinājumam **IIIb** karboksilgrupas, kas piesaistīta C_3 atomam, rotācijas barjera ir ievērojami zemāka 3,13 kcal/mol [13,076 kJ/mol] salīdzinot ar savienojuma **IIIa** barjeru 10,16 kcal/mol [42,501 kJ/mol], pie C_5 piesaistītās karbonilgrupas barjera praktiski nemainās – 9,51 kcal/mol [39,797 kJ/mol]. Karboksilgrupai 3. pozīcijā atšķirība starp minimālās enerģijas konformēriem ir tikai 0,37 kcal/mol [1.551 kJ/mol], bet karbonilgrupai 5. pozīcijā atšķirība starp minimumiem samazinājās no 4,25 (**IIIa**) līdz 0,73 (**IIIb**) kcal/mol oksidētajam savienojumam [no 17,796 līdz 3,044 kJ/mol]. Savienojumam **IIIb** atšķirība starp C_5 karbonilaizvietotāja rotācijas barjerām ir 5,15 kcal/mol [21,559 kJ/mol], bet karboksilgrupai pie C_3 barjeras ir gandrīz vienādas. Analogas rotācijas barjeras 3(5)-karboksilaizvietotājiem 1,4-DHP ciklā tika aprēķinātas arī dimetil 2,4,6-trimetil-1,4-dihidropiridīna-3,5-dikarboksilātam [171].



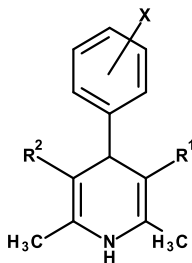
1.27. att. Fenilaizvietotāja rotācijas relatīvās enerģijas līknes (torsijas leņķis $C_5-C_4-C_{11}-C_{12}$) 1,4-DHP atvasinājumam **IIIa** (**A**) un piridīnam **IIIb** (**B**) [143].

Used with permission of Springer Nature, from Theoretical studies on the rotamers and dynamic behaviors of ethyl-5-acetyl-4-(3',4'-dimethoxyphenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate, Masumeh Abdoli-Senejani, Avat Arman Taherpour, Hamid Reza Memarian, Mehrdad Khosravani, *Structural Chemistry*. **2013**, 24, 191–200; permission conveyed through Copyright Clearance Center, Inc.

Pievēršot uzmanību savienojumam **IIIb**, rotācijas barjera fenil aizvietotājam 4. pozīcijā palielinās no 3,30 līdz 12,44 kcal/mol [no 13,794 līdz 52.036 kJ/mol], tas ir, oksidētā piridīna ciklā ogleklim C₄ piesaistītā fenil aizvietotāja rotācija ir vairāk aizkavēta nekā 1,4-DHP ciklā (1.27. att.).

1.4. tabula

1,4-DHP atvasinājumi un tiem aprēķinātās 4-fenil aizvietotāju rotācijas barjeras [172]

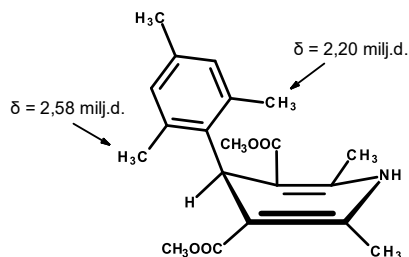


N. p. k	R ¹	R ²	X	Barjera, kcal/mol
1.	COOC ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	<i>m</i> -I	6,19
2.	COOC ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	<i>p</i> -I	5,59
3.	COOC ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	<i>m</i> -OH	6,00
4.	COOC ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	<i>m</i> -CH ₃	5,81
5.	COOCH ₃	COOC ₂ H ₅	<i>o</i> -CF ₃	14,89
6.	COOCH ₃	COOC ₂ H ₅	<i>m</i> -CF ₃	6,00
7.	COOC ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	<i>o</i> -OCH ₃	9,39
8.	COOC ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	<i>m</i> -OCH ₃	5,90
9.	COOCH ₃	COOC ₂ H ₅	<i>o</i> -NO ₂	13,79
10.	COOCH ₃	COOCH ₃	<i>o</i> -NO ₂	13,19
11.	COOCH ₃	COOC ₂ H ₅	<i>m</i> -NO ₂	6,00
12.	CN	CN	<i>m</i> -NO ₂	5,69
13.	COOCH ₃	COOC ₂ H ₅	<i>p</i> -NO ₂	5,50

Adapted with permission from Inhibition of Thyroid Hormone Uptake by Calcium Antagonists of the Dihydropyridine Class, Gerhard H. Scholz, Silke Vieweg, Mathias Uhlig, et al. *J. Med. Chem.* **1997**, 40, 10, 1530–1538 Copyright © 1997 American Chemical Society.

Salīdzinošā analīze liecina, ka plakanā aromātiskā piridīna cikla 4. pozīcijā pievienotā fenil aizvietotāja rotācija ir ievērojami aizkavēta, ja 3. un 5. pozīcijās ir karbonil- un karboksil aizvietotāji. Pēc autoru atzinuma, piridīna cikla aromātiskā daba tikai nedaudz ietekmē acetilgrupas rotācijas barjeru, toties palielina rotācijas barjeru aril- un samazina to karboksilgrupai.

Pamatojoties uz aprēķinu rezultātiem 1,4-DHP atvasinājumos (1.4. tab.), *para*- un *meta*- aizvietoto 4-fenilgrupu (1.4. tabula 1.,2.,3.,4.,6.,8.,11.,12.,13. rindas) rotācijas barjeras (aptuveni 6 kcal/mol) ir ievērojami zemākas nekā *orto*- aizvietoto fenilgrupu (1.4. tabula 5.,7.,9.,10. rindas) (9-15 kcal/mol) [172]. 1,4-DHP atvasinājumam, kas 4. pozīcijā satur fenilgrupu 4. pozīcijā, pēc aprēķiniem ir gandrīz brīva rotācija, jo barjera nepārsniedz 4,23 kcal/mol [173].

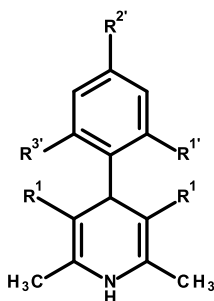


1.28. att. Ķīmisko nobīžu vērtību atšķirība 1,4-DHP atvasinājuma fenilaizvietotāja *ortho*-metilgrupām (CDCl_3 šķīdums, -50°C) [174].

1,4-Dihidropiridīna atvasinājumam ^1H KMR temperatūras eksperimenti deva iespēju noteikt kavētās rotācijas barjeras (12,21 kcal/mol) lielumu 2,4,6-trimetilfenilaizvietotājam 1,4-DHP cikla 4. pozīcijā [174]. Zemā temperatūrā (-50°C), autori varēja reģistrēt atsevišķus signālus anti-periplanāri (ap-) 2,20 milj. d. un sin-periplanāri (sp-) 2,58 milj. d. izvietotām (attiecībā pret C_4N protonu) metilgrupām (1.28. att.). Protonu KMR spektrā pie 25°C abi stāvokļi dod vienu platu signālu ar ķīmisko nobīdi 2,39 milj. d.

1.5. tabula

Rotācijas barjera fenilaizvietotājiem pie C_4 atoma 1,4-DHP atvasinājumos [142]



N. p. k.	R^1	$\text{R}^{1'}$	$\text{R}^{2'}$	$\text{R}^{3'}$	Barjera, kcal/mol
1.	COOCH_3	CH_3	CH_3	CH_3	12,40
2.	CN	CH_3	CH_3	CH_3	16,32
3.	COOCH_3	CH_3	H	Cl	12,48
4.	CN	CH_3	H	Cl	15,97
5.	COOCH_3	Cl	H	Cl	12,52
6.	CN	Cl	H	Cl	15,99

Aadapted from Conformational dynamics of 4-aryl-1,4-dihydropyridine calcium channel antagonists. 1. Quantitation of $\text{C}_4\text{-Cl}^1$ bond rotational barriers, Robert B. Palmer, Niels H. Andersen. *Tetrahedron*, Volume 52, Issue 29, 1996, 9665-9680. Copyright © 1996, with permission from Elsevier.

Aptuveni tādas pašas rotācijas barjeru vērtības no dinamiskajiem ^1H KMR spektriem iegūtas aromātiskajiem aizvietotājiem pie C_4 dažiem citiem 1,4-DHP atvasinājumiem (1.5. tab.) [142]. Analizējot datus (1.5. tab.) redzams, ka rotācijas barjera aromātiskajiem aizvietotājiem pie 1,4-DHP C_4 oglekļa ir augstāka savienojumiem, kam plānāks heterocikls, konkrēti, 3(5)-ciano-1,4-DHP atvasinājumiem (1.5. tabulas 2., 4., 6. rindas) – kā jau tika konstatēts iepriekš.

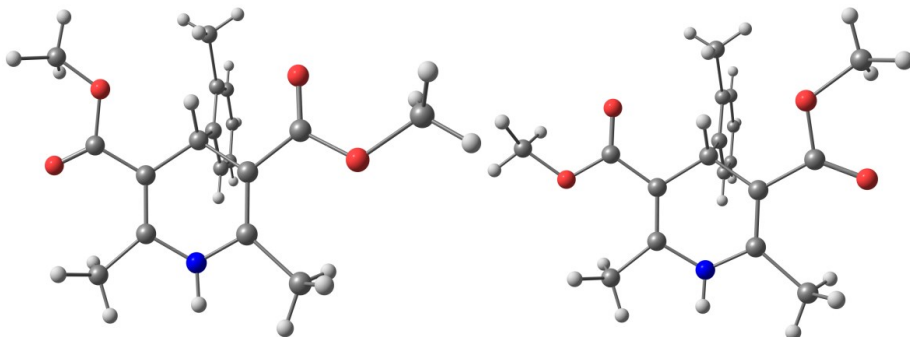
1.2.3. 1,4-DHP atvasinājumu polimorfisms

1,4-DHP atvasinājumu kristāliskajās struktūrās novērojams, ka karbonil- vai karboksilaizvietotājiem 3. un 5. pozīcijās ir dažāds stāvoklis attiecībā pret dubultajām saitēm (*s-cis/s-cis*, *s-cis/s-trans* un *s-trans/s-trans*) [137,161,167,175]. FT-Ramana un FTIS spektroskopijas dati dod iespēju nifidēpīnam cietā stāvoklī atklāt dažādas polimorfās formas. Nifedipīna (NIF) polimorfo modifikāciju atšķirības labi konstatējamas esteru C=O valento svārstību diapazonā $1660\text{--}1710\text{ cm}^{-1}$ [176,177]. Polimorfisms konstatēts arī 1,4-DHP atvasinājumiem bez aizvietotājiem 3. un 5. pozīcijās [178]. Neparasti zemie šo grupu viļņu skaitļi saistīti ar to rezonanses mijiedarbību ar 1,4-DHP cikla C=C saitēm, kas norāda uz DHP cikla un estera grupu grupu koplanaritāti. Tāpat visās polimorfās formās C=O valentās svārstības parādās kā dubultjoslas un kļūst atšķiramas sinfāzes un antifāzes svārstībām. Piemēram, α -NIF augstas izšķirtspējas Ramana spektrā novēro dubultjoslu pie 1680 cm^{-1} . Tai pat laikā γ -NIF raksturojas ar dubultjoslas pie 1705 cm^{-1} klātbūtni. β -NIF formai reģistrē abas svārstības: gan pie 1680 , gan pie 1705 cm^{-1} .

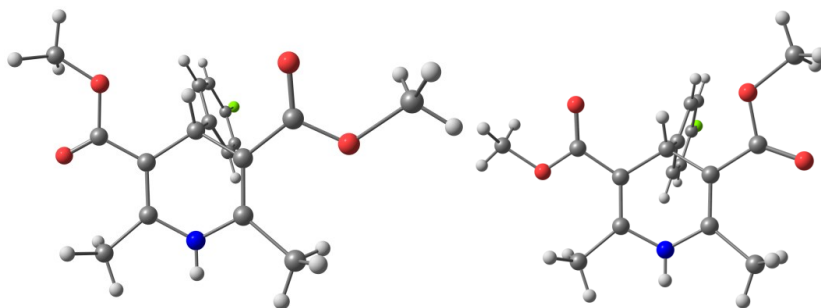
Jāatzīmē, ka α -NIF kristāliskā struktūra raksturojas ar spēcīgu ūdeņraža saiti starp vienu no kompleksā estera antikonformācijas (attiecībā pret dihidropirdīna gredzenu) karbonilgrupām un NH grupu blakusesošajā nifedipīna molekulā. Šī α -NIF starpmolekulārā ūdeņraža mijiedarbība nodrošina C=O svārstību viļņu skaitļa samazināšanās papildmehānismu un to apstiprina NH grupas relatīvi zemas frekvences absorbcijas josla pie 3330 cm^{-1} .

No otras puses, NH un C=O svārstību augstākas viļņu skaitļu vērtības (attiecīgi pie 3359 un 1705 cm^{-1}) γ -NIF paraugā norāda, ka šajā polimorfajā formā starpmolekulārā ūdeņraža saite ir vājāka vai tās nav vispār. Savukārt β -NIF raksturo divas NH vibrācijas joslas pie 3353 un 3330 cm^{-1} kā arī divas C=O valento svārstību joslas pie 1680 un 1705 cm^{-1} , norādot uz to, ka tā struktūra ietver divu atšķirīgu veidu nifedipīna molekulas.

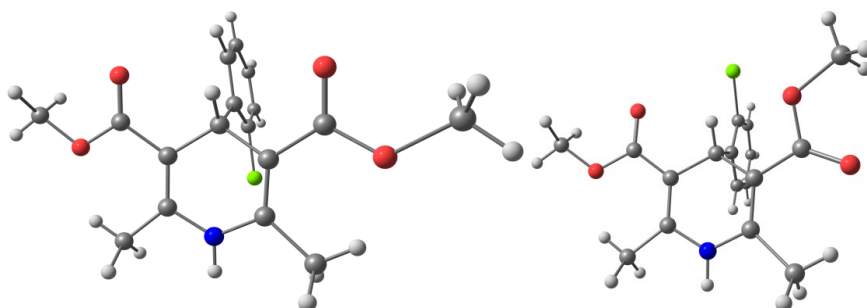
Polimorfismu konstatēja arī 1,4-DHP atvasinājumos bez aizvietotājiem 3. un 5. pozīcijā [178]. Arī felodipīnam, zāļu preparātam, kas patentēts 1978. gadā un 1988. gadā ir atļauts lietošanai medicīnā [179], ir zināmas vairākas polimorfās formas [175,180,181]. Saskaņā ar rentgenstruktūranalīzes datiem 1,4-DHP atvasinājumu polimorfās formas (attēli 1.29., 1.30. un 1.31.) [153,182]. Saskaņā ar kvantu ķīmisko aprēķinu rezultātiem esošie konformēri ir enerģētiski tuvi, kā jau bija apskatīts iepriekš [143].



1.29. att. Divi atšķirīgie konformēri 1,4-DHP atvasinājuma **IVa** kristālos [153].



1.30. att. Divi atšķirīgie konformēri 1,4-DHP atvasinājuma **IVb** kristālos [153].



1.31. att. Divi atšķirīgie konformēri 1,4-DHP atvasinājuma **IVc** kristālos [182].

Atsevišķi oglekļa atomi 1,4-DHP atvasinājumu cietvielu šķērspolarizācijas ^{13}C KMR spektros zem maģiskā leņķa (CP-MAS), salīdzinot tos ar šķīdumu KMR spektriem, uzrāda magnētisko neekvivalenci [144,153,183,184]. Autori [185] norādīja, ka šo oglekļa atomu neekvivalences iemesls varētu būt gan to mijiedarbība ar kvadrupolo kodolu $^{14}\text{N}_1$ (tā kā griešana zem maģiskā leņķa cietvielu KMR spektroskopijā pilnībā neviduvējo ^{13}C - ^{14}N dipolāro mijiedarbību), gan dažādu konformēru klātbūtne cietvielā. Zināms, ka kvadrupolās mijiedarbības konstante ir apgriezti proporcionāla magnētiskā lauka intensitātei ($1/B_0$). Tai pat laikā ķīmiskā nobīde, izteikta miljonajās daļās, nav atkarīga no B_0 [186]. Salīdzinot pētīto savienojumu cietvielu ^{13}C KMR spektros, kas reģistrēti uz spektrometriem ar dažādu magnētiskā lauka intensitāti (rezonanses frekvences ^{13}C kodoliem 100,58 un 50,3 MHz), konstatēts, ka ķīmiskās nobīdes ^{13}C spektros nav atkarīgas no spektrometra frekvences. Tas pierāda, ka novērojamā ^{13}C signālu šķelšanās 1,4-DHP atvasinājumu cietvielu KMR spektros, nav saistīta ar kvadrupolo mijiedarbību ^{13}C - ^{14}N un tai ir konformacionāls raksturs. ^{13}C atomu neekvivalence CP-MAS KMR spektros 1,4-DHP polimorfem atvasinājumiem var būt saistīta ar atšķirīgām udeņraža saitēm un citām starpmolekulārām mijiedarbībām [187].

1.3. 1,4-DHP atvasinājumi ar gariem alkilaizvietotājiem kā iespējamie gēnu transfekcijas aģenti

Viens no galvenajiem zinātniskajiem sasniegumiem ģenētikā bija dubultspirāles atklāšana DNS struktūrā 1953. gadā [188]. Pirms tam bija veikti daudzi zinātniski pētījumi ģenētiskās pārmantojamības izpētē, tika atklāta pati DNS molekula [189] kā arī notika tās sastāvdaļu

(nukleotīdu) identificēšana. Tikai 20 gadus pēc dubultspirāles atklāšanas tika radīti ģenētiski modificēti organismi [190–192]. To var uzskatīt par pilnīgi jauna virziena – gēnu inženierijas sākumu.

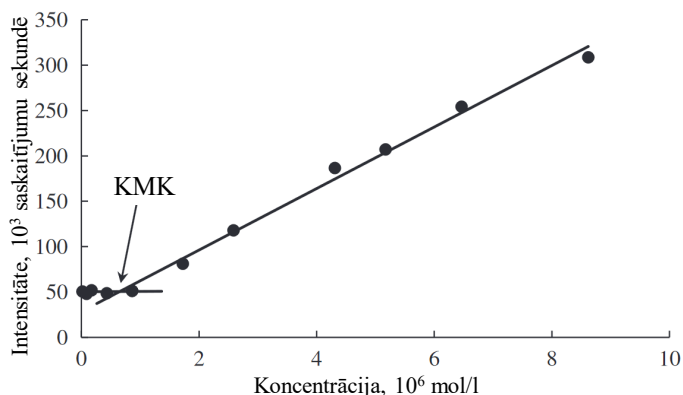
Ir divi galvenie veidi, kā iegūt ģenētiski modificētu multišūnu organismu: dīgļa tipa šūnu izmantošana un somatisko šūnu modifikācija [193]. Praksē dzimumšūnu (*germline*) izmantošana cilvēkam nav iespējama ētisku apsvērumu dēļ [194,195]. Toties šo metodi veiksmīgi izmanto dzīvnieku un augu pasaulē [196–200]. Pati par sevi DNS molekula nevarēs iekļūt šūnā vai šūnu kodolā, fosfātu grupu lielā izmēra un negatīvā lādiņa dēļ [201]. Prokariotiem (piemēram, *Escherichia coli*) trūkst šūnas kodola, tāpēc tiek izmantota plazmīdas DNS vai vektors (DNS dubultspirāle slēgta gredzena formā), bet plazmīdas ir atrodamas arī eikariotos – sēnēs (sēņu valsts pārstāvji) un augos [202–204]. Plazmīdas var gan integrēt daļu no ģenētiskā koda šūnas DNS gan eksistēt patstāvīgi šūnās, kodējot gan pašas replikāciju gan arī papildu funkcijas (piemēram, olbaltumvielu sintēzi vai rezistenci pret antibiotikām). Līdz šim ģenētiskā materiāla nogādāšanai šūnā galvenokārt izmantoja dažādo vīrusu vektorus (adenovīrusus, retrovīrusus, lentivīrusus, bakulovīrusus, proksivīrusus un citus [205–208]). Tie efektīvi piegādā DNS, bet tiem piemīt noteiktas negatīvas iezīmes, piemēram, augsta citotoksicitāte, imūnā reakcija, kas papildus transporta efektivitātes samazināšanai var izraisīt organisma nāvi, un pārnesamā gēna informācijas maksimuma ierobežojums [209,210]. Tāpēc tiek meklēti efektīvāki nevīrusu nesēju risinājumi, kuriem, kaut ir daudz mazāka imunotoksicitāte un nav ierobežojumu attiecībā uz transportējamās DNS izmēru, ir arī trūkumi, kuru vidū galvenais – ir gēnu pārneses mazā efektivitāte [193,211–215].

Ir divi galvenie nevīrusu vektoru veidi, kā piegādāt ģenētisko materiālu: fizikālais un nesēju izmantošana [216]. Fizikālās metodes gaitā ir tieša fiziska ietekme uz paraugu, lai nodrošinātu ģenētiskā materiāla piegādi (injekcijas, pakļaušana ultraskaņai, elektrībai, lāzeriem, u.c.), tādējādi ļaujot DNS/RNS molekulām sasniegt mērķi. Nesēji dalās pēc to ķīmiskā sastāva – organiskie: lipīdi (katjoni, anjoni vai neitrāli), peptīdi, polimēri, dendrimēri un citi un neorganiskie: kalcija fosfāts, silīcijs, zelts, oglekļa nanocaurules, grafēns un citi. To darbības princips ir gan aizsargāt DNS/RNS molekulas no ārējās vides iedarbības, gan veicināt ģenētiskā materiāla iekļūšanu šūnās [208,216,217]. Gēnu transfekcijas efektivitātes palielināšanai iespējams apvienot gan fizikālās metodes ar dažādiem gēnu materiāla nesējiem, gan kombinēt pašus nesējus [209,218].

Katjonie lipīdi, kuru pamatā ir 1,4-DHP atvasinājumi, pierādījuši savu saistīšanās spēju un DNS molekulu transfekcijas efektivitāti *in vitro* un *in vivo* [34,35,50,124,219,220]. Tāpat literatūrā aprakstītas šādu katjonu aizvietotājus saturošu lipīdiem līdzīgu savienojumu struktūras-aktivitātes sakarības. Noskaidrots, ka veiksmīgai transfekcijai nepieciešams, lai 1,4-DHP cikla 3. un 5. esteru pozīcijās būtu garas alkilķēdes (vismaz 12 oglekļu atomi) [34,50], 2. un 6. vietu katjonajos aizvietotajos piridīna ciklā vēlami elektrononori aizvietotāji [35]. Literatūrā minēts piemērs, ka, arī savienojumi, kuros ir ar otru CH₂ grupu attālināti alifātiski katjoni aizvietotāji 1,4-DHP cikla 2. un 6. pozīcijās, uzrāda gēnu transfekcijas aktivitāti [124]. Savukārt, ja 1,4-DHP cikls tiek oksidēts par atbilstošo piridīnu, šādu katjonu aizvietotājus saturošu piridīnu gēnu transfekcijas aktivitāte ievērojami samazinās, salīdzinot ar atbilstošo 1,4-DHP analogu aktivitāti [120].

1.3.1. 1,4-DHP atvasinājumu katjonu lipīdu pašagregācija

Deterģentu spēju veidot vezikulas (micellas, liposomas, vai cita veida nanodaļiņas) var raksturot ar kritisko micellu koncentrāciju (KMK) vai ar kritisko vezikulu koncentrāciju (KVK) [221]. KVK gadījumā deterģentu šķīdumu fizikālās īpašības, piemēram, virsmas spraigums, osmotiskais spiediens, līdzvērtīga vadītspēja, utt. [222,223] krasi mainās, palielinot varbūtību, ka deterģenta molekulas agregējas vezikulās [224,225]. Ar dažādām metodēm iegūtās KVK vērtības pilnībā nesakrīt, jo ir atšķirīga metožu jutība un reproducējamība.

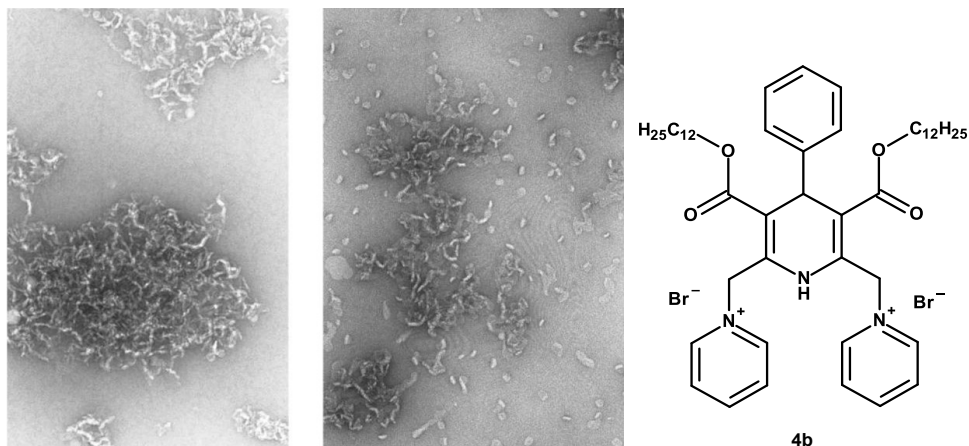


1.32. att. Izkliedētās gaismas intensitātes atkarība no virsmaktīvās vielas koncentrācijas paraugā [226].

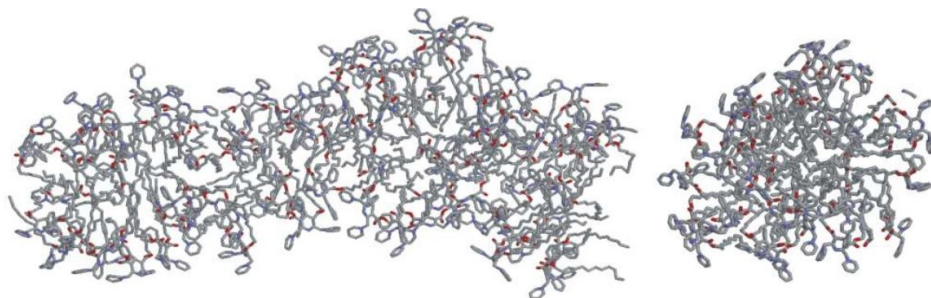
Reprinted from *Journal of Molecular Liquids*, Volume 177, Önder Topel, Burçin Acar Çakır, Leyla Budama, Numan Hoda, Determination of critical micelle concentration of polybutadiene-block-poly(ethyleneoxide) diblock copolymer by fluorescence spectroscopy and dynamic light scattering, Pages 40-43., Copyright © (2013), with permission from Elsevier.

1,4-DHP atvasinājumu ar gariem alkilaizvietotajiem pašasociācijas raksturojumam tika izmantotas vairākas pieejas: noteikta micellu veidošanās KMK un noteikti zeta potenciāli, izmantojot dinamiskās gaismas izkliedes (DGI) metodi (*Dynamic Light Scattering, DLS*) [35,120,226]. KMK mērījumiem (pēc DGI metodes) tiek sagatavoti vairāki atšķirīgas koncentrācijas paraugi. Paraugos, kur koncentrācija zemāka par KMK, mērījumu rezultāti ir pastāvīgi un gandrīz nemainās (1.32. att.). Zeta potenciāls ir koloidālo dispersiju stabilitātes galvenais rādītājs. Tā lielums norāda elektrostātiskās atgrūšanās pakāpi dispersijā starp kaimiņu vienlīdz uzlādētām daļiņām. Augsta zeta potenciāla vērtība molekulām un daļiņām nozīmē to, ka attiecīgais šķīdums vai dispersija ir stabili. Savukārt, zema zeta potenciāla vērtība ir ātras koagulācijas pazīme. Tādējādi, ja zeta potenciāla vērtība ir lielāka par ± 30 mV, tad 1,4-DHP katjonu lipīdu veidotās daļiņas tiek uzskatītas par stabilām [120,227].

Pašasociējosos nanoagregātu formas, izmēru un ilgtermiņa stabilitātes ūdens šķīdumos noteikšanai izmanto atomspēku mikroskopiju (ASM) un caurejošā starojuma elektronmikroskopiju (TEM). Ar šīm metodēm ir pierādīts, ka nanodaļiņas neveido agregātus pietiekami ilgu laiku (līdz vienam mēnesim), kas atbilst to augstajam zeta potenciālam [35,228]. Saskaņā ar eksperimentāliem ASM datiem un datorsimulāciju rezultātiem (molekulārā dinamika) 1,4-DHP atvasinājums **4b** ar garām alkilķēdēm esteru grupās veido dažādas formas un izmēru micellas (1.33. un 1.34. att.) [229,230].



1.33. att. Lipīdveida 1,4-DHP atvasinājuma **4b** veidoto daļiņu elektronmikroskopijas attēls [230].

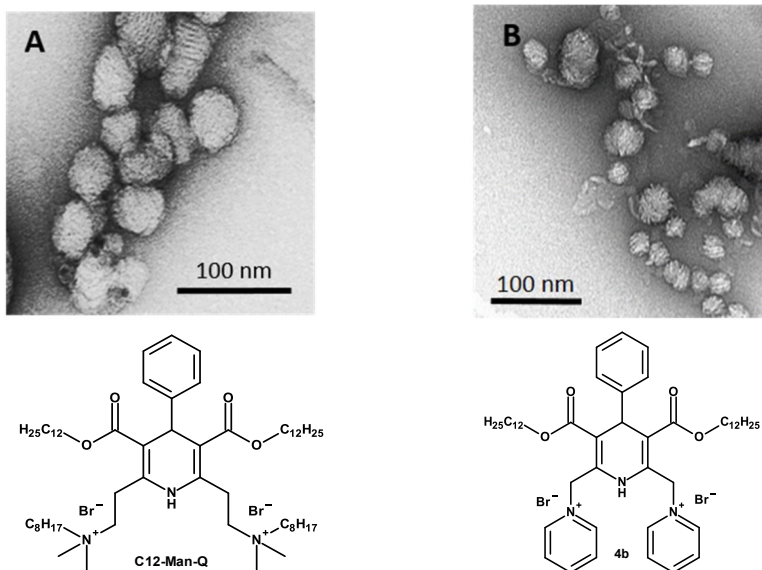


1.34. att. Aprēķinātais 1,4-DHP atvasinājuma **4b** tubulāro formu micellu sānskats un skats no augšas [229,230].

Katjonu lipīdi, ūdens šķīdumos koncentrācijās virs KMK pašagregējās, veidojot dažādās stabilas vezikulas, kas apstiprināts ar dažādām eksperimentālām un teorētiskām metodēm.

1.3.2. 1,4-DHP atvasinājumu veidotie lipopleksi

1980. gadā tika aprakstīts pirmais eksperiments, kad tika veikta ģenētiskā materiāla piegāde šūnās, izmantojot lipīdu vektorus [231,232]. Savukārt, lipīdus piegādei sāka lietot cilvēka gēnu terapijā kopš 1987. gada [193,233]. Uzskata, ka kompleksu (lipopleksu) veidošanos starp DNS un katjonu lipīdiem izraisa elektrostatiskie spēki starp negatīvi uzlādētajām DNS molekulām un pozitīvi lādētajiem katjoniem gēnu transfekcijas aģentiem [234]. Iespējams izmantot arī negatīvu lādiņu saturošus vai neitrālus lipīdus. Bet šādi savienojumi uzrāda ierobežotu efektivitāti DNS iekapsulācijai salīdzinot ar katjonajiem lipīdiem [235]. Lipopleksu sastāva aprakstam izmantots lielums N/P, kas norāda attiecību starp sintētiskā lipīda (N) slāpekļa atomiem un DNS fosfātu grupām (P). N/P attiecība raksturo jonu līdzsvaru lipopleksos, kurus veido katjonu lipīdi ar DNS molekulām.



1.35. att. Katjono lipīdu un pDNS (pEGFP-C1) veidoto lipopleksu caurejošā starojuma elektronmikroskopijas (TEM) attēli (N/P attiecība optimizēta). (A) amfifila **C12-Man-Q** (N/P attiecība 0.9) veidotais lipoplekss; (B) amfifila **4b** (N/P attiecība 2) veidotais lipoplekss. Mēroga josla attēlo 100 nm [124].

Kā parādīts literatūrā, lipopleksi, kurus izveidojuši 1,4-DHP atvasinājumi un DNS molekulas (1.35. att.) ir dažādu formu un izmēru agregāti, kas lielā mērā atkarīgi no lipīdveida savienojumu struktūras [124].

Katjono lipīdu transfekcijas efektivitātei nav tiešas korelācijas ne ar agregātu lielumu, ne savienojumu struktūru [236], bet ir galvenie parametri, kas noteikti ietekmē transfekcijas aktivitāti (pK_a, N/P attiecība, nanodaļiņu lielums un izmēru izkliede) un kas ir specifiski šūnu tipam [237]. Dažādi biofizikālie parametri, piemēram, membrānu destabilizējošā aktivitāte, savienojumu buferspēja, liela šūnu absorbcija utt., varētu nebūt galvenie parametri, veidojot transfekcijas struktūras-aktivitātes attiecību modeļus. Katjono 1,4-DHP lipīdu transfekcijas efektivitāte ir komplekss daudzu dažādu faktoru mijiedarbības rezultāts, kas nosaka intracelulāro kinētiku [50,219,238,239]. Viennozīmīgi ir skaidrs, ka transfekcijas efektivitāte atkarīga no šūnu veida [50], kā arī no katjono lipīdu un DNS lādiņa lipopleksos vai to N/P attiecības. Dažos gadījumos, palielinot katjono lipīdu daudzumu, parādās to citotoksiskā iedarbība, kas samazina transfekcijas efektivitāti [35,124]. Katjono lipīdu maisījums ar dioleilfosfatidiletanolamīnu (DOPE), ko izmanto kā piedevu (“*helper lipid*” – palīglipīdu), katjono lipīdu transfekcijas efektivitātes palielināšanai [240,241], var izraisīt gan gēnu piegādes efektivitātes palielināšanos gan arī tās samazināšanos [242,243]. Darba [50] autori konstatējuši, ka 1,4-DHP katjono lipīdu, ja to sajauc ar DOPE, neuzlabo transfekcijas īpašības, toties palielina to citotoksicitāti.

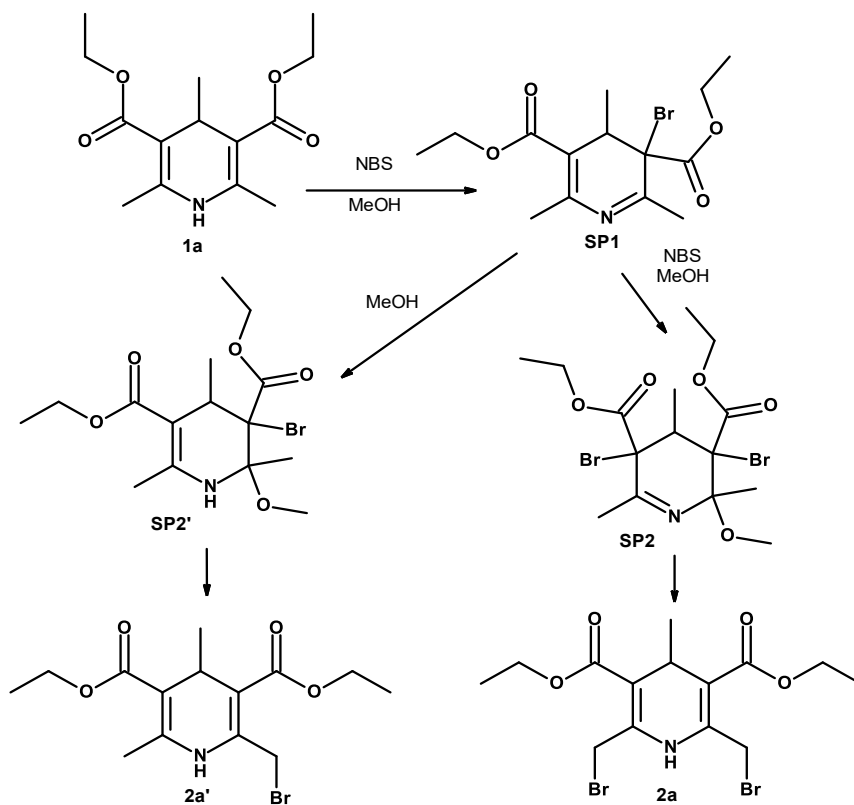
Šobrīd ir vairāki savienojumi – lipīdiem līdzīgi 1,4-DHP atvasinājumi ir pierādījuši savu spēju šūnām piegādāt ģenētisko materiālu, bet joprojām nav pietiekamas izpratnes par

mehānismu kā šie lipīdi saistās ar DNS molekulām un kādi faktori ietekmē veiksmīgu transfekciju.

2. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

2.1. 1,4-DHP atvasinājumu 2. un 6. pozīcijas 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 [50]. Literatūrā nav datu par 1,4-DHP atvasinājumu 2. un 6. vietas metilgrupu bromēšanas reakcijas norises padziļināto izpēti, tai skaitā ar KMR spektroskopijas palīdzību.

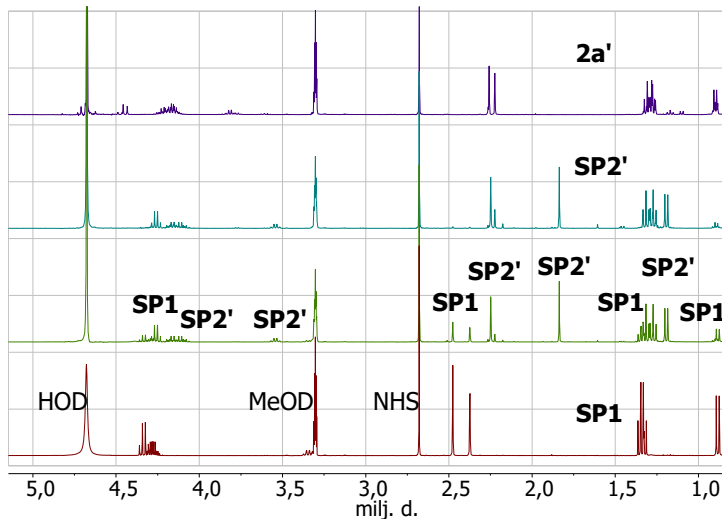


2.1. att. 1,4-DHP atvasinājumu **1a** 2., 6. pozīcijas metilgrupu bromēšanas reakcijas shēma, izmantojot vienu vai divus ekvivalentus NBS metanola šķīdumā.

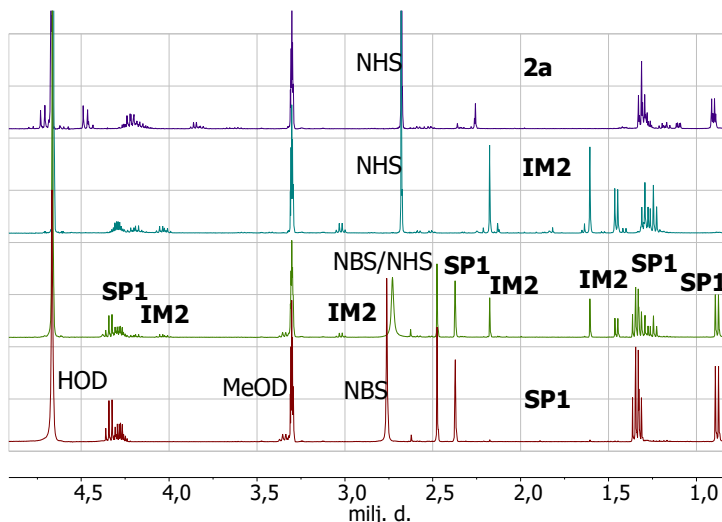
Tā kā reakcijas mehānisms var būt atkarīgs no reaģentu koncentrācijas, reakcija tika pārbaudīta ar dažādu NBS ekvivalentu daudzumu, reakciju veicot metanolā gan pie istabas gan pie paaugstinātas temperatūras. Reakcijas veiktas tieši KMR stobriņos metanola šķīdumā un rezultāti atkārtoti vairākas reizes ar 1, 2 un vairāk ekvivalentiem NBS. Konstatēts, ka reakcija norit vairākos posmos (2.1. att.). Starpproduktu dietil-3-brom-2,4,6-trimetil-3,4-dihidropiridīn-

3,5-dikarboksilāta (SP1), dietil-3-brom-2-metoksi-2,4,6-trimetil-1,2,3,4-tetrahidropiridīn-3,5-dikarboksilāta (SP2') un 3,5-dietil-bisbrom-2-metoksi-2,4,6-trimetil-2,3,4,5-tetrahidrīdsopiridīn-3,5-dikarboksilāta (SP2) struktūras identificēti ar daudzkodolu (^1H , ^{13}C un ^{15}N) KMR spektru datiem.

Starpproduktu SP1, SP2, SP2' un produktu 2a un 2a' raksturīgie ^1H KMR spektri ir parādīti attēlos (2.2. un 2.3. att.).



2.2. att. ^1H KMR spektri savienojuma **1a** bromēšanai ar vienu ekvivalentu NBS metanolā.



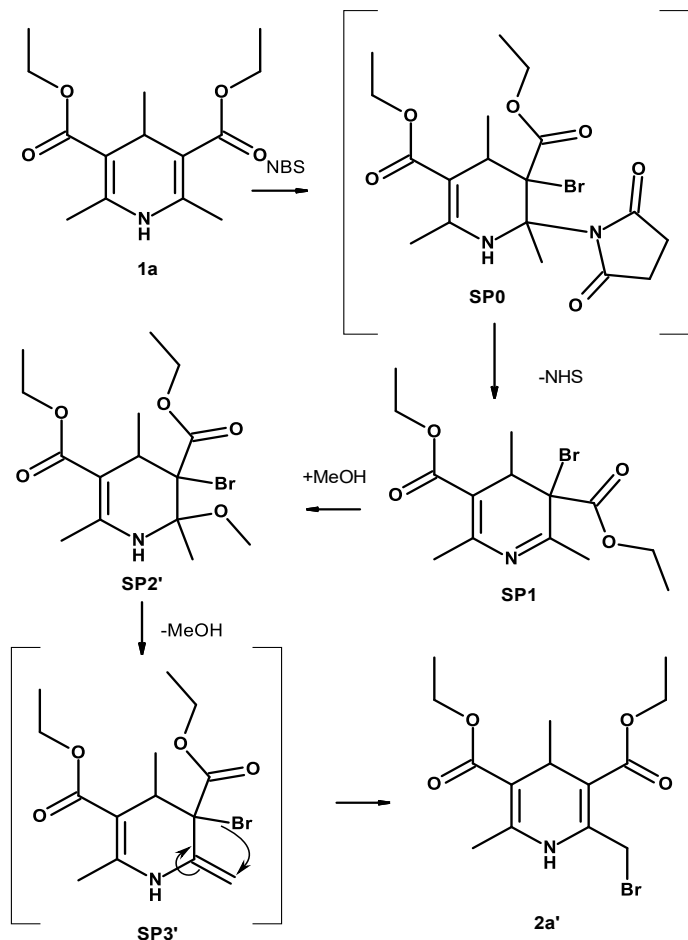
2.3. att. ^1H KMR spektri savienojuma **1a** bromēšanai ar diviem ekvivalentiem NBS metanolā.

Jāatzīmē, ka visi izejvielu un starpproduktu signāli nav detektējami pēdējos ^1H KMR spektros, kur novērojami tikai galaproduktiem raksturīgie protonu signāli. ^1H , ^{13}C , ^1H - ^1H COSY (korelācijas spektroskopija), ^1H - ^{13}C HMBC (heterokodolu korelācija caur

vairākām saitēm), ^1H - ^{13}C HSQC (heterokodolu viena kvanta korelācija) un ^1H - ^{15}N HSQC spektru analīze ļauj veikt starpproduktu **SP1**, **SP2**, **SP2'** un galaproduktu **2a'** un **2a** protonu un oglekļa signālu analīzi.

2.1.1. 1,4-DHP atvasinājuma **1a** bromēšanas reakcija ar vienu NBS ekvivalentu

Tūlīt pēc ekvimolāra 2,4,6-trimetil-1,4-dihidropiridīna **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 ir parādīts 2.4. attēlā.

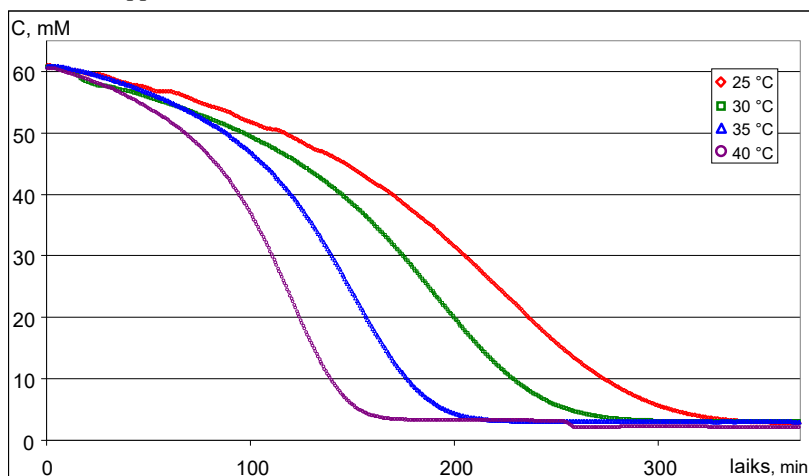


2.4. att. Piedāvātais reakcijas mehānisms 2,4,6-trimetil-1,4-dihidropiridīna **1a** bromēšanas reakcijai ar vienu ekvivalentu NBS.

Var domāt, ka savienojuma **SP1** veidošanās notiek caur starpproduktu **SP0**, kas rodas reakcijā ar NBS, un veido bromēšanas produktus [244]. Starpproduktam **SP1** visraksturīgākie signāli KMR spektros ir divu C_2 un C_6 metilgrupu singleti pie 2,38 un 2,48 milj. d., C_4 metilgrupas dublets, kura centrs ir pie 0,88 milj. d., un C_4 protona kvartets pie 3,35 milj. d.

Visas pārējās ^1H , ^{13}C un ^{15}N signālu nobīdes ir apkopotas tabulā 1. pielikumā. ^{13}C KMR spektrā savienojuma **1a** C_3 oglekļa signāla nobīde novērojama vājākos laukos ($\delta = 102,96$ milj. d.) salīdzinājumā ar starpprodukta **SP1** attiecīgā oglekļa atoma nobīdi ($\delta = 59,44$ milj. d.), kas norāda uz bromā atoma piesaisti C_3 oglekļa atomam un hibridizācijas maiņu no sp^2 uz sp^3 . ^{13}C KMR spektrā C_2 rezonanses izmaiņa uz vājiem laukiem ($\delta = 165,29$ milj. d.) attiecībā pret izejvielu ($\delta = 146,18$ milj. d.) ir jāinterpretē kā pierādījums $\text{C}=\text{N}$ dubultsaites veidošanās procesam. Papildus pierādījums **SP1** struktūras eksistencei ir ^{15}N spektrā novērotā N_1 rezonanses signāla nobīde kas reģistrēta pie $\delta = 311,35$ milj. d. salīdzinājumā ar izejvielas **1a** signālu KMR spektrā pie $\delta = 135,21$ milj. d., kas liecina par slāpekļa atoma rehibridizāciju no sp^3 uz sp^2 , un ir apstiprināta ar līdzīgiem novērojumiem citiem slāpekļi saturošiem savienojumiem [245].

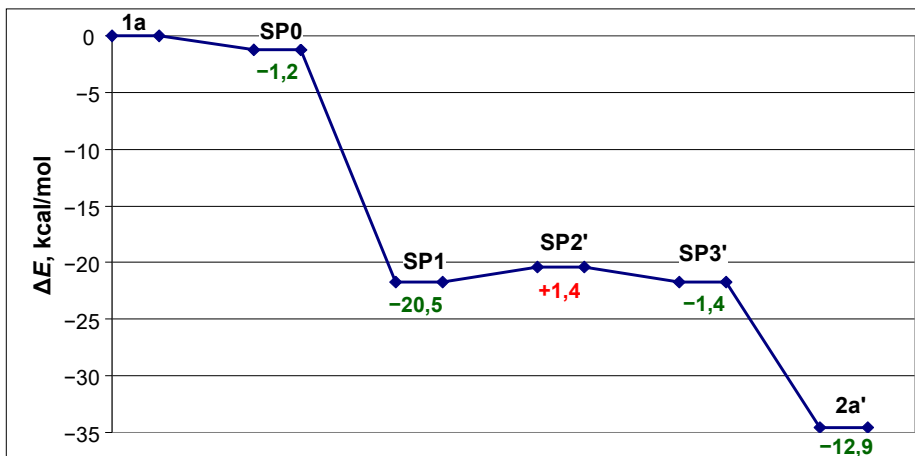
Nākamais solis – starpprodukta **SP2'** veidošanās pēc kāda laika (atkarīgs no reakcijas temperatūras). Starpprodukta veidošanos apstiprina ^1H KMR spektri, kuros novēro vienlaicīgu integrālās intensitātes samazināšanos signāliem, kas atbilst starpprodukta **SP1** C_2 , C_6 un C_4 metilgrupu atbilstošajiem rezonanses signāliem pie 1,84, 2,26 un 1,19 milj. d., kā arī C_4H protona rezonanses signāls ($\delta = 3,35$ milj. d.) starpprodukta **SP1** spektrā nobīdās uz vājākiem laukiem ($\delta = 3,54$ milj. d.), veidojoties starpproduktam **SP2'**. ^{13}C spektrā C_2 signāla nobīde uz stiprākiem laukiem no 165,29 milj. d. savienojumam **SP1** uz 86,63 milj. d. starpproduktam **SP2'** parāda, ka metoksigrupas piesaistes dēļ mainās hibridizācija no sp^2 uz sp^3 pie C_2 atoma. To apstiprina arī korelācijas signāls (*cross-peak*) starp $-\text{OCH}_3$ grupu ($\delta = 3,44$ milj. d.) un C_2 oglekļa atomu ($\delta = 86,63$ milj. d.) ^1H - ^{13}C HMBC spektrā atsevišķā eksperimentā, kad tika izmantots protonēta/deiterēta metanola maisījums. ^{15}N rezonanses spektrā novērotais N_1 signāls starpproduktos **SP1** un **SP2'** pārvietojas uz stiprākiem laukiem no $\delta = 311,35$ milj. d. (**SP1**) uz $\delta = 112,82$ milj. d. (**SP2'**), kas pierāda slāpekļa hibridizācijas izmaiņas no sp^2 uz sp^3 , apstiprinot piedāvāto **SP2'** starpprodukta struktūru.



2.5. att. Ar ^1H KMR spektroskopijas metodi novērotās starpprodukta **SP1** koncentrācijas izmaiņas laikā 1,4-DHP atvasinājuma **1a** bromēšanas reakcijā ar vienu ekvivalentu NBS metanolā atkarībā no temperatūras.

Starpprodukta **SP1** pārveidošanās starpproduktā **SP2'** ir samērā lēna, tās ilgums samazinās paaugstinot temperatūru. Eksperimentāli noteikta koncentrācijas atkarība no laika starpproduktam **SP1** pārvēršoties par starpproduktu **SP2'** dažādās temperatūrās, dati apkopoti diagrammās (2.5. att.). Visām līknēm ir sigmoidāla forma, kas ir raksturīga autokatalizētai reakcijai [246].

Starpproduktus **SP1** un **SP2'** no reakcijas maisījuma neizdevās izolēt, tomēr tie bija pietiekami stabili, lai tiktu pilnībā identificēti ar daudzkodolu (^1H , ^{13}C , ^{15}N) KMR spektroskopijas palīdzību. Starpproduktu **SP2'** raksturo diezgan ilga, bet nekontrolējama stabilitāte, pirms tas pārvēršas par atbilstošo 2-brommetil-1,4-dihidropiridīna atvasinājumu **2a'**. Piedāvātais mehānisms runā par labu monoaižvietotā savienojuma kā galvenā produkta veidošanai, jo 1,4-DHP ciklam piesaistītais broms atoms samazina elektronu blīvumu visā rezonanses sistēmā, padarot otro dubultsaiti mazāk uzņēmīgu pret bromēšanu. Svarīgi atzīmēt, ka šķīdumā pastāv NBS deficīts. Savienojuma **1a** bromēšanas reakcija ar vienu ekvivalentu NBS pēdējie divi posmi (**SP2' → SP3'**, **SP3' → 2a'**) notiek ļoti ātri un ar ^1H KMR metodi nav iespējams novērot un raksturot atbilstošo starpproduktu **SP3'**. Bromēšanas reakcijas mehānisms ietver vairākus soļus. Pirmais ir savienojuma **1a** bromēšana ar NBS, iegūstot starpproduktu **SP0**, kas ir līdzīgs bromā/NHS adduktam, Massone (*Masson*) un līdzstrādnieku aprakstītajiem savienojumiem [244]. Tad ātra NHS eliminācija noved pie starpprodukta **SP1** veidošanās. Turpmākā metanola piesaistīšanās pie molekulas $\text{N}_1=\text{C}_2$ saites veido starpproduktu **SP2'**, kas ir salīdzinoši stabils un ko var raksturot ar KMR spektriem šķīdumā, iespējams dažos gadījumos šie atvasinājumi varētu būt pat izolējami no reakcijas vides. Līdzīgi novērojumi aprakstīti hlorēšanas reakcijām [116]. Var pieņemt, ka starpprodukta **SP2'** pārveidošanās par produktu **2a'** notiek ar metanola molekulas atdalīšanos no **SP2'**, veidojot atbilstošo savienojumu **SP3'**, kam seko **SP3'** [1,3]-sigmatropā pārgrupēšanās līdz monobromētajam produktam **2a'**.

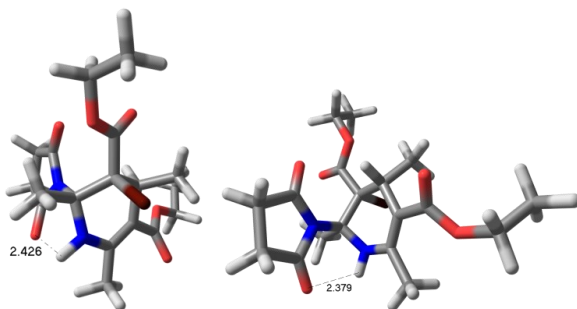


- 1) $1a + \text{NBS} \rightarrow \text{SP0}$ $\Delta E = -1,2$ kcal/mol
- 2) $\text{SP0} \rightarrow \text{SP1} + \text{NHS}$ $\Delta E = -20,5$ kcal/mol
- 3) $\text{SP1} + \text{MeOH} \rightarrow \text{SP2'}$ $\Delta E = +1,4$ kcal/mol
- 4) $\text{SP2'} \rightarrow \text{SP3'} + \text{MeOH}$ $\Delta E = -1,4$ kcal/mol
- 5) $\text{SP3'} \rightarrow 2a'$ $\Delta E = -12,9$ kcal/mol

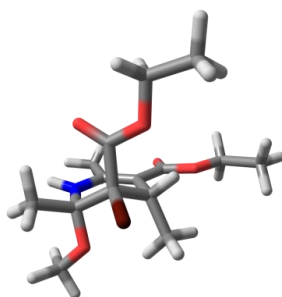
2.6. att. Pamatojoties uz kvantu ķīmiskajiem aprēķiniem iegūtā enerģijas diagramma 2,4,6-trimetil-1,4-dihidropiridīna **1a** bromēšanas reakcijai ar vienu ekvivalentu NBS.

Šāda reakcijas mehānisma apstiprināšanai veikti kvantu ķīmiskie aprēķini (*Jaguar 8.0* programmatūras pakotne [247]; 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 enerģijas diagrammas shematisks attēlojums izmantojot reaģentu relatīvās enerģijas, parādīts attēlā (2.6. att.).

Grafiks ir mērogots, pamatojoties uz relatīvajām enerģijām, kā parādīts uz Y ass. Visiem reakcijas starpproduktiem, kas ir novērojami ar KMR spektroskopijas metodi, paņemtas konformācijas ar viszemāko enerģiju, tās dotas attēlos (2.7. un 2.8. att.). Aprēķinātās iekšējās enerģijas soļu atšķirības parāda viena ekvivalenta NBS pievienošanu 2,4,6-trimetil-1,4-dihidropiridīna atvasinājumam **1a**, kas sekmē ātro starpprodukta **SP0** veidošanās. Šis process ir labvēlīgs ($\Delta E = -1,2$ kcal/mol). Visizdevīgākās **SP0** konformācijas tiek stabilizētas ar vājo iekšmolekulāro ūdeņraža saiti $|N-H|\cdots O=C$ (2,38–2,42 Å). Metilgrupas 1,4-DHP gredzena 2. un 4. pozīcijā ir sakārtotas *cis* orientācijā pret bromu atomu 3. pozīcijā. Tomēr broms un NHS aizvietotāji pieņem *trans* pozīciju attiecībā viens pret otru. Tas varētu būt saistīts ar NHS fragmenta lielo telpisko izmēru, kā rezultātā rodas heterocikla deformācija un broms atoms ieņem visizdevīgāko pozīciju 1,4-DHP gredzenā.



2.7. att. Enerģētiski visizdevīgākās starpprodukta **SP0** konformācijas.



2.8. att. Starpprodukta **SP2'** koformērs ar minimizēto enerģiju.

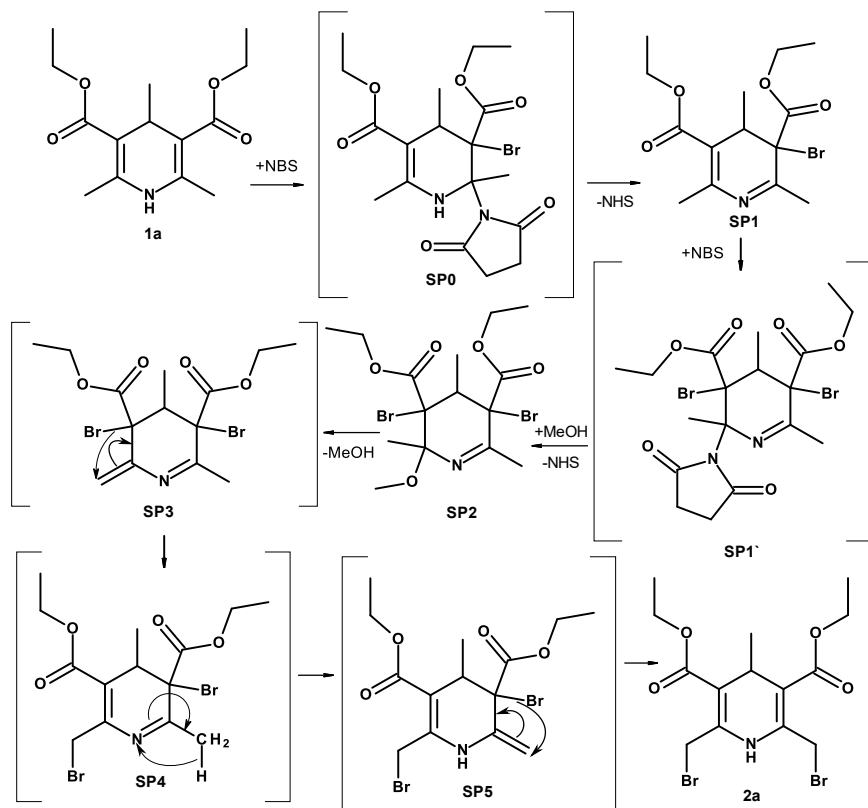
No kvantu ķīmiskiem aprēķiniem secinām, ka NHS fragmenta eliminēšana no starpprodukta **SP0** un starpprodukta **SP1** veidošanās ar enerģijas starpību 20,5 kcal/mol ir termodinamiski ļoti labvēlīga. Sekojoša metanola pievienošanās starpproduktam **SP1** un starpprodukta **SP2'** veidošanās ir nedaudz termodinamiski nelabvēlīgākas un prasa enerģiju 1,4 kcal/mol (2.6. att.), kas rezultējas ar relatīvi ilgu starpproduktu **SP1** un **SP2'** stabilitāti. *Cis*

konfigurācija starp C₄-CH₃ grupu un C₃-Br atomu saglabājas starpproduktos **SP1** un **SP2'**. Starpproduktam **SP2'** enerģētiski vislabvēlīgākā -OCH₃ aizvietotāja konformācija pret C₄-CH₃ grupu un broma atomu ir *cis* pozīcijā (2.8. att.). Tātad, C₂ atoma metilgrupas orientācija pret broma atomu 1,4-DHP cikla 3. pozīcijā ir mainīta salīdzinot ar starpproduktiem **SP0** un **SP2'**. Tomēr jāpiemin, ka enerģijas starpība starpprodukta **SP2'** konformēriem, kur metoksigrupa atrodas *trans* pozīcijā attiecībā pret C₄-CH₃ grupu un broma atomu, ir zema un nepārsniedz 1,5 kcal/mol.

No piedāvātā bromēšanas mehānisma redzams, ka 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'** → **2a'** ir enerģētiski ļoti labvēlīgs ($\Delta E = -12,9$ kcal/mol).

2.1.2. 1,4-DHP atvasinājuma **1a** bromēšanas reakcija ar diviem ekvivalentiem NBS

Piedāvātais savienojuma **1a** bromēšanas reakcijas ar diviem ekvivalentiem NBS mehānisms ir parādīts 2.9. attēlā. Savienojuma **1a** reakcijā ar diviem ekvivalentiem NBS pirmais un otrais posms identiski monobromēšanas gadījumam.



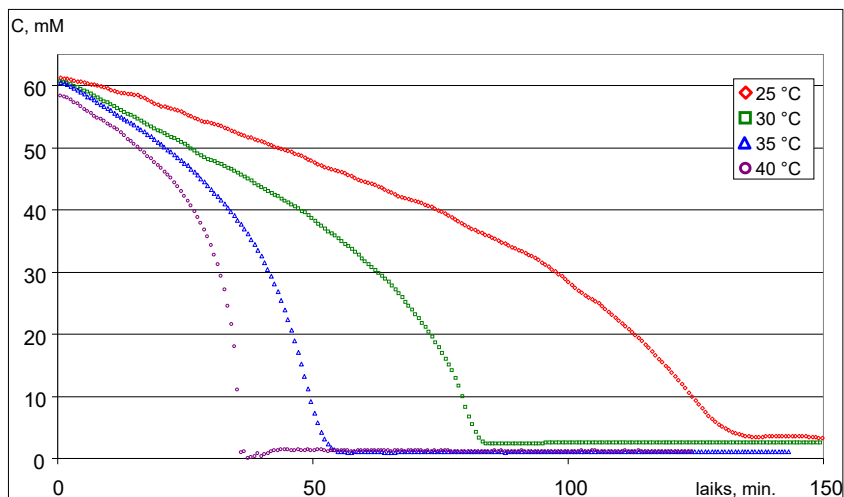
2.9. att. Piedāvātais reakcijas mehānisms 2,4,6-trimetil-1,4-dihidropiridīna **1a** bromēšanai ar diviem ekvivalentiem NBS.

Nākamo soli, starpprodukta **SP2** veidošanos no starpprodukta **SP1**, ^1H KMR spektros pierāda vienlaicīgas starpprodukta **SP1** C_2 , C_4 un C_6 metilgrupu signālu nobīdes, kas reģistrētas attiecīgi pie 2,38, 0,88 un 2,48 milj. d., un starpprodukta **SP2** atbilstošo grupu rezonanses signāli pie 1,63, 1,45 un 2,17 milj. d. Novērotā C_4 protona nobīde ($\delta = 3,35$ milj. d.) pirmā starpprodukta **SP1** spektrā otrā starpprodukta **SP2** spektrā novirzīta stiprākos laukos ($\delta = 3,03$ milj. d.).

Analizējot starpprodukta **SP1** un starpprodukta **SP2** spektrus, redzam: ^{13}C KMR spektrā novērojamas nelielas izmaiņas, starpprodukta **SP1** C_2 atoma rezonanses signāls tiek novērots pie 165,29 milj. d., bet starpproduktam **SP2** 157,01 milj. d., C_3 atoma signāls pie 59,44 milj. d. (**SP1**) un 66,85 milj. d. (**SP2**). Tāpat N_1 signāls ^{15}N spektrā pārbīdās no 311,35 milj. d. (**SP1**) līdz 325,15 milj. d. (**SP2**), kas liecina par sp^2 hibridizāciju C_2 oglekļa un N_1 slāpekļa atomiem, kā arī sp^3 hibridizāciju C_3 oglekļa atomam.

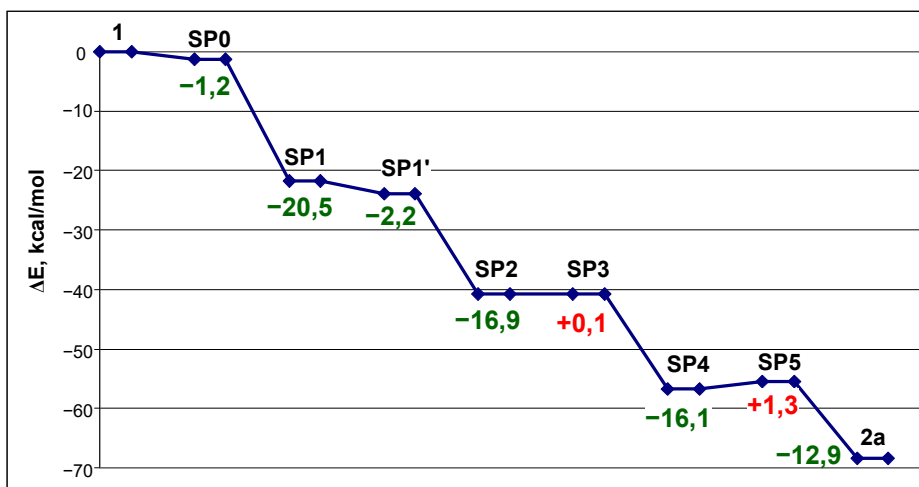
Oglekļa C_5 un C_6 atomu rezonanses signāli nobīdās uz stiprākiem laukiem, salīdzinot starpproduktu **SP2** ar **SP1** spektrus: ^{13}C KMR signāls C_5 ogleklim nobīdās no 116,75 milj. d. (**SP1**) uz 73,38 milj. d. (**SP2**), kas norāda uz bromā atoma piesaisti C_5 ogleklim mainot tā hibridizāciju no sp^2 uz sp^3 . C_6 signāla KMR ķīmiskās nobīdes izmaiņa uz stiprākiem laukiem no 150,56 milj. d. (**SP1**) uz 91,38 milj. d. (**SP2**) norāda uz to, ka metoksigrupas pievienošana maina šī atoma hibridizāciju. To apstiprina korelācijas signāls starp metoksigrupu ($\delta = 3,44$ milj. d.) un C_6 oglekļa atomu ($\delta = 91,38$ milj. d.) ^1H - ^{13}C HMBC spektrā.

Kad šķīdumā ir NBS pārākums, starpprodukta **SP1** dzīves laiks ir ievērojami īsāks (2.10. att.) salīdzinot ar gadījumu, kad lieto vienu ekvivalentu NBS (2.5. att.), un dzīves laika ilgums samazinās, palielinoties temperatūrai. Piedāvātais starpprodukta **SP2** veidošanās mehānisms ir līdzīgs starpprodukta **SP1** veidošanās procesam – NBS molekulas pievienošana, izveidojot starpproduktu **SP1'** ar sekojošu NHS elimināšanu, kā arī metanola pievienošanās.



2.10. att. Ar ^1H KMR spektroskopijas metodi novērotās starpprodukta **SP1** koncentrācijas izmaiņas laikā 1,4-DHP atvasinājuma **1a** bromēšanas reakcijā ar diviem ekvivalentiem NBS metanolā atkarībā no temperatūras.

Gadījumā, kad lieto divus ekvivalentus NBS, līknes ir daudz stāvākas nekā viena NBS ekvivalenta gadījumā, tām ir raksturīga līdzīga forma, kas, tāpat kā monobromēšanas gadījumā, neļauj noteikt reakcijas kārtu. Šajā reakcijā starpproduktus no reakcijas maisījuma neizdevās izolēt (tāpat kā monobromēšanas gadījumā), bet ar KMR spektroskopijas metodi bija iespējams identificēt dažus no jaunizveidotajiem starpproduktiem (tabula 1. pielikumā). Pēc piedāvātā mehānisma pēdējās reakcijas stadijās, savienojumam **1a** reaģējot ar diviem ekvivalentiem NBS, notiek sekojoša transformācijas $SP2 \rightarrow SP3 \rightarrow SP4 \rightarrow SP5 \rightarrow 2a$. Tās notiek ļoti ātri, tāpēc 1H KMR spektros tikai dažreiz bija iespējams novērot atbilstošos pāreju signālus, bet neizdodas tos raksturot ar pilnu KMR spektrālo datu kopu. Kā parādīts zemāk, izmantojot kvantu ķīmiskos aprēķinus, var pieņemt, ka šī konversija notiek caur metanola molekulas atdalīšanos no starpprodukta **SP2** veidojot starpproduktu **SP3** ar sekojošu [1,3]-sigmatropo pārgrupēšanos $SP3 \rightarrow SP4$. Nākamais solis ir eksocikliskās dubultsaites veidošanās un pēc tam pārgrupēšanās $SP4 \rightarrow SP5$ un $SP5 \rightarrow 2a$. Ir jāuzsver, ka 1,4-DHP ar eksocikliskām dubultsaitēm kā starpsavienojumos **SP3** un **SP5** veidojas samērā viegli un ir tikuši izolēti arī vairākās 1,4-DHP hlorēšanas reakcijās [116].



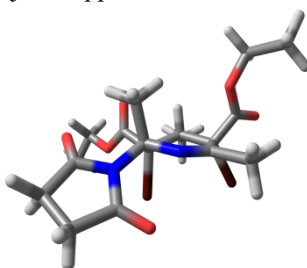
- | | | | |
|--|-----------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| 1) $1a + NBS \rightarrow SP0$ | $\Delta E = -1,2$ kcal/mol | 5) $SP2 \rightarrow SP3 + MeOH$ | $\Delta E = +0,1$ kcal/mol |
| 2) $SP0 \rightarrow SP1 + NHS$ | $\Delta E = -20,5$ kcal/mol | 6) $SP3 \rightarrow SP4$ | $\Delta E = -16,1$ kcal/mol |
| 3) $SP1 + NBS \rightarrow SP1'$ | $\Delta E = -2,2$ kcal/mol | 7) $SP4 \rightarrow SP5$ | $\Delta E = +1,3$ kcal/mol |
| 4) $SP1' + MeOH \rightarrow SP2 + NHS$ | $\Delta E = -16,9$ kcal/mol | 8) $SP5 \rightarrow 2a$ | $\Delta E = -12,9$ kcal/mol |

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

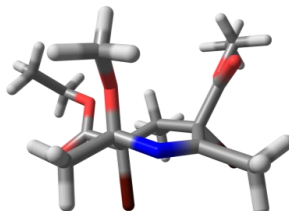
Tāpat kā iepriekšaprakstītajā bromēšanas gadījumā ar vienu ekvivalentu NBS, ar KMR noteiktie transformāciju soļi tika salīdzināti ar kvantu ķīmisko aprēķinu rezultātiem. Apkopotie dati (2.11. att.) parāda iesaistīto starpproduktu relatīvās enerģijas dažādos bromēšanas procesa posmos. Pirmie divi posmi (starpprodukta **SP1** veidošanās caur starpproduktu **SP0**) notiek monobromēšanas reakcijas gadījumā. Nākamais solis ietver NBS molekulas pievienošanos starpprodukta **SP1** divkārtējai saitei starp $C_5=C_6$ atomiem, kur izveidojas starpprodukts **SP1'**. Šis process ir enerģētiski mazlabvēlīgs ($\Delta E = -2,2$ kcal/mol). Starpproduktu **SP1'** un **SP2** konformācijas ar zemāko enerģiju ir parādītas attēlos (2.12. att.) un (2.13. att.). 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**.

Atšķirībā no starpsavienojuma **SP0**, kur NHS cikls un broms atoms pievienojas $C_2=C_3$ dubultsaietei veidojot *trans* izomēru; starpsavienojuma **SP1'** NHS gredzens un broms atoms ir *cis* orientācijā viens pret otru (pēc kvantu ķīmiskiem aprēķiniem). NHS ciklu aizvietošana ar metoksigrupu apvērš asimetriskā centra C_6 konfigurāciju, tāpēc C_6-OCH_3 un C_5-Br grupas atrodas savstarpēji relatīvi *trans* konfigurācijās. Patiešām, enerģijas minimizētā starpprodukta **SP2** optimālā konformācija, kas parādīta 2.13. attēlā, to apstiprina. Tomēr tas tikai nedaudz (enerģijas starpība ir 1,6 kcal/mol) atšķiras no konformācijas enerģijas ar C_6-OCH_3 un C_5-Br *cis* orientāciju, iespējams, metoksigrupas relatīvi mazā telpiskā izmēra dēļ. Turpmāka metanola molekulas atdalīšana no starpprodukta **SP2**, ir nedaudz enerģētiski nelabvēlīgāka ($\Delta E = +0,1$ kcal/mol), kā rezultātā veidojas starpprodukts **SP3**.



2.12. att. Starpprodukta **SP1'** koformērs ar minimizēto enerģiju.

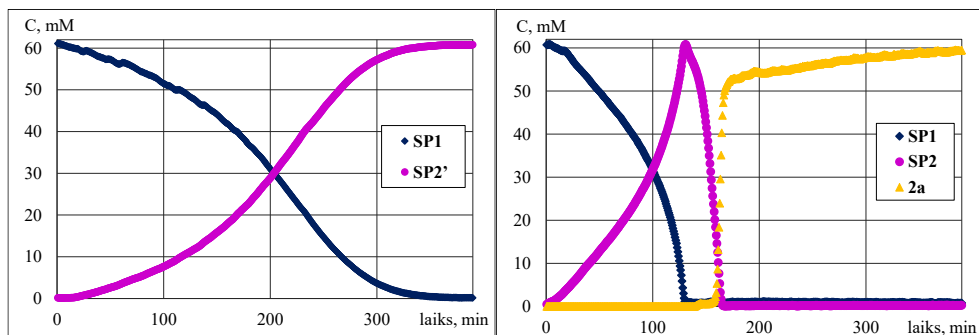


2.13. att. Starpprodukta **SP2** koformērs ar minimizēto enerģiju.

Nākamie posmi ir sigmatropās pārgrupēšanās, kur broms atomi 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 starpproduktu **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).

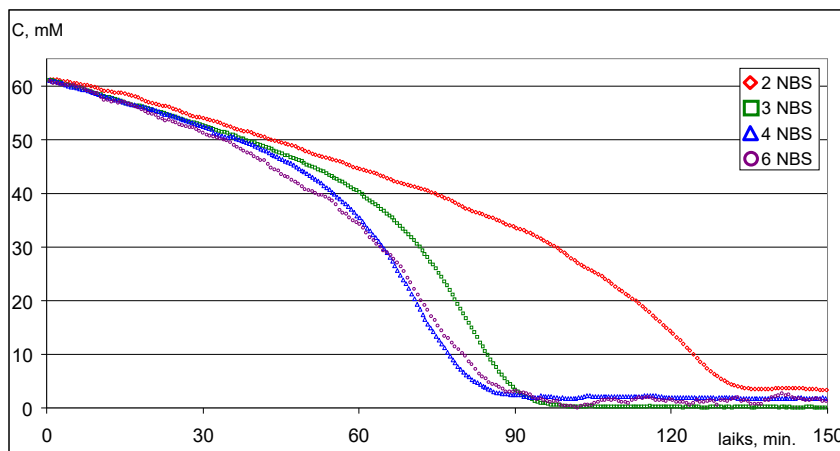
2.1.3. 1,4-DHP atvasinājuma **1a** bromēšanas ar NBS reakcijas kinētika

Ņemot vērā starpproduktu koncentrāciju izmaiņas 1,4-dihidropiridīna atvasinājuma **1a** bromēšanas reakcijā ar vienu vai diviem NBS ekvivalentiem (2.14. 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.



2.14. att. Ar ^1H 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 (2.14. att.).



2.15. att. Ar ^1H 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.

Ņemot vērā starpprodukta **SP1** veidošanās enerģētisko izdevību, rodas jautājums, kāpēc bisbromēšanas gadījumā nav novērots attiecīgais starpprodukts **SP2'** kā monobromēšanās reakcijā. Iemesls varētu būt tāds, ka metanola molekulas pievienošanās $\text{N}_1=\text{C}_2$ divkāršajai saitei starpproduktā **SP1**, lai izveidotu starpproduktu **SP2'** ($\Delta E = +1,4$ kcal/mol), tika pierādīta kā termodinamiski nedaudz nelabvēlīga (2.6. att.). NBS pārākuma klātbūtnē ir lielāka varbūtība,

ka starpprodukts **SP1** piesaistītu NBS molekulu 1,4-DHP cikla C₅=C₆ divkāršajai saitei un pēc tam aizstātu to ar metanolu. Pēc aprēķiniem šie divi posmi **SP1** → **SP1'** → **SP2** ($\Delta E = -19,1$ kcal/mol) ir enerģētiski izdevīgāki nekā **SP1** → **SP2'** ($\Delta E = +1,4$ kcal/mol), kas nodrošina ne tikai starpprodukta **SP2** veidošanos, bet arī paātrina reakciju, ja tiek izmantoti divi vai vairāk ekvivalenti NBS (2.15. att.).

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 atvasinājumu bromēšanas reakcijas maisījumos ar diviem un vairākiem ekvivalentiem NBS netika novērota starpsavienojuma **SP2'** klātbūtne un reakcijā ar vienu ekvivalentu NBS – tikai starpprodukta **SP2** pēdas.

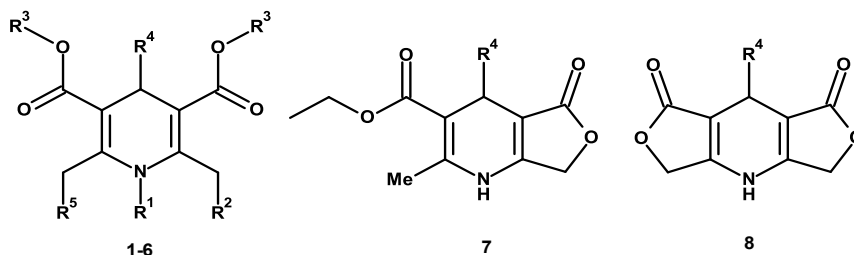
2.2. 2. un 6. pozīcijās aizvietoto 1,4-DHP atvasinājumu strukturālās īpašības

Pēdējos 30 gados veikts liels skaits pētījumu, kuros mēģināts modificēt 1,4-DHP cikla 2. un 6. pozīcijās esošās metilgrupas ar dažādiem aizvietotājiem [24,35,48,49,55,125,248]. Tāpat, nozīmi ieguvuši katjonie amfifīlie 1,4-DHP atvasinājumi kā perspektīvas transportmolekulas nukleotīdu ievadīšanai mērķa šūnās [50].

Jau maģistra darba [249] izstrādes laikā tikām uzsākuši pētījumus, kā aizvietotāju maiņa pie 1,4-DHP cikla atomiem ietekmē metilēngrupas protonu signālu formu ¹H KMR spektrā. Kā redzams no 2.1. tabulas datiem, toreiz tika apskatīti savienojumi, kas 1,4-DHP cikla 2., 6. pozīcijās satur vienādus aizvietotājus, piemēram halogēna atomus (2.1. tabula 4., 5., 9.-12. rindas), katjonus aizvietotājus (2.1. tabula 13.-30. rindas), kā arī pie slāpekļa atoma metil aizvietotāju saturoši (2.1. tabula 5., 14., 20., 25. rindas) vai laktona/laktonu sānu grupas saturoši savienojumi (2.1. tabula 40.-43. rindas). Iesāktos pētījumus turpinājām disertācijas izstrādes laikā, veicot 1,4-DHP atvasinājumu, kas 2., 6. pozīcijās modificēti ar neitrāliem, skābekļa atomus saturošiem aizvietotājiem (2.1. tabulas 37.-39. rindas) vai vienā pozīcijā metilgrupu, otrā neitrālu, skābekļa atomu saturošu aizvietotāju (2.1. tabulas 31.-36. rindas) KMR spektru analīzi.

2.1. tabula

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



N. p. k.	Sav.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
1.	1a	H	H	CH ₂ CH ₃	CH ₃	H

2.1. tabulas turpinājums

N. p. k.	Sav.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
2.	1b	H	H	CH ₂ CH ₃	Ph	H
3.	1c	H	H	(CH ₂) ₂ OC ₃ H _{7-n}	PhOCHF _{2-o}	H
4.	2a**	H	Br	CH ₂ CH ₃	CH ₃	Br
5.	2b*	CH ₃	Br	CH ₂ CH ₃	Ph	Br
6.	2c**	H	Br	CH ₂ CH ₃	PhCF _{3-o}	Br
7.	2d**	H	Br	(CH ₂) ₂ OC ₃ H _{7-n}	PhOCHF _{2-o}	Br
8.	2e**	H	Cl	CH ₂ CH ₃	COOCH ₃	Cl
9.	2f*	H	Br	CH ₂ CH ₃	Ph	Br
10.	2g**	H	Br	CH ₃	PhOCHF _{2-o}	Br
11.	2h**	H	Br	C ₁₂ H ₂₅	Ph	Br
12.	2i**	CH ₃	Br	CH ₃	PhOCHF _{2-o}	Br
13.	3a*	H	Py ⁺ Br ⁻	CH ₂ CH ₃	CH ₃	Py ⁺ Br ⁻
14.	3b*	CH ₃	Py ⁺ Br ⁻	CH ₂ CH ₃	Ph	Py ⁺ Br ⁻
15.	3c**	H	Py ⁺ Br ⁻	CH ₂ CH ₃	PhCF _{3-o}	Py ⁺ Br ⁻
16.	3d**	H	Py ⁺ Br ⁻	(CH ₂) ₂ OC ₃ H _{7-n}	PhOCHF _{2-o}	Py ⁺ Br ⁻
17.	3e**	H	Py ⁺ Cl ⁻	CH ₂ CH ₃	COOCH ₃	Py ⁺ Cl ⁻
18.	3f**	H	Py ⁺ Br ⁻	CH ₂ CH ₃	Ph	Py ⁺ Br ⁻
19.	3g*	H	Py ⁺ Br ⁻	CH ₃	PhOCHF _{2-o}	Py ⁺ Br ⁻
20.	3h**	CH ₃	Py ⁺ Br ⁻	CH ₃	PhOCHF _{2-o}	Py ⁺ Br ⁻
21.	4a**	H	Py ⁺ Br ⁻	C ₁₀ H ₂₁	Ph	Py ⁺ Br ⁻
22.	4b*	H	Py ⁺ Br ⁻	C ₁₂ H ₂₅	Ph	Py ⁺ Br ⁻
23.	4c**	H	Py ⁺ Br ⁻	C ₁₄ H ₂₉	Ph	Py ⁺ Br ⁻
24.	4d*	H	Py ⁺ Br ⁻	C ₁₆ H ₃₃	Ph	Py ⁺ Br ⁻
25.	4e*	CH ₃	Py ⁺ Br ⁻	C ₁₂ H ₂₅	Ph	Py ⁺ Br ⁻
26.	4f*	H	Py ⁺ CH ₃₋₄ Br ⁻	C ₁₂ H ₂₅	Ph	Py ⁺ CH ₃₋₄ Br ⁻
27.	4g*	H	Py ⁺ (CH ₃) _{2-3,5} Br ⁻	C ₁₂ H ₂₅	Ph	Py ⁺ (CH ₃) _{2-3,5} Br ⁻
28.	4h*	H	Py ⁺ N-(CH ₃) ₂₋₄ Br ⁻	C ₁₂ H ₂₅	Ph	Py ⁺ N-(CH ₃) ₂₋₄ Br ⁻
29.	4i*	H	Py ⁺ Br ⁻	C ₁₂ H ₂₄ -CF ₃	Ph	Py ⁺ Br ⁻
30.	4j*	H	Py ⁺ Br ⁻	C ₁₂ H ₂₅	Ph-CF _{3-p}	Py ⁺ Br ⁻
31.	5a	H	OOCCH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₃	H
32.	5b	H	OOCCH ₃	CH ₃	CH ₃	H
33.	5c	H	OOCCH ₃	CH ₂ CH ₃	Ph	H
34.	5d	H	OOCCH ₃	(CH ₂) ₂ OC ₃ H _{7-n}	PhOCHF _{2-o}	H
35.	5e	H	OOCCH ₃	CH ₂ CH ₃	Ph-F-o	H
36.	5f	H	OOCCH ₃	CH ₂ CH ₃	Ph-NO _{2-m}	H
37.	6a	H	OOCCH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₃	OOCCH ₃
38.	6b	H	OOCCH ₃	CH ₂ CH ₃	Ph	OOCCH ₃
39.	6c	H	OOCCH ₃	(CH ₂) ₂ OC ₃ H _{7-n}	PhOCHF _{2-o}	OOCCH ₃
40.	7a**				Ph	
41.	7b**				PhOCHF _{2-o}	
42.	8a*				Ph	
43.	8b*				PhOCHF _{2-o}	

* – savienojums iepriekš bija aprakstīts maģistra darbā [249].

** – savienojums iepriekš bija aprakstīts publikācijā [126], kas izveidota, ņemot vērā maģistra darba izstrādes gaitā iegūtos datus, un nebija aprakstīts maģistra darbā.

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

Savienojumi sintezēti Latvijas Organiskās sintēzes institūta Membrānaktīvo un β-diketonu laboratorijā.

1,4-Dihidropiridīna gredzena 2. un 6. pozīcijās aizvietotu metilēngrupu CH₂X protoniem piemīt interesanta īpašība (2.1. tab. 2-6 savienojumi) – tie ir diastereotopi. Minēto savienojumu ¹H KMR spektrā attiecīgo protonu signāli novērojami kā AB spinu sistēmas. Šo neekvivalenci var ietekmēt molekulas aizvietotāju konformācija un arī aizvietotāju anizotropija.

Savienojumu 1-8 ^1H un ^{13}C KMR spektru metilēngrupas AB sistēmu dati

Sav.	Šķīd.	$\delta(^1\text{H}_\text{N})$, milj. d.	$\delta(\text{H}_\text{A})$, milj. d.	$^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H}_\text{A})$, Hz	$\delta(\text{H}_\text{B})$, milj. d.	$^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H}_\text{B})$, Hz	$^2J(\text{H}, \text{H})$, Hz
1a	CDCl_3	5,54	-	-	-	-	-
1b	CDCl_3	5,67	-	-	-	-	-
1c	CDCl_3	5,73	-	-	-	-	-
2a	CDCl_3	5,54	4,51	157,0	4,89	159,0	11,5
	DMSO	9,44	4,40		4,69		9,6
2b	CDCl_3	-	4,82		4,96		11,0
	DMSO	-	4,87		5,17		11,3
2c	CDCl_3	6,49	4,66	157,0	4,81	159,0	11,6
	DMSO	9,67	4,56	157,0	4,61	158,0	9,9
2d	CDCl_3	6,55	4,57		4,86		11,8
	DMSO	9,62	4,53		4,67		9,7
2e	CDCl_3	7,37	4,74	158,0	5,19	160,0	14,6
	DMSO	9,78	4,48	156,0	4,93	158,0	11,1
2f	CDCl_3	6,45	4,63	156,4	4,91	159,0	11,8
	DMSO	9,58	4,57	158,7	4,67	160,0	9,6
2g	CDCl_3	6,56	4,62		4,86		11,3
	DMSO	9,65	4,59		4,62		9,7
2h	CDCl_3	6,45	4,63	156,0	4,92	158,0	11,5
	DMSO	9,62	4,59	157,0	4,68	159,0	9,7
2i	CDCl_3	-	4,84		4,91		11,0
	DMSO	-	4,85		5,18		11,4
3a	CDCl_3	10,88	5,75		6,30		13,7
	DMSO	10,10	5,49		5,99		15,0
3b	CDCl_3	-	6,59	146,3	6,82	152,1	15,6
	DMSO	-	5,77	146,2	6,45	152,2	16,0
3c	CDCl_3	10,98	5,97	147,1	6,35	153,1	13,6
	DMSO	10,48	5,66	149,1	5,97	151,1	15,1
3d	CDCl_3	10,80	6,11		6,16		14,1
	DMSO	10,15	5,62	149,2	5,90	150,1	14,9
3e	CDCl_3	10,31	6,06		6,30		14,1
	DMSO	10,20	5,64		5,97		15,6
3f	CDCl_3	10,92	5,92	146,5	6,38	150,6	13,6
	DMSO	10,34	5,63	146,4	6,08	151,9	15,3
3g	CDCl_3	10,88	6,10		6,24		13,7
	DMSO	10,31	5,46		5,94		14,9
3h	CDCl_3	-	6,62		6,84		15,8
	DMSO	-	5,77		6,39		16,2
4a	CDCl_3	10,96	5,89	146,5	6,40	150,7	13,9
	DMSO	10,21	5,56	145,4	6,08	151,1	15,1
4b	CDCl_3	10,95	5,89	146,3	6,40	151,4	13,9
	DMSO	10,12	5,53	146,3	6,07	152,4	15,0
4c	CDCl_3	10,92	5,86	146,2	6,32	150,1	13,8
	DMSO	10,28	5,56	146,4	6,08	152,1	15,1
4d	CDCl_3	10,96	5,89	146,2	6,40	148,3	13,9
	DMSO	10,12	5,53		6,07		15,2
4e	CDCl_3	-	6,56	150,2	6,73	152,5	16,1
	DMSO	-	5,78	147,5	6,48	152,5	16,5
5a	CDCl_3	6,48	5,21	153,0	5,27	155,0	14,7
5b	CDCl_3	6,53	5,25	153,0	5,29	155,0	14,7
5c	CDCl_3	6,55	5,27	153,0	5,4	156,0	14,8
5d	CDCl_3	6,64	5,26	154,0	5,32	155,0	14,8
5e	CDCl_3	6,57	5,27	154,0	5,39	156,0	14,9
5f	CDCl_3	6,67	5,32	154,0	5,37	156,0	14,9

2.2. tabulas turpinājums

Sav.	Šķīd.	$\delta(^1\text{HN})$, milj. d.	$\delta(\text{H}_\text{A})$, milj. d.	$^1J(^{13}\text{C}, \text{H}_\text{A})$, Hz	$\delta(\text{H}_\text{B})$, milj. d.	$^1J(^{13}\text{C}, \text{H}_\text{B})$, Hz	$^2J(\text{H}, \text{H})$, Hz
6a	CDCl ₃	7,55	5,23	153,0	5,36	156,0	15,3
6b	CDCl ₃	7,65	5,24	154,0	5,44	157,0	15,2
6c	CDCl ₃	7,77	5,25	154,0	5,35	156,0	15,2
7a	CDCl ₃	8,30	4,47		4,52		16,7
	DMSO	9,74	4,74		4,84		16,5
7b	CDCl ₃	6,42	4,65		4,69		16,4
8a	CDCl ₃	9,91	4,67		4,72		16,2
8b	CDCl ₃	9,97	4,60		4,64		16,2

Darba gaitā noskaidrots, ka 1,4-DHP atvasinājumiem aizvietotājs 4. pozīcijā atrodas ievērojamā attālumā no 2. un 6. metilēngrupām. Tāpēc eksperimentāli novērotā CH₂ grupas protonu ¹H KMR ķīmisko nobīžu atšķirība cikliskajos laktonos **7-8** nepārsniedz 0,08 milj. d. (2.2. tab. 34.-37. rindas). Par līdzīgu atšķirību 1,4-DHP atvasinājumiem ziņots literatūrā, un ir skaidrs, ka CH₂ grupas protoniem piemīt diastereotopas īpašības tikai tad, ja 1,4-DHP cikls nav oksidēts, jo atbilstošo piridīna atvasinājumu ¹H KMR spektros CH₂ grupas protonu signāli novērojami kā singleti [250]. Tomēr nevar ignorēt 4. pozīcijas aizvietotāja iespējamo anizotropo ietekmi uz 2. un 6. pozīciju -CH₂- metilēngrupu protonu ķīmiskām nobīdēm. Vēl svarīgs anizotropijas faktors monocikliskajos atvasinājumos **2-6** varētu būt 3,5-etoksikarbonilgrupu konformācija. Un tik tiešām, šajos savienojumos ķīmisko nobīžu atšķirība CH₂X protoniem kļūst ievērojama (2.2. tab.), tāpēc var pieņemt, ka šādu atšķirību savienojumos **2-6**, ko izraisis 4. pozīcijā esošu aizvietotāju anizotropija, papildus ietekmē arī atšķirības protonu novietojumā attiecībā pret 3,5-alkoksikarbonilaizvietotāju.

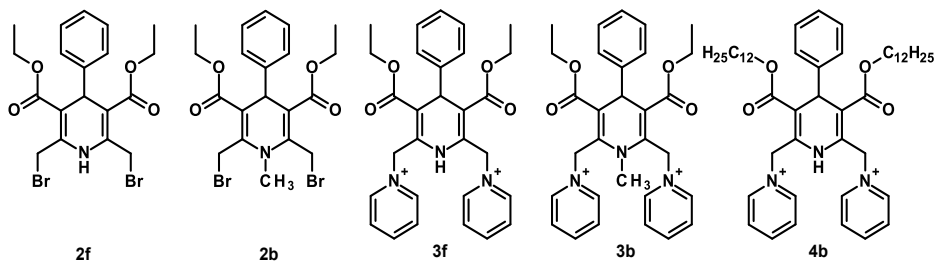
2.2.1. 1,4-DHP atvasinājumi ar |C-H|⋯O=C tipa iekšmolekulārām ūdeņraža saitēm

Lai izpētītu minēto ¹H KMR spektru signālu magnētisko neekvivalenci, izvēlētajiem 1,4-DHP atvasinājumiem (savienojumi **2f**, **2b**, **3f**, **3b** un **4b**) (2.3. tab.) tika veikti kvantu ķīmiskie aprēķini (*Firefly* (7.1.G) programmatūras pakotne [251]). Aprēķini veikti teorētiskajā līmenī DFT/RHF B3LYP/6-31G+***, savienojumam **4b** (2.3. tab.) teorētiskais līmenis bija samazināts līdz 6-31G+* bāzei).

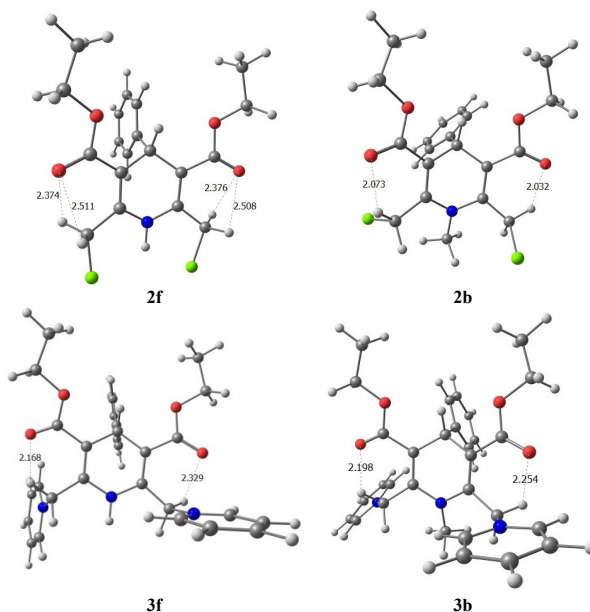
Savienojumu **2-6** (2.2. tabula 4.-39. rindas) 2. un 6. metilēngrupu AB protonu signāli ¹H KMR spektros viegli identificējami pēc to 11–15 Hz lielajām geminālajām (²J) spinu mijiedarbības konstantēm. Savienojumam **2** konstante ir mazāka nekā savienojumiem **3-8**. Blakus esošās piridīna π-saites atvasinājumos **3** un **4** parasti izraisa konstantes ²J absolūtās vērtības pieaugumu.

Saskaņā ar literatūras datiem [252], vides polaritātes palielināšana parasti nedaudz palielina negatīvo ietekmi uz geminālo mijiedarbību. Tā kā konstante ir negatīva, tās absolūtā vērtība palielinās. Šāda ietekme novērota N₁-CH₃ atvasinājumiem **2b**, **2i** (2.2. tabula 5. un 12. rindas), kā arī savienojumiem **3** un **4**, kam $^2J(\text{H}, \text{H})_{\text{cdcl}_3} < ^2J(\text{H}, \text{H})_{\text{dmsol}}$ (2.2. tab.). Tomēr savienojumiem **2a** un **2c-h** (2.2. tabulas 4., 6.-11. rindas), pretstatā literatūrā publicētajam, ²J vērtības samazinās aptuveni par 2 Hz, pārejot no CDCl₃ uz DMSO šķīdumiem. Geminālo spinu sadarbības konstanšu neparastā uzvedība **2a**, **2c-h** izskaidrojama ar izmaiņām divplakņu leņķī starp metilēngrupas protoniem un 1,4-DHP ciklu iespējamos rotamēros ap C_{2,6}-CH₂X saiti.

Ūdeņraža saites parametru salīdzinājums savienojumiem **2f**, **2b**, **3b**, **3f** un **4b** [249]



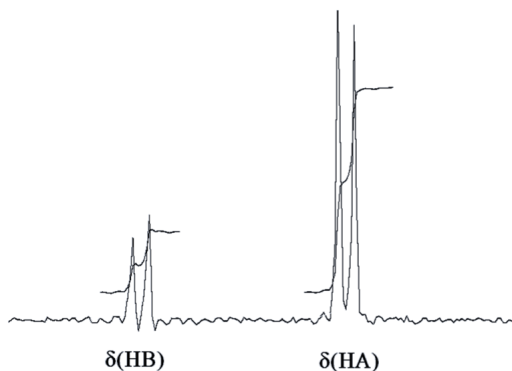
Sav.	C ₂ (CH···O)	C ₆ (CH···O)	C ₂ pyr(CH···O)	C ₆ pyr(CH···O)
2f	2,508 Å, (86,6°)	2,511 Å, (86,5°)		
	2,376 Å, (93,6°)	2,374 Å, (93,7°)		
	2,032 Å, (131,5°)	2,073 Å, (126,0°)		
	2,329 Å, (99,6°)	2,168 Å, (117,7°)		
2b	2,254 Å, (103,9°)	2,198 Å, (107,7°)	2,629 Å, (89,7°)	2,152 Å, (137,3°)
	2,341 Å, (98,914°)	2,366 Å, (96,979°)	2,544 Å, (94,0°)	2,913 Å, (87,5°)
3b	2,341 Å, (98,914°)	2,366 Å, (96,979°)	2,591 Å, (90,362°)	2,849 Å, (82,121°)



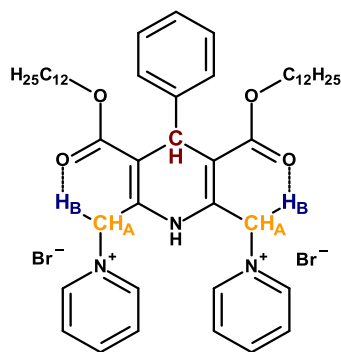
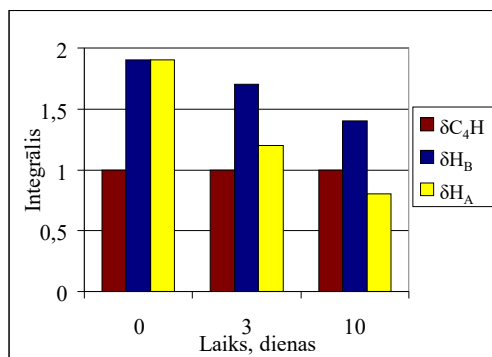
2.16. att. Aprēķinātās zemākās enerģijas konformācijas savienojumiem **2f**, **2b** un **3f**, **3b** [249].

Starpmolekulāro ūdeņraža saišu veidošanās starp NH grupu un šķīdinātāju DMSO pārvieto N_1H protonu rezonanses signālu vājākos laukos (~3 milj. d.). Savienojumiem **3a,c-g** un **4a-d**, pilnīgi pretēji (2.2. tabula 13., 15.-19., 21-24. rindas), NH protonu rezonanses signāli nobīdās zemāko frekvenču laukos (~0,5-1,1 milj. d.) analogas pārejas apstākļos. Iemesls šādai NH protonu anomālajai uzvedībai varētu būt tas, ka šo savienojumu $CDCl_3$ šķīdumos CH_2Py aizvietotājs ir stingri fiksēts un N_1H protons atrodas piridīnija gredzena negatīvās anizotropijas zonā. To apstiprina kvantu ķīmiskie aprēķini (2.16. att.).

Kodolu Overhauzera efekta (KOE) analīze savienojumu **2-4** 1H - 1H NOESY spektros ļauj noteikt metilēngrupas AB protonu relatīvo pozīciju – korelācijas signāls KOE pārnesei no N_1 protona uz stiprāk ekranēto protonu H_A ir divreiz intensīvāks nekā pārnesei uz H_B (2.17. att.). Tas nozīmē, ka H_A protons, kas rezonē zemākas frekvences laukā, atrodas tuvāk N_1H protonam par aptuveni 0,3 angstrēmiem (Å).



2.17. att. Savienojuma **4b** divdimensionālā 1H - 1H NOESY KMR spektra projekcija korelācijai ar N_1H protonu [126].



2.18. att. 1H KMR spektru dati 1,4-DHP atvasinājuma **4b** 2,6- CH_2 protonu deiterēšanas ātrumam pie 25 °C [126].

Šāds $-CH_2-$ protonu izkārtojums veido labvēlīgus apstākļus iekšmolekulāram kontaktam starp ūdeņraža atomu H_B un C_3 ogleklim piesaistīto karboksilgrupu, kā rezultātā veidojas $CH_B \cdots O=C$ ūdeņraža saite. Zināms, ka protoni, kas iesaistīti ūdeņraža saitēs, ir vājāk ekranēti, salīdzinājumā ar nesaistītiem [253]. Ūdeņraža saitēm ar īsu $|C-H| \cdots O$ distanci ir svarīga loma

bioloģijā [254]. Papildu apstiprinājums par $|\text{C-H}|\cdots\text{O}$ ūdeņraža saites eksistenci savienojumos **2-4** izriet no 2,6- CH_2 protonu deiterēšanas ātruma (2.18. att.). Savienojuma **4b** D_2O šķīdumā stiprāk ekranētā protonu H_A rezonanses signāla intensitāte samazinās ātrāk nekā dezekranētā protona H_B intensitāte. Tas tāpēc, ka ūdeņraža saitē iesaistītos protonus parasti mazāk ietekmē starpmolekulārā H/D apmaiņa. Šis fakts apstiprina, ka starp H_B metilēngrupas protonu un karboksilgrupu veidojas ūdeņraža saite.

Salīdzinot konstantes vērtības $^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H}_A) < ^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H}_B)$ (2.2. tab.), redzams, ka mazāko $^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H})$ konstantes vērtību uzrāda protons H_A . Tas atbilst publicētajiem datiem [255,256], kur teikts: ja CH protons iesaistīts $|\text{C-H}|\cdots\text{X}$ ūdeņraža saites veidošanā, $^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H})$ vērtība palielinās.

$^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC spektri uzrāda intensīvāku magnetizācijas pārnesei no vājākā lauka H_B protona uz $^{13}\text{C}_3$ oglekli, salīdzinot ar pārnesei no protona H_A . Zināms, ka korelācijas signāla intensitāte HMBC spektrā ir proporcionāla vicinālās mijiedarbības konstantes $^3J(^{13}\text{C}, ^1\text{H})$ lielumam, parasti $^3J(\text{C}, \text{H})_{trans} > ^3J(\text{C}, \text{H})_{cis}$ [257]. Augstāka $\text{H}_A\text{-C}_3$ (110,1 milj. d.) korelācijas signāla intensitāte norāda uz tā *trans* orientāciju attiecībā pret C_3 . Tāpēc vājāk ekranētā protona H_B orientācija veicina tā dalību $|\text{CH}|\cdots\text{O}$ ūdeņraža saites veidošanā.

Tādējādi, pamatojoties uz šiem datiem, var nepārprotami apgalvot, ka iekšmolekulārā $|\text{CH}|\cdots\text{O}$ ūdeņraža saite ir viens no iemesliem metilēngrupas protonu magnētiskajai neekvivalencei šādās sistēmās. Savienojumos **2** un **3** metilēngrupas protonu ķīmisko nobīžu starpība ($\Delta\delta_{AB} = \delta_B - \delta_A$) mainās 0–0,5 milj. d. robežās un maiņu ar lielāku varbūtību nosaka aizvietotāja veids un izmantotais šķīdinātājs. Savienojumiem **4a-d** ar apjomīgiem alifātiskajiem aizvietotājiem pie $\text{C}_{3,5}$ atomiem, šī starpība ir relatīvi nemainīga un vienāda ar ~0,5 milj. d. (2.2. tab.). Lai gūtu plašāku ieskatu rezultātos, kas gūti KMR spektroskopiskajos pētījumos, papildus arī veikti kvantu ķīmiskie aprēķini.

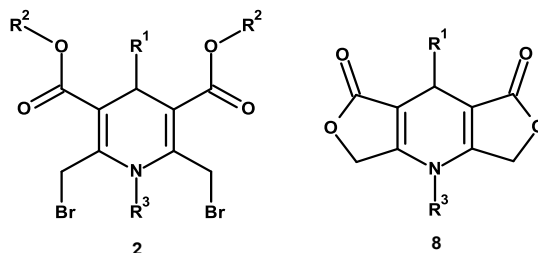
Iegūtie aprēķinu rezultāti savienojumiem **3b**, **3f** liecina, ka to enerģētiskie minimumi atbilst konformācijai ar karboksilgrupu *s-cis/s-cis* orientācijā attiecībā pret divkārsšajām saitēm dihidropiridīna ciklā. Tas norāda uz iekšmolekulārās ūdeņraža saites stabilizējošās ietekmes dominanci uz konformāciju molekulās **3b**, **3f** tāpat kā savienojumu **2b**, **2f** molekulās. Struktūrām ar *s-cis/s-trans* un *s-trans/s-trans* karboksilgrupu orientāciju ir lielāka enerģija, tādējādi, stabilizējošam efektam šķīdumos jāsasaucas ar ūdeņraža saitēm $|\text{C-H}|\cdots\text{O}$. Aprēķinātās līdzsvara konformācijas un starpkodolu attālumi ($\text{CH}\cdots\text{O}$) arī apstiprina ūdeņraža saites veidošanos (2.3. tab.)

$|\text{C-H}|\cdots\text{O}$ tipa ūdeņraža saišu aprakstam bieži izmanto ģeometriskos raksturlielumus. Dotajā darbā pētītajiem savienojumiem **2b**, **2f**, **3b**, **3f** un **4b** (2.3. tab.) dotie iekšmolekulārajām ūdeņraža saitēm aprēķinātie parametri atbilst KMR spektroskopijas datiem. Saskaņā ar aprēķiniem attālums $d(\text{CH}\cdots\text{O})$ samazinās un leņķis ($\text{C-H}\cdots\text{O}$) palielinās, no savienojumiem **2f**, **2b** pārejot uz savienojumu **4b**, kas norāda uz ūdeņraža saites – starp metilēngrupas H_B protonu un karboksilgrupas skābekli – vājināšanos. Tajā pat laikā savienojumi **3b**, **3f** un **4b** enerģētiski izdevīgākajās konformācijās pastāv papildus H-saites starp piridīna α -protoniem un karboksilgrupas skābekļa atomiem (2.3. tab.). Šīs papildus ūdeņraža saites arī stabilizē molekulas struktūru. Konformēros ar karboksilgrupu *s-cis/s-trans* un *s-trans/s-trans* orientāciju attiecībā pret DHP cikla dubultsaitēm pastāv iespēja veidoties H-saitei (aptuveni 2,4 Å garai)

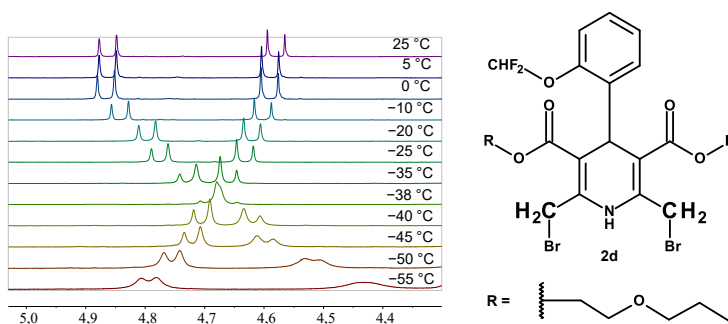
starp protoniem 4. pozīcijā un etoksikarbonilgrupas skābekļa atomu. Šī mijiedarbība ir daudz vājāka nekā saistība ar metilēngrupu protoniem un būtiski neietekmē molekulas uzbūvi.

2.4. tabula

^1H KMR spektros detektēto metilēngrupas $\text{C}_{2,6}\text{-CH}_2$ protonu signālu ķīmisko nobīžu starpība $\Delta\delta_{\text{AB}}$ (milj. d.) pētītajiem savienojumiem **2** un **8**



Sav.	R ¹	R ²	R ³	$\Delta\delta_{\text{AB}}$, 25 °C
2f	Ph	CH_2CH_3	H	0,28 (CDCl_3)
				0,11 (DMSO)
				0,09 (CD_3OD)
				0,21 (THF- d_4)
2b	Ph	CH_2CH_3	CH_3	0,14 (CDCl_3)
				0,31 (DMSO)
				0,34 (CD_3OD)
				0,31 (THF- d_4)
2d	$\text{PhOCHF}_2\text{-o}$	$(\text{CH}_2)_2\text{OC}_3\text{H}_7\text{-n}$	H	0,29 (CDCl_3)
				0,14 (DMSO)
				0,34 (CD_3OD)
				0,31 (THF- d_4)
8a	Ph		H	0,07 (DMSO)
8b	$\text{PhOCHF}_2\text{-o}$		H	0,04 (DMSO)

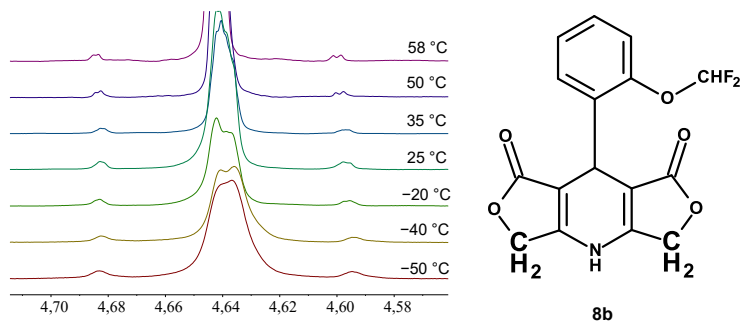


2.19. att. ^1H KMR spektri savienojuma **2d** $\text{C}_{2,6}\text{-CH}_2$ metilēngrupas protonu signālu atkarībai no temperatūras CDCl_3 šķīdumā.

Kā konstatēts iepriekš, dažiem 1,4-DHP atvasinājumiem $[\text{CH}] \cdots \text{O}=\text{C}$ tipa iekšmolekulārā ūdeņraža saite ir cēlonis lielai atšķirībai neekvivalento protonu ķīmiskajās nobīdēs. Jāatzīmē, ka gandrīz visiem pētītajiem savienojumiem **2** un **8** (2.4. tab.) KMR spektros metilēngrupu protonu ^1H rezonanses signāliem raksturīga neparasta temperatūras atkarība (2.19. 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_A un H_B protonu ķīmiskās nobīdes.

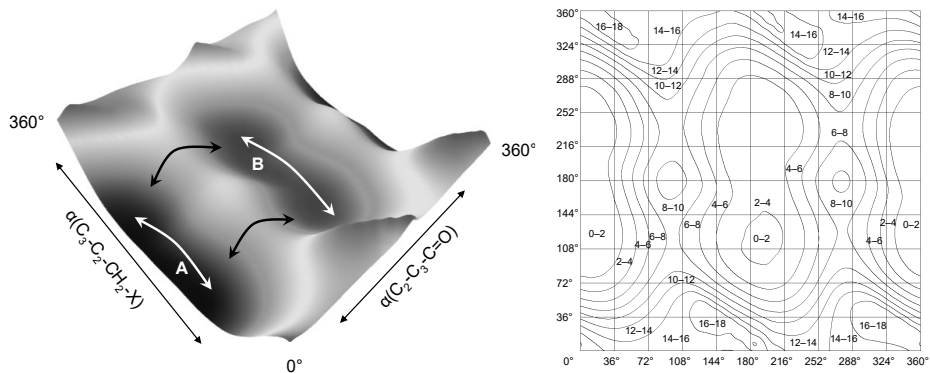
Patiesām, dilaktonos **8**, sistēmās ar planārāku dihidropiridīna ciklu, kurās iespējama vienīgi fenilgredzena (aizvietotājs pie 1,4-DHP cikla C_4 oglekļa) rotācija, eksperimentāli novērojamā metilēngrupas protonu ķīmisko nobīžu atšķirība nepārsniedz 0,04-0,07 milj. d. un praktiski nemainās līdz ar temperatūru (2.20. att.).



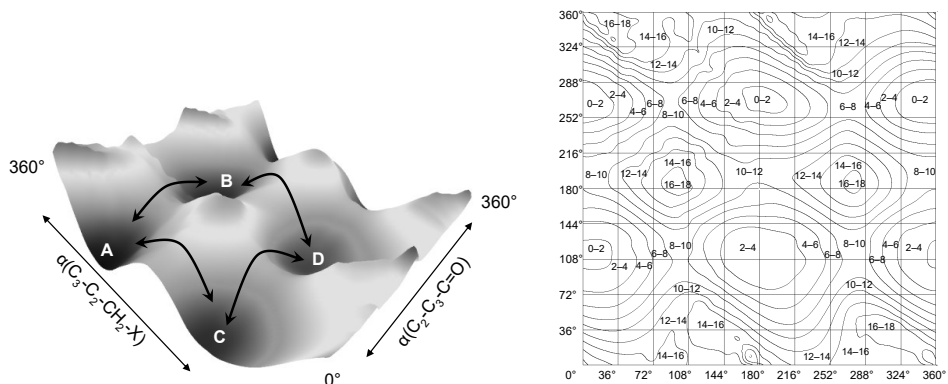
2.20. att. Savienojuma **8b** metilēngrupu $C_{2,6}$ - CH_2 protonu rezonanses signālu temperatūras atkarība $CDCl_3$ šķīdumā [249].

Saskaņā ar literatūras datiem [170], 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 iespējamās konformērus molekulās ar vairākām brīvības pakāpēm, ir aprēķināt iespējamo konformēru potenciālās enerģijas virsmas (PEV).

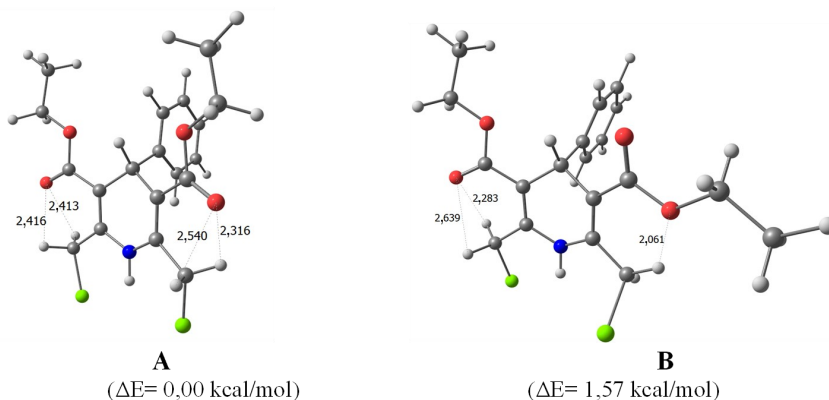
Savienojumiem **2** skenēšana veikta, pētot rotāciju ap saitēm C_3 - CO_2 un C_2 - CH_2 (mainot divplakņu kakta leņķus C_2 - C_3 - $C=O$ un C_3 - C_2 - CH_2 -X ar soli 10 leņķiskie grādi) optimizējot visu atlikušo molekulas daļu. PEV aprēķini, izmantojot blīvuma-funkcionālās teorijas (BFT) metodi (*Jaguar 8.0* programmatūras pakotne [247], teorētiskais līmenis *DFT B3LYP/6-31G**), veikti struktūrām, kas ir modeļsavienojumi atvasinājumam **2** (lai paātrinātu aprēķinus, bromā atomi aizstāti ar hlora atomiem). Aprēķinos iegūtās trīsdimensionālās PEV un to projekcijas dotas attēlos (2.21. un 2.22. att.), kā atskaites punkts pieņemta optimālās konformācijas pilnā enerģija (2.23. un 2.24. att.). Savienojumam **2b** lokalizēti četri enerģijas minimumi (**A**, **B**, **C** un **D**), kas atbilst visstabilākajām konformācijām ar zemāko enerģiju. Savienojumam **2f**, kam nav aizvietots N_1 , rotācijai ap $C_{2,6}$ - CH_2 saiti PEV identificējami tikai divi plati minimumi (2.21. att.), kas atbilst optimālajām vidējotām konformācijām **A** un **B** (2.23. att.). Šajos konformēros halogēnaizvietotāji, kas piesaistīti $C_{2,6}$, ir *cis-cis* savstarpēji orientēti un praktiski koplānāri 1,4-DHP ciklam.



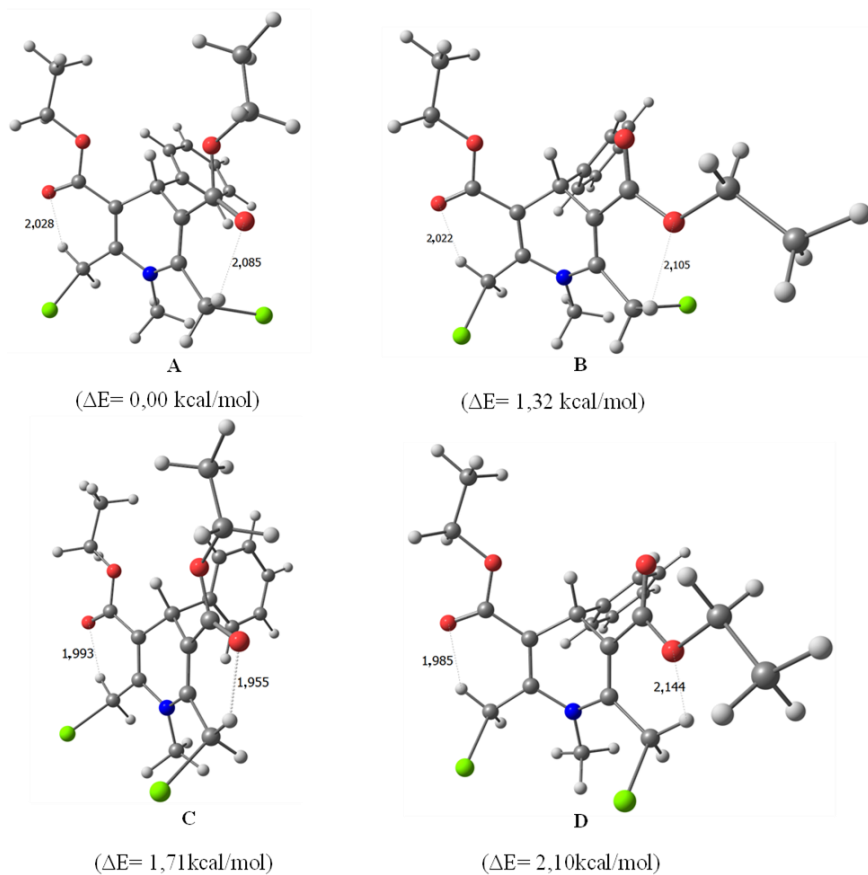
2.21. att. Potenciālās enerģijas virsma un tās projekcija savienojumam **2f**. X ass – leņķi rotācijai ap C_3-CO_2 saiti, Y ass – rotācijai ap C_2-CH_2 saiti, enerģijas mērvienība – kcal/mol. Ar bultiņām norādītas pārejas barjeras starp konformācijām.



2.22. 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.



2.23. att. Savienojuma **2f** enerģētiski izdevīgākās konformācijas no PEV.



2.24. att. Savienojuma **2b** enerģētiski izdevīgākās konformācijas no PEV.

2.5. tabula

Iekšmolekulārās ūdeņraža saites parametri savienojumu **2f** un **2b** stabilākajos konformēros

Savienojums (konformērs)	ΔE , kcal/mol	$d_1(\text{CH}\cdots\text{O})$, Å	$d_2(\text{CH}\cdots\text{O})$, Å	$\alpha(\text{C}_2\text{-C}_3\text{-C=O})$	$\alpha(\text{C}_3\text{-C}_2\text{-CH}_2\text{-Cl})$	
2f (A)	0,00	2,413	2,316	0°	190°	
		2,416	2,540			
2f (B)	1,57	2,283	2,061	190°	120°	
		2,639				
2b	(A)	0,00	2,028	2,085	0°	270°
	(B)	1,32	2,022	2,105	180°	270°
	(C)	1,71	1,993	1,955	10°	120°
	(D)	2,10	1,985	2,144	170°	110°

Aprēķinātie attālumi $|\text{CH}|\cdots\text{O}$ saitēm, kas raksturo iekšmolekulāro ūdeņraža saiti atvasinājumos **2f** un **2b**, doti tabulā (2.5. tab.). Savienojuma **2f** gadījumā var runāt par vidējo $d(\text{CH}\cdots\text{O})$ vērtību diapazonā 2,1-2,6 Å, kas liecina par vāju iekšmolekulāro ūdeņraža saiti [258]. Četros savienojuma **2b** enerģētiski visizdevīgākajos konformēros (A–D) aprēķinātais

attālums $d(\text{CH}\cdots\text{O})$ mainās intervālā 1,95-2,14 Å, kas šajā gadījumā ļauj runāt par vidēji stipru iekšmolekulāro ūdeņraža saiti.

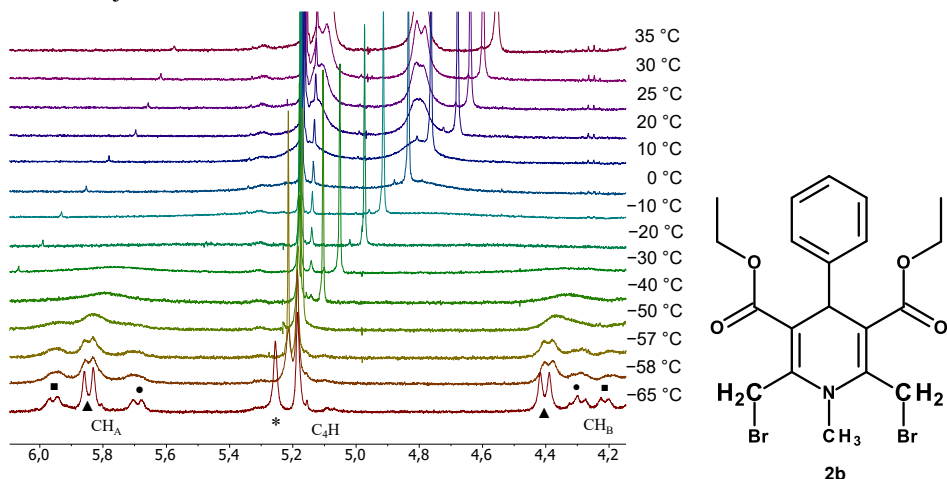
Enerģētiskās barjeras karboksilgrupas iekšējai rotācijai ap $\text{C}_{3,5}\text{-COOR}_1$ saiti (ja divplakņu leņķis $\text{C}_2\text{-C}_3\text{-C=O}$ ir $80\text{-}110^\circ$ un $260\text{-}290^\circ$) savienojumiem **2f** un **2b** ir aptuveni vienādas, 8–10 kcal/mol. Savienojumā **2f** rotācijai ap $\text{C}_{2,6}\text{-CH}_2$ saiti ir divas ļoti atšķirīgas barjeras (viena $\sim 0,4\text{-}2,2$ kcal/mol, otra $\sim 16\text{-}18$ kcal/mol). Halogēna orientācijas maiņa, ko pavadā divplakņu leņķa $\text{C}_3\text{-C}_2\text{-CH}_2\text{-X}$ izmaiņa no -20° (340°) līdz $+20^\circ$, maz ticama šī procesa lielās enerģētiskās barjeras dēļ ($\sim 16\text{-}18$ kcal/mol). Konformāciju **A** otrā barjera ir 0,4 kcal/mol, bet **B** konformācijām $\sim 2,2$ kcal/mol. Tas ir saistīts ar karbonilgrupas mazāku telpisko izmēru, kā rezultātā tā mazāk nekā OCH_2CH_3 grupa kavē rotāciju ap $\text{C}_{2,6}\text{-CH}_2$ saiti. Šāda neliela barjera rada savienojuma **2f** metilēngrupu protonu $\text{C}_{2,6}\text{-CH}_2$ brīvu svārstīšanos divu platu, izstieptu enerģijas minimumu divdimensijas leņķa $\text{C}_3\text{-C}_2\text{-CH}_2\text{-X}$ $70\text{-}300^\circ$ diapazonā. Samazinot temperatūru nevar 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. Protoni H_A un H_B savienojumos **2f** un **2b**, mainoties temperatūrai, maina savu novietojumu attiecībā pret karboksilgrupu un divkāršo saiti. Tātad to ekranēšanās var sasniegt punktu, kurā tie kļūst izohroni ar vienādām ķīmiskām nobīdēm.

Slāpekļa N_1 atomam pievienojot metilgrupu, iegūstot N-CH_3 aizvietotu 1,4-DHP atvasinājumu, ir novērots, ka savienojuma **2b** rotācijas barjeras ap saiti $\text{C}_{2,6}\text{-CH}_2$ krasi pieaug, salīdzinājumā ar savienojuma **2f**. Savienojuma **2b** konformāciju **A** (ar minimālo relatīvo enerģiju ($\Delta E = 0$ kcal/mol) stabilizē divas $|\text{C-H}|\cdots\text{O}=\text{C}$ tipa iekšmolekulārās ūdeņraža saites un karbonilgrupas attiecībā pret 1,4-DHP cikla divkāršajām saitēm ($\text{C}_{2,6}=\text{C}_{3,5}$) atrodas *s-cis/s-cis* pozīcijās. Tajā pat konformācijā oglekļiem C_2 un C_6 piesaistītie halogēni savstarpēji ir *trans-trans* orientācijā, jo tieši šādai konformācijai N-metilgrupas stēriskā ietekme ir minimāla. Nākamajā mazāk stabilajā konformācijā **B** ($\Delta E = 1,3$ kcal/mol) halogēnu atomi savstarpēji saglabā *trans* orientāciju, tomēr viena no karbonilgrupām ieņem *s-trans* stāvokli attiecībā pret $\text{C}_2=\text{C}_3$ divkāršo saiti. Konformācijās **C** ($\Delta E = 1,7$ kcal/mol) un **D** ($\Delta E = 2,10$ kcal/mol), kuras raksturo lielāka enerģija, aizvietotāju – pie $\text{C}_{2,6}$ – halogēnu savstarpējā orientācija kļūst *cis* [$\alpha(\text{C}_3\text{-C}_2\text{-CH}_2\text{-X}) \sim 115^\circ$]. Pārejas **A** \leftrightarrow **B** un **C** \leftrightarrow **D** raksturo izmaiņas etoksikarbonilgrupas orientācijā attiecībā pret 1,4-DHP cikla divkāršo saiti ($\text{C}_2=\text{C}_3$), to barjeru vērtības ir 8–10 kcal/mol. Halogēnu atomu savstarpējās orientācijas izmaiņas raksturo pārejas **A** \leftrightarrow **C** un **B** \leftrightarrow **D** ar enerģijas barjerām 8–10 un 10–12 kcal/mol attiecīgi. Tādējādi oglekļiem C_3 un C_5 piesaistīto karbonilgrupu *s-cis* orientācija atvieglo oglekļiem C_2 un C_6 pievienoto halogēnsaturošo aizvietotāju izvietouma maiņu, salīdzinājumā ar *s-trans* orientāciju.

Savienojumam **2b**, papildus novērotajai rotācijas barjerai ap $\text{C}_{2,6}\text{-CH}_2$ saiti, kas kopēja ar savienojumu **2f** un atbilst 16–18 kcal/mol (divplakņu kakta leņķis $\text{C}_3\text{-C}_2\text{-CH}_2\text{-X}$ $100\text{-}120^\circ$), ir vēl viena 8–12 kcal/mol liela barjera; divplakņu kakta leņķis $\text{C}_3\text{-C}_2\text{-CH}_2\text{-X}$ $300\text{-}320^\circ$.

Ievērojama barjera rotācijai ap $\text{C}_{2,6}\text{-CH}_2$ saiti 1,4-DHP atvasinājumā **2b** ļauj KMR eksperimentā reģistrēt atsevišķu konformēru metilēngrupu protonu rezonanses signālus zemas temperatūras (2.25. att.). Savienojuma **2b** konformēru ķīmisko nobīžu starpība H_A un H_B protoniem pārsniedz 1,4 milj. d. Šāda liela atšķirība diastereotopo protonu ekranēšanā

skaidrojama ar to, ka viens no tiem (H_A) iesaistīts iekšmolekulārās ūdeņraža saites veidošanā un līdz ar to vairāk deekranēts. Savukārt H-helāta cikls $C-H_B \cdots O$, fiksējot H_B , veicina protona H_A ekranēšanu, pateicoties tā telpiskajam novietojumam tālāk no karboksilgrupas visās **2b** konformācijās.



2.25. att. Savienojuma **2b** $C_{2,6}$ - CH_2 metilēngrupas protonu rezonanses signālu atkarība no temperatūras KMR spektroskopijas eksperimentos tetrahidrofurāna- D_8 šķīdumā (■, ▲, ● – AB spinu sistēmu apzīmējumi, * – labilo protonu piemaisījums šķīdinātājā) [249].

Izvērtējot savienojuma **2b** 1H KMR spektru atkarību no temperatūras, var aptuveni novērtēt metilēngrupas protonu rezonanses signālu koalescences temperatūru (T_C) $CDCl_3$ (-25 °C) un THF (-15 °C) šķīdumos. Izmantojot Eiringa (*Eyring*) vienādojumu [259–261], 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 ($\sim 11,3\text{ kcal/mol}$) un $CDCl_3$ ($\sim 10,7\text{ kcal/mol}$) 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, norāda uz ievērojamu $C_{2,6}$ pozīciju aizvietotāju asimetrisko konformēru populāciju zemā temperatūrā. Aizvietotāju pie $C_{3,5}$ un $C_{2,6}$ oglekļa atomiem orientāciju vienlaicīga maiņa (pārejas $A \leftrightarrow D$ un $B \leftrightarrow C$) ir mazvarbūtīga, jo šādu pāreju enerģētiskās barjeras ir ar kārtu 16–18 kcal/mol.

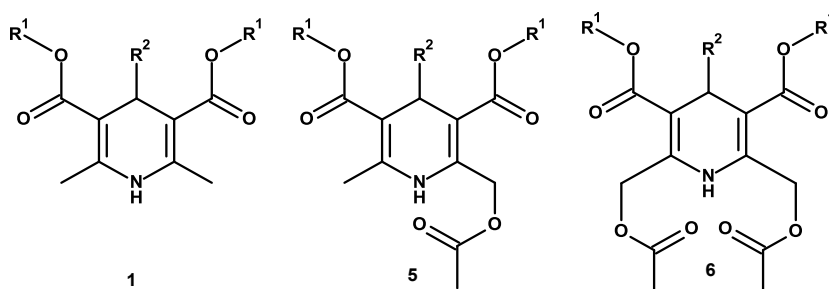
Tādējādi var secināt, ka diastereotopo metilēngrupas protonu rezonanses signālu neparasto temperatūras atkarību 1,4-dihidropiridīna atvasinājumu KMR spektros izraisa divi konformacionālie procesi – aizvietotāju rotācija ap saitēm $C_{2,6}$ - CH_2 un $C_{3,5}$ - CO_2 . Karboksilgrupu iekšējās rotācijas barjeru lielums savienojumos **2** ir tikai nedaudz atšķirīgs. 1,4-DHP atvasinājumiem ar N_1H vai N_1CH_3 barjeras pārejas starp potenciālās enerģijas virsmas minimumiem, kuros halogēna atomiem attiecībā pret cikla divkāršajām saitēm ir aizsegta konformācija, ir gandrīz vienādas. Tajā pat laikā N_1H atvasinājumiem pārejai starp konformēriem ar atšķirīgu metilēngrupu protonu H_A un H_B izvietojumu attiecībā pret karboksilgrupu nepieciešama enerģija, kas daudz mazāka nekā N_1CH_3 atvasinājumiem.

2.2.2. 1,4-DHP atvasinājumi ar $|N-H|\cdots O=C$ tipa iekšmolekulārām ūdeņraža saitēm

1,4-DHP atvasinājumu 3,5-mono- un 3,5-dikarboksilātu struktūras rentgenogrāfiskā analīzē, kā arī kvantu ķīmiskie aprēķini [136] liecina, ka karbonilgrupa ir *s-cis*, *s-cis* konformācijā relatīvi pret $C_3=C_2$ vai $C_6=C_5$ dubultsaiti. Tas ir neparasti, jo labi zināms, ka labākai konjugācijai priekšroka dodama *s-trans* orientācijai, kā arī *s-trans* orientācija ir stabilāka [262,263]. 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 $|C-H|\cdots O=C$ mijiedarbība. Par to minēts un aprakstīts disertācijas 2.2.1. nodaļā. Šāda mijiedarbība iespējama arī savienojumos **1**, **5** un **6** (2.6. tab.).

2.6. tabula

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

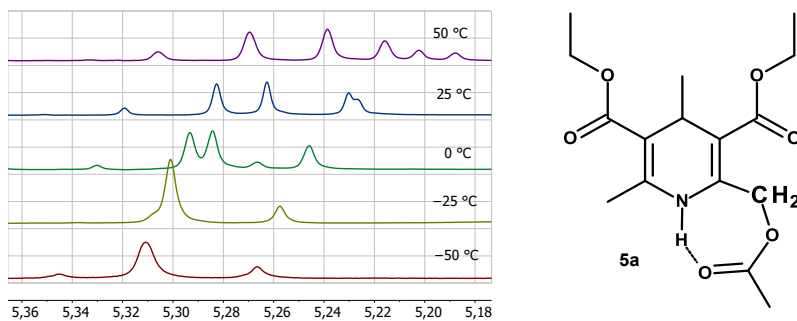


N. p. k.	Sav.	R ¹	R ²
1.	1a	CH ₂ CH ₃	CH ₃
2.	1b	CH ₂ CH ₃	Ph
3.	1c	(CH ₂) ₂ OC ₃ H _{7-n}	PhOCHF _{2-o}
4.	5a	CH ₂ CH ₃	CH ₃
5.	5b	CH ₃	CH ₃
6.	5c	CH ₂ CH ₃	Ph
7.	5d	(CH ₂) ₂ OC ₃ H _{7-n}	PhOCHF _{2-o}
8.	5e	CH ₂ CH ₃	Ph-F-o
9.	5f	CH ₂ CH ₃	Ph-NO _{2-m}
10.	6a	CH ₂ CH ₃	CH ₃
11.	6b	CH ₂ CH ₃	Ph
12.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

¹H KMR spektros savienojumu **5** un **6** alkoksikarbonilķēžu metilēngrupu signāli 1,4-DHP cikla 3. un 5. pozīcijās uzrāda šķelšanos, jo C₄ oglekļa atoms ir hirālais (vai prohirālais) centrs. Pārējie signāli ¹H KMR spektros atbilst aromātisko vai alifātisko ūdeņraža atomu dabai (2.7. tab.). Savienojumu **5** un **6** ¹H KMR spektros divi metilēngrupu protoni aizvietotajos C₂ un C₆ arī ir diastereotopi, un to signāli aprakstāmi kā AB sistēmas diapazonā 5,24–5,44 milj. d. Šo protonu neekivalenci raksturo ¹H ķīmisko nobīžu atšķirība ($\delta(H_A)-\delta(H_B)$), ko var iespaidot tādi faktori kā 1,4-DHP gredzena konformācija, aizvietotāju anizotropā ietekme, C₂ un C₆ oglekļa atomiem pievienoto aizvietotāju kavētā rotācija un $|CH|\cdots O$ tipa iekšmolekulārā ūdeņraža saite. Geminālās spin-spinu mijiedarbības konstantes ²J(H_A, H_B) protoniem nedaudz palielinās no 14,8 Hz (savienojums **5**) līdz 15,2 Hz (savienojums **6**) (2.7. tab.). Savienojumiem **5**, atkarībā

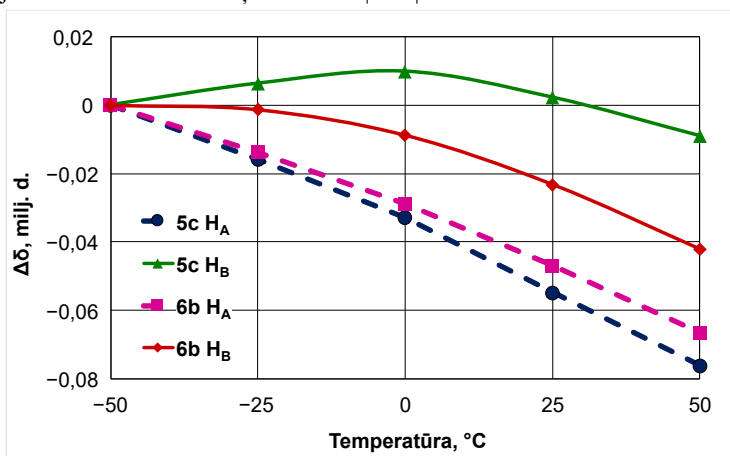
no aizvietotājiem pie C₄ oglekļa, AB metilēngrupas protonu novērojamā ķīmisko nobīžu starpība ir robežās 0,04-0,13 milj. d.

Kā jau bija pierādīts iepriekš ar ¹H-¹H NOESY spektriem ekranētāka AB protona H_A KOE mijiedarbības signāls ar N₁H ir intensīvāks nekā N₁H un H_B KOE korelācijas signāls. Tas nozīmē, ka protons H_A atrodas tuvāk NH protonam un nevar veidot |CH|...O=C ūdeņraža saiti. Šo protonu ¹H KMR signāli arī uzrāda neparastu temperatūras atkarību, bez koaliscences un nelineāru (2.26. att.).



2.26. att. Savienojuma **5a** metilēngrupas protonu AB sistēmas ¹H ķīmisko nobīžu vērtības KMR spektros CDCl₃ šķīdumā atkarība no temperatūras.

Mainoties temperatūrai, protona H_A ķīmiskā nobīde savienojumiem **5** un **6** mainās lineāri ar tādu pašu koeficientu kā metilgrupas protonu ķīmiskā nobīde savienojumos **1** pie C₂ un C₆ (2.7. tab.). Tātad, protonam H_A jābūt tikpat pieejamam šķīdinātājam (hloroformam) kā savienojumā **1**. Tajā pat laikā protona H_B signāls mainās nelineāri un līknes forma ir tuva negatīvai parabolai (2.27. att.). Vērtības δ(H_B)/T nelineārā atkarība norāda uz to, ka protons H_B iesaistīts vājā iekšmolekulārās ūdeņraža saites |C-H|...O=C veidošanā.



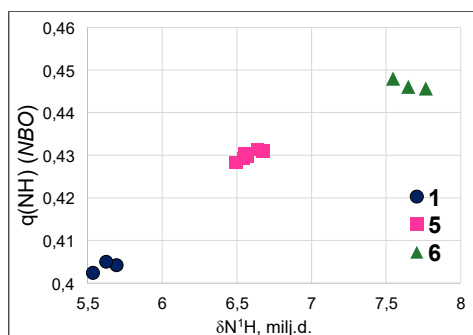
2.27. att. Savienojumu **5c** un **6b** C_{2,6}-CH₂ metilēngrupas protonu ķīmisko nobīžu atkarība no temperatūras CDCl₃ šķīdumos. Nepārtrauktās un pārtrauktas līnijas attēlo vērtības, attiecīgi protonu H_B un H_A atkarību. Katra protona ķīmisko nobīdi pie -50 °C pieņem kā nulles punktu. **5c** H_A (●), **5c** H_B (▲), **6b** H_A (■) un **6b** H_B (◆).

Izmērītās spin-spinu mijiedarbības konstantes $^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H})$ vērtības katram no metilēngrupu protoniem ir atšķirīgas (2.7. tab.). Lielāka $^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H})$ vērtība izmērīta mazāk ekranētajam protonam H_B . Tas atbilst literatūras datiem: ja CH protons iesaistīts ūdeņraža saites veidošanā, $^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H})$ vērtība parasti palielinās [257]. Kā aprakstīts iepriekšējā 2.2.1. nodaļā, ūdeņraža saites veidošanā iesaistītajiem protoniem bija raksturīga lielāka sadarbības konstantes $^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H})$ vērtība. Pamatojoties uz iegūtajiem datiem, var secināt, ka iekšmolekulārā $|\text{C}-\text{H}| \cdots \text{O}=\text{C}$ ūdeņraža saite varētu būt viens no iemesliem, kāpēc metilēngrupas protoni nav ekvivalenti, un konformācijas ir ar *s-cis/s-cis* karboksilgrupas orientāciju attiecībā pret divkāršo saiti dihidropiridīna ciklā.

2.7. tabula

Savienojumu **1**, **5** un **6** ^1H , ^{15}N KMR spektru dati CDCl_3 šķīdumā

Sav.	$\delta(^1\text{HN})$, milj. d.	$\delta(\text{H}_\text{A})$, milj. d.	$^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H}_\text{A})$, Hz	$\delta(\text{H}_\text{B})$, milj. d.	$^1J(^{13}\text{C}, ^1\text{H}_\text{B})$, Hz	$^2J(\text{H}, \text{H})$, Hz	$\Delta\delta(^1\text{HN})/\text{T}$, mljrd. d./K	$\delta(^{15}\text{N})$, milj. d.	$^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H})$, Hz
1a	5,54	-	-	-	-	-	-5,6	134,53	92,4
1b	5,67	-	-	-	-	-	-6,1	134,01	93,6
1c	5,73	-	-	-	-	-	-10,4	134,36	93,6
5a	6,48	5,21	153	5,27	155	14,7	-3,2	122,90	93,3
5b	6,53	5,25	153	5,29	155	14,7	-3,0	125,42	93,0
5c	6,55	5,27	153	5,40	156	14,8	-2,9	124,12	93,6
5d	6,64	5,26	154	5,32	155	14,8	-2,8	122,69	93,6
5e	6,57	5,27	154	5,39	156	14,9	-2,8	123,31	94,8
5f	6,67	5,32	154	5,37	156	14,9	-2,5	124,25	94,2
6a	7,55	5,23	153	5,36	156	15,3	-3,6	113,14	94,8
6b	7,65	5,24	154	5,44	157	15,2	-3,6	114,18	94,8
6c	7,77	5,25	154	5,35	156	15,2	-3,6	115,38	95,6



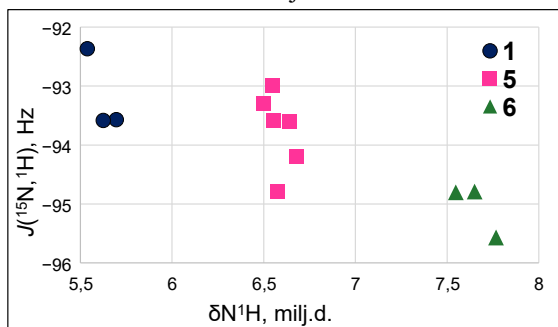
2.28. att. Grafiks *NBO* lādiņu (q) un ķīmisko nobīžu $\delta(^1\text{HN})$ atkarībai savienojumiem **1**(●), **5**(■) un **6**(▲).

^1H KMR spektros novērojami plati NH protona signāli intervālos 5,54-5,73 milj. d. (sav. **1**), 6,48-6,67 milj. d. (sav. **5**) un 7,55-7,77 milj. d. (sav. **6**) (2.7. tab.). N_1H protona signāla nobīde vājākos laukos attiecīgi savienojumiem **1** \rightarrow **5** \rightarrow **6**, var atspoguļot iekšmolekulārās $|\text{N}_1-\text{H}| \cdots \text{O}$ ūdeņraža saites veidošanos starp N_1H protonu un COOCH_3 skābekļa atomiem aizvietotajos pie C_2 un C_6 oglekļa savienojumiem **5** un **6** [264,265]. No otras puses N_1H rezonanses nobīde vājākos laukos daļēji varētu atbilst elektronu blīvuma, ko aprēķina pēc dabiskās saites orbitāļu

metodes (*Natural Bond Orbital, NBO*), samazinājumam uz N_1H atoma attiecīgi savienojumos $1 \rightarrow 5 \rightarrow 6$ (2.28. att.).

Protonu N_1H KMR signāla temperatūras koeficientu ($\Delta\delta/\Delta T$) parasti izmanto iekšmolekulārās ūdeņraža saites klātbūtnes noteikšanai [265,266]. Ūdeņraža saišu pārraušana, ko izraisa temperatūras paaugstināšana, ekranē N_1H 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_1H protonu rezonanses temperatūras koeficienti izmērīti, reģistrējot 1H KMR spektrus vielu $CDCl_3$ šķīdumā temperatūras diapazonā $-50...50$ °C (2.7. tab.). 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 norāda uz 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 $|N-H|\cdots O=C$ ūdeņraža saite savienojumos **6** salīdzinājumā ar savienojumiem **5**.

Izmērīto spin-spinu mijiedarbības konstanšu absolūtās vērtības $^1J(^{15}N, ^1H)$ 92–96 Hz nedaudz pieaug savienojumiem rindā $1 \rightarrow 5 \rightarrow 6$ (2.29. att.) un liecina, ka ūdeņradis ir stabili saistīts ar slāpekļa atomu un pārstāv neliela starpmolekulārā apmaiņa, kas ir pretrunā ar literatūras datiem [267,268], tāpēc ka N_1H protonu pozitīvā lādiņa pieaugumam vai deekranēšanai vajadzētu samazināt $^1J(^{15}N, ^1H)$ konstantes absolūto vērtību. Taču, ja protona donora slāpekklis ir sp^2 hibridizēts, $^1J(^{15}N, ^1H)$ izmaiņas ir saistītas ar attiecīgo N_1 slāpekļa bāzes attālumu kvadrātā: īsākā N_1-H saite atbilst lielākai $^1J(^{15}N, ^1H)$ vērtībai [269]. Tas varētu norādīt uz nelielu N-H attāluma samazināšanos savienojumiem rindā $1 \rightarrow 5 \rightarrow 6$.

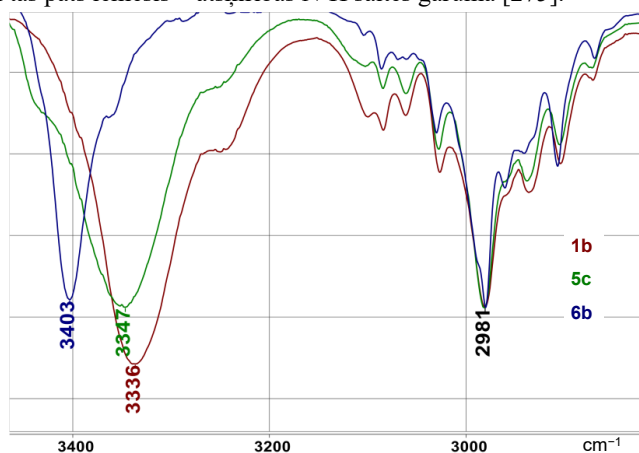


2.29. att. Grafisks attēlojums konstanšu $^1J(^{15}N, ^1H)$ un ķīmisko nobīžu N_1H atkarībai savienojumiem **1**(●), **5**(■) un **6**(▲).

Saskaņā ar literatūras datiem [270], ja NH piedalās $|N-H|\cdots X$ ūdeņraža saites veidošanā, spin-spinu sadarbības konstantes $^1J(^{15}N, ^1H)$ vērtību ietekmē, galvenokārt, divi faktori – elektrostatiskā iedarbība un $(X)\rightarrow(N-H)$ lādiņa pārnese. Zināms, ka pirmais faktors izraisa $^1J(^{15}N, ^1H)$ absolūtās vērtības pieaugumu, bet otrais samazina $^1J(^{15}N, ^1H)$ absolūtās vērtības. Šo pašu faktoru ietekme uz N_1-H saites IS valences svārstību frekvenci arī ir pretēja, tāpēc lādiņu pārnese atbilst sarkanai nobīdei, bet elektrostatiskais efekts izraisa zilo nobīdi. Parasti ūdeņraža saites izraisa X-H kovalentās saites pagarināšanos, un tās valences svārstības ν_{XH} ir ar mazāku

viļņu skaitli (sarkanā nobīde) [265,271]. $\nu(\text{NH})$ pāreja uz lielākiem viļņu skaitļiem ūdeņraža saišu gadījumā, iespējams, saistīta ar N-H attāluma samazināšanos (tā sauktā zilā nobīde). Šāda veida efektus agrāk reģistrēja C-H un N-H saitēm [272–274].

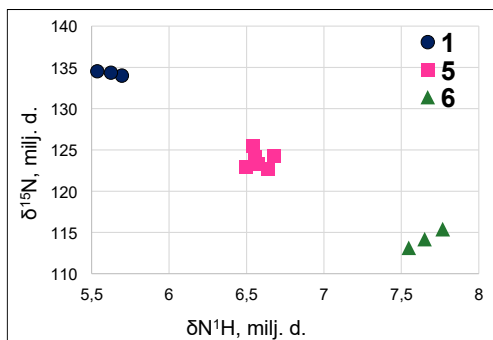
Savienojumu **1a-c** (bez ūdeņraža saitēm) IS spektros novēro raksturīgo valences svārstību $\nu(\text{NH})$ joslu diapazonā 3344–3336 cm^{-1} . NH grupas, kas iesaistītas vienas ūdeņraža saites veidošanā, savienojumos **5a-d** uzrāda N-H valences svārstību joslu intervālā 3347–3348 cm^{-1} , bet NH grupas, kas iesaistītas divās ūdeņraža saitēs savienojumos **6a-c**, $\nu(\text{NH})$ joslas ir intervālā 3363–3437 cm^{-1} (2.30. att.). Novērotā joslas $\nu(\text{NH})$ nobīde ir 11 cm^{-1} , pārejot no savienojuma **1b** uz savienojumu **5c**, un pieaug līdz 67 cm^{-1} , pārejot no savienojuma **1b** uz savienojumu **6b**. IS valences svārstību joslas $\nu(\text{NH})$ frekvence un konstanšu $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H})$ vērtības savienojumiem **1**, **5** un **6** norāda, ka abu šo parametru ($\nu(\text{NH})$ un $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H})$) maiņu daļēji var izraisīt viens un tas pats iemesls – atšķirības N-H saites garumā [275].



2.30. att. Savienojumu **1b**, **5c** un **6b** N-H un C-H grupu valences svārstību frekvences IS spektros.

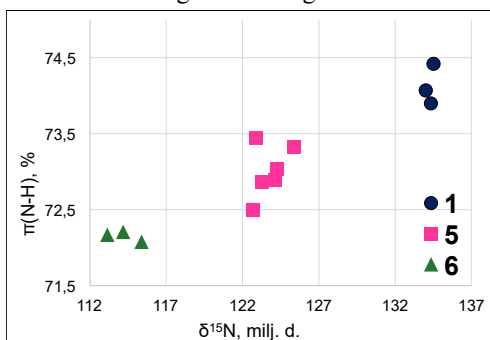
Lai izmērītu slāpekļa kodola ķīmisko nobīdi, tika izmantoti ^1H - ^{15}N HMQC spektri ar N-H tiešās saites konstanšu vērtību ($^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H}) = 95 \text{ Hz}$) [136,160]. ^{15}N rezonanses signāli tiek novēroti trīs skaidri izteiktos reģionos: 134,53–134,01 milj. d. (sav. **1**), 123,31–124,42 milj. d. (sav. **5**) un 114,18–115,58 milj. d. (sav. **6**) (2.7. tab.).

N_1H protonu signāla nobīdi vājākos laukos (^1H deekranēšanu) pavada ^{15}N signālu nobīde stiprākos laukos (N ekranēšana) secīgi savienojumiem **1** → **5** → **6** (2.31. att.). Tas ir pārsteidzoši, jo parasti ar N_1H protona ekranēšanu notiek arī slāpekļa atoma ekranēšana [276]. N-H saite pagarinās, kad izveidojas ūdeņraža saite [277]. Saskaņā ar literatūras datiem [278], novērotās amīdu slāpekļa kodolu ^{15}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** (2.31. att.), iespējams, norāda uz N-H saites saīsināšanos, bet nevar kvantitatīvi izskaidrot ^{15}N rezonanses signāla ievērojamo nobīdi stipros laukos, secīgi pārejot rindā no **1** uz **5** un **6**.



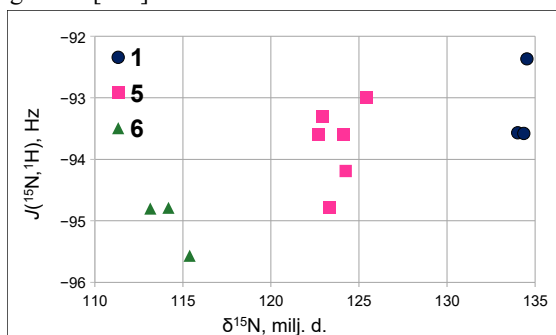
2.31. att. Sakarība starp ^{15}N un ^1H ķīmiskajām nobīdēm savienojumos **1**(●), **5**(■) un **6**(▲).

Dati, kas iegūti izmantojot *NBO* metodi, parāda, ka N_I atoma vidējotais π -orbitālais raksturs N-H saitei samazinās savienojumiem rindā **1**(74,2%) \rightarrow **5**(73,0%) \rightarrow **6**(72,2%) (2.32. att.). Tam vajadzētu izraisīt ^{15}N rezonanses signāla diamagnētisko nobīdi.



2.32. att. Sakarība starp savienojumu **1**(●), **5**(■) un **6**(▲) ^{15}N KMR ķīmiskajām nobīdēm un pēc *NBO* metodes aprēķinātajām N-H saišu π -komponentēm.

^{15}N ķīmisko nobīžu un konstantu $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H})$ vērtības savienojumiem **1**, **5** un **6** (2.33. att.) atspoguļo, ka abu šo parametru ($\delta(^{15}\text{N})$, $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H})$) maiņu daļēji var izraisīt viens un tas pats faktors – N-H saites garums [275].



2.33. att. Konstatu $^1J(^{15}\text{N}, ^1\text{H})$ un ķīmisko nobīžu $\delta^{15}\text{N}_1\text{H}$ sakarība savienojumiem **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**. Ļoti populārs 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}N kodolu. Saskaņā ar literatūras datiem [279], šāda ietekme novirza ^{15}N rezonanses signālu uz stiprākiem laukiem pat līdz 10 milj. d.

Savienojumu **1**, **5**, un **6** ^{13}C KMR spektros novērojami raksturīgie signāli karboksil-, aromātiskajā un alifātiskajā reģionos (2.8. tab.). 1,4-DHP cikla ^{13}C rezonanses signāli ir relatīvi nejutīgi pret aizvietotāju pie C_3 , C_4 un C_5 atomiem raksturu. Savienojumu **1**, **5**, un **6** ^{13}C KMR spektros C_3 un C_5 atomiem novērojamie signāli ir ar ķīmisko nobīžu vērtībām (~102–104 milj. d.), kas zemākas nekā paredzamās. Atomu C_2 un C_6 signāli tiek novēroti pie augstākām δ vērtībām (~141–145 milj. d.). Iegūtos datus var izskaidrot ar pie divkāršās saites 1,4-DHP ciklā piesaistīto grupu spēcīgo virzītājetekmi (*push-pull*), analogiski tam, kas iepriekš novērots citās līdzīgās sistēmās [280]. Oglekļa C_4 KMR signāli atbilst iepriekšējiem datiem [280,281] un novērojami ar ķīmisko nobīdi tuvu pie 28,5 milj. d. alifātiskajiem aizvietotājiem un intervālā 34,2-39,8 milj. d., ja aizvietotājs ir aromātisks.

2.8. tabula

^{13}C KMR ķīmiskās nobīdes, (milj. d.) savienojumiem **1**, **5**, **6**

N. p. k.	Sav.	COO···H	C_6	C_2	C_5	C_3	$\text{C}_6\text{-CH}_3$	$\text{C}_2\text{-CH}_2$	C_4	$\text{C}_4\text{-CH}_3$
1.	1a		144,28	144,28	104,63	104,63	19,44		28,49	22,22
2.	1b		144,39	144,39	103,79	103,79	19,28		39,62	
3.	1c		144,96	144,96	102,35	102,35	19,22		35,88	
4.	5a	170,82	144,10	141,76	105,81	104,49	19,50	61,37	28,54	22,05
5.	5b	170,85	144,43	142,07	105,46	104,25	19,48	61,28	28,43	22,00
6.	5c	170,76	143,47	141,35	105,05	104,15	19,67	61,41	39,6	
7.	5d	170,71	144,16	142,03	103,28	102,52	19,70	61,33	36,22	
8.	5e	170,71	143,88	141,82	103,76	103,01	19,60	61,31	34,18	
9.	5f	170,72	144,36	142,27	103,99	103,32	19,76	61,24	39,83	
10.	6a	170,75	141,95	141,95	105,21	105,21		61,25	28,58	22,08
11.	6b	170,7	141,44	141,44	104,52	104,52		61,26	39,54	
12.	6c	170,59	142,23	142,23	102,83	102,83		61,23	36,19	

Sekundārā $^n\Delta^{13}\text{C}(\text{H/D})$ deitērija-protonu izotopu efekta (IE) mērījumi ir ļoti labs instruments iekšmolekulārās udeņraža saites izpētei [282]. Visus efektus no protonu aizvietošanas ar deitēriju, var ātri detektēt ar ^{13}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 $|\text{N-H}| \cdots \text{X}$ saites potenciālās līknes anharmoniskumu. Udeņraža saite palielina šo anharmoniskumu. Izmaiņas KMR ^{13}C nobīdes vērtībās rada N-H/D saites saīsināšanās dīterēšanas rezultātā [283].

IE vērtības ($^n\Delta^{13}\text{C}(\text{H/D}) = \delta(^{13}\text{C}(\text{N}_1\text{H})) - \delta(^{13}\text{C}(\text{N}_1\text{D}))$) tika izmērītas daļēji deiterētu paraugu ^{13}C spektros, jo abu izomēru signālus varēja viegli identificēt, pamatojoties uz to relatīvo intensitāti. Visi izmērītie izotopu efekti savienojumiem **1**, **5** un **6** ir pozitīvi (2.9. tab.).

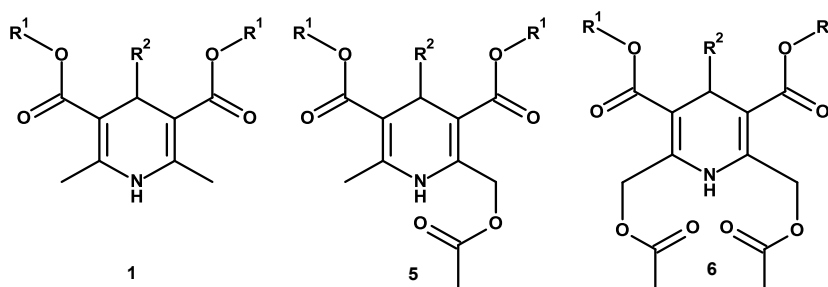
Aizvietotāju ietekmi uz IE vērtībām raksturo, galvenokārt, divi faktori: ūdeņraža saite un aizvietotāju elektronisko efektu pārnese [284].

Reģistrēta H/D izotopu ietekme uz acetoksimetilkarbonilgrupas ^{13}C atomiem (2.9. tab.). Savienojumiem **5**, kam N_1H protons iesaistīts vienā ūdeņraža saitē, $^5\Delta^{13}\text{C}_{\text{COO}}$ H/D vērtības ir diapazonā 3-5 mljrd. d. Tajā pat laikā $^5\Delta^{13}\text{C}_{\text{COO}}$ H/D IE vērtības karboksilgrupas oglekļiem savienojumiem **6** ir 3-5 reizes lielākas (~15–18 mljrd. d.) nekā savienojumiem **5**.

Aplūkojot H/D aizvietošanas ietekmi uz ^{13}C oglekļa atomu KMR spektriem 1,4-DHP ciklam (2.9. tab.), 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 $\text{C}_{2,6}\text{-}^{13}\text{CH}_3$ 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.) (2.9. tab.). ^{13}C izotopā nobīde metilgrupām pie 1,4-DHP cikla 2. un 6. pozīcijās savienojumiem **1** un **5** ir ievērojami lielāka nekā metilēnagrupām tiem pašiem oglekļa atomiem savienojumiem **5** un **6**.

2.9. tabula

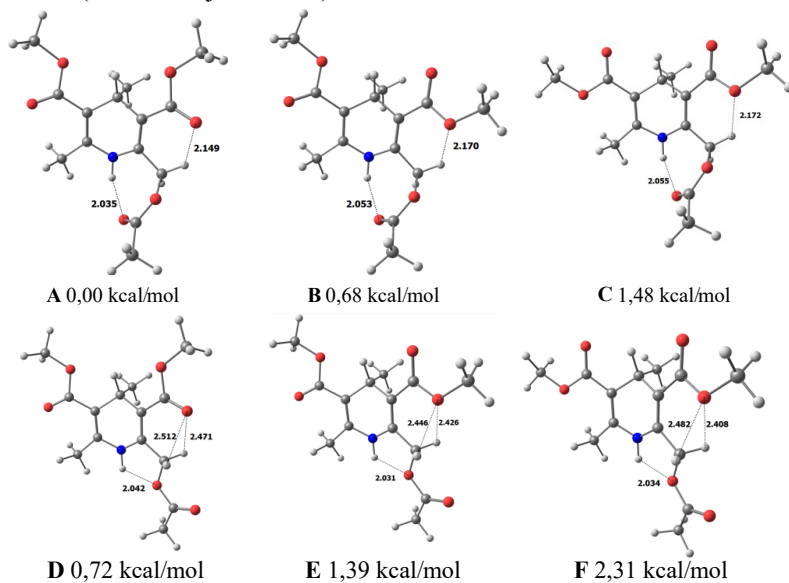
Ķīmiskās struktūras un H/D IE uz ^{13}C kodoliem (mljrd. d.) savienojumos **1**, **5** un **6**



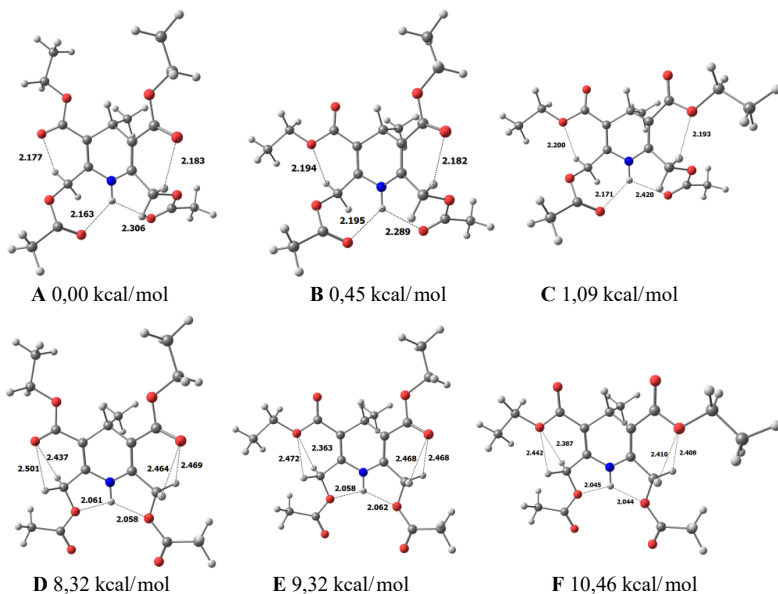
N. p. k.	Sav.	R ¹	R ²	COO···H	C ₆	C ₂	C ₅	C ₃	C ₆ -CH ₃	C ₂ -CH ₂
1.	1a	CH ₂ CH ₃	CH ₃	-	85	85	50	50	81	-
2.	1b	CH ₂ CH ₃	Ph	-	84	84	51	51	82	-
3.	1c	(CH ₂) ₂ OC ₃ H _{7-n}	PhOCHF _{2-o}	-	90	90	47	47	84	-
4.	5a	CH ₂ CH ₃	CH ₃	-	86	78	59	44	84	37
5.	5b	CH ₃	CH ₃	-	88	79	59	45	84	37
6.	5c	CH ₂ CH ₃	Ph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

Savienojumiem **5** un **6** var būt četri iespējamie iekšmolekulāro ūdeņraža saišu veidi ($|\text{N}-\text{H}| \cdots \text{O}=\text{}$, $|\text{N}-\text{H}| \cdots \text{O}-$, $|\text{C}-\text{H}| \cdots \text{O}=\text{}$ un $|\text{C}-\text{H}| \cdots \text{O}-$), kas nosaka molekulu optimālās konfigurācijas. Lai noteiktu, kuri no pieejamajiem saišu veidiem ir dominējošie savienojumiem **5** un **6** optimālās ģeometrijas stabilizācijā, savienojumiem **5b** un **6a** tika veikti iespējamo konformāciju kvantu ķīmiskie aprēķini (*Gaussian 09 (D.01.)* programmatūras pakotne [285]).

Aprēķini veikti teorētiskajā līmenī DFT B3LYP/6-311G++(d,p). Stabilākās konformācijas **5b** un **6a** kā arī aprēķinātie iekšmolekulāro ūdeņraža saišu |C-H|...O un |N-H|...O ģeometriskie parametri redzami attēlos (2.34. un 2.35. att.) un 2.10. tabulā. Savienojums **5b** spēj veidot divas |N-H|...O tipa iekšmolekulārās ūdeņraža saites: pirmo ar karbonilgrupas skābekli (konformācijas **A**, **B**, **C**) un otro ar blakus esošā 2-acetoksimetilaizvietotāja R-oksigrupas skābekļa atomu (konformācijas **D**, **E**, **F**).



2.34. att. Savienojuma **5b** optimizētas konformācijas.



2.35. att. Savienojuma **6a** optimizētas konformācijas.

Mijiedarbību starp N₁H ūdeņraža atomu un karboksilgrupas karbonilskābekļa atomu (konformācijas **A-C**), ja salīdzina to ar mijiedarbību N₁H – alkoksigrupas skābeklis (struktūras **D-F**), raksturo līdzīgas ģeometriskās un enerģētiskās īpašības (2.10. tab.). Savienojumam **5b** enerģētiski varbūtīgākā konformācija ir **A**. Bet konformēru **D** un **A** enerģijas starpība ir maza un vienāda ar 0,72 kcal/mol. Līdzīgu enerģijas starpību novēro starp konformēru **E** un **B** (0,71 kcal/mol), kā arī starp konformēru **F** un **C** (0,83 kcal/mol)) struktūrām.

Lielākus attālumus $d_{\text{NH}\cdots\text{O}}$ (2,04–2,07 Å) un lielākas leņķa $\alpha_{\text{NH}\cdots\text{O}}$ vērtības (139,9–141,3°) konformācijās **A-C** līdzsvaro mazākas $d_{\text{NH}\cdots\text{O}}$ (2,03-2,04 Å) vērtības un mazāki leņķi $\alpha_{\text{NH}\cdots\text{O}}$ (109,0–109,5°) konformācijās **D-F**. Ir zināms, ka, jo īsāka ūdeņraža saite un lielāks leņķis, jo ūdeņraža saite ir stiprāka. Tādējādi var apgalvot, ka savienojumam **5b** gan $|\text{NH}|\cdots\text{O}=\text{C}$, gan $|\text{NH}|\cdots\text{O}-$ ūdeņraža saites ir vienlīdz iespējamās.

2.10. tabula

Savienojumu **5b** un **6a** optimizēto konformāciju iekšmolekulāro ūdeņraža saišu parametri

Sav. (konformācija)	C ₃ -C=O/C ₅ -C=O orientācija	Enerģija, kcal/mol	d, Å (α, °) NH ⋯O=C	d, Å (α, °) NH ⋯-O-	d, Å (α, °) CH ⋯O=C	d, Å (α, °) CH ⋯-O-	
5b	(A)	<i>s-cis/s-cis</i>	0,00	2,035 (141,3)	-	2,149 (123,4)	-
	(B)	<i>s-trans/s-cis</i>	0,68	2,053 (140,1)	-	-	2,170 (115,8)
	(C)	<i>s-trans/s-trans</i>	1,48	2,065 (139,9)	-	-	2,172 (115,8)
	(D)	<i>s-cis/s-cis</i>	0,72	-	2,042 (109,0)	2,512 (88,8) 2,471 (91,0)	-
	(E)	<i>s-trans/s-cis</i>	1,39	-	2,031 (109,5)	-	2,446 (88,4) 2,426 (89,4)
	(F)	<i>s-trans/s-trans</i>	2,31	-	2,034 (109,5)	-	2,482 (86,8) 2,408 (90,7)
6a	(A)	<i>s-cis/s-cis</i>	0,00	2,163 (130,9) 2,306 (119,7)	-	2,183 (119,2) 2,177 (120,9)	-
	(B)	<i>s-cis, s-trans</i>	0,45	2,195 (128,9) 2,289 (120,8)	-	2,182 (119,3)	2,194 (112,8)
	(C)	<i>s-trans/s-trans</i>	1,09	2,171 (130,5) 2,420 (113,7)	-	-	2,193 (111,3) 2,200 (113,2)
	(D)	<i>s-cis/s-cis</i>	8,32	-	2,058 (107,2) 2,061 (107,1)	2,464 (90,8) 2,469 (90,6) 2,501 (89,0) 2,437 (92,3)	-
	(E)	<i>s-cis/s-trans</i>	9,32	-	2,062 (107,3) 2,058 (107,2)	2,468 (90,7) 2,468 (90,7)	2,472 (86,6) 2,363 (92,4)
	(F)	<i>s-trans/s-trans</i>	10,46	-	2,044 (107,9) 2,045 (107,8)	-	2,410 (89,5) 2,408 (89,6) 2,442 (88,0) 2,387 (91,0)

Savienojuma **6a** konformācijas **A, B, C**, kurās tiek novērota $|\text{NH}|\cdots\text{O}$ mijiedarbība ar O=C grupām ir enerģētiski izdevīgākas nekā atbilstošās konformācijās **D, E, F**, kurās ir novērojama $|\text{NH}|\cdots\text{O}$ mijiedarbība ar alkoksigrupas skābekli. Enerģijas starpība ir robežās 8,32–9,37 kcal/mol. 1,4-DHP atvasinājuma **6a** konformāciju **A-C** ģeometriskie raksturlielumi ir tuvi viens otram, tos raksturo lielāki attālumi $d_{\text{NH}\cdots\text{O}}$ (2,16-2,42 Å) un lielāki leņķi $\alpha_{\text{NH}\cdots\text{O}}$ (113,7-130,9°) salīdzinājumā ar **D-F** konformācijām, kam novēro mazākas $d_{\text{NH}\cdots\text{O}}$ (2,04-2,06 Å) un mazākas $\alpha_{\text{NH}\cdots\text{O}}$ (107,1–107,9°) vērtības. Salīdzinot savienojuma **6a**

konformērus (2.35. att.), var izdarīt secinājumus, ka 3 galvenie konformēri ir **A**, **B** un **C**, kuru vidū **A** konformērs būs dominējošs. Lai precīzi noteikt konformēru sadalījuma atkarību no temperatūras, būtu jāizpēta PES, lai iegūt informāciju par barjerām starp konformēriem.

Ūdeņraža saišu $|\text{NH}| \cdots \text{O}$ stabilitāte ir atkarīga no 1,4-DHP cikla 3. un 5. sānu ķēžu orientācijas un samazinās sekojošā secībā: *s-cis/s-cis* (**A** un **D**) \rightarrow *s-cis/s-trans* (**B** un **E**) \rightarrow *s-trans/s-trans* (**C** un **F** konformācijas). Iepriekšējā 2.2.1. nodaļā aprakstīts, ka 3. un 5. pozīcijās esošo metoksikarbonilgrupu optimālās konformācijas ir *s-cis/s-cis*, kas sakrīt ar literatūras datiem [136]. Iegūtie rezultāti liecina, ka savienojuma **5b** enerģijas minimums atbilst konformācijām ar *s-cis/s-cis* karboksilgrupas orientāciju (**A**, **D**) attiecībā pret divkāršo saiti dihidropiridīna ciklā, kā arī pastāv iespēja veidoties $|\text{C}_{2,6}\text{H}| \cdots \text{O}$ saitei ar karboksilgrupu skābekli pie C_3 un C_5 . Šīs papildu ūdeņraža saites stabilizē molekulu, jo struktūras ar *s-cis/s-trans* (**B**, **E**) un *s-trans/s-trans* (**C**, **F**) karboksilgrupu orientācijām ir ar lielāku enerģiju.

Pēc aprēķinu datiem attālumi $d_{\text{CH} \cdots \text{O}}$ pieaug un leņķi $\alpha_{\text{C-H} \cdots \text{O}}$ samazinās, pārejot no konformācijām **A-C** uz **D-F**, norādot uz $\text{CH} \cdots \text{O}$ ūdeņraža saites starp metilēngrupas protoniem un karboksilgrupas skābekli vājināšanos. Tajā pašā laikā konformācijās **A-C** ūdeņraža saites $|\text{CH}| \cdots \text{O}$ veidošanā piedalās tikai viens metilēngrupas protons bet **D-E** konformēros ūdeņraža saites $|\text{CH}| \cdots \text{O}$ veido abi metilēngrupas protoni. Lai gan pirmās ūdeņraža saites ir spēcīgākas, jo raksturojas ar īsāku attālumu $d_{\text{CH} \cdots \text{O}}$ un lielāku leņķi $\alpha_{\text{C-H} \cdots \text{O}}$, divām vājākām $|\text{CH}| \cdots \text{O}$ saitēm konformācijās **D-E** var būt tāds pats stabilizējošs efekts molekulas optimālai konformācijai. Šī tendence attiecināma arī uz metoksikarbonilgrupu orientāciju 3. un 5. pozīcijās.

Savienojumam **6a** optimālo konformāciju **A** raksturo *s-cis/s-cis* 3. un 5. karboksilgrupu orientācija attiecībā pret divkāršajām saitēm dihidropiridīna ciklā un $|\text{NH}| \cdots \text{O}$ ūdeņraža saite ar diviem $\text{C}=\text{O}$ skābekļa atomiem (**A**). Tāpat kā savienojumam **5b**, arī **6a** struktūras ar 3,5-karboksilgrupu orientāciju *s-cis/s-trans* (**B**) un *s-trans/s-trans* (**C**) ir ar lielāku enerģiju.

Aprēķini, kas veikti savienojumam **6a** rāda, ka attālumi $d_{\text{CH} \cdots \text{O}}$ pieaug, bet leņķi $(\text{C-H} \cdots \text{O})$ samazinās, pārejot no konformācijām **A-C** uz **D-F**, kas liecina par $|\text{CH}| \cdots \text{O}$ ūdeņraža saites – starp metilēngrupas protoniem un karboksilgrupu skābekli – pavājināšanos. Tāpat kā savienojuma **5b** konformācijām **A-C** arī savienojumā **6a** $|\text{CH}| \cdots \text{O}=\text{O}$ ūdeņraža saitē piedalās tikai viens metilēngrupas protons, bet savienojuma **6a D-E** konformācijās abi metilēngrupas protoni veido aptuveni vienādas $|\text{CH}| \cdots \text{O}-\text{O}$ saites. Lai gan pirmā ūdeņraža saite ir spēcīgāka, jo to raksturo īsāks attālums $d_{\text{CH} \cdots \text{O}}$ un lielāks leņķis $\alpha_{\text{C-H} \cdots \text{O}}$, divām vājākajām $|\text{CH}| \cdots \text{O}$ saitēm savienojuma **6a** konformācijās **D-E** varētu būt tāda pati stabilizējoša ietekme molekulas konformācijas optimizācijā. Šī tendence attiecināma arī uz metoksikarbonilgrupu orientāciju 3. un 5. pozīcijās.

Savienojumu **5b** un **6a** konformācijās **A-C**, metilēngrupu protoni pie C_2 un C_6 nav ekvivalenti, jo tikai viens veido $|\text{CH}| \cdots \text{O}$ ūdeņraža saiti. Savienojumu **5b** un **6a** konformācijās **D-F** abi metilēngrupu protoni ir ekvivalenti, jo tie veido divas vienādas $|\text{CH}| \cdots \text{O}$ ūdeņraža saites (2.10. tab.). Tā, savienojuma **6** konformācijai **A** ir enerģētiskais pārkums pār **D** konformāciju, bet **A** un **D** konformācijas savienojumam **5** ir enerģētiski ekvivalentas, metilēngrupu protonu ķīmisko nobīžu starpība $(\delta(\text{H}_\text{B})-\delta(\text{H}_\text{A}))$ savienojuma **6** (0,10–0,20 milj. d.) ir divreiz lielāka nekā savienojuma **5** (0,04–0,13 milj. d.) (2.2. tab.).

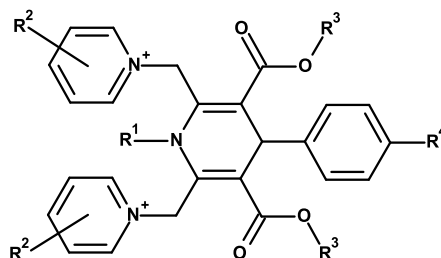
Veiktie aprēķini rāda, ka savienojumiem **5** N₁H protons ar alkoksigrupas skābekli vislabāk varētu veidot pieclocēkļu H-helāta tipa ciklu. Savienojumu **6** divi septiņlocēkļu H-helāta cikli veidojas ar C=O skābekli aizvietotajos 2. un 6. pozīciju. Dažāda tipa [NH]···O saites savienojumos **5** un **6** var būt par iemeslu 2. un 6. pozīcijas aizvietotāju karboksilgrupas oglekļa sekundārās ¹³C(NH/D) izotopu nobīdes pieaugumam ¹³C KMR spektrā, pārejot no savienojumiem **5** uz **6**. Tas, ka NH/D aizstāšanas izotopais efekts sešu ķīmisko saišu attālumā uz 2. un 6. pozīcijā esošo karboksilgrupu oglekļa ¹³C ķīmisko nobīdi savienojumiem **6** (⁶Δ¹³C(NH/D)) ir lielāks par efektu četru ķīmisko saišu attālumā (⁴Δ¹³C(NH/D)) savienojumiem **5**, pierāda, ka [NH]···O ūdeņraža saite septiņlocēkļu H-helāta ciklā, ko veido C=O grupa, ir spēcīgāka par saiti alkoksigrupas izveidotajā pieclocēkļu H-helāta ciklā.

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

Nukleozīdus un nukleotīdus kā prozāļu (*prodrugs*) analogus pielieto jau ilgāku laiku un ir pierādīts, ka tiem ir dažādas un daudzpusīgas bioloģiskās aktivitātes, piemēram, pretvīrusu [286–289], imunomodulatorā [290], pretvēža [291–293], pretsēnīšu [294,295] un citas. Tomēr, lai tieši izmantotu nukleotīdus, ir jāpārvar divas galvenās problēmas: pirmkārt, nukleotīdi viegli defosforilējas ar nespecifiskām seruma fosfatāzēm, otrkārt, anjonu nukleotīdi nevar iekļūt šūnu membrānās un parasti nav īpaši aktīvi *in vivo* [296]. Pat tad, ja degradācija tiek novērsta, to terapeitiskā iedarbība joprojām ir ļoti zema. Kompleksās zāļu formās ar katjonu aizvietotājus saturošiem lipīdiem nukleozīdi un nukleotīdi veido lipofilus jonu pārus (lipopleksus), kas bez degradācijas var difundēt caur šūnu membrānu un iekļūt šūnās *in vitro* [297].

2.11. tabula

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



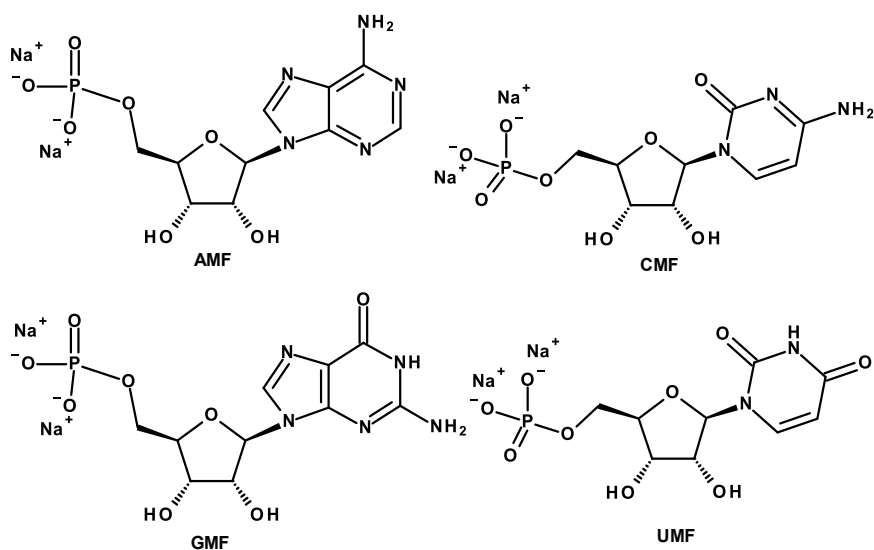
N. p. k.	Sav.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
1.	4b	H	H	C ₁₂ H ₂₅	H
2.	4d	H	H	C ₁₆ H ₃₃	H
3.	4e	CH ₃	H	C ₁₂ H ₂₅	H
4.	4f	H	4-CH ₃	C ₁₂ H ₂₅	H
5.	4g	H	3,5-CH ₃	C ₁₂ H ₂₅	H
6.	4h	H	4-N(CH ₃) ₂	C ₁₂ H ₂₅	H
7.	4i^a	H	H	C ₁₂ H ₂₄ -CF ₃	H
8.	4j	H	H	C ₁₂ H ₂₅	CF ₃

a perhlorāti, visi pārējie – bromīdi.

Pētījums veikts, lai noteiktu mononukleotīdu (kā prozāļu modeļu) saistīšanās spēju ar katjonu amfifiliem lipīdiem līdzīgiem 1,4-DHP atvasinājumiem **4** (2.11. tab.). Šādi savienojumi ūdens šķīdumos uzrāda spēju asociēties un veidot vezikulas [35,120,124]. 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 N₁ atoma, kā arī C12 alkilķēžu (3. un 5. pozīcijā) saīsināšana vai pagarināšana samazināja transfekcijas aktivitāti pat līdz pilnīgam tās zudumam [50].

DNS vai RNS un 1,4-DHP **4** kompleksēšanās mehānisms nav pilnībā skaidrs, bet asociācija ir atkarīga no nukleīnskābes veidojošiem mononukleotīdiem [298]. Tāpēc ir saprātīgi salīdzināt 5'-mononukleotīdu (2.36. att.) (AMF ir adenozīna, CMF ir citidīna, GMF ir guanozīna un UMF ir uridīna 5'-monofosfāts) spēju piesaistīt katjonu tipa 1,4-DHP amfifilus **4**. Tas būtu svarīgi, lai racionāli prognozētu, meklētu un sintezētu jaunus katjonus amfifilus 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 aktīvākā savienojumā **4b** saistīšanos ar 5'-mononukleotīdiem, tad analizēt, kā aizvietotāju variācija savienojumu **4** struktūrā ietekmē to kompleksēšanās spēju.

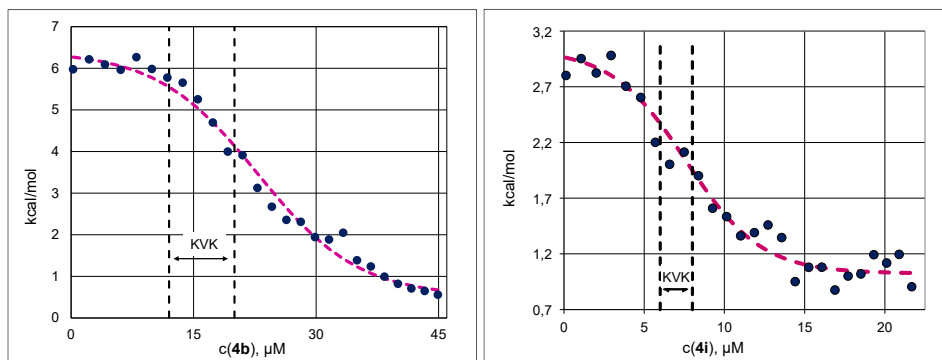


2.36. att. RNS 5'-mononukleotīdi.

2.3.1. Katjonu amfifilio 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 [299–303]. ITK datus labi apraksta Bolcmaņa (*Boltzmann*) sigmoīda vienādojums (2.1.). Titrēšanas sākumā 1,4-DHP atvasinājumu **4** koncentrācija šūnas nodalījumā bija zemāka par KVK.

Titrēšanas līkne (2.37. att.) norāda, 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.



2.37. att. ITK dati savienojumu **4b** un **4i** KVK noteikšanai (katjonu lipīdu **4b** koncentrācija injekcijas/titrēšanās šļircē – 270 μM, **4i** – 130 μM). Rozā līknes ir datu pielāgojums saskaņā ar vienādojumu (2.1.). Uz x-ass – savienojumu koncentrācija KVK iekārtas titrēšanas šūniņas nodalījumā.

Saskaņā ar literatūras datiem KVK vērtību, kas iegūta ITK titrēšanas procesā, var aprēķināt izmantojot van't Hofa (*Jacobus Henricus van 't Hoff*) vienādojumu [304] vai arī dažas citas grafiskās metodes [305], bet KVK novērtēšanai izmantoto Bolcmaņa vienādojumu, jo tas ir vienkāršāks un piemērotāks iegūto ITK datu novērtēšanai. Iegūtajām ITK titrēšanas līknēm ir S (sigmoidāla) forma un savienojumiem **4** vezikulācijas termodinamisko parametru novērtēšanai izmantoti šādi aprēķinu vienādojumi (2.1–2.4.) [306]:

$$Q^{\text{devez}} = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{\frac{c_{\text{det}} - \text{KVK}}{\Delta}}} + A_2, \quad (2.1.)$$

kur c_{det} ir savienojuma (deterģenta) koncentrācija ITC200 titrēšanas šūniņā un Δ ir pārejas reģiona platumš. Q^{devez} , devezikulācijas siltums (vezikulu atšķaidīšana) tika ņemts kā starpība starp A_1 – sākuma un A_2 – beigu vērtību bāzes līnijām. Izmantojot koncentrāciju šļircē $c_{\text{šji}}$ un KVK, Q^{devez} tika normalizēts. Standarta molāro vezikulācijas entalpiju dod vienādojums (2.2.):

$$\Delta H^{\circ, \text{vez}} = -Q^{\text{devez}} \frac{c_{\text{šji}}}{c_{\text{šji}} - \text{KVK}}, \quad (2.2.)$$

Gibsa brīvās enerģijas izmaiņu vezikulācijas rezultātā ($\Delta G^{\circ, \text{vez}}$) var izrēķināt saskaņā ar vienādojumu (2.3.):

$$\Delta G^{\circ, \text{vez}} = RT \ln \left(\frac{\text{KVK}}{55,5 \text{ M}} \right), \quad (2.3.)$$

kur $R = 1,987 \text{ cal} \times \text{K}^{-1} \times \text{mol}^{-1}$ (universālā gāzes konstante), $T = 298 \text{ K}$ (25 °C) – eksperimenta temperatūra un 55,5 M ir šķīdinātāja (ūdens) koncentrācija (paškoncentrācija). Standarta molārās entropiskās daļas ietekme vezikulācijā ($-T\Delta S^{\circ, \text{vez}}$) aprēķināta kā starpība, kas ir iegūta no Gibsa-Helmholca vienādojuma (2.4.):

$$T\Delta S^{\circ, \text{vez}} = \Delta H^{\circ, \text{vez}} - \Delta G^{\circ, \text{vez}} \quad (2.4.)$$

KVK vērtības un termodinamiskie dati savienojumiem **4** apkopoti tabulā (2.12. tab.). Pašagregēšanās virzītājspēks ir hidrofobais efekts, kas atkarīgs no molekulu lipofilitātes. Labi zināms, ka KVK samazinās, palielinoties virsmas aktīvās vielas lipofilitātei [307,308]. KVK

vērtības 1,4-DHP atvasinājumiem **4**, kas iegūtas ar ITK, ir samērā zemas. Savienojumi **4g**, **4h**, **4i** un **4j** raksturojas ar mazākām KVK vērtībām (2.12. tabula 4.-7. rindas), jo tiem ir lielāka lipofilitāte [309,310]. Lai novērtētu lipofilitāti atvasinājumiem **4**, tika aprēķinātas oktanolā/ūdens sadalījuma koeficienta (logP) vērtības (2.12. tab.). KVK un logP vērtības savienojumiem **4** korelē, uzrādot lipofilitātes palielināšanos.

2.12. tabula

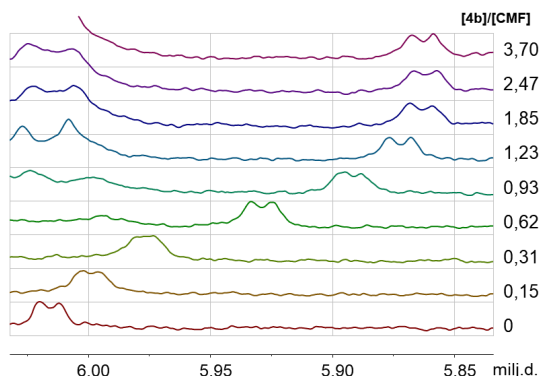
LogP vērtības, KVK un termodinamiskie parametri 1,4-DHP atvasinājumiem **4**

N. p. k	Sav.	logP	KVK, μM	$\Delta G^{\circ, \text{vez}}$, kcal/mol	$\Delta H^{\circ, \text{vez}}$, kcal/mol	$-\text{T}\Delta S^{\circ, \text{vez}}$, kcal/mol
1.	4b	15,2	16 \pm 4	-8,9	-6,6	-2,3
2.	4e	15,0	17 \pm 2	-8,9	-7,6	-1,3
3.	4f	15,9	17 \pm 3	-8,9	-6,7	-2,2
4.	4g	16,5	10 \pm 2	-9,2	-5,3	-3,9
5.	4h	16,0	11 \pm 2	-9,1	-7,2	-1,9
6.	4i	17,7	7 \pm 1	-9,4	-2,2	-7,2
7.	4j	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, kā rezultātā palielinās entropija [311]. Pamatojoties uz tabulā (2.12. tab.) dotajiem rezultātiem var vispārināt, ka savienojumiem **4** vezikulācija 25 °C temperatūrā ir eksotermisks process. Gibbsa brīvā enerģija ($\Delta G^{\circ, \text{vez}}$) kā arī entalpija ($\Delta H^{\circ, \text{vez}}$) ir ar negatīvu vērtību, bet entropija ($S^{\circ, \text{vez}}$) – ar pozitīvu vērtību.

2.3.2. RNS 5'-mononukleotīdu saistība ar 1,4-DHP atvasinājumiem, ^1H 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 ^1H KMR titrēšanas eksperimenti. ^1H KMR titrēšanas eksperimenti ir informatīvi noderīgi, jo dod iespēju noteikt sistēmas termodinamiskos datus. Mononukleotīdu **CMF** un **UMF** gadījumā apmaiņas process ar savienojumiem **4** (^1H KMR laika skalā) bija ātrs un tika reģistrēti gan brīvo, gan saistīto molekulu vidējie KMR protonu signāli (2.38. attēls un vienādojums (2.5.)).



2.38. att. **CMF** un savienojuma **4b** ^1H KMR titrēšanas spektra reģions. $[\mathbf{4a}]/[\mathbf{CMF}]$ – koncentrāciju attiecība [249].

$$\delta_{\text{novērots}} = Y_{\text{brīvs}} \times \delta_{\text{brīvs}} + Y_{\text{saistīts}} \times \delta_{\text{saistīts}} \quad (2.5.)$$

Disociācijas konstantes (K_D) savienojumu **4** kompleksi ar **CMF** vai **UMF** aprēķināja, izmantojot vienādojumu (2.6.), reģistrējot inducēto ^1H protonu signālu maiņu pie dažādām savienojumu **4** un mononukleotīdu koncentrāciju attiecībām [312]. Divi nezināmie – disociācijas konstante (K_D) un saistīto RNS 5'-mononukleotīda un savienojumu **4** ķīmiskā nobīde ($\delta_{\text{saistīts}}$) – tika novērtēti, izmantojot nelineāro pielāgošanu.

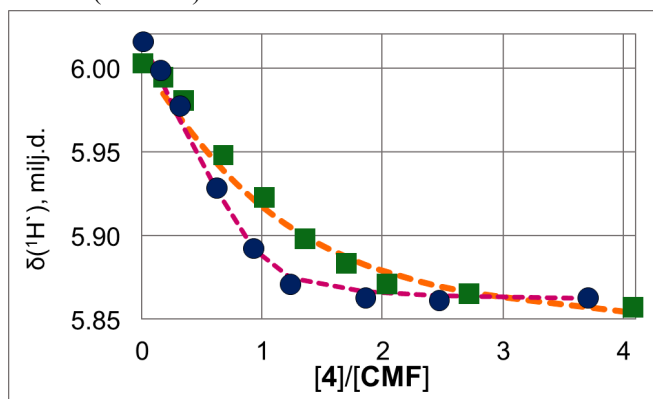
$$\delta_{\text{novērots}} = (\delta_{\text{brīvs}} - \delta_{\text{saistīts}}) \frac{K_D + C_S + C_V - \sqrt{(K_D + C_S + C_V)^2 - 4 \times C_V \times C_S}}{2} + \delta_{\text{brīvs}} \quad (2.6.)$$

kur C_S un C_V attiecīgi ir "saimnieka" (*host*) un "viesa" (*guest*) koncentrācijas. Molārās Gibbsa brīvās enerģijas ΔG (saistīšanās afinitātes) aprēķinātas no disociācijas konstantes K_D vērtībām, izmantojot vienādojumu (2.7.):

$$\Delta G^{\circ, \text{saistīšanās}} = RT \ln \left(\frac{K_D}{c^{\theta}} \right) \quad (2.7.)$$

kur c^{θ} ir standartkoncentrācija (1 mol/L).

Disociācijas konstantes "saimnieka" (mononukleotīds) – "viesa" (1,4-DHP) mijiedarbībai aprēķināja no 5'-mononukleotīdu H1' protonu signāla titrēšanas līknēm, pievienojot šķīdumam pieaugošu **4** daudzumu (2.39. att.).



2.39. att. ^1H KMR titrēšanas, titrējot **CMF** ar 1,4-DHP atvasinājumiem (**4b** – ● un **4d** – ■) D_2O šķīdumos, un pārtrauktās līknes apraksta 2.6. vienādojums. ^1H KMR nobīdes **CMF** H1' signāliem atliktas kā funkcija $4/\text{CMF}$ molārā attiecība.

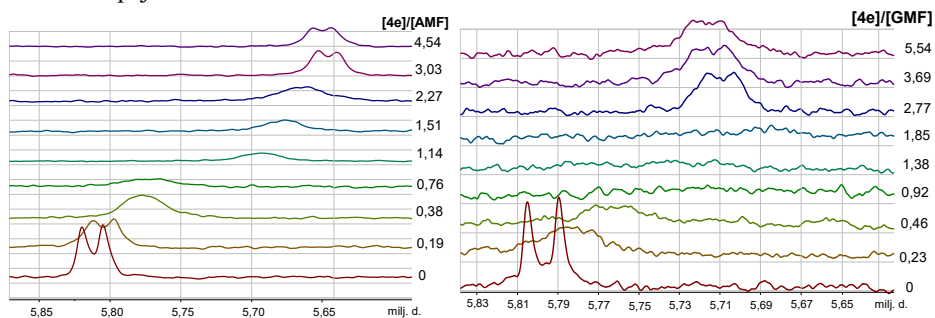
Visu "saimnieks"/"viesis" sistēmu disociācijas konstantes (K_D) ir ar vienādu kārtu, tās apkopotas tabulā (2.13. tab.). Konstanšu mazākās vērtības nozīmē spēcīgāku saistīšanos. Dati liecina, ka enerģētiski visizdevīgākos kompleksus veido savienojums **4i** ar **CMF** vai **UMF**.

2.13. tabula

Disociācijas konstantes K_D (nM) savienojumu **4** un mononukleotīdu kompleksi

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

Aizvietotāji piridīnija gredzenā (savienojumi **4f**, **4g** un **4h**) nedaudz izmainīja attiecīgo savienojumu kompleksu ar mononukleotīdiem stabilitāti. Savukārt N-CH₃ aizvietota 1,4-DHP atvasinājuma **4e**, ka arī savienojuma **4j** ar trifluormetilaizvietotāju 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 garu alkilķēdi C₁₆ saturošu estera grupu 3.,5. pozīcijās uzrāda vājāku saistīšanās spēju.



2.40. att. AMF un GMF titrēšanas ar savienojumu **4e** ¹H KMR spektri.

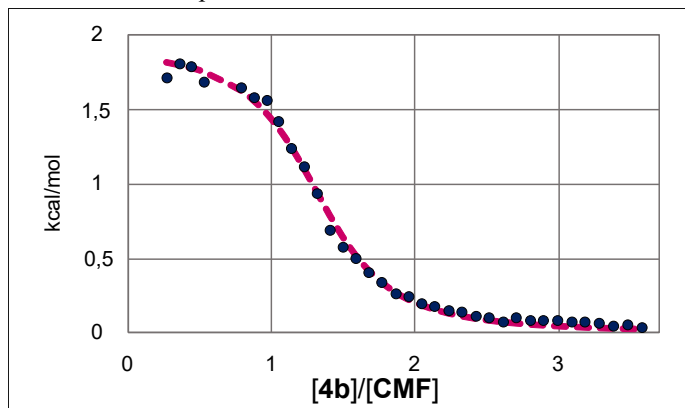
AMF un GMF gadījumā apmaiņas ātrums 25 °C temperatūrā bija KMR laika skalas vidējā diapazonā, tāpēc nebija iespējams novērtēt K_D vērtības ievērojami paplašināto signālu dēļ (pie koncentrācijas attiecības no 0,3 līdz 1,2) (2.40. att.). AMF uzrādīja mazāk paplašinātus signālus, bet konkrētajā temperatūrā 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 saistīšanās spēju ar RNS 5'-mononukleotīdiem. Šādu uzlabotu saistīšanos varētu skaidrot 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 CF₃ 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, salīdzinājumā ar vezikulām, kuras veido tikai tīrs 1,4-DHP atvasinājums **4b**.

2.3.3. 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*, tādēļ ka tā ir operatīva, vienkārša un tieša [313]. Tā ar lielāku precizitāti sniedz lielisku ieskatu saistīšanas procesos salīdzinājumā ar citām metodēm [314]. Metode ir jutīga ne tikai pret molekulāro saistīšanos, tā reaģē arī uz dažādiem citiem 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 to 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) [315]. Parasti ITK titrēšanas eksperimenti uzrāda līkni ar S-veida formu (2.41. att.), no kuras izrēķina termodinamiskos parametrus.



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

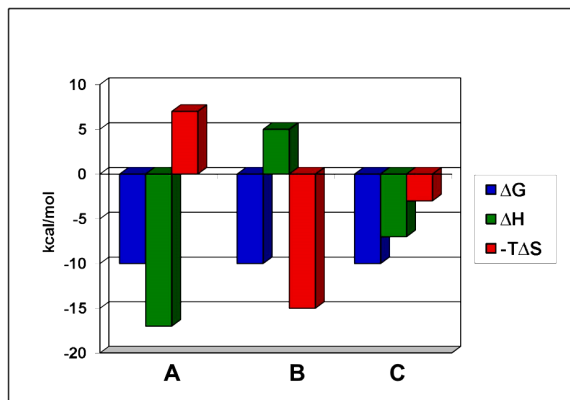
Disociācijas konstantes K_D vērtības un termodinamiskie parametri norādīti tabulā (2.14. tab.). Papildus ^1H KMR spektroskopijas metodēm kompleksu termodinamiskos parametrus noteica ar ITK. Ar ITK metodi noteiktās K_D vērtības ir mazākas nekā tās, kas iegūtas ar ^1H KMR titrēšanu. Tas nav pārsteigums, jo ķīmisko nobīžu izmaiņas, ko novēro ^1H KMR titrēšanas eksperimentos, rodas tikai tad, ja attiecīgais protons ir iesaistīts kompleksu veidojošās mijiedarbībās (un ķīmiskā nobīde ne vienmēr atbilst kompleksa veidošanai) atšķirībā no ITK mērījumiem, kas reģistrē jebkādu saistīšanos (siltuma izmaiņu) neatkarīgi no mijiedarbības veida [316,317]. Saistīšanās raksturojumu kompleksiem rāda entalpijas (ΔH) un entropijas ($-T\Delta S$) ieguldījums saistības Gibbsa brīvajā enerģijā (ΔG). Pretējie entalpijas un entropijas ieguldījumi rezultējoties dod peticīgās Gibbsa brīvas enerģijas izmaiņas ($\Delta G \approx -7$ kcal/mol). Labvēlīgo brīvo enerģiju veido nelabvēlīgā pozitīvā entalpijas un labvēlīgā entropijas vērtības. Negatīvus entropijas faktoros galvenokārt izraisa nespecifiskā hidrofobā mijiedarbība un desolvatācija.

2.14. tabula

Ar ITK un ^1H KMR metodēm noteiktie K_D lielumi un termodinamiskie parametri 5'-mononukleotīdu titrēšanai ar savienojumu **4b**

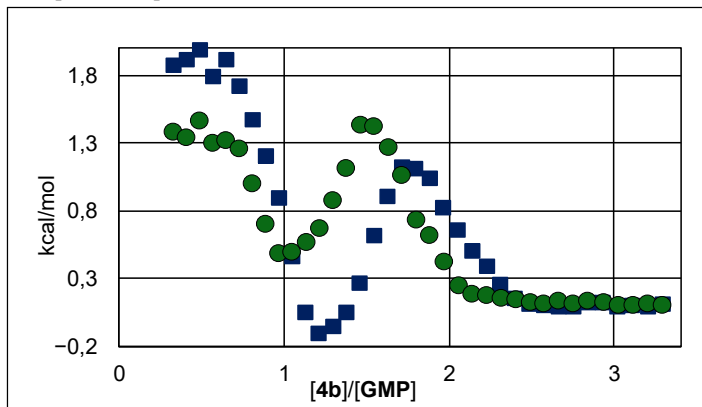
Mononukleotīds	KMR	ITK	KMR	ITK		
	K_D , nM		ΔG , kcal/mol	ΔH , kcal/mol	ΔS , cal/(mol \times K)	
AMF	-	10 \pm 6	-	-7,0 \pm 0,4	2,1 \pm 0,3	30 \pm 1
CMF	23 \pm 7	15 \pm 6	-6,3 \pm 0,8	-6,6 \pm 0,3	5,1 \pm 1,0	39 \pm 1
UMF	26 \pm 9	6 \pm 2	-6,3 \pm 0,9	-7,2 \pm 0,2	4,6 \pm 0,5	39 \pm 3

Atrastās ΔG , ΔH un ΔS vērtības liecina, ka saistīšanās procesos dominē entropiskā mijiedarbība (2.42. att. **B**) [318], kas atbilst publicētajiem datiem par amonija lipīdu vezikulām [319]. Hidrofobās mijiedarbības entropija padara labvēlīgu 1,4-DHP atvasinājumu **4** un 5'-mononukleotīdu saistīšanos.



2.42. att. Reprezentatīvi termodinamiskie dati no ITK eksperimentiem. **A**: saistīšana ar labvēlīgu entalpiju; **B**: saistīšana ar labvēlīgu entropiju; **C**: saistīšana ar labvēlīgu entalpiju un entropiju [318].

GMF titrēšanas rezultāti atšķiras. Pirms līkne sasniedz plato (pie attiecības (3:2)) tika reģistrēti divi papildu pārliekuma punkti (ar izliekuma un ieliekuma starpību ap 1 kcal/mol) (2.43. att.). 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 minēta vairākos literatūras avotos [320–322].



2.43. att. Divi dažādi ITK eksperimenti vienos un tajos pašos apstākļos.

Var pieņemt, ka **GMF** mijiedarbība ar 1,4-DHP atvasinājumiem **4** norisinājās divos posmos: sākumā brīvās **GMF** molekulas saistās ar savienojumiem **4**; pēc tam **GMF** klasteri izkļiedžas – palielinās siltuma daudzums [323]. Tāpēc **GMF** mononukleotīdam ar šo metodi neizdevās novērtēt K_D vērtību asociātiem ar lipīdveida 1,4-DHP atvasinājumiem.

2.3.4. 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 [324]. 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 novērotas RNS 5'-mononukleotīdu spektros tiem saistoties ar 1,4-DHP atvasinājumu **4b** veidotajām vezikulām. Mononukleotīdu saistīšanas spēja samazinās rindā **CMF** → **UMF** → **AMF** → **GMF** (2.15. tab.).

Salīdzinot nukleotīdu saistīšanos ar 1,4-DHP atvasinājumu **4b**, **4e** un **4i** vezikulām, integrālo intensitāšu vidējās vērtības ^1H uzrāda samazināšanos rindā **4b** → **4i** → **4e** mononukleotīdu **CMF** un **GMF** gadījumos, un rindā **4i** → **4b** → **4e** mononukleotīdu **AMF** un **UMF** gadījumos (2.15. tab.). 1,4-DHP molekulā N_1H protona aizstāšana ar metilgrupu samazina 1,4-DHP atvasinājuma **4e** saistīšanās spēju ar mononukleotīdiem, kas apstiprina N_1H grupas nozīmīgumu šīs saistības mehānismā. Iespējams, N_1H grupa piedalās starpmolekulāras ūdeņraža saites veidošanā starp 1,4-DHP atvasinājumiem un mononukleotīdem.

Vislielākā mononukleotīdu KMR signālu integrālo intensitāšu pazemināšanās novērojama cukura daļai. Tas nozīmē, ka saistīšanās vieta, visticamāk, ir fosfātu grupa. Tā kā purīnu un pirimidīnu protonu signāliem integrālās intensitātes nedaudz samazinātas, tas norāda, 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 pārliecība par saistīšanās procesā iekļauto mononukleotīdu atomu pareizu identifikāciju, tika izmantoti ^1H piesātinājuma pārnese dubultstarpības (PPDS) (*saturation transfer double difference STDD*) KMR eksperimenti. PPDS pamatā ir magnetizācijas starpmolekulārā pārnese no receptoriem uz piesaistītajiem mazajiem ligandiem [325].

2.15. tabula

RNS 5'-mononukleotīdu signālu integrālo vērtību samazināšanās (%) $T_{1\rho}$ eksperimentos

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

Relatīvā piesātinājuma pārnese intensitāte no **4** alifātisko lipīdu ķēdes protoniem ir augstāka cukura gredzena atomiem, jo īpaši H_4' H_5' (**UMF**) un H_4' H_5' H_3' (**CMF**), kas

atrodas tuvu mononukleotīdu 5'-fosfāta grupai, tā norādot uz iespējamo saistīšanās vietu (2.16. tab.). Šis pieņēmums atbilst teorijai, jo fosfātu grupa ir ar negatīvu lādiņu, bet piridīna katjonu lipīdi ir ar pozitīvu lādiņu.

2.16. 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'	
AMF	4b	9	-	-	15	-	-	10	-	9	-	36	21
	4e	2	-	-	6	-	-	9	-	12	-	41	30
	4i	7	-	-	15	-	-	10	-	9	-	31	28
CMF	4b	-	12	-	-	-	9	-	35	-	-	24	21
	4e	-	9	-	-	-	3	-	28	-	-	25	34
	4i	-	11	-	-	-	7	-	32	-	-	26	25
GMF	4b	18	-	-	-	-	-	-	-	-	5	63	14
	4e	18	-	-	-	-	-	-	-	-	11	56	15
	4i	22	-	-	-	-	-	-	-	-	15	44	19
UMF	4b	-	-	8	-	0	-	-	-	12	26	26	28
	4e	-	-	0	-	6	-	-	-	2	25	32	36
	4i	-	-	8	-	4	-	-	-	12	24	29	23

¹H PPDS dati liecina par dažām atšķirībām mononukleotīdu un **4** saistībā. Mononukleotīdā **GMF** augstākā intensitāte ir H4' protonu signālam. Mononukleotīdam **AMF** visintensīvākie signāli ir reģistrēti H4' un H5' protoniem. **CMF** un **UMF** mononukleotīdiem maksimālā intensitāte novērota H3', H4' un H5' protoniem, norādot spēcīgāku saistīšanos ar 1,4-DHP atvasinājumiem. Neskatoties uz minētajām atšķirībām mononukleotīdu saistīšanas spēja ar **4b** samazinās tādā pat rindā (**CMF** → **UMF** → **AMF** → **GMF**) un atbilst T_{1ρ} KMR eksperimentu rezultātiem.

Kompleksu veidošanas process sastāv no divām daļām – 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** saistīšanā 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 ceterjonisko 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**.

3. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

3.1. Reaģenti

Pētītie 1,4-dihidropiridīna atvasinājumi sintezēti Latvijas Organiskās sintēzes institūta Membrānaktīvo savienojumu un β -diketonu laboratorijā. RNS 5'-mononukleotīdi iegādāti no *Flourochem*, fosfolipīds (DPPC) iegādāts no *Avanti Polar Lipids*.

Deiterēti šķīdinātāji iegādāti no EURISO TOP.

Pārējie reaģenti iegādāti no *Acros*, *Merck*, *Fluka*, *Alfa-Aesar*, *Apollo Scientific*, un *Sigma-Aldrich* un lietoti bez attīrīšanas.

3.2. Fizikāli-ķīmiskās metodes

3.2.1. KMR spektroskopija

Kodolu magnētiskās rezonanses ^1H , ^{13}C , vien- un daudzkodolu korelācijas spektri (^1H - ^{15}N HSQC, ^1H - ^{15}N HMBC, ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^1H NOESY; ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC, ^1H - ^{13}C HMQC un citi) ir uzņemti ar 600 MHz Varian Unity Inova spektrometru, kas aprīkots ar kriozondi, 400 MHz Varian 400-MR, 400 MHz Varian Mercury un 800 MHz Bruker Avance III HD spektrometriem.

KMR dati analizēti ar VNMRj (Varian/Agilent), Topspin (Bruker) un MestRenova (Mestrelab research) programmatūru.

3.2.2. Infrasarkanā Furjē spektroskopija

Infrasarkanie spektri tika iegūti ar Shimadzu IR Prestige 21 FTIR spektrometru, izmantojot plānās plēves metodi uz kalcija fluorīda logiem.

3.2.3. Izotermāla titrēšanas kalorimetrija

Izotermālās titrēšanas kalorimetrijas (ITK) dati iegūti ar MicroCal™ iTC200 (GE Healthcare Life Sciences; Malvern) iekārtu.

ITK titrēšanas dati apstrādāti ar standarta Origin™ 7 programmatūru izmantojot formulu, nelineārai līknei vienai saistīšanās vietai [326].

KVK noteikšanas un ITK titrēšanas līknes apstrādātas un tuvinātas ar Microsoft Office Excel pievienojumprogrammu Solver (Risinātājs).

3.3. Aprēķini

3.3.1. Kvantu ķīmiskie aprēķini

Kvantu ķīmiskajiem aprēķiniem izmantota sekojoša programmatūra:

- *Firefly (7.1.G)* programmatūras pakotne [251]
- *Jaguar 8.0* programmatūras pakotne [247]
- *Gaussian 09 (D.01.)* programmatūras pakotne [285]

Visi darbā veiktie aprēķinu rezultāti tika salīdzināti ar eksperimentālajiem datiem, lai novērtētu to precizitāti. Visiem aprēķinu rezultātiem bija panākta sakritība starp aprēķinu un

eksperimentālajiem datiem, tāpēc var secināt, ka izvēlētās metodikas ir piemērotas konkrētās problēmas risināšanai.

3.3.2. LogP aprēķini

LogP (vielas sadalījuma koeficients sistēmā – *n*-oktanols/ūdens) vērtības prognozētas ar Schrödinger pievienojumprogrammu QikProp [327].

3.4. Eksperimentu apraksti

3.4.1. KMR 1,4-DHP bromēšanas eksperimenti

Visi spektri reģistrēti 5mm KMR stobriņos, kontrolētā temperatūrā, rotācijas ātrums 1D KMR eksperimentos ir 20 Hz. Protonu KMR reakcijas pētījumos pauze starp uzkrājumiem ir 1 sekunde, brīvās indukcijas dzišanas (free induction decay, FID) signāla uzkrājuma laiks ir 3,81 sekunde, katram spektram uzkrājuma skaits ir 4 un pauze starp spektriem ir 20 sekundes. Kā šķīdinātājs izmantots deiterētais metanols (izņemot gadījumus, kad izmantots deiterētā/protonētā metanolu maisījums), viens ekvivalents atbilst koncentrācijai 60–61 mM, katru reizi NBS ar **1a** nosvērti kopā lai iegūtu precīzāku koncentrāciju attiecību (**1a** svars ir ~13 mg, NBS viens ekvivalents ~6,5 mg, metanola tilpums 0,8 ml). Vispirms divās pudelītēs tiek iesvērti atsevišķi NBS un 1,4-DHP atvasinājums **1a**, sākumā metanolā tiek izšķīdināts 1,4-DHP atvasinājums, pēc tam tā šķīdumu pārlej NBS pudelītē un uzreiz pēc samaisīšanas šķīdumu pārnes KMR ampulā. KMR spektri reģistrēti uz 600 MHz Varian Unity Inova, 400 MHz Varian 400-MR un 400 MHz Varian Mercury spektrometriem. Visas ¹H, ¹³C un ¹⁵N signālu nobīdes savienojumiem **1a**, **SP1**, **SP2**, **SP2'**, **2a'** un **2a** ir apkopotas tabulā 1. pielikumā.

3.4.2. 1,4-DHP atvasinājumu bromēšanas reakcijas kvantu ķīmiskie aprēķini

Lai aprēķinātu enerģijas starpību katram reakcijas solim, visiem savienojumiem veikta optimizācija ar Jaguar 8.0 programmatūras pakotni [247]. Aprēķini veikti teorētiskajā līmenī HF/LACV3P**++ ar šķīdinātāja enerģijas korekciju pēc optimizācijas (šķīdinātājs – metanols). Atomu koordinātes optimizētajām molekulām atrodas 2. pielikumā. HF (*Hartree-Fock*) metode relatīvi ātri dod precīzu konformēru ģeometrijas novērtējumu. Lai aprēķinātu konformēru enerģiju ar maksimālu precizitāti, pēc optimizācijas veikta šķīdinātāja efekta enerģijas korekcija. Papildus aprēķini frekvenču analīzei netika veikti, jo šajā pētījumā bija svarīgi aprēķināt molekulas enerģiju, kas būs minimāli atšķirīga no globālā minimuma, jo ģeometrijas optimizācija veikta bez kādiem ierobežojumiem. Galvenokārt ģeometriju aprēķiniem tika izmantota Jaguar programmatūra, kas ērtu un ātri nodrošina vairāku ģeometriju analīzi.

3.4.3. Kvantu ķīmiskie aprēķini 1,4-DHP atvasinājumiem **2b**, **2f**, **3b**, **3f** un **4b**

Kvantu ķīmiskie aprēķini veikti ar *Firefly (7.1.G)* programmatūras pakotni [251] DFT/RHF B3LYP/6-31G++** teorētiskajā līmenī, bet savienojumam **4b**, lai paātrinātu aprēķinus, teorētiskais līmenis samazināts līdz 6-31G+* bāzei. Lai paātrinātu aprēķinus, broms atomu vietā izmantoti hlora atomi. Atomu koordinātes optimizētajām molekulām atrodas 3. pielikumā. Uzdevums bija noskaidrot optimālas ģeometrijas, lai izpēfītu ¹H KMR spektru signālu magnētisko neekvivalenci, tāpēc frekvenču analīze netika veikta, jo, izmantojot izvēlēto

programmu un metodi, lokālie minimumi būs pietiekamu tuvi globālajam minimumam, jo ģeometrijas optimizācija veikta bez kādiem ierobežojumiem.

3.4.4. Temperatūras KMR eksperimenti 1,4-DHP atvasinājumu pētījumos

KMR eksperimenti veikti temperatūras diapazonā no -65 līdz $+58$ °C, izmantojot „FTS systems” (modelis TC-84) gaisa plūsmas temperatūras regulētāju ar AirJet dzesētāju. Visos eksperimentos pēc vajadzīgās temperatūras sasniegšanas to stabilizēja vismaz 10 minūtes. KMR spektri reģistrēti uz 400 MHz Varian Mercury spektrometra.

3.4.5. Kvantu ķīmiskie aprēķini 1,4-DHP 2b un 2f atvasinājumu konformēru noteikšanai

Visiem konformeriem veikta optimizācija, izmantojot Jaguar 8.0 programmatūras pakotni [247] teorētiskajā līmenī DFT B3LYP/6-31G*, divplakņu kakta leņķus $C_2-C_3-C=O$ un $C_3-C_2-CH_2-X$ mainot ar soli 10 leņķiskie grādi, bet visiem pārējiem atomiem ģeometrijas optimizācija veikta bez kādiem ierobežojumiem. Lai paātrinātu aprēķinus, broma atomu vietā izmantoti hlora atomi. Atomu koordinātes optimizētajām molekulām (lokāliem minimumiem) atrodas 4. pielikumā. Lai aprēķināt $2 \times 36 \times 36 = 2592$ konformērus tika izmantota Jaguar programmatūra, jo tās grafiskā lietotāja saskarne dod iespēju ērti darboties ar šo uzdevumu.

3.4.6. Temperatūras mērījumi 1,4-DHP 1, 5 un 6 atvasinājumu KMR pētījumos

KMR eksperimenti veikti temperatūras diapazonā no -50 līdz $+50$ °C uz 400 MHz Varian Mercury spektrometra, kas aprīkots ar „FTS systems” (modelis TC-84) gaisa plūsmas temperatūras regulētāju ar AirJet dzesētāju. Pēc vajadzīgās temperatūras sasniegšanas visos eksperimentos, to stabilizēja vismaz 10 minūtes.

Visi pārējie KMR eksperimenti veikti pie 25 °C uz 600 MHz Varian Unity Inova, 400 MHz Varian 400-MR un 400 MHz Varian Mercury spektrometriem.

3.4.7. Infrasarkanās Furjē spektroskopijas mērījumi 1,4-DHP 1, 5 un 6 atvasinājumiem

Paraugi tika sagatavoti saskaņā ar procedūru: 5-15 mg parauga bija izšķīdināti nelielā hloroforma daudzumā (20-50 μ l), un šķidrums tika uzklāts uz kalcija fluorīda loga. Pēc hloroforma iztvaikošanas iegūtās plēves tika analizētas ar infrasarkanā spektrometra palīdzību.

FTIR spektri tika uzņemti caurejošās gaismas režīmā, reģistrēšanas diapazons: $1300-4000$ cm^{-1} , izšķirtspēja: 1 cm^{-1} , skenēšanu skaits: 10. Mērījumus atkārtoja 3 reizes. Vispirms bija uzņemts fona spektrs, ar tīro kalcija fluorīda logu.

3.4.8. Kvantu ķīmiskie aprēķini 1,4-DHP atvasinājumu iekšmolekulārās ūdeņraža saites izpētei

Aprēķini veikti, izmantojot *Gaussian 09 (D.01.)* programmu paketi [285] teorētiskajā līmenī DFT B3LYP/6-311G++(d,p) ar GD3BJ (*D3 version of Grimme's dispersion with Becke-Johnson damping*) dispersijas korekciju [328]. Izmantojot polarizējamu kontinuumu modeli (*polarizable continuum model, PCM*), ņemti vērā šķīdināšanas efekti (hloroforms). Visiem konformēriem ir veikta frekvenču analīze, lai pārlicinātos, ka stacionārie punkti nesatur imagināras frekvences (*imaginary frequencies*). Ģeometrijas optimizācija veikta bez kādiem

ierobežojumiem. Aprēķinu izejas dati pieejami online Dryad datu glabātuvē (<http://dx.doi.org/10.5061/dryad.j3m73>).

3.4.9. Katjonu amfifilo lipīdiem līdzīgo 1,4-DHP atvasinājumu paraugu sagatavošana KMR un ITK eksperimentiem

Noteikti savienojumu iesvari izšķīdināti smagajā ūdenī (KMR eksperimentiem) vai dejonizētā ūdenī, kas iegūts ar Milli-Qs Water Purification System (ITK eksperimentiem).

1,4-DHP paraugi apstrādāti ar ultraskaņu, izmantojot Cole Parmer ultraskaņas procesoru CPX130 ar jaudu 30%. Darba režīma cikla kopējais ilgums 10 minūtes: sonifikācijas intervāls 15 sekundes un intervāls bez sonifikācijas (pauze) 15 sekundes KMR pētījumiem. ITK eksperimentiem darba režīma cikls ilga 5 minūtes: intervāli – 5 sekundes sonifikācija un 5 sekundes pauze.

3.4.10. KMR eksperimenti 1,4-DHP atvasinājumu un mononukleotīdu saistīšanās pētījumos

Visi KMR eksperimenti veikti 25 °C temperatūrā uz 400 MHz Varian 400-MR un 400 MHz Varian Mercury spektrometriem. KMR spektri uzņemtu tūlīt pēc vielu šķīdumu samaisīšanas.

KMR titrēšanas eksperimentos 1,4-DHP atvasinājumu un mononukleotīdu saistīšanās izpētei, mononukleotīdu koncentrācija variējās no 0,70 līdz 0,90 mM, 1,4-DHP koncentrācija variējās no 0 μM līdz koncentrācijai kad 1,4-DHP koncentrācija trīs reizes pārsniedz mononukleotīdu koncentrāciju (3 mM). Piesātinājuma pārneses dubultstarpības (PPDS) un T_{1ρ} eksperimentos 1,4-DHP atvasinājumu koncentrācija bija ~0,16-0,17 mM bet mononukleotīdu – ap. 1,85 mM.

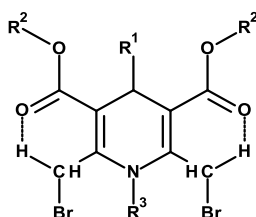
3.4.11. ITK eksperimenti 1,4-DHP atvasinājumu saistīšanās ar mononukleotīdiem noteikšanai, un 1,4-DHP atvasinājumu pašagregācijas pētījumi

ITK eksperimenti veikti 25 °C temperatūrā un ar maisīšanās ātrumu 750 apgriezieni minūtē, izmantojot izotermālās titrēšanas kalorimetru MicroCal™ iTC200. Eksperimentos pirmās injekcijas tilpums bija 0,2 μl. 1,4-DHP atvasinājumu un mononukleotīdu saistīšanās eksperimentos visu atlikušo 39 injekciju tilpums bija 1 μl. 1,4-DHP atvasinājumu kritiskās vezikulu koncentrācijas noteikšanai injekcijas tilpums variējas no 1 līdz 1,5 μl.

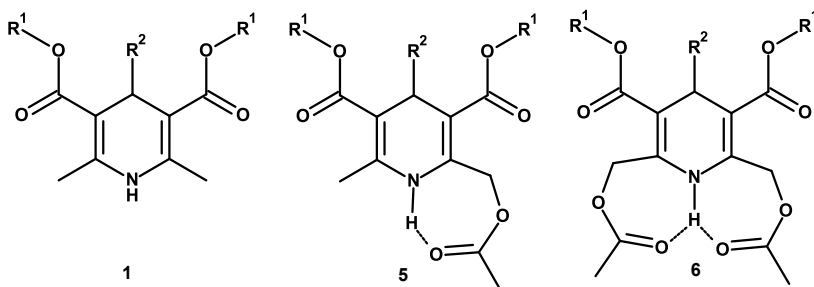
1,4-DHP atvasinājumu un mononukleotīdu saistīšanās eksperimentos titrēšanās šļircē (1,4-DHP atvasinājumi) koncentrācija variējas no 3 līdz 4 mM, bet titrēšanās šūniņā (mononukleotīdi) – no 0,1 līdz 0,3 mM. Kritiskās vezikulu koncentrācijas noteikšanai 1,4-DHP atvasinājumu koncentrācija titrēšanās šļircē variējas no 0,10 līdz 0,20 mM.

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 $|\text{C-H}|\cdots\text{O}$ 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. pozīciju metilēngrupu protonu KMR signālu netipisko temperatūras atkarību 1,4-dihidropiridīna spektrā izraisa divi konformacionāli procesi – aizvietotāju rotācija ap $\text{C}_{2,6}\text{-CH}_2$ un $\text{C}_{3,5}\text{-CO}_2$ saitēm.
4. Analizējot ^1H , ^{13}C , ^{15}N KMR un IS spektrālos datus un kvantu ķīmisko aprēķinu rezultātus, apstiprināts, ka 2-, 6-acetoksimetil-1,4-dihidropiridīn-3,5-dikarboksilāti veido $|\text{N-H}|\cdots\text{O}$ un $|\text{C-H}|\cdots\text{O}$ tipa iekšmolekulārās ūdeņraža saites, tā definējot optimālo molekulu struktūru.

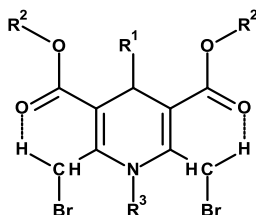


5. Pamatojoties uz kvantu ķīmisko aprēķinu un KMR spektroskopijas rezultātiem, pierādīts, ka acetoksimetil-1,4-DHP atvasinājumos veidojas iekšmolekulāra ūdeņraža saite. Monoaizvietotajos 2-acetoksimetil-1,4-DHP atvasinājumos, N_1H protons ar alkoksigrupas skābekli veido pieclocēkļu H-helāta ciklu, bet diaizvietotajos 2,6-diacetoksimetil-1,4-DHP atvasinājumos izdevīgāka ir divu septiņlocēkļu H-helāta ciklu veidošanās, ko N_1H veido ar 2. un 6. aizvietotāju karboksilgrupu karbonilgrupas skābekli.

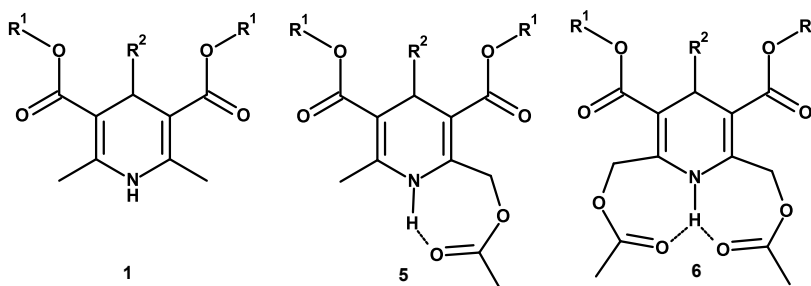
6. Parādīts, ka KMR spektros N_1H protonu signālu nobīde uz vājākiem laukiem, ko pavada ^{15}N signālu nobīde uz stiprākiem laukiem un $^1J(^{15}N, ^1H)$ vērtību pieaugums pētīto 1,4-dihidropiridīnu rindā **1**→**5**→**6** norāda uz $|N-H|$ attāluma samazināšanos, ja veidojas ūdeņraža saite. To apstiprina arī $|N-H|$ saites 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.

CONCLUSIONS

1. A study of the reaction course for the bromination of 2- and 6-methyl groups of 1,4-dihydropyridine derivative with various amounts of *N*-bromosuccinimide in methanol revealed previously unknown intermediates, the structures of which were identified by NMR spectroscopy. The proposed mechanisms of the reactions have been proven on the base of NMR data and quantum chemical calculations.
2. Analysis of the structural features of the 1,4-dihydropyridine derivatives affecting the magnetic nonequivalence of the diastereotopic protons of the methylene groups at positions 2 and 6 has shown that the combined effect of magnetically anisotropic substituents and intramolecular |C-H| \cdots O hydrogen bonds in the individual conformers leads to a considerable difference in the shielding of the methylene AB-protons.



3. It has been proven that the unusual temperature dependence of the NMR signals of diastereotopic 1,4-DHP methylene group protons of positions 2 and 6 in the 1,4-dihydropyridine spectrum is caused by two conformational processes – rotation of the substituent around C_{2,6}-CH₂ and C_{3,5}-CO₂ bonds.
4. Based on the analysis of ¹H, ¹³C, ¹⁵N NMR and IR spectral data and the results of quantum chemical calculations, it can be concluded that 2- and 2,6-acetoxymethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylates form [N-H] \cdots O and |C-H| \cdots O intermolecular hydrogen bonds, defining the optimal molecular structure.



5. On the basis of quantum chemical calculations and the results of NMR spectroscopy, it has been shown that an intermolecular hydrogen bond is formed in the acetoxymethyl-1,4-DHP derivatives. In monosubstituted 2-acetoxymethyl-1,4-DHP derivatives, the N₁H proton forms a five-membered H-chelate cycle with the alkoxy group oxygen, while in disubstituted 2,6-diacetoxy-methyl-1,4-DHP derivatives, the

- formation of two seven-membered H-chelate cycles is more favourable, that the N₁H proton forms with the oxygens of the carboxyl groups of the 2- and 6- substituents of the 1,4-DHP cycle.
6. It has been shown that in the studied 1,4-dihydropyridine derivatives the downfield shift of the N₁H proton in the NMR spectra, accompanied by the upfield shift of the ¹⁵N signal and the increase of the coupling constant ¹J(¹⁵N,¹H) values in the order **1**→**5**→**6**, indicates a decrease in the |N-H| distance if the hydrogen bond is formed. This is also confirmed by the shift of the |N-H| bond stretching band to the higher wavenumbers (blue shift) in the **1**, **5** and **6** FTIR spectra.
 7. Using NMR and isothermal titration calorimetry (ITC) methods, it is possible to study the ability of the lipid-like 1,4-DHP derivatives to form complexes with 5'-mononucleotide monophosphates and to determine the dissociation constants (K_D) of the vesicle complexes formed.
 8. Evaluation of the data obtained from ITC and NMR spectroscopy has resulted in conclusion that the binding processes between the mononucleotides and the cationic 1,4-DHP derivatives is dominated by entropic interactions.

LITERĀTURAS SARAKSTS

1. 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.
2. Triggler, D. J. 1,4-Dihydropyridines as calcium channel ligands and privileged structures. *Cell. Mol. Neurobiol.* **2003**, *23*, 293–303, doi:10.1023/A:1023632419813.
3. 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.
4. Ghanta, M. R.; Mehendra, S.; Akula, K. C. Chemical and Pharmacological Significance of 1,4-Dihydropyridines. *Curr. Org. Chem.* **2007**, *11*, 847–852, doi:10.2174/138527207781024058.
5. WHO model list of essential medicines - 22nd list, 2021 Available online: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MHP-HPS-EML-2021.02>.
6. 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.
7. Kastron, V. V.; Vitolin', R. O.; Dubur, G. Y. Synthesis and pharmacological activity of 1,4-dihydropyridines (review). *Pharm. Chem. J.* **1990**, *24*, 394–403, doi:10.1007/BF00765785.
8. 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 para-hydroxy[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.
9. 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.
10. 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.
11. Díaz-Araya, G.; Godoy, L.; Naranjo, L.; Squella, A.; Letelier, M. E.; Núñez-Vergara, L. J. Antioxidant Effects of 1,4-Dihydropyridine and Nitroso Aryl Derivatives on the Fe+3/Ascorbate-Stimulated Lipid Peroxidation in Rat Brain Slices. *Gen. Pharmacol. Vasc. Syst.* **1998**, *31*, 385–391, doi:10.1016/S0306-3623(98)00034-2.
12. Vijesh, A. M.; Isloor, A. M.; Peethambar, S. K.; Shivananda, K. N.; Arulmoli, T.; Isloor, N. A. Hantzsch reaction: Synthesis and characterization of some new 1,4-dihydropyridine derivatives as potent antimicrobial and antioxidant agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5591–5597, doi:10.1016/j.ejmech.2011.09.026.
13. Velena, A.; Zarkovic, N.; Gall Troselj, K.; Bisenieks, E.; Krauze, A.; Poikans, J.; Duburs, G. 1,4-Dihydropyridine Derivatives: Dihydronicotinamide Analogues—Model Compounds Targeting Oxidative Stress. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2016**, *2016*, 1–35, doi:10.1155/2016/1892412.
14. 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.
15. Plotnietse, M.; Tirzitis, G.; Uldrikis, Y.; Koronova, Z.; Tirzite, D.; Makarova, N.; Duburs, G. Synthesis of 1,4-dihydropyridine derivatives having an oxy-, alkoxy-, or dimethylaminophenyl substituent in the 4 position, their antioxidant activity, and their binding to phospholipid membranes. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1996**, *32*, 1166–1172, doi:10.1007/BF01169228.
 16. Tirzite, D. Y. Y.; Khyuvonen, Z. V. V.; Shimidlers, A. G.; Tirzitis, G. D.; Duburs, G. Y. Y. Synthesis and study of the antiradical and antioxidant activity of foridon analogs. *Pharm. Chem. J.* **2000**, *34*, 297–300, doi:10.1007/BF02524407.
 17. 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.
 18. Kiue, A.; Sano, T.; Suzuki, K.; Inada, H.; Okumura, M.; Kikuchi, J.; Sato, S.; Kohno, K.; Kuwano, M. Activities of newly synthesized dihydropyridines in overcoming of vincristine resistance, calcium antagonism, and inhibition of photoaffinity labeling of P-glycoprotein in rodents. *Cancer Res.* **1990**, *50*, 310–317.
 19. Sirisha, K.; Achaiah, G.; Reddy, V. M. Facile Synthesis and Antibacterial, Antitubercular, and Anticancer Activities of Novel 1,4-Dihydropyridines. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **2010**, *343*, 342–352, doi:10.1002/ardp.200900243.
 20. 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.
 21. Sabitha, G.; Reddy, G. S. K. K.; Reddy, C. S.; Yadav, J. S. A novel TMSI-mediated synthesis of Hantzsch 1,4-dihydropyridines at ambient temperature. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4129–4131, doi:10.1016/S0040-4039(03)00813-X.
 22. 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.
 23. Kumar, S.; Idhayadhulla, A.; Nasser, A.; Selvin, J. Synthesis and antimicrobial activity of a new series 1,4-dihydropyridine derivatives. *J. Serbian Chem. Soc.* **2011**, *76*, 1–11, doi:10.2298/JSC091127003K.
 24. 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.
 25. 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.
 26. 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.
 27. Li, A.-H.; Chang, L.; Ji, X.; Melman, N.; Jacobson, K. A. Functionalized Congeners of 1,4-Dihydropyridines as Antagonist Molecular Probes for A₃ Adenosine Receptors.

- Bioconjug. Chem.* **1999**, *10*, 667–677, doi:10.1021/bc9900136.
28. 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.
 29. Tasaka, S.; Ohmori, H.; Gomi, N.; Iino, M.; Machida, T.; Kiue, A.; Naito, S.; Kuwano, M. Synthesis and structure–activity analysis of novel dihydropyridine derivatives to overcome multidrug resistance. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 275–277, doi:10.1016/S0960-894X(00)00651-X.
 30. Edraki, N.; Mehdipour, A. R.; Khoshneviszadeh, M.; Miri, R. Dihydropyridines: evaluation of their current and future pharmacological applications. *Drug Discov. Today* **2009**, *14*, 1058–1066, doi:10.1016/j.drudis.2009.08.004.
 31. Swarnalatha, G.; Prasanthi, G. 1,4-Dihydropyridines: A Multifunctional Molecule-A Review. *Int. J. ChemTech Res.* **2011**, *3*, 75–89.
 32. Khedkar, S.; Auti, P. 1, 4-Dihydropyridines: A Class of Pharmacologically Important Molecules. *Mini-Reviews Med. Chem.* **2014**, *14*, 282–290, doi:10.2174/1389557513666131119204126.
 33. Klusa, V. Atypical 1,4-dihydropyridine derivatives, an approach to neuroprotection and memory enhancement. *Pharmacol. Res.* **2016**, *113*, 754–759, doi:10.1016/j.phrs.2016.05.017.
 34. Hyvönen, Z.; Rönkkö, S.; Toppinen, M. R.; Jääskeläinen, I.; Plotniece, A.; Urtili, A. Dioleoyl phosphatidylethanolamine and PEG-lipid conjugates modify DNA delivery mediated by 1,4-dihydropyridine amphiphiles. *J. Control. Release* **2004**, *99*, 177–190, doi:10.1016/j.jconrel.2004.06.019.
 35. 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.
 36. Zhi, D.; Zhang, S.; Wang, B.; Zhao, Y.; Yang, B.; Yu, S. Transfection Efficiency of Cationic Lipids with Different Hydrophobic Domains in Gene Delivery. *Bioconjug. Chem.* **2010**, *21*, 563–577, doi:10.1021/bc900393r.
 37. 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.
 38. Hantzsch, A. Ueber die Synthese pyridinartiger Verbindungen aus Acetessigäther und Aldehydammoniak. *Justus Liebig's Ann. der Chemie* **1882**, *215*, 1–82, doi:10.1002/jlac.18822150102.
 39. Vereshchagin, L. I.; Kotlyarevskii, I. L. ADVANCES IN THE SYNTHESIS OF ALKYL PYRIDINES. *Russ. Chem. Rev.* **1961**, *30*, 426–440, doi:10.1070/RC1961v030n08ABEH002994.
 40. Bossert, F.; Vater, W. 1,4-Dihydropyridines—a basis for developing new drugs. *Med. Res. Rev.* **1989**, *9*, 291–324, doi:10.1002/med.2610090304.
 41. Stout, D. M.; Meyers, A. I. Recent advances in the chemistry of dihydropyridines. *Chem. Rev.* **1982**, *82*, 223–243, doi:10.1021/cr00048a004.
 42. Sausins, A. E.; Duburs, G. Synthesis of 1,4-dihydropyridines in cyclocondensation reactions (review). *Chem. Heterocycl. Compd.* **1992**, *28*, 363–391, doi:10.1007/BF00766993.
 43. Pajuste, K.; Plotniece, A. Ionic liquids, metal oxide nanoparticles, and enzymes in synthesis of 1,4-dihydropyridines (microreview). *Chem. Heterocycl. Compd.* **2016**, *52*,

- 538–540, doi:10.1007/s10593-016-1926-3.
44. Safak, C.; Simsek, R. Fused 1,4-Dihydropyridines as Potential Calcium Modulatory Compounds. *Mini-Reviews Med. Chem.* **2006**, *6*, 747–755, doi:10.2174/138955706777698606.
 45. Ozer, E. K.; Gunduz, M. G.; El-Khouly, A.; Sara, Y.; Simsek, R.; Iskit, A. B.; Safak, C. Synthesis of fused 1,4-dihydropyridines as potential calcium channel blockers. *Turkish J. Biochem.* **2018**, *43*, 578–586, doi:10.1515/tjb-2016-0247.
 46. Vanaerschot, M.; Lucantoni, L.; Li, T.; Combrinck, J. M.; Ruecker, A.; Kumar, T. R. S.; Rubiano, K.; Ferreira, P. E.; Siciliano, G.; Gulati, S.; Henrich, P. P.; Ng, C. L.; Murithi, J. M.; Corey, V. C.; Duffy, S.; Lieberman, O. J.; Veiga, M. I.; Sinden, R. E.; Alano, P.; Delves, M. J.; Lee Sim, K.; Winzeler, E. A.; Egan, T. J.; Hoffman, S. L.; Avery, V. M.; Fidock, D. A. Hexahydroquinolines are antimalarial candidates with potent blood-stage and transmission-blocking activity. *Nat. Microbiol.* **2017**, *2*, 1403–1414, doi:10.1038/s41564-017-0007-4.
 47. Khazaei, A.; Zolfigol, M. A.; Moosavi-Zare, A. R.; Afsar, J.; Zare, A.; Khakyzadeh, V.; Beyzavi, M. H. Synthesis of hexahydroquinolines using the new ionic liquid sulfonic acid functionalized pyridinium chloride as a catalyst. *Chinese J. Catal.* **2013**, *34*, 1936–1944, doi:10.1016/S1872-2067(12)60678-0.
 48. 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.
 49. 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.
 50. 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.
 51. Ebiike, H.; Achiwa, K. Lipase-catalyzed asymmetric hydrolysis and regioselective bromination of 1,4-dihydropyridine. Synthesis of (R)-(-)-nilvadipine. *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5*, 1447–1450, doi:10.1016/0957-4166(94)80108-8.
 52. Moshtaghi, Z. A.; Raisossadat, O. M.; Sadeghi, S. Q. Synthesis of novel unsymmetrically substituted 1,4-dihydropyridines and separation of the enantiomers of racemic 1,4-dihydropyridine containing isothioureido group. *Arkivoc* **2006**, *2006*, 15, doi:10.3998/ark.5550190.0007.e03.
 53. Skrastin'sh, I. P.; Dubur, G. Y. Some substitution and heterocyclization reactions based on 1,4-dihydropyridines. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1992**, *28*, 648–657, doi:10.1007/BF00529335.
 54. Rucins, M.; Pajuste, K.; Sobolev, A.; Plotniece, M.; Pikun, N.; Pajuste, K.; Plotniece, A. Data for the synthesis and characterisation of 2,6-di(bromomethyl)-3,5-bis(alkoxycarbonyl)-4-aryl-1,4-dihydropyridines as important intermediates for synthesis of amphiphilic 1,4-dihydropyridines. *Data Br.* **2020**, *30*, 105532, doi:10.1016/j.dib.2020.105532.
 55. 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.
 56. Chekavichus, B. S.; Sausin'sh, A. E.; Skrastin'sh, I. P.; Dubur, G. Y. Bromination of 1-substituted-3,5-dicarbalkoxy-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridines. *Chem. Heterocycl.*

- Compd.* **1989**, *25*, 1193–1194, doi:10.1007/BF00470706.
57. Ebike, H.; Maruyama, K.; Ozawa, Y.; Yamazaki, Y.; Achiwa, K. Asymmetric Synthesis of (R)-Nilvadipine and (S)-NB 818 via Regioselective Bromination of Chiral 1,4-Dihydropyridines as a Key Step and Enzymatic Resolution of Racemic 2-Hydroxymethyl-1,4-dihydropyridine Derivatives. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. **1997**, *45*, 869–876, doi:10.1248/cpb.45.869.
 58. Mirzaei, Y. R.; Zenouz, A. M. Selective mono bromination of 1,4-dihydropyridines. *Iran. J. Chem. Chem. Eng.* **1997**, *16*, 29–32.
 59. Hankovszky, O. H.; Sár, C. P.; Hideg, K.; Jerkovich, G. Synthesis of Spin-Labelled 1,4-Dihydropyridines and Pyridines. *Synthesis (Stuttg)*. **1991**, *1991*, 91–97, doi:10.1055/s-1991-26389.
 60. Kastron, V. V.; Kats, A. M.; Dubur, G. Y.; Zolotoyabko, R. M. Substitution reactions involving the 2,6-methyl groups of 1,4-dihydropyridines. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1978**, *14*, 1236–1240, doi:10.1007/BF00509744.
 61. Kats, A. M.; Kastron, V. V.; Dubur, G. Y. Bromination of 4,4-disubstituted 1,4-dihydropyridines. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1977**, *13*, 450–450, doi:10.1007/BF00482799.
 62. Sircar, I.; Anderson, K. R.; Bonadies, L. An improved and efficient synthesis of 2-substituted 1,4-dihydropyridine derivatives via regiospecific bromination. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 6835–6838, doi:10.1016/S0040-4039(00)88453-1.
 63. *March's Advanced Organic Chemistry*; Smith, M. B., March, J., Eds.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2006; ISBN 9780470084960.
 64. *The Investigation of Organic Reactions and Their Mechanisms*; Maskill, H., Ed.; Blackwell Publishing Ltd: Oxford, UK, 2006; ISBN 9780470988671.
 65. Murray, J. I.; Silva Elipe, M. V.; Cosbie, A.; Baucom, K.; Quasdorf, K.; Caille, S. Kinetic Investigations To Enable Development of a Robust Radical Benzylic Bromination for Commercial Manufacturing of AMG 423 Dihydrochloride Hydrate. *Org. Process Res. Dev.* **2020**, *24*, 1523–1530, doi:10.1021/acs.oprd.0c00256.
 66. Susanne, F.; Smith, D. S.; Codina, A. Kinetic Understanding Using NMR Reaction Profiling. *Org. Process Res. Dev.* **2012**, *16*, 61–64, doi:10.1021/op200202k.
 67. Schubert, E.; Hett, T.; Schiemann, O.; NejatyJahromy, Y. EPR studies on the kinetics of the α -hydroxyethyl radical generated by Fenton-like chemistry. *J. Magn. Reson.* **2016**, *265*, 10–15, doi:10.1016/j.jmr.2016.01.003.
 68. Yang, D. B. Kinetic studies of photopolymerization using real time FT-IR spectroscopy. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **1993**, *31*, 199–208, doi:10.1002/pola.1993.080310124.
 69. Mishanina, T. V.; Koehn, E. M.; Conrad, J. A.; Palfey, B. A.; Lesley, S. A.; Kohen, A. Trapping of an Intermediate in the Reaction Catalyzed by Flavin-Dependent Thymidylate Synthase. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 4442–4448, doi:10.1021/ja2120822.
 70. Tang, M.; Liang, Y.; Liu, J.; Bian, L.; Liu, Z. Mechanical Trapping of the Phlorin Intermediate. *CCS Chem.* **2022**, *4*, 3230–3237, doi:10.31635/ccschem.022.202101679.
 71. Boudreau, J.; Courtemanche, M.-A.; Marx, V. M.; Jean Burnell, D.; Fontaine, F.-G. Amphiphilic molecules for trapping reactive intermediates: interrupted Nazarov reaction of allenyl vinyl ketones with Me₂PCH₂AlMe₂. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 11250, doi:10.1039/c2cc35257e.
 72. BUNNETT, J. F.; RAUHUT, M. M. The von Richter Reaction. V. Evidence that Benzonitrile and Benzamide Derivatives are not Intermediates. The Mechanism of the Reaction 1,2. *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 944–948, doi:10.1021/jo01115a006.
 73. Maitra, U.; Chandrasekhar, J. Use of isotopes for studying reaction mechanisms.

- Resonance* **1997**, *2*, 23–28, doi:10.1007/BF02838012.
74. Kim, E. S.; Yaylayan, V. Identification of the Maillard reaction intermediates as divalent iron complexes in alanine/glucose/FeCl₂ model system using ESI/qTOF/MS/MS and isotope labelling technique. *Curr. Res. Food Sci.* **2021**, *4*, 287–294, doi:10.1016/j.crfs.2021.04.003.
 75. Mehara, J.; Roithová, J. Identifying reactive intermediates by mass spectrometry. *Chem. Sci.* **2020**, *11*, 11960–11972, doi:10.1039/D0SC04754F.
 76. Hu, X.; Li, H.; Liang, W. Reaction Mechanism of Uracil Bromination by HBrO: A New Way To Generate the Enol–Keto Form of 5-Bromouracil. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 11188–11193, doi:10.1021/jp062935t.
 77. Tee, O. S.; Berks, C. G. Mechanisms of bromination of uracil derivatives. 5. Reaction of uracil and 5-bromouracil via their anions in weakly acidic aqueous solution. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 830–835, doi:10.1021/jo01293a014.
 78. Tee, O. S.; Kornblatt, M. J.; Berks, C. G. Mechanisms of bromination of uracil derivatives. 6. Cytosine and N-substituted derivatives. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 1018–1023, doi:10.1021/jo00345a025.
 79. Taguchi, H.; Wang, S. Y. Bromination of cytosine derivatives. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 4385–4393, doi:10.1021/jo01338a029.
 80. Henderson, J. P.; Byun, J.; Mueller, D. M.; Heinecke, J. W. The Eosinophil Peroxidase-Hydrogen Peroxide-Bromide System of Human Eosinophils Generates 5-Bromouracil, a Mutagenic Thymine Analogue. *Biochemistry* **2001**, *40*, 2052–2059, doi:10.1021/bi002015f.
 81. Henderson, J. P.; Byun, J.; Mueller, D. M.; Heinecke, J. W. The Eosinophil Peroxidase-Hydrogen Peroxide-Bromide System of Human Eosinophils Generates 5-Bromouracil, a Mutagenic Thymine Analogue. *Biochemistry* **2001**, *40*, 2052–2059, doi:10.1021/bi002015f.
 82. Hu, R.; Zhang, C.; Qing, F.; Quan, H. Theoretical and experimental studies for preparing 1,1-dibromo-1,2,2,2-tetrafluoroethane on gas-phase bromination of 1,1,1,2-tetrafluoroethane. *J. Fluor. Chem.* **2016**, *185*, 91–95, doi:10.1016/j.jfluchem.2016.03.008.
 83. Singh, A. P.; Lee, K. M.; Kim, K.; Jun, T.; Churchill, D. G. Metal-Free Intermolecular C_{fur}-N_{succ} Bond Coupling of Highly Substituted 3-Furancarbaldehydes and Their Use in meso-Substituted BODIPY Synthesis. *European J. Org. Chem.* **2012**, *2012*, 931–939, doi:10.1002/ejoc.201101447.
 84. Dauben, H.; McCoy, L. Notes. N-Bromosuccinimide. II. Allylic Bromination of Tertiary Hydrogens. *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 1577–1579, doi:10.1021/jo01092a611.
 85. Shukla, V. K. S.; Sharma, J. P. Kinetics and mechanism of the bromination of crotonic acid by N-bromosuccinimide. *Monatshefte für Chemie* **1978**, *109*, 451–454, doi:10.1007/BF00906363.
 86. Koval', I. V. N-halo reagents. N-halosuccinimides in organic synthesis and in chemistry of natural compounds. *Russ. J. Org. Chem.* **2002**, *38*, 301–337, doi:10.1023/A:1016390721218.
 87. Das, B.; Venkateswarlu, K.; Mahender, G.; Mahender, I. A simple and efficient method for α -bromination of carbonyl compounds using N-bromosuccinimide in the presence of silica-supported sodium hydrogen sulfate as a heterogeneous catalyst. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 3041–3044, doi:10.1016/j.tetlet.2005.03.020.
 88. Ranganayakulu, K.; Brown, R. K. Hexenopyranose derivatives obtained by allylic bromination of 6,8-dioxabicyclo[3.2.1]oct-2-ene and 6,8-dioxabicyclo[3.2.1]oct-3-ene, and subsequent basic solvolysis of the product. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 3941–3943, doi:10.1021/jo00940a034.

89. John, A.; Nicholas, K. M. Palladium Catalyzed C–H Functionalization of O - Arylcarbamates: Selective ortho -Bromination Using NBS. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 5600–5605, doi:10.1021/jo300713h.
90. Duan, J.; Zhang, L. H.; Dolbier, Jr., W. R. A Convenient New Method for the Bromination of Deactivated Aromatic Compounds. *Synlett* **1999**, *1999*, 1245–1246, doi:10.1055/s-1999-2818.
91. Mohan, R. B.; Reddy, N. C. G. Regioselective α -Bromination of Aralkyl Ketones Using N-Bromosuccinimide in the Presence of Montmorillonite K-10 Clay: A Simple and Efficient Method. *Synth. Commun.* **2013**, *43*, 2603–2614, doi:10.1080/00397911.2012.725264.
92. Jadhao, A. R.; Gaikwad, S. S.; Patil, L. R.; Waghmode, S. B. Sonication-assisted one pot, metal-free synthesis of β -keto sulfones from styrenes, NBS and aromatic sodium sulfinate salts. *Chem. Pap.* **2021**, *75*, 4959–4968, doi:10.1007/s11696-021-01719-3.
93. Shinde, M. H.; Kshirsagar, U. A. One pot synthesis of substituted imidazopyridines and thiazoles from styrenes in water assisted by NBS. *Green Chem.* **2016**, *18*, 1455–1458, doi:10.1039/C5GC02771C.
94. Dauben, H. J.; McCoy, L. L. N-Bromosuccinimide. I. Allylic Bromination, a General Survey of Reaction Variables 1-3. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 4863–4873, doi:10.1021/ja01527a027.
95. Reed, S. F. Allylic Halogenation of α -Methylstyrene. Preparation of α -Chloromethylstyrene 1a. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 3258–3258, doi:10.1021/jo01020a539.
96. Walling, C.; Rieger, A. L.; Tanner, D. D. Positive Halogen Compounds. VIII. Structure and Reactivity in N-Bromosuccinimide Brominations. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3129–3134, doi:10.1021/ja00903a017.
97. Adhikari, M. V.; Samant, S. D. Sonochemical bromination of acetophenones using p-toluenesulfonic acid–N-bromosuccinimide. *Ultrason. Sonochem.* **2002**, *9*, 107–111, doi:10.1016/S1350-4177(01)00108-0.
98. Calò, V.; Lopez, L.; Pesce, G.; Ciminale, F.; Todesco, P. E. Solvent effect on the ortho : para ratio in the bromination of phenols. Bromination with bromocyclohexadienones and N-bromosuccinimide. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1974**, 1189–1191, doi:10.1039/P29740001189.
99. Srinivasan, C.; Chellamani, A. Kinetics and mechanism of bromination of anisole by N-bromosuccinimide. *React. Kinet. Catal. Lett.* **1982**, *18*, 187–191, doi:10.1007/BF02065161.
100. Heropoulos, G. A.; Cravotto, G.; Screttas, C. G.; Steele, B. R. Contrasting chemoselectivities in the ultrasound and microwave assisted bromination reactions of substituted alkylaromatics with N-bromosuccinimide. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 3247–3250, doi:10.1016/j.tetlet.2007.03.023.
101. Goswami, S.; Dey, S.; Jana, S.; Adak, A. K. Side Chain Bromination of Mono and Dimethyl Heteroaromatic and Aromatic Compounds by Solid Phase N - Bromosuccinimide Reaction without Radical Initiator under Microwave. *Chem. Lett.* **2004**, *33*, 916–917, doi:10.1246/cl.2004.916.
102. Adam, J.; Gosselain, P. A.; Goldfinger, P. Laws of Addition and Substitution in Atomic Reactions of Halogens. *Nature* **1953**, *171*, 704–705, doi:10.1038/171704b0.
103. Goldfinger, P.; Gosselain, P. A.; Martin, R. H. Induction Periods in Reactions of N-Halogenimides. *Nature* **1951**, *168*, 30–32, doi:10.1038/168030a0.
104. Sarma, J. A. R. P.; Nagaraju, A. Solid state nuclear bromination with N-bromosuccinimide. Part I. Experimental and theoretical studies on some substituted aniline, phenol and nitro aromatic compounds †. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2000**, 1113–1118, doi:10.1039/a905466i.

105. Sarma, J. A. R. P.; Nagaraju, A.; Majumdar, K. K.; Samuel, P. M.; Das, I.; Roy, S.; McGhie, A. J. Solid state nuclear bromination with N-bromosuccinimide. Part 2. Experimental and theoretical studies of reactions with some substituted benzaldehydes †. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2000**, 1119–1123, doi:10.1039/a905468e.
106. Shimizu, S.; Imamura, Y.; Ueki, T. Incompatibilities between N-Bromosuccinimide and Solvents. *Org. Process Res. Dev.* **2014**, *18*, 354–358, doi:10.1021/op400360k.
107. Offermann, W.; Vögtle, F. Brominations with N-Bromosuccinimide: Solvent and Selectivity. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1980**, *19*, 464–465, doi:10.1002/anie.198004641.
108. Georgiev, D.; Saes, B.; Johnston, H.; Boys, S.; Healy, A.; Hulme, A. Selective and Efficient Generation of ortho-Brominated para-Substituted Phenols in ACS-Grade Methanol. *Molecules* **2016**, *21*, 88, doi:10.3390/molecules21010088.
109. Ziaie, M.; Akbari Dilmaghani, K.; Tukmechi, A. Synthesis and Biological Evaluation of 1,2,4-Triazoles and 1,3,4-Oxadiazoles Derivatives Linked to 1,4-Dihydropyridines Scaffold. *Acta Chim. Slov.* **2017**, 895–901, doi:10.17344/acsi.2017.3506.
110. Mohan, R. B.; Reddy, G. T.; Gangi Reddy, N. C. Substrate Directed Regioselective Monobromination of Aralkyl Ketones Using N-Bromosuccinimide Catalysed by Active Aluminium Oxide: α -Bromination versus Ring Bromination. *ISRN Org. Chem.* **2014**, *2014*, 1–11, doi:10.1155/2014/751298.
111. Yang, D.; Yan, Y.-L.; Lui, B. Mild α -Halogenation Reactions of 1,3-Dicarbonyl Compounds Catalyzed by Lewis Acids. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 7429–7431, doi:10.1021/jo026025t.
112. Urtti, A.; Hyvönen, Z.; Plotniece, A.; Makarova, N.; Reine, I.; Tirzitis, G.; Vigante, B.; Cekavicus, B.; Shmidlers, A.; Krauze, A.; Zhalubovskis, R.; Duburs, G.; Urunen, M. T.; Ylä-Herttua, S.; Jääskeläinen, I.; Toppinen, M.-R. Cationic amphiphilic 1,4-dihydropyridine derivatives useful for delivery of nucleotide containing compounds. WO 01/62946 A1 2001.
113. Cekavicus, B.; Vigante, B.; Rucins, M.; Birkmane, K.; Petrova, M.; Belyakov, S.; Zuka, L.; Plotniece, A.; Pajuste, K.; Gosteva, M.; Sobolev, A. Contrasting behaviour of NBS towards 1,4-dihydrobenzothieno[3,2-b]pyridine 5,5-dioxides and 4,5-dihydro-1H-indeno[1,2-b]pyridines. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 5550–5557, doi:10.1016/j.tet.2013.04.060.
114. Kalme, Z.; Šmidlers, A.; Celmiņš, J.; Liepinš, E.; Krauze, A.; Duburs, G. Unexpected reaction on bromination of 3,4-dihydropyridin-2(1H)-ones with N-bromosuccinimide. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2007**, *43*, 662–664, doi:10.1007/s10593-007-0105-y.
115. Smits, R.; Goncharenko, Y.; Vesere, I.; Skrivele, B.; Petrichenko, O.; Vigante, B.; Petrova, M.; Plotniece, A.; Duburs, G. Synthesis and self-assembly of novel fluoros cationic amphiphiles with a 3,4-dihydro-2(1H)-pyridone spacer. *J. Fluor. Chem.* **2011**, *132*, 414–419, doi:10.1016/j.jfluchem.2011.04.008.
116. 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.
117. Skrastin'sh, I. P.; Liepin'sh, E. E.; Kastron, V. V.; Dubur, G. Y. ChemInform Abstract: Reaction of N-Chlorosuccinimide with 4-Phenyl-1,4-dihydropyridines. *ChemInform* **1990**, *21*, doi:10.1002/chin.199052194.
118. Kastron, V. V.; Mishnev, A. F.; Skrastin'sh, I. A.; Duburs, G. Y. Synthesis and three-dimensional structure of 3,5-dichloro-3,4,5,6-tetrahydropyridines. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1995**, *31*, 974–979, doi:10.1007/BF01170325.
119. Nagarajan, R.; Anthonyraj, J. C. A.; Muralidharan, D.; Saikumar, C.; Perumal, P. T. A convenient method for the oxidation of Hantzsch 1,4-dihydropyridines with N-bromo

- succinimide. *Indian J. Chem. -Section B* **2006**, *45B*, 826–828.
120. Petrichenko, O.; Rucins, M.; Vezane, A.; Timofejeva, I.; Sobolev, A.; Cekavicus, B.; Pajuste, K.; Plotniece, M.; Gosteva, M.; Kozlovskaja, 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.
 121. Shahabi, D.; Amrollahi, M. A.; Jafari, A. A. NaI readily mediated oxidative aromatization of Hantzsch 1,4-dihydropyridines with hydrogen peroxide at room temperature: A green procedure. *J. Iran. Chem. Soc.* **2011**, *8*, 1052–1057, doi:10.1007/BF03246562.
 122. Ghanbari, N.; Ghafari, H.; Zand, H.; Eslami, M. Ball-Milling Promoted Monobromination Reactions: One-pot Regioselective Synthesis of Aryl Bromides and α -Bromoketones by NBS and Recyclable MCM-41-SO₃H at Room Temperature. *SynOpen* **2017**, *01*, 0143–0146, doi:10.1055/s-0036-1590959.
 123. Pingali, S. R. K.; Madhav, M.; Jursic, B. S. An efficient regioselective NBS aromatic bromination in the presence of an ionic liquid. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1383–1385, doi:10.1016/j.tetlet.2010.01.002.
 124. Apsite, G.; Timofejeva, I.; Vezane, A.; Vigante, B.; Rucins, M.; Sobolev, A.; Plotniece, M.; Pajuste, K.; Kozlovskaja, 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.
 125. 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.
 126. 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.
 127. Rucins, M.; Kaukulis, M.; Plotniece, A.; Pajuste, K.; Pikun, N.; Sobolev, A. 1,1'-{[3,5-Bis((dodecyloxycarbonyl)-4-(naphthalen-2-yl)-1,4-dihydropyridine-2,6-diyl)]bis(methylene)}bis{4-[(E)-2-(naphthalen-2-yl)vinyl]pyridin-1-ium} dibromide. *Molbank* **2022**, *2022*, M1396, doi:10.3390/M1396.
 128. Goldmann, S.; Born, L.; Kazda, S.; Pittel, B.; Schramm, M. Synthesis, pharmacological effects, and conformation of 4,4-disubstituted 1,4-dihydropyridines. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1413–1418, doi:10.1021/jm00167a021.
 129. Fossheim, R.; Svarteng, K.; Mostad, A.; Rømming, C.; Shefter, E.; Triggle, D. J.; Roemming, C.; Shefter, E.; Triggle, D. J. Crystal structures and pharmacological activity of calcium channel antagonists: 2,6-dimethyl-3,5-dicarbomethoxy-4-(unsubstituted, 2-methyl-, 4-methyl-, 3-nitro-, 4-nitro-, and 2,4-dinitrophenyl)-1,4-dihydropyridine. *J. Med. Chem.* **1982**, *25*, 126–31, doi:10.1021/jm00344a007.
 130. Maru, M. S.; Shah, M. K. A Novel 4-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)-2,6-dimethyl-3,5-dicarbomethoxy-1,4-dihydropyridine (C₂₁H₂₆N₂O₈): Microwave-Irradiated Hantzsch Ester Synthesis, Characterization and Molecular Crystal. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **2015**, *623*, 217–225, doi:10.1080/15421406.2015.1010907.
 131. Trivedi, A.; Gowda, N. S.; Naliapara, Y.; Sridhar, M. A.; Shashidhara Prasad, J.; Shah, A. Synthesis, Characterization, Crystal and Molecular Structure Analysis of 2,6-Dimethyl-3-Acetyl-5-Carbomethoxy-4-Phenyl-1,4-Dihydropyridine. *J. Chem. Crystallogr.* **2011**, *41*, 774–778, doi:10.1007/s10870-010-9972-7.
 132. Goldmann, S.; Stoltefuss, J. 1,4-Dihydropyridines: Effects of Chirality and Conformation on the Calcium Antagonist and Calcium Agonist Activities. *Angew.*

- Chemie Int. Ed. English* **1991**, *30*, 1559–1578, doi:10.1002/anie.199115591.
133. Nambiar, K. P.; Stauffer, D. M.; Kolodziej, P. A.; Benner, S. A. A mechanistic basis for the stereoselectivity of enzymic transfer of hydrogen from nicotinamide cofactors. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5886–5890, doi:10.1021/ja00356a028.
 134. Triggler, A. M.; Shefter, E.; Triggler, D. J. Crystal structures of calcium channel antagonists: 2,6-dimethyl-3,5-dicarbomethoxy-4-[2-nitro-, 3-cyano-, 4-(dimethylamino)-, and 2,3,4,5,6-pentafluorophenyl]-1,4-dihydropyridine. *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, 1442–1445, doi:10.1021/jm00186a029.
 135. Fassihi, A.; Mahnam, K.; Moeinifard, B.; Bahmanziari, M.; Aliabadi, H. S.; Zarghi, A.; Sabet, R.; Salimi, M.; Mansourian, M. Synthesis, calcium-channel blocking activity, and conformational analysis of some novel 1,4-dihydropyridines: application of PM3 and DFT computational methods. *Med. Chem. Res.* **2012**, *21*, 2749–2761, doi:10.1007/s00044-011-9807-x.
 136. 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.
 137. Goba, I.; Turovska, B.; Belyakov, S.; Liepinsh, E. Synthesis of novel unsymmetrically substituted 1,4-dihydroisonicotinic acid and its derivatives. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2013**, *49*, 726–735, doi:10.1007/s10593-013-1304-3.
 138. Yao, X.; Liu, H.; Zhang, R.; Liu, M.; Hu, Z.; Panaye, A.; Doucet, J. P.; Fan, B. QSAR and Classification Study of 1,4-Dihydropyridine Calcium Channel Antagonists Based on Least Squares Support Vector Machines. *Mol. Pharm.* **2005**, *2*, 348–356, doi:10.1021/mp050027v.
 139. Lipkowitz, K. B.; Rabideau, P. W.; Raber, D. J.; Schleyer, P. V.; Kos, A. J.; Kahn, R. A.; Hardee, L. E. Structure and conformation of 1,4-dihydrobenzene, 1,4-dihydronaphthalene, and 9,10-dihydroanthracene. A theoretical study. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 1002–1005, doi:10.1021/jo00345a021.
 140. Hemmateenejad, B.; Miri, R.; Safarpour, M. A.; Khoshneviszadeh, M.; Edraki, N. Conformational analysis of some new derivatives of 4-nitroimidazolyl-1,4-dihydropyridine-based calcium channel blockers. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **2005**, *717*, 139–152, doi:10.1016/j.theochem.2004.10.071.
 141. Rovnyak, G.; Andersen, N.; Gougoutas, J.; Hedberg, A.; Kimball, S. D.; Malley, M.; Moreland, S.; Porubcan, M.; Pudzianowski, A. Active conformation of 1,4-dihydropyridine calcium entry blockers. Effect of size of 2-aryl substituent on rotameric equilibria and receptor binding. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2521–2524, doi:10.1021/jm00112a030.
 142. Palmer, R. B.; Andersen, N. H. Conformational dynamics of 4-aryl-1,4-dihydropyridine calcium channel antagonists. 1. Quantitation of C4-C1' bond rotational barriers. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 9665–9680, doi:10.1016/0040-4020(96)00500-5.
 143. Abdoli-Senejani, M.; Taherpour, A. A.; Memarian, H. R.; Khosravani, M. Theoretical studies on the rotamers and dynamic behaviors of ethyl-5-acetyl-4-(3',4'-dimethoxyphenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxylate. *Struct. Chem.* **2013**, *24*, 191–200, doi:10.1007/s11224-012-0037-8.
 144. Hays, G. R.; Huis, R.; Coleman, B.; Clague, D.; Verhoeven, J. W.; Rob, F. High-resolution solid-state carbon-13 NMR. Conformational studies of NADH and NAD⁺ model systems. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 5140–5146, doi:10.1021/ja00407a031.
 145. Takahashi, D.; Oyunzul, L.; Onoue, S.; Ito, Y.; Uchida, S.; Simsek, R.; Gunduz, M. G.; Safak, C.; Yamada, S. Structure–Activity Relationships of Receptor Binding of 1,4-Dihydropyridine Derivatives. *Biol. Pharm. Bull.* **2008**, *31*, 473–479, doi:10.1248/bpb.31.473.

146. Ruciņš, M. Design of pharmacophoric group containing 1,4-dihydropyridine derivatives and determination of spectrum of pharmacological activities. Promocijas darbs, Latvijas Universitāte, Medicīnas fakultāte, 2017. <https://dspace.lu.lv/dspace/handle/7/34911>.
147. Schade, D.; Lanier, M.; Willems, E.; Okolotowicz, K.; Bushway, P.; Wahlquist, C.; Gilley, C.; Mercola, M.; Cashman, J. R. Synthesis and SAR of b -Annulated 1,4-Dihydropyridines Define Cardiomyogenic Compounds as Novel Inhibitors of TGFβ Signaling. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 9946–9957, doi:10.1021/jm301144g.
148. Pedemonte, N.; Boido, D.; Moran, O.; Giampieri, M.; Mazzei, M.; Ravazzolo, R.; Galiotta, L. J. V. Structure-Activity Relationship of 1,4-Dihydropyridines as Potentiators of the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Chloride Channel. *Mol. Pharmacol.* **2007**, *72*, 197–207, doi:10.1124/mol.107.034702.
149. Loev, B.; Goodman, M. M.; Snader, K. M.; Tedeschi, R.; Macko, E. Hantzsch-type dihydropyridine hypotensive agents. *J. Med. Chem.* **1974**, *17*, 956–965, doi:10.1021/jm00255a010.
150. Teng, F.; Kong, F.; Liu, Q. Dimethyl 4-(4-formylphenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2008**, *64*, o293–o293, doi:10.1107/S1600536807063428.
151. Ohno, A.; Ushida, S. Diastereo-Differentiation at the 4 Position of 1,4-Dihydropyridine. In *Mechanistic Models of Asymmetric Reductions*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 1986; pp. 66–76.
152. Fossheim, R.; Joslyn, A.; Solo, A. J.; Luchowski, E.; Rutledge, A.; Triggler, D. J. Crystal structures and pharmacologic activities of 1,4-dihydropyridine calcium channel antagonists of the isobutyl methyl 2,6-dimethyl-4-(substituted phenyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate (nisoldipine) series. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 300–305, doi:10.1021/jm00397a005.
153. Morales-Ríos, M. S.; Martínez-Richa, A.; Hernández-Gallegos, Z.; Hernández-Barragán, A.; Vera-Graziano, R.; Joseph-Nathan, P. Studies of Dihydropyridines by X-Ray Diffraction and Solid State ¹³C NMR. *Zeitschrift für Naturforsch. B* **2007**, *62*, 549–555, doi:10.1515/znB-2007-0410.
154. Miyamae, A.; Koda, S.; Morimoto, Y. Structural studies of a new dihydropyridine calcium channel antagonist, nilvadipine. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. **1986**, *34*, 3071–8.
155. Linden, A.; Şafak, C.; Kismetli, E. N , N -Diethyl-2,6,6-trimethyl-4-(3-nitrophenyl)-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydroquinoline-3-carboxamide. *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* **2002**, *58*, o436–o438, doi:10.1107/S0108270102010314.
156. Zhang, Z.; Xian, D.; Wang, J.; Zhang, G. Dimethyl 2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2009**, *65*, o2390–o2390, doi:10.1107/S1600536809035478.
157. Karle, I. L. The crystal structure of N-benzyl-1,4-dihydropyridine-2-carboxamide. *Acta Crystallogr.* **1961**, *14*, 497–502, doi:10.1107/S0365110X61001583.
158. Li, Y.; Liu, Y.-Y.; Chen, X.-J.; Xiong, X.-H.; Li, F.-S. Synthesis, Spectroscopic Characterization, X-Ray Structure, and DFT Calculations of Some New 1,4-Dihydro-2,6-Dimethyl-3,5 -Pyridinedicarboxamides. *PLoS One* **2014**, *9*, e91361, doi:10.1371/journal.pone.0091361.
159. Goba, I. Jaunu 1,4-dihidroizonikofīnskābes atvasinājumu sintēze un to fizikāli ķīmisko īpašību raksturojums. Promocijas darbs, Latvijas Universitāte, Ķīmijas fakultāte, 2005, <https://dspace.lu.lv/dspace/handle/7/28241>.
160. Goba, I.; Liepinsh, E. ¹⁵N NMR of 1,4-dihydropyridine derivatives. *Magn. Reson. Chem.* **2013**, *51*, 391–396, doi:10.1002/mrc.3959.
161. Shishkin, O. V. Conformational flexibility of the 1,4-dihydropyridine ring in calcium

- channel agonists and antagonists molecules. *J. Mol. Struct.* **1996**, *385*, 209–214, doi:10.1016/S0022-2860(96)09332-5.
162. Hofmann, H.-J.; Cimiraglia, R. Conformation of 1,4-dihydropyridine - planar or boat-like? *FEBS Lett.* **1988**, *241*, 38–40, doi:10.1016/0014-5793(88)81026-3.
 163. Raber, D. J.; Rodriguez, W. Conformational properties of oxidation-reduction cofactors. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 4146–4147, doi:10.1021/ja00300a009.
 164. Wu, Y. D.; Houk, K. N. Theoretical evaluation of conformational preferences of NAD⁺ and NADH: an approach to understanding the stereospecificity of NAD⁺/NADH-dependent dehydrogenases. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 2353–2358, doi:10.1021/ja00007a002.
 165. Young, L.; Post, C. B. Free energy calculations involving internal coordinate constraints to determine puckering of a six-membered ring molecule. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 1964–1970, doi:10.1021/ja00058a050.
 166. Shishkin, O. V.; Timofeeva, T. V.; Desenko, S. M.; Orlov, V. D.; Lindeman, S. V.; Struchkov, Y. T. Cycle mobility in 1,4-dihydropyridine and its monoalkyl and phenyl derivatives. *Russ. Chem. Bull.* **1993**, *42*, 1160–1162, doi:10.1007/BF00701996.
 167. Banaru, A. M. Conformation of 1,4-dihydropyridine calcium channel blockers and H-bonds in a crystal. *Moscow Univ. Chem. Bull.* **2008**, *63*, 318–320, doi:10.3103/S0027131408060023.
 168. Shishkin, O. V. Conformational flexibility of six-membered 1,4-dihydrocycles. *J. Mol. Struct.* **1997**, *412*, 115–120, doi:10.1016/S0022-2860(97)00004-5.
 169. *Practical Aspects of Computational Chemistry*; Leszczynski, J., Shukla, M. K., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, 2010; ISBN 978-90-481-2686-6.
 170. Секацис И.П.; Лиепиньш, Э. Э.; Дубур, Г. Я. Конформационная подвижность 1,4-дигидропиридинов. *Изв. АН ЛатвССР. Сер. хим.* **1979**, *1*, 111–112.
 171. Zhang, W.; Wang, N.; Liu, Y.-H.; Jiao, S.-Y.; Zhang, W.-W.; Pu, X.-M.; Yu, X.-Q. 1,4-Dihydropyridines: discovery of minimal AIEEgens and their mitochondrial imaging applications. *J. Mater. Chem. B* **2017**, *5*, 464–469, doi:10.1039/C6TB02135B.
 172. Scholz, G. H.; Vieweg, S.; Uhlig, M.; Thormann, M.; Klossek, P.; Goldmann, S.; Hofmann, H.-J. Inhibition of Thyroid Hormone Uptake by Calcium Antagonists of the Dihydropyridine Class. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1530–1538, doi:10.1021/jm9604989.
 173. Hofmann, H.-J.; Cimiraglia, R. Reference conformations for calcium antagonists and agonists of dihydropyridine type. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **1990**, *205*, 1–11, doi:10.1016/0166-1280(90)85102-S.
 174. Goldmann, S.; Geiger, W. Rotational Barriers of 4-Aryl-1, 4-dihydropyridines(Ca Antagonists). *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1984**, *23*, 301–302, doi:10.1002/anie.198403011.
 175. Surov, A. O.; Solanko, K. A.; Bond, A. D.; Perlovich, G. L.; Bauer-Brandl, A. Crystallization and Polymorphism of Felodipine. *Cryst. Growth Des.* **2012**, *12*, 4022–4030, doi:10.1021/cg300501u.
 176. Chan, K. L. A.; Fleming, O. S.; Kazarian, S. G.; Vassou, D.; Chryssikos, G. D.; Gionis, V. Polymorphism and devitrification of nifedipine under controlled humidity: a combined FT-Raman, IR and Raman microscopic investigation. *J. Raman Spectrosc.* **2004**, *35*, 353–359, doi:10.1002/jrs.1139.
 177. Vassou, D.; Gionis, V.; Chryssikos, G. Glassy drugs: A Raman investigation of binary dihydropyridine systems. *Phys. Chem. Glas.* **2005**, *46*, 144–147.
 178. Lei, Y.; Zhou, Y.; Qian, L.; Wang, Y.; Liu, M.; Huang, X.; Wu, G.; Wu, H.; Ding, J.; Cheng, Y. Polymorphism and mechanochromism of N-alkylated 1,4-dihydropyridine derivatives containing different electron-withdrawing end groups. *J. Mater. Chem. C* **2017**, *5*, 5183–5192, doi:10.1039/C7TC00362E.

179. Alapi, E. M.; Fischer, J. Table of Selected Analogue Classes. In *Analogue-based Drug Discovery*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, FRG, 2006; pp. 441–552.
180. Fossheim, R. Crystal structure of the dihydropyridine calcium antagonist felodipine. Dihydropyridine binding prerequisites assessed from crystallographic data. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 305–307, doi:10.1021/jm00152a023.
181. Srčić, S.; Kerč, J.; Urleb, U.; Zupančič, I.; Lahajnar, G.; Kofler, B.; Šmid-Korbar, J. Investigation of felodipine polymorphism and its glassy state. *Int. J. Pharm.* **1992**, *87*, 1–10, doi:10.1016/0378-5173(92)90221-M.
182. Rovnyak, G.; Andersen, N.; Gougoutas, J.; Hedberg, A.; Kimball, S. D.; Malley, M.; Moreland, S.; Porubcan, M.; Pudzianowski, A. Studies directed toward ascertaining the active conformation of 1,4-dihydropyridine calcium entry blockers. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 936–944, doi:10.1021/jm00400a008.
183. Morales-Ríos, M. S.; De la Cerda Medina, A.; Pérez-Alvarez, V.; Joseph-Nathan, P. ¹H and ¹³C NMR study of the antihypertensive drugs nifedipine, nicardipine and related compounds. *Magn. Reson. Chem.* **2000**, *38*, 680–683, doi:10.1002/1097-458X(200008)38:8<680::AID-MRC679>3.0.CO;2-B.
184. Apperley, D. C.; Forster, A. H.; Fournier, R.; Harris, R. K.; Hodgkinson, P.; Lancaster, R. W.; Rades, T. Characterisation of indomethacin and nifedipine using variable-temperature solid-state NMR. *Magn. Reson. Chem.* **2005**, *43*, 881–892, doi:10.1002/mrc.1643.
185. Hilgeroth, A.; Hempel, G.; Baumeister, U.; Reichert, D. Solid-state photodimerization of 4-aryl-1,4-dihydropyridines studied by CPMAS NMR spectroscopy. *Solid State Nucl. Magn. Reson.* **1999**, *13*, 231–243, doi:10.1016/S0926-2040(98)00090-3.
186. Harris, R. K.; Olivieri, A. C. Quadrupolar effects transferred to spin-12 magic-angle spinning spectra of solids. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1992**, *24*, 435–456, doi:10.1016/0079-6565(92)80004-Y.
187. Družbicki, K.; Pajzderska, A.; Kiwilsza, A.; Jencyk, J.; Chudoba, D.; Jarek, M.; Mielcarek, J.; Wąsicki, J. In search of the mutual relationship between the structure, solid-state spectroscopy and molecular dynamics in selected calcium channel blockers. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2016**, *85*, 68–83, doi:10.1016/j.ejps.2016.01.024.
188. Watson, J. D.; Crick, F. H. C. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature* **1953**, *171*, 737–738, doi:10.1038/171737a0.
189. Dahm, R. Friedrich Miescher and the discovery of DNA. *Dev. Biol.* **2005**, *278*, 274–288, doi:10.1016/j.ydbio.2004.11.028.
190. Jackson, D. A.; Symons, R. H.; Berg, P. Biochemical Method for Inserting New Genetic Information into DNA of Simian Virus 40: Circular SV40 DNA Molecules Containing Lambda Phage Genes and the Galactose Operon of *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1972**, *69*, 2904–2909, doi:10.1073/pnas.69.10.2904.
191. Cohen, S. N.; Chang, A. C. Y. Recircularization and Autonomous Replication of a Sheared R-Factor DNA Segment in *Escherichia coli* Transformants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1973**, *70*, 1293–1297, doi:10.1073/pnas.70.5.1293.
192. Jaenisch, R.; Mintz, B. Simian Virus 40 DNA Sequences in DNA of Healthy Adult Mice Derived from Preimplantation Blastocysts Injected with Viral DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1974**, *71*, 1250–1254, doi:10.1073/pnas.71.4.1250.
193. Nayerossadat, N.; Ali, P.; Maedeh, T. Viral and nonviral delivery systems for gene delivery. *Adv. Biomed. Res.* **2012**, *1*, 27, doi:10.4103/2277-9175.98152.
194. MCDONOUGH, P. G. The Ethics of Somatic and Germline Gene Therapy. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1997**, *816*, 378–382, doi:10.1111/j.1749-6632.1997.tb52165.x.
195. Resnik, D. B.; Langer, P. J. Human Germline Gene Therapy Reconsidered. *Hum. Gene*

- Ther.* **2001**, *12*, 1449–1458, doi:10.1089/104303401750298607.
196. Tang, L.; González, R.; Dobrinski, I. Germline modification of domestic animals. *Anim. Reprod.* **2019**, *12*, 93–104.
 197. Mao, Y.; Botella, J. R.; Liu, Y.; Zhu, J.-K. Gene editing in plants: progress and challenges. *Natl. Sci. Rev.* **2019**, *6*, 421–437, doi:10.1093/nsr/nwz005.
 198. Feng, Z.; Mao, Y.; Xu, N.; Zhang, B.; Wei, P.; Yang, D.-L.; Wang, Z.; Zhang, Z.; Zheng, R.; Yang, L.; Zeng, L.; Liu, X.; Zhu, J.-K. Multigeneration analysis reveals the inheritance, specificity, and patterns of CRISPR/Cas-induced gene modifications in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2014**, *111*, 4632–4637, doi:10.1073/pnas.1400822111.
 199. Zaidi, S. S.-A.; Mansoor, S. Viral Vectors for Plant Genome Engineering. *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, doi:10.3389/fpls.2017.00539.
 200. Paul, J. W.; Qi, Y. CRISPR/Cas9 for plant genome editing: accomplishments, problems and prospects. *Plant Cell Rep.* **2016**, *35*, 1417–1427, doi:10.1007/s00299-016-1985-z.
 201. Al-Dosari, M. S.; Gao, X. Nonviral Gene Delivery: Principle, Limitations, and Recent Progress. *AAPS J.* **2009**, *11*, 671, doi:10.1208/s12248-009-9143-y.
 202. Griffiths, A. J. Natural plasmids of filamentous fungi. *Microbiol. Rev.* **1995**, *59*, 673–85.
 203. Rommens, C. M.; Humara, J. M.; Ye, J.; Yan, H.; Richael, C.; Zhang, L.; Perry, R.; Swords, K. Crop improvement through modification of the plant's own genome. *Plant Physiol.* **2004**, *135*, 421–31, doi:10.1104/pp.104.040949.
 204. Fincham, J. R. Transformation in fungi. *Microbiol. Rev.* **1989**, *53*, 148–70.
 205. Schaffer, D. V.; Koerber, J. T.; Lim, K. Molecular Engineering of Viral Gene Delivery Vehicles. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2008**, *10*, 169–194, doi:10.1146/annurev.bioeng.10.061807.160514.
 206. Liao, I.-C.; Chen, S.; Liu, J. B.; Leong, K. W. Sustained viral gene delivery through core-shell fibers. *J. Control. Release* **2009**, *139*, 48–55, doi:10.1016/j.jconrel.2009.06.007.
 207. Jin, L.; Zeng, X.; Liu, M.; Deng, Y.; He, N. Current Progress in Gene Delivery Technology Based on Chemical Methods and Nano-carriers. *Theranostics* **2014**, *4*, 240–255, doi:10.7150/thno.6914.
 208. Patil; Gao; Lin; Li; Dang; Tian; Zhang; Jiang; Qadir; Qian The Development of Functional Non-Viral Vectors for Gene Delivery. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 5491, doi:10.3390/ijms20215491.
 209. Du, X.; Wang, J.; Zhou, Q.; Zhang, L.; Wang, S.; Zhang, Z.; Yao, C. Advanced physical techniques for gene delivery based on membrane perforation. *Drug Deliv.* **2018**, *25*, 1516–1525, doi:10.1080/10717544.2018.1480674.
 210. Chuah, M.; Collen, D.; VandenDriessche, T. Biosafety of Adenoviral Vectors. *Curr. Gene Ther.* **2003**, *3*, 527–543, doi:10.2174/1566523034578140.
 211. Saffari, M.; Moghimi, H. R.; Dass, C. R. Barriers to Liposomal Gene Delivery: from Application Site to the Target. *Iran. J. Pharm. Res. IJPR* **2016**, *15*, 3–17.
 212. Sung, Y.; Kim, S. Recent advances in the development of gene delivery systems. *Biomater. Res.* **2019**, *23*, 8, doi:10.1186/s40824-019-0156-z.
 213. Nandy, D.; Maity, A.; Mitra, A. K. Target-specific gene delivery in plant systems and their expression: Insights into recent developments. *J. Biosci.* **2020**, *45*, 30, doi:10.1007/s12038-020-0008-y.
 214. del Pozo-Rodríguez, A.; Pujals, S.; Delgado, D.; Solinís, M. A.; Gascón, A. R.; Giralt, E.; Pedraz, J. L. A proline-rich peptide improves cell transfection of solid lipid nanoparticle-based non-viral vectors. *J. Control. Release* **2009**, *133*, 52–59, doi:10.1016/j.jconrel.2008.09.004.
 215. Delgado, D.; del Pozo-Rodríguez, A.; Solinís, M. A.; Rodríguez-Gascón, A. Understanding the mechanism of protamine in solid lipid nanoparticle-based lipofection:

- The importance of the entry pathway. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2011**, *79*, 495–502, doi:10.1016/j.ejpb.2011.06.005.
216. Ramamoorth, M. Non Viral Vectors in Gene Therapy- An Overview. *J. Clin. DIAGNOSTIC Res.* **2015**, *9*, GE01–GE06, doi:10.7860/JCDR/2015/10443.5394.
 217. Loh, X. J.; Lee, T.-C.; Dou, Q.; Deen, G. R. Utilising inorganic nanocarriers for gene delivery. *Biomater. Sci.* **2016**, *4*, 70–86, doi:10.1039/C5BM00277J.
 218. Guo, K.; Zhao, X.; Dai, X.; Zhao, N.; Xu, F. Organic/inorganic nanohybrids as multifunctional gene delivery systems. *J. Gene Med.* **2019**, *21*, e3084, doi:10.1002/jgm.3084.
 219. Hyvönen, Z.; Ruponen, M.; Rönkkö, S.; Suhonen, P.; Urtti, A. Extracellular and intracellular factors influencing gene transfection mediated by 1,4-dihydropyridine amphiphiles. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2002**, *15*, 449–460, doi:10.1016/S0928-0987(02)00031-3.
 220. Hyvönen, Z.; Hämäläinen, V.; Ruponen, M.; Lucas, B.; Rejman, J.; Vercauteren, D.; Demeester, J.; De Smedt, S.; Braeckmans, K. Elucidating the pre- and post-nuclear intracellular processing of 1,4-dihydropyridine based gene delivery carriers. *J. Control. Release* **2012**, *162*, 167–175, doi:10.1016/j.jconrel.2012.06.013.
 221. Namani, T.; Walde, P. From Decanoate Micelles to Decanoic Acid/Dodecylbenzenesulfonate Vesicles. *Langmuir* **2005**, *21*, 6210–6219, doi:10.1021/la047028z.
 222. Presto, W. C.; Preston, W. Some Correlating Principles of Detergent Action. *J. Phys. Colloid Chem.* **1948**, *52*, 84–97, doi:10.1021/j150457a010.
 223. Reis, S.; Moutinho, C. G.; Matos, C.; de Castro, B.; Gameiro, P.; Lima, J. L. F. C. Noninvasive methods to determine the critical micelle concentration of some bile acid salts. *Anal. Biochem.* **2004**, *334*, 117–126, doi:10.1016/j.ab.2004.07.017.
 224. Ruckenstein, E.; Nagarajan, R. Critical micelle concentration. Transition point for micellar size distribution. *J. Phys. Chem.* **1975**, *79*, 2622–2626, doi:10.1021/j100591a010.
 225. Williams, R. J.; Phillips, J. N.; Mysels, K. J. The critical micelle concentration of sodium lauryl sulphate at 25° C. *Trans. Faraday Soc.* **1955**, *51*, 728–737, doi:10.1039/TF9555100728.
 226. Topel, Ö.; Çakır, B. A.; Budama, L.; Hoda, N. Determination of critical micelle concentration of polybutadiene-block-poly(ethyleneoxide) diblock copolymer by fluorescence spectroscopy and dynamic light scattering. *J. Mol. Liq.* **2013**, *177*, 40–43, doi:10.1016/j.molliq.2012.10.013.
 227. Markiewicz, M.; Mrozik, W.; Rezwani, K.; Thöming, J.; Hupka, J.; Jungnickel, C. Changes in zeta potential of imidazolium ionic liquids modified minerals – Implications for determining mechanism of adsorption. *Chemosphere* **2013**, *90*, 706–712, doi:10.1016/j.chemosphere.2012.09.053.
 228. Rucins, M.; Petricenko, O.; Pajuste, K.; Plotniece, M.; Pajuste, K.; Gosteva, M.; Cekavicus, B.; Sobolev, A.; Plotniece, A. Studies of Preparation and Stability of Liposomes Formed by 1,1'-[(3,5-didodecylloxycarbonyl-4-phenyl-1,4-dihydropyridine-2,6-diil)-dimethylen]Bispyridinium Dibromide. *Adv. Mater. Res.* **2013**, *787*, 157–162, doi:10.4028/www.scientific.net/AMR.787.157.
 229. Liepina, I.; Czaplowski, C.; Liwo, A.; Duburs, G. 1,4-DHP-lipid parameters and rod like micellae. *J. Biophys. Chem.* **2011**, *02*, 386–394, doi:10.4236/jbpc.2011.24044.
 230. Liepina, I.; Czaplowski, C.; Ose, V.; Danne, R.; Duburs, G. 1,4-DHP-Lipid Forms a Tubular Micellae. In *From Computational Biophysics to Systems Biology, Proceedings of the NIC Workshop*; E., U. H. H., Meinke, J., Mohanty, S., Nadler, W., Zimmermann, O., Eds.; Jülich, 2008; pp. 305-308. <http://hdl.handle.net/2128/6651>.

231. Yin, H.; Kanasty, R. L.; Eltoukhy, A. A.; Vegas, A. J.; Dorkin, J. R.; Anderson, D. G. Non-viral vectors for gene-based therapy. *Nat. Rev. Genet.* **2014**, *15*, 541–555, doi:10.1038/nrg3763.
232. Fraley, R.; Subramani, S.; Berg, P.; Papahadjopoulos, D. Introduction of liposome-encapsulated SV40 DNA into cells. *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 10431–5.
233. Felgner, P. L.; Gadek, T. R.; Holm, M.; Roman, R.; Chan, H. W.; Wenz, M.; Northrop, J. P.; Ringold, G. M.; Danielsen, M. Lipofection: a highly efficient, lipid-mediated DNA-transfection procedure. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1987**, *84*, 7413–7417, doi:10.1073/pnas.84.21.7413.
234. Wang, H.-J.; Liu, Y.-H.; Zhang, J.; Zhang, Y.; Xia, Y.; Yu, X.-Q. Cyclen-based cationic lipids with double hydrophobic tails for efficient gene delivery. *Biomater. Sci.* **2014**, *2*, 1460–1470, doi:10.1039/C4BM00174E.
235. Pedrosa de Lima, M. C.; Simões, S.; Pires, P.; Faneca, H.; Düzgüneş, N. Cationic lipid–DNA complexes in gene delivery: from biophysics to biological applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, *47*, 277–294, doi:10.1016/S0169-409X(01)00110-7.
236. Wasungu, L.; Hoekstra, D. Cationic lipids, lipoplexes and intracellular delivery of genes. *J. Control. Release* **2006**, *116*, 255–264, doi:10.1016/j.jconrel.2006.06.024.
237. Buck, J.; Grossen, P.; Cullis, P. R.; Huwyler, J.; Witzigmann, D. Lipid-Based DNA Therapeutics: Hallmarks of Non-Viral Gene Delivery. *ACS Nano* **2019**, *13*, 3754–3782, doi:10.1021/acsnano.8b07858.
238. Adjimatera, N.; Neal, A. P.; Blagbrough, I. S. Fluorescence Techniques in Non-Viral Gene Therapy. In *Fluorescence Spectroscopy in Biology*; Springer-Verlag: Berlin/Heidelberg; pp. 201–228.
239. Schreier, H.; Gagné, L.; Bock, T.; Erdos, G. W.; Druzgala, P.; Conary, J. T.; Müller, B. W. Physicochemical properties and in vitro toxicity of cationic liposome cDNA complexes. *Pharm. Acta Helv.* **1997**, *72*, 215–223, doi:10.1016/S0031-6865(97)00019-8.
240. Hattori, Y.; Suzuki, S.; Kawakami, S.; Yamashita, F.; Hashida, M. The role of dioleoylphosphatidylethanolamine (DOPE) in targeted gene delivery with mannosylated cationic liposomes via intravenous route. *J. Control. Release* **2005**, *108*, 484–495, doi:10.1016/j.jconrel.2005.08.012.
241. Ruponen, M.; Ylä-Herttuala, S.; Urtti, A. Interactions of polymeric and liposomal gene delivery systems with extracellular glycosaminoglycans: physicochemical and transfection studies. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* **1999**, *1415*, 331–341, doi:10.1016/S0005-2736(98)00199-0.
242. Stegmann, T.; Legendre, J.-Y. Gene transfer mediated by cationic lipids: lack of a correlation between lipid mixing and transfection. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* **1997**, *1325*, 71–79, doi:10.1016/S0005-2736(96)00241-6.
243. Hope, M. J.; Mui, B.; Ansell, S.; Ahkong, Q. F. Cationic lipids, phosphatidylethanolamine and the intracellular delivery of polymeric, nucleic acid-based drugs (Review). *Mol. Membr. Biol.* **1998**, *15*, 1–14, doi:10.3109/09687689809027512.
244. Alix, A.; Lalli, C.; Retailleau, P.; Masson, G. Highly enantioselective electrophilic α -bromination of enecarbamates: chiral phosphoric acid and calcium phosphate salt catalysts. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 10389–10392, doi:10.1021/ja304095z.
245. Witanowski, M.; Stefaniak, L.; Webb, G. A. A. Nitrogen NMR Spectroscopy. In *Annual Reports on NMR Spectroscopy*; Elsevier, 1987; Vol. 18, pp. 1–211 ISBN 9780125053181.
246. Widegren, J. A.; Finke, R. G. A review of the problem of distinguishing true homogeneous catalysis from soluble or other metal-particle heterogeneous catalysis under reducing conditions. *J. Mol. Catal. A Chem.* **2003**, *198*, 317–341,

- doi:10.1016/S1381-1169(02)00728-8.
247. Jaguar, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2011.
248. 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.
249. 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/>.
250. Görlitzer, K.; Bartke, U.; Schmidt, E. Zur Reaktion von Nifedipin mit Pyridiniumbromidperbromid. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **1991**, *324*, 105–109, doi:10.1002/ardp.19913240209.
251. Granovsky, A. A. Firefly 7.1.G. 2011.
252. Bystrov, V. F. Spin–Spin Coupling between Geminal and Vicinal Protons. *Russ. Chem. Rev.* **1972**, *41*, 281–304, doi:10.1070/RC1972v041n03ABEH002044.
253. Schaefer, T. Relation between hydroxyl proton chemical shifts and torsional frequencies in some ortho-substituted phenol derivatives. *J. Phys. Chem.* **1975**, *79*, 1888–1890, doi:10.1021/j100584a028.
254. Leroy, J.-L.; Snoussi, K.; Guéron, M. Investigation of the energetics of C-H···O hydrogen bonds in the DNA i-motif via the equilibrium between alternative intercalation topologies. *Magn. Reson. Chem.* **2001**, *39*, S171–S176, doi:10.1002/mrc.935.
255. Afonin, A. V.; Ushakov, I. A.; Simonenko, D. E.; Shmidt, E. Y.; Zorina, N. V.; Mikhaleva, A. I.; Trofimov, B. A. ¹H and ¹³C NMR Study of Bifurcated Intramolecular Hydrogen Bonds in 2,6-Bis(2-pyrrolyl)pyridine and 2,6-Bis(1-vinyl-2-pyrrolyl)pyridine. *Russ. J. Org. Chem.* **2005**, *41*, 1516–1521, doi:10.1007/s11178-005-0375-8.
256. Tupikina, E. Y.; Denisov, G. S.; Antonov, A. S.; Tolstoy, P. M. Unusual behaviour of the spin–spin coupling constant ¹J_{CH} upon formation of CH···X hydrogen bond. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2020**, *22*, 1994–2000, doi:10.1039/C9CP05964D.
257. Marshall, J. L. *Carbon-Carbon and Carbon-Proton Nmr Couplings: Applications to Organic Stereochemistry and Conformational Analysis*; Methods in stereochemical analysis; Verlag Chemie International: Deerfield Beach (Florida), USA, 1983; Vol. 2; ISBN 9780895731135.
258. Giacovazzo, C.; Monaco, H. L.; Artioli, G.; Viterbo, D.; Ferraris, G.; Gilli, G.; Zanotti, G.; Catti, M. *Fundamentals of Crystallography, (2nd Ed.)*; Oxford University Press: Oxford, UK, 2002; ISBN 978-0198509585.
259. Ahmed, A.; Bragg, R. A.; Clayden, J.; Lai, L. W.; McCarthy, C.; Pink, J. H.; Westlund, N.; Yasin, S. A. Barriers to rotation about the chiral axis of tertiary aromatic amides. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 13277–13294, doi:10.1016/S0040-4020(98)00814-X.
260. Cain, D.; Pawar, D. M.; Stewart, M.; Billings, H.; Noe, E. A. Barriers to Rotation in Methyl Formate by Dynamic NMR Spectroscopy and Barriers to 1,3 Oxygen-to-Oxygen Migration in Methyl Formate and Trifluoromethyl Formate by ab Initio Calculations. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6092–6095, doi:10.1021/jo0103726.
261. 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.
262. 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.
263. Rynin, S. S.; Faustov, V. I.; Boganov, S. E.; Egorov, M. P.; Nefedov, O. M. Computational study of reaction pathways in the course of interaction of deactivated silylenes with buta-1,3-diene. *J. Organomet. Chem.* **2010**, *695*, 2345–2353,

- doi:10.1016/j.jorganchem.2010.06.023.
264. Becker, E. D. Hydrogen Bonding. In *Encyclopedia of Magnetic Resonance*; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 2007.
 265. 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.
 266. Baxter, N. J.; Williamson, M. P. Temperature dependence of ¹H chemical shifts in proteins. *J. Biomol. NMR* **1997**, *9*, 359–369, doi:10.1023/A:1018334207887.
 267. Dingley, A. J.; Masse, J. E.; Peterson, R. D.; Barfield, M.; Feigon, J.; Grzesiek, S. Internucleotide Scalar Couplings Across Hydrogen Bonds in Watson–Crick and Hoogsteen Base Pairs of a DNA Triplex. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6019–6027, doi:10.1021/ja9908321.
 268. 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.
 269. Del Bene, J. E.; Elguero, J. Systematic ab Initio Study of ¹⁵N–¹⁵N and ¹⁵N–¹H 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.
 270. 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.
 271. 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.
 272. Hobza, P.; Havlas, Z. Blue-Shifting Hydrogen Bonds. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4253–4264, doi:10.1021/cr990050q.
 273. Ghosh, S.; Wategaonkar, S. C–H...Y (Y=N, O, π) Hydrogen Bond: A Unique Unconventional Hydrogen Bond. *J. Indian Inst. Sci.* **2020**, *100*, 101–125, doi:10.1007/s41745-019-00145-5.
 274. Wibowo, E. S.; Park, B.-D.; Causin, V. Hydrogen-Bond-Induced Crystallization in Low-Molar-Ratio Urea–Formaldehyde Resins during Synthesis. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2020**, *59*, 13095–13104, doi:10.1021/acs.iecr.0c02268.
 275. 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.
 276. Kyogoku, Y. Application of ¹⁵N NMR Spectroscopy to Studies of the Intermolecular Interaction of Biomolecules. *Appl. Spectrosc. Rev.* **1981**, *17*, 279–335, doi:10.1080/05704928108060407.
 277. 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.
 278. Kuroki, S.; Ando, S.; Ando, I.; Shoji, A.; Ozaki, T.; Webb, G. A. Hydrogen-bonding effect on ¹⁵N 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.
 279. Witanowski, M.; Stefaniak, L.; Webb, G. A. Nitrogen NMR Spectroscopy. In *Annual Reports on NMR Spectroscopy*; 1982; Vol. 7, pp. 1–486 ISBN 9780125053181.
 280. Suárez, M.; Molero, D.; Salfrán, E.; Rodríguez, H.; Coro, J.; Sáez, E.; Martínez-Álvarez, R.; Martín, N. NMR study of 1,4-dihydropyridine derivatives endowed with long alkyl

- and functionalized chains. *J. Braz. Chem. Soc.* **2011**, *22*, 166–171, doi:10.1590/S0103-50532011000100022.
281. Liepin'sh, E. E.; Zolotoyabko, R. M.; Chekavichus, B. S.; Sausin', A. E.; Lusia, V. K.; Dubur, G. Y. ¹³C-NMR spectra of substituted 1,4-dihydropyridines. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1989**, *25*, 1032–1037, doi:10.1007/BF00487304.
 282. Dziembowska, T.; Hansen, P. E.; Rozwadowski, Z. Studies based on deuterium isotope effect on ¹³C chemical shifts. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2004**, *45*, 1–29, doi:10.1016/j.pnmrs.2004.04.001.
 283. Sobczyk, L.; Obrzud, M.; Filarowski, A. H/D Isotope Effects in Hydrogen Bonded Systems. *Molecules* **2013**, *18*, 4467–4476, doi:10.3390/molecules18044467.
 284. 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.
 285. 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.
 286. Gentry, B. G.; Gentry, S. N.; Jackson, T. L.; Zemlicka, J.; Drach, J. C. Phosphorylation of antiviral and endogenous nucleotides to di- and triphosphates by guanosine monophosphate kinase. *Biochem. Pharmacol.* **2011**, *81*, 43–49, doi:10.1016/j.bcp.2010.09.005.
 287. Izzedine, H.; Launay-Vacher, V.; Deray, G. Antiviral Drug-Induced Nephrotoxicity. *Am. J. Kidney Dis.* **2005**, *45*, 804–817, doi:10.1053/j.ajkd.2005.02.010.
 288. Mahmoud, S.; Hasabelnaby, S.; Hammad, S.; Sakr, T. Antiviral Nucleoside and Nucleotide Analogs: A Review. *J. Adv. Pharm. Res.* **2018**, *2*, 73–88, doi:10.21608/aprh.2018.5829.
 289. Berliba, E.; Bogus, M.; Vanhoutte, F.; Berghmans, P.-J.; Good, S. S.; Moussa, A.; Pietropaolo, K.; Murphy, R. L.; Zhou, X.-J.; Sommadossi, J.-P. Safety, Pharmacokinetics, and Antiviral Activity of AT-527, a Novel Purine Nucleotide Prodrug, in Hepatitis C Virus-Infected Subjects with or without Cirrhosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2019**, *63*, doi:10.1128/AAC.01201-19.
 290. Grimble, G. K.; Westwood, O. M. Nucleotides as immunomodulators in clinical nutrition. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2001**, *4*, 57–64, doi:10.1097/00075197-200101000-00011.
 291. Rapaport, E. Anticancer activities of adenine nucleotides in tumor bearing hosts. *Drug Dev. Res.* **1993**, *28*, 428–431, doi:10.1002/ddr.430280344.
 292. Wagner, C. R.; Iyer, V. V.; McIntee, E. J. Pronucleotides: Toward their in vivo delivery of antiviral and anticancer nucleotides. *Med. Res. Rev.* **2000**, *20*, 417–451, doi:10.1002/1098-1128(200011)20:6<417::AID-MED1>3.0.CO;2-Z.
 293. Thornton, P. J.; Kadri, H.; Miccoli, A.; Mehellou, Y. Nucleoside Phosphate and

- Phosphonate Prodrug Clinical Candidates. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 10400–10410, doi:10.1021/acs.jmedchem.6b00523.
294. Uramoto, M.; Kim, C.-J.; Shin-Ya, K.; Kusakabe, H.; Isono, K.; Phillips, D. R.; McCloskey, J. A. Isolation and characterization of phosmidosine a new antifungal nucleotide antibiotic. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1991**, *44*, 375–381, doi:10.7164/antibiotics.44.375.
 295. Ishizaki, T.; Hashimoto, Y.; Shudo, K.; Okamoto, T. Reaction of 4-acetoxy-1,4-benzoxazin-3-one with DNA. A possible chemical mechanism for the antifungal and mutagenic activities. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 4055–4056, doi:10.1016/S0040-4039(00)88694-3.
 296. Jones, R. J.; Bischofberger, N. Minireview: nucleotide prodrugs. *Antiviral Res.* **1995**, *27*, 1–17, doi:10.1016/0166-3542(95)00011-A.
 297. Hirko, A.; Tang, F.; Hughes, J. Cationic Lipid Vectors for Plasmid DNA Delivery. *Curr. Med. Chem.* **2003**, *10*, 1185–1193, doi:10.2174/0929867033457412.
 298. 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.
 299. Perspicace, S.; Rufer, A. C.; Thoma, R.; Mueller, F.; Hennig, M.; Ceccarelli, S.; Schulz-Gasch, T.; Seelig, J. Isothermal titration calorimetry with micelles: Thermodynamics of inhibitor binding to carnitine palmitoyltransferase 2 membrane protein. *FEBS Open Bio* **2013**, *3*, 204–211, doi:10.1016/j.fob.2013.04.003.
 300. McClements, D. J. Isothermal Titration Calorimetry Study of Pectin–Ionic Surfactant Interactions. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 5604–5611, doi:10.1021/jf000704s.
 301. Heerklotz, H.; Seelig, J. Titration calorimetry of surfactant–membrane partitioning and membrane solubilization. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* **2000**, *1508*, 69–85, doi:10.1016/S0304-4157(00)00009-5.
 302. Olofsson, G.; Loh, W. On the use of titration calorimetry to study the association of surfactants in aqueous solutions. *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *20*, 577–593, doi:10.1590/S0103-50532009000400002.
 303. Textor, M.; Keller, S. Automated analysis of calorimetric demicellization titrations. *Anal. Biochem.* **2015**, *485*, 119–121, doi:10.1016/j.ab.2015.06.009.
 304. Paula, S.; Sues, W.; Tuchtenhagen, J.; Blume, A. Thermodynamics of Micelle Formation as a Function of Temperature: A High Sensitivity Titration Calorimetry Study. *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 11742–11751, doi:10.1021/j100030a019.
 305. Kresheck, G. C.; Hargraves, W. A. Thermometric titration studies of the effect of head group, chain length, solvent, and temperature on the thermodynamics of Micelle formation. *J. Colloid Interface Sci.* **1974**, *48*, 481–493, doi:10.1016/0021-9797(74)90193-3.
 306. Broecker, J.; Keller, S. Impact of Urea on Detergent Micelle Properties. *Langmuir* **2013**, *29*, 8502–8510, doi:10.1021/la4013747.
 307. 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.
 308. Zhu, Y.; Masuyama, A.; Okahara, M. Preparation and surface active properties of amphipathic compounds with two sulfate groups and two lipophilic alkyl chains. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1990**, *67*, 459–463, doi:10.1007/BF02638962.
 309. Davis, B. M.; Richens, J. L.; O'Shea, P. Label-Free Critical Micelle Concentration Determination of Bacterial Quorum Sensing Molecules. *Biophys. J.* **2011**, *101*, 245–254, doi:10.1016/j.bpj.2011.05.033.
 310. 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.
311. 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.
 312. Fielding, L. NMR Methods for the Determination of Protein- Ligand Dissociation Constants. *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, *3*, 39–53.
 313. 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.
 314. Barauskiene, 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.
 315. Salim, N. N.; Feig, A. L. Isothermal titration calorimetry of RNA. *Methods* **2009**, *47*, 198–205, doi:10.1016/j.ymeth.2008.09.003.
 316. Kaufmann, L.; Dzyuba, E. V.; Malberg, F.; Löw, N. L.; Groschke, M.; Brusilowskij, B.; Huuskonen, J.; Rissanen, K.; Kirchner, B.; Schalley, C. A. Substituent effects on axle binding in amide pseudorotaxanes: comparison of NMR titration and ITC data with DFT calculations. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 5954, doi:10.1039/c2ob25196e.
 317. 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 Counteraction Effects. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 12281–12288, doi:10.1021/ja064012h.
 318. Frasca, V. Biophysical characterization of antibodies with isothermal titration calorimetry. *J. Appl. Bioanal.* **2016**, *2*, 90–102, doi:10.17145/jab.16.013.
 319. 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.
 320. 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.
 321. Yu, Y.; Pushparaj, V.; Nalamasu, O.; McGown, L. G-Quadruplex Guanosine Gels and Single Walled Carbon Nanotubes. *Molecules* **2013**, *18*, 15434–15447, doi:10.3390/molecules181215434.
 322. Wong, A.; Ida, R.; Spindler, L.; Wu, G. Disodium Guanosine 5'-Monophosphate Self-Associates into Nanoscale Cylinders at pH 8: A Combined Diffusion NMR Spectroscopy and Dynamic Light Scattering Study. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6990–6998, doi:10.1021/ja042794d.
 323. 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.
 324. 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.
 325. 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.
 326. Origin® 7.0 OriginLab Corporation, Northampton, USA 2002.
 327. QikProp, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2017.
 328. Grimme, S.; Ehrlich, S.; Goerigk, L. Effect of the damping function in dispersion

corrected density functional theory. *J. Comput. Chem.* **2011**, *32*, 1456–1465,
doi:10.1002/jcc.21759.

PIELIKUMI

1. Pielikums

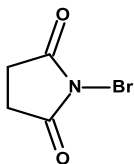
^1H , ^{13}C un ^{15}N KMR dati 1,4-DHP atvasinājuma **1a** bromēšanas starpproduktiem metanolā

Sav.	$\delta^1\text{H}$, mlj. d.							$\delta^{13}\text{C}$, mlj. d.							$\delta^{15}\text{N}$, mlj. d.
	C ₂ -R	C ₆ -R	C ₄ H	C ₃ -Me	COOHCH ₃	C ₂	C ₃	C ₄	C ₃ -Me	C ₅	C ₆	C ₂ -R	C ₆ -R	COOCH ₂ CH ₃	
1a	2.23	2.23	3.77	0.89	1.28, 4.15	146.18	102.96	28.09	21.05	102.96	146.18	17.25	17.25	168.44, 59.12, 13.34	135.21
SP1	2.38	2.48	3.35	0.88	1.31; 4.24 1.34, 4.28	165.29	59.44	38.44	14.12	116.75	150.50	24.33	21.96	167.48, 62.48, 14.27 166.93, 60.79, 13.86	311.35
SP2'	1.84	2.26	3.54	1.19	1.31, 4.16 1.36, 4.26 3.44 (OMe)	86.63	65.22	39.66	18.2	97.78	149.21	20.58	18.58	168.14, 58.89, 12.77 168.94, 61.17, 13.48 48.9 (OMe)	112.82
SP2	2.17	1.63	3.03	1.45	1.35, 4.15 1.31, 4.32 3.44 (OMe)	157.01	66.85	43.69	16.64	73.38	91.38	23.09	23.15	166.11, 62.07, 12.77 167.08, 63.83, 12.67 48.9 (OMe)	325.15
2a'	4.44, 4.71	2.26	3.81	0.90	4.18, 1.29 4.35, 1.31	144.71	105.10	28.34	20.35	102.4	146.49	25.41	17.12	166.84, 59.41, 13.34 168.05, 59.86, 13.21	130.12
2a	4.88, 4.51	4.88, 4.51	3.89	0.99	4.24, 1.32	142.12	106.77	29.37	20.98	106.77	142.12	27.28	27.28	166.26, 60.48, 14.26	126.20

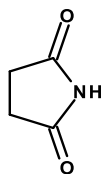
* Spektri tika reģistrēti deļterētā hidroformā.

2. Pielikums

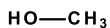
Atomu koordinātas optimizētam molekulām.



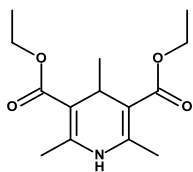
NBS	NBS		
C	0.00000	1.16380	1.06660
N	0.00000	0.00000	0.31810
O	0.00000	2.26040	0.60500
C	0.00000	0.76660	2.52260
C	0.00000	-1.16380	1.06660
C	0.00000	-0.76660	2.52260
O	0.00000	-2.26040	0.60500
Br	0.00000	0.00000	-1.54590
H	0.87870	1.19540	2.98960
H	-0.87870	1.19540	2.98960
H	0.87870	-1.19540	2.98960
H	-0.87870	-1.19540	2.98960



NHS	NHS		
C	0.00000	1.14760	-0.16090
N	0.00000	0.00000	-0.90580
C	0.00000	-1.14760	-0.16090
C	0.00000	-0.76710	1.30320
C	0.00000	0.76710	1.30320
O	0.00000	-2.25210	-0.62390
O	0.00000	2.25210	-0.62390
H	0.00000	0.00000	-1.91060
H	-0.87670	-1.19680	1.77420
H	0.87670	-1.19680	1.77420
H	0.87670	1.19680	1.77420
H	-0.87670	1.19680	1.77420

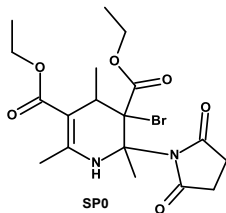


MeOH	metanols		
C	-0.00260	0.72560	0.00000
O	0.05390	-0.68640	0.00000
H	1.01480	1.09620	0.00000
H	-0.50820	1.10120	-0.88390
H	-0.50820	1.10120	0.88390
H	-0.82350	-1.04420	0.00000



1a

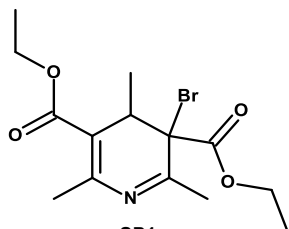
	1a		
N	-1.34120	-0.82780	0.38670
C	-0.15880	-0.49180	-0.23620
C	-0.00030	0.76640	-0.69210
C	-1.03920	1.83000	-0.33910
C	-2.41320	1.18090	-0.17970
C	-2.49850	-0.09040	0.25960
C	-3.73950	-0.85870	0.63920
C	0.81520	-1.64020	-0.32390
C	1.20490	1.14290	-1.45450
C	-0.63760	2.60240	0.93220
C	-3.63140	1.97550	-0.42370
O	2.04020	0.38430	-1.87710
O	-4.76190	1.55840	-0.41670
O	-3.36540	3.24300	-0.66690
O	1.29200	2.44290	-1.64960
C	-4.44770	4.14950	-0.89480
C	2.42570	2.96740	-2.34590
C	-3.85930	5.53420	-1.07240
C	2.29820	4.47610	-2.36230
H	-1.43120	-1.76460	0.71780
H	-1.08890	2.54140	-1.14850
H	-4.42040	-0.25080	1.21460
H	-4.25730	-1.19420	-0.25360
H	-3.46290	-1.73010	1.22290
H	1.82640	-1.31800	-0.12950
H	0.54210	-2.40330	0.39740
H	0.78400	-2.07970	-1.31630
H	0.32700	3.08210	0.79950
H	-1.36990	3.37100	1.15920
H	-0.57140	1.93040	1.78430
H	-4.99150	3.83360	-1.77650
H	-5.11840	4.11440	-0.04550
H	3.32670	2.65520	-1.83300
H	2.44200	2.56000	-3.34870
H	-4.66240	6.24500	-1.24680
H	-3.31740	5.84330	-0.18340
H	-3.18280	5.56730	-1.92160
H	3.15070	4.90170	-2.88450
H	1.39290	4.78780	-2.87460
H	2.28210	4.87600	-1.35310



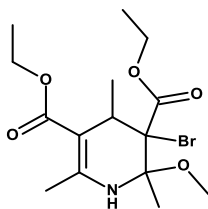
SP0

O	0.77400	-0.00720	-1.00890
---	---------	----------	----------

C	1.85810	0.15060	-0.54080
N	2.32630	1.35010	-0.01000
C	2.91040	-0.91870	-0.42560
C	4.05340	-0.24540	0.31510
C	3.51900	1.11600	0.69070
O	4.04020	1.84460	1.47380
C	1.46510	2.60810	0.07300
C	1.22620	3.16820	-1.38980
C	0.21600	2.27300	0.89550
N	2.15370	3.64540	0.76820
C	3.22020	4.32700	0.24500
C	3.99230	5.10950	1.28040
C	3.48530	4.28120	-1.07400
C	4.70330	4.93910	-1.59340
O	5.21740	5.93010	-1.14750
O	5.21040	4.30260	-2.63060
C	6.33980	4.86060	-3.30960
C	6.61250	4.00540	-4.52800
C	2.56950	3.55160	-2.06120
C	2.37670	4.36750	-3.36300
Br	0.12000	4.86950	-1.18540
C	0.38070	2.27370	-2.33460
O	0.84930	1.78090	-3.30920
O	-0.86050	2.16700	-1.96790
C	-1.77730	1.36980	-2.73930
C	-2.44440	2.20220	-3.81740
H	2.48190	-1.75650	0.11210
H	3.16670	-1.25360	-1.42410
H	4.36130	-0.76010	1.21570
H	4.93130	-0.09330	-0.30500
H	-0.39220	3.15700	1.01900
H	-0.37420	1.49450	0.44540
H	0.54800	1.94080	1.87490
H	2.10650	3.59500	1.76150
H	5.05750	4.96650	1.16710
H	3.78360	6.16780	1.17740
H	3.70270	4.79330	2.27440
H	6.11470	5.88200	-3.58750
H	7.18620	4.86870	-2.63530
H	7.47210	4.40390	-5.05880
H	6.82870	2.97990	-4.24600
H	5.76350	4.00820	-5.20400
H	3.01430	2.60400	-2.34530
H	3.20670	4.18630	-4.02920
H	1.47520	4.08940	-3.88800
H	2.33080	5.43050	-3.15600
H	-1.24750	0.52480	-3.15060
H	-2.49820	1.01740	-2.01580
H	-3.17310	1.58840	-4.33960
H	-2.96090	3.05270	-3.38350
H	-1.72280	2.56490	-4.54220



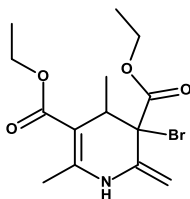
	SP1		
N	-1.60130	-3.90330	1.65250
C	-2.61760	-3.09630	1.08040
C	-0.53330	-3.39610	2.09140
C	-2.71200	-1.79910	1.38640
C	-3.52740	-3.91380	0.20980
C	-1.69370	-1.19780	2.35250
C	-3.80210	-0.92110	0.87180
C	-0.36060	-1.87550	2.00010
C	-2.12710	-1.37240	3.81820
C	0.16440	-1.51640	0.59770
C	0.52010	-4.28770	2.67610
O	-4.38330	-1.06420	-0.16530
O	-4.04780	0.06850	1.69600
O	0.67960	-2.32310	-0.10940
O	0.00830	-0.26110	0.31320
C	0.56970	0.25560	-0.91210
C	-5.07830	1.01450	1.37700
C	0.29880	1.74230	-0.93800
C	-5.16350	1.99540	2.52590
Br	1.10750	-1.19650	3.20120
H	-2.98270	-4.22480	-0.67980
H	-3.80180	-4.81150	0.75560
H	-4.41450	-3.38410	-0.09110
H	-1.58680	-0.14350	2.15200
H	-1.45000	-0.86240	4.49180
H	-3.11080	-0.93920	3.94190
H	-2.18020	-2.41750	4.10720
H	1.48410	-4.08800	2.22050
H	0.61420	-4.10830	3.74270
H	0.24100	-5.31850	2.50820
H	1.62990	0.03970	-0.91500
H	0.10420	-0.25570	-1.74380
H	-4.82320	1.50730	0.44790
H	-6.00860	0.47910	1.24140
H	0.72190	2.16370	-1.84460
H	-0.76710	1.94590	-0.93090
H	0.75560	2.23380	-0.08500
H	-5.93590	2.72850	2.31360
H	-5.41770	1.48880	3.45150
H	-4.22240	2.51850	2.66280



SP2'

SP2'

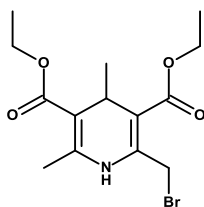
N	-2.06030	-1.20100	0.88810
C	-0.90920	-0.53900	1.16610
C	-3.00330	-0.83820	-0.14370
C	-0.56380	0.59620	0.49840
C	-0.11320	-1.18320	2.27600
C	-4.36970	-1.42920	0.20570
C	-2.92520	0.71320	-0.26890
O	-2.58620	-1.30200	-1.39700
C	-1.47770	1.18610	-0.58230
C	0.69950	1.28480	0.78740
C	-3.42760	1.45700	0.99350
Br	-4.21170	1.32040	-1.70640
C	-0.92670	0.94850	-1.99970
O	1.59330	0.88360	1.49220
O	0.78840	2.44740	0.16670
C	1.98260	3.21980	0.29290
O	-3.85610	0.92420	1.96670
O	-3.32110	2.75010	0.86790
C	-3.83100	3.59620	1.91140
C	1.83510	4.43700	-0.59510
C	-3.67930	5.02710	1.44590
C	-2.46900	-2.68700	-1.61420
H	-2.33850	-1.91830	1.51980
H	0.16730	-0.45760	3.02580
H	-0.69910	-1.96690	2.74160
H	0.79460	-1.61960	1.87650
H	-5.04800	-1.29770	-0.62630
H	-4.25830	-2.49310	0.38730
H	-4.78790	-0.97970	1.09040
H	-1.49750	2.25470	-0.44800
H	-1.60760	1.31250	-2.75940
H	-0.00560	1.51250	-2.08930
H	-0.71650	-0.09140	-2.19310
H	2.11400	3.50150	1.33000
H	2.82840	2.61510	-0.00780
H	-4.86830	3.34040	2.08460
H	-3.26890	3.40500	2.81600
H	2.72900	5.04920	-0.51850
H	1.70710	4.14740	-1.63340
H	0.98210	5.03780	-0.29550
H	-4.06040	5.69320	2.21340
H	-2.63740	5.27180	1.26580
H	-4.24050	5.19860	0.53320
H	-1.92790	-2.80390	-2.54420
H	-1.91050	-3.17110	-0.82080
H	-3.43980	-3.16050	-1.71490



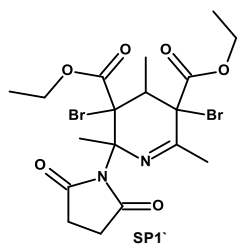
SP3'

SP3'

N	3.07880	-2.15710	-1.48030
C	3.59380	-0.91870	-1.25290
C	2.16150	-2.82920	-0.65720
C	3.35140	-0.28130	-0.07740
C	4.42330	-0.39400	-2.39700
C	1.93640	-4.12100	-0.81150
C	1.51790	-1.87770	0.33450
C	2.60300	-1.02540	1.02800
C	3.87680	1.05970	0.19280
C	0.45990	-1.00140	-0.36810
Br	0.41990	-2.86290	1.70850
C	3.56100	-1.83570	1.91430
O	4.40600	1.79450	-0.60440
O	3.71170	1.41270	1.45400
O	0.04190	-1.23630	-1.45690
O	0.07130	-0.01110	0.37850
C	4.19030	2.68530	1.89440
C	3.89520	2.79760	3.37480
C	-1.00010	0.83690	-0.07480
C	-1.30580	1.80980	1.04240
H	3.34510	-2.62740	-2.31930
H	5.37550	-0.02740	-2.04220
H	4.59260	-1.18130	-3.12220
H	3.90810	0.42480	-2.88540
H	1.21290	-4.64680	-0.22310
H	2.48000	-4.67830	-1.55650
H	2.09430	-0.30860	1.64970
H	3.04670	-2.28680	2.75460
H	4.06280	-2.61980	1.35670
H	4.31640	-1.16550	2.30720
H	5.25340	2.74920	1.70040
H	3.69210	3.46480	1.33200
H	4.25000	3.75750	3.73960
H	2.82870	2.73150	3.56650
H	4.39690	2.01300	3.93270
H	-0.68040	1.34350	-0.97600
H	-1.85350	0.21320	-0.30630
H	-2.11480	2.46520	0.73370
H	-1.61440	1.28340	1.94040
H	-0.43970	2.42090	1.27540



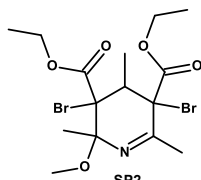
	2a'	2a'	2a'
N	-2.28460	-4.58600	-0.92960
C	-3.19290	-3.56830	-0.70710
C	-0.92860	-4.44190	-0.71190
C	-2.72960	-2.30340	-0.67770
C	-4.60540	-4.06250	-0.50310
C	-1.27730	-2.03240	-1.04620
C	-3.54070	-1.10060	-0.40710
C	-0.40110	-3.21120	-0.64520
C	-1.13070	-1.73520	-2.54970
C	1.00850	-2.96500	-0.24480
C	-0.20030	-5.74470	-0.60620
O	-3.07680	0.01010	-0.44420
O	-4.80830	-1.31010	-0.12890
O	1.78780	-3.79100	0.14700
O	1.32140	-1.69590	-0.34950
C	2.62640	-1.24690	0.03100
C	-5.66670	-0.17530	0.04420
C	2.67850	0.24260	-0.23310
C	-7.05730	-0.68930	0.34370
Br	-0.43410	-6.53330	1.23060
H	-2.64400	-5.51320	-1.01480
H	-5.30500	-3.52970	-1.12910
H	-4.66390	-5.12070	-0.73110
H	-4.90150	-3.91960	0.52990
H	-0.95390	-1.16130	-0.50310
H	-1.74070	-0.88200	-2.83060
H	-0.09780	-1.51050	-2.79850
H	-1.44690	-2.59080	-3.14070
H	-0.62650	-6.48370	-1.26750
H	0.85880	-5.66060	-0.73370
H	2.78090	-1.47220	1.07880
H	3.36610	-1.78060	-0.55140
H	-5.28780	0.43400	0.85370
H	-5.65120	0.41290	-0.86440
H	3.65700	0.62450	0.04090
H	2.50930	0.45510	-1.28450
H	1.92840	0.76690	0.35150
H	-7.73010	0.15520	0.46070
H	-7.42700	-1.31100	-0.46520
H	-7.07130	-1.26740	1.26220



SP1'

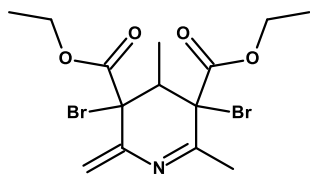
C	-2.89890	-0.04550	-1.71300
C	-1.77010	0.92610	-1.98390
O	-0.66800	0.71320	-1.06940
C	-0.65260	1.30820	0.08990
O	-1.51160	2.00390	0.51290
C	0.69170	1.00660	0.79620
C	0.96330	-0.49790	0.78490
Br	0.45070	1.51350	2.72810
C	1.77930	1.82820	0.06150
C	1.76250	3.32460	0.40460
C	3.19340	1.18380	0.07790
Br	4.00360	1.33380	1.91280
C	4.02190	2.03130	-0.93060
O	3.61960	2.18460	-2.04150
O	5.07390	2.60010	-0.44660
C	5.85140	3.46420	-1.29490
C	6.96100	4.04160	-0.44600
C	3.09630	-0.34990	-0.30660
C	2.84130	-0.60260	-1.81290
N	1.99770	-1.02400	0.33410
C	-0.09290	-1.41110	1.36990
N	4.32770	-1.09730	0.09000
C	4.46500	-1.99120	1.16270
C	5.52850	-0.95100	-0.58620
O	5.71960	-0.16560	-1.46410
C	6.55520	-1.90090	-0.02920
C	5.82290	-2.64840	1.07450
O	3.67490	-2.20500	2.02270
H	-3.67790	0.10940	-2.45400
H	-2.55200	-1.07070	-1.79060
H	-3.32920	0.10900	-0.72970
H	-2.08880	1.95430	-1.90100
H	-1.33470	0.76630	-2.95860
H	1.49740	1.75510	-0.98100
H	2.36630	3.87980	-0.30300
H	0.75250	3.71070	0.32830
H	2.12810	3.52150	1.40190
H	6.23270	2.87910	-2.12080
H	5.20200	4.23650	-1.68290
H	7.56580	4.70480	-1.05580
H	6.55490	4.61100	0.38490
H	7.59950	3.25750	-0.05300
H	2.73540	-1.67430	-1.92870
H	1.91250	-0.13660	-2.10890
H	3.63160	-0.24670	-2.44560
H	-0.07690	-2.35200	0.83650
H	0.13210	-1.59920	2.41450
H	-1.08990	-0.98800	1.31960
H	6.90810	-2.53550	-0.83330
H	7.39600	-1.31880	0.33130

H	6.30200	-2.58340	2.04340
H	5.66470	-3.69740	0.84620



SP2

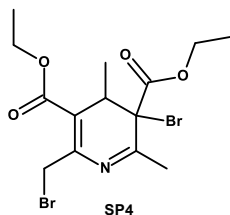
N	-1.27900	-2.45290	1.75620
C	-2.47530	-2.10480	1.87020
C	-0.34360	-1.75840	0.88600
C	-3.08680	-0.91000	1.11580
C	-3.34850	-2.91870	2.80040
C	1.06270	-2.15890	1.32340
C	-0.61620	-0.21510	0.89260
O	-0.58340	-2.10030	-0.45040
C	-2.06150	0.05220	0.42190
C	-4.05740	-1.46520	0.05560
Br	-4.27300	0.06110	2.44620
C	0.43720	0.51650	0.02080
Br	-0.36640	0.48550	2.76520
C	-2.44660	1.53790	0.40750
O	-4.19500	-2.63100	-0.12960
O	-4.65440	-0.52820	-0.61590
O	0.02850	0.68970	-1.20170
O	1.49820	0.85910	0.42890
C	-5.60230	-0.89690	-1.63830
C	-6.13260	0.38300	-2.24260
C	0.86760	1.38320	-2.15140
C	1.82610	0.43080	-2.83640
C	-0.42370	-3.44250	-0.86350
H	-4.38420	-2.93740	2.49260
H	-2.96230	-3.92870	2.83130
H	-3.29760	-2.49440	3.79850
H	1.81240	-1.78550	0.63760
H	1.27750	-1.79270	2.31770
H	1.12010	-3.23990	1.35210
H	-2.04620	-0.26880	-0.60920
H	-1.76090	2.07870	-0.23140
H	-3.43960	1.65720	-0.00110
H	-2.42210	1.98240	1.39130
H	-5.09430	-1.50890	-2.37130
H	-6.38760	-1.48020	-1.17620
H	-6.85520	0.13690	-3.01450
H	-6.62580	0.99260	-1.49240
H	-5.33260	0.96130	-2.69350
H	0.16790	1.81010	-2.85480
H	1.38420	2.18140	-1.63970
H	2.39530	0.98160	-3.58030
H	2.52310	-0.00760	-2.13020
H	1.28590	-0.36510	-3.33900
H	-0.81520	-3.49250	-1.87030
H	0.62100	-3.73010	-0.87640
H	-0.98200	-4.12100	-0.23000



SP3

SP3

N	-2.33530	-2.51670	-0.65880
C	-3.41830	-2.23390	-0.09220
C	-1.19670	-1.69080	-0.62230
C	-3.66920	-0.92100	0.65560
C	-4.53830	-3.24700	-0.16630
C	-0.27490	-1.86090	-1.55630
C	-1.09970	-0.69560	0.51180
C	-2.44290	0.04070	0.70540
C	-4.79480	-0.16900	-0.08240
Br	-4.35150	-1.44370	2.48370
C	0.01130	0.34010	0.23120
Br	-0.63220	-1.77460	2.16840
C	-2.44080	1.03660	1.87170
O	-4.98180	-0.35550	-1.24290
O	-5.42240	0.69310	0.64730
O	1.16220	0.04310	0.73490
O	-0.21640	1.30240	-0.43260
C	-6.47130	1.49050	0.05640
C	2.28000	0.93420	0.53870
C	-7.01250	2.38770	1.14560
C	3.45260	0.33750	1.28350
H	-5.51860	-2.80100	-0.06110
H	-4.47830	-3.76160	-1.11620
H	-4.41320	-3.97290	0.63150
H	0.62950	-1.28280	-1.60780
H	-0.42360	-2.60940	-2.31590
H	-2.52370	0.62510	-0.20800
H	-2.25620	0.54910	2.81820
H	-1.67390	1.78410	1.71060
H	-3.39080	1.54890	1.92970
H	-6.04830	2.05530	-0.76310
H	-7.22750	0.81970	-0.32850
H	2.47060	1.01470	-0.52300
H	2.00870	1.90780	0.92400
H	-7.81130	2.99900	0.73770
H	-7.41210	1.80220	1.96700
H	-6.23890	3.04510	1.52860
H	4.31820	0.98050	1.15960
H	3.23480	0.25300	2.34320
H	3.69620	-0.64740	0.89830

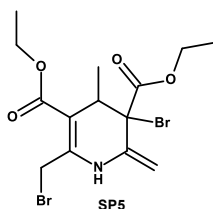


SP4

SP4

C	-4.01730	1.02880	-0.41630
---	----------	---------	----------

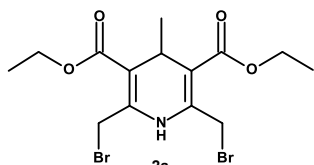
O	-2.78910	0.28180	-0.43430
C	-2.51260	-0.52110	0.55900
C	-1.23130	-1.25900	0.32380
C	-0.42130	-0.93460	-0.92730
C	-0.79180	-2.24070	1.11810
C	-0.91480	-1.74770	-2.13670
C	1.04980	-1.17560	-0.54860
N	0.31510	-3.03790	0.76280
C	-1.37660	-2.67240	2.42610
C	1.19940	-2.60750	-0.02580
C	2.34510	-3.49360	-0.40750
C	1.57130	-0.20570	0.53030
Br	2.24720	-0.79260	-2.11480
O	1.18400	1.01620	0.33020
C	1.64120	2.07060	1.20920
Br	-2.56210	-4.27250	2.14130
O	2.26940	-0.57460	1.41890
C	0.72470	2.21070	2.40620
C	-4.03330	1.90200	-1.65140
O	-3.21670	-0.64280	1.51860
H	-4.84280	0.32800	-0.40850
H	-4.05170	1.61760	0.49040
H	-0.53030	0.11280	-1.15330
H	-0.40450	-1.44810	-3.04290
H	-0.77690	-2.81520	-1.99730
H	-1.97270	-1.56100	-2.27390
H	-0.60430	-3.03290	3.08540
H	-2.00830	-1.94730	2.89410
H	2.29050	-4.40690	0.16820
H	2.29830	-3.73110	-1.46580
H	3.29030	-2.99480	-0.22130
H	2.65960	1.86110	1.49820
H	1.62230	2.95410	0.59040
H	1.07520	3.03240	3.02330
H	-0.28990	2.43030	2.09200
H	0.72040	1.31040	3.00960
H	-4.95380	2.47770	-1.66740
H	-3.19600	2.59330	-1.65030
H	-3.98870	1.30140	-2.55440



SP5

C	2.94550	3.59930	0.71850
O	1.81950	2.78430	0.36710
C	1.76490	1.53900	0.78210
C	0.57610	0.83920	0.24800
C	-0.39770	1.63690	-0.62030
C	0.36010	-0.48440	0.42370
C	0.06730	1.70620	-2.08350
C	-1.79280	0.99820	-0.43790
N	-0.70790	-1.11160	-0.15040
C	1.20060	-1.41530	1.25080
C	-2.30550	1.10490	1.01440

Br	-3.17260	2.03340	-1.46460
C	-1.73600	-0.45890	-0.85060
Br	2.51310	-2.36670	0.06990
C	-2.49960	-1.10250	-1.71180
O	-2.02070	2.24870	1.55960
C	-2.46940	2.50820	2.90370
C	-2.00210	3.89650	3.27640
C	2.72500	4.96990	0.11540
O	2.61040	1.06740	1.49480
O	-2.90960	0.22960	1.54860
H	3.02220	3.64850	1.79640
H	3.84280	3.13640	0.32870
H	-0.45440	2.64140	-0.23640
H	-0.57120	2.35510	-2.67080
H	1.07040	2.11340	-2.11310
H	0.08490	0.72710	-2.54910
H	-0.79690	-2.10010	-0.04220
H	1.80030	-0.91880	1.98460
H	0.60300	-2.20060	1.68350
H	-2.31600	-2.14260	-1.92470
H	-3.31990	-0.62570	-2.20950
H	-3.54790	2.42630	2.92530
H	-2.04760	1.75410	3.55510
H	-2.32450	4.11920	4.28880
H	-0.92000	3.96530	3.23910
H	-2.42390	4.64100	2.60910
H	3.56890	5.60850	0.36090
H	2.64290	4.91250	-0.96540
H	1.82340	5.42880	0.50840



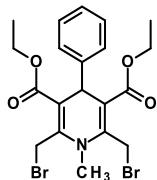
2a

N	-3.30660	-1.54320	1.79420
C	-4.60110	-1.13910	1.54250
C	-2.23640	-1.07340	1.05030
C	-4.81330	-0.02750	0.82190
C	-5.62740	-2.02670	2.17510
C	-2.34030	0.10590	0.42350
C	-1.07350	-2.01640	1.02360
C	-3.63260	0.90750	0.56380
C	-6.16120	0.32730	0.30680
C	-1.19710	0.72050	-0.31300
Br	-0.02470	-1.87020	2.73380
C	-3.55050	1.95810	1.68840
O	-7.17880	-0.27010	0.53200
O	-6.12590	1.37420	-0.48280
O	-1.45050	1.96270	-0.64500
O	-0.14560	0.19330	-0.55350
C	-7.32870	1.78850	-1.14450
C	-0.40670	2.76600	-1.21680
C	-6.98450	2.97960	-2.01170
C	-0.95530	4.16290	-1.40470
Br	-5.86930	-3.70600	1.09650
H	-3.18230	-2.39810	2.29490
H	-5.28650	-2.37450	3.13830

H	-6.60310	-1.59220	2.23160
H	-1.39900	-3.04380	1.00200
H	-0.36520	-1.80600	0.25270
H	-3.79940	1.42830	-0.36370
H	-4.48010	2.51870	1.74100
H	-3.38830	1.48020	2.65050
H	-2.74270	2.65840	1.50980
H	-8.07010	2.03900	-0.39750
H	-7.69910	0.96190	-1.73720
H	-0.09910	2.32760	-2.15670
H	0.43770	2.76430	-0.54080
H	-7.87860	3.31190	-2.53050
H	-6.23650	2.71860	-2.75360
H	-6.60920	3.80340	-1.41290
H	-0.17960	4.79820	-1.82370
H	-1.26800	4.58750	-0.45610
H	-1.80180	4.16240	-2.08300

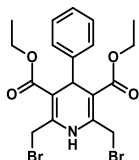
3. Pielikums

Atomu koordinātas optimizētam molekulām.

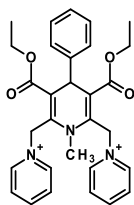


2b	2b		
C	1.25190	1.46150	0.38600
C	0.79790	0.34560	1.30830
H	0.81520	0.72100	2.32800
C	1.69220	-0.90830	1.28550
C	-0.64980	0.00050	0.95970
C	-1.00120	-0.02120	-0.35930
C	-2.33980	-0.46360	-0.87400
H	-2.92440	-0.90230	-0.07380
H	-2.25600	-1.15940	-1.70770
N	-0.09760	0.47080	-1.30970
C	0.85370	1.42050	-0.92120
C	1.32280	2.37690	-1.98160
H	1.63200	3.31200	-1.52640
H	0.56710	2.54240	-2.74710
C	1.61120	-1.81190	2.35820
H	0.94420	-1.59440	3.18760
C	2.38020	-2.97620	2.37860
H	2.30330	-3.65800	3.22120
C	3.25260	-3.26010	1.32330
H	3.85430	-4.16430	1.33730
C	3.34980	-2.36450	0.25720
H	4.03210	-2.56630	-0.56400
C	2.57740	-1.19800	0.23940
H	2.68590	-0.50620	-0.58910
C	2.12320	2.53370	0.92480
O	2.52310	3.52740	0.33250
O	2.45980	2.29290	2.21440
C	-1.61240	-0.29620	2.05170
O	-2.70560	-0.83520	1.94540
O	-1.13880	0.10290	3.25790
C	-0.24310	0.08490	-2.72240
H	0.67630	0.31200	-3.25640
H	-0.38920	-0.99550	-2.78670
H	-1.08520	0.59180	-3.20320
Cl	-3.32240	0.95220	-1.51090
Cl	2.81220	1.76060	-2.86630
C	-2.01130	-0.12060	4.39400
H	-2.96220	0.38720	4.20790
H	-2.21530	-1.19290	4.47100
C	-1.30680	0.41880	5.62450
H	-1.10590	1.48970	5.52460
H	-0.35750	-0.09780	5.79570
H	-1.94160	0.26900	6.50400
C	3.32830	3.26700	2.84300
H	4.24340	3.35140	2.24920
H	2.82940	4.24100	2.82780
C	3.60580	2.78780	4.25520

H	4.09710	1.81030	4.24870
H	2.68030	2.70710	4.83350
H	4.26520	3.50130	4.76050



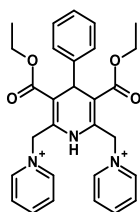
2f		2f	
C	1.07050	1.74730	0.53230
C	0.56580	0.56340	1.35620
H	0.31290	0.92840	2.35210
C	1.65000	-0.50860	1.54200
C	-0.70220	-0.01210	0.72690
C	-0.93070	0.12810	-0.61250
C	-2.08990	-0.53160	-1.33970
H	-3.04150	-0.11110	-1.01680
H	-2.11390	-1.60010	-1.14300
N	-0.10540	0.93910	-1.36040
H	-0.28720	1.01220	-2.35640
C	0.78420	1.83000	-0.80080
C	1.36130	2.89410	-1.71860
H	2.44480	2.92700	-1.64160
H	0.97780	3.88040	-1.46020
C	2.11270	-0.83350	2.82340
H	1.69520	-0.31780	3.68320
C	3.09870	-1.80700	3.00620
H	3.44380	-2.04420	4.00900
C	3.63920	-2.47340	1.90380
H	4.40560	-3.23050	2.04280
C	3.18590	-2.15830	0.61940
H	3.59900	-2.67000	-0.24540
C	2.20050	-1.18470	0.44260
H	1.85950	-0.95190	-0.56230
C	1.89770	2.78170	1.16910
O	2.41670	3.73260	0.59180
O	2.02990	2.59130	2.50300
C	2.82820	3.56980	3.21260
H	2.39580	4.56130	3.04740
H	3.83660	3.57020	2.78770
C	-1.66140	-0.75120	1.55980
O	-2.67000	-1.31830	1.15000
O	-1.32660	-0.73850	2.87150
C	-2.22200	-1.44190	3.76700
H	-2.26940	-2.49060	3.45850
H	-3.22540	-1.01770	3.66350
Cl	0.97540	2.63940	-3.48200
Cl	-2.03260	-0.34010	-3.15160
C	2.82950	3.18490	4.68000
H	1.81400	3.18380	5.08810
H	3.26470	2.19180	4.82570
H	3.42570	3.90750	5.24700
C	-1.67910	-1.28700	5.17500
H	-2.33560	-1.80840	5.87940
H	-0.67620	-1.71600	5.25910
H	-1.63290	-0.23300	5.46600



3b

3b			
C	-0.84370	0.10250	0.69560
C	0.11810	1.09550	0.05930
H	0.41900	1.80910	0.82480
C	-0.58590	1.89680	-1.04790
C	1.35910	0.35850	-0.41090
C	1.27410	-0.93940	-0.81210
C	2.43890	-1.71620	-1.40510
N	3.44950	-2.18580	-0.39630
H	2.98220	-1.08850	-2.10640
H	2.10040	-2.61270	-1.92360
N	0.06460	-1.65340	-0.66680
C	-0.90980	-1.17460	0.23240
C	-1.89320	-2.20380	0.74880
N	-3.27790	-2.16760	0.14420
H	-2.04620	-2.04990	1.81680
H	-1.51920	-3.21410	0.57820
C	-1.10130	3.16790	-0.75370
H	-0.96010	3.58630	0.23840
C	-1.78170	3.90500	-1.72620
H	-2.16590	4.89110	-1.48360
C	-1.95350	3.38320	-3.01120
H	-2.47160	3.96040	-3.77040
C	-1.43840	2.12060	-3.31800
H	-1.54990	1.71680	-4.32000
C	-0.76110	1.38370	-2.34210
H	-0.34360	0.41670	-2.60930
C	-1.74650	0.56420	1.79370
O	-2.79170	-0.00180	2.09730
O	-1.29160	1.65800	2.40160
C	-2.10460	2.19920	3.50070
H	-2.23240	1.40620	4.24160
H	-3.08650	2.45070	3.09170
C	2.64990	1.10860	-0.46930
O	3.71570	0.62690	-0.84240
O	2.50830	2.37310	-0.08390
C	3.69830	3.23250	-0.14040
H	4.05970	3.22820	-1.17170
H	4.46370	2.78250	0.49720
C	-4.10780	-3.19710	0.45350
H	-3.68980	-3.98560	1.06870
C	-5.41640	-3.21560	0.00720
H	-6.05440	-4.05090	0.27230
C	-5.88590	-2.15300	-0.77300
H	-6.90970	-2.14620	-1.13270
C	-5.02040	-1.10260	-1.07710
H	-5.34260	-0.25650	-1.67300
C	-3.71850	-1.12620	-0.59650
H	-3.01180	-0.33010	-0.78880
C	4.76640	-1.99640	-0.64660
H	5.01450	-1.44480	-1.54280
C	5.72820	-2.47750	0.22970

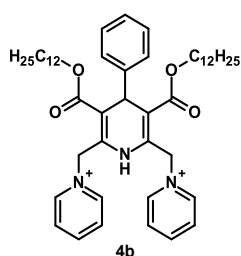
H	6.77500	-2.31220	0.00210
C	5.32850	-3.15130	1.38370
H	6.06650	-3.53240	2.08220
C	3.96230	-3.32800	1.63070
H	3.61020	-3.84480	2.51600
C	3.04270	-2.83630	0.72180
H	1.97310	-2.93760	0.85460
C	-0.28510	-2.70920	-1.63900
H	-1.36550	-2.84120	-1.66680
H	0.01290	-2.41260	-2.64780
H	0.17140	-3.67610	-1.40030
C	-1.37890	3.40400	4.05910
H	-0.39370	3.13080	4.44720
H	-1.25760	4.18470	3.30270
H	-1.96440	3.82140	4.88380
C	3.28960	4.61280	0.32650
H	4.16100	5.27360	0.29070
H	2.51550	5.03660	-0.31890
H	2.92230	4.59240	1.35650



3f

C	-0.98230	0.18010	0.87920
C	0.04870	1.03710	0.14570
H	0.42230	1.78930	0.84180
C	-0.63050	1.78580	-1.01040
C	1.22850	0.19660	-0.32780
C	1.11380	-1.14940	-0.47270
C	2.15720	-2.07140	-1.07220
N	3.36620	-2.30380	-0.21530
H	2.52190	-1.65810	-2.00980
H	1.72450	-3.05850	-1.26760
N	-0.05630	-1.79520	-0.07140
H	-0.15320	-2.77910	-0.27270
C	-1.05800	-1.15900	0.66730
C	-2.10650	-2.08920	1.23930
N	-3.22570	-2.40850	0.28180
H	-2.56620	-1.64190	2.11900
H	-1.66280	-3.04890	1.51450
C	-0.90900	3.15460	-0.89190
H	-0.61460	3.68470	0.00900
C	-1.55070	3.84250	-1.92450
H	-1.75560	4.90360	-1.81990
C	-1.91810	3.17060	-3.09370
H	-2.40900	3.70710	-3.89950
C	-1.64080	1.80690	-3.22460
H	-1.91140	1.28250	-4.13630
C	-1.00390	1.11970	-2.18820
H	-0.78330	0.06210	-2.31120
C	-1.94500	0.86970	1.79310
O	-3.07930	0.46230	2.02920
O	-1.42930	1.97090	2.32620

C	-2.28400	2.73880	3.24660
H	-2.59710	2.06580	4.04830
H	-3.17060	3.04940	2.68820
C	2.49370	0.88810	-0.70290
O	3.45340	0.32640	-1.22480
O	2.46480	2.18430	-0.40980
C	3.64260	2.98370	-0.77080
H	3.78340	2.89330	-1.85080
H	4.50970	2.54490	-0.27030
C	-3.46710	-3.69940	-0.06570
H	-2.80900	-4.44900	0.35700
C	-4.52000	-4.02530	-0.90230
H	-4.69030	-5.06480	-1.15850
C	-5.34610	-3.00640	-1.38860
H	-6.18080	-3.24160	-2.04110
C	-5.08880	-1.68680	-1.01340
H	-5.71300	-0.86890	-1.35490
C	-4.02210	-1.40720	-0.17200
H	-3.79240	-0.41580	0.19880
C	4.59440	-2.23370	-0.78120
H	4.63170	-1.94620	-1.82320
C	5.73240	-2.49950	-0.03460
H	6.70210	-2.43670	-0.51490
C	5.60470	-2.82750	1.31540
H	6.48380	-3.03490	1.91690
C	4.32800	-2.88080	1.88620
H	4.18580	-3.12760	2.93200
C	3.22370	-2.61510	1.09690
H	2.21170	-2.63490	1.48140
C	-1.47280	3.91040	3.75520
H	-0.58170	3.57430	4.29260
H	-1.16670	4.57040	2.93870
H	-2.08690	4.49350	4.44830
C	3.38110	4.40960	-0.33640
H	4.24630	5.02630	-0.59800
H	2.50450	4.82340	-0.84210
H	3.23250	4.47600	0.74520



4b

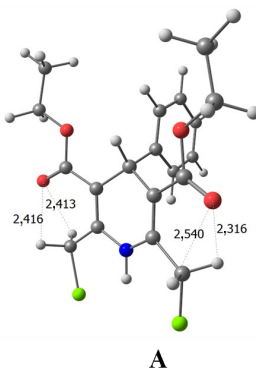
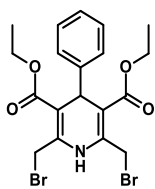
C	-1.29500	-0.94530	-0.09930
C	-1.72680	-3.47460	1.05410
C	-0.75260	-3.31280	0.06630
C	-0.54060	-2.05710	-0.50510
C	-2.26980	-1.12160	0.89040
C	-2.48490	-2.37660	1.46300
N	-0.66400	-0.96050	-5.15360
C	-1.59770	-0.96570	-6.13340
C	-1.98460	-2.15390	-6.73280
C	-1.41280	-3.35230	-6.30770
C	-0.45860	-3.32810	-5.28560

C	-0.10010	-2.11610	-4.72570
N	3.51770	0.46860	0.02650
C	3.36330	-0.87610	0.01300
C	4.08130	-1.67810	0.88260
C	4.97160	-1.08630	1.78220
C	5.10910	0.30220	1.78810
C	4.36400	1.06080	0.90120
C	-1.06140	0.44100	-0.71210
C	0.31400	0.98780	-0.34280
C	1.34700	0.91270	-1.21890
N	1.12040	0.45710	-2.52650
C	-0.17710	0.39550	-3.05800
C	-1.24800	0.43630	-2.22550
C	2.77680	1.33190	-0.95020
C	-0.22290	0.34860	-4.57210
C	0.52340	1.58200	1.00910
C	-2.63350	0.44530	-2.77950
O	-3.54360	0.63060	-1.83050
O	-2.88550	0.29390	-3.97190
C	-4.97490	0.57720	-2.16950
O	1.62980	1.86910	1.45860
O	-0.61950	1.76300	1.66260
C	-0.55270	2.28890	3.03610
C	-5.64570	1.90310	-1.84850
C	-5.28100	3.05680	-2.79140
C	-6.04250	4.34960	-2.46990
C	-5.77160	5.48750	-3.46220
C	-6.55320	6.76820	-3.14330
C	-6.34970	7.88890	-4.17040
C	-7.13990	9.16290	-3.84590
C	-6.97740	10.27280	-4.89180
C	-7.77050	11.54350	-4.56310
C	-7.62840	12.65000	-5.61580
C	-8.42350	13.91420	-5.27490
C	-0.46660	3.80730	3.08470
C	-1.68440	4.55060	2.52070
C	-1.55650	6.07300	2.66570
C	-2.76510	6.85470	2.13600
C	-2.61330	8.37310	2.29420
C	-3.81230	9.17870	1.77910
C	-3.63830	10.69400	1.94550
C	-4.83330	11.51420	1.44430
C	-4.64850	13.02790	1.60920
C	-5.84730	13.85110	1.12150
C	-5.65250	15.36200	1.28400
H	-1.81070	1.10910	-0.28730
H	1.86450	0.62880	-3.18940
H	-1.89520	-4.45030	1.49920
H	-0.16380	-4.16610	-0.25910
H	0.21260	-1.94470	-1.28250
H	-2.86190	-0.27020	1.21180
H	-3.24670	-2.49560	2.22740
H	3.36110	1.31540	-1.87650
H	2.79920	2.34100	-0.54270
H	-0.91510	1.10010	-4.94550
H	0.76850	0.55000	-4.99160
H	-2.02660	-0.00890	-6.39740
H	-2.73360	-2.12770	-7.51560
H	-1.70650	-4.29330	-6.76130
H	0.00770	-4.23790	-4.92590

H	0.62800	-2.02940	-3.92930
H	-5.06670	0.31040	-3.22320
H	-5.36350	-0.23190	-1.54620
H	2.64090	-1.27240	-0.68840
H	3.93820	-2.75190	0.85270
H	5.54270	-1.69820	2.47290
H	5.77660	0.80390	2.47890
H	4.40510	2.14180	0.87740
H	0.30510	1.82220	3.52430
H	-1.47820	1.92140	3.48350
H	-5.43220	2.17300	-0.80630
H	-6.72730	1.71850	-1.90050
H	-4.19940	3.24990	-2.74540
H	-5.49810	2.75580	-3.82600
H	-5.78770	4.67980	-1.45270
H	-7.12040	4.13510	-2.45840
H	-4.69450	5.71200	-3.48060
H	-6.03130	5.14900	-4.47580
H	-6.26480	7.13020	-2.14580
H	-7.62410	6.52800	-3.08160
H	-5.27900	8.13220	-4.23870
H	-6.64410	7.52410	-5.16550
H	-6.82820	9.54170	-2.86160
H	-8.20590	8.91110	-3.75080
H	-5.91140	10.52490	-4.99240
H	-7.29420	9.89200	-5.87370
H	-7.44670	11.93050	-3.58570
H	-8.83430	11.28760	-4.45070
H	-6.56560	12.90530	-5.73100
H	-7.95660	12.26390	-6.59090
H	-8.09550	14.34430	-4.32120
H	-8.30160	14.68310	-6.04500
H	-9.49480	13.69750	-5.18890
H	0.45220	4.13540	2.58430
H	-0.34220	4.06610	4.14530
H	-1.82100	4.29400	1.46080
H	-2.59020	4.20810	3.04090
H	-0.64970	6.41080	2.14290
H	-1.40430	6.32040	3.72580
H	-2.92090	6.61160	1.07420
H	-3.67140	6.52260	2.66260
H	-1.70470	8.70160	1.76860
H	-2.45160	8.60840	3.35580
H	-3.97940	8.94620	0.71680
H	-4.72080	8.85660	2.30850
H	-2.73040	11.01400	1.41340
H	-3.46380	10.92180	3.00700
H	-5.01280	11.28480	0.38340
H	-5.73960	11.19920	1.98170
H	-3.74660	13.34490	1.06480
H	-4.46000	13.25630	2.66830
H	-6.03820	13.61880	0.06420
H	-6.74690	13.53710	1.66910
H	-4.78270	15.71370	0.71670
H	-6.52690	15.91750	0.92910
H	-5.49260	15.63110	2.33470

4. Pielikums

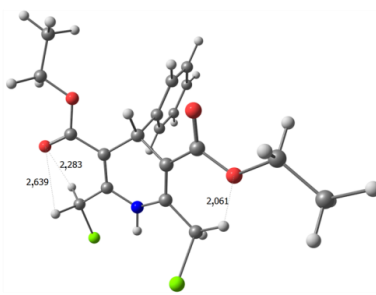
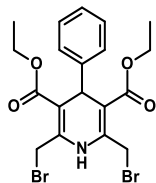
Atomu koordinātas optimizētam molekulām.



2f konformērs A

Atom	x	y	z
N	-2.38400	2.25470	-1.14790
C	-1.29750	3.06090	-0.88390
C	-1.48460	4.27980	-0.30060
C	-2.89270	4.83950	-0.09940
C	-3.91630	3.70460	-0.06290
C	-3.64320	2.50200	-0.64620
C	-4.66300	1.37790	-0.74710
C	0.07460	2.49690	-1.21570
Cl	-4.06020	-0.10180	-1.62300
Cl	0.02890	0.99160	-2.24270
C	-0.31820	5.07500	0.10990
C	-5.22470	3.92280	0.57030
O	-6.15510	3.12420	0.58300
O	0.85530	4.74520	-0.02190
O	-5.30850	5.13210	1.17150
O	-0.67410	6.24680	0.68510
C	-3.24570	5.88690	-1.16530
C	0.41670	7.08700	1.12030
C	-0.18760	8.34930	1.70650
C	-6.56790	5.42640	1.81360
C	-6.46760	6.82580	2.39130
C	-3.28230	5.54930	-2.52440
C	-3.60480	6.50270	-3.49020
C	-3.89730	7.81460	-3.11160
C	-3.86410	8.16200	-1.76020
C	-3.54070	7.20450	-0.79740
H	-2.21340	1.35460	-1.58310
H	-2.92030	5.35200	0.86430
H	-4.97310	1.04450	0.24160
H	-5.55450	1.70700	-1.27630
H	0.61810	2.23160	-0.30890
H	0.67320	3.22330	-1.75770
H	1.06110	7.30010	0.26150
H	1.01670	6.53730	1.85310
H	0.60990	9.01980	2.04480
H	-0.82790	8.11620	2.56380
H	-0.78850	8.87620	0.95830
H	-7.36890	5.34380	1.07220
H	-6.75580	4.67360	2.58630
H	-7.40760	7.09070	2.88750

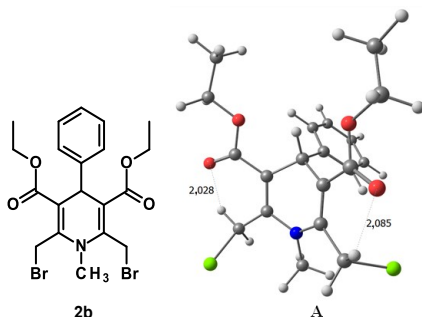
H	-5.66000	6.88920	3.12820
H	-6.27500	7.55940	1.60190
H	-3.05590	4.53250	-2.83470
H	-3.62720	6.22010	-4.53970
H	-4.14830	8.55840	-3.86330
H	-4.08990	9.18060	-1.45400
H	-3.51550	7.47850	0.25390



2f konformērs B

N	-2.42890	2.27800	-1.27310
C	-1.29740	3.03870	-1.00880
C	-1.42260	4.20880	-0.32300
C	-2.82190	4.77340	-0.05470
C	-3.85330	3.65600	0.01490
C	-3.64020	2.48510	-0.64870
C	-4.65170	1.35400	-0.70700
C	-0.04860	2.44840	-1.59540
Cl	-4.26510	0.08690	-1.96300
Cl	0.33980	0.80260	-0.89240
C	-0.32640	5.04650	0.22050
C	-5.10390	3.86380	0.75880
O	-5.99740	3.03620	0.89860
O	-0.53040	5.98470	0.97360
O	-5.17600	5.10380	1.28960
O	0.92960	4.69950	-0.15700
C	-3.16640	5.84220	-1.10320
C	1.99770	5.50030	0.40210
C	3.30380	4.97400	-0.16360
C	-6.38250	5.41100	2.02070
C	-6.28750	6.86040	2.45930
C	-3.67010	5.49700	-2.36410
C	-3.93920	6.47740	-3.31950
C	-3.70870	7.82240	-3.02840
C	-3.20770	8.17760	-1.77500
C	-2.93830	7.19570	-0.82130
H	-2.29490	1.37720	-1.71680
H	-2.78920	5.27730	0.91220
H	-4.70780	0.82830	0.24660
H	-5.64430	1.72840	-0.93870
H	0.81380	3.07750	-1.42240
H	-0.18540	2.27930	-2.66700
H	1.96030	5.42180	1.49320
H	1.82500	6.54810	0.13850
H	4.14140	5.55340	0.23990
H	3.32320	5.06070	-1.25530
H	3.45350	3.92290	0.10450
H	-7.24370	5.23280	1.36900
H	-6.46500	4.72560	2.87100

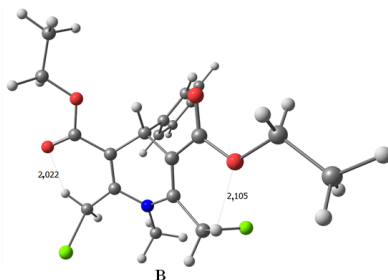
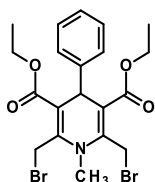
H	-7.19010	7.14050	3.01360
H	-5.42040	7.01710	3.10910
H	-6.19280	7.52250	1.59270
H	-3.86150	4.45470	-2.60300
H	-4.33180	6.18890	-4.29160
H	-3.91980	8.58730	-3.77150
H	-3.02600	9.22300	-1.53740
H	-2.53610	7.47280	0.14850



2b konformērs A

	2b		
N	-1.48330	-0.77200	2.69530
C	-2.73440	-0.64740	2.07950
C	-2.93210	0.36170	1.18270
C	-1.83750	1.39920	1.01860
C	-0.48940	0.68230	1.09350
C	-0.34630	-0.29810	2.03280
C	-1.34780	-1.48280	3.97450
C	-3.75490	-1.69970	2.41460
C	0.95520	-0.96230	2.37530
Cl	0.99860	-2.71080	1.82140
Cl	-4.83820	-1.20690	3.81200
C	-4.17840	0.48410	0.38970
C	0.60640	1.06640	0.16960
C	-1.90080	2.55660	2.03300
O	-5.14850	-0.25790	0.42470
O	1.77380	0.70780	0.21290
O	0.16740	1.90650	-0.80220
O	-4.14930	1.58190	-0.40170
C	-5.34400	1.83400	-1.17410
C	-5.13950	3.14680	-1.90590
C	1.15960	2.30030	-1.77800
C	0.48070	3.22620	-2.76880
C	-1.14620	3.71200	1.77810
C	-1.13760	4.77620	2.67670
C	-1.88840	4.70790	3.85210
C	-2.64920	3.56980	4.11100
C	-2.65630	2.50320	3.20870
H	-1.93170	1.83870	0.02840
H	-0.68780	-0.91490	4.63540
H	-2.31840	-1.53520	4.46390
H	-0.94430	-2.49170	3.84540
H	-4.42960	-1.84040	1.57670
H	-3.29090	-2.63990	2.70930
H	1.77370	-0.46550	1.86730
H	1.13300	-0.99170	3.45020
H	-5.50320	0.99690	-1.86190
H	-6.20050	1.86900	-0.49370
H	-6.02760	3.38070	-2.50300

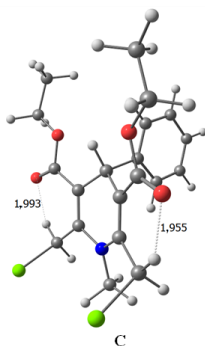
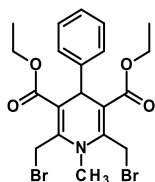
H	-4.97380	3.96520	-1.19800
H	-4.27690	3.09180	-2.57810
H	1.55400	1.39940	-2.25860
H	1.99110	2.78650	-1.25850
H	1.19990	3.53980	-3.53320
H	0.09570	4.12230	-2.27110
H	-0.35380	2.72230	-3.26690
H	-0.56320	3.77430	0.86310
H	-0.54630	5.66220	2.45790
H	-1.88360	5.53700	4.55510
H	-3.24520	3.50690	5.01820
H	-3.26810	1.63290	3.42320



2b konformērs B

	2b		
N	-1.49880	-0.79950	2.78520
C	-2.75530	-0.66020	2.17810
C	-2.91120	0.28940	1.21310
C	-1.77590	1.28630	0.99080
C	-0.45600	0.54870	1.11840
C	-0.35010	-0.40530	2.08820
C	-1.37370	-1.41280	4.11430
C	-3.78460	-1.67960	2.58540
C	0.92440	-1.11410	2.44600
Cl	0.86390	-2.89000	1.99310
Cl	-4.88250	-1.09560	3.93270
C	-4.09900	0.51070	0.35450
C	0.67050	0.92230	0.22340
C	-1.90100	2.51130	1.91600
O	-4.14730	1.39250	-0.48860
O	1.81710	0.49890	0.25770
O	0.28300	1.84330	-0.68640
O	-5.15340	-0.30800	0.58520
C	-6.34870	-0.02740	-0.18310
C	-7.43750	-0.96060	0.31200
C	1.30240	2.28510	-1.61100
C	0.66350	3.30550	-2.53320
C	-2.82420	3.51480	1.58320
C	-2.99180	4.63120	2.40010
C	-2.23890	4.77000	3.56760
C	-1.31430	3.78360	3.90440
C	-1.14690	2.66600	3.08410
H	-1.87460	1.65390	-0.02900
H	-0.68310	-0.82280	4.72310
H	-2.33860	-1.38620	4.61750
H	-1.01190	-2.44490	4.06280
H	-4.44550	-1.90570	1.75780
H	-3.31910	-2.59270	2.95350
H	1.75510	-0.68840	1.89410
H	1.12430	-1.09350	3.51770

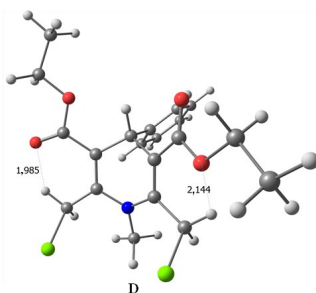
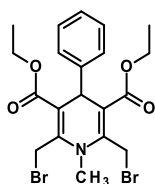
H	-6.61280	1.02460	-0.04130
H	-6.12740	-0.17370	-1.24500
H	-8.36780	-0.76200	-0.23140
H	-7.16520	-2.00900	0.15030
H	-7.62220	-0.81110	1.38050
H	1.68370	1.41510	-2.15510
H	2.13490	2.70730	-1.03910
H	1.40520	3.66870	-3.25290
H	0.28400	4.16120	-1.96590
H	-0.16960	2.86330	-3.08900
H	-3.41330	3.41050	0.67720
H	-3.71070	5.39790	2.12130
H	-2.36800	5.64160	4.20440
H	-0.71500	3.88230	4.80640
H	-0.40730	1.91910	3.35410



2b konformērs C

	2b		
N	-1.54100	-0.97220	2.65920
C	-2.80960	-0.69940	2.13100
C	-2.96580	0.30690	1.22110
C	-1.79860	1.23750	0.91050
C	-0.47840	0.50330	1.09550
C	-0.39040	-0.51050	2.00310
C	-1.37460	-1.75040	3.89520
C	-3.95170	-1.56840	2.58580
C	0.89880	-1.20740	2.34230
Cl	0.95450	-2.90740	1.66630
Cl	-3.68080	-3.33680	2.21850
C	-4.25240	0.57730	0.52550
C	0.68560	0.97000	0.29420
C	-1.86520	2.53830	1.72200
O	-5.35080	0.09580	0.76350
O	1.84570	0.59200	0.36650
O	0.31830	1.93930	-0.57850
O	-4.09310	1.49330	-0.45990
C	-5.29240	1.85320	-1.18150
C	-4.92120	2.95020	-2.16130
C	1.38560	2.49560	-1.37900
C	0.79450	3.62110	-2.20610
C	-2.04600	3.76430	1.07210
C	-2.11640	4.95550	1.79570
C	-2.00640	4.93850	3.18590
C	-1.82480	3.72210	3.84570
C	-1.75490	2.53500	3.11860
H	-1.87310	1.52110	-0.13690
H	-0.77890	-1.17950	4.61560
H	-2.34040	-1.94080	4.35140

H	-0.89620	-2.71260	3.70090
H	-4.12130	-1.50120	3.66210
H	-4.85810	-1.27640	2.06740
H	1.73390	-0.68070	1.89570
H	1.04500	-1.31070	3.41680
H	-5.67930	0.96230	-1.68660
H	-6.05000	2.18020	-0.46300
H	-5.80530	3.24800	-2.73580
H	-4.54080	3.83140	-1.63450
H	-4.15430	2.60730	-2.86360
H	1.80870	1.70130	-2.00250
H	2.17790	2.84720	-0.71110
H	1.57530	4.07270	-2.82790
H	0.37510	4.39930	-1.56030
H	0.00170	3.25160	-2.86480
H	-2.13080	3.78100	-0.01090
H	-2.25710	5.89810	1.27230
H	-2.06100	5.86480	3.75200
H	-1.73710	3.69730	4.92920
H	-1.61260	1.59590	3.64600



2b konformērs D

	2b		
N	-1.52680	-0.72970	2.75080
C	-2.79060	-0.52350	2.18500
C	-2.91490	0.39110	1.18010
C	-1.75380	1.35120	0.95690
C	-0.47230	0.54140	1.03040
C	-0.38240	-0.41520	2.00240
C	-1.42500	-1.36010	4.07350
C	-3.92970	-1.31550	2.75680
C	0.88140	-1.17400	2.30060
Cl	0.68320	-2.97960	2.11840
Cl	-3.86260	-3.09410	2.33000
C	-4.06720	0.56390	0.26660
C	0.63180	0.85810	0.08510
C	-1.81030	2.54040	1.93430
O	-4.17520	1.51740	-0.48890
O	1.76810	0.40540	0.08620
O	0.23880	1.77170	-0.82940
O	-4.98400	-0.43320	0.29490
C	-6.09840	-0.28870	-0.61890
C	-6.98260	-1.51050	-0.45620
C	1.23720	2.17610	-1.79310
C	0.59890	3.21820	-2.69170
C	-2.82770	3.49390	1.76840
C	-2.94260	4.57440	2.64000
C	-2.04180	4.72750	3.69630
C	-1.02310	3.79250	3.86470
C	-0.90870	2.70930	2.98960

H	-1.85860	1.75960	-0.04660
H	-0.39560	-1.32900	4.41960
H	-2.02620	-0.79720	4.79440
H	-1.74960	-2.40340	4.05170
H	-3.94020	-1.27700	3.84610
H	-4.87420	-0.95340	2.37160
H	1.65440	-0.87060	1.60200
H	1.23470	-1.01080	3.32050
H	-6.62780	0.64110	-0.38660
H	-5.70370	-0.19850	-1.63530
H	-7.82830	-1.44770	-1.15000
H	-6.42540	-2.42750	-0.67080
H	-7.38000	-1.57970	0.56180
H	1.56570	1.29290	-2.35030
H	2.10540	2.56890	-1.25460
H	1.32390	3.55510	-3.44060
H	0.27240	4.08710	-2.11140
H	-0.27060	2.80590	-3.21370
H	-3.52880	3.37920	0.94690
H	-3.73670	5.30240	2.49170
H	-2.13130	5.57050	4.37690
H	-0.30920	3.90350	4.67750
H	-0.09880	2.00030	3.12770



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.