

**LATVIJAS UNIVERSITĀTE**

**Aiva PLOTNIECE**

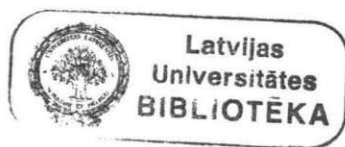
**POLIFUNKCIONĀLO KVATERNIZĒTO PIRIDĪNA  
ATVASINĀJUMU SINTĒZE UN ĪPAŠĪBAS**

Promocijas darbs doktora grāda iegūšanai

Zinātniskie vadītāji:  
Dr.habil.chem., profesors **Gunārs Duburs**  
Dr.chem., vadošais pētnieks **Gunārs Tirzītis**

**Rīga, 2003**

Promocijas darba “Polifunkcionālo kvaternizēto piridīnija atvasinājumu sintēze un īpašības” oponenti:



Promocijas darba aizstāvēšana:

## KOPSAVILKUMS

Polifunkcionālo kvaternizēto piridīna atvasinājumu sintēze un īpašības. Plotniece A., zinātniskie vadītāji Dr. hab. chem., prof. G. Duburs, Dr. chem., vadošais pētnieks G. Tirzītis. Promocijas darbs, 87 lappuses, 7 attēli, 2 tabulas, 164 literatūras avoti, 1 pielikums. Latviešu valodā.

4-PIRIDIL-1,4-DHP, KVATERNIZĒŠANA, PIRIDĪNIJA ILĪDI, 1,3-DIPOLĀRĀS CIKLOPIEVIEŅOŠANĀS REAKCIJAS, MIHAELA PIEVIEŅOŠANĀS, ĶĪMISKĀ UN ELEKTROĶĪMISKĀ OKSIDĒŠANA, GĒNU TRANSFEKCIJA, CITOTOKSICITĀTE.

Lai izveidotu potenciālus gēnu transfekcijas aģentus, kas molekulā vienlaicīgi saturētu vairākas farmakoforas grupas, bija paredzēts mērķtiecīgi sintezēt polifunkcionālus 4-(N-alkilpiridil)-1,4-DHP atvasinājumus, veikt to ķīmisko, fizikoķīmisko un bioloģisko īpašību pārbaudi. Darba pirmajā nodaļā apskatītas šādu savienojumu iegūšanas likumsakarības, kvaternizējot piridilaizvietotāju pie 1,4-DHP cikla. Otrajā nodaļā dots dažu iegūto savienojumu ķīmisko īpašību raksturojums (piridīnija ilīdu veidošanās, ciklopievienošanās reakcijas, oksidēšana). Trešajā nodaļā aplūkotas iegūto savienojumu un dažu fizioloģiski aktīvu 1,4-DHP atvasinājumu bioloģiskās īpašības (inkorporācija dabīgās un modeļmembrānās, gēnu transfekcijas aktivitāte, citotoksicitāte).

## ABSTRACT

Synthesis and properties of polyfunctional quaternized pyridine derivatives. Plotniece A., supervisors Dr. hab. chem., prof. G. Duburs, Dr. chem. G. Tirzītis. Dissertation, 87 pages, 7 figures, 2 tables, 164 literature references, 1 appendix. In Latvian.

4-PYRIDYL-1,4-DHP, QUATERNIZATION, YLIDE OF PYRIDINIUM, REACTION OF 1,3-BIPOLAR CYCLOADDITION, MICHAEL'S ADDITION, CHEMICAL AND ELECTROCHEMICAL OXIDATION, GENE DELIVERY, CYTOTOXICITY

To generate potential gene transfection agents that could simultaneously contain several pharmacophore groups in their molecule the synthesis of polyfunctional 4-(N-alkylpyridyl)-1,4-DHP derivatives was carried out. The studies of their chemical, physicochemical and biological properties were carried out as well. In the first chapter of the present work the regularities of the synthesis of such compounds by quaternizing the pyridylsubstituent at the 1,4-DHP cycle are reviewed. In the second chapter the characterization of the chemical properties (the formation of pyridinium ylides, cycloaddition reactions, oxidation) of some of the synthesized compounds is given. The third chapter is devoted to the biological properties (incorporation into the model and native membranes, the activity of gene delivery, cytotoxicity) of the synthesized compounds and some physiologically active 1,4-DHP derivatives.

## Saturs

Ievads.....	7
1. 4-(N-Alkilpiridil)-1,4-dihidropiridīnu sintēze.....	9
1.1. Literatūras izvērtējums.....	9
1.1.1.1,4-Dihidropiridīnu sintēze.....	9
1.1.2. Hanča sintēzes apstākļi un mehānisms.....	10
1.1.3. 4-Piridil-1,4-dihidropiridīnu iegūšanas metodes.....	10
1.1.4. Piridīna atvasinājumu N-alkilēšana.....	12
1.1.4.1. Piridīna un pikolīnu N-alkilēšana.....	12
1.1.4.2. 4-(N-alkilpiridil)-1,4-dihidropiridīna atvasinājumu iegūšana.....	13
1.1.5. 1,4-Dihidropiridīnu rotamēri.....	14
1.2. Rezultāti un to izvērtējums.....	16
1.2.1. 4-(N-alkilpiridil)-1,4-dihidropiridīna atvasinājumu iegūšana.....	16
1.2.2. Spektrālais raksturojums.....	19
1.2.3. Bipiridila atvasinājumu alkilēšana.....	20
2. N-Alkilētu piridīnu īpašības.....	22
2.1. Literatūras izvērtējums.....	22
2.1.1. N-Ilīdu un betaīnu veidošanās.....	22
2.1.2. Piridīnija N-ilīdu īpašības.....	25
2.1.2.1. 1,3-Dipolārās ciklopievienošanās reakcijas.....	25
2.1.3. Indolizīna atvasinājumu stabilitāte.....	28
2.1.4. Hidrēto indolizīna atvasinājumu oksidēšana.....	30
2.2. Rezultāti un to izvērtējums.....	32
2.2.1. Piridīnija ilīdu reakcijas ar nepiesātinātajiem savienojumiem.....	32
2.2.2. Sintezēto savienojumu oksidēšana.....	36
3. 1,4-Dihidropiridīnu bioloģisko īpašību pētījumi.....	40
3.1. Ieskats literatūrā.....	40
3.1.1. 1,4-Dihidropiridīnu farmakoloģiskās īpašības.....	40
3.1.2. 1,4-Dihidropiridīnu membranotropās īpašības.....	41
3.1.2. Gēnu transfekcija.....	42
3.1.2.1. Katjono amfifīlu struktūra un sintēze.....	44
3.1.2.1.1. Katjoni glicerolipīdi ar gariem alkil- vai acil- aizvietotājiem....	44

3.1.2.1.2. Holesterīna atvasinājumi.....	45
3.1.2.1.3. Poliamīnu, aminoskābju un peptīdu lipofīlie atvasinājumi.....	46
3.1.2.1.4. Amonija sāļi.....	48
3.1.2.1.5. Heterociklisko savienojumu amfifīlie atvasinājumi.....	49
3.1.2.1.5.1. Imidazola atvasinājumi.....	49
3.1.2.1.5.2. Piridīna atvasinājumi.....	49
3.2. Rezultāti un to izvērtējums.....	51
3.2.1. N-Alkil-1,4-DHP ietekme uz modeļmembrānām.....	51
3.2.2. 1,4-DHP atvasinājumi kā potenciālie gēnu transfekcijas aģenti.....	54
3.2.3. 1,4-DHP citotoksicitātes noteikšana.....	57
4. Eksperimentālā daļa.....	62
4.1. Pielietotās metodes un aparātūra.....	62
4.2. Sintēžu apraksti.....	62
4.2.1. N-Alkilētu piridīnija sāļu iegūšana.....	63
4.2.2. Bipiridila atvasinājumu alkilēšana.....	70
4.2.3. Piridīnija ilīdu reakcijas ar benzilidēnacetofenonu.....	71
4.2.4. Savienojumu <b>18</b> un <b>19</b> oksidēšana.....	73
4.3. Izmantotās metodes.....	75
Secinājumi.....	76
Literatūra.....	78

## Ievads

Pēdējo 10-15 gadu laikā pasaules medicīnas praksē nozīmīga vieta atvēlēta jaunu, netradicionālu iespēju meklēšanai dažādu slimību ārstēšanai un profilaksei. Attīstoties tendencēm izlietot ģenētisko informāciju medicīnas praksē un vairāku saslimšanu molekulāro mehānismu noskaidrošanai, viena no iespējām, kas radītu revolucionāru pagrieziena 21. gs. medicīnā, ir gēnu terapija. Mūsdienās biomedicīniskā zinātne ir atklājusi, ka vairāki simptomi dažādu slimību ir saistīti ar gēnu darbības defektiem. Tāda veida slimības veiksmīgi varētu ārstēt mērķtiecīgi ievadot šūnā speciāli izveidotu, koriģētu ģenētisko materiālu. Turklāt, mērķtiecīga ģenētiskā materiāla nogādāšana noteiktās šūnās ļautu ietekmēt ne tikai iedzimtus ģenētiskās darbības traucējumus, bet arī iejaukties un efektīvi labot patoloģiskus procesus, kas rodas dažādu vīrusu infekciju, imūnsistēmas darbības traucējumu rezultātā, kā arī ietekmēt onkoloģiskās saslimšanas, sirds asinsvadu un CNS slimības to simptomātikas parādīšanās sākumposmā.

Pašlaik zināmi trīs galvenie gēnu transfekcijas veidi: virālais, nevirālais (jeb ķīmiskais vai katjono amfifīlu) un fizikālais.

Vēsturiski pirmās radās un sākotnēji straujāk attīstījās gēnu transfekcijas metodes, kas balstās uz virālajiem vektoriem. Tomēr vīrusu vektoru lietošanai ir savi negatīvie aspekti - vīrusu vektoru neprognozējamā mutagenitāte, organisma imūnsistēmas reakcija, problēmas ar vīrusu vektoru masveida ražošanu nākotnē. Kā būtiskākā negatīvā iezīme jāuzsver virālo vektoru neprognozējamā mutagenitāte. Jau vairākas reizes literatūras avotos parādās informācija par vīrusu vektoru pielietošanas bīstamajām sekām. Pēdējie dati [N2003,678] ziņo, ka šī gada pavasarī vairākiem pacientiem, kam, ārstējot imūno nepietiekamību saistītas slimības, kā gēnu transfekcijas aģentus lietojot retrovīrusus, gēnu terapijas rezultātā attīstījās leukēmija. Tādēļ klīniskie pētījumi ar šo metodi ir pārtraukti. Savukārt, fizikālās metodes - injicēšana un elektroporācija - ir grūti realizējamas.

Tādēļ, īpaši pēdējos gados, strauji attīstās ne-virālo gēnu transfekcijas aģentu pielietojums un jaunu savienojumu meklējumi. Parasti tie ir sintētiski savienojumi (katjonie lipīdi, polimēri), kas spēj veidot liposomas, kompleksēt DNS un ievadīt to mērķšūnā. Sintētiskie savienojumi ir vieglāk iegūstami, stabilāki un nav imunogēni. Literatūrā piedāvāts plašs klāsts šādu sintētisko katjono amfifīlu. Diemžēl, nevirālo gēnu transfekcijas aģentu efektivitāte pagaidām vēl ir zema. Kā jaunākā šo savienojumu grupa tiek pētīti piridīnija atvasinājumi.

Mūsu pētījumu objekts ir piridīnija atvasinājumi, kas pie gredzena kā aizvietotāju satur 1,4-dihidropiridīna (DHP) ciklu. Šādi savienojumi, no vienas puses, būtu interesanti kā potenciālie gēnu transfekcijas aģenti, jo satur lādētu piridīnija vienību, kas nodrošina liposomu veidošanos un to transportu caur šūnu membrānām, pieļaujot iespēju variēt aizvietotājus pie kvaternizētā slāpekļa atoma. No otras puses, molekula satur 1,4-DHP ciklu. Kā zināms no literatūras, 1,4-dihidropiridīna atvasinājumiem piemīt plašs farmakoloģisko īpašību spektrs. Tādejādi varētu sintezēt amfifīlus savienojumus, kuriem, pateicoties 1,4-dihidropiridīna klātbūtnēi, varētu paredzēt antimutagēnās īpašības, kas ir viena no svarīgākajām prasībām gēnu transfekcijas aģentiem, un antioksidantu īpašības, kas pasargātu ģenētisko materiālu no bojājumiem. Ne mazāk svarīga problēma ir detalizēta gēnu transfekcijas mehānisma skaidrošana. Pateicoties 1,4-DHP fluorescentajām īpašībām varētu detektēt katjonā amfifīla lokalizāciju šūnā, kā arī pētīt procesa farmakokinētiku un farmakodinamiku.

### **Darba mērķi.**

Lai izveidotu potenciālus gēnu transfekcijas aģentus, kas molekulā vienlaicīgi saturētu vairākas farmakoforas grupas, bija paredzēts mērķtiecīgi sintezēt polifunkcionālus 4-(N-alkilpiridil)-1,4-DHP atvasinājumus, veikt to ķīmisko, fizikoķīmisko un bioloģisko īpašību pārbaudi. Darba pirmajā nodaļā apskatītas šādu savienojumu iegūšanas likumsakarības, kvaternizējot piridil aizvietotāju pie 1,4-DHP cikla. Otrajā nodaļā dots dažu iegūto savienojumu ķīmisko īpašību raksturojums (piridīnija ilīdu veidošanās, ciklopievienošanās reakcijas, oksidēšana). Trešajā nodaļā aplūkotas iegūto savienojumu un dažu fizioloģiski aktīvu 1,4-DHP atvasinājumu bioloģiskās īpašības (inkorporācija dabīgās un modelmembrānās, gēnu transfekcijas aktivitāte, citotoksicitāte).

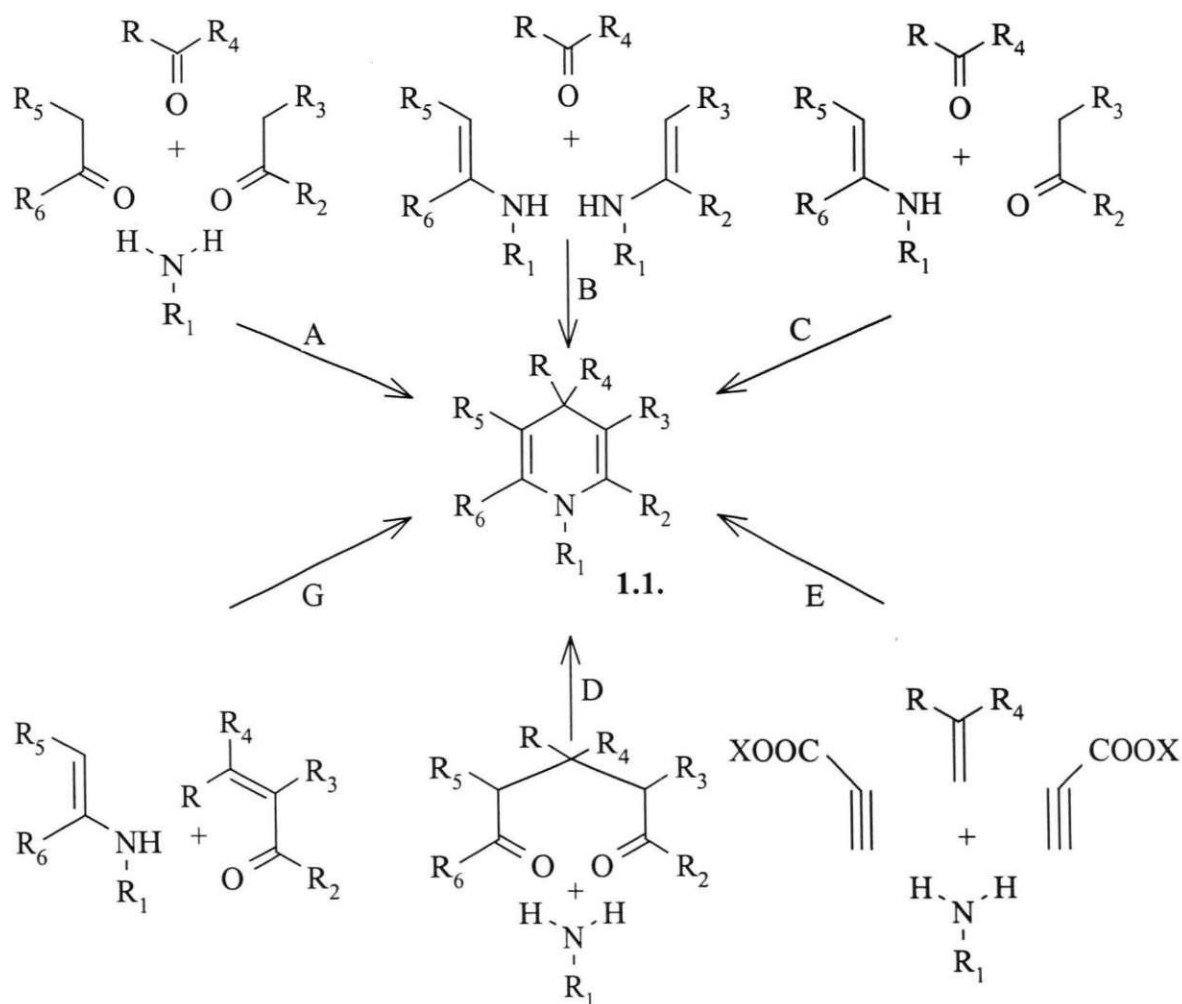


# 1. 4-(N-Alkilpiridil)-1,4-dihidropiridīnu sintēze

## 1.1. Literatūras izvērtējums

### 1.1.1.1,4-Dihidropiridīnu sintēze

Vācu ķīmiķis Hančs veica pirmo 1,4-dihidropiridīnu (1,4-DHP) sintēzi ciklokondensācijas ceļā vairāk kā simts gadus atpakaļ. Tagad ir izstrādātas jaunas dihidropiridīnu iegūšanas metodes, kā arī pilnveidota Hanča sintēze. Mūsdienās 1,4-DHP iegūst arī ar citām, atšķirīgām metodēm, piemēram, reducējot piridīnu un tā atvasinājumus ar dažādiem reducētājiem, elektrolītiski, kā arī iedarbojoties uz piridīniem ar metālorganiskajiem savienojumiem. Joprojām tiek attīstīta Hanča sintēze un tai radniecīgas ciklokondensācijas reakcijas 1,4-DHP (1.1.) iegūšanai [CP1,4-ДГП.1987]:



Hanča sintēzi definē kā karbonilsavienojuma (aldehīda vai ketona), savienojuma ar aktīvu metilēngrupu (visbiežāk - acetātiķskābes estera) un amonjaka (vai pirmējā amīna) reakciju,

kā rezultātā rodas 1,4-dihidropiridīna atvasinājums (1.1.) (A variants) [CR1972,1; IECPRD1982,191]. Hanča sintēzes modifikācijās kā izejvielas lieto minēto komponentu savstarpējo kondensācijas reakciju produktus (D, G varianti). Tā kā simetriski aizvietotie 1,4-DHP visbiežāk tiek iegūti izmantojot klasisko Hanča sintēzi (A), tad tālāk sīkāk aplūkosim tikai šo sintēzes metodi [CR1972,1].

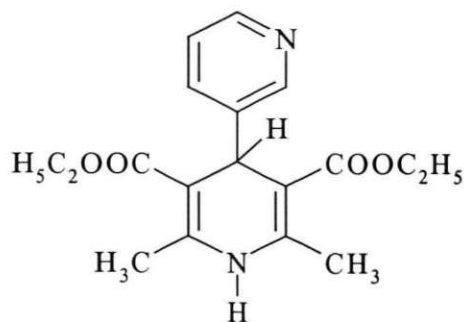
Reakciju visbiežāk realizē spirta vidē, paaugstinātā temperatūrā. Vairāk kā simts gadu laikā, kas pagājuši kopš pirmās šī savienojuma sintēzes, ir iegūti vairāki tūkstoši dažādu 1,4-DHP atvasinājumu, izmantojot gan tieši Hanča sintēzi, gan arī dažādus šīs ciklokon-  
densācijas variantus [CP1,4-ДГП1987]. Pēdējos gados attīstās arī dažādas netradicionālas Hanča sintēzes variācijas. Piemēram, 1,4-DHP atvasinājumus iegūst istabas temperatūrā, reakcijas vidē ģenerētā jodtrimetilsilāna (TMSI) klātbūtnē. Reakciju veic acetonitrila šķīdumā [TL2003,4129].

#### 1.1.2. Hanča sintēzes apstākļi un mehānisms

No literatūras [CR1972,1] zināms, ka 1,4-DHP sintēzi var realizēt dažādos apstākļos. Tā, piemēram, klasisko Hanča sintēzi realizēja bāziskā vidē, bet ir iegūti arī 1,4-DHP, kuru sintēze notikusi skābā vidē. Tomēr katrai reakcijai ir noteikta pH vērtība, pie kuras produkta iznākums ir maksimālais. Piemēram, noskaidrots, ka var condensēt acetetiķskābes etilesteri, acetaldehīdu un amonjaka ūdens šķīdumu pH intervālā no 6 līdz 10, tomēr maksimālais produkta iznākums ir pie pH 8,5 [CR1972,1]. Hanča reakcijas mehānismu detalizēti aprakstīja A.Katrickis 1986.gadā [T1986,5729].

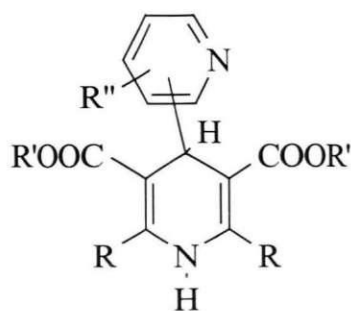
#### 1.1.3. 4-Piridil-1,4-dihidropiridīnu iegūšanas metodes

Viens no pirmajiem 1,4-DHP rindas savienojumiem, kuram tika atklātas kalcija antagonistu īpašības, bija 4-(3'-piridil)-2,6-dimetil-3,5-dietoksikarbonil-1,4-DHP (1.2.) [JMC1986,2525; BA.1129158].



1.2.

Tas deva impulsu plašai 1,4-DHP sintēzei un šo savienojumu bioloģisko īpašību izvērtēšanai. Literatūrā [GO.2940833] aprakstīti 1,4-DHP atvasinājumi, to skaitā arī 4-piridilaizvietotie, kurus pārbaudīja kā vazodilatatorus un asinsspiediedien pazeminošus līdzekļus. Tālāk apskatīti literatūrā zināmie sintēzes varianti šādu savienojumu iegūšanai ar dažādiem aizvietotājiem pie dihidropiridīna gredzena 3 un 5 vietās. Piemēram, – klasiskajā Hanča reakcijā sintezēti 4-piridilaizvietotie 1,4-DHP, izmantojot aizvietotu (vai neaizvietotu) piridīnaldehīdu, acetetiķskābes esterus un amonjaku etilspirtā, reakcijas maisījumu sildot 5-6 stundas [BA.1129158]. Rezultātā iegūst savienojumus ar vispārēju formulu (1.3.):



1.3.

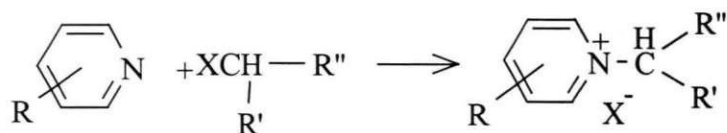
R	R'	R''	Izmantotais Py-aldehīds
CH <sub>3</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	4(3,2)-Py
CH <sub>3</sub>	t-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H	4(3)-Py
CH <sub>3</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	6'-CH <sub>3</sub>	2-Py
izo-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	3-Py

Iegūtie savienojumi ir ar līdzīgām bioloģiskajām īpašībām un ir pētīti kā potenciāli preparāti koronārās nepietiekamības un stenokardijas novēršanai. No piridīnaldehīda, acetetiķskābes oksialkilesteriem un amonjaka etilspirta šķīdumā iegūti 4-piridilaizvietoti 1,4-DHP [SA.6801484]. Šādiem savienojumiem piemīt pretstenokardijas īpašības. Sintēzei piedāvāts arī variants, izmantojot benzilidēntipa savienojumu (piridilmetilen-1,3-dikarbonilatvasinājumu) reakciju ar N-aminokrotonskābes atvasinājumu ( sintēzes ceļš G) [APP1974,279].

#### 1.1.4. Piridīna atvasinājumu N-alkilēšana

##### 1.1.4.1. Piridīna un pikolīnu N-alkilēšana

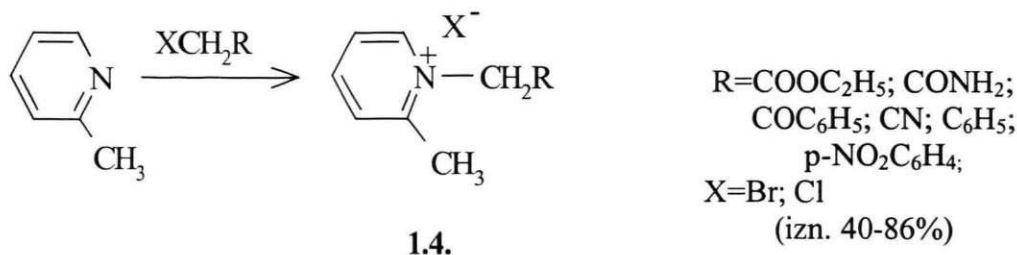
Piridīna atvasinājumu alkilēšanas jeb kvaternizācijas reakcijas ar alkilhalogēnīdiem ir pazīstamas un samērā daudz pētītas [OOX.1985; ИП.1989]. Kvaternāro savienojumu sāļi veidojas viegli un ar augstiem iznākumiem, piridīnam reaģējot ar halogēnalkāniem [AC1953,605; CB1971,1621]. To attēlo sekojoša shēma:



Ļoti labi iznākumi un salīdzinoši īss reakcijas laiks ir raksturīgs, ja reakcijā piedalās neaizvietots piridīns vai  $\beta,\gamma$ -pikolīni un jodalkāni ar īsām alkilķēdēm. Uzskata, ka šī reakcija notiek pēc bimolekulārās nukleofilās aizvietošanās mehānisma. Tāpēc reakcijas ātrums ar hlor- un bromalkāniem ir mazāks nekā ar jodalkāniem [OOX.1985; ИП.1989; AC1953,605; CB1971,1621].

N-Alkilpiridīnija sāļu veidošanos ietekmē arī halogēnalkāna uzbūve. Ja halogēnalkānā aizvietotāji  $\text{R}^1$  un  $\text{R}^2$  ir elektronakceptori grupējumi, tad tāda reakcija noris ievērojami ātrāk, maigākos apstākļos un ar augstāku iznākumu, nekā tad, ja halogēnalkānā ir tikai elektrondonori grupējumi [OOX1985]. Piridīna, hinolīna vai izohinolīna reakcija ar bromacetonu, fenacilbromīdu, hloracetonitrilu,  $\alpha$ -halogēnskābju esteriem notiek sausā acetonā, istabas temperatūrā, veidojot N-kvaternizētus sāļus [OOX1985; JHC1985,1049].

Būtiska ietekme uz piridīnija sāļi iznākumu ir elektroniskajiem un stēriskajiem piridīna gredzena aizvietotāju efektiem. Tā, piemēram, 2-metilpiridīna N-alkilēšanu veic daudz ilgstošāk vārot, dažreiz pat augstākās temperatūrās [JHC1985,681], iegūstot savienojumus ar vispārīgu formulu (1.4.), bet to iznākumi ir zemāki, salīdzinot ar neaizvietotu piridīnija sāļu iznākumiem.



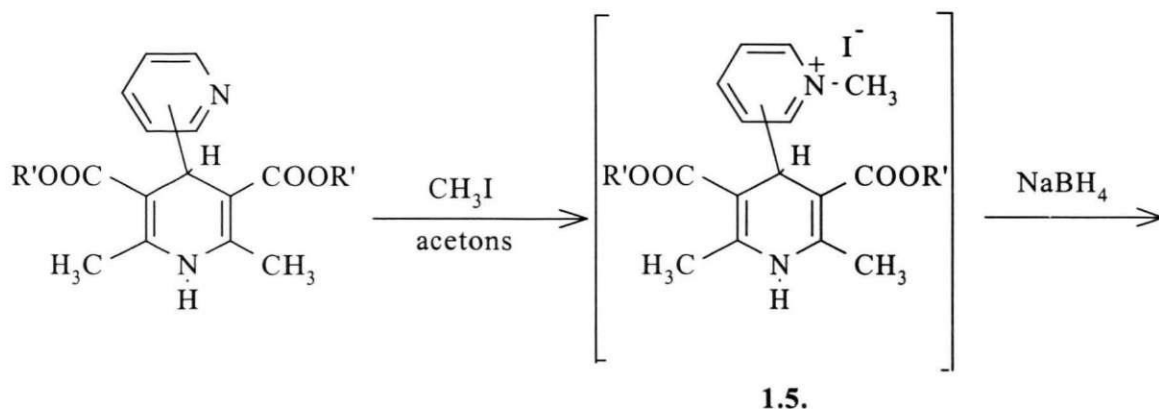
Šteinbergs (Steinberg) un līdzautori ieteic [JOC1961,368] ieteic 2-, 3- vai 4-piridīnaldehīda šķīdumu acetonā alkilēt ar metiljodīdu, kas ņemts trīs reizes lielākā molārā pārākumā nekā piridīns, galā iegūstot produktu ar 80-95% iznākumu.

Tomēr, alkilēšana ar trešējiem alkilhalogenīdiem šādos apstākļos neizdodas. Strādājot ar terciāro butilhalogenīdu, novēro tā sadalīšanos. Neraugoties uz to, ir izstrādāta cita metode piridīna un tā atvasinājumu N-alkilēšanai ar trešējiem alkilhalogenīdiem [BA.1129158] - reakciju veica AgClO<sub>4</sub> klātbūtnē. Uzskata, ka notiek starpreakcija - AgClO<sub>4</sub> iedarbojas ar t-alkilhalogenīdu, kā rezultātā rodas t-alkilkatjons, kas piedalās tālākā reakcijā.

#### 1.1.4.2. 4-(N-alkilpiridil)-1,4-dihidropiridīna atvasinājumu iegūšana

Iespēja viegli alkilēt piridīnu un tā dažādus atvasinājumus ļāva kvaternizēt piridīnu, kas kā aizvietotājs atrodas 1,4-DHP 4-stāvoklī. Literatūrā ir visai maz datu par šādām reakcijām.

Pirmoreiz to mēģināja darīt Dagnino (Dagnino) u.c. [EJMC1987,499], lai iegūtu potenciālus medicīnas preparātus ar palielinātu antihipertensīvo efektu. Pēc viņu izstrādātās metodes 1',4'-dihidro-2',6'-dimetil(bispiridīna)-3',5'-dikarboksilāta šķīdumam acetonā pievieno metiljodīdu pārākumā un karsē 7-9 stundas. Darbā nav dots dažādu piridīna izomēru reakcijas spējas salīdzinājums. Vēlāk, no reakcijas maisījuma neizdalot atbilstošos N-metilpiridīnija jodīdus (1.5.), tos reducēja par attiecīgajiem 4-heksahidropiridil-1,4-DHP:

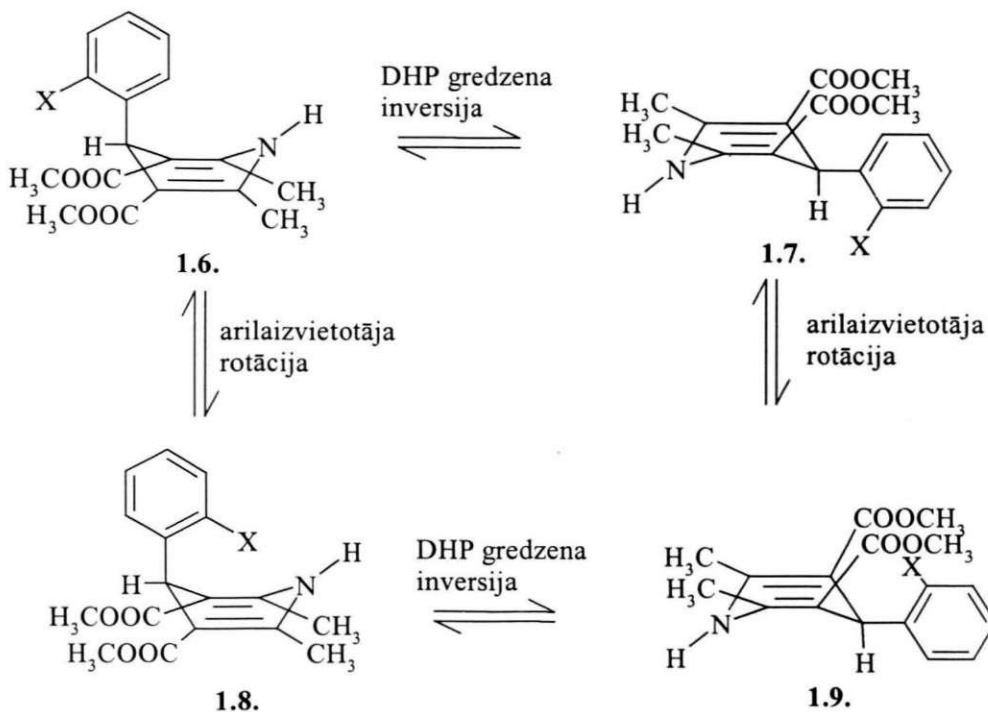


Autori parādīja, ka 1,4-DHP endocikliskā aminogrupa šādos reakcijas apstākļos nealkilējas.

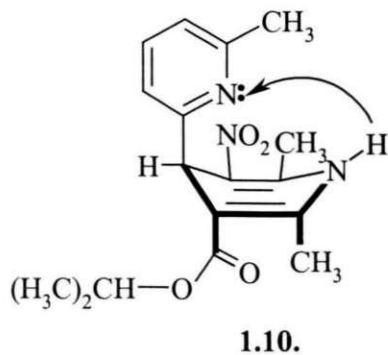
Tirzītis, Makarova un Duburs [ИАНЛ.,X.cp.1990,369] modificēja šo metodi, pierādot, ka reakcija noris ievērojami ātrāk un ar labāku iznākumu, ja metiljodīdu pievieno nevis visu uzreiz, bet pakāpeniski, pa nelielām porcijām, tādējādi reakcijai nepieciešamo laiku saīsinot līdz vienai stundai.

#### 1.1.5. 1,4-Dihidropiridīnu rotamēri

Pēdējo gadu literatūrā, runājot par hirāliem 1,4-dihidropiridīnu atvasinājumiem, kam piemīt kalcija antagonistu aktivitāte, tiek uzsvērts, ka enantiomēriem var būt dažāda, pat pretēja, farmakoloģiskā aktivitāte [ACIEE1991,1559]. Tomēr, arī optiski neaktīvu vai racēmisku 1,4-DHP gadījumā, kad molekula satur telpiski lielu, nesimetrisku aizvietotāju 4.-vietā, iespējami savienojuma rotamēri. Dažos gadījumos bioloģiskie receptori var saistīt tikai vienu rotamēru formu [BMCL1997,2519]. Rentgenstruktūras pētījumi rāda, ka dihidropiridīna molekula pastāv "laivas" formā. Tādējādi, arī aril aizvietotājs 4. pozīcijā var atrasties ekvatoriāli (**1.7.**) vai aksiāli (**1.6.**) pret DHP gredzenu. Ja arilgrupējums arī ir aizvietots (X nav H) orto vai meta vietā, tad aizvietotājs X var atrasties vienā pusē ar 4. pozīcijas H (*sin*-periplanāri) (**1.6.**) vai arī pretēji (*anti*-periplanāri) (**1.8.**). Nifedipīna tipa savienojumiem pierādīts, ka pamatā ir **1.6.** rotamēra struktūra [ACIEE1991,1559, ACIEE1996,2662].



Literatūrā [JMC1998,1827] norādīts, ka savienojumā **1.10.** ir iespējama H-saite starp dihidropiridīna NH grupu un piridilaizvietotāja slāpekļa nedalīto elektronu pāri.

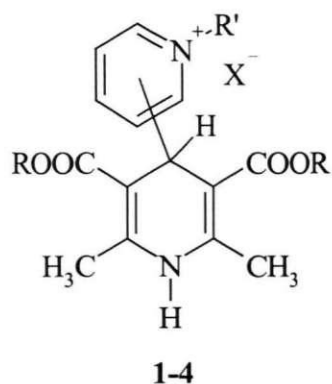


## 1.2. Rezultāti un to izvērtējums

### 1.2.1. 4-(N-alkilpiridil)-1,4-dihidropiridīna atvasinājumu iegūšana

Literatūras apskatā parādīts, ka nealkilētiem 4-piridilaizvietotiem 1,4-DHP atvasinājumiem piemīt plašs bioloģiskās aktivitātes spektrs. Lai iegūtu polifunkcionālus 1,4-DHP atvasinājumus ar paaugstinātām membranotropām īpašībām, kā arī papildinātu 1,4-DHP rindas klāstu, variējot aizvietotājus pie piridīna N-atoma, mūsu darba uzdevums bija iegūt pozitīvi lādētus savienojumus, t.i. veikt 1,4-DHP 4-piridilaizvietotāja kvaternizāciju.

Turpinot Latvijas Organiskās sintēzes institūta Membrānaktīvo savienojumu un  $\beta$ -diketonu laboratorijā iesākto N-alkilpiridil-1,4-dihidropiridīna atvasinājumu sintēzi, ieguvām jaunu savienojumu rindu bioloģiskās aktivitātes pētījumiem. Variējām dažāda garuma alkilķēdes gan pie kvaternizēta piridīnija slāpekļa atoma, gan 1,4-DHP gredzena 3, 5 - vietās, iegūstot savienojumus **1-4**:

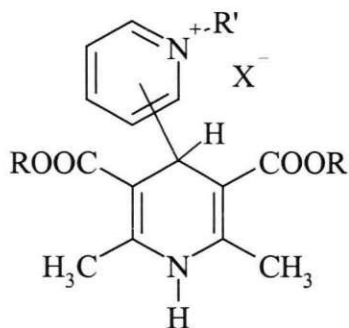


kur

Nr.	Py	R	R'	X	Nr.	Py	R	R'	X
<b>1a</b>	3-Py	$(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}_3$	I	<b>2</b>	3-Py	$\text{C}_2\text{H}_5$	$\text{C}_7\text{H}_{15}$	Br
<b>1b</b>	3-Py	$(\text{CH}_2)_2\text{OC}_3\text{H}_7$	$\text{CH}_3$	I	<b>3</b>	3-Py	$\text{C}_2\text{H}_5$	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}$	Br
<b>1c</b>	3-Py	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}$	$\text{CH}_3$	I	<b>4a</b>	3-Py	$(\text{CH}_2)_2\text{OC}_3\text{H}_7$	$\text{C}_{16}\text{H}_{33}$	Br
<b>1d</b>	3-Py	$(\text{CH}_2)_3\text{OCOC}_{15}\text{H}_{31}$	$\text{CH}_3$	I	<b>4b</b>	3-Py	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}$	$\text{C}_{16}\text{H}_{33}$	Br
<b>1e</b>	3-Py	$\text{CH}_2\text{CHOCOC}_{15}\text{H}_{31}$ $\text{CH}_2\text{OCOC}_{15}\text{H}_{31}$	$\text{CH}_3$	I	<b>4c</b>	4-Py	$\text{C}_2\text{H}_5$	$\text{C}_{16}\text{H}_{33}$	Br
					<b>4d</b>	2-Py	$\text{C}_2\text{H}_5$	$\text{C}_{16}\text{H}_{33}$	Br
<b>1f</b>	3-Py	Bornil	$\text{CH}_3$	I					
<b>1g</b>	3-Py	Izobornil	$\text{CH}_3$	I					
<b>1h</b>	4-Py	Bornil	$\text{CH}_3$	I					
<b>1i</b>	2-Py	$\text{C}_2\text{H}_5$	$\text{CH}_3$	I					

Otra savienojumu grupa (**5-13**) satur elektronakceptorus aizvietotājus pie kvaternizētā piridīnija slāpekļa atoma.

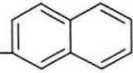


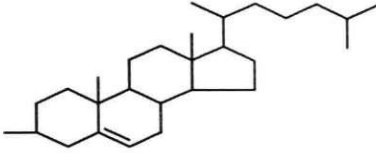


5-13

kur

Nr.	Py	R	R'	X	Nr.	Py	R	R'	X
5a	3-Py	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Br	8a	3-Py	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>	I
5b	3-Py	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	CH <sub>2</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Br	8b	3-Py	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>	I
5c	3-Py	C <sub>16</sub> H <sub>33</sub>	CH <sub>2</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Br	8c	3-Py	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>	I
5d	4-Py	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Br	8d	3-Py	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>	I
5e	2-Py	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Br	8e	3-Py	C <sub>16</sub> H <sub>33</sub>	CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>	I
5f	3-Py	CN	CH <sub>2</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Br	9	3-Py	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> -(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -2,4	Cl
5g*	3-Py	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Br	10	3-Py	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -NO <sub>2</sub> -4	Br
6a	3-Py	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> COC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Br	11	3-Py	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COO-Hol	Br
6b	3-Py	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	CH <sub>2</sub> COC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Br	12	3-Py	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> COOH	Br
6c	3-Py	C <sub>16</sub> H <sub>33</sub>	CH <sub>2</sub> COC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Br	13a	3-Py	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOH	Br
6d	4-Py	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> COC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Br	13b	4-Py	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOH	Br
6e	2-Py	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> COC <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Br					
7a	3-Py	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> CONft	Br					
7b	4-Py	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> CONft	Br					

Nft = 

Hol = 

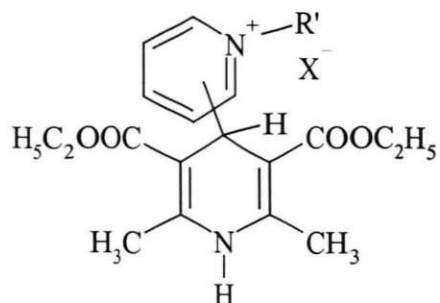
Mūsu rezultāti liecina, ka kvaternizācijas reakcijas laiks ir atkarīgs gan no 1,4-DHP aizvietotāja atrašanās vietas pie piridīna gredzena, gan arī no alkilējošā aģenta struktūras. Tā 4-(4'-piridil)- un 4-(3'-piridil)-1,4-DHP gadījumos reakciju ātrums ir apmēram vienāds, kamēr 4-(2'-piridil)-1,4-DHP kvaternizējas ievērojami lēnāk. Jāpiezīmē, ka līdzīga 2-aizvietotāja kavējošā darbība ir novērota, veicot kvaternizācijas reakcijas pikolīnu gadījumā [JHC1985,681]. To skaidrojam ar 1,4-DHP gredzena stērisko faktoru ietekmi. 4-(2'-Piridil)-1,4-DHP gadījumā dihidropiridilgredzens atrodas telpiski tuvāk piridīna N-atomam. Kā piemēru var minēt 4-(N-metilpiridil)-1,4-DHP jodīdu iegūšanu.

\* Savienojumu **5g** sintezējusi Latvijas Organiskās Sintēzes institūta Membrānaktīvu savienojumu un β-dike-tonu laboratorijas pētniece Dr.chem.N. Makarova.

3'-Piridīnija atvasinājuma gadījumā produkts tiek iegūts ar 90 % iznākumu, reakcijas maisījumu acetonā vārot 1-2 stundas [MD1993], kamēr 2'-piridilatvasinājuma gadījumā (**1i**) iznākums ir tikai 75 %, tāpat vārot reakcijas maisījumu 2 stundas. Vēl izteiktāk šīs atšķirības novērojamas 4-(N-heksadecilpiridil)-1,4-DHP bromīdu iegūšanā, kur atbilstošais 2'-piridilatvasinājums (**4d**) tiek iegūts tikai ar 8 % iznākumu, reakcijas maisījumu vārot 193 stundas, kamēr pārējie divi 3'-piridil- un 4'-piridilatvasinājumi (**4c**) tiek iegūti ar augstākiem iznākumiem īsākā laikā (50 st., 63 % [MD1993] un 46 st. un 63 % atbilstoši).

Darba gaitā apstiprinājas literatūrā [ИП1989,253] aprakstītās likumsakarības par alkilējošo aģentu alkilķēdes garuma, elektroniskās dabas ietekmi uz piridīna kvaternizācijas reakciju. Kvaternizācijas reakcijas laiks pieaug, pieaugot alkilējošā aģenta ķēdes garumam; kvaternizācijas reakcijas notiek ātrāk ar jodalkāniem nekā ar bromalkāniem, kā arī – ievadot halogēnalkānā elektronakceptoru grupējumu, reakcijas laiks ievērojami saīsinās. Jāatzīmē, ka šajos reakcijas apstākļos nebija novērojama 1,4-DHP gredzena slāpekļa alkilēšanās, kā jau tas bija atzīmēts literatūrā [EJMC1987,499].

Literatūrā [ИАНЛ.,X.cp.1990,369] šādas kvaternizācijas reakcijas tiek piedāvāts veikt acetonā. Darba gaitā tika noskaidrots, ka gadījumos, kad izejviela slikti šķīst acetonā, kā šķīdinātāju un reakcijas vidi veiksmīgi var lietot arī hloroforma – acetona maisījumu. Kvaternizācijas reakcijām, alkilējot ar garas alkilķēdes ( $C_{16}H_{33}Br$ ) saturošiem halogēnalkāniem, ir nepieciešams ilgs reakcijas laiks, piemēram sav. **3**, **4a-4d** gadījumā tas bija pat līdz 70 stundām. Lai samazinātu kvaternizēšanas reakcijas laiku un palielinātu produkta iznākumu, meklējām citus šķīdinātājus. Ja par šķīdinātāju izmantojām butān-2-onu, kura  $T_{virš.}=79-80^{\circ}C$  ir augstāka par acetona viršanas temperatūru ( $56^{\circ}C$ ), izdevās ievērojami samazināt kvaternizēšanas reakcijas laiku, palielinot 4-(N-alkilpiridil)-1,4-DHP sāļu iznākumus (skat. 1.1.tabulu). Savienojumu **7a** un **4e** gadījumā saīsinot reakcijas laiku divas reizes, izdevās iegūt tādus pat produktu iznākumus, bet savienojuma. **12** gadījumā – apmēram divas reizes augstāku iznākumu tik pat ilgā laikā.



**4,7a,12,14**

1.1.tabula.

Kvaternizēšanas reakcijas laiks un produkta iznākumi dažādās reakcijas vidēs.

Sav. Nr.		R'	X	Reakcijas vide			
				Acetons		Butān-2-ons	
				laiks,h	izn.,%	laiks,h	izn., %
<b>7a</b>	3-Py	CH <sub>2</sub> COC <sub>10</sub> H <sub>7</sub>	Br	12	83	5	87
<b>12</b>	3-Py	(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> COOH	Br	58	38	50	61
<b>4e</b>	3-Py	C <sub>16</sub> H <sub>33</sub>	Br	40 <sup>[MDI993]</sup>	63 <sup>[MDI993]</sup>	25	66
<b>13b</b>	4-Py	(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOH	Br	35	25	35	77

Jāatzīmē, ka bija arī mēģinājums saīsināt reakcijas laiku, izmantojot ultraskaņas iedarbību. Diemžēl, šādos apstākļos neizdevās ievērojami saīsināt reakcijas laiku 4-(N-heksadecil)piridil-1,4-DHP iegūšanai.

### 1.2.2. Spektrālais raksturojums

Sintezēto savienojumu struktūras ir pilnībā pierādītas un apstiprinātas ar <sup>1</sup>H KMR, UV spektriem un elementanalīzi, kas apkopoti eksperimentālajā daļā.

Jāatzīmē, ka, sintezētajiem 4-(N-alkilpiridil)-1,4-DHP sāļiem <sup>1</sup>H KMR spektros visi piridīnija protonu signāli un 1,4-DHP N-H platais singlets ir nobīdīti vājāko lauku virzienā nekā izejvielām - nealkilētajiem 4-piridil-1,4-DHP, jo pozitīvi lādētais slāpekļa atoms piridīnija molekulā ir stiprāks elektronakceptors par nealkilētu slāpekļa atomu. Pārējo protonu signālu atrašanās vietas būtiski nemainās. UV spektros kvaternizēto savienojumu absorbcijas maksimums nedaudz nobīdīts uz garo viļņu rajonu (356-364 nm), salīdzinot ar nekvaternizētajiem 1,4-DHP atvasinājumiem (348-360 nm).



Arī šajos apstākļos kvaternizējas tikai bipiridila 4-(3-piridil)-aizvietotājs, jo 2, 6 - stāvokļos esošās metilgrupas rada stēriskus traucējumus, bet 3, 4 un 5 - vietās esošie elektronakceptorie aizvietotāji tik ievērojami pazemina pilnīgi aizvietotā piridīna slāpekļa atoma nukleofilitāti, ka šī piridīna slāpekļa kvaternizācija vispār nenotiek.

## 2. N-Alkilētu piridīnu īpašības.

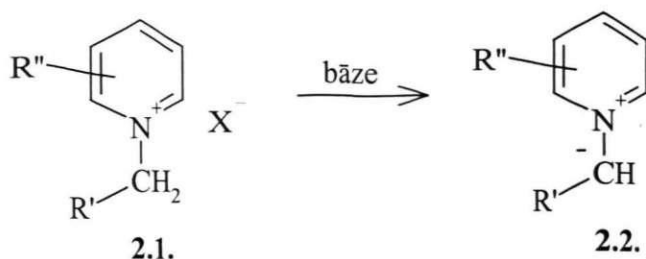
### 2.1. Literatūras izvērtējums

#### 2.1.1. N-Ilīdu un betaīnu veidošanās

Viena no interesantākajām piridīnija N-alkilsāļu īpašībām, ko izmanto organiskajā sintēzē, ir to spēja veidot piridīnija ilīdus. Pirmoreiz piridīnija N-ilīdu ieguva Krönke, N-fenilcilpiridīna sāli apstrādājot ar bāzi [AC1953,605]. Laika gaitā, balstoties uz šo metodi, iegūts liels daudzums piridīnija N-ilīdu. Daži no šiem ilīdiem tika izdalīti kristāliskā veidā, bet par citu eksistenci varēja spriest tikai pēc tālākajām reakcijām, neizdalot tos no reakcijas maisījuma. Tāpat ir iegūti hinolīnija, izohinolīnija, pirimidīnija un citu slāpekli saturošu heterociklu ilīdi [ЖОХ1995,1441; ЖОХ1993,2070; ИзАН1991,939]. Stabilāki un kristāliskā veidā ir iegūstami tie piridīnija N-ilīdi, kuros aizvietotāji pie C-ilīdatoma ir elektronakceptori grupējumi [ИП1989]. Samērā detalizēti piridīnija N-ilīdu veidošanās ir aprakstīta literatūrā [CPB,1970,2489; ИП.1989; H1980,1793; ХИ.1969; N-IC.1976].

Autori uzskata, ka galvenā sintēzes procedūra ir piridīnija sāļu apstrādāšana ar bāzēm (sārnu metālu karbonātiem ūdens šķīdumā vai amīniem aprotonos šķīdinātājos bezūdens vidē) [ЖОХ1993,2070]. Ilīdu veidošanās reakciju var uzskatīt par skābes – bāzes līdzsvaru, kurā to rašanās ir atkarīga no karbanjona nukleofilā rakstura, ko nosaka pie heteroatoma esošās metilēngrupas elektronakceptorā aizvietotāja klātbūtne.

Tā, apstrādājot piridīnija sāļus **2.1.** ar bāzēm, iegūta rinda piridīnija ilīdu **2.2.**, [AC1953,605; CB1971,1621; ИП.1989]:



kur, R''=H, Alk, Ar, COOR, CN, CONH<sub>2</sub>

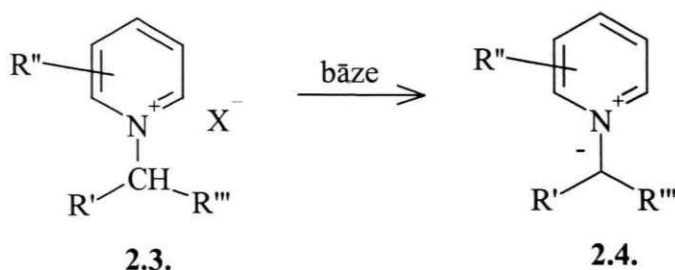
R'= COAr, COOR, CN, COCH<sub>3</sub>

X=Cl, Br

Autori norāda, ka lietojot ļoti aktīvus bāziskos reaģentus, piemēram litijorganiskos savienojumus, var notikt heterolītiskā N-C saites šķelšanās, veidojot alkilētu bāzi un

piridīnu. Savukārt, ģenerējot piridīnija ilīdus smagos apstākļos (bāzes pārākumā, karsējot), iespējama ilīdu hidrolīze, kā rezultātā no  $\alpha$ -karbonilmetilpiridīnija sāļiem veidojas metilpiridīnija sāļi un karbonskābes ar labiem iznākumiem, īpaši taukskābju un heterociklisku skābju gadījumos [JACS1944,1612; AC1953,605].

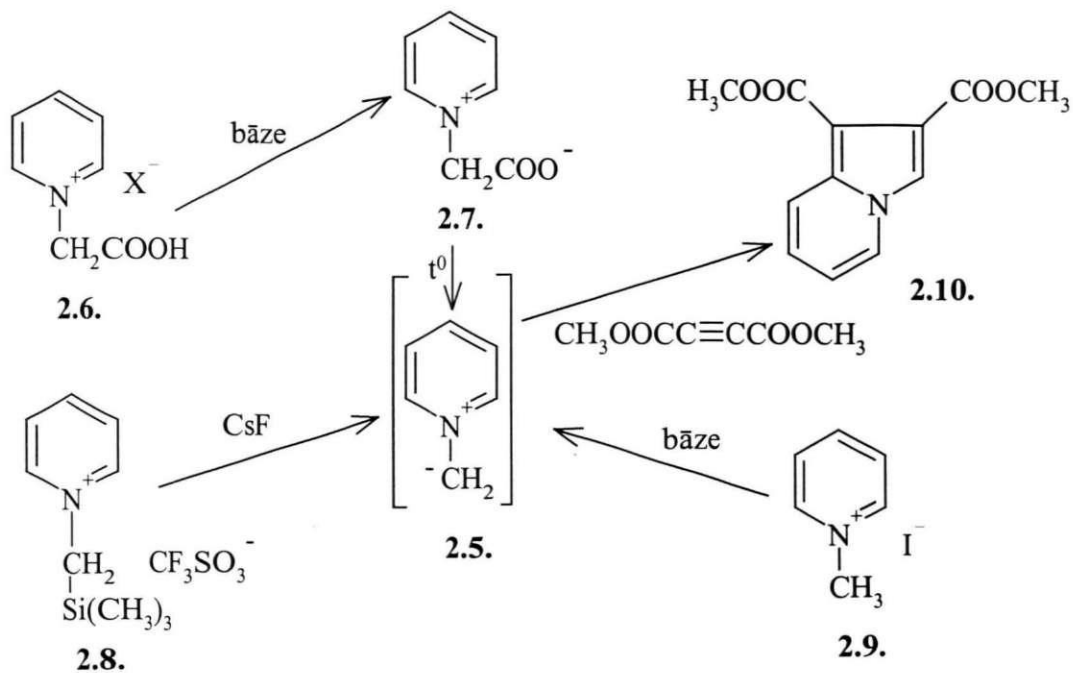
Literatūrā atzīmēts, ka stabilāki ir piridīnija ilīdi **2.4.**, kuros ilīda oglekļa atoms ir saistīts ar diviem elektronakceptoriem grupējumiem.



kur,  $\text{R}'' = \text{H, Alk, Ar}$   
 $\text{R}', \text{R}''' = \text{COAr, COOC}_2\text{H}_5, \text{CONH}_2, \text{COCH}_3$   
 $\text{X} = \text{Br}$

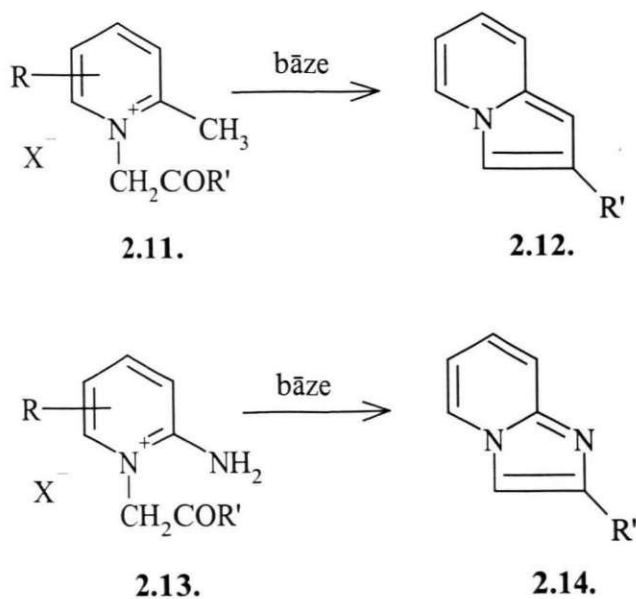
Kā rāda daudzi pētījumi, piridīnija ilīdu stabilitāti nosaka dažādu funkcionālo grupu spēja delokalizēt negatīvo lādiņu [CPB,1970,2489; CB1971,1621].

Literatūrā [JCS1977,1692] pieminēts, ka piridīnija metilīdu **2.5.** izdalīt neizdodas, un par tā eksistenci reakcijas maisījumā spriež tikai pēc tālāko reakciju produktiem. Piridīnija metilīds iegūts *in situ* dažādos veidos. Piemēram, sildot N-karboksimetilēnpiridīnija sāļus **2.6.**, bāzes klātienē veidojas betaīns **2.7.**, norit dekarboksilēšanas reakcija un rodas piridīnija metilīds **2.5.**, kurš tālāk var reaģēt ar savienojumiem, kas satur polāru divkāršo vai trīskāršo saiti vai ar elektrofilu daļiņu, piemēram, protonu. Piridīnija metilīds (**2.5.**) tāpat iegūts no sāls **2.8.**, to apstrādājot ar cēzija fluorīdu vai arī no N-metilpiridīnija jodīda (**2.9.**) [ЖОХ1993,2070; JCSP11981,1180]. Piridīnija metilīdu saturošam reakcijas maisījumam, pievienojot acetilēndikarbonskābes dimetilesteri, veidojas indolizīna atvasinājums **2.10.** [CL1984,279; CL1984,465].



Bealls (Beall) un līdzautori [ANH1998,117] atklājuši, ka piridīnija metilīdu **2.5.** var ģenerēt arī fotoķīmiski. Mēģinot to izdalīt, notiek pārgrupēšanās un ar 83 % iznākumu iegūst 2-pikolīnu.

Gadījumos, kad piridīnija sāļiem 2 vietā ir metil- vai amino aizvietotājs, piridīnija ilīdus izdalīt neizdodas. Šādus sāļus apstrādājot ar bāzēm, notiek iekšmolekulāra kondensācija (Čičibabina reakcija), veidojot atbilstošos indolizīna (**2.12.**) vai imidazopiridīna (**2.14.**) atvasinājumus.





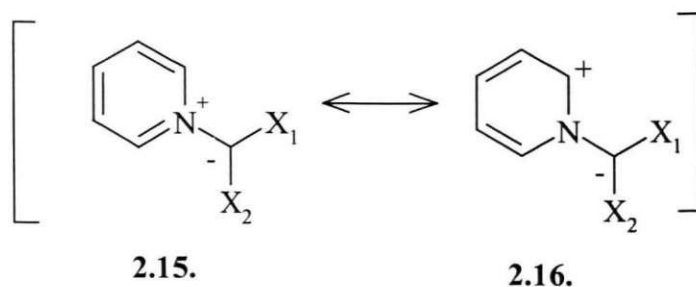
Vēl literatūrā tiek piedāvātas piridīnija ilīdu sintēzes, izmantojot tetracianoetilēna oksīdu [S1987,749; JHC1988,689; H1986,339], karbēnus [TL1970,941], kā arī specifiskas metodes atsevišķu savienojumu iegūšanai.

### 2.1.2. Piridīnija N-ilīdu īpašības

Piridīnija ilīdi ir ļoti reaģētspējīgi savienojumi, tie piedalās daudzās reakcijās, kas raksturīgas tipiskiem nukleofilajiem savienojumiem un karbanjoniem. Šo reakciju pētījumiem veltīts plašs klāsts literatūras apskatu [JCSPI1981,1180; ŽOX1994,1572; ŽOX1995,1441; RRC1979,1089; H1985,1513; H1999,863].

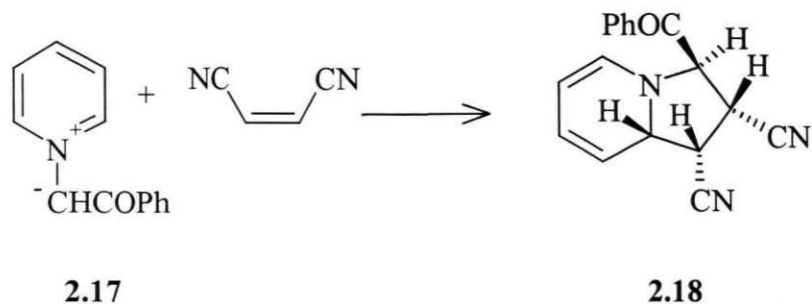
#### 2.1.2.1. 1,3-Dipolārās ciklopievienošanās reakcijas

Viena no piridīnija ilīdu **2.15.** mezomērajām struktūram (**2.16.**) parāda, ka tiem ir izteikts 1,3-dipola raksturs.

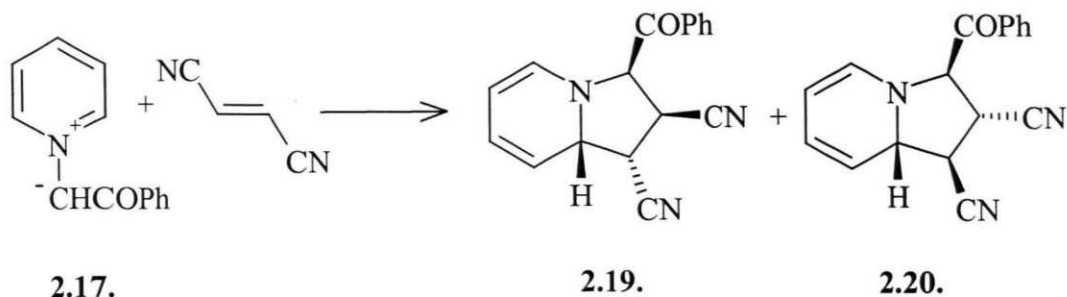


Tāpēc īpašu interesi izraisa piridīnija ilīdu spēja stāties 1,3-dipolārās ciklopievienošanās reakcijās ar aktivētas dubult- un trīskāršās saites saturošiem savienojumiem [N-IC.1976; DCC.1984; S1976,209; H1988,2251]. Tā ir ļoti ērta metode indolizīna atvasinājumu iegūšanai. Dažādi indolizīna atvasinājumi ir pētīti kā  $\text{Ca}^{2+}$  kanālu antagonisti [EJP1994,101; JMC1993,1425], savienojumi ar antiherpesa [ACC1995,289], vai pretvēža aktivitāti [JHC1995,391] un vielas, kas inhibē lipīdu peroksidācijas procesus *in vitro* [BMCL1998,1829]. Lai gan piridīnija ilīdu ciklopievienošanās reakcijas tiek plaši lietotas un pētītas, tomēr tās mehānisms nav vēl precīzi noskaidrots [ŽOX1995,1441]. Vairākos literatūras avotos [BCSJ1985,3137; H1981,1131; H1999,929; XFC1991,1354] atzīmēts, ka šī ir regioselektīva reakcija, saglabājot dipolarofila stereokīmiju.

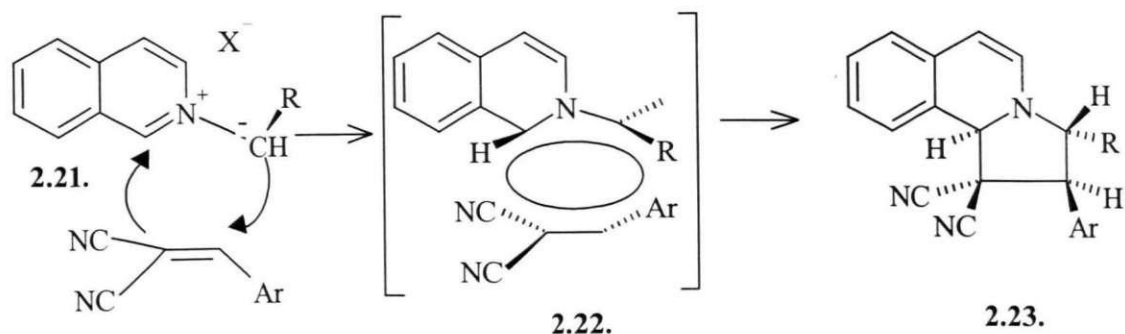
Piemēram, piridīnija ilīdam **2.17.** reaģējot ar maleīnskābes dinitrilu, ar augstu iznākumu ir iegūts tikai viens produkta stereoizomērs **2.18.** [CL1984,465]:



Savukārt piridīnija ilīdam **2.17.** reaģējot ar fumārskābi, iegūts abu stereoizomēro produktu **2.19.** un **2.20.** maisījums attiecībā 7:3 [CL1985,355]:



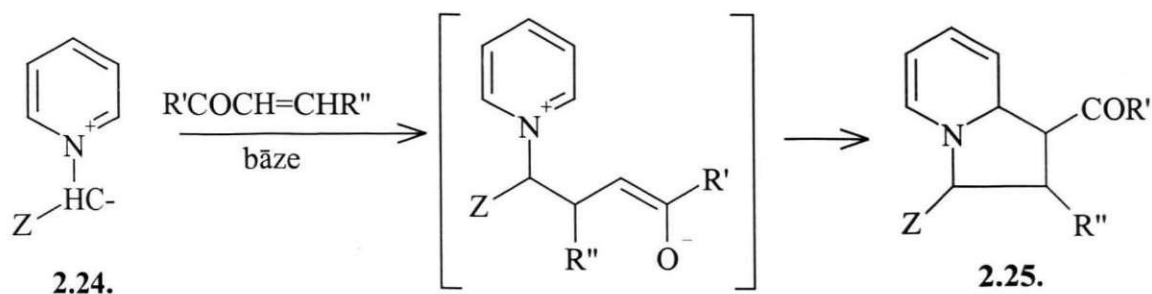
Izmantojot PMR un rentgenstruktūras pētījumus, Šestopalovs (Шестопалов) u.c. [XFG1991,1248], pierāda, ka izohinolīnija ilīdu **2.21.** reakcija ar arilmetilēnmalonitriliem notiek sinhronās 1,3-dīpolārās ciklopievienošanās rezultātā, veidojot tetrahydrobenzoindolizīna **2.23.** atvasinājumu. Reakcija ir regio- un stereoselektīva.



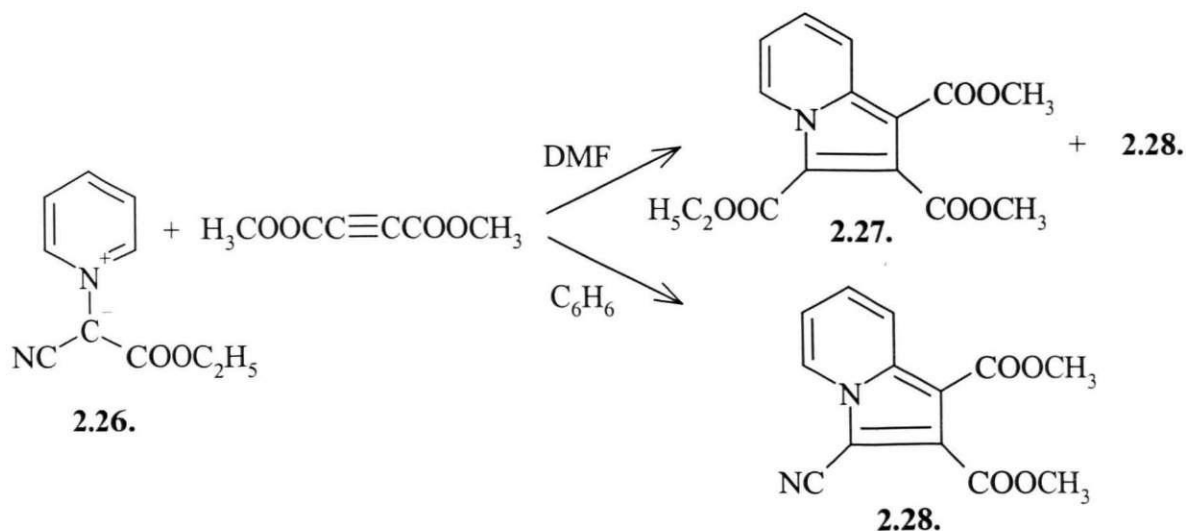
kur, R=CONH<sub>2</sub>; CPh; X=Cl; Br  
 Ar=Ph; 3-Py; p-F-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>  
 X=Br

Autori atzīmē, ka reakcijas regioselektivitāti nosaka izejvielu dipol-dipolā mijiedarbība un to orientācija telpā. Savukārt, reakcijas stereoselektivitāti nosaka pārejas stāvokļa aizvietotāju stēriskā mijiedarbība.

Turpretī Katričis (Katritzky) un līdzautori uzskata, ka indolizīnu veidošanās reakcijā, kad piridīnija ilīdi **2.24.** stājas pievienošanās reakcijās pie aktivētas dubultsaites nepiesātinātos ketonos, sākotnēji veidojas Mihaela pievienošanās produkts - enolāts, kurš tālākā reakcijas gaitā ciklizējas par tetrahydroindolizīna atvasinājumu **2.25.** [JCSPI1981,1180]:



Literatūrā aprakstīts gadījums, kad nesimetriski diaizvietotam piridīnija ilīdam **2.26.** reaģējot ar acetilēnkarbonskābes dimetilesteri, reakcijas produkta struktūra ir atkarīga no šķīdinātāja, kurā tiek veikta ciklopievienošanās reakcija [TL1972,2029].

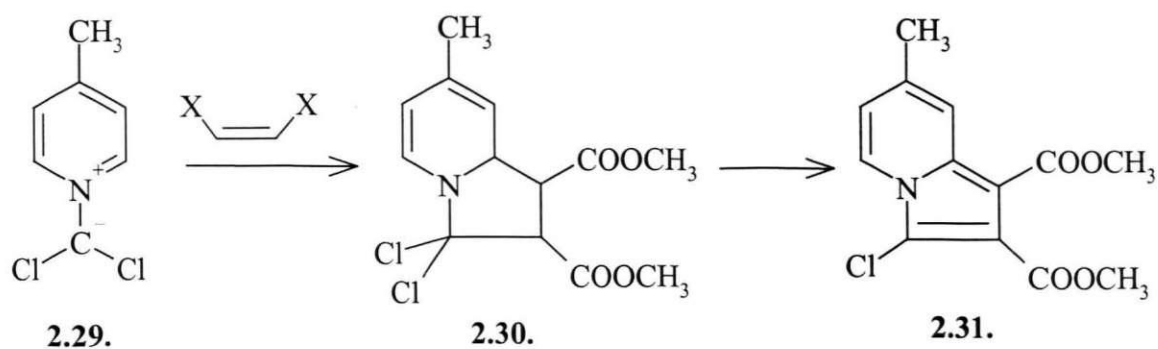


Tāpēc, veicot reakciju absolūtājā benzolā, notiek etoksikarbonilgrupas eliminācija, dodot indolizīna **2.28.** atvasinājumu, kamēr dimetilformamīdā rodas abi produkti. Produktu

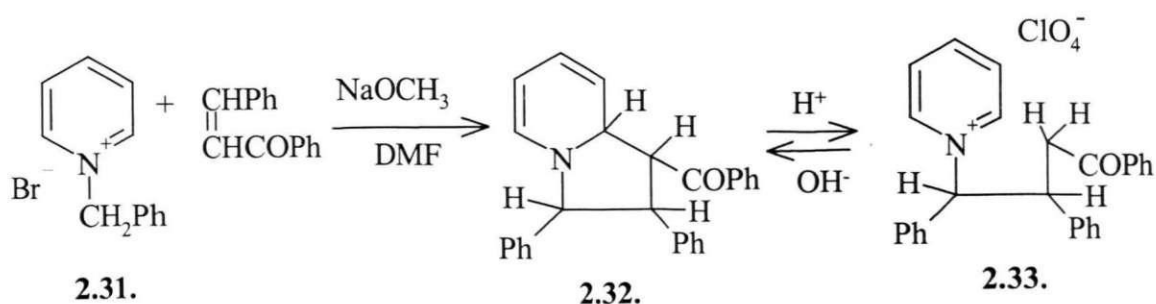
struktūras pierādītas, veicot indolizīna atvasinājumu pretsintēzi no piridīnija ilīdiem ar vienu aizvietotāju pie ilidēnoglekļa atoma.

### 2.1.3. Indolizīna atvasinājumu stabilitāte

Literatūrā apskatīti atsevišķi gadījumi, kad no aizvietotiem piridīniem un dihlorkarbēna iegūti piridīnija ilīdi **2.29.**, reakcijā ar maleīnskābes dimetilesteri vai fumārskābes dimetilesteri dod tetrahidroindolizīna **2.30.** atvasinājumus. Šie savienojumi ir nestabili, jo ietvaicējot šķīdinātāju, lai koncentrētu hromatogrāfiski attīrītu produktu, tetrahidroindolizīna atvasinājumi polimerizējas, daļēji veidojot arī oksidēšanās produktus – indolizīna atvasinājumus **2.31.** [XFC1987,856; XFC1990,355]:

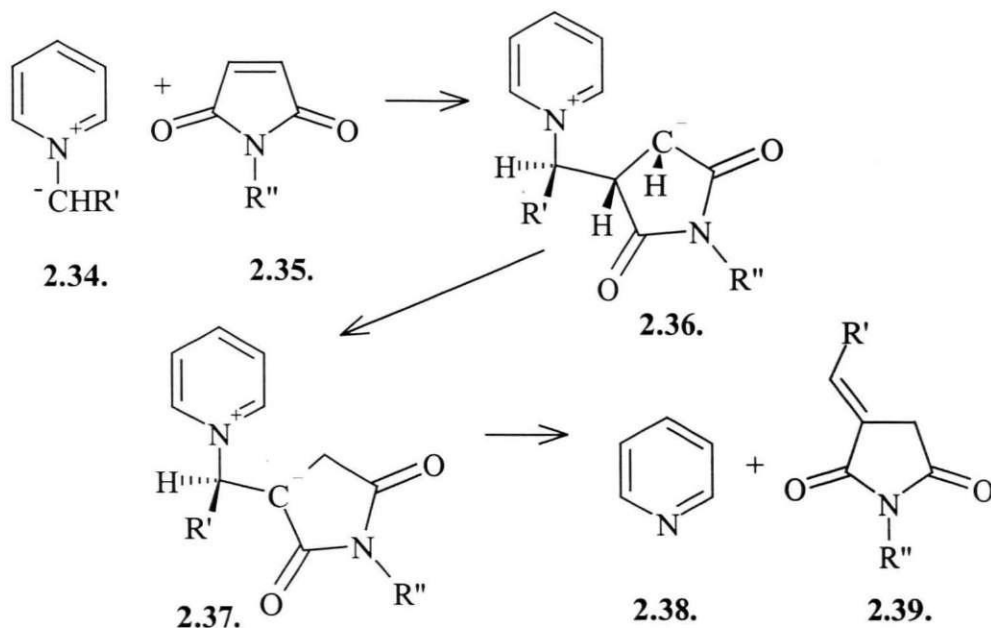


Jāatzīmē, ka tikai vienā literatūras avotā bija minēta indolizīna atvasinājuma pieclocekļa cikla šķelšanās - saslēgšanās [CB1979,2197]:



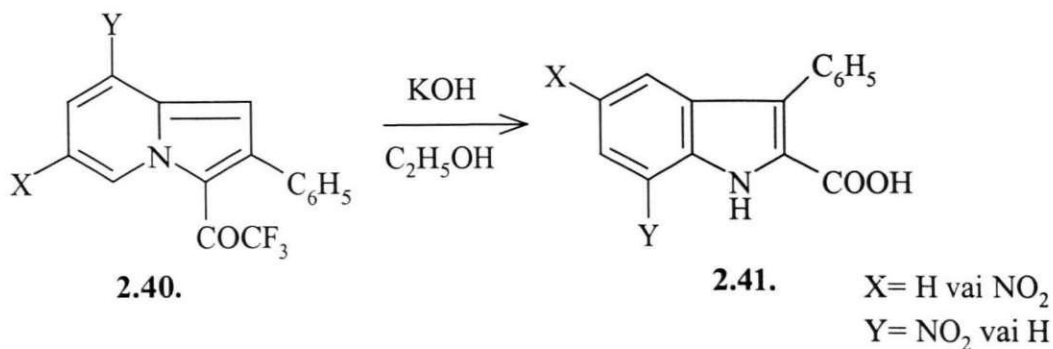
Tā piridīnija sāli **2.31.** bāziskā vidē apstrādājot ar benzilidēnacetofenonu, iegūst tetrahidroindolizīna atvasinājumu **2.32.**, kuram skābā vidē notiek pieclocekļa cikla uzšķelšanās, dodot savienojumu **2.33.**, kuru izdala perchlorāta veidā. Savukārt, bāziskā vidē tas atkal pārgrupējas, veidojot atbilstošo tetrahidroindolizīna atvasinājumu **2.32.**

Aprakstīti gadījumi, kad piridīnija ilīdiem **2.34.** reaģējot ar cikliskiem, aktivētas dubultsaites saturošiem savienojumiem **2.35.**, vairumā gadījumu notiek piridīna **2.38.** eliminācija, un veidojas cikliski savienojumi **2.39.** ar eksociklisku dubultsaiti [ЖОХ1995,1441].



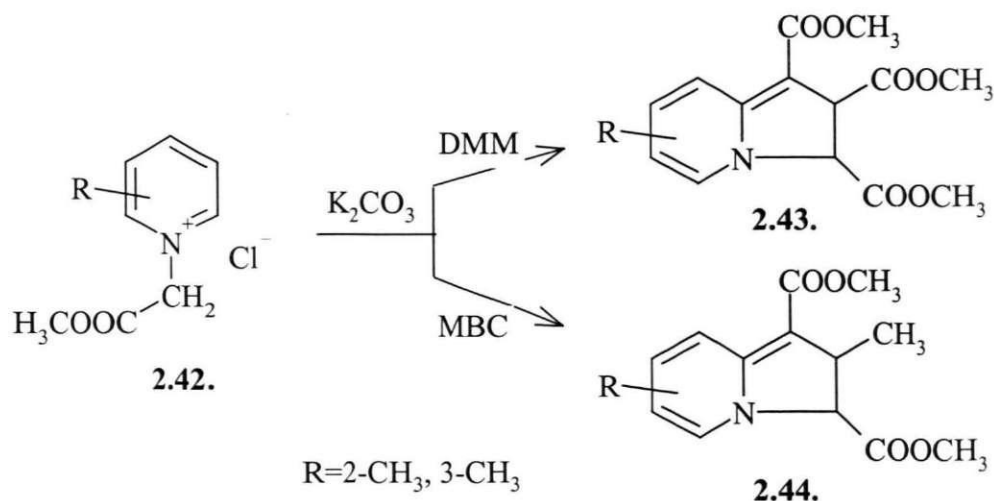
Līdzīgi eliminācija notiek indolizīniem, kuri tomēr veidojušies no cikliskajiem olefīniem un piridīnija ilīdiem, kas stabilizēti ar elektronakceptorām grupām. Šādus produktus hromatogrāfiski tīrot uz silikagela notiek indolizīna struktūras sašķelšanās [BCSJ1987,1489].

Savukārt Babajevs (Бабаев) un līdzautori novērojuši, ka indolizīna **2.40** atvasinājumu apstrādājot ar KOH ūdens – spirta vidē istabas temperatūrā, viegli notiek indolizīna reciklizācija, veidojot nitroindolkarbonskābes **2.41.** atvasinājumus [ХГС1988,1570]:



#### 2.1.4. Hidrēto indolizīna atvasinājumu oksidēšana

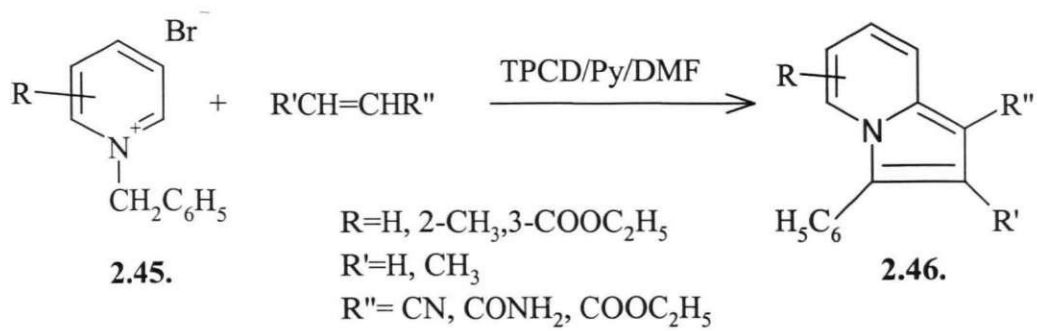
Piridīnija ilīdiem reaģējot ar aktivētas dubultsaites un trīskāršas saites saturošiem dipolarofiliem, veidojas tetra-, dihidro vai pilnīgi oksidēti indolizīna atvasinājumi. Vairāki autori ir atzīmējuši tetrahidroindolizīnu nestabilitāti [XFC1987,856; XFC1990,355] un jutību pret gaisa skābekli [BCSJ1974,938]. Tikai atsevišķos darbos aprakstīta stabili tetrahidroindolizīnu iegūšana [JCSPI1981,1180; XFC1991,1248]. Daudzos gadījumos no reakcijas vides tiek izdalīti 2,3- un 1,8a-dihidroindolizīna atvasinājumi, kuri ir ievērojami stabilāki [ЖОХ1995,1441]. Tā apstrādājot pikolīnija sāļus **2.42.** ar maleīnskābes dimetilesteri (DMM) vai krotenskābes metilesteri, iegūti atbilstošie 2,3-dihidroindolizīnu **2.43.** un **2.44.** atvasinājumi [BCSJ1974,938]:



Pohjala (Pohjala), veicot piridīna reakciju ar acil- vai arilaizvietotiem halogēnatvasinājumiem kālija karbonāta klātbūtnē, no reakcijas vides izdalījis 1,8a-dihidroindolizīna un pilnībā oksidētā indolizīna atvasinājumus [TL1972,2585]. Savukārt reakcijās ar acetilēnatvasinājumiem ļoti bieži rodas pilnībā oksidētās indolizīna struktūras [TL1972,2029].

Hidrēto un daļēji hidrēto indolizīna atvasinājumu oksidēšanai literatūrā piedāvāts plašs oksidētāju klāsts. Piemēram, dažādi hinona atvasinājumi - [JOC1996,2273]; palādijs uz ogles vai svina tetraacetāts [BCSJ1974,938]. Literatūrā aprakstīti vairāki gadījumi, kad oksidējošo aģentu pievieno reaģentu maisījumam jau reakcijas sākumā, lai iegūtu pilnībā oksidēto indolizīna atvasinājumu, nezaudējot produktu daudzo starpreakciju dēļ [S2000,1733; SC1992,2103]. Pēdējo desmit gadu laikā šai reakcijai ieteikts un kā oksidējošais aģents tiek plaši lietots tetrapiridīnkobalta dihromāts (TPCD)

[JCSPI1993,2487], iegūstot indolizīna atvasinājumus **2.46.** ar augstiem iznākumiem (60 - 99 %):

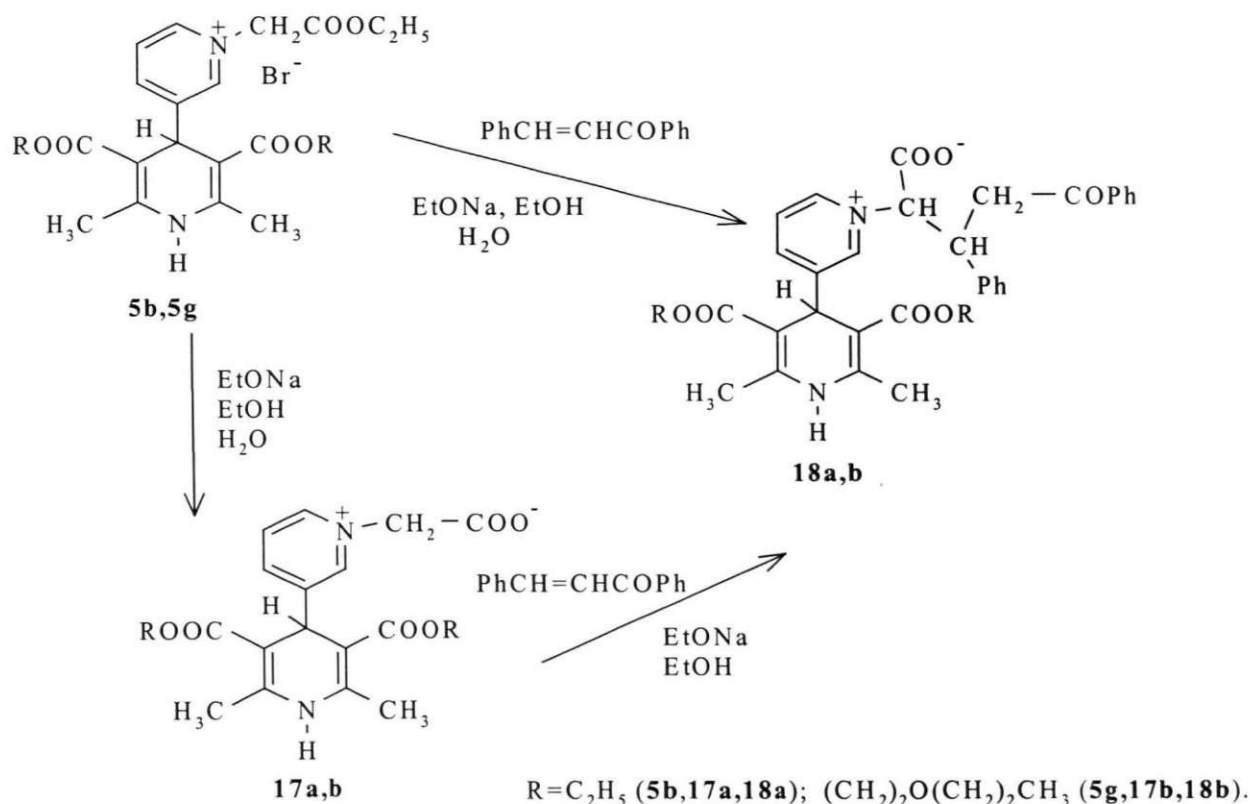


## 2.2. Rezultāti un to izvērtējums

### 2.2.1. Piridīnija ilīdu reakcijas ar nepiesātinātajiem savienojumiem

Ņemot vērā zināmo N-kvaternizētu piridīnija sāļu spēju veidot ilīdus, kuri tālāk kā reakcijas spējīgi dipolarofili iesaistās ciklopievienošanās reakcijās ar aktivētas dubult- un trīskāršās saites saturošiem savienojumiem, veidojot indolizīna atvasinājumus, mūsu darba mērķis bija izpētīt šādas ciklopievienošanās reakcijas ilīdiem, kuri rodas no piridīnija sāļiem, kas 3.vietā satur 1,4-DHP aizvietotāju. Tādejādi tika iegūti jauni polifunkcionālie 1,4-DHP atvasinājumi ar netradicionāliem aizvietotājiem pie 1,4-dihidropiridīna cikla, kuri līdz vēl nav bijuši sintezēti. Šim nolūkam izvēlējamies savienojumus, kam ir elektronakceptors aizvietotājs pie N-kvaternizētā slāpekļa  $\alpha$ -metilēngrupas, kas stabilizētu izveidojušos ilīdus.

Apstrādājām 1-etoksikarbonilmetil-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dialkoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija bromīdus (**5b** un **5g**) ar benzilidēnacetofenonu (halkonu) ekvimolārās attiecībās bāziskā vidē:

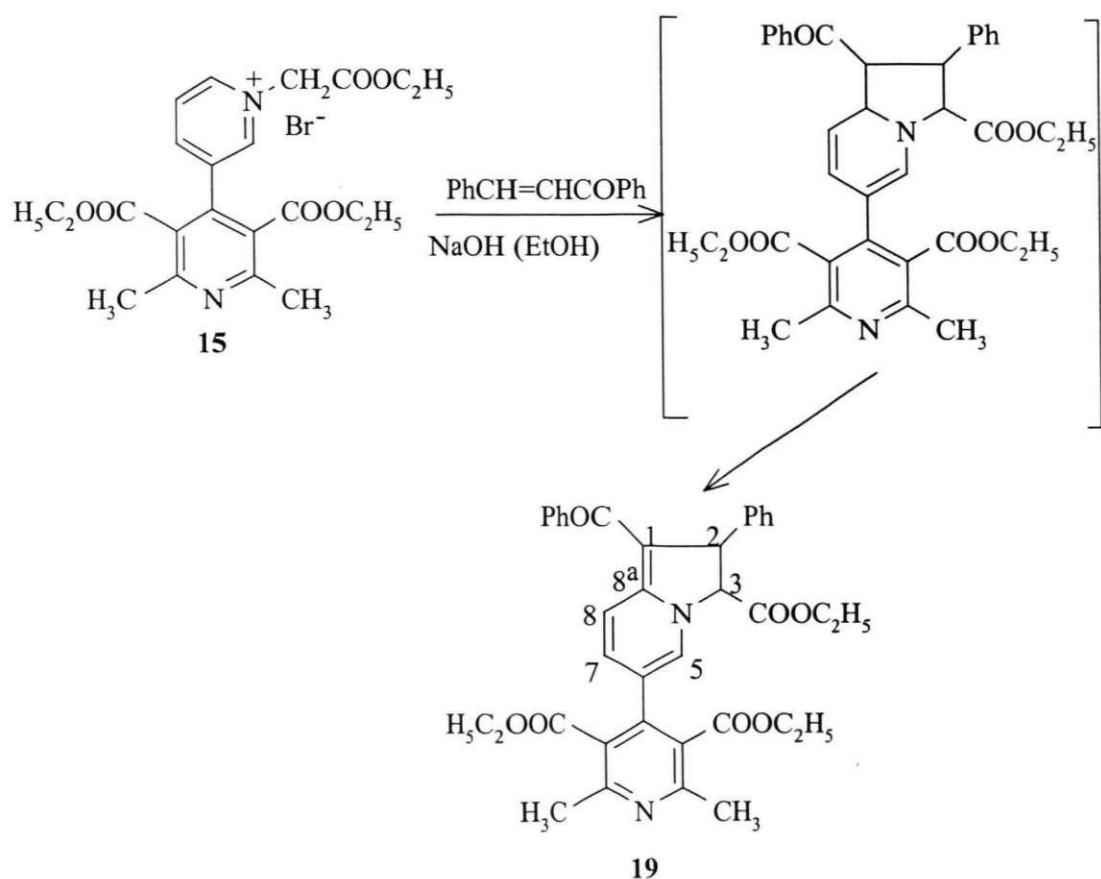


Gaidīto tetrahidroindolizīna atvasinājumu vietā ieguvām acikliskus betaīnus **18**. Jāatzīmē, ka  $^1H$  KMR spektros savienojumiem **18a,b** piridīnija protonu signāli atrodas  $\delta$ : 7.30-8.96



m.d. rajonā, kas liecina, ka slāpekļa atoms ir pozitīvi lādēts. Savstarpēji atšķiras 2- un 6-CH<sub>3</sub>, kā arī 3,5-vietas esteru grupējumu ķīmiskās nobīdes, kas liecina par 1,4-DHP molekulas asimetriskumu, kurš, domājams, veidojas 4-stāvoklī esošā, telpiski apjomīgā aizvietotāja anizotropā efekta dēļ.

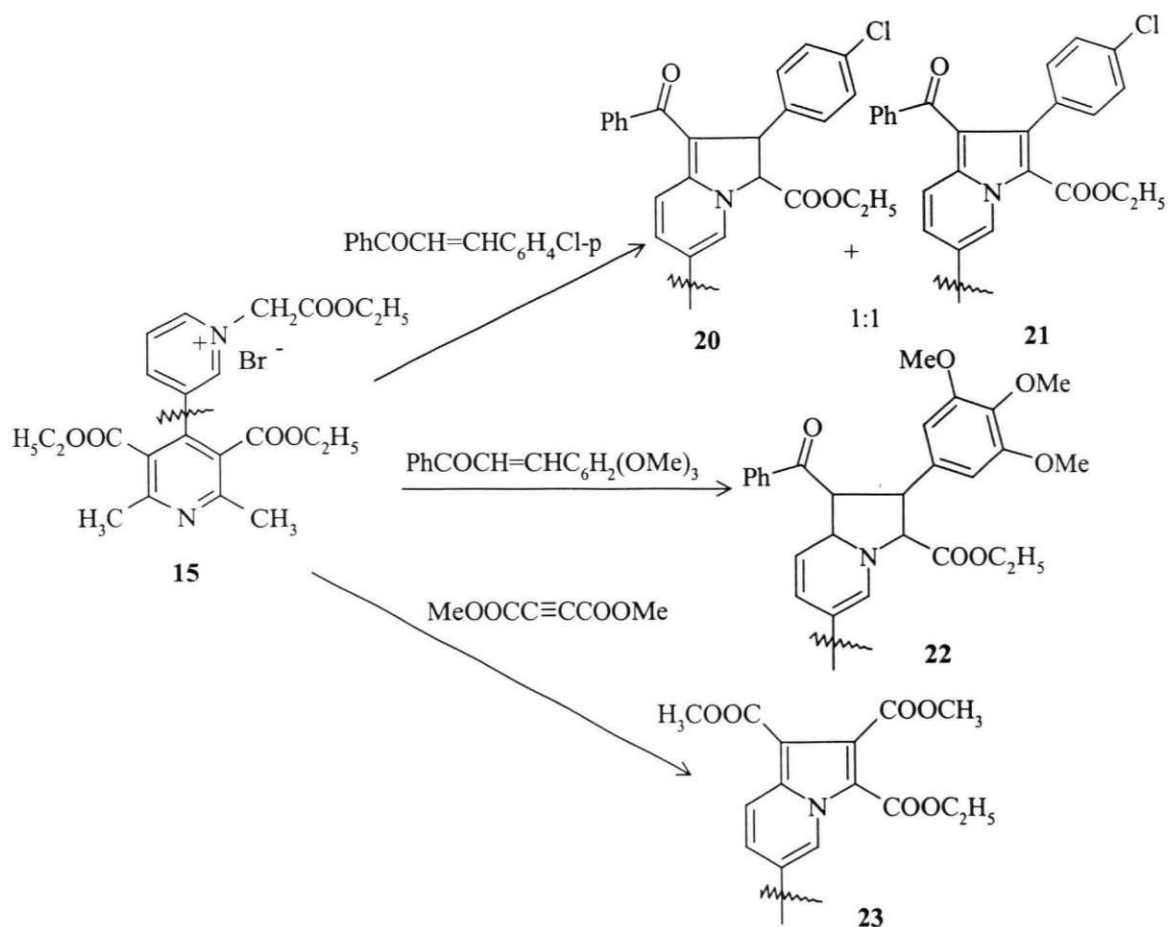
Pretstatā 3-(1,4-dihidropiridil)piridīnija atvasinājumiem **5**, veicot analogu reakciju ar 3-piridilpiridīnija atvasinājumiem **15**, notiek ciklopievienošanās reakcija pie halkona dubultsaites. Pie kam šajā gadījumā iegūstam nevis tetrahidroindolizīna atvasinājumu, bet atbilstošo 2,3-dihidroindolizīnu **19**, kurš ir tetrahidroindolizīna, kā primārā produkta, daļējas oksidēšanās rezultāts.



1-Benzoil-2-fenil-3-etoksikarbonil-6-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonilpiridil-4')-2,3-dihidroindolizīna (**19**) <sup>1</sup>H KMR spektrā redzam 2,3-dihidroindolizīna struktūrai raksturīgu 2-H un 3-H protonu dubletu pāri ar ķīmiskajām nobīdēm 4.54 un 4.70 m.d. δ. Mijiedarbības konstante J = 3 Hz liecina, ka šie protoni atrodas trans konfigurācijā viens pret otru.

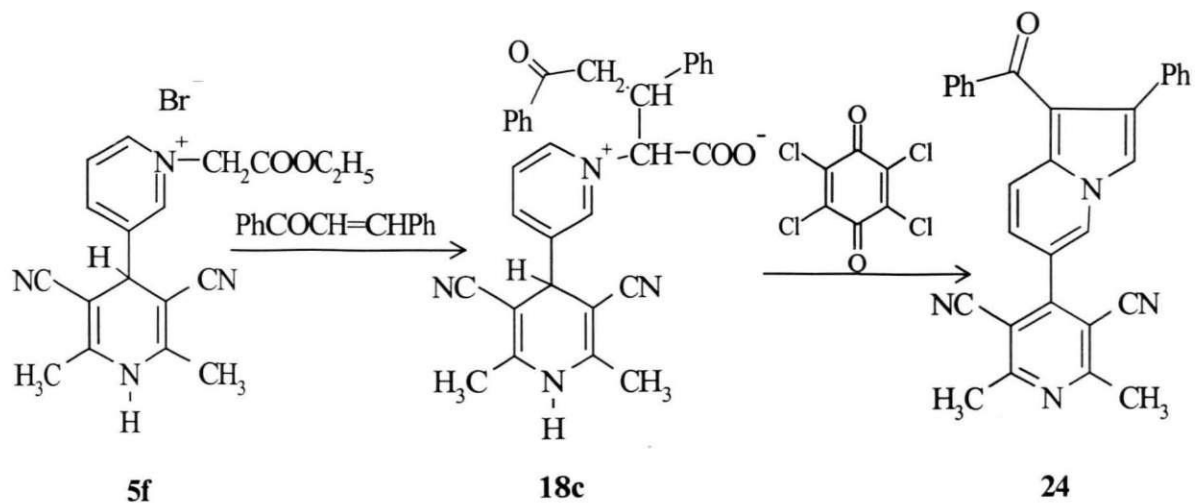
Arī literatūrā [BCSJ1974,938] aprakstīti gadījumi, kad piridīnija ( $\alpha$ -, vai  $\gamma$ -kolīnu) ilīdu 1,3-dipolārās ciklopievienošanās reakcijā pie aktivētas dubultsaites, tika izdalīti nevis tetrahidroindolizīni, bet gan dihidroindolizīni. Domājam, ka mūsu gadījumā ir izveidojusies garā konjugēto dubultsaišu ķēde. Par to varētu liecināt arī produkta intensīvā oranžā krāsa, kas stabilizē tieši 2,3-dihidroindolizīna struktūru.

Veicot šādu ciklopievienošanās reakciju savienojumam **15** ar citiem benzilidēnacetofenona atvasinājumiem un acetilēndikarbonskābes dimetilesteri, ieguvām indolizīna atvasinājumus **20-23**. Jāatzīmē, ka p-hlorbenzilidēnacetofenona gadījumā no reakcijas izdalījām gan atbilstošo 2,3-dihidroindolizīna atvasinājumu **20**, gan arī pilnībā oksidēto indolizīna atvasinājumu **21**, attiecībā 1:1. Savukārt, ja kā savienojumu ar aktivēto dubultsaiti lietojam 3,4,5-trimetoksibenzilidēnacetofenonu, iegūstam tetrahidroindolizīna atvasinājumu **22**. Ciklopievienošanās reakciju ar acetilēndikarbonskābes dimetilesteri veicām metanolā, lai novērstu iespējamo pāresterifikāciju. Šajā gadījumā, kā jau arī bija sagaidāms, tika iegūts atbilstošais indolizīna atvasinājums **23**.



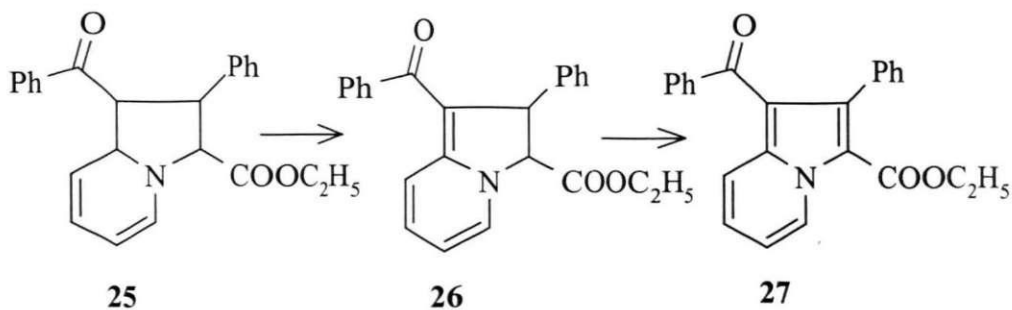
Sākotnēji uzskatījām, ka viens no galvenajiem iemesliem, kādēļ 1-etoksikarbonilmetil-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dialkoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija bromīdu reakcijās ar benzilidēnacetofenonu neveidojas cikliskais tetrahydroindolizīna atvasinājums, bet acikliskais betaīns **18**, varētu būt 1,4-DHP aizvietotāja elektrondonora efekts ( $\sigma_I = -0,18$ ;  $\sigma_R = -0,08$  [XFC1989,1232]). Tā rezultātā ir samazināts piridīnija gredzena lādiņš, līdz ar to samazinās slāpekļa atomam blakusesošā oglekļa elektrofilitāte, kas, savukārt, pazemina piridīna gredzena reakcijas spēju ciklopievienošanās reakcijā. Tādējādi betaīns **17** rodas ātrāk, nekā spētu notikt ciklopievienošanās reakcija, un betaīna **17** tālākā reakcija aprobežojas tikai ar Mihaela pievienošanos pie benzilidēnacetofenona dubultsaites elektrofilā oglekļa atoma, bet ciklopievienošanās nenotiek. Turpretī savienojuma **15** gadījumā pie kvaternizētā piridīnija gredzena 1,4-DHP elektrondonorā aizvietotāja vietā ir elektronakceptorais piridīna aizvietotājs, kurš sekmē dihydroindolizīna atvasinājuma **19** veidošanos. Arī literatūrā [IAH1991,939; IAH1991,146] minēti dati, ka piridīnija un 3-pikolīnija ilīdi plānotajā ciklopievienošanās reakcijā ar arilmetilēnmalondinitriliem veido acikliskus betaīnus, kuros negatīvais lādiņš delokalizēts starp abām cianogrupām, bet pozitīvais – piridīnija ciklā. Uzsvērts, ka šāda veida acikliskie piridīnija betaīni ir nestabili, un viegli notiek ciklopropāna atvasinājuma eliminācija. Savukārt analogi 3-cianopiridīnija ilīdi reakcijā ar arilmetilēnmalondinitriliem viegli veido tetrahydroindolizīna atvasinājumus. Autori to skaidro ar aizvietotāju elektroniskās dabas ietekmi uz reakcijas gaitu.

Lai pārbaudītu pieņēmumu par aizvietotāja elektroniskās dabas ietekmi uz piridīnija ilīdu 1,3-dipolārās ciklopievienošanās gaitu, veicām analogu reakciju ar 1,4-DHP atvasinājumu **5f**, kas 1,4-DHP cikla 3,5-vietās satur –CN aizvietotāju, līdz ar to mainot 1,4-DHP cikla ar esteru grupām 3- un 5-vietās aizvietotāja elektrondonoro raksturu uz elektronakceptoru ( $\sigma_I = 0,14$ ;  $\sigma_R = -0,06$  [XFC1989,1232]). Tomēr, arī šajā gadījumā ieguvām nevis ciklopievienošanās produktu, bet aciklisko betaīnu **18c**, kuru oksidējot ar hloranilu notiek gan 1,4-DHP oksidēšanās par atbilstošo piridīna atvasinājumu, gan arī indolizīna cikla saslēgšanas ar dekarboksilāciju, dodot savienojumu **24**. No tā var secināt, ka 1,3-dipolārās ciklopievienošanās reakcijas gaita zināmās robežās nav atkarīga no aizvietotāja pie piridīnija gredzena elektroniskā efekta.



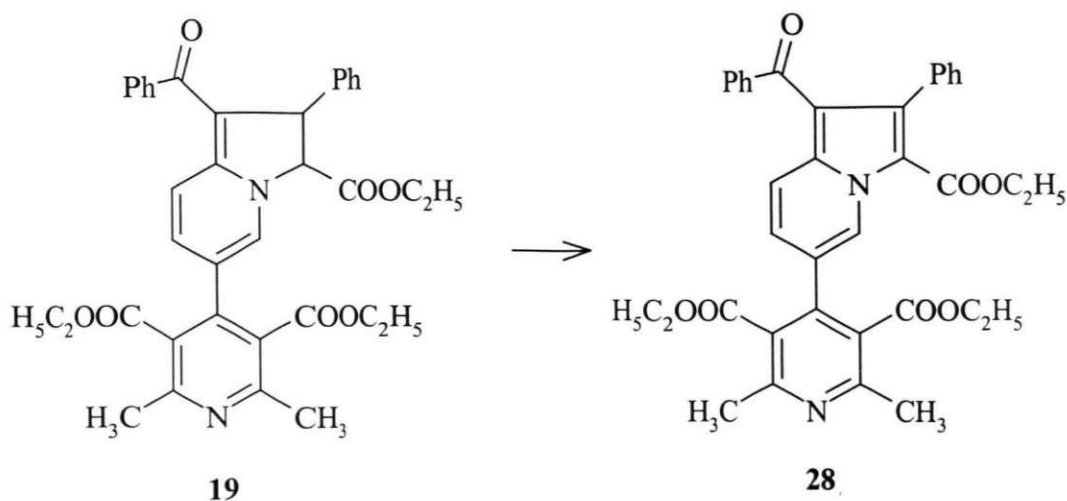
### 2.2.2. Sintezēto savienojumu oksidēšana

Iegūtajiem produktiem **18a** un **19** tika veikta ķīmiskā un elektroķīmiskā oksidēšana. Elektroķīmisko oksidēšanu veica Dr.chem. B.Turovska Latvijas Organiskās sintēzes institūta Fizikāli-organiskās ķīmijas laboratorijā. Šiem pētījumiem pēc literatūras [JCSPI1981,1180] tika sintezētas modeļvielas - atbilstošie indolizīna atvasinājumi, kuriem nav 1,4-dihidropiridil- un piridilaizvietotāju.



Ķīmiski oksidējot tetrahidroindolizīna atvasinājumu **25** ar hloranilu vai  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_4$  vai kobalta tetrapiridīndihromātu  $\{\text{CoPy}_4(\text{HCrO}_4)_2\}$ , uzreiz ieguvām atbilstošo indolizīna atvasinājumu **27**. Elektroķīmiski oksidējot tika izmantots rotējošais platīna diska elektrods, *rrde* voltometrija. Potenciāli bija noteikti pret Ag 0,2M  $\text{AgNO}_3$ . Elektroķīmiski oksidējot savienojumu **25**, iegūts arī daļējās oksidācijas produkts – dihidroindolizīna atvasinājums **26**, kurš tālāk oksidēts līdz indolizīna atvasinājumam **27**. Atbilstošie pusvilņu potenciāli ir  $\text{25} \rightarrow \text{26}$   $E^1_{1/2}=0,09$  V;  $\text{25} \rightarrow \text{27}$   $E^2_{1/2}=0,26$  V.

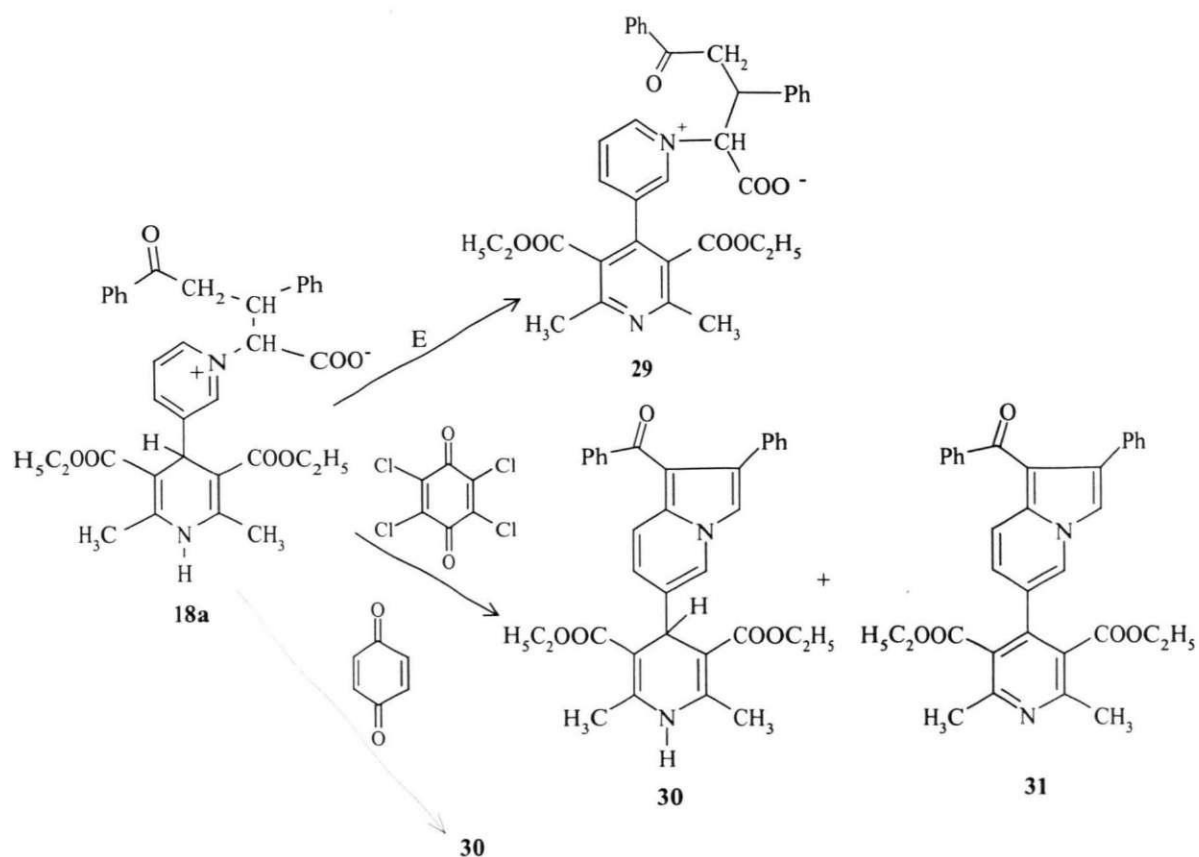
Pēc struktūras tetrahidroindolizīnu **25** varētu uzskatīt arī par 1,2-dihidropiridīna ciklisko analogu. Literatūrā [TL1972,2585] pat atzīmēts, ka dihidroindolizīna piridīna daļas protoni uzrāda tipiskus 1,2-DHP atvasinājumiem raksturīgos protonu signālus. Kā augstāk minēts, lai no tetrahidroindolizīna **25** iegūtu pilnībā oksidēto indolizīna atvasinājumu **27**, nepieciešamais potenciāls ir  $E_{1/2}^2=0,26$  V. Savukārt, lai iepriekš minētajos elektroķīmiskās oksidēšanās apstākļos nooksidētu N-aizvietotus 1,2-dihidropiridīna atvasinājumus par atbilstošajiem piridīnija atvasinājumiem, pusviļņu potenciāli ir atkarīgi no aizvietotājiem pie DHP cikla un ir robežās 0,39 – 0,52 V [JEC1987,103]. Redzam, ka tetrahidroindolizīna atvasinājums oksidējās vieglāk. To varētu skaidrot ar tetrahidroindolizīna sistēmas tieksmi veidot stabilāku aromātisko sistēmu, kā arī elektronakceptorajiem aizvietotājiem 1,2-DHP molekulās. Tomēr mūsu gadījumā salīdzinājums ar 1,2-DHP oksidēšanos nav korekts, jo netiek ņemta vērā 1,2-DHP cikla aizvietotāju ietekme. Konkrētākai biciklisko 1,2-DHP tipa savienojumu oksidēšanas salīdzināšanai ar to monocikliskajiem prototipiem vajadzētu sintezēt un pētīt savienojumus ar identiskiem aizvietotājiem.



Ķīmiski oksidējot savienojumu **19** ar  $Pb(CH_3COO)_4$ , ieguvām indolizīna atvasinājumu **28**, kas iegūts arī elektroķīmiski,  $E_{1/2}=0,41$  V. Šajā gadījumā, elektronakceptorais piridīna aizvietotājs satbilizē dihidroindolizīna sistēmu un apgrūtina oksidēšanu, salīdzinot ar neaizvietotu indolizīnu.

Realizēta arī acikliskā betaīna **18a** oksidēšana. Jāatzīmē, ka šajā gadījumā novērojām atšķirības starp ķīmiskajā un elektroķīmiskajā oksidēšanā iegūtajiem produktiem. Elektroķīmiski nooksidējas tikai savienojuma **18a** dihidropiridīna daļa par atbilstošo piridīna atvasinājumu **29**, tomēr acikliskā betaīna daļa neciklizējas par indolizīna

atvasinājumu, mainoties aizvietotāja elektroniskajam efektam. Ķīmiskās oksidācijas gadījumā vienlaicīgi notiek gan dihidropiridīna cikla oksidācija, gan karboksilato aizvietotāja dekarboksilācija ar acikliskā betaīna saslēgšanās par indolizīna atvasinājumu. Oksidējot savienojumu **18a** ar maigāku oksidētāju – 1,4-benzohinonu (vārot benzolā), iegūstam tikai vienu produktu - savienojumu **30**. Tas liecina, ka 1,4-DHP gredzens šādos apstākļos neoksidējas. Savukārt, ja izejas savienojumu **18a** oksidējam ar hloranilu (tetrahlor-1,4-benzohinonu), iegūstam produktu maisījumu, kas satur gan savienojumu **30**, kur notikusi indolizīna cikla saslēgšanās bez 1,4-DHP oksidācijas, gan arī savienojumu **31**, kur notikusi arī 1,4-DHP oksidēšanās par atbilstošu piridīna atvasinājumu. Turklāt novērojams, ka abu produktu attiecība mainās no reakcijas laika ilguma. Tā, apstādinot oksidēšanu pēc 1 h, iegūstam produktu maisījumu 1:1, bet vārot reakcijas maisījumu benzolā 6 h, kā galvenais reakcijas produkts rodas pilnībā oksidētais savienojums **31**.



Domājams, ķīmiskās oksidācijas gadījumā reakcijas pirmais solis varētu būt acikliskā betaīna dekarboksilācija, tad dehidratācija un nepiesātinātās alkilķēdes ciklopievienšanās piridīnija ciklam, un tikai tad notiek dihidropiridīna cikla (**30**)

oksidācija par atbilstošo piridīna atvasinājumu (**31**). Arī literatūrā minēti dati, ka aciklisku savienojumu oksidēšanās vai reducēšanās reakcijās, kas notiek ar elektronu pārnesei, iespējama iekšmolekulāra C-C saites veidošanās [ACIEE1995,2007, H1989,979].

Savienojuma **31**  $^1\text{H}$  KMR spektrā atšķirībā no savienojuma **28**  $^1\text{H}$  KMR spektra trūkst 3-etoksikarbonilgrupas signālu. Arī indolizīna cikla 5-protona ķīmiskā nobīde sav. **31** ir 7.85 m.d.  $\delta$ , kamēr sav. **28** tā ir 9,5 m.d.  $\delta$ . Literatūrā apstiprināts, ja indolizīna gredzenā 3-vietas aizvietotājs ir elektronakceptora grupa, tad 5-protona signāls nobīdās uz vājākiem laukiem [AJC1967,2467].

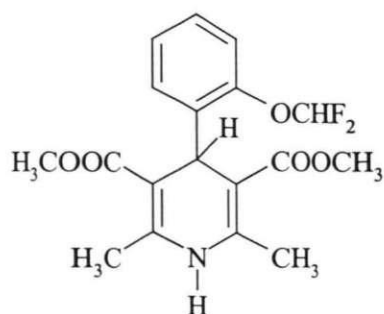
### 3. 1,4-Dihidropiridīnu bioloģisko īpašību pētījumi

#### 3.1. Ieskats literatūrā

##### 3.1.1. 1,4-Dihidropiridīnu farmakoloģiskās īpašības

Literatūrā pieejams plašs datu klāsts par 1,4-dihidropiridīna atvasinājumu bioloģiskajām īpašībām. 1,4-DHP struktūru satur arī oksidēšanās reducēšanās reakciju kofaktori NADH un NAD(F)H, kam ir svarīga nozīme šūnu bioloģiskajos procesos. Pēdējo gadu darbos uzsvars tiek likts ne tik daudz uz jaunu 1,4-dihidropiridīnu sintēzi, cik uz to daudzveidīgo farmakoloģisko īpašību padziļinātu izpēti. Klīniskā pielietojuma aspektā 1,4-DHP atvasinājumi galvenokārt aplūkoti kā preparāti kardiovaskulāro slimību ārstēšanai [ACIEE1991,1559; PBT1996,759; JMC2000,2906]. Bet tiem piemīt arī citas farmakoloģiskās aktivitātes, piemēram, hepatoprotektorā [H1998,194], pretvēža [JAR2000,373], antimutagēnā [G1999,919], antidiabētiskā [CBF1999,89], antibakteriālā [AITE1985,345] un citas. Jāatzīmē arī 1,4-dihidropiridīnu rindas savienojumu antioksidatīvais efekts [CBF1999,237, BPB2000,766, EJCP2000,35].

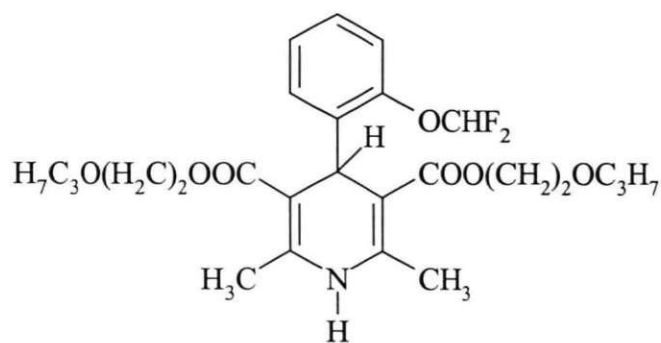
Latvijas Organiskās sintēzes institūta Membrānaktīvo un  $\beta$ -diketonu laboratorijā sintezēti vairāki simti jaunu dihidropiridīna atvasinājumu, dažiem no tiem piemīt savdabīgas farmakoloģiskās īpašības. Tā piemēram, foridons (riodipīns) (3.1.) tiek klīniskā izmantots kā antihipertenzīvs līdzeklis arī īpašos gadījumos, kad kardiovaskulārās slimības jāārstē astmas slimniekiem [AFDR1985,808, AFDR1985,668].



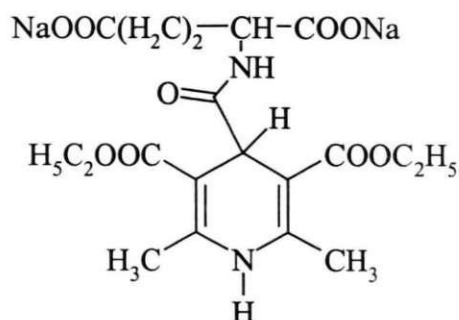
3.1.

Cerebrokrasts (3.2.), kas pēc molekulas ķīmiskās struktūras spriežot, varētu uzrādīt kardiovaskulāro aktivitāti, savas darbības ziņā tomēr atšķiras no klasiskajiem kalcija antagonistiem. Tas uzrāda nootropo aktivitāti (atmiņu uzlabojošu), kā arī antidiabēta un antikonvulsantu darbību [CBF1999,89, DF1995,135].





3.2.



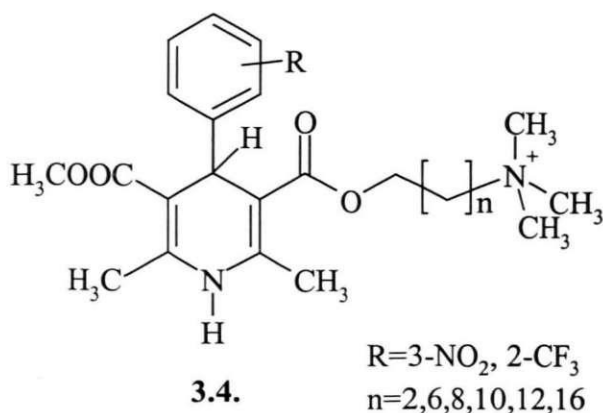
3.3.

Glutapirons (**3.3.**) ir jauna tipa 1,4-DHP, kas satur aminoskābes atvasinājumu. Tam piemīt neiroregulatora un neiromodulatora darbība [BEBM2002,369, N1998,329, AMB1996,104].

Jāatzīmē 4-neaizvietots 1,4-DHP atvasinājums – diludīns (dietons), kam piemīt antioksidantu īpašības [FCT1988,411]. Tas ir iekļauts kā aktīvais komponents dietona ziedē, jo, pateicoties tā radioprotektīvajām īpašībām, to lieto, lai novērstu blakusefektus (ādas apdegumus, čūlas, neiropi) vēža slimnieku radioterapijā [KFZ1978,101, RR1990,69]. Sintezēti arī 1,4-DHP atvasinājumi, kam piemīt antioksidantu aktivitāte (AOA). Galvenokārt tie ir 4.stāvoklī neaizvietoti 1,4-DHP, bet AOA ir arī 1,4-dihidroizonikotīnskābes atvasinājumiem [DAH1980,1483] un dažiem 2,6-aizvietotiem 1,4-DHP [PCJ2000,297]. Bet vairumā gadījumu, ievadot aizvietotāju 1,4-DHP molekulas 4. vietā, savienojuma antioksidantu aktivitāte strauji pazeminās, izņēmums ir 1,4-DHP, kas 4.vietā satur fenola tipa aizvietotājus [XFC1996,1358].

### 3.1.2. 1,4-Dihidropiridīnu membranotropās īpašības

Literatūrā pētīta 1,4-DHP tipa kalcija antagonistu iedarbība ar lipīdu bislāni, lai varētu izstrādāt aktīvākus medikamentus un novērstu iespējamās blaknes. Ir konstatēts, ka 4-aril-1,4-DHP atvasinājumi inkorporējas membrānu bislānī, un ir noteikta to lokalizācija šūnā, t.i. – membrānu veidojošo taukskābju pirmās metilēngrupas rajonā [JMC1991,869; ФП1989,274]. Literatūrā [JMC1993,3743] atzīmēts, ka, pagarinot 3-vietas aizvietotāja alkilķēdes garumu, savienojumiem **3.4.** pieaug to spēja inkorporēties L-tipa kalcija kanālos.



### 3.1.2. Gēnu transfekcija

Pētījumi par ģenētisko informāciju, kā arī vairāku saslimšanu molekulārā mehānisma noskaidrošana ļāva attīstīties gēnu terapijai – kompleksam, jaunam virzienam medicīnā, kas ļautu cīnīties ne tikai ar slimības simptomiem, bet dotu iespēju novērst slimības rašanās ģenētiskos cēloņus. Mūsdienų biomedicīniskā zinātne ir atklājusi, ka vairāki simpti dažādu slimību ir saistītas ar gēnu darbības defektiem, ko varētu novērst, ievadot šūnās speciāli izveidotu ģenētisko materiālu. Tādējādi varētu risināt ne tikai ar iedzimtiem gēnu defektiem saistītās problēmas, bet arī efektīvi labot dažādus patoloģiskus procesus, kas rodas vīrusu infekcijas, neirodeģeneratīvu vai onkoloģisku saslimšanu rezultātā. Pēdējo gadu literatūrā ir liels skaits apskatu, kas veltīti šai tēmai [sk. piem., ADDR1996,221; B1998,723; ADDR1997,17; BC1994,382; DDT2002,479]. Tāpat šī jaunā pieeja veicinātu dažādu jaunu tehnoloģiju attīstību.

Medicīnā galvenokārt izmanto divus ceļus ģenētiskā materiāla ievadīšanai šūnā - *ex vivo* un *in vivo*. *Ex vivo* - sarežģīta procedūra, kurā ģenētiskajām pārvērtībām pakļauti šūnu paraugi no pacienta, kas vēlāk, speciāli apstrādāti, tiek transplantēti atpakaļ organismā. Daudz izdevīgāk būtu lietot *in vivo* metodes, kurās ģenētiskā informācija tiktu ievadīta mērķšūnās. Tomēr arī šajā gadījumā rodas problēmas, jo vēl nav radītas augsti specifiskas, efektīvas un nekaitīgas metodes ģenētiskā materiāla ievadīšanai šūnā [IAHCX2000,385].

Pašlaik visplašāk lietotās metodes ir: fiziskās (injekcijas, elektroporācija u.c), ķīmiskās (izmantojot katjonos amfifīlus, polimērus vai liposomas) un bioloģiskās (izmantojot virālos vektorus). Katrai no šīm metodēm ir savi trūkumi un priekšrocības.

Ideālam ģenētiskā materiāla nesējam jābūt stabilam *in vitro* un *in vivo*, efektīvi jāpārnes ģenētiskais materiāls, jāpasargā tas no degradācijas, jāatbrīvo ģenētiskais materiāls tieši noteiktās šūnās (mērķšūnās), jābūt netoksiskam, tas nedrīkst izsaukt imunoloģiskas reakcijas, un tam jābūt viegli iegūstamam lielos daudzumos [ADDR1997,17; ADDR1996,221; BC1994,382, NB2000,33].

Sākotnēji straujāk attīstījās virālās gēnu transfekcijas metodes, izmantojot retrovīrusus vai adenovīrusus. Tomēr šīs metodes trūkumi: organisma imūnsistēmas reakcija, iespējamā vīrusu mutāģenēze, tehniskas problēmas un dārdzība masveida ražošanā, lika meklēt jaunus ceļus ģenētiskā materiāla nogādāšanai šūnā [B1998,723; TB2000,119].

Katjonajām liposomām kā gēnu transfekcijas aģentiem ir virkne priekšrocību salīdzinājumā ar virālajiem vektoriem. Liposomas aizsarga DNS molekulas no šūnas fermentu iedarbības izsauktās inaktivācijas, tās nav imunogēnas un var tikt pielietotas mērķtiecīgam transportam uz atbilstošu šūnu tipu. Katjonās liposomas ir viegli sintezējamas un stablas uzglabājot. Visas šīs īpašības padara katjonās liposomas perspektīvas pielietošanai gēnu transfekcijā [IAHCX2000,385; ADDR1997,17; BC1994,382; ADDR2001,227]. Literatūrā [IAHCX2000,385; TB2000,119; JMC2002,99] uzsvērts, ka, lai varētu sekmīgi veikt transfekciju, lietojot katjonos lipīdus, nepieciešams realizēt šādus etapus:

- 1) Izveidot liposomas, kas tālāk veidotu kompleksus ar plazmīdas DNS. Šāda veida kompleksi literatūrā tiek saukti par genosomām vai lipofleksiem. Tie veidojas, jo pastāv elektrostatiskā mijiedarbība starp pozitīvi lādētā katjonā lipīda hidrofilo daļu un negatīvi lādētajām fosfātgrupām nukleīnskābēs. Šie kompleksi ir dažādi pēc struktūras un izmēriem, ko nosaka izmantojamā katjonā lipīda struktūra, DNS un liposomu attiecības, kā arī veids, kādā tiek pagatavotas liposomas.
- 2) Radušos kompleksu mijiedarbība ar šūnas membrānu, kā rezultātā komplekss šķērso membrānu un sadalās šūnas iekšpusē. Šajā etapā katjonais amfifils nodrošina genosomas pozitīvo lādiņu, kas ļauj tam mijiedarboties ar negatīvi lādēto šūnas membrānu. Šūnas ārpusē pienākošie kompleksi var vai nu saplūst ar šūnas membrānu, vai arī endocitozes rezultātā nokļūt šūnas iekšpusē. Daļa kompleksu var palikt neizmantoti šūnas virspusē.
- 3) Genosomas izdalīšanās citosolā. Šī ir viena no limitējošām stadijām ģenētiskā materiāla transportēšanā. Šajā procesā nozīmīgs ir lipīds - "helperis", kas destabilizē endosomas

membrānu. Tādēļ vēlams, lai katjonie lipīdi būtu pH-jūtīgi, kas efektīvāk destabilizētu endosomālo membrānu, mainoties vides skābumam šūnas iekšienē.

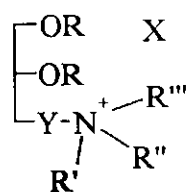
4) Pēdējais etaps - kompleksa DNS-katjonās liposomas disociācija un eksogēnās DNS transports uz šūnas kodolu, kā arī tai sekojoša ievadītā ģenētiskā materiāla ekspresija [NJC1997,113].

### 3.1.2.1. Katjono amfifīlu struktūra un sintēze

Literatūrā [JMC1998,224; BC1994,382; NJC1997,113] aprakstītas galvenās prasības katjono amfifīlu molekulas uzbūvei: katjonā daļa, hidrofobā daļa un tos abus savienošais posms. Katjonā daļa parasti ir amonija atvasinājums, vai pēdējos gados - arī heterocikliski, slāpekli saturoši savienojumi; hidrofobā daļa - garas piesātinātas vai nepiesātinātas alkilķēdes vai holesterīna atvasinājumi; savienotājs - īsa alkilķēde, kas saista abas pārējās daļas. Dažādos literatūras avotos eksistē vairāki katjonās liposomas veidojošo savienojumu klasifikācijas veidi, piemēram, klasifikācija pēc savienojumu ģeometrijas: lineāras vai globulāras molekulas [JMC1998,224]; klasifikācija, izmantojot vielu pamatstruktūras, ko satur katjonais lipīds [ИАНСХ2000,385], arī pēc savienotājposma ķīmiskā nosaukuma [JMC1999,4292].

#### 3.1.2.1.1. Katjonie glicerolipīdi ar gariem alkil- vai acil- aizvietotājiem

Lielākā daļa katjono glicerolipīdu atvasinājumu ir sintezēti no 3-(N,N-dimetilamīno)propān-1,2-diola, kura OH grupas alkilē vai acilē ar gariem alkil- vai acilaizvietotājiem, tad aminogrupu alkilēta ar metiljodīdu (MeI) vai 2-brometanolu (BrCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), iegūstot rindu savienojumu ar kopējo formulu [YX1996,581; BBA1990,124].



3.5.

DOTMA: R=(9Z)-C<sub>18</sub>H<sub>35</sub>, R'=R''=R'''=CH<sub>3</sub>, X=Cl

DOTAP: R=(9Z)-C<sub>17</sub>H<sub>33</sub>C(O), R'=R''=R'''=CH<sub>3</sub>, X=Cl

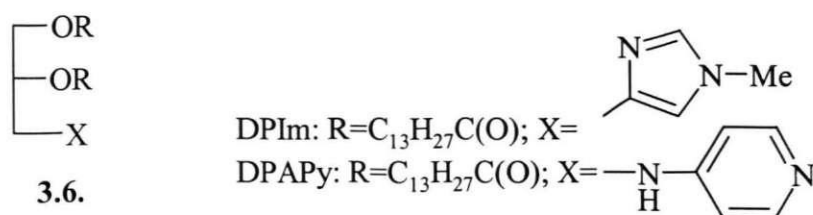
DORI: R=(9Z)-C<sub>17</sub>H<sub>33</sub>C(O), R'=R''=CH<sub>3</sub>, R'''=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, X=Br

DMRIE: R=n-C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>, R'=R''=CH<sub>3</sub>, R'''=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, X=Br

DOTB: R=(9Z)-C<sub>17</sub>H<sub>33</sub>C(O), Y=OC(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>, R'=R''=R'''=CH<sub>3</sub>, X=Cl

Atzīmēts, ka plazmīdu DNS un RNS transports eikariotiskajās šūnās pirmo reizi realizēts, izmantojot katjono glicerolipīdu - N-[1-(2,3-dioleiloksi)propil]-N,N,N-trimetilamonija hlorīdu (DOTMA) kombinācijā ar 1,2-dioleilfosfatidiletanolamīnu (DOPE) (1:1) [N1989,387]. Transfekcijas aktivitāte šajā gadījumā esot 5-100 reizes augstāka nekā lietojot citas metodes. Augstākminēto kombināciju DOTMA/DOPE (1:1) - lipofektīnu plaši lieto kā standartu salīdzināšanai jaunu katjono amfifīlu meklējumos *in vivo* eksperimentos [BJ1997,2534; GT1997,517]. Pēdējos gados komerciāli ir pieejami arī DOTAP un DMRIE, kuru kompleksi kopā ar DOPE plaši pētīti transfekcijas eksperimentos [JBC1995,18997; BBRC1999,358].

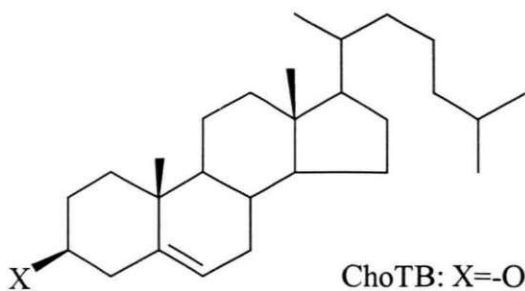
pH-jūtīgās liposomas var mainīt lādiņu attiecību, mainoties vides pH, kā rezultātā var notikt to saplūšana ar šūnu membrānām, kas veicina DNS iekļūšanu šūnā. Literatūrā minēti glicerolipīdi **3.6.**, kuri satur pH-jūtīgus, polārus metilimidazola (DPIIm) un aminopiridīna (DPAPy) aizvietotājus.



Uzskata, ka šāda tipa savienojumi var būt efektīvāki, atbrīvojot DNS no endosomām. Literatūrā atzīmēts, ka lipīdi **3.6.** kompleksā ar DOPE (1:1) fizioloģiskās vides pH robežās (pH 5.3 -7.1) veidoja liposomas, kuras bija pārbaudītas uz NIH 3T3 šūnām. Autori parāda, ka DNS iekļūšana liposomās efektīvāk notiek skābā vidē, un šādas genosomas ir stabilākas pret dažādu kināžu darbību [CL1996,39; NB1996,760].

### 3.1.2.1.2. Holesterīna atvasinājumi

Literatūrā [BBA1990,124; BBA1992,239] apskatīti katjonie lipīdi, kas sintezēti kā holesterīna atvasinājumi, lai pētītu ģenētiskā materiāla pārnesei iespēju, kā arī savienotājgrupas ietekmi uz pārnesei efektivitāti un kompleksu toksicitāti. Šāda tipa savienojumi ir:



3.7.

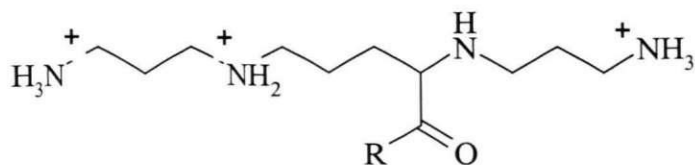
ChoTB: X=-OC(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>

DC-Chol: X=-OC(O)NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

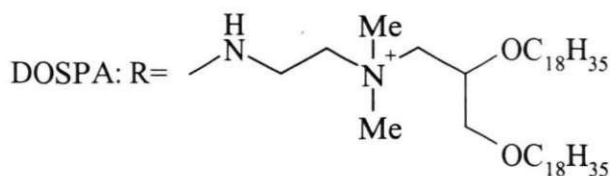
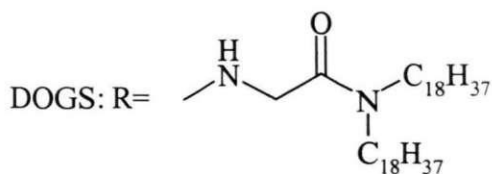
3-O-[N-(N',N'-Dimetilaminoetil)karbamoil]holesterīns (DC-Chol) kompleksā ar DOPE (1:1) ir komerciāli pieejams un tiek plaši lietots eikariotisko šūnu [BBA1995,289], ka arī nervu šūnu [NR1997,2355] transfekcijas pētījumos, lai noskaidrotu katjono liposomu un DNS kompleksu struktūras. Šis savienojums jau ir klīnisko pētījumu stadijā.

### 3.1.2.1.3. Poliamīnu, aminoskābju un peptīdu lipofīlie atvasinājumi

Literatūrā [NJC1997,113; BBA1997,291] minēti daudzi piemēri, kad kā katjoni amfifīli lietoti poliamīnu, aminoskābju vai peptīdu atvasinājumus saturoši savienojumi. Lipoamīnu **3.8.** struktūra:



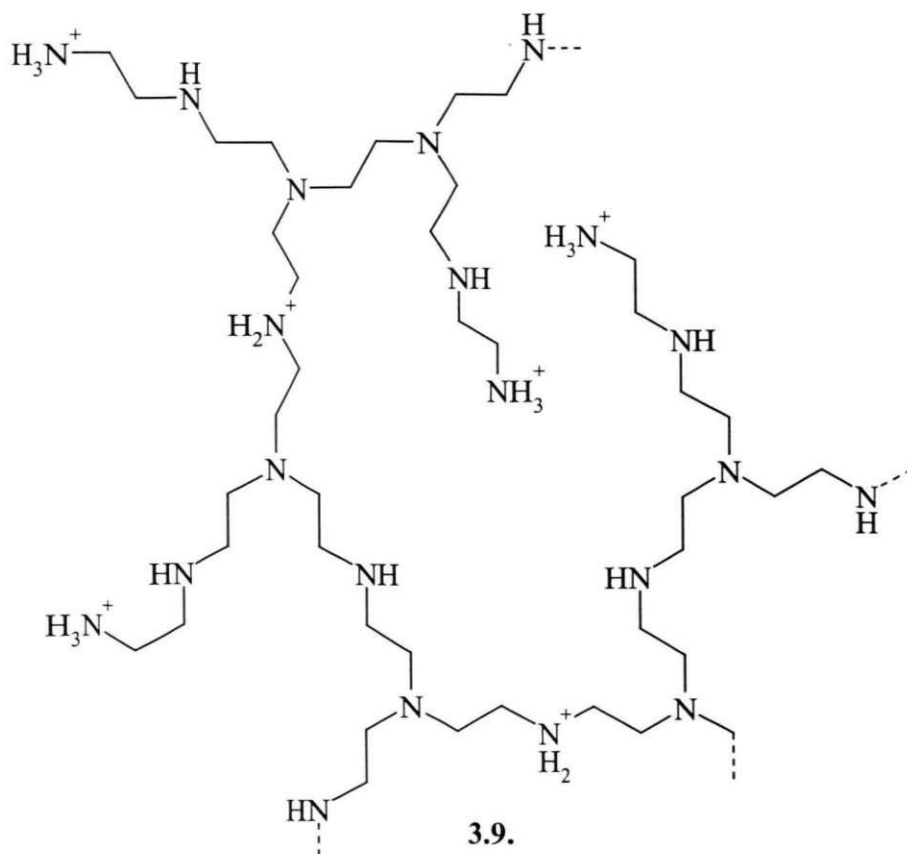
3.8.



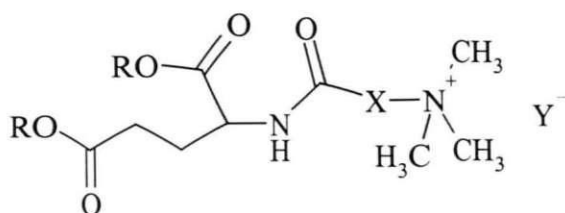
Tā piemēram, dioktadecilamino-N-(6-spermilkarbonil)glicīnu (DOGS, transfektāmu “Promega”) ražo komerciāli, arī N-[1-(2,3-dioleiloksi)propil]-N-[2-(6-spermilkarbonilamino)etil]-N,N-dimetilamonija trifluoroacetātu (DOSPA, kompleksā ar DOPE (1:3) – lipofektamīns “GIBCO BRIL”). DOGS tiek pielietots DNS kompleksu morfoloģiskajos pētījumos, kā arī lai ievadītu ģenētisko materiālu zīdītāju embriju un smadzeņu audos

[NG1995,243]. DOSPA tiek pielietots oligonukleotīdu un gēnu, kas atbild par imūnoglobulīnu biosintēzi, ievadīšanai [AR19996,2485].

Literatūrā [NN1997,1121] atzīmē, ka ļoti efektīvs ģenētiskā materiāla pārnēsētājs ir polietilēnamīns (**3.9.**), kurš darbojas kā "protonu sūkļi" plašos pH intervālos, nodrošinot augstu transfekcijas līmeni plašās DNS koncentrāciju robežās. Galvenā priekšrocība – tas efektīvi pārnēs DNS blīvos audos, kur katjonu lipīdi ir mazefektīvi. Tam turklāt ir zema citotoksicitāte [BC1995,1].



Vēl lielu interesi izraisa aminoskābju atvasinājumi. No glutamīnskābes diestera sintezēti šādi katjonu amfifili **3.10.** [BI1990,235]:

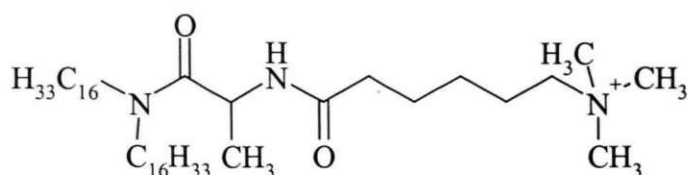


**3.10.**

R=C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>, X=(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>, n=1-5, Y=Cl, Br  
vai R=C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>, X=CH<sub>2</sub>, Y=Cl

Noskaidrots, ka transfekcijas efektivitāte krītas, palielinot alkilķēdes garumu starp molekulas lipīdo un katjono daļu.

Literatūrā [BPB1996,860] aprakstīts savdabīgs katjonais amfifils **3.11.**, kurš satur alanīna fragmentu kā starpposmu starp polāro katjona daļu un alifātisko segmentu. Šis savienojums ultraskaņas iedarbībā veido monoslāņveida vezikulas (lielas liposomas), kas pēc visiem raksturlielumiem ir ļoti tuvas bislāņu vezikulām, ko iegūst no fosfatidilholīna. Vezikulas ir stabilas, iespējams, iekšējo ūdeņraža saišu veidošanās rezultātā.

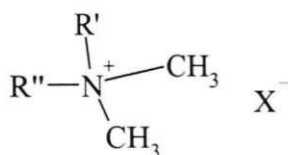


**3.11.** (NC<sub>5</sub>-Ala-2C<sub>16</sub>)

Šis katjonais amfifils izrādījās daudz aktīvāks un mazāk toksisks par lipofektīnu.

#### 3.1.2.1.4. Amonija sāļi

Šāda tipa sāļus - virsmas aktīvas vielas - liposomu sastāvā izmanto, lai ievadītu ģenētiskas konstrukcijas dažādās šūnu līnijās. Tie ir plaši izplatīti, nav dārgi un ir viegli sintezējami [JACS1980,6642]. No šo savienojumu klases pazīstamākie un plašāk lietojamie ir **3.12.**



**3.12.**

DDAB/DDAC: R'=R''= n-C<sub>18</sub>H<sub>37</sub>, X=Cl/Br

DODAC/DODAB: R'=R''=(9Z)-C<sub>18</sub>H<sub>35</sub>, X=Cl/Br

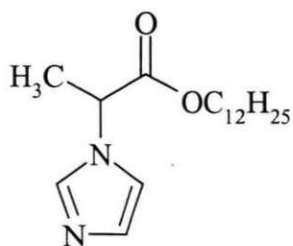
Komplekss DDAB/DOPE (1:2.5) ir patentēts, tāpat plaši lietots arī DODAC/DOPE komplekss, lai pētītu DNS pārnēsi *in vitro* un *in vivo* eksperimentos [AR1996,2485; BBRC1997,794; JMC1998,2207].



### 3.1.2.1.5. Heterociklisko savienojumu amfifilie atvasinājumi

#### 3.1.2.1.5.1. Imidazola atvasinājumi

Literatūrā [PR1996,404] atzīmēts, ka lipīdu analogi, kas satur imidazola ciklu ir ļoti efektīvi *in vivo* transfekcijas procesos. Lai veidotu pH jūtīgas liposomas, sintezēti šāda tipa savienojumi **3.13.**:



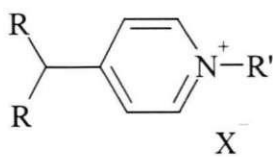
**3.13.**

Liposomas, kas veidotas no savienojuma **3.13.**/DOTAP/DOPE (1:1:1), izrādījās 5 reizes aktīvākas nekā DOTAP/DOPE. Autori to izskaidro ar imidazolatvasinājuma aktivējošo ietekmi uz ģenētiskā materiāla izdalīšanos no endosomas [PR1996,404].

#### 3.1.2.1.5.2. Piridīna atvasinājumi

Pēdējos gados īpaši daudz sintezēti un kā katjonie amfifili lietoti dažādi piridīnija atvasinājumi [PNAC1997,1160; EJOC2000,665; EP0755924]. Atzīmēts, ka šāda veida savienojumi nav toksiski daudzās šūnu līnijās.

Viena savienojumu grupa ir iegūta no 4-pikolīna, sintezējot amfifilus piridīnija sāļus **3.14.**, kuriem pie piridīnija slāpekļa atoma ir metil aizvietotājs, bet cikla 4. vietā garākas alkilķēdes. Literatūrā tos sauc par SAINT amfifiliem:



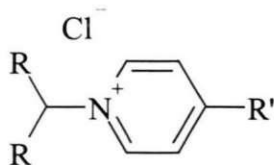
**3.14.**

kur  $R = n\text{-C}_{12}\text{H}_{25}$ ;  $n\text{-C}_{14}\text{H}_{29}$ ;  $n\text{-C}_{16}\text{H}_{33}$ ;  
 $n\text{-C}_{18}\text{H}_{37}$ ;  $(9Z)\text{C}_{18}\text{H}_{35}$ ,  $R' = \text{CH}_3$ ,  $X = \text{I}/\text{Cl}$

Atzīmēts, ka, palielinot 4. vietā aizvietotāja ķēdes garumu no heksadecila- uz oktadecilu-, savienojumu **3.14.** transfekcijas efektivitāte pazeminās divas reizes. Savukārt, salīdzinot

piesātinātu un nepiesātinātu aizvietotāju ietekmi, parādīts, ka nepiesātinātu savienojumu efektivitāte ievērojami pieaug.

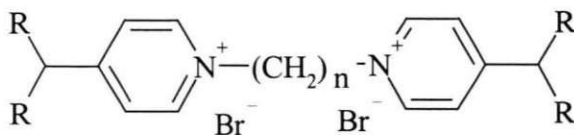
Otru piridīnija sāļu grupu **3.15.** sauc par SAINT amfifiliem ar pretēji vērstām grupām:



**3.15.**

kur R'=H vai CH<sub>3</sub>,  
R=C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>, C<sub>18</sub>H<sub>35</sub>

Sintezēti un patentēti arī citi piridīnija atvasinājumi kā potenciālie gēnu transfekcijas aģenti. Piemēram geminālie SAINT amfifili **3.16.**, kuru transfekcijas aktivitāte ir atkarīga no aizvietotāja piridīnija cikla 4 vietā. Tā, ja aizvietotājs R ir heksadecilatvasinājums, savienojuma transfekcijas aktivitāte ir salīdzināma ar lipofektīna aktivitāti. Savukārt, ja ir oktadecenilaizvietotājs – aktivitāte krītas.



**3.16.**

kur R=C<sub>16</sub>H<sub>33</sub> vai C<sub>18</sub>H<sub>35</sub>  
n=3,4,5

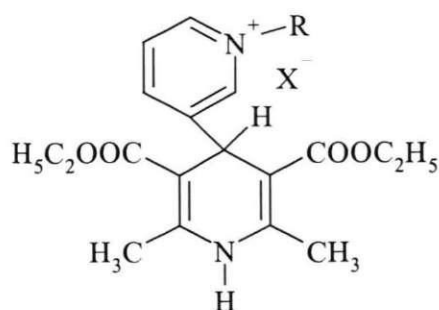
Autori uzsver, ka šādi piridīnija tipa katjonie amfifili **3.14.-3.16.** ir efektīvāki par plaši lietoto kompleksu DOTMA/DOPE un darbojās mazākās koncentrācijās. Ja DOTMA/DOPE transfekcijas efektivitāte ir 1, lietojot 70 μM koncentrāciju, tad komplekss ar **3.14.** tipa SAINT/DOPE uzrāda desmit reizes lielāku transfekcijas aktivitāti 15 μM koncentrācijā [PNAC1997,1160].

## 3.2. Rezultāti un to izvērtējums

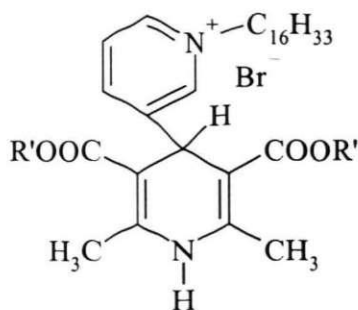
### 3.2.1. N-Alkil-1,4-DHP ietekme uz modeļmembrānām

Kā minēts iepriekš, literatūrā ir plašs datu klāsts par 1,4-DHP rindas kalcija antagonistu un citu fizioloģiski aktīvu 1,4-DHP atvasinājumu spēju iedarboties uz modeļmembrānām [JMC1991,868; JMCC1989,187], lai gan šīs darbības mehānisms nav pagaidām noskaidrots. Uzsvērts, ka savienojumu fizioloģiskā aktivitāte ir atkarīga no savienojuma lokalizācijas šūnā. Tas būtu pirmais solis, lai skaidrotu vielu darbības mehānismu. Tomēr jāatzīmē, ka 1,4-DHP atvasinājumi ar pozitīvu lādiņu molekulā sistemātiski līdz šim nav pētīti. Tādējādi, par mūsu darba mērķi izvirzījām noskaidrot kvaternizētu piridīnija aizvietotāju, kas 4. vietā satur 1,4-DHP atvasinājumu, spēju inkorporēties fosfolipīdu modeļmembrānās. Šī darba daļa veikta Latvijas Organiskās Sintēzes institūta Membrānaktīvo un  $\beta$ -diketonu laboratorijā, Dr. biol. D.Tirzītes vadībā.

Izvēlējamies divas savienojumu rindas, variējot alkilaizvietotāja ķēdes garumu un atrašanās vietu 1,4-DHP molekulā\*#:



**1.sav. grupa:**



**2. sav. grupa:**

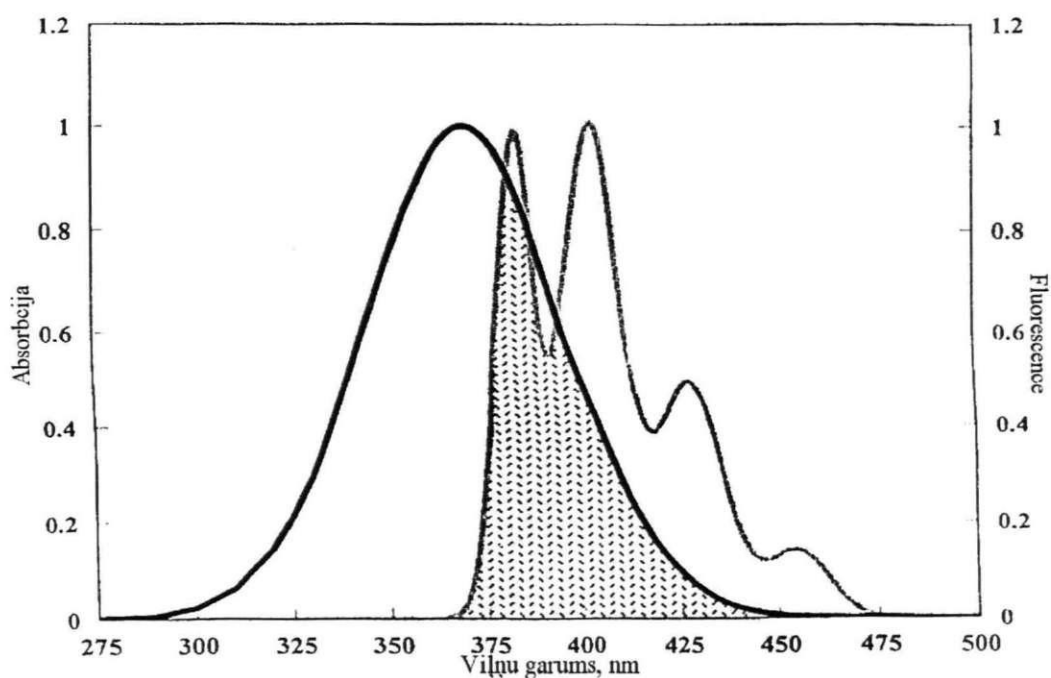
R=CH<sub>3</sub>(1), C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>(2), C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>(3), C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>(4), C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>(5) R'= CH<sub>3</sub>(6), C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>(5), C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>(7), C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>(8)

Par 1,4-DHP atvasinājumu spēju inkorporēties modeļmembrānās spriedām pēc antracēna fluorescences dzēšanas mērījumiem. Napolārā antracēna zonde lokalizējas membrānās tuvu hidrofobās un polārās daļas robežai. Spriežot pēc literatūras datiem [BJ1989,769; JMC1991,869] jāsecina, ka 1,4-DHP atvasinājumi membrānās varētu lokalizēties tieši šajā rajonā.

\* Savienojumu numerācija darba trešajā daļā sāka no jauna.

# Sav. 1-5 un 8 sintezējusi Latvijas Organiskās sintēzes institūta līdzstrādniece, Dr.chem.. N.Makarova

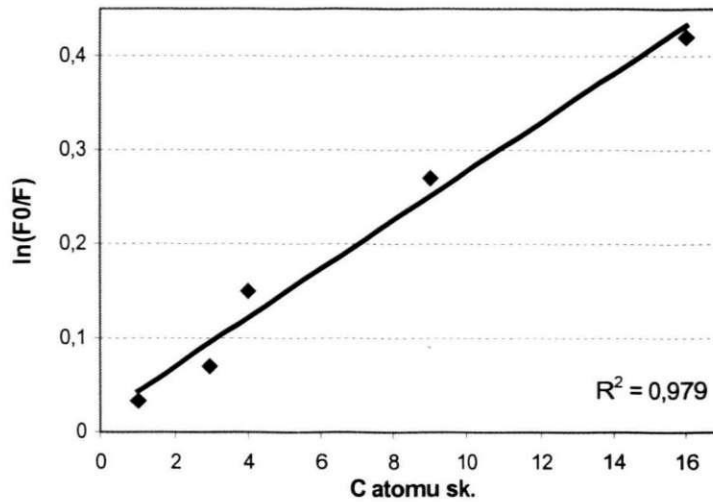
Veicot eksperimentus, pie liposomām un fluorescentās zondes – antracēna pievieno atbilstošo 1,4-DHP atvasinājumu un mēra antracēna fluorescenci bez 1,4-DHP atvasinājuma ( $F_0$ ) un tā klātbūtnē ( $F$ ). 1,4-DHP spēju inkorporēties membrānās raksturo lielums  $\ln(F_0/F)$ , kas ir proporcionāls inkorporētā fluorescences dzēsēja koncentrācijai. Enerģijas pārnese no donora uz akceptora molekulu iespējama tikai tad, ja akceptora absorbcijas maksimums ir tuvs donora fluorescences maksimumam [Φ31989,274]. Mūsu savienojumu gadījumā šis nosacījums izpildās, jo antracēna fluorescences maksimums ir pie 380 nm, bet pētāmo savienojumu absorbcijas spektru maksimums 360 - 364 nm (3.1.attēls).



3.1.att. Antracēna fluorescences spektra (pelēkā līnija) pārklāšanās (punktotais laukums) ar 4-(N-heksadecilpiridil)-1,4-dihidropiridīna atvasinājuma (5) absorbcijas spektru (melnā līnija) [BMBI1998,849].

Iegūtie rezultāti parādīja, ka, palielinot alkilķēdes garumu pie kvaternizētā slāpekļa atoma 1,4-DHP molekulas 4.vietā, nemainot alkilķēdes garumu 1,4-DHP gredzena 3,5-vietas aizvietotājos (1.sav. grupa), pieaug savienojumu spēja inkorporēties fosfolipīdu modeļmembrānās. Šī sakarība izpildās ar augstu korelācijas koeficientu ( $R^2=0,979$ ; 3.2.attēls). Rezultāti liecina, ka modeļmembrānās vislabāk inkorporējas 1-heksadecil-3-(2',6'-dimetil-

3',5'-dietoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')-piridīnija bromīds, kam aizvietotāja alkilķēdes garums ir 16 (**5**) (3.2.attēls).



3.2.att. N-alkilpiridil-1,4-DHP (1.sav. rinda) atvasinājumu inkorporēšanās modelmembrānās, atkarībā no alkilķēdes garuma pie kvaternizētā piridīnija N-atoma [XGC1995,1112].

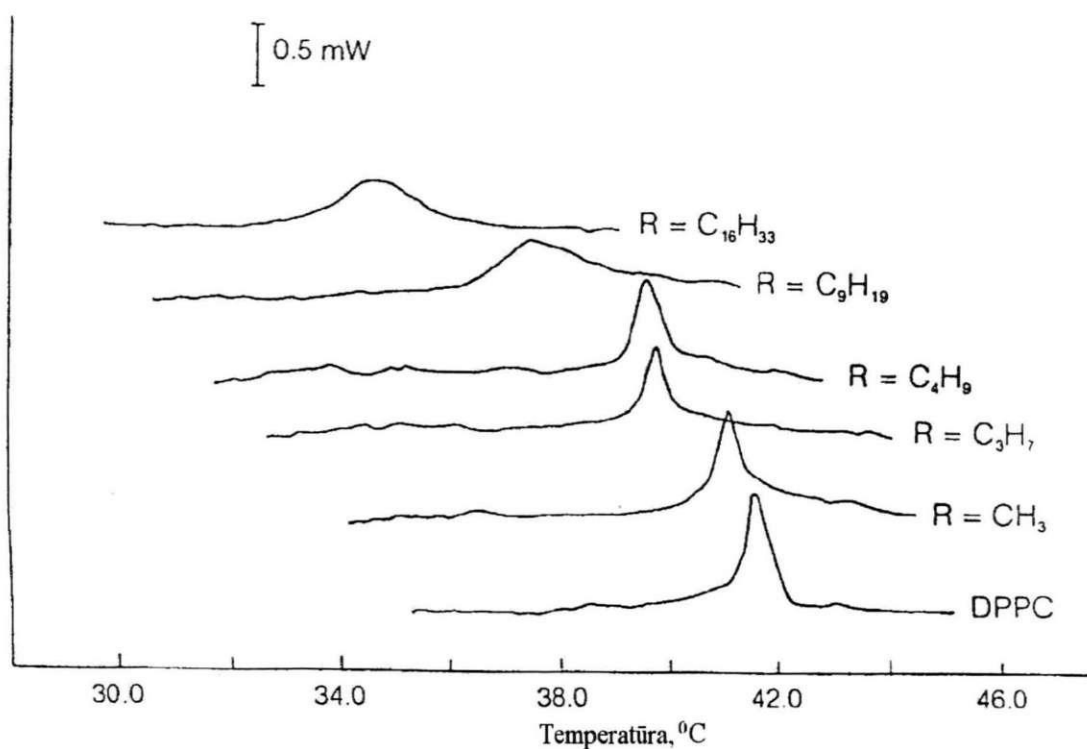
Savukārt, variējot alkilķēžu garumus 1,4-DHP gredzena 3,5-vietās N-heksadecilpiridīnija atvasinājumu gadījumā (2.sav. grupa), savienojumu spēja inkorporēties modelmembrānās samazinās, pieaugot alkilķēdes garumam (skat. 3.1. tabulu).

3.1.tabula

3,5-Aizvietotāju alkilķēdes garuma ietekme uz 1,4-DHP atvasinājumu spēju inkorporēties modelmembrānās (2 sav. grupa).

Sav.	R'	ln(F <sub>0</sub> /F)	Sav.	R'	ln(F <sub>0</sub> /F)
<b>6</b>	CH <sub>3</sub>	0,37	<b>7</b>	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	0,30
<b>5</b>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	0,42	<b>8</b>	C <sub>14</sub> H <sub>29</sub>	0,10

Lai gūtu ieskatu par sintezēto savienojumu ietekmi uz membrānu fluiditāti, tika noteikta gelu – šķidro kristālu fāzu pārejas temperatūra. Kuopio Universitātē (Somija) Dr. biol. D.Tirzīte noteica šādas fāzu pārejas temperatūras dipalmitoilfosfatidilholīna (DPPC) liposomām mūsu savienojumu (1.sav. grupa) klātbūtnē ar diferenciālās skanējošās kalorimetrijas (DSC) metodi. Rezultāti ir apkopoti 3.3.attēlā.



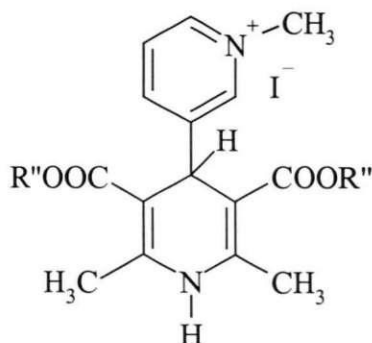
3.3.att. DPPC liposomu diferenciālas skanējošās kalorimetrijas termogrammas 1,4- dihidropiridīna atvasinājumu (1.sav. grupa) klātbūtnē [BMBI1998,849].

Kā redzams no attēla, tad pašu DPPC liposomu fāzu pāreja notiek pie 41 °C. Pievienojot 1,4-DHP atvasinājumus ar dažāda garuma alkilķēdēm pie kvaternizētā piridīnija DHP cikla 4.vietā, fāzu pārejas endotermiskais pīķis novirzās uz zemāko temperatūru apgabalu. Tas ļauj secināt, ka 1,4-DHP atvasinājumi, saistoties ar modeļmembrānām, paaugstina dipalmitiolfosfatidilholīna liposomu fluiditāti. Tas īpaši novērojams savienojuma 5 klātbūtnē, kad fāzu pārejas temperatūra pazeminās līdz 35 °C.

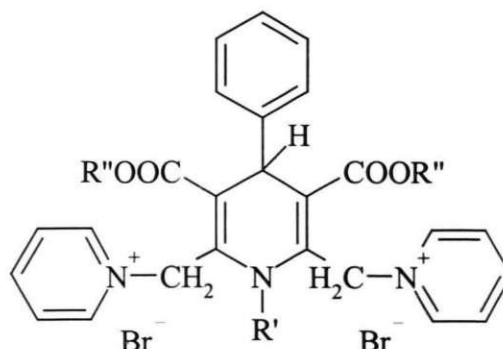
### 3.2.2. 1,4-DHP atvasinājumi kā potenciālie gēnu transfekcijas aģenti

Kā jau atzīmēts iepriekš, sintētisko gēnu transfekcijas aģentu vidū visvairāk pēta katjonos amfifīlus. Ņemot vērā pozitīvo lādiņu un garās alkilķēdes saturošo 1,4-DHP atvasinājumu membranotropās īpašības, tika ieteikts pārbaudīt tos kā potenciālus gēnu transfekcijas aģentus. Jāatzīmē, ka līdz šim literatūrā neizdevās atrast datus, ka 1,4-DHP atvasinājumi būtu pētīti šādā aspektā.

Kuopio Universitātē (Somija) M.Sc. Z. Hyvönen pārbaudīja divas savienojumu rindas (3. sav. grupa un 4. sav. grupa\*):



**3.sav.grupa:**



**4.sav. grupa:**

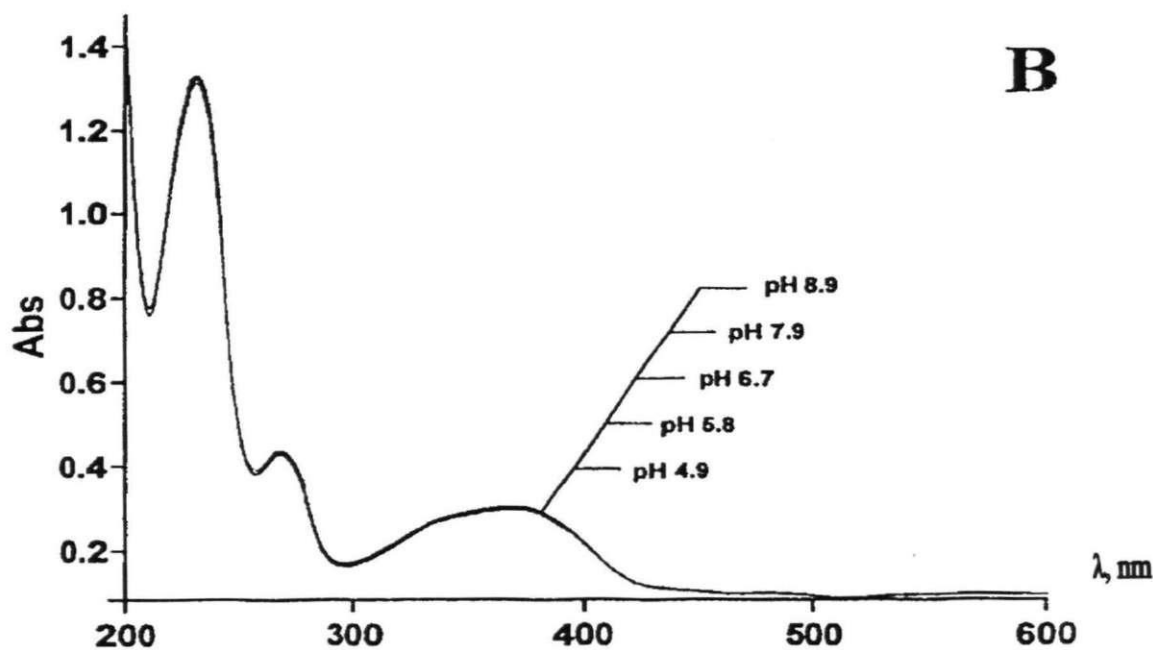
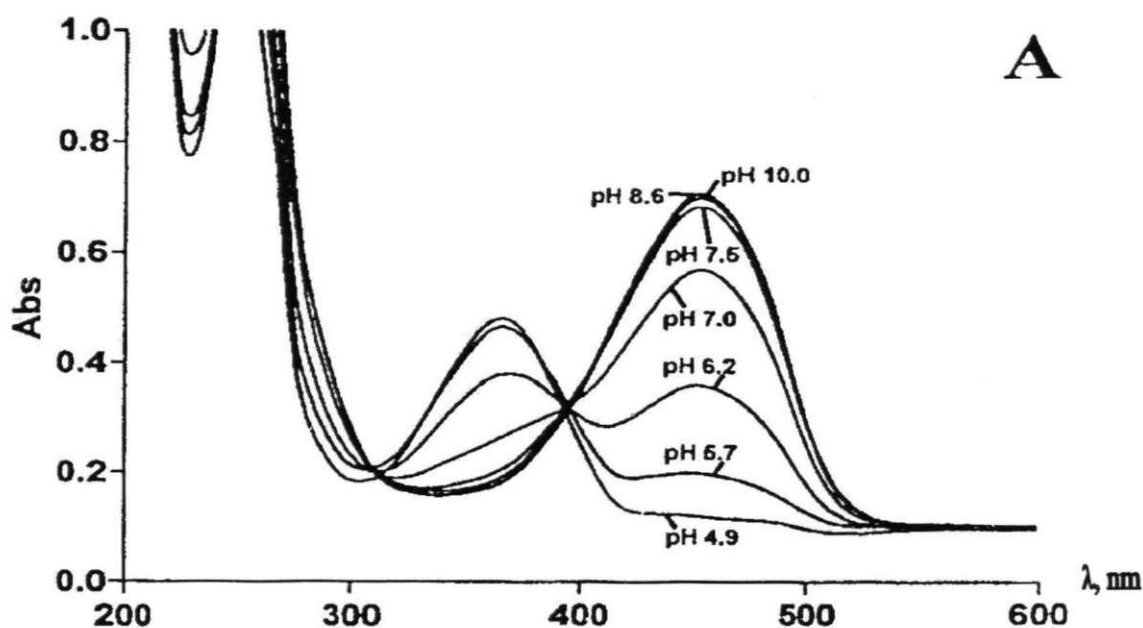
R''=C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>(9); C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>(10); C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>(11);  
(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCOC<sub>15</sub>H<sub>31</sub>(12)

R'=H, R''=C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>(13); R'=H, R''=C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>(14);  
R'=H, R''=C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>(15); R'=H, R''=C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>(16);  
R'=CH<sub>3</sub>, R''=C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>(17)

Visi pētītie 1,4-DHP atvasinājumi veidoja liposomas ūdens šķīdumos. Savienojumu ar vienu lādiņu (**3.sav. grupa**) liposomas bija ar mazāku diametru (15-30 nm), kamēr dubultlādētie savienojumi veidoja liposomas ar lielāku diametru (50-130 nm). Noskaidrots, ka visas 1,4-DHP veidotās liposomas bija ar pozitīvu lādiņu, kas ir veicinošs apstākļi, lai sekmīgāk notiktu liposomu mijiedarbība ar negatīvi lādēto šūnas virsmu.

Tā kā ir svarīgi, lai katjonu liposomām šķērsojot šūnas endosomālo daļu, netiktu mainīts endosomas vides pH, kas skābas vides gadījumā var novest pie DNS sagraušanas, tika pētīta 3. un 4. savienojumu grupu jutība pret vides pH izmaiņām. Sākotnēji uzņēma absorbcijas spektrus pie dažādām vides pH vērtībām (3.4. attēls). Redzam, ka **3.grupas savienojumi** nav atkarīgi no vides pH, to absorbcijas spektrs paliek konstants (3.4.att. B), savukārt, **4.grupas savienojumiem** skābā vidē absorbcijas maksimums ir pie 365–367 nm, bet videi kļūstot bāziskākai, šis absorbcijas maksimums samazinās, pieaugot absorbcijai pie 454 nm (3.4.att. A). Ja vides pH ir 10, ir tikai šis absorbcijas maksimums, kas raksturīgs 1,4-DHP anjonam. Domājams, ka šajā gadījumā 2,6-vietās esošās piridinometilgrupas stabilizē radušos anjonu.

• Sav. 10, 11, 12 sintezējusi Latvijas Organiskās Sintēzes institūta līdzstr. Dr.Chem. N.Makarova, sav. 14, 15, 16 - M.Sc. I.Reine un sav. 13 - Dr.chem. B.Čekavičus.



3.4.att. Savienojumu 14 (A) un 12 (B) absorbcijas spektri pie dažādām pH vērtībām [BBA2000,451].

Pētīta arī 3. un 4. grupu savienojumu buferkapacitāte, iegūstot to titrēšanas līknes [BBA2000,451]. Noskaidrots, ka **3.grupas sav.** neuzrāda buferīpašības, turpretī, dubultlādētajiem **4.grupas sav.** piemīt buferkapacitāte pH 6-8 apgabalā. Šo savienojumu



$pK_a$  ir apmēram 7. Interesanti atzīmēt, ka sav. 17, kas ir N-metilaizvietots **4.grupas sav.** 1,4-DHP atvasinājums, arī neuzrāda pārējiem šīs grupas savienojumiem raksturīgo buferkapacitāti. Tas ļauj secināt, ka šajā procesā noteicoša loma ir ūdeņraža atomam pie 1,4-DHP gredzena slāpekļa atoma. Acīmredzot, **3.grupas sav.**, kā vairumam 1,4-DHP atvasinājumu,  $pK_a$  vērtība ir virs 10 un šie savienojumi nevar deprotonēties ūdens vidē.

Spēja veidot kompleksus ar DNS ir nepieciešams nosacījums, lai nodrošinātu labu transfekcijas aktivitāti, tādēļ tā noteikta 3. un 4. grupas savienojumiem. Iegūtie rezultāti liecina, ka savienojumi ar dubulto lādiņu molekulā (**4.sav. grupa**) kondensējas ar DNS daudz efektīvāk, nekā savienojumi ar vienu pozitīvo lādiņu molekulā (**3.sav. grupa**). Visaugstākā saistīšanās spēja bija savienojumam **14** [BBA2000,451].

Pārbaudot augstāk minēto savienojumu spēju pārnest  $\beta$ -galaktozidāzes plazmīdu pērtiķa fibroblastu šūnu līnijā (CV1-P) un tīklenes pigmenta epitēlija šūnu līnijā (D 407), atrasts, ka visefektīvākais ir savienojums **14**, kas 1,4-DHP molekulā satur divus pozitīvus lādiņus un 3,5-vietās dodeciloksikarbonilaizvietotājus [BBA2000,451]. Kā redzams, savienojums **14** ir aktīvāks par DOTAP (N-(1-(2,3-dioleiloksi)propil)-N,N,N-trimetilamonija metilsulfāts) un PEI 25 (polietilēnimīns 25 kDa), labi zināmajiem liposomālo un polimēru tipa transfekcijas aģentiem. No tā varam secināt, ka katjonie amfifīlie 1,4-DHP atvasinājumi var tikt lietoti DNS pārnesei šūnās.

### 3.2.3. 1,4-DHP citotoksicitātes noteikšana

Citotoksicitātes dati ir svarīgs rādītājs jebkuram potenciālajam preparātam, lai varētu veikt tālākus tā iedarbības pētījumus. Lai pilnīgāk raksturotu 1,4-DHP atvasinājumu īpašības šajā aspektā, noteicām mūsu sintezēto savienojumu un dažu tiem radniecīgu fizioloģiski aktīvu 1,4-DHP atvasinājumu citotoksicitāti. Darbs tika veikts Viļņas Universitātes Ekselences centra Bioķīmijas un biofizikas katedrā, profesores V.Kirvelienes vadībā.

Izvēlēta virkne savienojumu\*, variējot aizvietotāju alkilķēdes garumu, atrašanās vietu un elektronisko dabu:

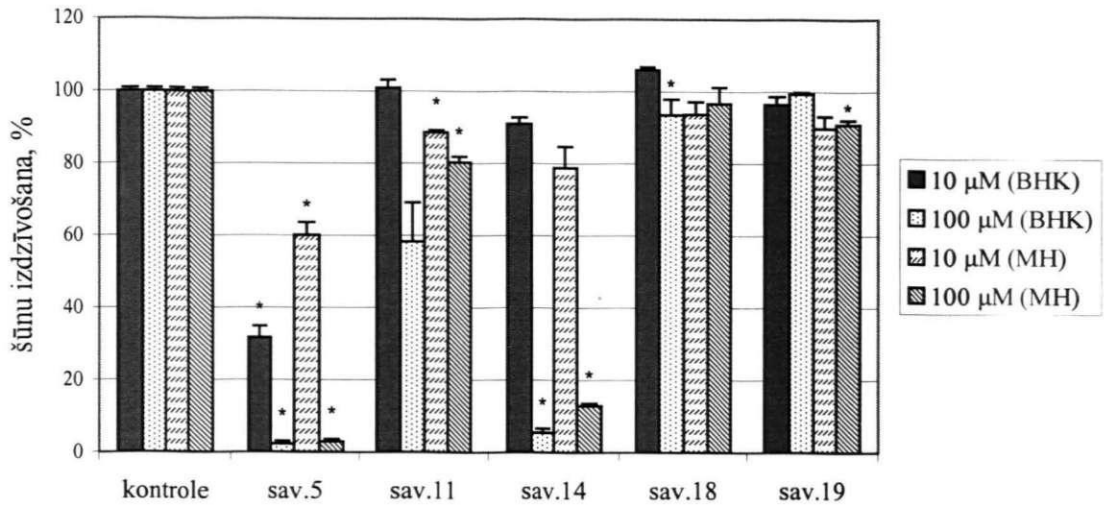
---

\* Dr.chem. N.Makarova sintezējusi sav. 25 (cerebrovaskulārs preparāts, izvēlēts salīdzināšanai)

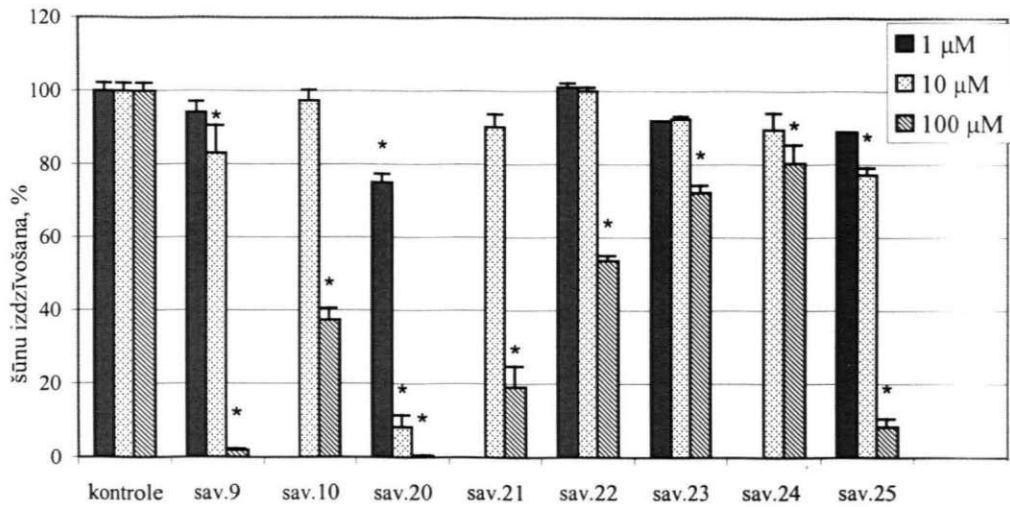


Tālāk izveidojušos produktu kopā ar šūnām šķīdina 2-propanolā un mēra iegūto šūnu šķīdumu absorbciju pie 570 nm.

Iegūtie savienojumu citotoksicitātes dati apkopoti 3.5. un 3.6. attēlos.



3.5. att. MH un BHK šūnu izdzīvošanas spēja savienojumu (konc. 10 μM un 100 μM) ietekmē.

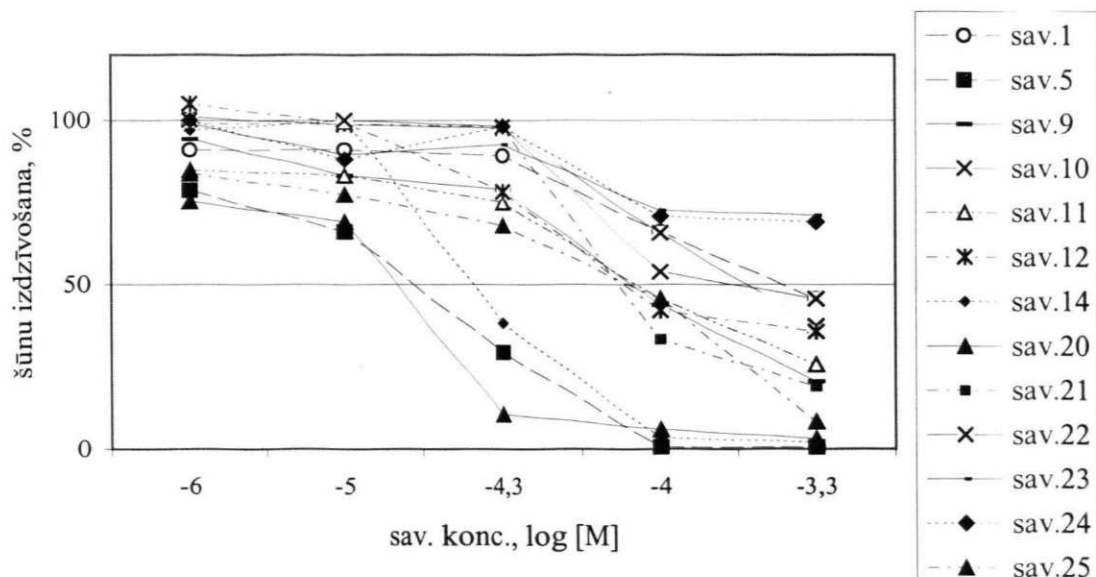


3.6. att. MH šūnu izdzīvošanas spēja (%) savienojumu (konc. 1 μM, 10 μM un 100 μM) ietekmē.

Datu apkopošanā un statistiskajā analīzē izmantota programma Microsoft Excel 2000 for Windows. Rezultātu ticamība pārbaudīta ar *2-tailed* t-testu un rezultāti uzskatīti par ticamiem, ja  $p < 0.05$ .

No iegūtajiem rezultātiem redzams, ka īpaši citotoksiski ir sav. **5** un **20**, kas jau 10  $\mu\text{M}$  koncentrācijā izsauc vairāk kā 50 % šūnu bojāeju. Ja šo savienojumu koncentrācija ir 100  $\mu\text{M}$ , tad šūnu izdzīvošana ir tikai daži procenti. Lielākajā koncentrācijā (100  $\mu\text{M}$ ) citotoksiski ir arī sav. **14**, **9**, **21** un **25**.

Svarīgs rādītājs savienojumu citotoksicitātes raksturošanai ir  $\text{IC}_{50}$ , kas uzrāda, pie kādas savienojuma koncentrācijas iet bojā 50% no šūnām. Nosacījām to mūsu savienojumiem (3.7.att.).



3.7. att. Savienojumu  $\text{IC}_{50}$  noteikšana MH šūnās.

Datu apkopošanā un statistiskajā analizē izmantota programma Microsoft Excel 2000 for Windows un GraphPad Prism 3.00. Rezultātu ticamība pārbaudīta ar *2-tailed* t-testu un rezultāti uzskatīti par ticamiem, ja  $p < 0.05$ .

Apkopojot iegūtos rezultātus redzam, ka savienojumus pēc to  $\text{IC}_{50}$  var iedalīt trijās grupās. Viscitotoksiskākie ir savienojumi: **20** ( $\text{IC}_{50}=23 \mu\text{M}$ ); **5** ( $\text{IC}_{50}=30 \mu\text{M}$ ); **14** ( $\text{IC}_{50}=37 \mu\text{M}$ ) un **12** ( $\text{IC}_{50}=56 \mu\text{M}$ ). Nākošo grupu veido mazāk citotoksiski savienojumi: **22**, **21**, **9**, **11**, **10**, **25** un **1**, kuru  $\text{IC}_{50}$  ir virs 100  $\mu\text{M}$ , un beidzot vismazāk citotoksiski ir savienojumi **24** un **23**, kuru citotoksicitāte ir virs 500  $\mu\text{M}$ . Aplūkojot savienojumu struktūras ietekmi uz citotoksicitāti 4-(N-alkilpiridil)-1,4-DHP atvasinājumu rindā (**1**, **5**, **9-12**, **18-24**), varam secināt, ka viscitotoksiskākie ir 4-(N-alkilpiridil)-1,4-DHP, kuru molekulā ir etoksikarbonilaizvietotājs 1,4-DHP gredzena 3,5-vietās un gara alkilķēde (heksadecil- **5**, dodecil- **20**) pie piridīnija slāpekļa atoma. Vismazāko citotoksicitāti uzrāda savienojumi, kuriem 1,4-DHP gredzena 3,5-vietās ir heksadeciloksikarbonilaizvietotājs, bet pie piridīnija slāpekļa atoma elektron-

akceptori grupējumi (etoksikarbonilmetil- **24** un karbamoilmetil- **23**). Redzam, ka savienojumu  $IC_{50}$  ir robežās no 20  $\mu$ M līdz vairāk nekā 500  $\mu$ M. Tomēr, lai izdarītu konkrētus secinājumus, jāzin arī vielas terapeitiskā deva. Tādejādi būtu nepieciešams tālāk turpināt vielu struktūras – aktivitātes sakarību pētījumus, lai atrastu jaunus DHP atvasinājumus, kas apvienotu augstu transfekcijas efektivitāti un minimālu citotoksicitāti.

## 4. Eksperimentālā daļa

### 4.1. Pielietotās metodes un aparātūra

Reakciju norises un sintezēto savienojumu individualitātes kontrole tika veikta ar plānslāņa hromatogrāfijas palīdzību uz "Silufol UV 254" plāksnītēm, kustīgās fāzes: etiķskābes etilesteris, heksāns, kā arī abu maisījums dažādās attiecībās. Kolonnas hromatogrāfijai izmantojām silikagelu: ACROS, Silicagel, 0,060 – 0,200 nm, pore diam. ca 6 nm. Hromatogrammas detektējām uz ultrahemiskopa "Original Hanau Fluorotest".

PMR spektri tika reģistrēti ar spektrometru WH-90/DS ("Bruker") pie 90 MHz, deiterohloroforma ( $\text{CDCl}_3$ ) vai deiterodimetilsulfoksīda ( $\text{DMSO-d}_6$ ) šķīdumos, par iekšējo standartu lietojot tetrametilsilānu (TMS) ( $\delta=0$ ) vai heksametildisiloksānu ( $[(\text{CH}_3)_3\text{Si}]_2\text{O}$ ) (HMDSO) ( $\delta=0,05$ ).

UV spektri uzņemti ar spektrofotometru "Hitachi 557" (Japāna) etanola šķīdumiem ( $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$ ) 200-900 nm diapazonā.

Fluorescences intensitāte mērīta ar fluorescences spektrometru "Hitachi-850" (Japāna) 1 mm kivetē.

Kušanas temperatūru intervālus noteicām ar "Boetiusa galdiņu" ("VEB Analytik", VDR). Tā kā šie intervāli ir dažu grādu robežās, tad nekādas korekcijas uz dzīvsudraba stabiņa nevienmērīgu izplešanos netika izdarītas.

PMR spektri uzņemti Organiskās sintēzes institūta (OSI) Fizikāli-organiskās ķīmijas laboratorijā.

### 2.2. Sintēžu apraksti

Atbilstošie acetetiķskābes esteri un 2,6-dimetil-3,5-dialkoksikarbonil-4-{3 (2 vai 4)-piridil}-1,4-dihidropiridīni (DHP) tika sintezēti Organiskās sintēzes institūta Membrānaktīvo savienojumu un  $\beta$ -diketonu laboratorijā pēc literatūrā [JOC1961,595] aprakstītās metodes.

#### 4.2.1. N-Alkilētu piridīnija sāļu iegūšana

##### *1-Metil-3 {2 vai 4}-(2',6'-dimetil-3',5'-dialkoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-*

##### *4')piridīnija jodīdi (I):*

0,004 mol atbilstošā 2,6-dimetil-3,5-dialkoksikarbonil-4-(3' {2' vai 4'}-piridil)-1,4-DHP sildot šķīdina 20 ml acetona vai butān-2-ona, pievieno 2,40 ml (1,41 g, 0,01 mol) jodmetāna (vairākās porcijās) un vāra 1-3 h. Atdzesē, filtrē radušās nogulsnes. Pārkristalizē no acetona vai etanola.

**1a:** Izn. 52 %,  $T_k=97-100$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.8 (d, 12H,  $J=7$  Hz, 3,5-.. $\text{CH}_3$ ); 1.02-1.76 (m, 10H, 3,5-..( $\text{CH}_2$ )<sub>2</sub> + CH); 2.40 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.00 (t, 4H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 4.63 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ); 5.07 (s, 1H, 4-H); 7.67 (pl.s, 1H, N-H); 7.86 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.37 (d, 1H,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.79 (s, 1H, 2-H Py); 8.96 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py).

**1b:** Izn. 88 %,  $T_k=59-61$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.90 (t, 6H,  $J=7$  Hz, 3,5-.. $\text{CH}_3$ ); 1.40-2.36 (m, 4H, 3,5-.. $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 2.50 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 3.39 (t, 4H,  $J=7$  Hz, 3,5-.. $\text{OCH}_2$ ..); 3.56 (t, 4H,  $J=5$  Hz, 3,5-.. $\text{CH}_2\text{O}$ ..); 4.15 (t, 4H,  $J=5$  Hz, 3,5-.. $\text{OCH}_2$ ..); 4.60 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ); 5.10 (s, 1H, 4-H); 7.86 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 7.90 (pl.s, 1H, N-H); 8.44 (d, 1H,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.71 (s, 1H, 2-H Py); 9.04 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py).

**1c:** Izn. 68 %,  $T_k=108-111$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.85 (t, 6H,  $J=6$  Hz, 3,5-.. $\text{CH}_3$ ); 1.25-1.40 (m, 40H, 3,5-..( $\text{CH}_2$ )<sub>10</sub>); 2.60 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.01 (t, 4H,  $J=6$  Hz, 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 4.65 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ); 5.08 (s, 1H, 4-H); 7.34 (pl.s, 1H, N-H); 7.84 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.43 (d, 1H,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.77 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py); 8.95 (s, 1H, 2-H Py).

**1d:** Izn. 94 %,  $T_k=143-146$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.83 (t, 6H, 3,5-.. $\text{CH}_3$ ); 1.00-2.36 (m, 56H, 3,5-..( $\text{CH}_2$ )<sub>13</sub> + 2'- $\text{CH}_2$ ); 2.48 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 3.93-4.17 (m, 12H, 1',3',4'- $\text{CH}_2$ ); 4.60 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ); 5.06 (s, 1H, 4-H); 7.62 (pl.s, 1H, N-H); 7.87 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.42 (d, 1H,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.86 (s, 1H, 2-H Py); 8.83 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py).

**1e:** Izn. 55 %,  $T_k=75-77$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.85 (t, 12H,  $J=6$  Hz, 3,5-.. $\text{CH}_3$ ); 1.13-1.68 (m, 104H, 3,5-4 x ( $\text{CH}_2$ )<sub>13</sub>); 2.25-2.49 (m, 14H, 3,5- $\text{COCH}_2$  + 2,6- $\text{CH}_3$ ); 3.90-4.25 (m, 8H, 3,5-4 x  $\text{OCH}_2$ ); 4.61 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ); 4.95-5.30 (m, 3H, 3,5- $\text{CH}$  + 4-H); 7.65-7.95 (m, 2H, 5-H Py + 4-H Py); 8.50 (m, 2H, 6-H Py + NH); 8.97 (pl.s, 1H, 2-H Py).

**1f:** Izn. 94 %,  $T_k=271-274$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.70-2.49 (m, 32H, 3,5-bornil); 2.57 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.62 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ); 4.72-4.95 (m, 2H, 3,5- $\text{CH}$ ); 5.10 (s, 1H, 4-H); 7.60 (s, 1H, N-H); 7.85 (d.d., 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.40 (d, 1H,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.80 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py); 8.79 (s, 1H, 2-H Py).

**1g:** Izn. 72 %,  $T_k=220-222$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.64-1.87 (m, 32H, 3,5-izobornil); 2.50 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.55-4.75 (m, 5H, 3,5- $\text{CH}$  + N- $\text{CH}_3$ ); 5.08 (s, 1H, 4-H); 7.67 (s, 1H, N-H); 7.85 (d.d., 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.45 (d, 1H,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.70 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py); 8.98 (s, 1H, 2-H Py).

**1h:** Izn. 64 %,  $T_k=270$  °C sad.).  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.70-2.52 (m, 32H, 3,5-bornil); 2.59 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.60 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ); 4.80-5.00 (m, 2H, 3,5- $\text{CH}$ ); 5.25 (s, 1H, 4-H); 7.78 (s, 1H, N-H); 8.00 (d, 2H,  $J_{2,3}=7$  Hz, 2,6-H Py); 8.98 (d, 2H,  $J_{3,2}=7$  Hz, 3,5-H Py).

**1i:** Izn. 75 %,  $T_k=197-199$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.20 (t, 6H,  $J=7$  Hz, 3,5-.. $\text{CH}_3$ ); 2.55 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.05 (t, 4H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 4.90 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ); 5.25 (s, 1H, 4-

H); 7.80 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.08 (d, 1H,  $J_{3,4}=7$  Hz, 3-H Py); 8.36 (d.d, 1H,  $J_{4,3}=7$  Hz,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.53 (pl.s, 1H, N-H); 8.95 (d, 1H,  $J_{5,6}=6$  Hz, 6-H Py).

*1-Heptil-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija*

*bromīds (2):*

1,5 g (0,015 mol) 2,6-dimetil-3,5-dietoksikarbonil-4-(3'-piridil)-1,4-DHP sildot šķīdina 20 ml butān-2-ona, pievieno 0,71 ml (0,81 g, 0,015 mol) n-heptilbromīda, vāra 40 h.. Atdzesē, filtrē radušās nogulsnes. Pārkristalizē no acetona. Iegūst 0,9 g (39 %) vielas.

$T_k=165-167$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.85 (t, 3H,  $J=7$  Hz, N-..CH<sub>3</sub>); 1.11-1.31 (m, 14H, 3,5-..CH<sub>3</sub> + N-..(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>); 1.85-2.20 (m, 2H, N-..CH<sub>2</sub>); 2.52 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 4.05 (kv., 4H,  $J=7$  Hz, 3,5-OCH<sub>2</sub>); 4.77 (t, 2H,  $J=7$  Hz, N-CH<sub>2</sub>); 5.07 (s, 1H, 4-H); 7.95 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.34 (d, 1H,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.55 (s, 1H, 2-H Py); 8.87 (pl.s, 1H, N-H); 9.36 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py).

*1-Dodecil-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija*

*bromīdi (3):*

0,009 mol 2,6-dimetil-3,5-dietoksikarbonil-4-(3'-piridil)-1,4-DHP sildot šķīdina 20 ml butān-2-ona, pievieno 2,20 ml (2,27 g, 0,009 mol) n-dodecilbromīda, vāra 20 h. Atdzesē, filtrē radušās nogulsnes. Pārkristalizē no etanola. Izn. 60 %,  $T_k=162-164$  °C.

$^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.86-1.45 (m, 27H, 3,5-..CH<sub>3</sub> + N-..(CH<sub>2</sub>)<sub>9</sub>CH<sub>3</sub>); 1.80-2.20 (m, 2H, N-..CH<sub>2</sub>); 2.55 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 4.08 (kv., 4H,  $J=7$  Hz, 3,5-OCH<sub>2</sub>); 4.76 (t, 2H,  $J=7$  Hz, N-CH<sub>2</sub>); 5.07 (s, 1H, 4-H); 7.82 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.35 (d, 1H,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.55 (s, 1H, 2-H Py); 9.00 (pl.s, 1H, N-H); 9.45 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py).

*1-Heksadecil-2-(2',6'-dimetil-3',5'-dialkoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')piri-*

*dīnija bromīdi (4):*

0,003 mol atbilstošā 2,6-dimetil-3,5-dialkoksikarbonil-4-(3' {2' vai 4'}-piridil)-1,4-DHP sildot šķīdina 50 ml acetona vai butān-2-ona, vai acetona – hloroforma maisījuma (1:1), pievieno 0,9 ml (0,9 g, 0,003 mol) 1-bromheksadekāna, vāra 45-100 h. Atdzesē, filtrē nogulsnes, pārkristalizē no acetona vai butān-2-ona. Sav. **4b** un **4d** gadījumā produktu attīra hromatogrāfiski, eluents: hloroforma-metanola maisījums (10:1).

**4a:** Izn. 79 %,  $T_k=93-96$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.88 (t, 9H,  $J=7$  Hz, 3,5-..CH<sub>3</sub> + N-..CH<sub>3</sub>); 1.26-2.20 (m, 32H, 3,5-..CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> + N-..(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>); 2.55 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 3.35 (t, 4H,  $J=7$  Hz, 3,5-..OCH<sub>2</sub>..); 3.55 (t, 4H,  $J=5$  Hz, 3,5-..CH<sub>2</sub>O..); 4.14 (t, 4H,  $J=5$  Hz, 3,5-OCH<sub>2</sub>..); 4.74 (t, 2H,  $J=7$  Hz, N-CH<sub>2</sub>); 5.10 (s, 1H, 4-H); 7.88 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-



H Py); 8.34 (d, 1H,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.55 (pl.s, 1H, N-H); 9.10 (s, 1H, 2-H Py); 9.40 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py).

**4b:** Izn. 12 %,  $T_k=124-126$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.86 (t, 9H, 3,5-..CH<sub>3</sub> + N-..CH<sub>3</sub>); 1.20-1.58 (m, 68H, 3,5-..(CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub> + N-..(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>); 2.50 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 4.00 (t, 4H,  $J=7$  Hz, 3,5-OCH<sub>2</sub>); 4.80 (t, 2H,  $J=7$  Hz, N-CH<sub>2</sub>); 5.10 (s, 1H, 4-H); 7.80 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.25 (d, 1H,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.35 (s, 1H, 2-H Py); 8.80 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py); 8.90 (pl.s, 1H, N-H).

**4c:** Izn. 63 %,  $T_k=95-98$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.84 (t, 3H,  $J=7$  Hz, N-..CH<sub>3</sub>); 1.05-2.20 (m, 34H, 3,5-..CH<sub>3</sub> + N-..(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>); 2.46 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 4.05 (kv., 4H,  $J=7$  Hz, 3,5-OCH<sub>2</sub>); 4.62 (t, 2H,  $J=6$  Hz, N-CH<sub>2</sub>); 5.09 (s, 1H, 4-H); 7.90 (d, 2H,  $J_{2,3}=8$  Hz, 2,6-H Py); 8.50 (pl.s, 1H, N-H); 8.88 (d, 2H,  $J_{3,2}=8$  Hz, 3,5-H Py).

**4d:** Izn. 8 %,  $T_k=117-121$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.85 (t, 3H,  $J=5$  Hz, N-..CH<sub>3</sub>); 1.10-2.20 (m, 34H, 3,5-..CH<sub>3</sub> + N-..(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>); 2.55 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 4.05 (t, 4H,  $J=7$  Hz, 3,5-OCH<sub>2</sub>); 5.08 (t, 2H,  $J=8$  Hz, N-CH<sub>2</sub>); 5.40 (s, 1H, 4-H); 7.72 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.10 (d, 1H,  $J_{3,4}=7$  Hz, 3-H Py); 8.20 (d.d, 1H,  $J_{4,3}=7$  Hz,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.50 (d, 1H,  $J_{5,6}=6$  Hz, 6-H Py); 9.70 (pl.s, 1H, N-H).

*1-Etoksikarbonilmetil-3 {2 vai 4}-(2',6'-dimetil-3',5'-dialkoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija bromīdi (5):*

0,003 mol atbilstošā 2,6-dimetil-3,5-dialkoksikarbonil-4-(3 {2 vai 4}-piridil)-1,4-DHP sil-dot šķīdina 10-15 ml acetona vai acetona hlороформа maisījumā (1:1), pievieno 0,32 ml (0,5 g, 0,003 mol)  $\alpha$ -brometiķskābes etilestera, vāra 5-6 h. Atdzesē, filtrē un pārkristalizē no acetona.

**5a:** Izn. 85 %,  $T_k=180$  °C (sad.).  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.27 (t, 3H,  $J=7$  Hz, N-..CH<sub>3</sub>); 2.95 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 3.58 (s, 6H, 3,5-OCH<sub>3</sub>); 4.25 (kv., 2H,  $J=7$  Hz, N-OCH<sub>2</sub>); 5.10 (s, 1H, 4-H); 5.98 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>); 7.84 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.38 (d, 1H,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.45 (pl.s, 1H, N-H); 8.67 (s, 1H, 2-H Py); 9.22 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py). UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm, (lg $\epsilon$ ): 232 (4,42); 270 (3,93); 348 (3,68).

**5b:** Izn. 91 %,  $T_k=144-146$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.89 (t, 6H,  $J=7$  Hz, 3,5-..CH<sub>3</sub>); 1.30 (t, 3H,  $J=7$  Hz, N-..CH<sub>3</sub>); 1.58 (kv., 4H,  $J=7$  Hz, 3,5-..CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 2.52 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 3.29-3.59 (m, 8H, 3,5-..CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>); 4.06-4.48 (m, 6H, 3,5-OCH<sub>2</sub> + N-OCH<sub>2</sub>); 5.12 (s, 1H, 4-H); 5.91 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>); 7.80 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.40 (d, 1H, 4-H Py); 8.65 (s. pārkl., 2H, 2-H Py + N-H); 9.32 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py).

**5c:** Izn. 89 %,  $T_k=99-102$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.87 (t, 6H,  $J=7$  Hz, 3,5-..CH<sub>3</sub>); 1.12-1.40 (m, 59H, 3,5-..(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub> + N-..CH<sub>3</sub>); 2.50 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 4.05 (t, 4H,  $J=5$  Hz, 3,5-OCH<sub>2</sub>); 4.30 (kv., 2H, N-OCH<sub>2</sub>); 5.13 (s, 1H, 4-H); 6.09 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>); 7.82-7.96 (m, 2H, 4,5-H Py); 8.49 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py); 9.03 (pl.s. pārkl., 2H, 2-H Py + N-H).

**5d:** Izn. 47 %,  $T_k=140-143$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.17 (t, 6H,  $J=7$  Hz, 3,5-..CH<sub>3</sub>); 1.23 (t, 3H,  $J=7$  Hz, N-..CH<sub>3</sub>); 2.45 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 4.04 (kv., 4H,  $J=7$  Hz, 3,5-OCH<sub>2</sub>); 4.21 (kv., 2H,  $J=7$  Hz, N-..OCH<sub>2</sub>); 5.14 (s, 1H, 4-H); 5.96 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>); 7.85 (d, 2H,  $J_{2,3}=8$  Hz, 2,6-H Py); 8.59 (pl.s, 1H, N-H); 9.17 (d, 2H,  $J_{3,2}=8$  Hz, 3,5-H Py).

**5e:** Izn. 34 %,  $T_k=197-199$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.20 (t, 6H,  $J=7$  Hz, 3,5-..CH<sub>3</sub>); 1.33 (t, 3H,  $J=7$  Hz, N-..CH<sub>3</sub>); 2.55 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 4.04 (t, 4H,  $J=7$  Hz, 3,5-OCH<sub>2</sub>); 4.32 (kv., 2H,  $J=7$  Hz, N-..OCH<sub>2</sub>); 5.40 (s, 1H, 4-H); 6.00 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>); 7.82 (d.d, 1H,

$J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.09 (d, 1H,  $J_{3,4}=7$  Hz, 3-H Py); 8.37 (d.d, 1H,  $J_{4,3}=7$  Hz,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 9.03 (d, 1H,  $J_{5,6}=6$  Hz, 6-H Py); 9.51 (pl.s, 1H, N-H).

**5f:** Izn. 84 %,  $T_k=210-212$  °C (sad.).  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO}$ ):  $\delta$  1.31 (t, 6H,  $J=7$  Hz, N- $\text{CH}_3$ ); 2.21 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.26 (kv., 2H,  $J=7$  Hz, N- $\text{OCH}_2$ ); 4.75 (s, 1H, 4-H); 5.98 (s, 2H, N- $\text{CH}_2$ ); 8.15 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.50 (d, 1H, 4-H Py); 9.30 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py); 9.34 (s, 1H, N-H); 9.95 (s, 1H, 2-H Py).

*1-Fenacil-3 {2 vai 4}-(2',6'-dimetil-3',5'-dialkoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija bromīdi (6):*

0,005 mol atbilstošā 2,6-dimetil-3,5-dialkoksikarbonil-4-(3 {2 vai 4}-piridil)-1,4-DHP sildot šķīdina 50 ml acetona, pievieno 1 g (0,005 mol) fenacilbromīda, maisa ist. temp. 5-8 h. Filtrē radušās nogulsnes, pārkristalizē no etanola.

**6a:** Izn. 95 %,  $T_k=225$  °C (sad.).  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.21 (t, 6H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{CH}_3$ ); 2.40 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.06 (kv., 4H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 5.10 (s, 1H, 4-H); 6.91 (s, 2H, N- $\text{CH}_2$ ); 7.35-7.51 (m, 4H, N-H + 3,4,5-H Ph); 7.71 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.08 (d, 2H, 2,6-H Ph); 8.40 (d, 1H,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.66 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py); 9.01 (s, 1H, 2-H Py). UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm, (lg $\epsilon$ ): 208 (4,45); 236 (4,67); 272pl. (4,01); 360 (3,66).

**6b:** Izn. 67 %,  $T_k=135-138$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.84 (t, 6H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{CH}_3$ ); 1.30-1.70 (m, 4H, 3,5- $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 2.48 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 3.31 (t, 4H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 3.55 (t, 4H,  $J=5$  Hz, 3,5- $\text{CH}_2\text{O}$ ); 4.15 (t, 4H,  $J=5$  Hz, 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 5.15 (s, 1H, 4-H); 6.85 (s, 2H, N- $\text{CH}_2$ ); 7.39-7.49 (m, 4H, 3,4,5-H Ph + N-H); 7.77 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.04-8.23 (m, 3H, 4-H Py + 2,6-H Ph); 8.78 (s, 1H, 2-H Py); 9.05 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py).

**6c:** Izn. 78 %,  $T_k=148-150$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.86 (t, 6H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{CH}_3$ ); 1.02-1.73 (m, 56H, 3,5- $(\text{CH}_2)_{14}$ ); 2.44 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.03 (t, 4H,  $J=5$  Hz, 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 5.12 (s, 1H, 4-H); 6.95 (s, 2H, N- $\text{CH}_2$ ); 7.45-7.54 (m, 4H, 3,4,5-H Ph + N-H); 7.75 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.13 (d, 2H, 2,6-H Ph); 8.42 (d, 1H,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.67 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py); 9.07 (s, 1H, 2-H Py).

**6d:** Izn. 84 %,  $T_k=224-227$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.20 (t, 6H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{CH}_3$ ); 2.40 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.05 (kv., 4H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 5.15 (s, 1H, 4-H); 6.80 (s, 2H, N- $\text{CH}_2$ ); 7.30-7.60 (m, 3H, 3,4,5-H Ph); 7.85 (d, 2H,  $J_{2,3}=8$  Hz, 2,6-H Py); 8.05 (m, 2H, 2,6-H Ph); 8.35 (pl.s, 1H, N-H); 8.90 (d, 2H,  $J_{3,2}=8$  Hz, 3,5-H Py).

**6e:** Izn. 46 %,  $T_k=185-188$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.15 (t, 6H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{CH}_3$ ); 2.35 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 3.95 (t, 4H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 5.45 (s, 1H, 4-H); 6.80 (s, 2H, N- $\text{CH}_2$ ); 7.55 (m, 5H, Ph); 7.70 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.04 (d, 1H,  $J_{3,4}=7$  Hz, 3-H Py); 8.25 (d.d, 1H,  $J_{4,3}=7$  Hz,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.95 (d, 1H,  $J_{5,6}=6$  Hz, 6-H Py); 9.30 (pl.s, 1H, N-H).

*1-(2''-Naftacil)-3 {4}-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija bromīds (7):*

0,006 mol atbilstošā 2,6-dimetil-3,5-dietoksikarbonil-4-(3' {vai 4''}-piridil)-1,4-DHP sildot šķīdina 50 ml acetona-hloroforma maisījumā (2:1), pievieno 1,50 g (0,006 mol) 2-

brom-1-(naft-2-il)etanona. Vāra 12 h. Filtrē radušās nogulsnes. Pārkristalizē no etanola. **7a** iznākums - 2,9 g (83 %).

Reakciju var veikt arī butān-2-onā. Ņemot izejvielas tādos pašos daudzumos un sildot šķīdina 50 ml butān-2-ona. Vāra 5 h., pēc pārkristalizēšanas **7a** gadījumā iegūst 3,05g (87%) produkta.

**7a:**  $T_k=236-240\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H KMR (CDCl}_3\text{)}$ :  $\delta$  1.12 (t, 6H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5-..CH<sub>3</sub>); 2.30 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 4.00 (kv., 4H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5-OCH<sub>2</sub>); 5.00 (s, 1H, 4-H); 6.60 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>); 7.55-7.80 (m, 2H, 7,6-H Naft.); 8.00-8.30 (m, 5H, 5-H Py + 3,4,5,8-H Naft.); 8.50 (d, 1H,  $J_{4,5}=7\text{ Hz}$ , 4-H Py); 8.75 (s, 2H, 2-H Py+1-H Naft); 8.80 (d, 1H,  $J_{6,5}=5\text{ Hz}$ , 6-H Py); 9.12 (s, 1H, N-H). UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm (lge): 250 (4,80), 274 (4,31), 348 (3,90).

**7b:** Izn. 34 %,  $T_k=211-215\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H KMR (CDCl}_3\text{)}$ :  $\delta$  1.05 (t, 6H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5-..CH<sub>3</sub>); 2.12 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 4.07 (kv, 4H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5-OCH<sub>2</sub>); 5.15 (s, 1H, 4-H); 6.85 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>); 7.25-7.90 (m, 8H, Naft. + N-H); 8.65 (d, 2H,  $J_{2,3}=8\text{ Hz}$ , 2,6-H Py); 8.94 (d, 2H,  $J_{3,2}=8\text{ Hz}$ , 3,5-H Py).

*1-Karbamoilmetil-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dialkoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')-piridīnija jodīdi (8):*

0,005 mol atbilstošā 2,6-dimetil-3,5-dialkoksikarbonil-4-(3-piridil)-1,4-DHP sildot šķīdina 10-20 ml acetona vai acetona hloroforma maisījumā (1:1), pievieno 1 g (0,005 mol)  $\alpha$ -jodacetamīda un vāra 3-5 h. Atdzesē, filtrē radušās nogulsnes, pārkristalizē no ūdens vai etanola.

**8a:** Izn. 89 %,  $T_k=220-223\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H KMR (CDCl}_3\text{)}$ :  $\delta$  2.25 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 3.49 (s, 6H, 3,5-..CH<sub>3</sub>); 4.96 (s, 1H, 4-H); 5.38 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>); 7.56 un 7.86 (2 x pl.s, 2H, NH<sub>2</sub>); 7.93 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8\text{ Hz}$ ,  $J_{5,6}=6\text{ Hz}$ , 5-H Py); 8.30 (d, 1H, 4-H Py); 8.63 (s, 1H, 2-H Py); 8.66 (d, 1H,  $J_{6,5}=6\text{ Hz}$ , 6-H Py); 9.08 (pl.s, 1H, N-H).

**8b:** Izn. 97 %,  $T_k=197-199\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H KMR (CDCl}_3\text{)}$ :  $\delta$  1.19 (t, 6H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5-..CH<sub>3</sub>); 2.32 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 4.00 (kv., 4H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5-OCH<sub>2</sub>..); 5.05 (s, 1H, 4-H); 5.51 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>); 7.24 un 7.85 (2 x pl.s, 2H, NH<sub>2</sub>); 7.88 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8\text{ Hz}$ ,  $J_{5,6}=6\text{ Hz}$ , 5-H Py); 8.30 (d, 1H, 4-H Py); 8.58 (pl.s, 1H, N-H); 8.69 (s, 1H, 2-H Py); 8.74 (d, 1H,  $J_{6,5}=6\text{ Hz}$ , 6-H Py). UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm, (lge): 232 (4,69); 272 (3,91); 360 (3,66).

**8c:** Izn. 50 %,  $T_k=141-143\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H KMR (CDCl}_3\text{)}$ :  $\delta$  0.89 (t, 6H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5-..CH<sub>3</sub>); 1.35-1.75 (m, 4H, 3,5-..CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 2.42 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 3.35 (t, 4H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5-..OCH<sub>2</sub>..); 3.52 (t, 4H,  $J=5\text{ Hz}$ , 3,5-..CH<sub>2</sub>O..); 4.13 (t, 4H,  $J=5\text{ Hz}$ , 3,5-OCH<sub>2</sub>..); 5.12 (s, 1H, 4-H); 5.85 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>); 6.15 un 7.75 (2 x pl.s, 2H, NH<sub>2</sub>); 7.07 (pl.s, 1H, N-H); 7.70 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8\text{ Hz}$ ,  $J_{5,6}=6\text{ Hz}$ , 5-H Py); 8.46 (d, 1H, 4-H Py); 8.75 (d, 1H,  $J_{6,5}=6\text{ Hz}$ , 6-H Py); 8.98 (s, 1H, 2-H Py).

**8d:** Izn. 90 %,  $T_k=151-153\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H KMR (CDCl}_3\text{)}$ :  $\delta$  0.85 (t, 6H,  $J=6.5\text{ Hz}$ , 3,5-..CH<sub>3</sub>); 1.13-1.73 (m, 20H, 3,5-..(CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>); 2.45 (s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 4.03 (t, 4H,  $J=6.5\text{ Hz}$ , 3,5-OCH<sub>2</sub>); 5.10 (s, 1H, 4-H); 5.93 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>); 5.92 un 7.92 (2 x pl.s, 2H, NH<sub>2</sub>); 7.00 (pl.s, 1H, N-H); 7.78 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8\text{ Hz}$ ,  $J_{5,6}=6\text{ Hz}$ , 5-H Py); 8.45 (d, 1H,  $J_{4,5}=8\text{ Hz}$ , 4-H Py); 8.76 (d, 1H,  $J_{6,5}=6\text{ Hz}$ , 6-H Py); 9.13 (s, 1H, 2-H Py).

**8e:** Izn. 84 %,  $T_k=140-141$  °C (sad.).  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.84 (t, 6H,  $J=6.5$  Hz, 3,5- $\text{CH}_3$ ); 1.02-1.70 (m, 56H, 3,5- $\text{-(CH}_2\text{)}_{14}$ ); 2.39 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 3.97 (t, 4H,  $J=6.5$  Hz, 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 5.05 (s, 1H, 4-H); 5.93 (s, 2H, N- $\text{CH}_2$ ); 6.08 un 7.92 (2 x pl.s, 2H,  $\text{NH}_2$ ); 6.85 (pl.s, 1H, N-H); 7.70 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8$  Hz,  $J_{5,6}=6$  Hz, 5-H Py); 8.40 (d, 1H,  $J_{4,5}=8$  Hz, 4-H Py); 8.65 (d, 1H,  $J_{6,5}=6$  Hz, 6-H Py); 9.12 (s, 1H, 2-H Py).

*1-(2',4'-Dinitrofenil)-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija hlorīds (9):*

1 g (0,003 mol) 2,6-dimetil-3,5-dietoksikarbonil-4-(3-piridil)-1,4-DHP sildot šķīdina 20 ml acetona, pievieno 1,2 g (0,006 mol) 2,4-dinitrohlorbzola un vāra 45 h. Atdzesē, radušās nogulsnes filtrē, pārkristalizē no 15 ml ūdens, iegūst 1,2 g (75 %) vielas.

$T_k=178-180$  °C.  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.09 (t, 6H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{CH}_3$ ); 2.28 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 3.96 (kv, 4H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 5.00 (s, 1H, 4-H); 8.15-8.49 (m, 2H, 5H-Py + 5H-Ph); 8.61 (d, 1H,  $J_{4,5}=7$  Hz, 4-H Py); 8.85 (d, 1H,  $J=8$  Hz, 4H-Ph); 9.00-9.12 (m, 3H, 2,6 H-Py + 2H-Ph); 9.33 (s, 1H, N-H). UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm, (lgε): 206 (5,41); 23 (5,58); 358 (4,60).

*1-(p-Nitrobenzil)-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija bromīds (10):*

1 g (0,003 mol) 2,6-dimetil-3,5-dietoksikarbonil-4-(3-piridil)-1,4-DHP sildot šķīdina 25 ml acetona, pievieno 0,65 g (0,003 mol) 4-nitrobenzilbromīda, vāra 23 h. Atdzesē, radušās nogulsnes filtrē, pārkristalizē no 10 ml ūdens. Iegūst 1,2 g (73 %) vielas.  $T_k=212-213$  °C.

$^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.16 (t, 6H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{CH}_3$ ); 2.44 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.00 (kv., 4H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 5.05 (s, 1H, 4-H); 6.39 (s, 2H, N- $\text{CH}_2$ ); 7.77-7.92 (m, 3H, 5H-Py + 2,6H-Ph); 8.10 (pl.s, 1H, NH); 8.14 (d, 2H,  $J=8$  Hz, 3,5-H Ph); 8.35 (d, 1H,  $J_{4,5}=7$  Hz, 4-H Py); 8.93 (s, 1H, 2H-Py); 9.50 (d, 1H,  $J_{6,5}=5$  Hz, 6-H Py). UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm, (lgε): 204 (5,49); 234 (5,50); 260 (5,25); 360 (4,70).

*1-(3''-Holesteriloksikarbonil-[4''-butil])-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija bromīds (11):*

0,001 mol 2,6-dimetil-3,5-dietoksikarbonil-4-(3-piridil)-1,4-DHP šķīdina 50 ml acetona, pievieno 0,6 g (0,0011 mol) 5-brombalderiānskābes holesterilestera [sintezēts pēc EJMC2000,429], vāra 70 h. Atdzesē, radušās nogulsnes filtrē, pārkristalizē no etanola. Iegūst 0,46 g (48 %) produkta.  $T_k=225-227$  °C.

$^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.65-2.40 (m, 55H, 3,5- $\text{CH}_3$ +N- $\text{-(CH}_2\text{)}_3$  Hol); 2.50 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.07 (kv, 4H,  $J=7$  Hz, 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 4.30-4.80 (m, 3H, N- $\text{CH}_2$ +H-Hol); 5.08 (s, 1H, 4-H); 5.34 (m, 1H, C=CH Hol); 7.10 (d.d, 1H,  $J_{5,6}=5$  Hz,  $J_{5,4}=7$  Hz, 5-H Py); 8.34 (d, 1H,  $J_{4,5}=7$  Hz, 4-H Py); 8.66 (s, 1H, 2-H Py); 8.77 (pl.s, 1H, N-H); 9.39 (d, 1H,  $J_{6,5}=5$  Hz, 6-H Py).

*1-(11''-Karboksiundecil)-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')-piridīnija bromīds (12):*

1,18 g (0,004 mol) 2,6-dimetil-3,5-dietoksikarbonil-4-(3'-piridil)-1,4-DHP un 1,00 g (0,004 mol) 12-bromdodekānskābes sildot šķīdina 40 ml acetona. Vāra 58 h. Atdzesē. Ietvaicē šķīdinātāju, iegūstot dzeltenu eļļu. Produktu tīra hromatogrāfiski. Eluents: hloroforma-metanola maisījums (10:1). Ietvaicē šķīdinātāju, palikušo oranžo eļļu, šķīdina etilacetāta un acetona maisījumā (1:1), atdzesē. Filtrē radušās nogulsnes. Iegūst 0,82 g (38 %) dzeltenas kristāliskas vielas.  $T_k=152-156\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Kā šķīdinātāju var izmantot butān-2-onu. Izejvielas sildot šķīdina 55 ml butān-2-ona, vāra 50 h. Atdzesē, filtrē radušās nogulsnes, pārkristalizē no acetona. Iegūst 1,32 g (61 %) dzeltenas kristāliskas vielas.

$^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.00-2.10 (m, 24H, 3,5- $\text{CH}_3 + \text{N}-(\text{CH}_2)_9$ ); 2.33 (t, 2H,  $J=7\text{ Hz}$ ,  $\text{N}-\text{CH}_2\text{CO}$ ); 2.50 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.04 (kv., 4H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 4.77 (t, 2H,  $J=6\text{ Hz}$ ,  $\text{N}-\text{CH}_2$ ); 5.05 (s, 1H, 4-H); 7.90 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8\text{ Hz}$ ,  $J_{5,6}=6\text{ Hz}$ , 5-H Py); 8.35 (d, 1H,  $J_{4,5}=8\text{ Hz}$ , 4-H Py); 8.53 (pl.s, 1H, N-H); 8.73 (s, 1H, 2-H Py); 9.00 (d, 1H,  $J_{6,5}=6\text{ Hz}$ , 6-H Py). UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm (lg $\epsilon$ ): 236 (4,73), 270 (4,21), 362 (4,01).

*1-(10''-Karboksidecil)-3 {vai 4}-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija bromīds (13):*

0,004 mol atbilstošā 2,6-dimetil-3,5-dietoksikarbonil-4-(3' {4'}-piridil)-1,4-DHP un 1,00 g (0,004 mol) 11-bromundekānskābes sildot šķīdina 20 ml butān-2-ona. Vāra 30 h. Atdzesē. Filtrē radušās nogulsnes. Pārkristalizē no butān-2-ona un etilacetāta maisījuma (1:1).

**13a:** Izn. 43 %,  $T_k=134-136\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.80-2.12 (m, 22H, 3,5- $\text{CH}_3 + \text{N}-(\text{CH}_2)_8$ ); 2.32 (t, 2H,  $J=6\text{ Hz}$ ,  $\text{N}-\text{CH}_2\text{CO}$ ); 2.50 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.05 (kv., 4H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 4.80 (t, 2H,  $J=7\text{ Hz}$ ,  $\text{N}-\text{CH}_2$ ); 5.06 (s, 1H, 4-H); 7.90 (d.d, 1H,  $J_{5,4}=8\text{ Hz}$ ,  $J_{5,6}=6\text{ Hz}$ , 5-H Py); 8.35 (d, 1H,  $J_{4,5}=8\text{ Hz}$ , 4-H Py); 8.55 (pl.s, 1H, N-H); 8.75 (s, 1H, 2-H Py); 9.09 (d, 1H,  $J_{6,5}=6\text{ Hz}$ , 6-H Py). UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm (lg $\epsilon$ ): 236 (4,66), 270 (4,21), 364 (3,92).

**13b:** Izn. 77 %,  $T_k = \text{eļļa}$ .  $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.05-2.15 (m, 22H, 3,5- $\text{CH}_3 + \text{N}-(\text{CH}_2)_8$ ); 2.37 (t, 2H,  $J=7\text{ Hz}$ ,  $\text{N}-\text{CH}_2\text{CO}$ ); 2.47 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.10 (kv., 4H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5- $\text{OCH}_2$ ); 4.71 (t, 2H,  $J=6\text{ Hz}$ ,  $\text{N}-\text{CH}_2$ ); 5.14 (s, 1H, 4-H); 8.64 (pl.s, 1H, N-H); 8.90 (d, 2H,  $J_{2,3}=8\text{ Hz}$ , 2,6-H Py); 9.02 (d, 2H,  $J_{3,2}=8\text{ Hz}$ , 3,5-H Py).

#### 4.2.2. Bipiridila atvasinājumu alkilēšana

##### *1-Metil-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonilpiridil)piridīnija jodīds (14):*

1 g (0,003 mol) 2,6-dimetil-3,5-dietoksikarbonil-4-(3-piridil)piridīna sildot šķīdina 15 ml acetona, pievieno 0,52 ml (0,006 mol) metiljodīda divās porcijās. Vāra 11 h. Atdzesē, filtrē, uz filtra skalo ar acetonu. Iegūst gaiši dzeltenu, kristālisku vielu. Izn. 28 %,  $T_k=150-152\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  
 $^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.13 (t, 6H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5-.. $\text{CH}_3$ ); 2.60 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.11 (kv., 4H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5- $\text{CH}_2$ ); 4.72 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ); 8.15-8.26 (m, 2H, 5-H +4-H Py); 8.52 (s, 1H, 2-H Py); 9.81 (d, 1H,  $J_{6,5}=6\text{ Hz}$ , 6-H Py).

##### *1-Etoksikarbonilmetil-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonilpiridil)piridīnija bromīds (15):*

3,3 g (0,01 mol) 2,6-dimetil-3,5-dietoksikarbonil-4-(3-piridil)piridīna sildot šķīdina 30 ml acetona, pievieno 1,68 g (1,11 ml, 0,01 mol)  $\alpha$ -brometiķskābes etilestera. Vāra 12 h. Atdzesē, filtrē, pārkristalizē no absolūtā etanola - heksāna maisījuma (1:1). Iegūst gaiši dzeltenu, kristālisku vielu. Izn. 38 %,  $T_k=160\text{ }^{\circ}\text{C}$  (sad.).

$^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.10 (t, 6H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5-.. $\text{CH}_3$ ); 1.30 (t, 3H,  $J=7\text{ Hz}$ , N-.. $\text{CH}_3$ ); 2.63 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.11 (kv., 4H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5- $\text{CH}_2$ ); 4.25 (kv., 2H,  $J=7\text{ Hz}$ , N-.. $\text{OCH}_2$ ); 6.35 (s, 2H, N- $\text{CH}_2$ ); 8.05-8.33 (m, 2H, 5-H +4-H Py); 8.67 (s, 1H, 2-H Py); 10.04 (d, 1H,  $J_{6,5}=6\text{ Hz}$ , 6-H Py).

##### *1-Fenacil-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonilpiridil)piridīnija bromīds (16):*

1 g (0,003 mol) 2,6-dimetil-3,5-dietoksikarbonil-4-(3-piridil)piridīna šķīdina 15 ml acetona, pievieno 0,61 g (0,003 mol) fenacilbromīda. Maisa ist. temp. 10 h. Filtrē iegūto kristālisko vielu, pārkristalizē no abs. etanola - heksāna maisījuma (5:3). Iegūst dzeltenu, kristālisku vielu. Izn. 69 %,  $T_k=215\text{ }^{\circ}\text{C}$  (sad.).

$^1\text{H}$  KMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.22 (t, 6H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5-.. $\text{CH}_3$ ); 2.64 (s, 6H, 2,6- $\text{CH}_3$ ); 4.15 (kv., 4H,  $J=7\text{ Hz}$ , 3,5- $\text{CH}_2$ ); 7.26 (s, 2H, N- $\text{CH}_2$ ); 7.30-7.62 (m, 3H, 3,4,5-H Ph); 8.08-8.20 (m, 2H, 5-H +4-H Py); 8.29 (s, 2H, 2,6-H Ph); 8.49 (s, 1H, 2-H Py); 10.00 (d, 1H,  $J_{6,5}=6\text{ Hz}$ , 6-H Py).

#### 4.2.3. Piridīnija ilīdu reakcijas ar benzilidēnacetoferonu

*1-(1''-karboksilato-2''-fenil-3''-benzoiilpropil)-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dialkoksikarbonil (vai ciano)-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija atvasinājumi (18a-c):*

##### *A metode.*

0,01 mol atbilstošā 1-etoksikarbonilmetil-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dialkoksikarbonil (vai diciano)-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija bromīda (**5**) sildot pie 50°C šķīdina 55 ml absolūtā etanola, pievieno 2,08 g (0,01 mol) benzilidēnacetoferona un pa nelielām porcijām 0,23 g (0,01 mol) metāliskā Na šķīdumu 5 ml abs. etanola. Maisa 2 h. Ietvaicē šķīdinātāju. atlikušo oranžo eļļu apstrādā ar ūdeni, dekantē, šķīdina 150 ml hloroforma. Iegūto šķīdumu skalo ar ūdeni, žāvē ar bezūd. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Pievieno 70 ml heksāna, filtrē nogulsnes, pārkristalizē no hloroforma.

**18a:** Izn. 86 %, T<sub>k</sub>= 138-143 °C. UV spektrs, λ<sub>max</sub> nm, (lge): 236(4,54); 275(3,99); 341(3,67); 372pl.(3,57). Pārējo šīs rindas savienojumu UV spektri ir līdzīgi.

<sup>1</sup>H KMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.12 (t, 3H, J=7 Hz, 3,5-...CH<sub>3</sub>); 2.22 un 2.30 (2 x s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 3.65 (2 x d, 1H, J<sub>B,A</sub>=16 Hz, J<sub>A,2</sub>=9Hz, CH<sub>A</sub>COPh); 4.02 (kv, 4H, J=7Hz, 3,5-OCH<sub>2</sub>); 4.05 (d, 1H, J<sub>A,B</sub>=16 Hz, CH<sub>B</sub>COPh); 4.15 (t, 1H, J<sub>2,1</sub>=9Hz, J<sub>2,A</sub>=16 Hz, CHPh); 4.89 (s, 1H, 4-H); 5.44 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9 Hz, N-CH); 6.94-7.10 (m, 5H, Ph); 7.48-7.91 (m, 5H, COPh); 7.60 (m, 1H, 5H-Py); 8.00 (d, 1H, J<sub>4,5</sub>=8Hz); 8.70 (s,1H, 2H-Py); 8.75 (d, 1H, J<sub>6,5</sub>=6Hz, 6H-Py); 9.24 (pl.s, 1H, N-H).

**18b:** Izn. 89 %, T<sub>k</sub>= 120-121 °C. <sup>1</sup>H KMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 0.88 (t, 3H, J=7 Hz, 3,5-...CH<sub>3</sub>); 1.38-1.63 (m, 4H, 3,5-CH<sub>2</sub>); 1.72 un 2.51 (2 x s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 3.16-3.68 (m, 8H, 3,5-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>); 3.70 (2 x d, 1H, J<sub>B,A</sub>=16 Hz, J<sub>A,2</sub>=9Hz, CH<sub>A</sub>COPh); 3.85-4.20 (m, 4H, 3,5-OCH<sub>2</sub>); 4.20 (d, 1H, J<sub>A,B</sub>=16 Hz, CH<sub>B</sub>COPh); 4.32 (t, 1H, J<sub>2,1</sub>=9Hz, J<sub>2,A</sub>=16 Hz, CHPh); 4.71 (s, 1H, 4-H); 6.15 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9 Hz, N-CH); 6.88-7.15 (m, 5H, Ph); 7.20-7.75 (m, 5H, COPh); 7.30 (m, 1H, 5H-Py); 8.00 (d, 1H, J<sub>4,5</sub>=8Hz); 8.67 (s,1H, 2H-Py); 8.96 (d, 1H, J<sub>6,5</sub>=6Hz, 6H-Py); 9.12 (pl.s, 1H, N-H).

**18c:** Izn. 49 %. <sup>1</sup>H KMR (CDCl<sub>3</sub>+DMSO): δ 1.98 un 2.07 (2 x s, 6H, 2,6-CH<sub>3</sub>); 3.50 (2 x d, 1H, J<sub>B,A</sub>=16 Hz, J<sub>A,2</sub>=9Hz, CH<sub>A</sub>COPh); 4.10 (d, 1H, J<sub>A,B</sub>=16 Hz, CH<sub>B</sub>COPh); 4.20 (t, 1H, J<sub>2,1</sub>=9Hz, J<sub>2,A</sub>=16 Hz, CHPh); 4.89 (s, 1H, 4-H); 6.10 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9 Hz, N-CH); 7.00-7.20 (m, 5H, Ph); 7.30-7.60 (m, 5H, COPh); 7.90 (m, 1H, 5H-Py); 8.20 (s,1H, 2H-Py); 8.40 (d, 1H, J<sub>4,5</sub>=8Hz); 8.60 (d, 1H, J<sub>6,5</sub>=6Hz, 6H-Py); 8.90 (pl.s, 1H, N-H).

##### *B metode.*

0,0025 mol atbilstošā 1-etoksikarbonilmetil-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dialkoksikarbonil (vai diciano)-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija bromīda (**5**) sildot pie 50°C šķīdina 20 ml absolūtā etanola, pievieno 0,53 g (0,0025 mol) benzilidēnacetoferona un pa nelielām porcijām - 0,1 g (0,0025 mol) NaOH šķīdumu ūdenī. Maisa 2 h, ietvaicē šķīdinātāju. atlikumu apstrādā ar ūdeni, šķīdina hloroformā. Iegūto šķīdumu skalo ar ūdeni, žāvē ar bezūd. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Atdzesējot rodas kristāliska viela, ko filtrē, pārkristalizē no hloroforma.

Produktu iznākumi vidēji ir 50% no teorētiskā. Pēc šīs metodikas sintezētie savienojumi ir identiski savienojumiem **18a-c**.

*1-Benzoil-2-fenil-3-etoksikarbonil-6-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonilpiridil-4')-2,3-dihidroindolizīns (19):*

1,3 g (0,0026 mol) 1-etoksikarbonilmetil-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonilpiridil)piridīnija bromīda (**15**) sildot pie 50 °C šķīdina 20 ml abs. etanola, pievieno 0,55 g (0,0026 mol) benzilidēnacetofenona un pa nelielām porcijām - 0,11 g (0,0026 mol) NaOH šķīdumu 3 ml ūdens. Maisa 2 h. Ietvaicē šķīdinātāju, atlikušo oranžo eļļu apstrādā ar ūdeni, dekantē, šķīdina 150 ml hloroforma. Iegūto šķīdumu skalo ar ūdeni, žāvē ar bezūd. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, tad šķīdinātāju norotē. Atlikumu sajauc ar heksāna - etilacetāta maisījumu (1:1), filtrē radušās nogulsnes. Pārkrīstalizē no etanola, iegūst 0,7g spilgti oranžu kristālisku vielu (42%). T<sub>kuš.</sub>=140°C (sad.).

<sup>1</sup>H KMR (CDCl<sub>3</sub>), δ: 1.22 (t, 6H, J=7Hz, 3',5'-CH<sub>3</sub>); 1.34 (t, 3H, J=7Hz, 3-CH<sub>3</sub>); 2.55 (s, 6H, 2',6'-CH<sub>3</sub>); 4.23 (kv, 6H, J=7Hz, 3',5'- un 3-CH<sub>2</sub>); 4.54 (d, 1H, J=3Hz, 2-H); 4.70 (d, 1H, J=Hz, 3-H); 6.87-7.29 (m, 13H, 5,7,8-H+(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>). UV λ<sub>max</sub> nm, (lgε): 204 (4,70); 260 pl. (3,96); 370 (4,26); 428 pl. (4,09).

*1-Benzoil-2-(4'-hlorfenil)-3-etoksikarbonil-6-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonilpiridil-4')-2,3-dihidroindolizīns (20), 1-benzoil-2-(4'-hlorfenil)-3-etoksikarbonil-6-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonilpiridil-4')indolizīns (21) un 1-benzoil-2-(3',4',5'-trimetoksi-fenil)-3-etoksikarbonil-6-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonilpiridil-4')-1,2,3,8a-tetrahid-roindolizīns (22):*

1,0 g (0,002 mol) 1-etoksikarbonilmetil-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonilpiridil)piridīnija bromīda (**15**) sildot pie 50 °C šķīdina 20 ml abs. etanola, pievieno 0,002 mol atbilstošā benzilidēnacetofenona un pa nelielām porcijām - 0,05 g (0,002 mol) metāliskā Na šķīdumu 2 ml abs. etanola. Maisa 2 h. Ietvaicē šķīdinātāju, atlikušo oranžo eļļu apstrādā ar ūdeni. Sav. **22** gadījumā rodas nogulsnes. Sav. **20** un **21** gadījumā: dekantē, šķīdina 150 ml hloroforma. Iegūto šķīdumu skalo ar ūdeni, žāvē ar bezūd. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, tad šķīdinātāju ietvaicē. Abos gadījumos produktus attīra hhomatogrāfiski. Eluents: hlorofōrma : metanola maisījums (10:1). Iegūst 0,09 g dihidroindolizīna atvasinājuma **20** un indolizīna atvainājuma **21** maisījumu 1:1.

**22:** Ieg. 0,04 g (5 %) eļļas. <sup>1</sup>H KMR (CDCl<sub>3</sub>), δ: 1.25 (t, 6H, J=7Hz, 3',5'-CH<sub>3</sub>); 1.36 (t, 3H, J=7Hz, 3-CH<sub>3</sub>); 2.55 (s, 6H, 2',6'-CH<sub>3</sub>); 3.60 un 3.80 (2 x s, 9H, 3 x OCH<sub>3</sub>)



4.23 (m, 7H, J=7Hz, 3',5'- + 3-CH<sub>2</sub> + 2-H); 4.60 (t, 1H, 1-H); 4.70 (d, 1H, 3-H); 6.50 (s, 1H, 5-H); 7.20-7.80 (m, 8H, (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> + 8a-H) 8.25 (d, 1H, 7H).

*1,2-dimetoksikarbonil-3-etoksikarbonil-6-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonil-piridil-4')indolizīns (23):*

1,47 g (0,003 mol) 1-etoksikarbonilmetil-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonilpiridil)-piridīnija bromīda (**15**) sildot pie 50 °C šķīdina 11 ml abs. etanola, pievieno 0,42 g (0,37 ml; 0,003 mol) acetilēndikarbonskābes dimetilestera un pa nelielām porcijām nātrija metilātu (0,07 g (0,003 mol) metāliskā Na šķīdina 2 ml metanola). Maisa 2 h. Ietvaicē šķīdinātāju, atlikušo oranžo eļļu apstrādā ar ūdeni, dekantē, šķīdina 150 ml hloroforma. Iegūto šķīdumu skalo ar ūdeni, žāvē ar bezūd. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, tad šķīdinātāju ietvaicē. Attīra hromatogrāfiski, eluents: heksāna : etilacetāta maisījums (1:1). Pārkristalizē no etanola, iegūst oranžu kristālisku vielu (34%). T<sub>kuš.</sub>=130°C (sad.).

<sup>1</sup>H KMR (CDCl<sub>3</sub>), δ: 1.20 (t, 6H, J=7Hz, 3',5'-CH<sub>3</sub>); 1.42 (t, 3H, J=7Hz, 3-CH<sub>3</sub>); 2.65 (s, 6H, 2',6'-CH<sub>3</sub>); 4.15 (kv, 4H, J=7Hz, 3',5'-CH<sub>2</sub>); 4.40 (kv, 2H, 3-CH<sub>2</sub>); 7.40 (d, 1H, J=8Hz, 7-H); 8.35 (d, 1H, J=8Hz, 8-H); 9.50 (s, 1H, 5-H).

#### 4.2.4. Savienojumu **18** un **19** oksidēšana

*1-Benzoil-2-fenil-3-etoksikarbonil-6-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonilpiridil-4')indolizīns (28):*

0,1 g (0,16 mol) 1-benzoil-2-fenil-3-etoksikarbonil-6-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonil-piridil-4')-2,3-dihidroindolizīna (**19**) šķīdina 25 ml benzola, pievieno 0,08 g (0,16 mol) svina tetraacetāta. Maisa istabas temperatūrā 24 h. Filtrē nogulsnes, atlikumu tīra hromatogrāfiski. Eluents - benzols. Ietvaicē šķīdinātāju, iegūst 0,6 g bezkrāsainu kristālisku vielu (60%). T<sub>kuš.</sub>=130-132°C.

<sup>1</sup>H KMR (CDCl<sub>3</sub>), δ: 0.93 (t, 3H, J=7Hz, 3-CH<sub>3</sub>); 1.11 (t, 6H, J=7Hz, 3',5'-CH<sub>3</sub>); 2.61 (s, 6H, 2',6'-CH<sub>3</sub>); 4.05 (kv, 2H, J=7Hz, 3-CH<sub>2</sub>); 4.13 (kv, 4H, J=7Hz, 3',5'-CH<sub>2</sub>); 6.98-7.44 (m, 11H, 7-H+(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>); 7.92 (d, 1H, J=9Hz, 8-H); 9.57 (s, 1H, 5-H).

*1-Benzoil-2-fenil-6-(2',6'-dimetil-3',5'-diciano-1',4'-dihidropiridil-4')indolizīns (24):*

3 g (0,006 mol) 1-(1''-karboksilato-2''-fenil-3''-benzoilpropil)-3-(2',6'-dimetil-3',5'-diciano-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija (**18c**) sildot šķīdina 150 ml benzola, pievieno 2,94 g

(0,012 mol) tetrahlor-1,4-benzohinona, vāra 6 h. Atdzesē, filtrē nogulsnes. Filtrātu mazgā ar 5 % NaOH, ūdeni, žāvē ar bezūd. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Benzolu ietvaicē, atlikumu tīra hromatogrāfiski. Eluents – heksāna : hloroforma maisījums (1:1). Ietvaicē šķīdinātāju, iegūst eļļainu vielu.

<sup>1</sup>H KMR (CDCl<sub>3</sub>), δ: 2.85 (s, 6H, 2',6'-CH<sub>3</sub>); 7.00-7.50 (m, 12H, 7-H + 3-H + 2 x C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 8.13 (d, 1H, J=8Hz, 8-H); 8.35 (s, 1H, 5-H).

*1-Benzoil-2-fenil-6-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonil-1',4'-dihidropirdil-4')-indolizīns (30):*

0,3 g (0,0005 mol) 1-(1''-karboksilato-2''-fenil-3''-benzoilpropil)-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4'-)piridīnija (**18a**) sildot šķīdina 75 ml benzola, pievieno 0,11 g (0,001 mol) 1,4-benzohinona, vāra 3 h. Atdzesē, filtrē nogulsnes. Filtrātu mazgā ar 5 % NaOH, ūdeni, žāvē ar bezūd. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Benzolu ietvaicē, atlikumu tīra hromatogrāfiski. Eluents – heksāna : etilacetāta maisījums (1:1). Ietvaicē šķīdinātāju, iegūst 0,07 g (26 %) zaļganu kristālisku vielu. T<sub>kuš.</sub>=98-101°C.

<sup>1</sup>H KMR (CDCl<sub>3</sub>), δ: 1.23 (t, 6H, J=7Hz, 3',5'-CH<sub>3</sub>); 2.29 (s, 6H, 2',6'-CH<sub>3</sub>); 4.05 (kv, 4H, J=7Hz, 3',5'-CH<sub>2</sub>); 4.93 (s, 1H, 4'-H); 6.57 (pl.s, 1H, N-H); 6.94-7.07 (m, 10H, 7-H + 3-H + C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> + (β + γ)-H COC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7.43 (d, 2H, α-H COC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7.85 (s, 1H, 5-H); 7.92 (d, 1H, J=7Hz, 8-H). UV λ<sub>max</sub> nm, (lgε):244 (4,65); 368 (4,26); 380 (4,24).

*1-Benzoil-2-fenil-6-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonilpirdil-4')indolizīns (31)*

0,6 g (0,001 mol) 1-(1''-karboksilato-2''-fenil-3''-benzoilpropil)-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4'-)piridīnija (**18a**) sildot šķīdina 150 ml benzola, pievieno 0,86 g (0,0035 mol) tetrahlor-1,4-benzohinona, vāra 6 h. Atdzesē, filtrē nogulsnes. Filtrātu mazgā ar 5 % NaOH, ūdeni, žāvē ar bezūd. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Benzolu ietvaicē, atlikumu tīra hromatogrāfiski. Eluents – heksāna : etilacetāta maisījums (1:1). Ietvaicē šķīdinātāju, iegūst 0,1 g (18 %) pelēcīgu kristālisku vielu. T<sub>kuš.</sub>=153-155°C.

<sup>1</sup>H KMR (CDCl<sub>3</sub>), δ: 1.04 (t, 6H, J=7Hz, 3',5'-CH<sub>3</sub>); 2.60 (s, 6H, 2',6'-CH<sub>3</sub>); 4.08 (kv, 4H, J=7Hz, 3',5'-CH<sub>2</sub>); 6.80-7.50 (m, 12H, 7-H + 3-H + 2 x C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7.85 (s, 1H, 5-H); 7.90 (d, 1H, J=8Hz, 8-H). UV λ<sub>max</sub> nm, (lgε):248 (4,60); 270 (4,34); 370 (4,20); 384 pl. (4,13).

### 4.3. Izmantotās metodes

#### *1,4-Dihidropiridīnu inkorporēšanās modeļmembrānās noteikšana*

1,4-Dihidropiridīna atvasinājumu inkorporēšanās modeļmembrānās noteikta ar fluorescences metodi [BJ1979,195; BBA1982,172]. Modeļfosfolipīdu membrānas (liposomas) iegūtas no olu fosfatidilholīna 0.01 M fosfāta buferī, pH 7.4. Lipīdu koncentrācija bija 0.5 mg/ml [BBA1973,1015], 5 µl 10<sup>-3</sup> M antracēna šķīduma (kā fluorescences donors) maisot pievienots 1 ml liposomu, tad pievieno 5 µl 10<sup>-3</sup> M fluorescences akceptora 1,4-DHP šķīduma etanolā. Spektrofluorimetra šūnā gan antracēna, gan DHP atvasinājuma gala koncentrācija ir 5 x 10<sup>-6</sup> M. Kontroles mēģinājums veikts bez 1,4-DHP piedevas. Antracēna fluorescences intensitāte mērīta 1 mm kivetē ( $\lambda_{\text{ieros.}}=340$  nm,  $\lambda_{\text{emis.}}=382$  nm). Savienojumu saistīšanās liposomās noteikta pēc formulas:

$$I = \ln(F_0/F)$$

kur  $F_0$  un  $F$  - antracēna fluorescence bez ( $F_0$ ) un ar ( $F$ ) 1,4-DHP atvasinājumu.

#### *Citotoksitātes noteikšana - MTT tests.*

Šūnas tiek audzētas DMEM/CO<sub>2</sub> vidē (*Dulbecco's Minimal Essential Medium*), šūnu koncentrācija 350 tūkst/ml, BHK - ar 5% buļļu fetālā seruma piedevu, MH - ar 10% seruma piedevu. Pievieno dažādu koncentrāciju vielas šķīdumus, kontroles lauciņiem pievienojot atbilstošu tilpumu vielas šķīdinātāja. Inkubē šūnu inkubatorā 37<sup>0</sup>C/ 5% CO<sub>2</sub> 24 stundas. Pēc tam aizvāc vidi, šūnām pievieno MTT šķīdumu 0.1 mg/ml DPBS (*Dulbecco's Phosphate-Buffered Salines*) 24 lauciņu platītē pa 200 µl katrā lauciņā, 96 lauciņu - pa 100 µl katrā. Inkubē pie 37<sup>0</sup>C 2 stundas, aizvāc vidi, katrā lauciņā pievieno pa 400 µl izopropanola, līdz pilnīgai izšķīšanai. Pārnes iegūto šķīdumu spektrofotometra kivetē. pievieno 600 µl izopropanola un mēra absorbciju pie 570 nm.

## Secinājumi

1. Veicot 4-piridil-1,4-dihidropiridīnu, kas 3, 5 – vietās satur esteru, alkoksiesteru, acilpoliolu un terpēnu aizvietotājus, kvaternizācijas reakcijas ar halogēnalkāniem (alkil-, alkoksikarbonilmetil- karbamoilmetil-, dažādiem aril-, fenacil-, naftacil-karboksialkil-, holesteriloksikarbonilalkilhalogēnīdiem), lai iegūtu polifunkcionālus 1,4-DHP atvasinājumus, ar pozitīvu lādiņu saturošu aizvietotāju, apstiprinājās literatūrā publicētie dati par aizvietotāju elektroniskās dabas un stērisko faktoru ietekmi uz reakcijas ātrumu un produktu iznākumu.
2. Atrasts, ka no N-etoksikarbonilpiridīnija atvasinājumiem iegūto piridīnija ilīdu un aktivētas dubult- vai trīskāršās saites saturošu savienojumu 1,3-dipolārās ciklopievienošānās reakcijas rezultāts ir atkarīgs no aizvietotāja pie piridīnija cikla. 1,4-Dihidropiridilaizvietotāja gadījumā veidojas aciklisks betaīns, bet piridil-aizvietotāja gadījumā notiek 1,3-dipolārās ciklokondensācijas reakcija.
3. Veicot sintezēto savienojumu ķīmisko un elektroķīmisko oksidēšanu noskaidrots, ka tikai acikliskā betaīna - 1-(1''-karboksilato-2''-fenil-3''-benzoilpropil)-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija gadījumā abu oksidēšanās reakciju gaita ir atšķirīga. Ķīmiski oksidējas gan dihidropiridīna cikls, gan, neskarot 1,4-DHP ciklu, notiek acikliskā betaīna dekarboksilēšanās, sānu ķēdes dehidroģenēšana un indolizīna cikla veidošanās, kamēr elektroķīmiski oksidējas tikai dihidropiridīna cikls par atbilstošo piridīnu un nenotiek indolizīna sistēmas veidošanās. Pārējos izpētītajos gadījumos ķīmiskās un elektroķīmiskās oksidēšanas rezultātā iegūti identiski produkti.
4. Noskaidrots, ka sintezēto polifunkcionālo 1,4-DHP atvasinājumu spēja inkorporēties fosfatidilholīna modelmembrānās ir atkarīga no kvaternizētā piridīnija slāpekļa atoma aizvietotāja alkilķēdes garuma. Vislabāk inkorporējas 1-heksadecil-3-(2',6'-dimetil-3',5'-dietoksikarbonil-1',4'-dihidropiridil-4')piridīnija bromīds.

5. Parādīts, ka sintezētie 4-(N-alkilpiridil)-1,4-DHP atvasinājumi ietekmē dipalmitoil-fosfatidilholīna modeļmembrānu fluiditāti, jo samazina gelu-šķidro kristālu fāzu pārejas temperatūru.
6. Pārbaudot sintezētos savienojumus kā potenciālos gēnu transfekcijas aģentus, atrasts, ka 1,4-DHP atvasinājumi, kas satur pozitīvus lādiņus 1,4-DHP gredzena 2,6-vietās, ir ievērojami aktīvāki par 4-(N-alkilpiridil)-1,4-DHP atvasinājumiem.
7. Nosakot sintezēto savienojumu citotoksicitāti *in vitro* MH šūnās atrasts, ka potenciālo gēnu transfekcijas aģentu  $IC_{50}$  ir robežās no 20  $\mu\text{M}$  līdz vairāk nekā 500  $\mu\text{M}$ . Darbs paver ceļu tālākiem struktūras – aktivitātes sakarību pētījumiem, lai atrastu jaunus DHP atvasinājumus, kas apvienotu augstu transfekcijas efektivitāti un minimālu citotoksicitāti.

## Literatūras saraksts

- AC1953,605. - Krönke F. - *Angew. Chem.*, 1953, **65**, 605.
- ACC1995,289. – Foster C., Ritchie M., Selwood D.L., Snowden W. - *Antiviral Chem. & Chemoth.*, 1995, **6**, 289.
- ACIEE1991,1559. – Goldmann S., Stoltefuss J. - *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1991, **30**, 1559.
- ACIEE1991,1559. – Goldmann S., Stoltefuss J. – *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1991, **30**, 1559.
- ACIEE1995,2007. – Gorny R., Schäfer H.J., Fröhlich R. – *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1995, **34**, 2007.
- ACIEE1996,2662. – Straub A., Goehrtn A. - *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1996, **35**, 1559.
- ADDR1996,221. - Lasic D.D., Templeton N.S. - *Adv. Drug Deliv. Rew.*, 1996, **20**, 221.
- ADDR1997,17. - Zabner J. - *Adv. Drug Deliv. Rew.*, 1997, **27**, 17.
- ADDR2001,277. - de Lima M.C.P., Simoes S., Pires P., Faneca H., Düzgünes N. - *Adv. Drug Del. Rew.*, 2001, **47**, 277.
- AFDR1985,668. – Kastron V.V., Dubur G.J., Shatz V.D., Yagupolsky L.M. *Arzneim. - Forsch / Drug. Res.*, 1985, **35**, 668.
- AFDR1985,808. - Parinov V.J., Odinec A.G., Gilev A.P., Dubur G.J., Muceniece D.H., Ozol J.J., Shatz V.D., Gavars M.P., Vigante B.A. *Arzneim. - Forsch. / Drug. Res.*, 1985, **35**, 808.
- AITE1985,345. – Fiszler-Maliszevska L., Wiczorek J., Mordarski M., Balicki R., Kaczmarek L., Nantka-Namirski P. – *Arch. Immunol. Therap. Exper.*, 1985, **33**, 345.
- AJC1967,2467. – Henrick C.A., Ritchie E., Taylor W.C. *Austral. J. Chem.*, 1967, **20**, 2467.
- AMB1996,104. - Klusa V., Duburs G. *Acta Medica Baltica*, 1996, **3**, 104.
- ANH1998,117. - Beall S.L., Padwa A. - *Advances in Nitrogen Heterocycles*. Ed. Moody C.J., 1998, **3**, 117.
- APP1974,279. - Nantka-Namirski P., Balicki R. - *Acta Polon. Pharm.*, 1974, **XXXI**, 279.

- AR19996,2485. – Lappalainen K., Pirila L., Jaaskelainen I., Syrjanen K., Syrjanen S.  
*Anticancer Res.*, 1996, **16**, 2485.
- BA1129158. - Bossert F., Vater W. - Brit. Appl. 1129158; *C.A.*, 1969, **70**, 19940y.
- BBA1973,1015. – Batzri S., Korn E.D. - *Biochim. Biophys. Acta*, 1973, 298, 1015.
- BBA1982,172. – Dobretsov G.E., Spirin M.M., Chekrygin O.V., Karmansky I.M.,  
Dmitriev V.M., Vladimirov Ya.A. – *Biochim. Biophys. Acta*, 1982,  
**710**, 172.
- BBA1990,124. – Leventis R., Silvius J.R. - *Biochim. Biophys. Acta*, 1990, **1023**, 124.
- BBA1992,239. – Farhord H., Bottega R., Epand R.M., Huang L. *Biochim.  
Biophys. Acta*, 1992 , **1111**, 239.
- BBA1995,289. - Farhord H., Serbina N., Huang L. *Biochim.Biophys.Acta*, 1995,  
**1235**, 289.
- BBA1997,291. - Cazzola R., Viani P., Allevi P., Cighetti G., Cestaro B. -  
*Biochim. Biophys. Acta*, 1997, **1329**, 291.
- BBA2000,451. – Hyvönen Z., Plotniece A., Reine I., Chekavichus B., Urtili A. –  
*Biochim. Biophys. Acta*, 2000, **1509**, 451.
- BBRC1997,794. – Wielbo P., Shi N., Sernia C. - *Biochem.Biophys.Res. Commun.*,  
1997, **232**, 794.
- BBRC1999,358. – Ochiya T., Takahama Y., Baba-Toriyama H., Tsukkamoto M.,  
Yasuda Y., Kikuchi H., Terada M. - *Biochem. Biophys. Res.  
Commun.*, 1999, **258**, 358.
- BC1994,382. - Behr J.P. - *Bioconjugate Chem.*, 1994, **5**, 382.
- BC1995,1. – Abdallah B., Sachs L., Demeneix B.A. - *Biol. Cell*, 1995, **85**,1.
- BCSJ1974,938. - Kakehi A., Ito S. - *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1974, **47**, 938.
- BCSJ1985,3137. - Tsuge O., Kanemasa S., Takenaka S. - *Bull. Chem. Soc. Jpn.*,  
1985, **58**, 3137.
- BCSJ1987,1489. – Tsuge O., Kanemasa S., Takenaka S. – *Bull. Chem. Soc. Jpn.*,  
1987, **60**, 1489.
- BEBM2002,369. – Tarasenko L.M., Neporada K.S., Klusha V. - *Bull. Exp. Biol.  
Med.*, 2002, **133**,369.

- BJ1979,195. – Estep T.N., Thompson T.E. – *Biophys. J.*, **26**, 195.
- BJ1989,769. – Mason R.P., Gonye G.E., Chester D.W., Herbette L.G. – *Biophys. J.*, 1989, **55**, 769.
- BJ1997,2534. – Mok K.W., Cullis P.R. - *Biophys. J.*, 1997, **73**, 2534.
- BMBI1998,849. – Tirzite D., Koronova J., Plotniece A. – *Biochem. Molec. Biol. Internat.*, 1998, **45**, 849.
- BMCL1997,2519. – Straub A., Goehrt A., Born L. – *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, 1997, **7**, 2519.
- BMCL1998,1829. – Nasir A.I., Gundersen L.L., Rise F., Antonsen Ø., Kristensen T., LanghelleB., Bast A., Custers I., Haenen G.R.M.M., Wikström H. – *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, 1998, 1829.
- BPB1996,860. –Kato T., Iwamoto T., Ando H., Asakawa N., Tanaka I., Kiruchi J., Murakami Y. - *Biol. Pharm. Bull.*, 1996, **19**, 860.
- BPB2000,766. – Yao K., Ina Y., Nagashima K., Ohmori K., Ohno T., - *Biol. Pharm. Bull.*, 2000, **23**, 766.
- BrJC 1972,239. – Kerr J.F.R., Wyllie A.H., Currie A.R. – *Br. J. Cancer*, 1972, **26**, 239.
- CAC1994,296. - Freshney PJ. *Culture of animal cells (a manual of basic techniques)*. Willey-Liss: New York, 1994, 296.
- CB1971,1621. - Fröhlich J., Krönke F. – *Chem. Ber.*, 1971, **104**, 1621.
- CB1979,2197. - Curtze J., Dach R., Duchardt K.H., Kröhnke F. - *Chem. Ber.*, 1979, **112**, 2197.
- CBF1999,237. - Velen A., Zilbers J., Duburs G. – *Cell Biochem. Funct.*, 1999, **17**, 237.
- CBF1999,89. – Briede J., Daija D., Stivrina M., Duburs G. - *Cell. Biochem. Func.*, 1999, **17**, 89.
- CL1984,279. - Tsuge O., Kanemasa S., Kuraoka S., Takenaka S. - *Chem. Lett.*, 1984, 279.
- CL1984,465. - Tsuge O., Kanemasa S., Takenaka S., Kuroaka S. - *Chem. Lett.*, 1984, 465.
- CL1985,355. - Tsuge O., Kanemasa S., Takenaka S., Kuroaka S. - *Chem. Lett.*, 1985, 355.



- CL1996,39. – Kaneko Y., Tsukamoto A. - *Cancer Lett.*, 1996, **105**, 39.
- CPB,1970,2489. - Kobayashi I., Kutusuma T., Morinaga K., Fujita M., Hanzawa I. - *Chem. Pharm. Bull.*, 1970, 2489.
- CR1972,1. - Eisner U., Kuthan J. - *Chem. Rev.*, 1972, **72**, 1.
- CP1,4-ДГП.1987. - Саусинь А.Э., Дубур Г.Я. *Синтез и реакции 1,4-дигидропиридинов*. Рига: ИОС АН ЛатвССР, 1987, ч.1,2.
- DDT2002,479. – Ogris M., Wagner E. - *Drug Discovery Today*, 2002, **7**, 479.
- DF1995,135. – Klusa V. - *Drugs of the future*, 1995, **20**, 135.
- DCC.1984. - Ed. Padwa A. - *1,3-Dipolar cycloaddition chemistry*. New-York: Wiley J. 1984, **1**, 817.
- EJCP2000,35. - Inoye M., Mio T., Sumino K. - *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 2000, **56**, 35.
- EJMC1987,499. – Dagnino L., Le-Kwong-Ken M.C., Wolowyk M.W., Triggle R.C., Knaus E.E. - *Eur. J. Med. Chem.*, 1987, **22**, 499.
- EJMC2000,429. - Masquelier M., Tirzitis G., Peterson C.O., Pålsson M., Amolins A., Plotniece M., Plotniece A., Makarova N., Vitols S.G. – *Eur. J. Med. Chem.*, 2000, **35**, 429.
- EJOC2000,665. - Meekel A.A.P., Wagenaar A., Šmisterova J., Kroeze J.E., Haadsma P., Bosgraaf B., Stuart M.C., Brisson A., Ruiters M.H.J., Hoekstra D., Engberts J.B.F.N. - *Eur. J. Org. Chem.*, 2000, 665.
- EJP1994,101. - Romey G., Bois P., Lazdunski M. - *Eur. J. Pharm.*, 1994, **263**, 101.
- EN1998,329. – Misane I., Klusha V., Dambrova M., Germane S., Duburs G., Bisenieks E., Rimondini R., Orgen S.O. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 1998, **8**, 329.
- EP0755924. - Engberts J.B.F.N., Wagenaar A., Hoekstra D., van der Woude I., Ruiters M.H.J. - *Eur. Pat. Appl.*, EP 0 755 924 A1, Int.Cl.<sup>5</sup>: C07D 213/20, 29.01.1997.
- FCT1988,411. – Tirzitis G., Kirule I., Duburs G. - *Fat. Sci. Technol.*, 1988., **90**, 411.
- G1999,919. – Kuzhir T.D., Dalivelia O.V., Savina N.V. - *Genetika*, 1999, **35**, 919.
- GO2940833. - Yoshinoki S. - *Ger. Off. 2940833; C.A.*, 1980, **93**, 220594.
- GT1997,517. – Lui F., Qi H., Huang L., Liu D. - *Gene Ther.*, 1997, **4**, 517.
- H1980,1793. - Sliwa W. - *Heterocycles*. 1980, **14**, 1793.

- H1981,1131. - Huisgen R., Matsumoto K., Ross C.H. - *Heterocycles*, 1981, **15**, 1131.
- H1985,1513. – Sliwa W., Matusiak G., Postawka A. - *Heterocycles*, 1985, **23**, 1513.
- H1986,339. - Matsumoto K., Uchida T., Ikemi Y. - *Heterocycles*, 1986, **24**, 339.
- H1988,2251. - Tominaga Y., Shiroshita Y., Hosomi A. - *Heterocycles*, 1988, **27**, 2251.
- H1989,979. - Schäfer H.J., Eilenberg W. – *Heterocycles*, 1989, **28**, 979.
- H1998,194. – Bird G.L., Prach A.T., McMahon A.D., Forrest J.A., Mills P.R., Danesh B.J. - *Hepatol.*, 1998, **28**, 194.
- H1999,836. – Karzazi Y., Surpateanu G. – *Heterocycles*, 1999, **51**, 836.
- H1999,929. - Estour F., Rezel S., Fraisse D., Metin J., Gaumet V., Lartugue C., Miscoria G., Gueiffier A., Blache Y., Teulade J.C., Chavignon O. – *Heterocycles*, 1999, **50**, 929.
- IECPRD1982,191. - Kuthan J., Kurfürst A. - *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.*, 1982, **21**, 191.
- JACS1944,1612. - King L.C. - *J. Am. Chem. Soc.*, 1944, **66**, 1612.
- JACS1980,6642. – Kunitake T., Nakayama N., Shimomura M., Okahaata Y., Kano K., Ogawa T. - *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, **102**, 6642.
- JAR2000,373. – Shah A., Gaveriya H., Motohashi N., Kawase M., Saito S., Sakagami H., Satoh K., Tada Y., Solymosi A., Walfard K., Molnar J. – *Anticancer Res.*, 2000, **20**, 373.
- JBC1995,18997. – Zabner J., Fasbender A.J., Moninger T., Poellinger K.A., Welsh M.J. - *J. Biol. Chem.*, 1995, **270**, 18997.
- JCS1977,1692. - Bapat J., Epsztein J., Katritzky A. - *J. Chem. Soc.*, 1977, 1692.
- JCSPI1977,1692. - Bapat J.B., Epsztein J., Katritzky A.R., Play B. - *J. C. S. Perkin I*, 1977, 1692.
- JCSPI1981,1180. - Katritzky A.R., Greskowiak N.E., Alvarez-Buila J. - *J. C. S. Perkin I*, 1981, 1180.
- JCSPTI1992,2487. - Wei X., Hu Y., Li T., Hu Hongwen. - *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1993, 2487.
- JEC1987,103. – Stradins J., Ogle J., Kadysh V., Baumane L., Gavars R., Duburs G. – *J. Electroanal. Chem.*, **226**, 103.

- JHC1985,1049. - Noguchi M., Tanigava N., Kajigaeshi S. - *J. Heterocyclic Chem.*, 1985, **22**, 1049.
- JHC1985,681. - Alvarez-Buila J., Gonzalez G.T., Ezguerva J., Fombella M.E. - *J. Heterocyclic Chem.*, 1985, **22**, 681.
- JHC1988,689. - Matsumoto K., Ikemi Y., Konishi H., Shi X., Uchida T., Aoyama K. - *J. Heterocyclic Chem.*, 1988, **25**, 689.
- JHC1995,391. - Mehta L.K., Parrick J. - *J. Heterocycl. Chem.*, 1995, **32**, 391.
- JMC1986,2525. - Dagnino L., Li-Kwong-Ken M.C., Wolowyk M.W., Triggle R.C., Knaus E.E. - *J. Med. Chem.*, 1986, **29**, 2525.
- JMC1991,869. - Mason R.P., Rhodes D.G., Herbette L.G. - *J. Med. Chem.*, 1991, **34**, 869.
- JMC1993,1425. - Gubin J., de Vogelaer H., Inion H., Houben C., Lucchetti J. - *J. Med. Chem.*, 1993, **36**, 1425.
- JMC1993,3743. - Baindur N., Rutledge A., Triggle D.J. - *J. Med. Chem.*, 1993, **36**, 3743.
- JMC1998,1827. - Iqbal N., Akula M.R., Vo D., Matowe W.C., McEwen C.A., Wolowyk M.W., Knaus E.E. - *J. Med. Chem.*, 1998, **41**, 1827.
- JMC1998,2207. - Wang J.K., Guo X., Xu Y.H., Barron L., Szoka F.C. *J. Med. Chem.*, 1998, **41**, 2207.
- JMC1998,224. - Byk G., Dubertret C., Escriou V., Frederic M., Jaslin G., Rangara R., Pitard B., Crouzet J., Wils P., Schwartz B., Scherman D. - *J. Med. Chem.*, 1998, **41**, 224.
- JMC1999,4292. - Banerjee R., Das P.K., Srilakshmi G.V., Chaudhuri A. - *J. Med. Chem.*, 1999, **42**, 4292.
- JMC2000,2906. - Peri R., Padmanabhan S., Rutledge A., Singh S., Triggle D.J. - *J. Med. Chem.*, 2000, **43**, 2906.
- JMC2002,99. - Heyes J.A., Niculescu-Duvaz D., Cooper R.G., Springer C.J. - *J. Med. Chem.*, 2002, **45**, 99.
- JMCC1989,187. - Herbette L.G., Vant Erve Y.M.H., Rhodes D.G. - *J. Mol. Cell Cardiol.*, 1989, **21**, 187.
- JOC1961,368. - Steinberg M.G., Pozoimen E.J., Hackley B.E. - *J. Org. Chem.*, 1961, **26**, 368.

- JOC1961,595. - Wiley R.H., Ridgway J.S. - *J. Org. Chem.*, 1961, **26**, 595.
- JOC1996,2273. - Poissonnet G., Theret-Bettiol M.H., Dodd R. - *J. Org. Chem.*, 1996, **61**, 2273.
- KFZ1978,101 – Kozlov E.I., Ivanova R.A., Dubur G.J., Uldrikis J.R. - *Khim. - Farm. Zh.*, 1978, **12**,101.
- MD1993. – Макарова Н. *Синтез и поиск биологически активных соединений в ряду модифицированных по положениям 3,4 и 5 эфиров 1,4-дигидропиридин-3,5-дикарбоновых кислот*. Диссертация на соискание ученой степени доктора химических наук, Рига, 1993.
- N1989,387. – Felgner R.W., Ringold G.M. - *Nature*, 1989, **337**, 387.
- N2003,678. – Check E. – *Nature*, 2003, **421**, 678.
- NB1996,760. – Budker V., Gurevich V., Hagstorm J. Bortsov F., Wolff J. - *Nat. Biotech.*, 1996, **14**, 760.
- NB2000,33. – Luo D., Saltzman M.W. - *Nat. Biotech.*, 2000, **18**, 33.
- NG1995,243. – Tsukamoto M., Ochiya Y., Yoshida S., Sugimura T., Terada, - *Nature Genet.*, 1995, **9**, 243.
- N-IC.1976. - Zurgavescu I., Petrovanu M. - *N-Ilid chemistry*. New-York : Mc Grow-Hill Inter. Book Company, 1976, 396.
- NJC1997,113. - Deshmukh H.M., Huang L. - *New J. Chem.*, 1997, **21**, 113.
- NN1997,1121. – Demeneix B.A., Boussif O., Zanta M.A., Remy J.C., Behr J.P. - *Nucleos. Nucleot.*, 1997, **16**, 1121.
- NR1997,2355. – Yang K., Mu X.S., Hayes R.L., Qui Y.H., Sorgi F.L., Huang L., Cvlfifton G.L., Vivian L. – *Neuro Report*, 1997, **8**, 2355.
- P4769383. - Dubur G.Y., Biseniex E.A., Uldrikis Y.R., Ivanov E.V., Ponomareva T.V., Merkushev G.N., Yakubovsky-Lipsky J.O. - Pat 4769382 US; *C.A.*,1989, **110**, 110942.
- PA358432. - Suzuki K., Inada H., Kiue A., Sano T. - Pat.Appl.358432 Eur.; *C.A.*, 1990, **113**, 115094.
- PBT1996,759. – Robertson R.M., Robertson D. *Drugs used for the treatment of myocardial ischemia*. Goodman and Gilman's: *The pharmacological basis of therapeutics*; Hardman J.G., Limbird L.E., Molinoff P.B.,

- Ruddon R.W.; Goodman Gilman, A. Eds.; McGraw-Hill Companies, Inc., 1996, 759.
- PCJ2000,297. – Tirzite D.Ya., Khyuvonen Zh.V., Shmidlers A.G., Tirzitis G.D., Duburs G.Ya. – *Pharm. Chem. J.*, 2000, **36**, 297.
- PNAC1997,1160. - van der Woude I., Wagenaar A., Meekel A.A.P., ter Beest M.B.A., Ruiters M.H.J., Engberts J.B.F.N., Hoekstra D. - *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1997, **94**, 1160.
- PR1996,404. – Hughes J.A., Aronsohn A.I., Avrutskaya A.V., Juliano R.L. - *Pharm. Res.*, 1996, **13**, 404.
- RR1990,69. - Ivanov E.V., Ponomarjeva T.V., Merkushev G.N., Dubur G.J.et al, - *Radiobiol. Radiother.*, 1990, **31**, 69.
- RRC1979,1089. - Zugravescu I., Constantinescu M., Surpateanu G., Lablache-Combiar A., Devos L. E.H. - *Revue Roumaine de Chimie*, 1979, **24**, 1089.
- S1976,209. - Uchida T., Matsumoto K. - *Synthesis*, 1976, 209.
- S1987,749. - Fatiadi A.J. - *Synthesis*, 1987, 749.
- S2000,1733. - Zhang L., Liang F., Sun L., Hu Y., Hu H. – *Synthesis*, 2000, 1733.
- SA6801484. - Bossert F., Vater W. - S.African 6801484; *C.A.*, 1969, **70**, 87580f.
- SC1992,2103. - Wei X., Hu Y., Li T., Hu H. - *Synth. Comm.*, 1992, **22**, 2103.
- T1986,5729. - Katrizky A.R., Ostercamp D.L., Iousaf T.I. – *Tetrahedr.*, 1986, **42**, 5729.
- TB2000,119. – Mountain A. - *Trends in Biotechnology*, 2000, **18**, 119.
- TL1970,941. - Zurgavescu I., Rucinschi E., Surpateanu G. – *Tetrahedr. Lett.*, 1970, 941.
- TL1972,2029. - Leonte C., Zugravescu I. – *Tetrahedr. Lett.*, 1972, 2029.
- TL1972,2585. – Pohjala E. - *Tetrahedr. Lett.*, 1972, 2585.
- TL2003,4129. – Sabitha G., Reddy K.K.G.S., Reddy S.Ch., Yadav J.S. – *Tetrahedr. Lett.*, 2003, **44**, 4129.
- Б1977. - Дубур Г.Я. *Защита синтетическими антиоксидантами биологических мембран при перекислительных процессах. - Биомембраны: Рига, “Зинатне”, 1977, 237.*
- Б1998,723. – Тараховский Ю.С., Иваницкий Г.Р. – *Биохимия*, 1998, **63**, 723.

- ДАН1980,1483. – Гончарова Р.И., Кужир Т.Д., Дубур Г.Я., Улдрикис Я.Р. – *Докл. Акад. наук СССР*, 1980, **255**, 1483.
- ЖОХ1993,2070. – Литвинов В.П. – *Журн. Орг. Хим.*, 1993, **29**, 2070.
- ЖОХ1994,1572. – Литвинов В.П. – *Журн. Орг. Хим.*, 1994, **30**, 1572.
- ЖОХ1995,1441. – Литвинов В.П. – *Журн. Орг. Хим.*, 1995, **31**, 1441.
- ЖОХ1997,975. – Литвинов В.П. – *Журн. Орг. Хим.*, 1997, **33**, 975.
- ИАН1991,146. – Шестопапов А.М., Литвинов В.П., Родиновская Л.А., Шаранин Ю.А. – *Изв. АН СССР, Сер.хим.*, 1991, 146.
- ИАН1991,939. – Шестопапов А.М., Литвинов В.П., Шаранин Ю.А., Аитов И.А., Родиновская Л.А – *Изв. АН СССР, Сер.хим.*, 1991, 939.
- ИАН1991,939. – Шестопапов А.М., Литвинов В.П., Шаранин Ю.А., Аитов И.А., Родиновская Л.А – *Изв. АН СССР.*, 1991, 939.
- ИАНЛ,Х.ср.1990,369. – Тирзит Г.Д., Макарова Н.В., Дубур Г.Я. – *Изв. АН Латв. ССР, Хим. сер.*, 1990, 369.
- ИАНСХ2000,385. – Маслов М.А., Сычева Е.В., Морозова Н.Г., Серебренникова Г.А. – *Изв. Акад. Наук, Сер. хим.*, 2000, 385.
- ИП1989. – Шестопапов А.М., Литвинов В.П., Шаранин Ю.А., Промоненков В.К. *Илиды пиридиния в синтезе пиридинов. – Итоги науки и техники. Органическая химия.*, **17**, 1989, 253.
- ООХ1985. – *Общая органическая химия.* /Ред. Бартон Б., Оллис У.Д. – Москва: Мир, 1985, **8**, 752.
- УХ1996,581. – Константинова И.Д., Серебренникова Г.А. *Успехи химии* – 1996, 581.
- ФЗ1980. – Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. *Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран.* – Москва. “Наука”, 1980, 320.
- ФЗ1989,274. – Добрецов Г.Е. *Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов.* – Москва, Наука, 1989, 274.
- ХГС1987,856. – Хлебников А.Ф., Костиков Р.Р. – *Хим. Гетероцикл. Соед.*, 1987, 856.
- ХГС1988,1570. – Бабаев Е.В., Бобровский С.И., Бундель Ю.Г. – *Хим. Гетероцикл. Соед.*, 1988, 1570.

- ХГС1989,1232. - Лиепиньш Э.Э., Золотоябко Р.М., Чекавичус Б.С., Саусинь А. Э., Лусис В.К., Дубур Г.Я. – *Хим. Гетероцикл. Соед.*, 1989, 1232.
- ХГС1990,355. - Хлебников А.Ф., Костик Е.И., Костиков Р.Р., Беспалов В.Я. - *Хим. Гетероцикл. Соед.*, 1990, 355.
- ХГС1991,1248. - Шестопапов А.М., Шаранин Ю.А., Нестеров В.Н., Родиновская Л.А., Шкловер В.Е., Стручков Ю.Т., Литвинов В.П. - *Хим. Гетероцикл. Соед.*, 1991, 1248.
- ХГС1991,1354. - Шестопапов А.М., Шаранин Ю.А., Нестеров В.Н., Хорошилов Г.Е., Шкловер В.Е., Стручков Ю.Т., Литвинов В.П. - *Хим. Гетероцикл. Соед.*, 1991, 1354.
- ХГС1995,1112. – Макарова Н.В., Коронова Ж.В., Плотниесе А.В., Тирзите Д.Я., Тирзит Г.Д., Дубурс Г.Я. – *Хим. Гетероцикл. Соед.*, 1995, 1112. (Makarova N.,Koronova Z, Plotniece A., Tirzite D., Tirzitis G., Duburs G, - *Chem. Het. Comp.*, 1995, **31**, 969).
- ХГС1996,1358. – Плотниесе М., Тирзитис Г., Улдрикус Я., Коронова Ж., Тирзите Д., Макарова Н., Дубурс Г. – *Хим. Гетероцикл. Соед.*, 1996, 1358.
- ХИ.1969. - Джонсон А. *Химия илидов*. Москва: Мир, 1969, 275.
- ЭМ1982,97. - Майоре А.Я., Копылова Т.Н., Салдава Л.А., Дубур Г.Я., Огле З.Я., Улдрикус Я.Р. - *Эксперим. медицина*, 1982, 14, 97.

## Publikācijas.

1. Н.В. Макарова, Ж.В. Коронова, А.В. Плотнице, Д.Я. Тирзите, Г.Д. Тирзит, Г.Я. Дубурс – Синтез производных 1,4-дигидропиридина, имеющих в положении 4 N-алкилпиридиниевый заместитель, и их сродство к липосомальным мембранам. - *Хим. Гетероцикл. Соед.*, 1995, N. 8, сс. 1112-1117; [N.Makarova, Z.Koronova, A.Plotniece, D.Tirzite, G.Tirzitis, G.Duburs - Synthesis of derivatives of 1,4-dihydropyridine with N-alkyl substituents and their binding ability to liposomal membranes. - *Chem. Het. Comp.*, 1995, vol.31, N.8, pp.969-973].
2. Н. Макарова, А. Плотнице, Г. Тирзитис, И. Туровский, Г. Дубур – Некоторые превращения бромидов N-этоксикарбонилметилпиридиния, имеющих пиридилный или 1,4-дигидропиридилный заместитель в положении 3. - *Хим. Гетероцикл. Соед.*, 1997, N. 2, сс. 202-211; [N.V.Makarova, A.Plotniece, G.Tirzitis, I.Turovskii, G.Dubur - Some transformations of N-ethoxycarbonylmethylpyridinium bromides with a pyridyl or 1,4-dihydropyridyl substituent at position 3. - *Chem. Het. Comp.* 1997, vol. 33, N.2, pp.175-183].
3. B. Turovska, J. Stradiņš, I. Straziņš, N. Makarova, A. Plotniece and G. Duburs - Electrochemical oxidation of hydrogenated indolizines and their precursors in chemical synthesis - quaternized pyridyldihydropyridines. – *Electrochimica Acta*, 1997, vol. 42, N. 23-24, pp. 3553-3564.
4. D. Tirzite, J. Koronova, A. Plotniece - Influence of Some Quaternised 1,4-Dihydropyridine Derivatives on Liposomes and Erythrocyte Membranes. – *Biochem. Molec. Biol. Internat.*, 1998, vol. 45, N. 4, pp. 849-856.
5. Z. Hyvönen, A. Plotniece, I. Reine, B. Chekavichus, A. Urtti – Novel cationic amphiphilic 1,4-dihydropyridine derivatives for DNA delivery. – *Biochim. Biophys. Acta*, 2000, vol. 1509, pp. 451-466.

## Patents.

1. Pat. WO 01/62946 A1, Int.Cl.<sup>7</sup> C12N 15/87, 30.08.2001. Cationic amphiphilic 1,4-dihydropyridine derivatives useful for delivery of nucleotide containing compounds. – Urtti A., Hyvönen Z., Plotniece A., Makarova N., Reine I., Tirzitis G., Vigante B., Cekavicus B., Shmidlers A., Krauze A., Zhalubovskis R., Duburs G., Turunen M., Ylä-Herttuala S., Jääskeläinen I., Toppinen M.-R. – Intern. Appl. No. PCT/FI01/00185, 22.02.2001.



## Tēzes

1. N.Makarova, A.Plotniece - Synthesis and Subsequent Transformations of 1-Etoxycarbonylmethyl-3-(2',6'-dimethyl-3',5'-di-sec-butoxycarbonyl-1',4'-dihydropyridyl-4')-pyridinium bromide. - 8th Conference on Organic Chemistry and Biochemistry of Young Scientists, 1991, Riga, Abstr. book pp. 56.
2. N.V.Makarova, A.Plotniece, G.Tirzītis, G.Duburs - Some transformations of N-Etoxycarbonylmethylpyridinium bromides containing pyridyl or 1,4-dihydropyridyl substituent at  $\beta$ -position. - Symposium on Organic Chemistry, Saint Petersburg, 21-24 May, 1995, Abstr. book pp. 230-231.
3. A.Plotniece, N.Makarova - N-alkylation of 4- $\beta$ -pyridyl-1,4-dihydropyridine. - IXth Conference on Organic Chemistry and Biochemistry of Young Scientists, 1995, Praha (The Czech Republic), Abstr. book pp. 60-61.
4. B.Turovska, J.Stradiņš, I.Strazdiņš, N.Makarova, A.Plotniece - The Electrochemical Oxidation of 1,4-Dihydropyridines and Pyridine Derivatives, Containing Electrochemically Active Substituent - Indolizine in the position 4. - 19th Sandbjerg Meeting 1996 on Organic Electrochemistry, (Denmark) June 14-17, 1996, Abstr. book pp. 47.
5. B.Turovska, J.Stradiņš, I.Strazdiņš, N.Makarova, A.Plotniece - Electrochemical oxidation induced indolizine cycle conversions. - Symposium "Electrochem'96", Bath, GB, 16-19 September 1996.
6. G.Duburs, A.Plotniece, G.Tirzītis, N.Makarova, B.Turovska. - Indolizines and their di-(tetra)hydroderivatives: synthesis by intramolecular cyclization of  $\delta$ -oxoalkylpyridinium derivatives and oxidation. - 10th European Symposium on Organic Chemistry, Basel (Switzerland), June 22-27, 1997.
7. A.Plotniece, N.Makarova, G.Tirzītis, G.Duburs - The pyridinium ring substituent and dipolarophile nature influence on cyclocondensation reactions of N-etoxycarbonylmethylpyridinium ylides. - Chemistry of carbenes and related intermediates, Saint Petersburg (Russia), May 28-30, 1998, Abstr. book pp. 82.
8. A.Plotniece, N.Makarova - Synthesis of new derivatives of indolizine. - Xth Conference on Organic Chemistry and Biochemistry of Young Scientists, June 15-20, 1998, Praha (The Czech Republic). Abstr. book pp. 85-86.
9. A.Plotniece, G.Duburs, G.Tirzītis, N.Makarova, B.Turovska - Synthesis of indolizines and their di-(tetra)hydroderivatives by intramolecular cyclization of  $\delta$ -oxoalkylpyridinium compounds and by [3+2] cycloaddition. - 12th International Conference on Organic Synthesis, June 28 - July 2, 1998, Venezia (Italy). Abstr. book pp. 490.
10. G.Tirzītis, D.Tirzīte, A.Plotniece - Inhibition of acetylcholinesterase by quaternized derivatives of 4- $\beta$ -pyridyl-1,4-dihydropyridine. - Silver Jubilee FEBS Meeting, Copenhagen (Denmark), July 5-10, 1998; Abstr. book pp. 157 (P 28.04).
11. D.Tirzīte, Z.Koronova, A.Plotniece, G.Tirzītis - Membranotropic and self - aggregating properties of 1,4-dihydropyridines. - 1<sup>st</sup> Nordic-Baltic Meeting on Surface and Colloid Science, August 21-25, 1999, Vilnius (Lithuania); Abstr. book p. 94.
12. Z.Hyvönen, S.Rönkkö, A.Plotniece, I.Reine, B.Chekavichus, G.Duburs, A.Urtti - Novel cationic amphiphilic 1,4-dihydropyridine derivatives for DNA delivery. - XVI Helsinki University Congress of Drug Research, June 7-8, 2001, Helsinki (Finland); Abstracts/ Eur.J.Pharm.Sc. 13, Suppl.2(2001), S33 (P 2.25).
13. A.Plotniece, Z.Hyvonen, D.Tirzīte, G.Tirzītis - 1,4-Dihydropyridine derivatives as membranotropic compounds and agents for gene transfection. - 1. Workshop COST D22 Protein-lipid supramolecular assemblies, Aug. 30 - Sept. 3, 2001, Zagreb (Croatia); Book of abstr., Eds.G.Pifat-Mrzljak, M.Ilakovac Kveder, 2001, p. 82.
14. A.Plotniece, R.Serzhane, A.Shmidlers, G.Tirzītis, G.Duburs - Synthesis of novel amphiphilic 1,4-dihydropyridine derivative containing styrylpyridinium moieties. - International Conference on Organic Synthesis, BOS 2002, June 23-27, 2002, Vilnius (Lithuania); Abstr. book p. 107.

## **Pateicība.**

Visdziļākā pateicība profesoram Gunāram Duburam par darba vadīšanu, ieteikumiem un zinātniskajām idejām. Sirsnīgs paldies otram vadītājam Gunāram Tīrzītim par viņa dzīvesprieku, padomiem, ticību manām spējām, kad pati vairs neticu, un atbalstu grūtos brīžos. Mīļš paldies Natašai, kas bija mana skolotāja darbam ķīmiskajā laboratorijā, arī par viņas idejām, palīdzību darba sākumposmā, Dacei un Gunāram – par ieinteresēšanu un konsultācijām ar bioloģiskajām problēmām saistītajās tēmās. Esmu pateicīga maniem kolēģiem abām Brigitām, Diānai, Arkādijam, abiem Jāņiem, Egīlam, Velgai, Raivim, Zentai, Andulim, Inesei, Aivaram un abām Laurām, Astrīdai un pārējiem par viņu laipnību un palīdzību, kad nepieciešams padoms, kā arī jautro kompāniju brīvajos brīžos. Sirsnīgs paldies māsai un kolēģei Mārai, kas nekad neatsaka palīdzēt. Paldies mūsu laboratorijas bijušajiem un esošajiem studentiem: Lanai, Irinai, Ievai, Ritai, Ilzei, Kārlim, Reinim par to, ka viņi ar savu dzīvesprieku liek justies jauniem arī pārējiem. Paldies Žannai par sadarbību un diskusijām ar gēnu transfekciju saistītajos jautājumos.

Īpašs paldies Maijai par interesantajām sarunām un drauga plecu, kā arī kopā ar Kleistu jauniešiem - par palīdzību bioloģisko datu noformēšanā un jaukajiem pasākumiem no darba brīvajā laikā.

Esmu ļoti pateicīga draugiem un kolēģiem no Viļņas Universitātes Ekselences centra Bioķīmijas un Biofizikas katedras – Vidai, Ingridai, Aušrai un otrai Vidai par sirsnību, padomiem un palīdzību manas stažēšanās laikā.

Gribu pateikties arī Dr. Baibai Turovscai par konsultācijām elektroķīmijas jautājumos, Dr. Ivaram Turovskim (PMR spektroskopija).

Īpašs paldies Madarai par palīdzību noformējot darba kopsavilkumu angļu valodā.

Mīļš paldies tētim par viņa rūpēm un mīlestību.

Paldies arī draugiem un pārējiem kolēģiem par atbalstu un sapratni disertācijas rakstīšanas laikā.