

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE

**JAUNU AcrAB-TolC EFLUKSA SŪKŅA INHIBITORU
SINTĒZE**

BAKALaura DARBS

Autors: **Laura Pauniņa**

Studenta apliecības Nr.: lp19056

Darba vadītājs: Dr. sci. nat. Jānis Veliks

Darba konsultante: Dr. chem. Marina Madre

RĪGA

2022

ANOTĀCIJA

Jaunu AcrAB-TolC efluksa sūkņa inhibitoru sintēze. Pauniņa L., zinātniskais vadītājs Dr. sci. nat. Veliks J., konsultante Dr. chem. Madre M. Bakalaura darbs, 55 lappuses, 29 attēli, 1 tabula, 42 literatūras avoti, 4 pielikumi. Latviešu valodā.

Darbā ir veikta AcrAB-TolC efluksa sūkņa inhibitoru izpēte antibiotiku darbības efektivitātes atjaunošanai *Escherichia coli* baktēriju šūnās, potenciāli jaunu inhibitoru sintēžu izstrāde un to aktivitātes izvērtēšana.

ANTIBIOTIKAS, ACRAB-TOLC EFLUKSA SŪKŅA INHIBITORI,
MULTIREZISTENCE.

ABSTRACT

New AcrAB-TolC efflux pump inhibitor synthesis. Pauniņa L., supervisor Dr. sci. nat. Veliks J., consultant Dr. chem. Madre M. Bachelor's thesis, 55 pages, 29 figures, 1 table, 42 references, 4 appendices. In Latvian.

In this work the investigation of AcrAB-TolC efflux pump inhibitors to restore the efficacy of antibiotics in *Escherichia coli* cells, the syntheses development of potentially new inhibitors and the evaluation of their activity have been performed.

ANTIBIOTICS, ACRAB-TOLC EFFLUX PUMP INHIBITORS, MULTIPLE DRUG
RESISTANCE.

SATURA RĀDĪTĀJS

ANOTĀCIJA.....	2
ABSTRACT	2
APZĪMĒJUMU SARAKSTS	4
IEVADS	6
1.LITERATŪRAS APSKATS	7
1.1. Antibakteriālā rezistence	7
1.2.AcrAB-TolC efluksa sūkņa mehānisms	7
1.3.Efluksa sūkņu inhibitori un to iedalījums.....	8
1.4.Zināmu efluksa sūkņa inhibitoru sintēzes	10
1.5.Bioloģisko aktivitāšu pētījumi.....	15
1.6.Inhibitora MZ-1054 identificēšana.....	15
2. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS	19
2.1.Savienojuma MZ-1054 analogu sintēze – modifikācija A	19
2.2.Savienojuma MZ-1054 analogu sintēze – modifikācija B	21
2.3.Savienojuma MZ-1054 analogu sintēze – modifikācija C	23
2.4.Literatūrā zināma efluksa sūkņa inhibitora sintēze	24
2.5.Bioloģiskās aktivitātes pētījumi.....	26
2.6. Literatūrā zināma efluksa sūkņa inhibitora aktivitāte.....	31
3.EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA	33
3.1.Potenciālu E.Coli baktēriju AcrAB-TolC efluksa sūkņa inhibitoru sintēze.....	33
SECINĀJUMI	50
LITERATŪRAS SARAKSTS	51
PIELIKUMI.....	55

APZĪMĒJUMU SARAKSTS

^{13}C -KMR	Oglekļa-13 kodolmagnētiskās rezonanses spektroskopija
^1H -KMR	Protonu kodolmagnētiskās rezonanses spektroskopija
2D NOESY	Divdimensiju kodolu Overhauzera efekta spektroskopija (<i>Two Dimensional Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>)
6-DPPon	6-difenilfosfanil-1H-piridin-2-ons
AcOH	Etiķskābe
Boc	Terbutoksikarbonil aizsarggrupa
CDCl_3	Deiterēts hloroforms
CyPr	Ciklopropil (<i>cyclopropyl</i>)
DBU	1,8-Diazabicyklo(5.4.0)undek-7-ēns
DCC	N,N'-Dicikloheksilkarbodiimīds
DCM	Dihlormetāns
DMAP	4-Dimetilaminopiridīns
DMF	N, N-Dimetilformamīds
DMSO- d_6	Deiterētais dimetilsulfoksīds
Ekviv.	Ekvivalents
EDC·HCl	(3-Dimetilamino-propil)-etil-karbodiimīda hidrohlorīds
Et_2O	Dietilēteris
Et_3N	Trietilamīns
EthBr	Etīdija bromīds
EtONa	Nātrija etoksīds
EtOAc	Etilacetāts
EtOH	Etanols
iPr	izopropil (<i>isopropyl</i>)
LC/MS	Šķidrums hromatogrāfija – masas spektrometrija (<i>Liquid chromatography–mass spectrometry</i>)
MeCN	Acetonitrils
MeOH	Metanols
MIC	Minimālā inhibējošā koncentrācija
MSC	Minimālā sinerģiskā koncentrācija
$\text{NaBH}(\text{OAc})_3$	Nātrija triacetoksiboorhidrīds
PAβN	Fenilalanil-β-naftilamīds
$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	Pallādija (II) acetāts

PE	Petrolēteris
PyBOP	Benzotriazol-1-iloksitripirolidīnfosfonija heksafluorfosfāts
TBAI	Tetra-n-butilamonija jodīds
TFA	Trifluoretiķskābe
THF	Tetrahidrofurāns
TsCl	4-Toluolsulfonilhlorīds
UV	Ultravioletais starojums

IEVADS

Baktēriju rezistence pret esošajām antibiotiku klasēm ir viens no nozīmīgākajiem izaicinājumiem nākotnes veselības aprūpes sistēmā. Laika gaitā antropogēnās ietekmes rezultātā tiek paātrināta baktēriju rezistence pret dažādām antibiotiku klasēm un jaunu baktēriju celmu veidošanās, kas ir nejutīgi pret jau esošajiem preparātiem [1,2].

Viens no galvenajiem mehānismiem iekšējai rezistencei pret antibiotikām balstās uz to izvadi no baktēriju šūnām, izmantojot efluksa sūkņus. Lai mazinātu sūkņu spēju mijiedarboties ar antibiotiku substrātiem, tiek izmantotas molekulas jeb efluksa sūkņu inhibitori, kuri saistās ar sūkņa proteīnu un, kavējot efluksa procesu, veicina antibiotiku uzkrāšanās šūnā. Klīniskajā praksē šobrīd nav neviena apstiprināta preparāta, kurš būtu efektīvs pret šo rezistences mehānismu [3].

Klīnikā pētījumi veikti galvenokārt zarnu nūjiņas *Escherichia coli* baktērijas šūnā, kuras galvenais efluksa sūknis ir AcrAB-TolC [4]. Sadarbībā ar *Fraunhofer ITMP* institūta profesora Dr. Björn Windshügel grupu, projekta RESET-ME ietvaros, tika izvirzīta hipotēze, ka efluksa sūkņa AcrAB-TolC ārējās membrānas proteīns TolC varētu kalpot kā terapeitiskais mērķis, jo līdz šim literatūrā aprakstītie inhibitori ir mērķēti tikai uz AcrA un/vai AcrB proteīnu inhibēšanu. Īstenu efluksa sūkņa inhibitoru svarīga iezīme ir tāda, ka šie savienojumi paši neuzrāda antibakteriālu aktivitāti, tajā pat laikā tie atjauno antibiotikas iedarbību un inhibē baktēriju augšanu. Dažiem no literatūrā zināmajiem savienojumiem novēro pozitīvu efluksa sūkņa inhibitoru iedarbību, bet daudzi no tiem ir uzskatāmi par citotoksiskiem arī eikariotu šūnām [5, 6, 7, 8]. Šī darba ietvaros tika sintezēti analogi jaunai TolC inhibitoru klasei, kas balstās uz trāpījuma savienojumu **MZ-1054**, lai tādējādi iegūtu sākotnējos datus struktūras-aktivitāšu kopsakarību identificēšanai. Salīdzināšanas nolūkos ir veikta zināmu AcrA inhibitoru standarta savienojumu sintēze.

Darba mērķis: Sintezēt efluksa sūkņa TolC proteīna inhibitora trāpījuma savienojuma **MZ-1054** analogus bioloģisko aktivitāšu-struktūras kopsakarību izpētei.

Darba uzdevumi:

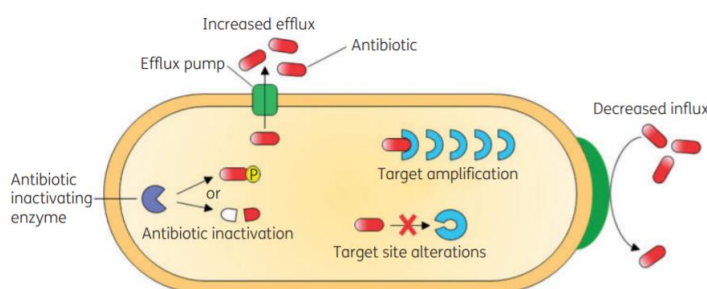
1. Iepazīties un apkopot literatūru par zināmu AcrAB-TolC *E. coli* šūnu inhibitoru iegūšanas metodēm.
2. Izstrādāt sintēzes ceļus efektīvai **MZ-1054** analogus iegūšanai.
3. Sintezēt zināmu AcrA inhibitoru standarta savienojumus AcrAB-TolC efluksa sūkņa inhibēšanai.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Antibakteriālā rezistence

Viena no lielākajām problēmām medicīnas nozarē mūsdienās ir antibiotiku efektivitātes samazināšanās bakteriālu infekciju ārstēšanai. Lai gan antibiotiku rezistences attīstīšanās baktēriju šūnā ir dabiska parādība, antropogēnā ietekme kā pārmērīga un neatbilstoša antibiotiku lietošana, paātrina pret antibiotikām rezistentu jaunu baktēriju celmu veidošanos, kas ir nejutīgi pret esošajām preparātu klasēm [2, 9]. Palielinoties antibiotiku rezistencei, tiek ierobežots klīniski efektīvu antibiotiku skaits, kas pieejams multirezistentu baktēriju (*MDR bacteria*) izraisītu infekciju ārstēšanai [10]. Izšķir vairākus mehānismus antibiotiku rezistencei baktēriju šūnās:

- antibiotikas inaktivācija hidrolīzes vai modifikācijas rezultātā;
- antibiotikas mērķa vietas izmaiņa ģenētisku mutāciju ietekmē;
- antibiotikas mērķa vietas multiplicēšanās caur gēnu aplifikāciju;
- samazināta antibiotiku iekļūšana šūnā, piemēram, baktērijas ārējā apvalka struktūras izmaiņas rezultātā;
- samazināta antibiotiku koncentrācija šūnā, transportējot tās no šūnas caur efluksa sūkņiem un porīniem (1.1. attēls) [11, 12].



1.1.att. Antibiotiku rezistences mehānismu shematisks attēlojums baktēriju šūnā [11]

1.2. AcrAB-TolC efluksa sūkņa mehānisms

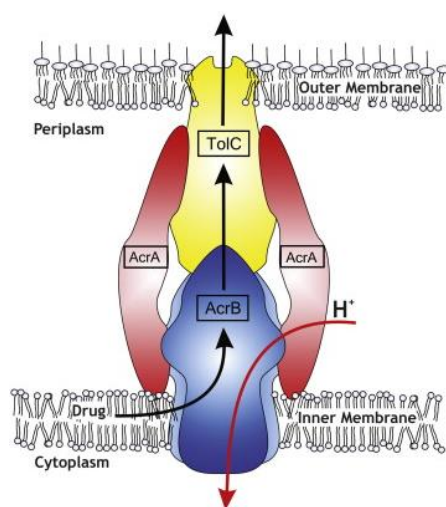
Viens no galvenajiem mehānismiem iekšējai antibiotiku rezistencei baktēriju šūnās ir antibiotiku transportēšana ārpus šūnas caur efluksa sūkņiem. Tie ir šūnas membrānas proteīni, kas veic kaitīgo vielu izvadi no baktērijas šūnas iekšpuses uz ārējo vidi. Efluksa sūkņi ir gan gramnegatīvo baktēriju šūnās kā *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*

pneumoniae, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Campylobacter jejuni*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Vibrio cholerae* un *Salmonella*, gan grampozitīvo baktēriju šūnās, tādās kā *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Clostridium difficile*, *Enterococcus spp.* un *Listeria monocytogenes*, kā arī eikariotos [13,14].

Antibiotiku rezistenci grampozitīvajās baktērijās galvenokārt veicina citoplazmatiskās šūnas membrānā esošie efluksa sūkņi. Gramnegatīvajās baktērijās, kuru uzbūvi veido peptidoglikāna slānis, atdalot iekšējās šūnas citoplazmatisko membrānu no šūnas ārējās membrānas, antibiotiku rezistenci veicina trīspusēji proteīnu efluksa sūkņi [14].

Efluksa sūkņi var transportēt tikai specifiskas substrāta molekulas vai arī plašāka diapazona strukturāli atšķirīgus substrātus, kas zināmi kā multirezistento zāļu (*MDR*) efluksa sūkņi [15]. *Escherichia coli* baktērijas šūnai efluksa sūkņu sistēmas palīdz atbrīvoties no vielmaiņas atlikumiem, toksiskām vielām un pretmikrobu līdzekļiem [16].

Nozīmīgākie efluksa sūkņi *Escherichia coli* baktērijās ir AcrAB-TolC, EmrAB-TolC un MdtM [17]. Galvenais *Escherichia coli* efluksa sūknis ir AcrAB-TolC [4], kurš sastāv no ārējās membrānas proteīna TolC, iekšējās membrānas transporta proteīna AcrB un periplazmas adaptera proteīna AcrA (1.2. attēls) [18].



1.2. att. AcrAB-TolC efluksa sūkņa shematiskais attēls *E. Coli* šūnā [19]

1.3. Efluksa sūkņu inhibitori un to iedalījums

Pēc iepriekš analizētajiem avotiem efluksa sūkņi ir nozīmīgi antibiotiku izvadīšanā no šūnas, padarot šo mehānismu par vienu no galvenajiem antibiotiku aktivitātes samazināšanās cēloņiem. Preparātu izvadi caur efluksa sūkņiem var mazināt, izmantojot dažādas metodes:

kavējot efluksa procesu, bloķējot efluksa sūkņus, lai izvairītos no substrāta saistīšanās ar aktīvo vietu, un ietekmējot enerģijas mehānismu, kas ir atbildīgs par šo sūkņu aktivizēšanu [20].

Viena no metodēm, kā mazināt antibiotiku rezistenci, ir efluksa sūkņu mehānisma inhibēšana, izmantojot molekulas – efluksa sūkņu inhibitorus, kā rezultātā tiek samazināta sūkņu spēja mijiedarboties ar to substrātiem (antibiotikām) un notiek tā veiksmīga uzkrāšanās šūnā. Pirmais atklātais efluksa sūkņu inhibitors 2001. gadā ir MC-207,110 (fenilalanil- β -naftilamīds, PA β N), kurš pastiprina levofloksacīna un eritromicīna antibakteriālo aktivitāti *E. coli* un *Pseudomonas aeruginosa* baktērijās [3]. Neskatoties uz to, ka literatūrā ir publicēti vairāki efluksa sūkņu inhibitori, diemžēl, līdz šim, klīniskajā praksē nav pieejams preparāts, kas iedarbotos uz šo rezistences mehānismu.

Lai savienojums atbilstu efluksa sūkņa inhibitora definīcijai, tam, *pirmkārt*, pašam par sevi nebūtu jāpiemīt antibakteriālām īpašībām, taču ir jāatjauno antibiotikas iedarbība, pret kuru baktērijas ir attīstījušas rezistenci pielietojot efluksa mehānismu. *Otrkārt*, molekulai ir jābūt selektīvai pret noteiktu efluksa sūkni. *Treškārt*, molekula nedrīkst būt toksiska, un tai jābūt augstam terapeitiskajam un drošības indeksa rādītājiem farmakoloģijā. Kā arī efluksa sūkņa inhibitoru ražošanai ir jābūt ekonomiski pamatotai [20].

Identificējot molekulu īpašības secināja, ka gramnegatīvo baktēriju ārējo membrānas caurlaidības īpašību nodrošināšana ir saistīta ar efluksa sūkņa substrātu funkcionālajām grupām. *Zgurskaya* ar līdzautoriem norāda, ka raksturīga iezīme potenciālo efluksa sūkņu inhibitoru ķīmiskajā struktūrā ir amonija katjonu vai pirmējo amīnu klātbūtne. Vēlams tiem ir jābūt ar noteiktu un nemainīgu struktūru, polāriem, ar amfifīlām īpašībām un zemu globulitāti [21].

Efluksa sūkņu inhibitoru īpašības ir uzrādījušas daudzas molekulas, kuras var iedalīt pēc to izcelsmes avotiem: iegūtas no augiem, mikroorganismiem vai ķīmiski sintezētas [22]. Vairāki augos sastopami fitosavienojumi sinerģiski uzlabo antibiotiku efektivitāti. Augu izcelsmes efluksa sūkņa inhibitoru īpašības uzrāda tādas vielu klases kā alkaloīdi, flavonoīdi, polifenoli un fenola diterpēni [23]. Neliela daļa no efluksa sūkņu inhibitoru avotiem ir mikroorganismi. EA-371 α un EA-371 δ ir ekstrahēti no *Streptomyces* ģints baktērijām un atzīti kā efluksa sūkņu inhibitori *P. Aeruginosa* gramnegatīvajās baktērijās [24].

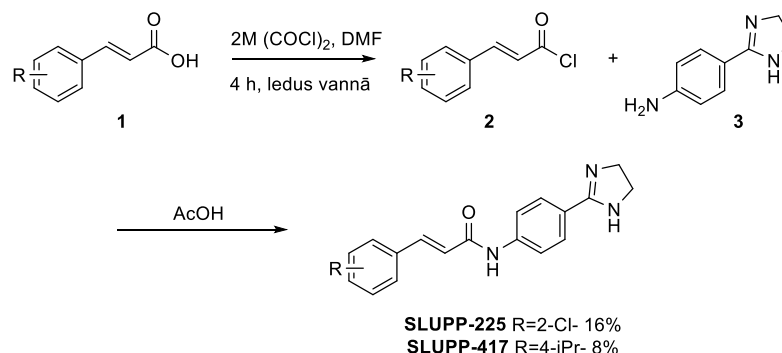
Bez augu izcelsmes un mikroorganismiem arī ķīmiski iegūtas vielas ir efektīvi efluksa sūkņu inhibitori, kuri pieder pie šādām savienojumu klasēm:

- peptidomimētiskie savienojumi;
- hinolīna atvasinājumi;

- arilpiperidīni un arilpiperazīna atvasinājumi;
- piridopirimidīns un piranopiridīna atvasinājumi [23].

1.4. Zināmu efluksa sūkņa inhibitoru sintēzes

Daudzi sintēzes ceļā iegūtie inhibitori galvenokārt ir vērsti uz grampozitīvo un gramnegatīvo baktēriju multirezistento zāļu efluksa sūkņiem. Literatūrā ir zināmi vairāki *Escherichia coli* baktēriju AcrAB-TolC efluksa sūkņa inhibitori. Kā piemēru, sintēzes ceļā iegūtiem inhibitoriem ir savienojumi **SLUPP-225**, **SLUPP-417** (1.3. attēls), kuri ir atvasināti piperazīna un piperidīna savienojumi [22]. Efluksa sūkņa inhibitoru īpašību pētījumu datu noteikšanas un apstrādes metodes ir dažādas. Savienojumiem eksperimentāli nosaka to minimālo sinerģisko koncentrāciju (MSC), kura raksturo minimālo inhibitora koncentrāciju (izteikta μM), kas nepieciešama, lai atjaunotu zināmas antibiotikas iedarbību, kā rezultātā baktēriju augšana ir inhibēta. Kā arī nosaka minimālo inhibējošo koncentrāciju (MIC), kas norāda kāda ir minimālā savienojuma koncentrācija (izteikta μM), kas nepieciešama, lai pats savienojums uzrādītu antibakteriālas īpašības, kas šajā pētījumā nav vēlama. Parametri tiek noteikti konstantas antibiotikas koncentrācijas klātbūtnē baktēriju šūnā, piemēram, novobiocīna.

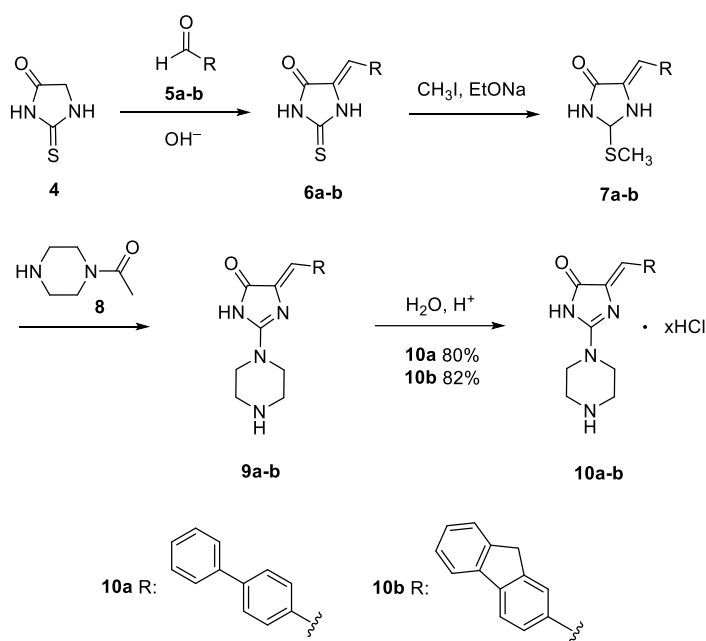


1.3.att. Savienojumu **SLUPP-225** un **SLUPP-417** sintēzes shēma [5]

Savienojumus **SLUPP-225** un **SLUPP-417** iegūst skābes **1** reakcijā ar oksalilhlorīda šķīdumu dihlormetānā, lai veidotu karbonskābju hlorīdu **2**. Oksalilhlorīda aktivēšanai nepieciešams pievienot katalītisku daudzumu DMF. Skābes hlorīda **2** reakcijā ar 4-(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)anilīnu (**3**), izmantojot ledus etiķskābi, iegūst tehniskos produktus **SLUPP-**

225 un **SLUPP-417**, kurus, savukārt, pēc attīrīšanas ar apgrieztās fāzes hromatogrāfju, iegūst TFA sāls formā, kā baltas kristāliskas vielas ar zemiem iznākumiem (1.3. attēls).

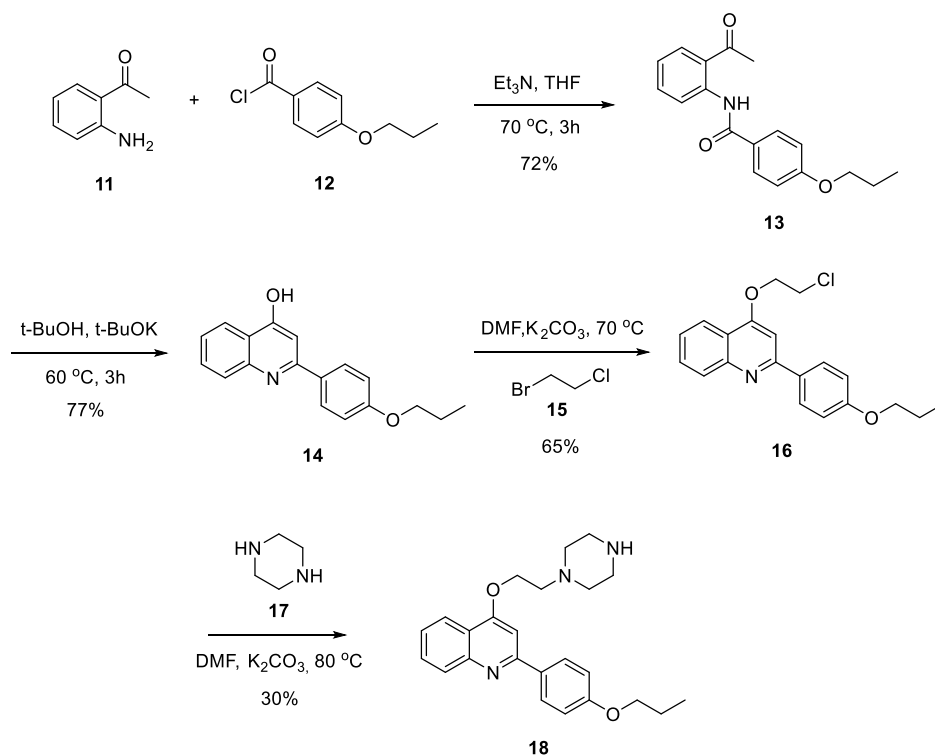
SLUPP-225 un **SLUPP-417** savienojumu inhibitoru aktivitāti analizēja ar modelētu AcrAB-TolC sūkņa sistēmu, tiem saistoties ar AcrA proteīnu. Kā antibiotiku paraugus izvēlējās 16 µg/ml novobiocīnu un 5 µg/ml eritromicīnu, kuri baktērijas šūnā darbojas ar atšķirīgiem mehānismiem. Eksperimentāli noteica inhibitoru MSC, MIC, spēju šķērsot ārējo membrānu gramnegatīvajās baktērijās, kā arī, izmantojot virsmas plazmonu rezonanses metodi, noskaidroja vai savienojums saistās ar AcrA proteīnu. **SLUPP-225** savienojuma minimālo sinerģijas koncentrāciju (MSC), lai uzrādītu efluksa sūkņa inhibitora īpašības, konstatēja 25 µM, bet nevēlamo antibakteriālo aktivitāti (MIC) >200µM. **SLUPP-417** savienojumam, attiecīgi, MSC novēroja 50 µM un MIC 100 µM. Iepriekš aprakstītie pētāmie parametri abiem savienojumiem deva pozitīvu rezultātu – tie saistās ar efluksa sūkņa AcrA proteīnu un inhibē sūkni, uzrādot pētīto antibiotiku novobiocīna un eritromicīna antibakteriālās efektivitātes palielināšanos *E. Coli* šūnās [5].



1.4.att. Savienojumu **10a** un **10b** sintēzes shēma [6]

Savienojumus **10a** un **10b** iegūst 3 sintēzes stadijās (1.4. attēls), kas ietver 2-tiohidatoīna (**4**) *Knoevenagel* kondensāciju ar atbilstošu aromātisko aldehīdu **5a-b**, tionil grupas metilēšanas stadiju un kondensācijas reakciju ar 1-acetilpiperazīnu. Iegūtos savienojumus **9a** un **9b** pārvērš par atbilstošajiem hidrohlorīda sāļiem **10a** un **10b** hlorūdeņraža klātbūtnē. Savienojumi iegūti dzeltenas cietas vielas veidā ar labiem iznākumiem.

Inhibitoru aktivitāti un to iedarbību ar AcrB proteīnu analizēja *E. Coli* baktēriju šūnās dažādu antibiotiku klātbūtnē. Eksperimentāli noteica minimālo inhibējošo koncentrāciju (MIC) savienojumam **10a** 200 μM , bet savienojumam **10b** 100 μM . Veicot tālāku savienojumu analīzi noskaidroja, ka 50 μM koncentrācijā savienojums **10a**, kas ir 1/4 daļa no tā MIC, uzrāda efluksa sūkņa inhibitora īpašības, reducējot pētījumā izmantoto antibiotiku MIC 4 līdz 8 reizes. Uzskatāms, ka savienojuma **10a** vienkāršā saite starp bifenila aromātiskajiem gredzeniem nodrošina brīvu rotāciju, kas varētu būt par iemeslu savienojuma labākai saistībai ar AcrB proteīnu lielākas konformacionālās brīvības dēļ salīdzinājumā ar **10b**. Savienojuma **10b** metilēna tiltiņš starp benzola gredzeniem, iespējams, varētu radīt telpiskus traucējumus, lai efektīvi saistītos ar AcrB proteīnu. Tika secināts, ka abi sintezētie savienojumi ir citotoksiski eikariotu šūnām, tāpēc tie nav izmantojami terapeitiskiem mērķiem kā potenciālie efluksa sūkņu inhibitori, bet to ķīmiskā struktūra ir kā pamats citu inhibitoru savienojumu sintēzei [6].

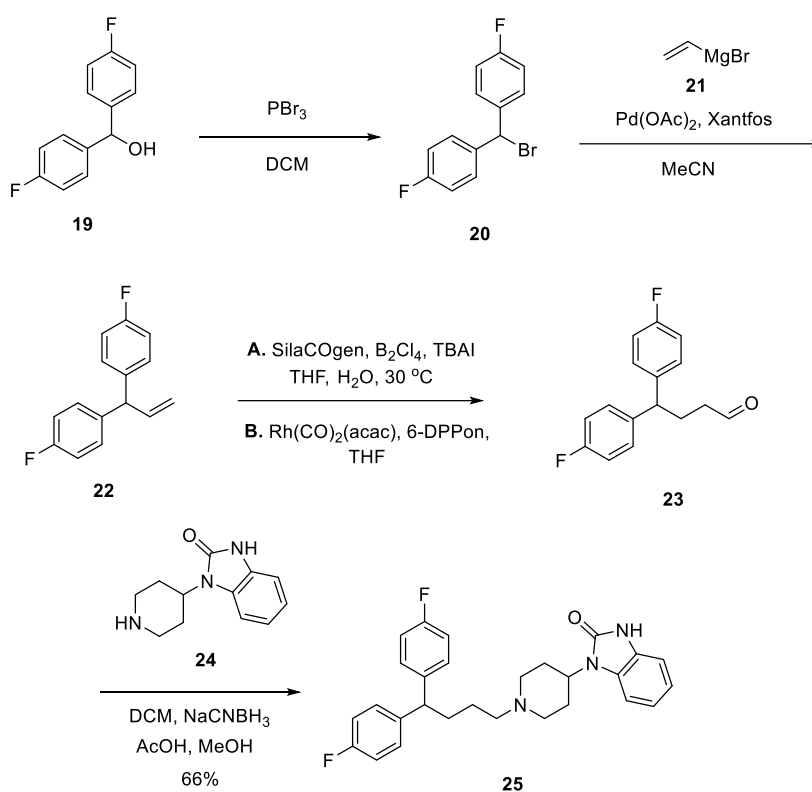


1.5.att. Savienojuma **18** sintēzes shēma [25, 26]

Savienojuma **18** sintēzes shēma attēlota 1.5. attēlā, kur pirmajā stadijā pirmējā amīna **11** un acilchlorīda **12** nukleofila pievienošanas un eliminēšanas reakcijā iegūst amīdu **13** kā baltu cietu vielu, kristalizējot to no $\text{Et}_2\text{O}/\text{EtOH}$ maisījuma. Tālāk veica hinolīna **13** kondensācijas reakciju bāziskā vidē, iegūstot savienojumu **14**, kuru tālāk iesaistīja *Williamson* ētera sintēzē ar

1-brom-2-hloretānu (**15**) un sekojošu S_N2 aizvietošanas reakciju ar piperazīnu, veidojot gala produktu **18**, kuru attīrīja ar apgrieztās fāzes hromatogrāfiju, iegūstot to kā brūnu cietu vielu ar viduvēju iznākumu (30%) [25, 26].

Savienojuma **18** aktivitāti un sinerģismu eksperimentāli pētīja *E. Coli* celmu baktēriju šūnās dažādu antibiotiku klātbūtnē, kas ir zināmas kā AcrAB sūkņa substrāti. Atkarībā no izmantotās koncentrācijas savienojums uzrāda sinerģisku aktivitāti ar tetraciklīna un ofloksacīna antibiotiku preparātiem. Tā MIC vērtība ir 653,9 μM, pēc kuras var secināt, ka savienojam nepiemīt antibakteriālas īpašības, un tas varētu būt potenciāli labs efluksa sūkņu inhibitors. Toties jau pie mazām **18** koncentrācijām tas inhibē *E. Coli* efluksa sistēmas, traucējot enerģijas apraidi pilnvērtīgai efluksa sūkņu darbībai, kas rada membrānas depolarizāciju. Sasniedzot noteiktu kritisko koncentrācijas līmeni mainās membrānas caurlaidība, kas var rezultēties šūnas bojāejā. Šis savienojums uzrāda arī toksiskas īpašības, lai tas tiktu pilnvērtīgi izmantots medicīnā [7].

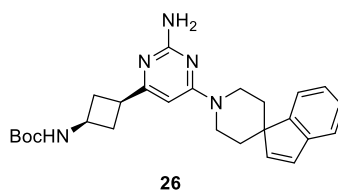


1.6.att. Pimoziāda **25** sintēzes shēma [27]

Pimoziādu **25** (1.6. attēls) sintezēja vairākās stadijās, kur, sākotnēji, otrējo spirtu **19** pārvērš par bromīdu **20**, izmantojot PBr₃. Alkēnu **22** iegūst Kumada sametināšanas reakcijā,

izmantojot *Grignard* reaģentu **21**, Pd(OAc)₂/Xantfos kā katalizatoru. Nākamajā reakcijas stadijā alkēnu **22** homologē par atbilstošo aldehīdu **23**. Pēdējā sintēzes stadijā ietver reducējošo aminēšanu, kurā savienojumam **23** pievieno 4-(2-keto-1-benzimidazolīn)l-piperidīnu (**24**). Tehnisko produktu **25** attīrja ar kolonnas hromatogrāfiju, iegūstot bezkrāsainu cietvielu ar labu iznākumu [27].

Pimozīda **25** kā efluksa sūkņa AcrB proteīna inhibitora aktivitāti pētīja *E. Coli* celmu baktēriju šūnās AcrAB-TolC sūknim dažādu antibiotiku un fluorescējošā savienojuma EthBr klātbūtnē. Palielinot savienojuma **25** koncentrāciju līdz 200 μM netika novērotas MIC izmaiņas tetraciklīna, hloramfenikola, rifampicīna un linezolīda antibakteriālajiem preparātiem. Savukārt fluorescējošā savienojuma EthBr klātbūtnē novēroja, ka pimozoīds ietekmē EthBr transportu caur efluksa sūkni, samazinot MIC četras reizes [8].



1.7.att. Savienojuma **26** struktūrformula

Zgurskaya grupa identificēja savienojumu **26** (1.7. attēls) kā vienu no potenciālajiem AcrAB-TolC efluksa sūkņa inhibitoriem, kas ir komerciāli pieejams skrīninga savienojums, taču tā sintēzes shēma nav literatūrā zināma. Savienojums **26** saistās ar AcrA proteīnu efluksa sistēmas kompleksā. Darba autori izmantoja dažādas *E. Coli* baktēriju šūnu līnijas, lai apstiprinātu attiecīgā inhibitora iedarbību uz efluksa sūkni AcrAB-TolC. Pētījumā izmantotas savvaļas tipa baktērijas WT, kā arī ģenētiski modificētas ΔTolC and ΔTolC-Pore, kuras nesatur efluksa sūkņu sistēmu. Lai savienojumu uzskatītu par efluksa sūkņa inhibitoru tam ir jāuzlabo antibiotiku darbība baktēriju celmos, kas satur efluksa sūkņus, saistoties ar AcrA proteīnu. Toties savienojums nedrīkst būtiski uzlabot antibiotiku darbību šūnās, kuras nesatur efluksa sūkņus. Eksperimentāli noskaidroja, ka savienojums **26** pats par sevi neuzrāda antibakteriālas īpašības *E. Coli* baktērijas šūnā (MIC ≥ 200 μM), bet tas pastiprina pētījumā izmantoto novobiocīna un eritromicīna antibiotiku preparātu aktivitāti. Savienojums uzrādīja lielāku aktivitāti 50 μM koncentrācijā *E. Coli* 2,4 nm diametra poru saturošu ΔTolC-Pore baktēriju celma šūnās. Poras ļauj mazām molekulām pārvarēt membrānas caurlaidības barjeru, neietekmējot efluksa sistēmu. Novēroja, ka šajā celmā palielinās baktērijas jutīgumus pret eritromicīnu un novobiocīnu attiecīgi 16 un 8 reizes [22].

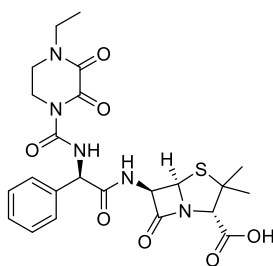
1.5. Bioloģisko aktivitāšu pētījumi

Sadarbībā ar *Fraunhofer ITMP* institūta profesora Dr. Björn Windshügel grupu, projekta RESET-ME ietvaros, izvirzīja hipotēzi, ka efluksa sūkņa AcrAB-TolC ārējās membrānas proteīns TolC varētu kalpot kā terapeitiskais mērķis. Tādēļ veica virtuālo skrīningu, kura rezultātā identificēja virkni potenciālo savienojumu jeb hitu, kurus sintezēja Latvijas Organiskās sintēzes institūta Organiskās sintēzes metodoloģijas grupā. Savienojumu bioloģiskās aktivitātes pētījumus veica projekta sadarbības partnere Helsinku Universitātes Farmācijas fakultātes Farmācijas un biozinātņu nodaļas pētniece Cristina Durante Cruz.

Darba mērķa sasniegšanai veica potenciālo AcrAB-TolC efluksa sūkņa TolC proteīna inhibitoru sintēzi un analizēšanu *E. Coli* baktēriju celma BW25113 šūnā [28]. Savienojumus analizēja vairākos posmos, nosakot vai savienojums ir spējīgs reducēt šūnas efluksa sistēmu, vai tam piemīt antibakteriālas īpašības un vai tas ir sinerģijā ar pētījumā izmantoto antibiotiku. Lai noskaidrotu, cik efektīvs ir savienojums kā TolC inhibitors, noteica MIC un MSC vērtības. Minimālā inhibējošā koncentrācija (MIC) norāda kāda ir minimālā savienojuma koncentrācija (izteikta μM), kas nepieciešama, lai savienojums bez antibiotikas klātbūtnes uzrādītu antibakteriālas īpašības - īpašība, kurai efluksa sūkņa inhibitoriem nebūtu jāpiemīt. Minimālā sinerģijas koncentrācija (MSC) raksturo minimālo savienojuma koncentrāciju (izteikta μM), kas nepieciešama, lai pievienotās antibiotikas aktivitāte tiktu atjaunota (inhibē $\geq 90\%$ baktēriju augšanu).

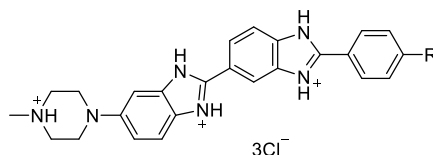
1.6. Inhibitora MZ-1054 identificēšana

Nosakot potenciāli aktīvu efluksa sūkņa inhibitoru bioloģiskās aktivitātes, sākotnēji tiek veikta savienojuma analīzi bez antibiotikas klātbūtnes, pieaugošā koncentrāciju gradientā, sākot no 125 μM , lai noteiktu, vai savienojumi kavē baktēriju šūnu augšanu. Nākamajā solī analizējamam savienojumam tiek pievienota zināma antibiotika - 1 $\mu\text{g/ml}$ piperacilīns, kurš pieder pie β -laktāma antibiotiku klases (1.8. attēls), un pret kuru baktērijām ir izveidojusies efluksa mehānisma rezistence. Noskaidrojot sinerģismu ar pētāmo TolC inhibitoru, tas ir, vai tiek atjaunota antibakteriālā aktivitāte zināmajam preparātam.



1.8. att. Piperacilīna struktūrformula

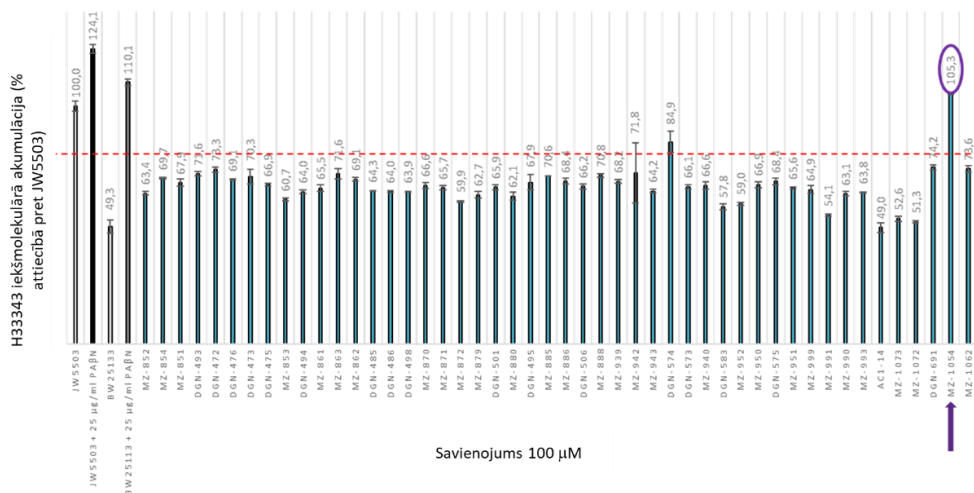
Pirmajā pētījuma posmā noskaidroja vai virtuālā skrīninga rezultātā identificētie savienojumi ir spējīgs kavēt šūnas efluksa sistēmu. Veica >50 strukturāli atšķirīgu potenciālo efluksa sūkņu inhibitoru sērijas analīzi fluorescējošas vielas *Hoechst* 33342 (H33342) (1.9. attēls) akumulācijas testu *E. Coli* baktēriju celma BW25113 šūnās [29].



Hoechst 33258 R= -OH
Hoechst 33342 R= -OEt
Hoechst 34580 R= -N(CH₃)₂

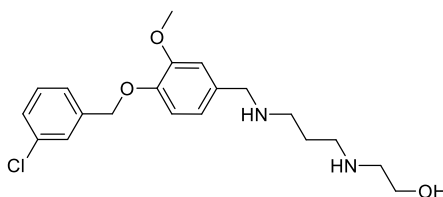
1.9. att. Hoechst savienojuma struktūrformulas variācijas [29]

Ja pie 100 μM analizējamā savienojuma koncentrācijas bija novērojama ≥ 80% H33342 akumulācija šūnā salīdzinājumā ar baktēriju celmu JW5503, kurš nesatur efluksa sūkņus, tad savienojums ir spējīgs reducēt efluksa sistēmu.



1.10. att. Savienojumu sērijas *Hoechst* akumulācijas testa rezultāti (Ilustratīvs attēls)

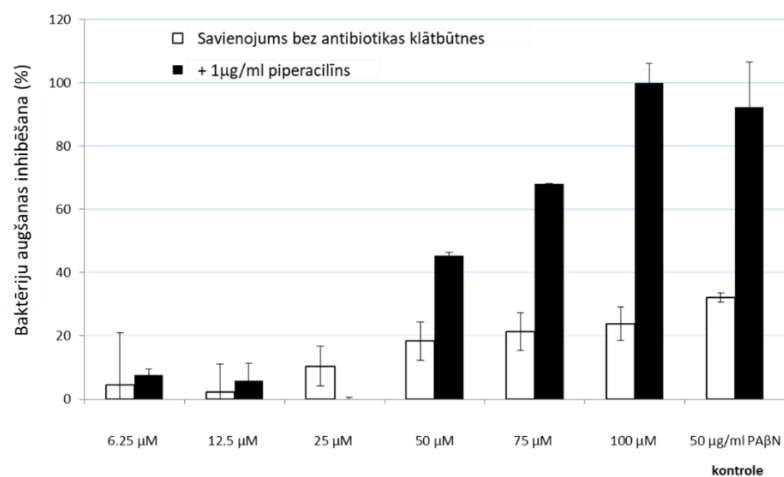
Pēc pirmā posma eksperimentu (1.10. attēls) datiem secināja, ka vislabāko akumulāciju *E. Coli* baktērijas šūnā BW25113 uzrādīja trāpījuma savienojums **MZ-1054** (1.11. attēls). Savienojums salīdzinājumā ar efluksa sūkņus nesaturošu *E. Coli* baktēriju celmu JW5503 (100%) uzrādīja 105,3% H33342 akumulāciju.



MZ-1054

1.11. att. Savienojuma **MZ-1054** struktūrformula

Nākamajā posmā analizēja savienojuma **MZ-1054** antibakteriālo aktivitāti un sinerģismu ar piperacilīna preparātu. Noteica, ka savienojumam bez antibiotikas klātbūtnes pašam nepiemīt antibakteriālas īpašības (MIC ir >100 μM (pēc jaunākajiem datiem >125 μM)). Šis savienojums uzrādīja izteiktu sinerģismu 1μg/ml piperacilīna klātbūtnē (MSC novēroja pie 75 μM). Lai kontrolētu rezultātu pareizību analizēja arī literatūrā zināmu efluksa sūkņa inhibitora standartu, kā kontroles savienojumu fenilalanil-β-naftilamīdu, PAβN (1.12. attēls).

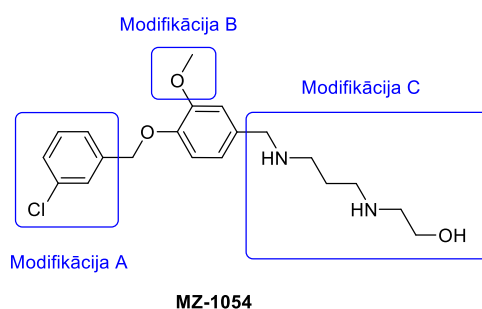


1.12.att. Savienojuma MZ-1054 MIC analīze

Pēc iegūtajiem rezultātiem identificēja, ka savienojumam **MZ-1054** piemīt AcrAB-TolC efluksa sūkņa inhibitora īpašības *E. Coli* baktērijas šūnās. Tika nolemts veikt struktūras-aktivitātes pētījumus, lai identificētu dažādu aizvietotāju ietekmi uz bioloģisko aktivitāti. Attiecīgos **MZ-1054** analogus ieguva sintēzes ceļā.

2. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

Sadarbībā ar *Fraunhofer ITMP* institūtu un Helsinku Universitātes Farmācijas fakultāti tika veikti dažādu potenciālo savienojumu bioloģiskās aktivitātes pētījumi, kuri plašāk aprakstīti iepriekš 1.5. un 1.6. nodaļās. Tika identificēts, ka savienojumam **MZ-1054**, kuru sintezēja Latvijas Organiskās sintēzes institūta vadošā pētniece Dr. Marina Madre, piemīt AcrAB-TolC efluksa sūkņa inhibitora īpašības *E. Coli* baktērijas šūnās [28]. Lai noskaidrotu dažādu aizvietotāju ietekmi uz bioloģisko aktivitāti, šī darba ietvaros, tika veikta savienojuma **MZ-1054** analoģu sintēze (2.1. attēls).



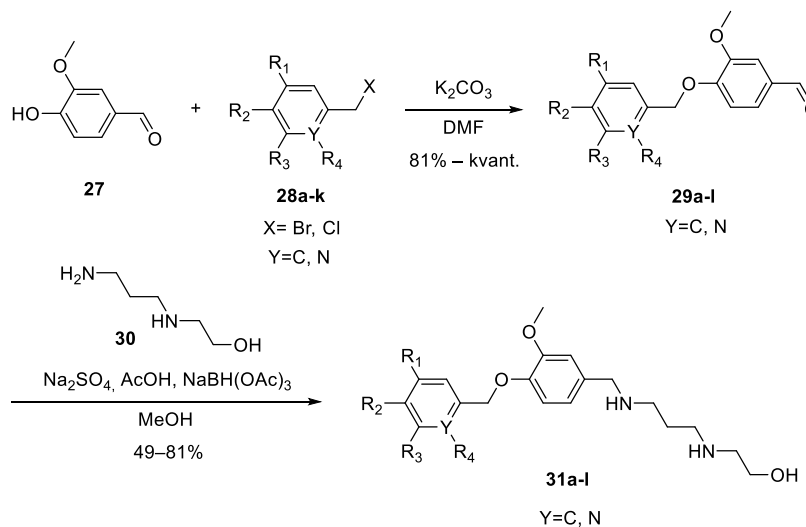
2.1. att. Savienojuma **MZ-1054** modifikācijas

2.1. Savienojuma **MZ-1054** analoģu sintēze – modifikācija A

Veica savienojuma **MZ-1054** analoģu sintēzi, kurā modificēja pamatstruktūras pozīcijas A, B un C.

Savienojuma **MZ-1054** analoģu modifikācijas A sintēzi veica kā sākotnējo izejvielu izmantojot vanilīnu (2.1. tabula). Sintēzes shēma savienojumiem **31a-1** ietver dažādu komerciāli pieejamu benzilbromīda vai hlorīda atvasinājumu variēšanu, kas ļauj efektīvi iegūt virkni analoģu, pozīcijas A ietekmes izvērtēšanai pēc iegūtajām savienojumu bioloģiskajām aktivitātēm.

Savienojumu 31a-l sintēze



Modifikācija A		29 iznākums, %	31 iznākums, %	Modifikācija A		29 iznākums, %	31 iznākums, %
	a	81	81		g	kvant.	59
	b	99	49		h	kvant.	68
	c	96	53		i	kvant.	65
	d	kvant.	50		j	82	86
	e	kvant.	59		k	kvant.	63
	f	90	56		l	– ^a	79

^a Sintēzē izmanto komerciāli pieejamu izejvielu 3-(benziloksi)-4-metoksibenzaldehīdu (**29l**).

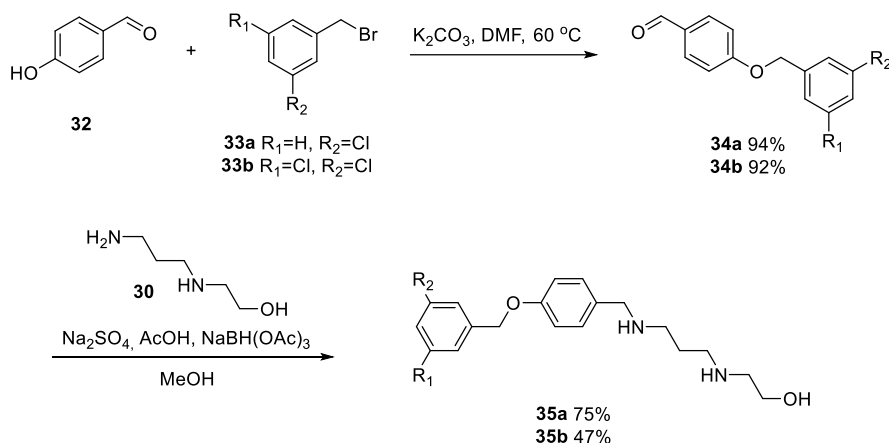
Sintēzes pirmā stadija (metode A eksperimentālajā daļā) ietver vanilīna (**27**) hidroksilgrupas benzilēšanu, iegūstot savienojumus **29a-k** S_N2 nukleofilās aizvietošanas reakcijā, kuru veic istabas temperatūrā 24 stundu laikā inertā atmosfērā DMF, kā bāzi izmantojot K₂CO₃. Tālāk reakcijas tehnisko produktu ekstrahēja ar EtOAc / H₂O un bez papildus attīrīšanas ieguva savienojumus **29a-k** ar augstiem iznākumiem.

Nākamā sintēzes stadija ietver iegūto aldehīdu **29a-k** reducējošo aminēšanu ar 2-((3-aminopropil)amino)etan-1-olu (**30**) (metode B). Attiecīgo reakciju veic ledus etiķskābes

klātbūtnē, par reducētāju izmantojot NaBH(OAc)₃. Reakcijas gaitu kontrolēja ar LC/MS analīzēm, kuras gandrīz visos gadījumos uzrādīja pilnu konversiju. Iegūtos tehniskos reakcijas produktus izdevās attīrīt ar kolonnu hromatogrāfiju palīdzību, kā rezultātā galaprodukti **31a-l** iegūti ar iznākumiem no 49% līdz 81%, kas saistāms ar dažādu sarežģītību produktu attīrīšanas procesā.

2.2. Savienojuma MZ-1054 analogu sintēze – modifikācija B

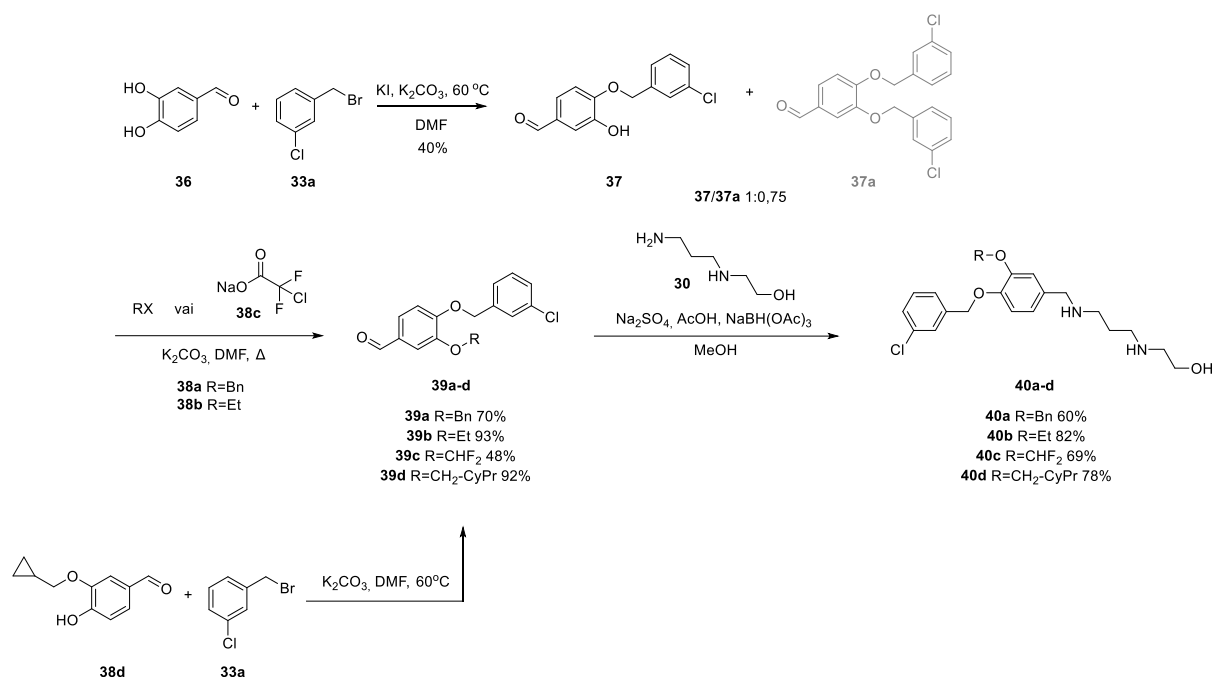
Centrālā cikla aivietotāju ietekmes izpētei **MZ-1054** analogos (modifikācija B), sintezēja savienojumus **35a,b**, kuriem fenilgrupas 2- pozīcijā MeO- grupa tiek aizvietota ar ūdeņradi. Pirmā stadija ietver 4-hidroksibenzaldehīda (**32**) benzilēšanu ar attiecīgajiem 3-hlor- (**33a**) vai 3,5-dihlorbenzilbromīdiem (**33b**), veidojot aldehīdus **34a,b** (2.2. attēls).



2.2.att. Savienojumu 35a,b sintēzes shēma

Reakcijas pirmā stadija ir līdzīga metodei **A**, bet to veic paaugstinātā temperatūrā pilnas konversijas nodrošināšanai, tādējādi iegūstot produktus **34a,b** ar augstiem iznākumiem. Otrā galprodukta **35a,b** sintēzes stadija tiek veikta, izmantojot reducējošo aminēšanu, analogi kā savienojumu **31a-l** gadījumā.

Tālākās izpētes gaitā savienojuma **MZ-1054** centrālā cikla 2- pozīcijas MeO- grupu bija plānots nomainīt uz stēriski lielākiem aizvietotājiem (modifikācija B). Šādu analogu iegūšanai par sākotnējo izejvielu izmantots 3,4-dihidroksibenzaldehīds (**36**).



2.3. att. Savienojumu 40a-d sintēzes shēma

Modifikācijas B aizvietošanai pirmajā sintēzes stadijā veic O-alkilēšanas reakciju starp 3,4-dihidroksibenzaldehīdu (**36**) un 1-(bromometil)-3-hlorbenzolu (**33a**) 60°C inertā atmosfērā. Kā bāzi izmantojot K₂CO₃ un kā katalizatoru KI, iegūst reakcijas galaproduktu **37** ar viduvēju iznākumu (2.3. attēls). Sintēzes gaitu kontrolē, izmantojot LC/MS analīzi, kas apstiprināja, ka reakcijas maisījums satur ne tikai vajadzīgo *para*-benzilēšanas produktu, bet arī diaizvietoto *meta* blakusproduktu **37a** attiecībā **37/37a** 1:0,75.

Veicot reakcijas maisījuma apstrādi, veidojās tumši brūnas nogulsnes, kuras pēc LC/MS analīzēm saturēja abus produktus **37** un **37a**, taču veidojošos nogulšņu daudzums bija niecīgs. Sākotnējie mēģinājumi atdalīt produktu maisījumu hromatogrāfiski, izmantojot par eluentu PE:EtOAc bija nesekmīgi. Atkārtotā kolonnas hromatogrāfijā, kā eluentu izmantojot 100% DCM, izdevās selektīvi atdalīt blakusproduktu **37a** no nepieciešamā produkta **37**.

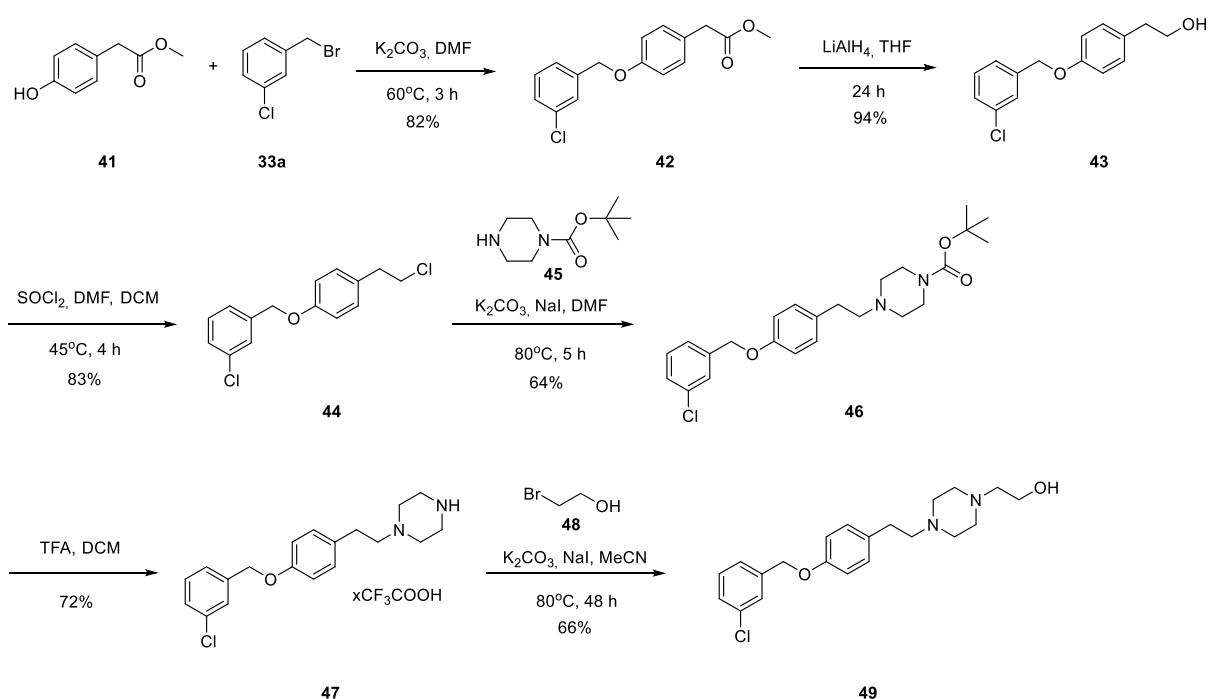
Mēģinājums nepieciešamo produktu **37** pārvērst par kālija sāli, lai atdalītu to no diaizvietotā blakusprodukta **37a** ekstrakcijas ceļā bija nesekmīgs, jo LC/MS analīzes uzrādīja abu vielu maisījumu. Tālākā maisījuma hromatogrāfiskā attīrīšana rezultējās ar 18% iznākumu, kas ir zemāks kā iepriekš aprakstītajā metodē, tāpēc šī pieeja turpmāk netika izmantota.

Lai pierādītu, ka reakcijā ir veidojies produkts **37** nevis tā iespējamais reģioizomērs, pievienojoties 1-(brommetil)-3-hlorbenzolan *meta* pozīcijā, uzņēma 2D NOESY spektru (skat. 3. pielikumu) un veica tā analīzi. Benzil grupas -CH₂- protoniem 5.09 ppm (s, 2H) ir novērojams Overhauzera efekts ar benzola gredzena 11. pozīcijas protonu 6.91 ppm (d, J=2.0

Hz, 1H), savukārt nav redzams krosplīķis ar 14. pozīcijas protonu, kas teorētiski būtu paredzams nevēlamajam reģioizomēram.

2.3. Savienojuma MZ-1054 analoģu sintēze – modifikācija C

Literatūras apskatā tika secināts, ka nozīmīga loma potenciāli aktīvam efluksa sūkņa inhibitoram ir slāpekļa saturoši savienojumi, tāpēc veica savienojuma **MZ-1054** diamīna linkera aizvietošanu (modifikācija C) ar citu slāpekli saturošu virkni. Sintezēja savienojumu **49** pēc izstrādātas sintēzes shēmas (2.4. attēls).

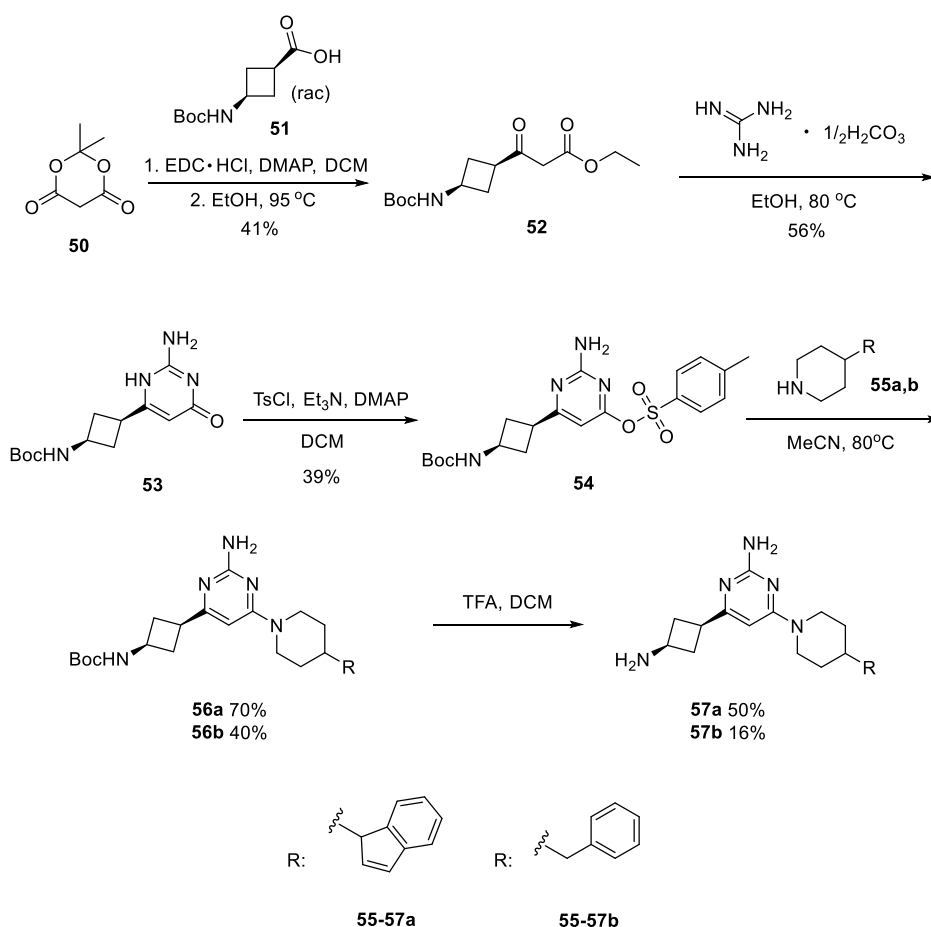


2.4.att. Savienojuma 49 sintēzes shēma

Modifikācijas C galaproduktu **49** iegūst secīgi 6 sintēzes stadijās, kur pirmajā stadijā savienojumu **41** benzilē ar 3-hlorbenzilbromīdu (**33a**). Iegūto esteri **42** reducē par atbilstošo pirmējo spirtu **43**, izmantojot litija alumīnija hidrīdu. Spirtu **43** hlorē ar tionilhlorīdu, veidojas savienojums **44** ar labu iznākumu. Alkilēšanas reakcijā ievada piperazīna aizvietotāju **45**, kā rezultātā veidojas savienojums **46**. Secīgā Boc- aizsarggrupas nošķelšana un alkilēšana ar 2-brometan-1-olu (**48**) iegūst gala produktu **49**.

2.4. Literatūrā zināma efluksa sūkņa inhibitora sintēze

Lai noskaidrotu kāda būtu literatūrā zināmu AcrAB-TolC efluksa sūkņa inhibitora aktivitāte veiktajos bioloģiskajos pētījumos, sintezēja savienojumu **57a**, kurš ir komerciāli pieejams, bet dārgs skrīninga savienojums. Diemžēl šī savienojuma sintēze literatūrā nav aprakstīta, tādēļ bija nepieciešams izstrādāt gaitu, pēc kuras varētu iegūt nepieciešamo standarta daudzumu. Pētījuma laikā tika izstrādāta sintēzes shēma (2.5. attēls) savienojuma **57a** iegūšanai, kuru veiksmīgi pielietoja arī analoga **57b** sintēzē.



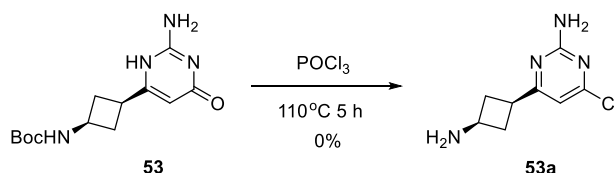
2.5. att. Savienojumu **57a** un **b** sintēzes shēma

AcrA inhibitora standartu **57a** un analogu **57b** ieguva 5 sintēzes stadijās. Pirmā stadija ietver 2 reakcijas posmus. Pirmais solis ir meldrumskābes (**50**) acilēšana ar cis-3-((*tert*-butoksikarbonil)amino)ciklobutānkarbonskābi (**51**) EDC·HCl un DMAP klātbūtnē DCM šķīdumā. Sākotnējie mēģinājumi, pielietot DCC kā sametināšanas reaģentu, bija nesekmīgi sarežģītās attīrīšanas dēļ. Tādēļ tika nolemts turpmāk lietot EDC·HCl skābes aktivēšanai. EDC ar skābi veido aktīvu aizejošo grupu, kura, iesaistoties reakcijā ar DMAP, veido urīnvielas

blakusproduktu, no kura atbrīvojas, maisījumu apstrādājot ar 5% KHSO₄ šķīdumu. Šīs stadijas otrajā solī notiek cikla atvēršanās abs. EtOH šķīdumā ar secīgu dekarboksilēšanos, kā rezultātā iegūst β-keto estera galaproduktu **52**.

Otrā sintezēs stadija ietver aizvietota pirimidona cikla izveidi guanidīna karbonāta un ketoestera **52** kondensācijas ceļā, veidojot savienojumu **53**. Reakciju veic abs. EtOH šķīdumā 80 °C spiediena ampulā. Pēc LC/MS analīzēm bija redzama produkta **53** veidošanās, taču maisījums bija dzidrs un nenovēroja nogulšņu veidošanos. Ekstrahējot ar EtOAc, ieguva netīru produktu **53**. Tālāka attīrīšana, pielietojot kolonnas hromatogrāfiju, bija nesekmīga. Turpmāk, pētījuma gaitā, veica sintēzi ar lielāku izejvielas iekrāvumu un ilgāku reakcijas laiku, karsējot 24 stundas. Reakcijas maisījumam atdziestot, veidojās nogulsnes, kuras nenovēroja maza mēroga izmēģinājuma sintēzē. Tās nofiltrējot, noskaidroja, ka ir veidojies sagaidāmais produkts **53** kā balta cieta viela ar augstu tīrību.

Sintēzes trešās un ceturtais stadijas gaitā tiek veikta spirocikliskā amīna **55a** pievienošana pirimidona ciklam, iegūstot produktu **56a**. Pirmais mēģinājums savienojumu **40a** iegūšanai paredzēja pirimidona **53** pārvēršanu par atbilstošu hlorīdu (2.6. attēls), kurā hlors kalpotu kā aizejošā grupa. Attiecīgo hlorīdu ieguva savienojuma **53** reakcijā ar POCl₃ karsējot ~ 110 °C eļļas vannā 5 stundas inertā atmosfērā. Reakcijas gaitu kontrolēja ar LC/MS analīzēm, novērojot, ka pēc 2 stundām produkts vēl nebija veidojies, taču arī izejviela **53** bija pilnībā izreaģējusi. Lai gan pēc 4 stundām novēro reakcijas produkta **53a** veidošanos, tā sekmīga izdalīšana tīrā veidā neizdevās.



2.6. att. Savienojuma **53a** sintēze

Kā otrais variants **56a** iegūšanai ir tiešās aminēšanas reakcija acetonitrilā istabas temperatūrā starp amīnu **55a** un pirimidonu **53**, izmantojot sametināšanas reaģentu PyBOP un DBU kā bāzi. Pēc 5 stundām nav novērojama produkta veidošanās, tāpēc sintēze tiek maisīta ilgu laika periodu. Nepieciešamā **56a** produkta masa un arī daudz citi neidentificējami blakusproduktu signāli ir redzami, veicot sintēzi 6 dienas. Tālāka produkta attīrīšana netika veikta, un nolemts izstrādāt jaunu pieeju sintēzes optimizācijai.

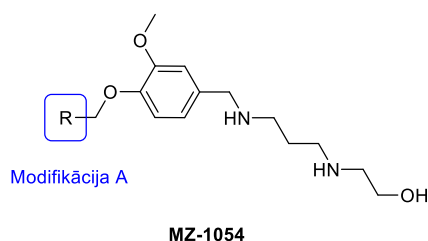
Sekmīgi izdodas savienojumu **56a** iegūt divās stadijās, izmantojot tozila aizejošo grupu. Savienojuma **53** ketogrupas reakcijā ar 4-toluolsulfonilhlorīdu (TsCl) iegūst savienojumu **54**, kurā ketogrupa tiek pārvērsta par labu aizejošo grupu kā p-toluolsulfonskābes atvasinājums. Reakciju veica DCM kā vāju bāzi izmantojot Et₃N un kā katalizatoru – DMAP. Pēc ekstrakcijas un savienojuma attīrīšanas ar kolonnu hromatogrāfiju iegūst **54** ar viduvēju iznākumu. Aizvietošanas reakcijā starp **54** un savienojumu **55a** iegūst **56a**. Attiecīgo sintēzi veic 80 °C spiediena ampulā, par bāzi izmantojot Et₃N. Pēc reakcijas maisījuma atdzišanas novēro nogulšņu rašanos, kuras filtrē, iegūstot produktu **56a** kā tīru baltu cietu vielu ar labu iznākumu. Analogi ieguva savienojumu **56b**.

Kā pēdējā stadija ir aizsarggrupas t-butiloksikarbonilgrupas nošķelšanas stadija skābā vidē, pielietojot TFA un DCM maisījumu. Tehnisko produktu attīra ar MeCN / 0,1% TFA apgrieztās fāzes hromatogrāfijā, iegūstot savienojumu **57a** kā TFA sāli. -Boc aizsarggrupas noņemšanu savienojumam **57b** veica analogi kā produktam **57a**. Savienojuma **57b** attīrīšanai sākotnēji izmantoja apgrieztās fāzes kolonnas hromatogrāfiju, kā eluentu lietojot iepriekš izmantoto MeCN / 0,1% TFA. Taču, tā kā iegūtā produkta tīrība nebija atbilstoša, tā attīrīšana uz apgrieztās fāzes kolonnas atkārtoja, pielietojot kā eluentu MeCN/0,1% Et₃N un izdalot produktu **57b** kā brīvu bāzi.

2.5. Bioloģiskās aktivitātes pētījumi

Sintezēto savienojumu bibliotēka tika nosūtīta uz Helsinku Universitātes Farmācijas fakultāti, Farmācijas un biozinātņu nodaļu, kurā pētniece Cristina Durante Cruz veica bioloģiskās aktivitātes mērījumus. Aktivitāšu-struktūras kopsakarību izpētei iegūtos datus mēs strukturējām atbilstoši veiktajām modifikācijām A, B, C.

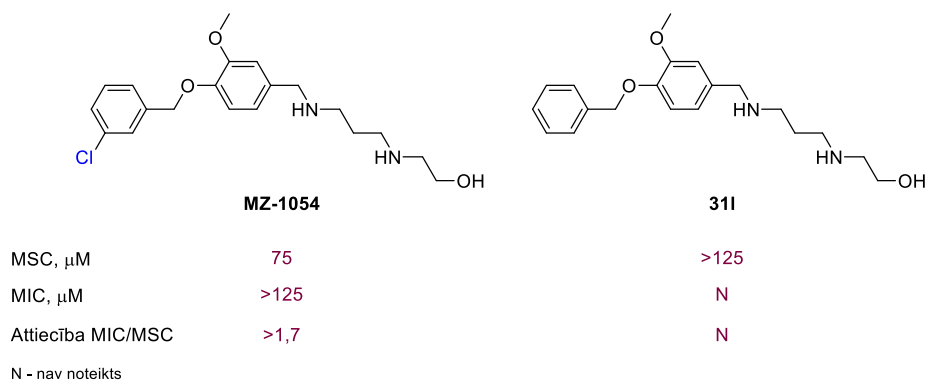
Modifikācija A



2.7.att. Savienojuma MZ-1054 modifikācija A

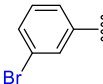
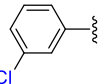
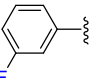
Savienojuma MZ-1054 modifikācijas A (2.7. attēls) ietver benzola cikla pozīciju aizvietošanu ar dažādām funkcionālajām grupām. Lai noskaidrotu, vai aivietotājam

benzilgrupas fragmentā ir ietekme uz savienojuma bioloģisko aktivitāti, analizēja savienojumu **31l**, kur *meta* pozīcija paliek neaizvietota. Savienojums **31l** neuzrādīja labas efluksa sūkņa inhibitora īpašības. Šim savienojumam novēro augstu minimālās sinerģiskās koncentrācijas (MSC) vērtību >125 μM, tādējādi šis savienojums neatjauno antibiotikas piperacilīna iedarbību. Secināja, ka modifikācijai A ir būtiska ietekme uz bioloģisko aktivitāti (2.8. attēls).



2.8.att. Savienojumu MZ-1054 un 31l modifikācijas A ietekme

Lai noskaidrotu kā dažādas funkcionālās grupas modifikācijas A rezultātā ietekmē pētāmā savienojuma aktivitāti, veica optimizēšanu ar halogēnu un citu funkcionālo grupu ievadīšanu benzola gredzenā. Sākotnēji pārbaudīja dažādu halogēnu ietekmi *meta* pozīcijā. 3-Brom-analogu **31a** un 3-fluor-analogu **31c**, salīdzināja ar 3-hlor-analogu **MZ-1054**. Pēc iegūtajiem rezultātiem (2.9. attēls) var novērot, ka, palielinoties funkcionālās grupas elektronegativitātei virzienā no broma uz fluoru, sinerģisms (MSC) pasliktinās, taču, pozitīvi, ka pētāmajiem savienojumiem pašiem par sevi nepiemīt antibakteriālā aktivitāte (augsta MIC vērtība). Ar vismazāko indukcijas efektu broma savienojums (C-Br $\Delta EN = 0,41$ [30]) **31a** uzrāda vismazāko MSC vērtību 50 μM, kā arī tam antibakteriālās īpašības nav raksturīgas (MIC >125 μM). Savukārt fluora atvasinājumam **31c** ar vislielāko funkcionālās grupas elektronegativitātes vērtību (C-F $\Delta EN = 1,43$ [30]) MSC vērtība >125 μM ir pārāk augsta, lai tas kvalificētos kā potenciāli labs efluksa sūkņa inhibitors.

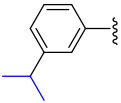
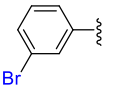
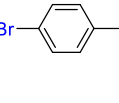
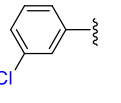
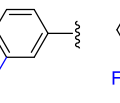
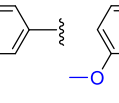
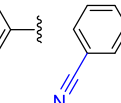
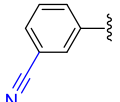
R:			
	31a	MZ-1054	31c
MSC, μM	50	75	>125
MIC, μM	>125	>125	N
Attiecība MIC/MSC	>2,5	>1,7	N
ΔEN	0,41	0,61	1,43

N - nav noteikts

2.9.att. Halogēnu funkcionālās grupas ietekme *meta* pozīcijā modifikācijā A

Kā nākamo faktoru pētīja modifikācijas A funkcionālās grupas lipofilitāti. Pēc *Lipinski's rule of five* likuma ir noteikts, ka lielākā daļa medicīniskie preparāti ir salīdzinoši mazas un lipofīlas molekulas [31, 32].

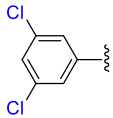
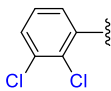
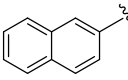
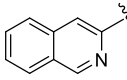
Veica dažādu funkcionālo grupu modifikācijas A benzola gredzena *meta* pozīcijas savienojumu sintēzi un ieguva MIC un MCS rezultātus (2.10. attēls). Novērojams, ka iegūtie rezultāti atbilst *Lipinski's rule of five* likumam – labākais MSC rezultāts savienojam **31f** atbilst lipofīlākai izopropil funkcionālajai grupai ar 1,10 $\Delta\log D$ vērtību. Kā arī savienojumam **31a** ar broma funkcionālo grupu ir novērojama maza MSC vērtība. Savienojumam **31b** ar viszemāko $\Delta\log D$ vērtību $-0,28$ neuzrādās efluksa sūkņa īpašības, jo pirmajā analīzes posmā tas nav sasniedzis noteikto akumulācijas robežu. Redzams, ka, samazinoties lipofilitātes vērtībai $\Delta\log D$ jeb savienojumam kļūstot hidrofilākam, palielinās minimālā sinerģiskā koncentrācija (MSC) vērtība, tādējādi zūd šo savienojumu spēja atjaunot antibiotiku iedarbību [33].

R:								
	31f	31a	31g	MZ-1054	31d	31c	31e	31b
MSC, μM	25-50	50	50	75	100-125	>125	>125	N
MIC, μM	>125	>125	>125	>125	>125	N	N	N
Attiecība MIC/MSC	>5 - 2,5	>2,5	>2,5	>1,7	>1.3-1	N	N	N
$\Delta\log D_{\text{radius}=0}$	1,10	0,9	0,9	0,6	0,3	0,2	$-0,05$	$-0,28$

2.10.att. Dažādu funkcionālo grupu lipofilitātes faktora ietekme modifikācijā A

Mainot Br- aizvietotāju no *meta* pozīcijas, kā savienojumā **31a**, uz *para* pozīciju, kā **31g**, nenovēro aktivitātes izmaiņas, kas liecina, ka pastāv iespēja variēt aizvietotājus struktūrā būtiski nesamazinot tā īpašības.

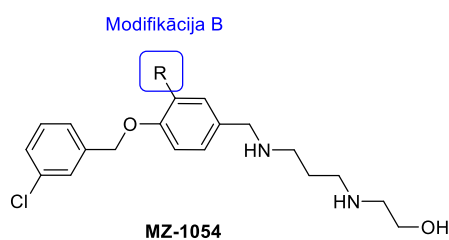
Tālāk pētīja divu aizvietotāju ievadīšana benzilgrupā (2.11. attēls). Novērojams, ka vislabākās efluksa sūkņa inhibitora īpašības uzrāda savienojums **31k** (dihlor savienojums *meta-meta* pozīcijās) ar vismazāko MSC vērtību 12,5 μ M, kā arī tam antibakteriālās īpašības nav raksturīgas (MIC >125 μ M). Arī savienojums **31h** (dihlor savienojums *orto-meta* pozīcijās) uzrāda labas bioloģiskās aktivitātes. Naftilgrupas ievadīšana **31i**, būtisku uzlabojumu nenesa, taču hinolīna fragmenta ievadīšanas rezultātā, savienojums **31j** zaudē sinerģismu.

R:				
	31k	31h	31i	31j
MSC, μ M	12,5	25	50	>125
MIC, μ M	>125	>125	>125	N
Attiecība MIC/MSC	>10	>5	>2,5	N

N - nav noteikts

2.11. att. Modifikācijas A aizvietošana ar dažādām funkcionālajām grupām

Modifikācija B


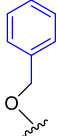
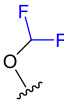
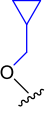



2.12.att. Savienojuma MZ-1054 modifikācija B

Nākamais posms savienojuma aktivitātes optimizēšanai ir **MZ-1054** modifikācijas B (2.12. attēls) ietekmes izvērtēšana. Sintezēja savienojumu **35a**, kur modifikācija B paliek neaizvietota, un savienojumus, kur modifikācija B ir aizvietota ar dažādām funkcionālajām grupām.

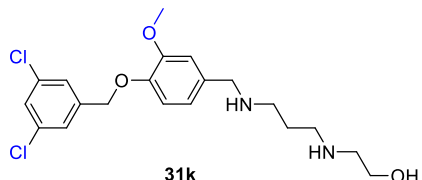
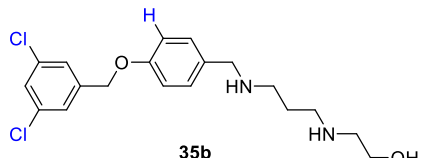
Pieaugot 2-pozīcijas aizvietotāju izmēram centrālā benzola gredzena ciklā, novērojama MSC vērtības samazināšanās, piemēram, savienojums **40a** uzrāda viszemāko MSC vērtību 6,25

μM visu iegūto analoģu rindā, taču, diemžēl, ir novērojama arī antibakteriālo īpašību parādīšanās, kas izpaužas ar MIC vērtības samazināšanos. Tāpat par efluksa inhibitoriem ir identificējami savienojumi **40c,d** un **b** (2.13. attēls), kuri uzrāda labāku sinerģismu par sākotnējo trāpījuma savienojumu **MZ-1054**.

R:					
	35a	40a	40c	40d	40b
MSC, μM	25	6,25	25	50	50
MIC, μM	>125	25	>125	125	>125
Attiecība MIC/MSC	>5	4	>5	2,5	>2,5

2.13. att. Savienojumu modifikācijas B ietekme

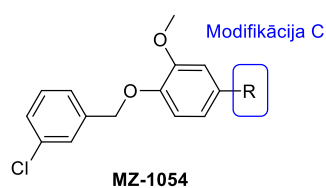
Tā kā vienas no vislabākajām bioloģisko aktivitāšu vērtībām uzrādīja savienojums **35a**, kur modifikācija B nav aizvietota, un savienojums **31k**, kur modifikācijā A benzola gredzens aizvietots 3,5-pozīcijās ar hlora atomiem, nolēma sintezēt savienojumu **35b** (2.14. attēls). Pēc iegūtajām bioloģiskajām aktivitātēm, tomēr izrādījās, kas savienojums **35b** neuzrāda labāku sinerģismu un baktēriju citotoksicitāte tam nedaudz paaugstinās (MIC).

		
	31k	35b
MSC, μM	12,5	12,5
MIC, μM	>125	75
Attiecība MIC/MSC	>10	6

N - nav noteikts

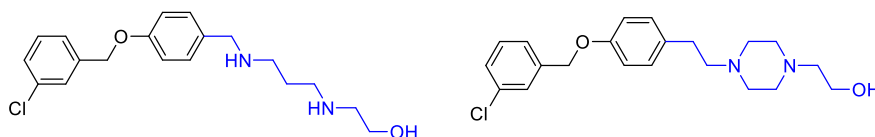
2.14. att. Savienojumu 31k un 35b bioloģisko aktivitāšu salīdzinājums

Modifikācija C



2.15. att. Savienojuma MZ-1054 modifikācija C

Polārās sānu ķēdes ietekmi uz savienojumu aktivitāti noskaidroja veicot modifikāciju C (2.15. attēls). Lai izvērtētu, kāda ietekme ir modifikācijai C, veica savienojuma **49** bioloģisko aktivitāšu izvērtējumu. Savienojums **49** satur piperazīna grupu sānu ķēdes struktūrā (2.16. attēls). Diemžēl šāda modifikācija rezultējās ar sinerģisko īpašību zaudēšanu.



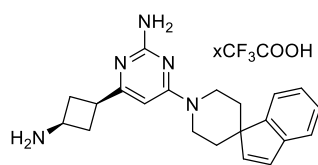
	35a	49
MSC, μM	25	>125
MIC, μM	>125	N
Attiecība MIC/MSC	>5	N

2.16.att. Modifikācijas C ietekme uz bioloģiskajām aktivitātēm

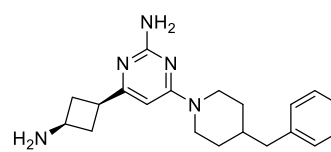
2.6. Literatūrā zināma efluksa sūkņa inhibitora aktivitāte

Turpmākiem bioloģiskās aktivitātes pētījumiem bija nepieciešams sintezēt literatūrā zināma AcrAB-TolC efluksa sūkņa inhibitora standartu **57a** [22], kura aktivitāti salīdzināja ar iegūtajiem **MZ-1054** analogiem. Standartam **57a** minimālā inhibitorā koncentrācija atbilst 125 μM , kas norāda, ka savienojumam pašam nepiemīt vērā ņemama antibakteriāla aktivitāte. Minimālo sinerģisko koncentrāciju MSC uzrādījās 50 μM , kas rezultējās ar 2,5 reizu lielu attiecību ar MIC (2.17. attēls). Kā analogu standartam **57a** sintezēja savienojumu **57b**, kurš uzrādīja vienādu MSC vērtību ar standartu, kā arī MIC vērtība ir līdzvērtīga. Modificējot standartu ar benzil grupu, nozīmīgas izmaiņas aktivitātēs netiek novērotas. Jāpiebilst, ka mūsu

sintezētais savienojums **31k** uzrāda ievērojami augstāku sinerģismu, nekā literatūrā zināmais standarts **57a**.



57a



57b

MSC, μM	50	50
MIC, μM	125	100
Attiecība MIC/MSC	2,5	2

2.17. att. Savienojuma **57a,b** noteiktās MSC un MIC vērtības

3. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

Iegūto savienojumu ^1H , ^{13}C -KMR spektri uzņemti CDCl_3 un DMSO-d_6 šķīdumos, izmantojot *Varian Mercury-400* spektrometru. Iegūtos ^1H -KMR un ^{13}C -KMR spektrus apstrādāja ar programmu *MestReNova*, ķīmiskās nobīdes pierakstītas δ skalā un J konstantes mērītas hercos (Hz).

Sausie šķīdinātāji tika ņemti no iekārtas *inert PS-micro*. Reaģenti un šķīdinātāji iegādāti no izplatītājiem *Acros Organics*, *Fluorochem*, *Sigma Aldrich*, *Alfa Aesar*, *Fisher Chemical* un izmantoti bez papildus attīrīšanas.

Kolonnu hromatogrāfijai tiešajā fāzē izmantots *Davisil* silikagēls LC60A 35-70 mikroni. Kolonna 2,5 x 25 cm. Svari: *Boeco Germany* ($d=0,001\text{g}$). Apgrieztās fāzes hromatogrāfiju veica, izmantojot *Isolera One Biotage* iekārtu, BIOTAGE[®] SNAP kārtidzš KP-C18-HS, detektēšanai izmantoja UV gaismas adsorbciju pie 254 nm un 210 nm.

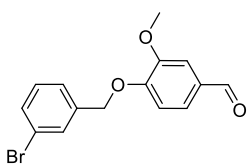
Augstas izšķirtspējas masspektru (AIMS) iegūšanai izmantoja augsti efektīvo šķidrums hromatogrāfu Agilent 6230 TOF LC/MS ar massektīvo detektoru elektroizsmidzināšanas pozitīvajā režīmā. Reakcijas gaitu un tīrību novērtēja, uzņemot masspektus (UEŠH-MS) ar ultra-efektīvo šķidrums hromatogrāfu Waters Acquity. Kolonna: Acquity UPLC BEH-C18 (izmēri: 2,1 x 50 mm; stacionārās fāzes biezums: 1,7 μm ; kolonnas temperatūra: $(30\pm 5,0)^\circ\text{C}$). Kustīgā fāze: gradienta apstākļi (no 90% 0,01% TFA ūdens šķīdums / 10% MeCN līdz 10% 0,01% TFA ūdens šķīdums / 90% MeCN); plūsmas ātrums: 0,500 mL/min; analīzes laiks: 8 minūtes). Detektors: PDA (fotodiožu matricas), 220-320 nm, izšķiršana: 1,2 nm.

Reakciju gaitu novērtēja, izmantojot plānslāņa hromatogrāfijas plāksnes Silica gel 60 F₂₅₄, Merck. Detektēšanai izmantoja UV lampu.

3.1. Potenciālu E.Coli baktēriju AcrAB-TolC efluksa sūkņa inhibitoru sintēze

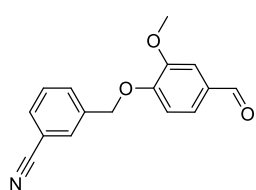
Vispārīgā metode A savienojumu 29a-k, 34a-b, 39a-d iegūšanai

4-((3-Brombenzil)oksi)-3-metoksibenzaldehīda (**29a**) sintēzes apraksts ir dots kā vispārīgais piemērs.



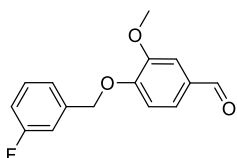
4-((3-Brombenzil)oksi)-3-metoksibenzaldehīds (29a). 4-Hidroksi-3-metoksibenzaldehīda (**27**) (1,23 g; 8,08 mmol; 1 eq.), K_2CO_3 (2,23 g; 16,2 mmol; 2 ekviv.) un 1-(brommetil)-3-brombenzola (**28a**) (2,12 g; 8,48 mmol; 1,05 ekviv.) šķīdumu DMF (8 ml) maisīja inertā atmosfērā 24 stundas istabas

temperatūrā. Atšķaidīja ar H₂O (100 ml) un ekstrahēja ar EtOAc (100 ml). Organisko ekstraktu mazgāja ar H₂O (5x20 ml) un pies. NaCl šķīdumu (20 ml), žāvēja uz b/ū Na₂SO₄. Šķīdinātāju ietvaicēja, iegūstot reakcijas produktu kā viskozu eļļu, kuru tālāk kristalizēja, apstrādājot ar heksānu. (Iznākums: 2,11 g; 81%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 9.84 (s, 1H), 7.70 – 7.65 (m, 1H), 7.58 – 7.52 (m, 2H), 7.49 – 7.41 (m, 2H), 7.41 – 7.34 (m, 1H), 7.28 – 7.22 (m, 1H), 5.22 (s, 2H), 3.85 (s, 3H). ¹³C-KMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 191.0, 153.3, 150.2, 138.5, 131.5, 130.7, 130.4, 130.3, 126.6, 125.8, 123.0, 112.6, 109.6, 70.1, 56.2. [M+H]⁺ aprēķināts C₁₅H₁₄O₃Br: 321,0126. Noteikts: 321,0138.



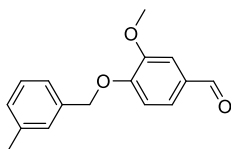
3-((4-Formil-2-metoksifenoksi)metil)benzonitrils (29b).

Savienojumu **29b** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** savienojuma **27** (0,53 g; 3,5 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 3-(hlormetil)benzonitrilu (**28b**) (0,72 g; 3,7 mmol; 1,1 ekviv.), iegūstot baltu cietvielu (Iznākums: 0,93g; 99%). Savienojums zināms literatūrā [34]. ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 9.85 (s, 1H), 7.94 – 7.92 (m, 1H), 7.86 – 7.79 (m, 2H), 7.64 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.55 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 7.44 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 5.28 (s, 2H), 3.85 (s, 3H).



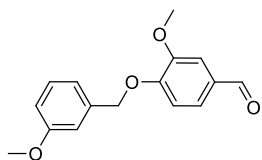
4-((3-fluorbenzil)oksi)-3-metoksibenzaldehīds (29c).

Savienojumu **29c** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** savienojuma **27** (0,53 g; 3,5 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 1-(brommetil)-3-fluorbenzolu (**28c**) (0,45 ml; 3,7 mmol; 1,1 ekviv.), iegūstot baltu cietvielu (Iznākums: 0,87 g; 96%). Savienojums zināms literatūrā [35]. ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 9.84 (s, 1H), 7.56 – 7.52 (m, 1H), 7.49 – 7.42 (m, 2H), 7.32 – 7.23 (m, 3H), 7.21 – 7.15 (m, 1H), 5.24 (s, 2H), 3.85 (s, 3H).

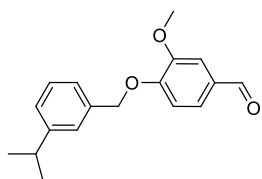


3-metoksi-4-((3-metilbenzil)oksi)benzaldehīds (29d).

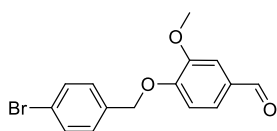
Savienojumu **29d** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** savienojuma **27** (0,46 g; 3,0 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 1-(hlormetil)-3-metilbenzolu (**28d**) (0,49 ml; 3,7 mmol; 1,1 ekviv.). (Iznākums: 1,00 g; kvantitatīvs). Savienojums zināms literatūrā [36]. ¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 9.84 (s, 1H), 7.44 – 7.42 (m, 1H), 7.40 – 7.37 (m, 1H), 7.30 – 7.12 (m, 1H *signāls pārklājas ar šķīdinātāja pīķi*), 6.99 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 5.21 (s, 2H), 3.95 (s, 3H), 2.36 (s, 3H).



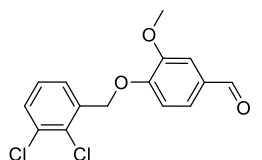
3-metoksi-4-((3-metoksibenzil)oksi)benzaldehīds (29e). Savienojumu **29e** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** savienojuma **27** (0,46 g; 3,0 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 1-(hlormetil)-3-metoksibenzolu (**28e**) (0,46 ml; 3,2 mmol; 1,1 ekviv.). (Iznākums: 0,98 g; kvantitatīvs). Savienojums zināms literatūrā [37]. ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 9.84 (s, 1H), 7.53 (dd, *J* = 8.3, 1.9 Hz, 1H), 7.42 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.34 – 7.29 (m, 1H), 7.25 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.03 – 6.99 (m, 2H), 6.93 – 6.89 (m, 1H), 5.19 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.76 (s, 3H).



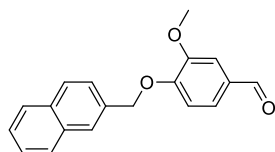
4-((3-izopropilbenzil)oksi)-3-metoksibenzaldehīds (29f). Savienojumu **29f** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** savienojuma **27** (0,53 g; 3,5 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 1-(brommetil)-3-izopropilbenzolu (**28f**) (0,78 g; 3,7 mmol; 1,1 ekviv.). (Iznākums: 0,89 g; 90%). Savienojums bez papildus attīrīšanas tiek lietots nākamajā stadijā.



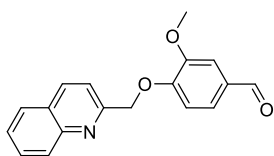
4-((4-brombenzil)oksi)-3-metoksibenzaldehīds (29g). Savienojumu **29g** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** savienojuma **27** (0,71 g; 4,7 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 1-brom-4-(brommetil)benzolu (**28g**) (1,23 g; 4,93 mmol; 1,05 ekviv.). (Iznākums: 1,51 g; kvantitatīvs). Savienojums zināms literatūrā [36]. ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 9.84 (s, 1H), 7.65 – 7.57 (m, 2H), 7.54 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 7.46 – 7.38 (m, 3H), 7.25 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 5.20 (s, 2H), 3.84 (s, 3H).



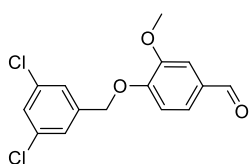
4-((2,3-dihlorbenzil)oksi)-3-metoksibenzaldehīds (29h). Savienojumu **29h** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** savienojuma **27** (0,53 g; 3,5 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 1-(brommetil)-2,3-dihlorbenzolu (**28h**) (0,88 g; 3,7 mmol; 1,1 ekviv.). (Iznākums: 1,09 g; kvantitatīvs). ¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 9.86 (s, 1H), 7.50 – 7.43 (m, 3H), 7.42 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 7.23 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 5.33 (s, 2H), 3.98 (s, 3H).



3-metoksi-4-(naftalin-2-ilmetoksi)benzaldehīds (29i). Savienojumu **29i** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** savienojuma **27** (0,20 g; 1,3 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 2-(brommetil)naftalīnu (**28i**) (0,30 g; 1,4 mmol; 1,1 ekviv.). (Iznākums: 0,38 g; kvantitatīvs). Savienojums zināms literatūrā [38]. ¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 9.84 (s, 1H), 7.90 – 7.81 (m, 4H), 7.55 (dd, *J* = 8.4, 1.8 Hz, 1H), 7.52 – 7.47 (m, 2H), 7.46 – 7.44 (m, 1H), 7.38 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 7.04 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 3.98 (s, 3H).



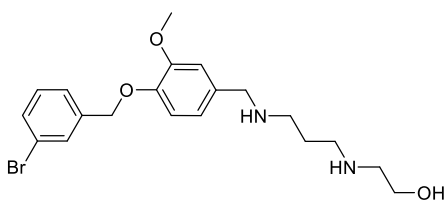
3-metoksi-4-(naftalin-2-ilmetoksi)benzaldehyds (29j). Savienojumu **29j** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** savienojuma **27** (0,23 g; 1,5 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 2-(brommetil)hinolīnu (**28j**) (0,35 g; 1,6 mmol; 1,1 ekviv.). Tehnisko produktu attīrīja uz silikagēla kolonnas, eluenta gradientā PE: EtOAc (10:1 / 10:2 / 10:3 / 10:5) (Iznākums: 0,36 g; 82%). ¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 9.83 (s, 1H), 8.20 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.85 – 7.81 (m, 1H), 7.76 (ddd, *J* = 8.5, 6.9, 1.5 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.57 (ddd, *J* = 8.2, 6.9, 1.2 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.36 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 7.06 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 5.55 (s, 2H), 4.00 (s, 3H).



4-((3,5-dihlorbenzil)oksi)-3-metoksibenzaldehīds (22k). Savienojumu **22k** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** savienojuma **27** (0,30 g; 2,0 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 1-(brommetil)-3,5-dihlorbenzolu (**28k**) (0,50 g; 2,1 mmol; 1,1 ekviv.). (Iznākums: 0,62 g; kvantitatīvs). ¹H-KMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: (ppm) 9.86 (s, 1H), 7.45 (d, *J*=1.9 Hz, 1H), 7.42 (dd, *J*=8.2, 1.9 Hz, 1H), 7.35-7.32 (m, 3H), 6.96 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 5.16 (s, 2H), 3.97 (s, 3H).

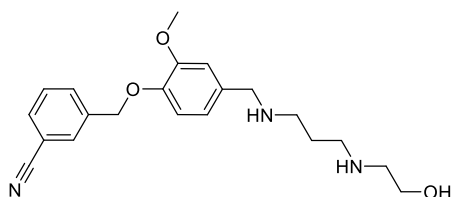
Vispārīgā metode B savienojumu 31a-l, 35a-b, 40a-d iegūšanai

2-((3-((4-((3-Brombenzil)oksi)-3-metoksibenzil)amino)propil)amino)etan-1-ols (**31a**) sintēzes apraksts ir dots kā vispārīgais piemērs.



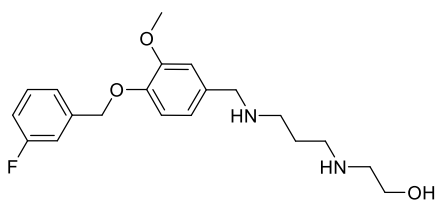
2-((3-((4-((3-Brombenzil)oksi)-3-metoksibenzil)amino)propil)amino)etan-1-ols (31a). Savienojumu **29a** (2,11 g; 6,57 mmol; 1 ekviv.) izšķīdināja abs. MeOH (10 ml), pievienoja Na₂SO₄ (1,87 g; 13,1 mmol; 2 eq.), 2-((3-aminopropil)amino)etan-1-olu (**30**) (0,85 ml; 7,23 mmol; 1,1 ekviv.) un maisīja 20 min. Pievienoja ledus CH₃COOH (0,75 ml; 13,0 mmol; 2 ekviv.) un pa porcijām 5 minūšu laikā NaBH(OAc)₃ (2,09 g; 9,86 mmol; 1,5 ekviv.). Reakcijas maisījumu turpināja maisīt 24 stundas istabas temperatūrā (LC/MS kontrole). Šķīdinātāju ietvaicēja un vairākas reizes eļļaino atlikumu pārtvaicēja ar DCM. Tehnisko produktu attīrīja uz silikagēla kolonnas, eluenta gradientā DCM: MeOH: 25% NH₄OH (30:3:0 / 30:4:2 / 30:6:3), kā rezultātā ieguva viskozu eļļu (Iznākums: 2,25 g; 81%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.65 – 7.62 (m, 1H), 7.53 – 7.50 (m, 1H), 7.45 – 7.41 (m, 1H), 7.35 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.00 – 6.95 (m, 1H), 6.92 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.79 (dd, *J* = 8.1, 1.9 Hz, 1H), 5.05 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.66 (s, 2H), 3.58 (s, 3H), 3.45 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.64 – 2.52 (m, 6H signāls pārklājas ar šķīdinātāja pīķi), 1.57 (p, *J* =

6.8 Hz, 2H). ^{13}C -KMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 149.1, 146.2, 140.3, 134.2, 130.6, 130.6, 130.2, 126.5, 121.6, 119.8, 113.7, 112.0, 69.1, 60.1, 55.5, 52.7, 51.5, 47.6, 47.0, 29.4. AIMS (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ aprēķināts $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{BrN}_2\text{O}_3$: 423,1283. Noteikts: 423,1288.



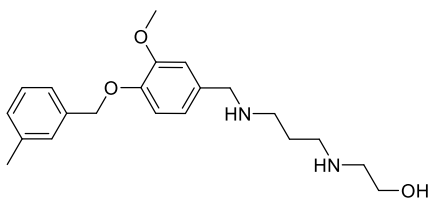
3-((4-(((3-((2-hidroksietil) amino) propil) amino) metil) -2-metoksifenoksi) metil) benzonitrils (31b).

Savienojumu **31b** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **29b** (0,27 g; 1,0 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar amīnu **30** (0,12 ml; 1,0 mmol; 1 ekviv.), iegūstot viskozu eļļu (Iznākums: 0,18 g; 49%). ^1H -KMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.89 – 7.86 (m, 1H), 7.81 – 7.76 (m, 2H), 7.60 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.99 – 6.97 (m, 1H), 6.95 – 6.92 (m, 1H), 6.81 – 6.77 (m, 1H), 5.11 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.60 (s, 2H), 3.44 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 2.61 – 2.50 (m, 6H *signāls pārklājas ar šķīdinātāja pīķi*), 1.56 (p, $J = 6.9$ Hz, 2H). ^{13}C -KMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 149.1, 146.0, 139.2, 134.5, 132.4, 131.6, 131.0, 129.7, 119.8, 118.7, 113.8, 112.1, 111.4, 69.0, 60.2, 55.5, 52.8, 51.7, 47.7, 47.0, 29.6. AIMS (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ aprēķināts $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_3$: 370,2131. Noteikts: 370,2134.



2-((3-((4-((3-fluorbenzil) oksil) -3-metoksibenzil) amino) propil)amino)etan-1-ols (31c).

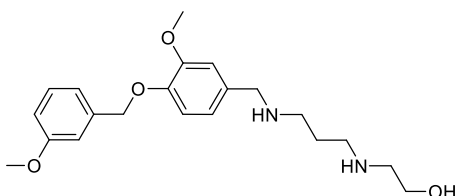
Savienojumu **31c** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **29c** (0,26 g; 1,0 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar amīnu **30** (0,12 ml; 1,0 mmol; 1 ekviv.), iegūstot viskozu eļļu (Iznākums: 0,19 g; 53%). ^1H -KMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.46 – 7.38 (m, 1H), 7.29 – 7.22 (m, 2H), 7.18 – 7.10 (m, 1H), 7.00 – 6.95 (m, 1H), 6.94 – 6.90 (m, 1H), 6.81 – 6.76 (m, 1H), 5.07 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.60 (s, 2H), 3.44 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 2.61 – 2.49 (m, 6H *signāls pārklājas ar šķīdinātāja pīķi*), 1.56 (p, $J = 6.9$ Hz, 2H). ^{13}C -KMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.2 (d, $J_{\text{CF}}=243.7$ Hz), 149.1, 146.2, 140.4, 134.3, 130.5 (d, $J_{\text{CF}}=8.3$ Hz), 123.5 (d, $J_{\text{CF}}=2.6$ Hz), 119.8, 114.5 (d, $J_{\text{CF}}=20.8$ Hz), 114.2 (d, $J_{\text{CF}}=21.9$ Hz), 113.7, 112.1, 69.2, 60.2, 55.5, 52.8, 51.7, 47.68, 47.0, 30.0. ^{19}F -KMR (376 MHz, DMSO- d_6) δ : -113.3. AIMS (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ aprēķināts $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3\text{F}$: 363,2084. Noteikts: 363,2089.



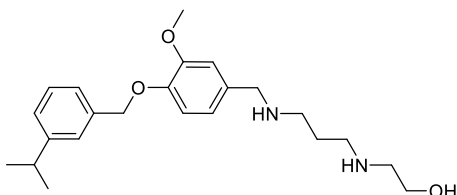
2-((3-((3-metoksi-4-((3-metilbenzil) oksil) benzil) amino) propil) amino) etan-1-ols (31d).

Savienojumu **31d** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **29d** (0,33 g; 1,3 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar amīnu **30** (0,17 ml; 1,4 mmol; 1,1 ekviv.), iegūstot viskozu eļļu (Iznākums: 0,18 g; 50%). ^1H -KMR (400 MHz, DMSO-

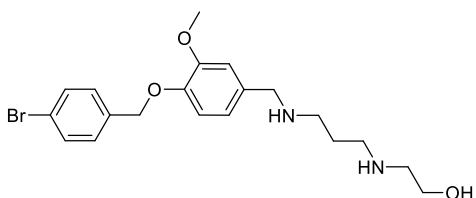
d₆) δ: 7.29 – 7.20 (m, 3H), 7.15 – 7.11 (m, 1H), 6.98 – 6.90 (m, 2H), 6.81 – 6.76 (m, 1H), 4.99 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.60 (s, 2H), 3.45 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.62 – 2.48 (m, 6H *signāls pārklājas ar šķīdinātāja pīķi*), 2.31 (s, 3H), 1.56 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H). ¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ: 149.0, 146.5, 137.5, 137.3, 134.0, 128.4, 128.3, 128.3, 124.8, 119.8, 113.4, 112.0, 70.1, 60.2, 55.5, 52.8, 51.7, 47.7, 47.0, 29.6, 21.0. AIMS (m/z): [M+H]⁺ aprēķināts C₂₁H₃₁N₂O₃: 359,2335. Noteikts: 359,2334.



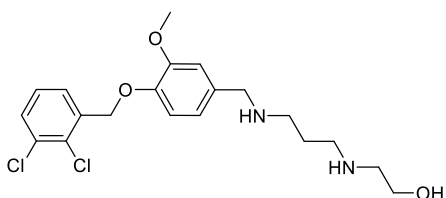
2-((3-((3-metoksi-4-((3-metoksibenzil) oksī) benzil) amino) propil) amino) etan-1-ols (31e). Savienojumu **31e** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **29e** (0,27 g; 1,0 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar amīnu **30** (0,12 ml; 1,0 mmol; 1,1 ekviv.). (Iznākums: 0,22 g; 59%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.32 – 7.26 (m, 1H), 7.03 – 6.96 (m, 3H), 6.92 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.90 – 6.86 (m, 1H), 6.82 – 6.76 (m, 1H), 5.02 (s, 2H), 3.76 (d, *J* = 5.4 Hz, 6H), 3.60 (s, 2H), 3.45 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.66 – 2.45 (m, 6H *signāls pārklājas ar šķīdinātāja pīķi*), 1.56 (p, *J* = 6.8 Hz, 2H). ¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ: 159.3, 149.1, 146.4, 139.0, 133.9, 129.5, 119.8, 119.7, 113.5, 113.2, 113.1, 112.1, 69.9, 60.1, 55.5, 55.0, 52.8, 51.6, 47.7, 47.0, 29.5. AIMS (m/z): [M+H]⁺ aprēķināts C₂₁H₃₁N₂O₄: 375,2284. Noteikts: 375,2279.



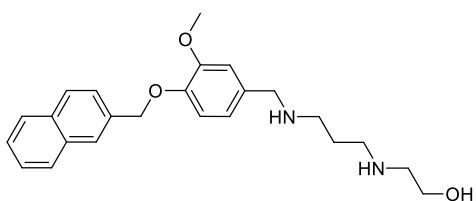
2-((3-((4-((3-izopropilbenzil) oksī)-3-metoksibenzil) amino) propil) amino) etan-1-ols (31f). Savienojumu **31f** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **29f** (0,33 g; 1,2 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar amīnu **30** (0,15 ml; 1,3 mmol; 1,1 ekviv.). (Iznākums: 0,26 g; 56%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.33 – 7.27 (m, 2H), 7.26 – 7.17 (m, 2H), 7.00 – 6.96 (m, 1H), 6.94 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.84 – 6.77 (m, 1H), 5.00 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.61 (s, 2H), 3.46 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H *signāls pārklājas ar H₂O pīķi*), 2.88 (p, *J* = 6.9 Hz, 1H), 2.67 – 2.47 (m, 6H *signāls pārklājas ar šķīdinātāja pīķi*), 1.58 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.20 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H). ¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ: 149.1, 148.5, 146.6, 137.3, 133.8, 128.4, 125.9, 125.8, 125.4, 119.9, 113.6, 112.1, 70.4, 60.0, 55.5, 52.7, 51.6, 47.6, 46.9, 33.4, 29.3, 23.9. AIMS (m/z): [M+H]⁺ aprēķināts C₂₃H₃₅N₂O₃: 387,2648. Noteikts: 387,2656.



2-((3-((4-(4-bromobenzil)oksi)-3-metoksibenzil) amino) propil) amino) etan-1-ols (31g). Savienojumu **31g** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **29g** (0,32 g; 1,0 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar amīnu **30** (0,12 ml; 1,0 mmol; 1 ekviv.). (Iznākums: 0,25 g; 59%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.60 – 7.55 (m, 2H), 7.41 – 7.36 (m, 2H), 6.97 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.80 – 6.76 (m, 1H), 5.02 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.59 (s, 2H), 3.44 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.60 – 2.50 (m, 6H *signāls pārklājas ar šķīdinātāja pīķi*), 1.55 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H). ¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ: 149.1, 146.2, 136.9, 134.3, 131.3, 129.8, 120.8, 119.7, 113.6, 112.0, 69.2, 60.2, 55.5, 52.8, 51.7, 47.7, 47.0, 29.7. AIMS (m/z): [M+H]⁺ aprēķināts C₂₀H₂₈N₂O₃Br: 423,1283. Noteikts: 423,1287.

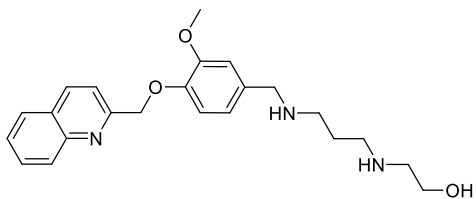


2-((3-((4-(2,3-dihlorbenzil)oksi)-3-metoksibenzil) amino) propil) amino) etan-1-ols (31h). Savienojumu **31h** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **29h** (0,31 g; 1,0 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar amīnu **30** (0,13 ml; 1,1 mmol; 1,1 ekviv.). (Iznākums: 0,28 g; 68%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.62 (dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz, 1H), 7.56 (dd, *J* = 7.7, 1.6 Hz, 1H), 7.40 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.80 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 5.13 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.60 (s, 2H), 3.44 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.60 – 2.49 (m, 6H *signāls pārklājas ar šķīdinātāja pīķi*), 1.56 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H). ¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ: 149.1, 146.0, 137.4, 134.7, 131.9, 130.3, 130.0, 128.3, 128.2, 119.9, 113.7, 112.1, 68.0, 60.2, 55.5, 52.8, 51.8, 47.8, 47.1, 29.7. AIMS (m/z): [M+H]⁺ aprēķināts C₂₀H₂₇N₂O₃Cl₂: 413,1399. Noteikts: 413,1409.



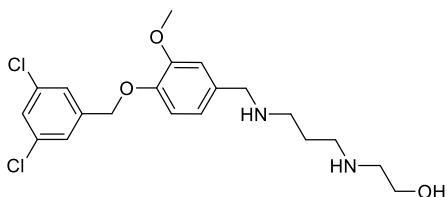
2-((3-((3-metoksi-4-(naftalin-2-ilmetoksi) benzil) amino) propil) amino) etan-1-ols (31i). Savienojumu **31i** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **29i** (0,35 g; 1,2 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar amīnu **30** (0,16 ml; 1,3 mmol; 1,1 ekviv.). (Iznākums: 0,31 g; 65%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.96 – 7.89 (m, 4H), 7.59 – 7.50 (m, 3H), 7.01 – 6.96 (m, 2H), 6.82 – 6.77 (m, 1H), 5.21 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.61 (s, 2H), 3.46 (t, *J* = 5.7 Hz, 3H), 2.65 – 2.50 (m, 6H *signāls pārklājas ar šķīdinātāja pīķi*), 1.57 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H). ¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ: 149.2, 146.5, 135.0, 134.0, 132.8, 132.6, 128.0, 127.8, 127.6, 126.3, 126.1, 125.9, 119.9, 113.8,

112.1, 70.3, 60.1, 55.5, 52.8, 51.6, 47.7, 47.0, 29.4. AIMS (m/z): [M+H]⁺ aprēķināts C₂₄H₃₁N₂O₃: 395,2335. Noteikts: 395,2343.



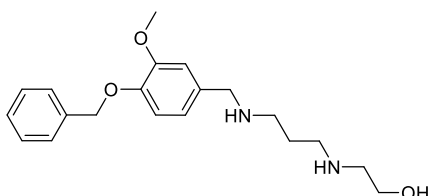
2-((3-((3-metoksi-4- (hinolin-2-ilmetoksi) benzil) amino) propil) amino) etan-1-ols (31j). Savienojumu **31j** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **29j** (0,36 g; 1,2 mmol; 1 ekviv.) reakcijā

ar amīnu **30** (0,16 ml; 1,3 mmol; 1,1 ekviv.) (Iznākums: 0,42 g; 86%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 8.40 (dd, *J* = 8.6, 0.8 Hz, 1H), 8.04 – 7.95 (m, 2H), 7.80 – 7.74 (m, 1H), 7.68 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.60 (ddd, *J* = 8.1, 6.9, 1.2 Hz, 1H), 7.02 – 6.94 (m, 2H), 6.77 (dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz, 1H), 5.31 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.59 (s, 2H), 3.45 (t, *J* = 5.7 Hz, 4H), 2.64 – 2.50 (m, 6H), 1.56 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H). ¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ: 158.0, 149.1, 147.0, 146.3, 137.0, 134.3, 129.9, 128.6, 128.0, 127.2, 126.6, 119.9, 119.6, 113.7, 112.2, 71.7, 60.0, 55.6, 52.7, 51.6, 47.6, 47.0, 29.3. AIMS (m/z): [M+H]⁺ aprēķināts C₂₃H₃₀N₃O₃: 396,2287. Noteikts: 396,2298.



2-((3-((4-((3,5-dihlorbenzil) oksī) -3-metoksibenzil) amino) propil) amino) etan-1-ols (31k). Savienojumu **31k** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **29k** (0,31 g; 1,0 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar

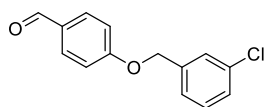
amīnu **30** (0,12 ml; 1,0 mmol; 1 ekviv.), iegūstot baltu cietu vielu (Iznākums: 0,26 g; 63%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.54 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 2.0 Hz, 2H), 6.98 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.79 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 5.07 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.59 (s, 2H), 3.43 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.59 – 2.49 (m, 6H *signāls pārklājas ar šķīdinātāja pīķi*), 1.55 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H). ¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ: 149.1, 145.8, 141.9, 134.7, 134.1, 127.3, 126.0, 119.8, 113.9, 112.0, 68.6, 60.3, 55.5, 54.9, 52.8, 51.8, 47.8, 47.1, 29.8. AIMS (m/z): [M+H]⁺ aprēķināts C₂₀H₂₇N₂O₃Cl₂: 413,1399. Noteikts: 413,1401.



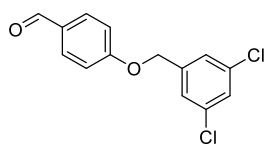
2-((3-((4-(benziloksi)-3-metoksibenzil) amino) propil) amino) etan-1-ols (31l). Savienojumu **31l** iegūst pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** 3-(benziloksi)-4-metoksibenzaldehīda (**29l**) (0,30 g; 1,2 mmol; 1 ekviv.)

reakcijā ar amīnu **30** (0,15 ml; 1,2 mmol; 1 ekviv.), iegūstot dzeltenu viskozu eļļu (Iznākums: 0,34; 79%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.46 – 7.41 (m, 2H), 7.41 – 7.35 (m, 2H), 7.35 – 7.29 (m, 1H), 6.96 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.78 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 5.04 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.60 (s, 2H), 3.44 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.59 – 2.52 (m, 6H *signāls*

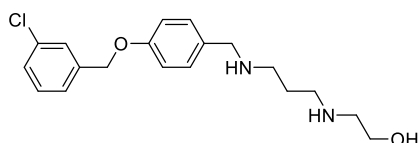
pārklājas ar šķīdinātāja pīķi), 1.56 (p, $J = 6.9$ Hz, 2H). ^{13}C -KMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 149.0, 146.4, 137.4, 134.1, 128.4, 127.8, 127.7, 119.8, 113.5, 112.0, 70.0, 60.3, 55.5, 52.8, 51.8, 47.7, 47.0, 29.8. AIMS (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ aprēķināts $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_3$: 345,2178. Noteikts: 345,2184.



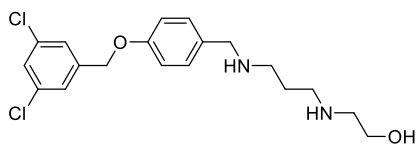
4-((3-Hlorbenzil)oksi)benzaldehīds (34a). Savienojumu **34a** ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** 4-hidroksibenzaldehīda (**32**) (0,16 g; 1,3 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 1-(bromometil)-3-hlorbenzolu (**33a**) (0,12 ml; 1,5 mmol; 1,1 ekviv.), izmantojot K_2CO_3 (0,24 g; 1,7 mmol; 1,3 ekviv.). Reakcijas maisījumu karsēja 60°C inertā atmosfērā 24 stundas. (Iznākums: 0,30 g; 94%). Savienojums zināms literatūrā [39]. ^1H -KMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.90 (s, 1H), 7.88 – 7.82 (m, 2H), 7.45 – 7.42 (m, 1H), 7.36 – 7.28 (m, 3H), 7.09 – 7.05 (m, 2H), 5.13 (s, 2H).



4-((3,5-Dihlorbenzil)oksi)benzaldehīds (34b). Savienojumu **34b** ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** 4-hidroksibenzaldehīda (**32**) (0,19 g; 1,6 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 4-(brommetil)-1,2-dihlorbenzolu (**33b**) (0,42 g; 1,8 mmol; 1,1 ekviv.), pievienojot K_2CO_3 (0,29 g; 2,1 mmol; 1,3 ekviv.). Reakcijas maisījumu karsēja 60°C inertā atmosfērā 24 stundas, iegūstot baltu cietu vielu. (Iznākums: 0,40 g; 92%). Savienojums zināms literatūrā [40]. ^1H -KMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.91 (s, 1H), 7.89 – 7.84 (m, 2H), 7.36 – 7.31 (m, 3H), 7.09 – 7.04 (m, 2H), 5.10 (s, 2H).

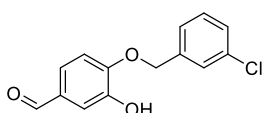


2-((3-((4-((3-Hlorbenzil) oksil) benzil) amino) propil) amino) etan-1-ols (35a). Savienojumu **35a** ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **34a** (0,27 g; 1,1 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 2-((3-aminopropil)amino)etan-1-olu (**30**) (0,21 ml; 1,8 mmol; 1,7 ekviv.) un $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (0,52 g; 2,5 mmol; 2,3 ekviv.). (Iznākums: 0,26 g; 75%). ^1H -KMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.49 (s, 1H), 7.44 – 7.35 (m, 3H), 7.23 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.96 – 6.90 (m, 2H), 5.09 (s, 2H), 3.60 (s, 2H), 3.45 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 2.61 – 2.47 (m, 6H *signāls pārklājas ar šķīdinātāja pīķi*), 1.56 (p, $J = 6.8$ Hz, 2H). ^{13}C -KMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 156.8, 139.9, 133.3, 133.1, 130.4, 129.1, 127.7, 127.2, 126.1, 114.4, 68.2, 60.1, 52.4, 51.6, 47.6, 47.0, 29.4. AIMS (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ aprēķināts $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2\text{Cl}$: 349,1683. Noteikts: 349,1684.



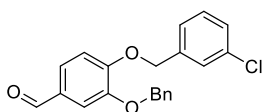
2-((3-((4-((3,4-Dihlorbenzil) oksil) benzil) amino) propil) amino) etan-1-ols (35b). Savienojumu **35b** ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **34b** (0,40 g; 1,4

mmol; 1 ekvīv.) reakcijā ar amīnu **30** (0,21 ml; 1,8 mmol; 1,3 ekvīv.) un NaBH(OAc)₃ (0,83 g; 3,9 mmol; 2,8 ekvīv.), iegūstot gaiši dzeltenu eļļu. (Iznākums: 0,25 g; 47%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.53 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.48 (d, *J* = 2.0 Hz, 2H), 7.26 – 7.20 (m, 2H), 6.96 – 6.91 (m, 2H), 5.10 (s, 2H), 3.59 (s, 2H), 3.44 (t, *J* = 5.7 Hz, 3H), 2.61 – 2.50 (m, 6H), 1.55 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H). ¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ: 156.6, 141.7, 134.1, 133.5, 129.1, 127.3, 126.0, 114.4, 67.5, 60.1, 52.4, 51.6, 47.6, 47.0, 29.5. AIMS (m/z): [M+H]⁺ aprēķināts C₁₉H₂₅N₂O₂Cl₂: 383,1293. Noteikts: 383,1299.



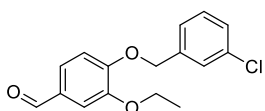
4-((3-Hlorbenzil)oksi)-3-hidroksibenzaldehīds (37). 3,4-

Dihidroksibenzaldehīda (**36**) (1,2 g; 8,3 mmol; 1 ekvīv.), KI (0,030 g; 0,20 mmol; 0,02 ekvīv.), K₂CO₃ (1,0 g; 7,5 mmol; 0,9 ekvīv.) un 1-(bromometil)-3-hlorbenzola (**33a**) (1,2 ml; 9,2 mmol; 1,1 ekvīv.) šķīdumu DMF (10 ml) karsēja 60°C inertā atmosfērā 24 stundas. Reakcijas maisījumu atšķaidīja ar H₂O (50 ml) un ekstrahēja ar EtOAc (100 ml). Ūdens slāni ekstrahēja ar EtOAc (50 ml), tumši brūnās nogulsnes nofiltrēja pie pazemināta spiediena. Organiskos slāņus apvienoja un mazgāja ar H₂O (5x20 ml) un pies. NaCl šķīdumu (25 ml), žāvēja ar b/ū Na₂SO₄. Šķīdinātāju ietvaicēja un tehnisko produktu attīrīja uz SiO₂ kolonnas, eluents PE:EtOAc (10:1 / 3:1 / 2:1), iegūstot tehnisku produktu kā brūnu kristālisku vielu maisījumu. Veica atkārtotu SiO₂ kolonnu kā eluentu izmantojot DCM, iegūstot gaiši dzeltenu kristālisku vielu (Iznākums: 0,85 g; 40%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.73 (s, 1H), 7.38 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.34 – 7.29 (m, 2H), 7.27 – 7.24 (m, 2H), 7.24 – 7.20 (m, 1H), 6.91 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 5.09 (s, 2H). ¹³C-KMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 191.1, 150.8, 146.4, 137.4, 134.9, 131.1, 130.3, 129.0, 127.9, 125.9, 124.4, 114.8, 111.7, 70.5.



3-(Benziloksi)-4-((3-hlorbenzil)oksi) benzaldehīds (39a).

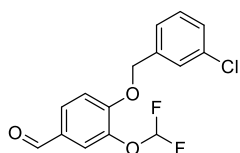
Savienojumu **39a** ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** savienojuma **37** (0,39 g; 1,5 mmol; 1 ekvīv.) reakcijā ar benzilbromīdu (**38a**) (0,20 ml; 1,7 mmol; 1,1 ekvīv.). (Iznākums: 0,34g; 70%). ¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 9.83 (s, 1H), 7.52 – 7.46 (m, 4H), 7.45 – 7.37 (m, 3H), 7.36 – 7.29 (m, 4H), 7.00 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 5.23 – 5.19 (m, 4H).



4-((3-hlorbenzil)oksi)-3-etoksibenzaldehīds (39b). Savienojumu **39b**

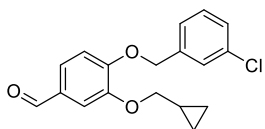
ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** savienojuma **37** (0,39 g; 1,5 mmol; 1 ekvīv.) reakcijā ar jodetānu (**38b**) (0,24 ml; 3,0 mmol; 2 ekvīv.), karsējot 24 stundas 65°C. Tehnisko produktu attīrīja uz SiO₂ kolonnas, eluents PE:EtOAc (10:1

/ 10:2). (Iznākums: 0,40 g; 93%). ¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 9.84 (s, 1H), 7.47 – 7.45 (m, 1H), 7.43 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.39 (dd, *J* = 8.1, 1.9 Hz, 1H), 7.33 – 7.29 (m, 3H), 6.97 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 5.21 (d, *J* = 0.7 Hz, 2H), 4.19 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.50 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H).



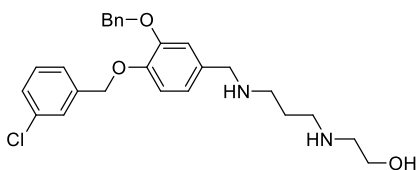
4-((3-hlorbenzil) oksī)-3-(difluormetoksi) benzaldehīds (39c).

Savienojumu **39c** ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** savienojuma **37** (0,26 g; 1,0 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar nātrija 2-hlor-2,2-difluoracetātu (**38c**) (0,23 g; 1,5 mmol; 1,5 ekviv.), izmantojot K₂CO₃ (0,42 g; 3,0 mmol; 3 ekviv.). Reakcijas maisījumu karsēja 5 stundas 90°C. Tehnisko produktu attīrīja uz SiO₂ kolonnas, eluents PE:EtOAc (10:1 / 10:3). (Iznākums: 0,15 g; 48%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 9.88 (s, 1H), 7.86 (dd, *J* = 8.5, 2.0 Hz, 1H), 7.71 – 7.69 (m, 1H), 7.57 – 7.54 (m, 1H), 7.47 – 7.43 (m, 4H), 7.23 (t, *J*_{HF} = 73.4 Hz, 1H) 5.32 (s, 2H).



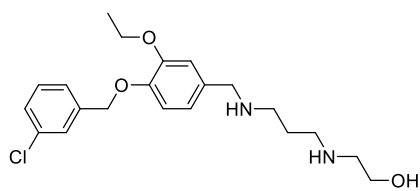
4-((3-hlorbenzil)oksi)-3-(ciklopropilmetoksi) benzaldehīds (39d).

Savienojumu **39d** ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes A** 3-(ciklopropilmetoksi)-4-hidroksibenzaldehīda (**38d**) (0,33 g; 1,7 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 1-(brommetil)-3-hlorbenzolu (**33a**) (0,25 ml; 1,9 mmol; 1,1 ekviv.), karsējot 24 stundas 60°C. Tehnisko produktu attīrīja uz SiO₂ kolonnas, eluents PE:EtOAc (10:1 / 10:2). (Iznākums: 0,50 g; 92%). ¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 9.83 (s, 1H), 7.49 – 7.47 (m, 1H), 7.42 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.39 (dd, *J* = 8.1, 1.9 Hz, 1H), 7.33 – 7.29 (m, 3H), 6.97 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 5.22 (s, 2H), 3.95 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.40 – 1.32 (m, 1H), 0.71 – 0.64 (m, 2H), 0.42 – 0.37 (m, 2H).



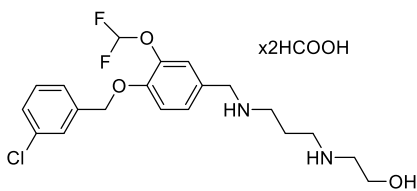
2-((3-((3-(Benziloksi)-4-((3 hlorbenzil) oksī) benzil) amino) propil) amino) etan-1-ols (40a).

Savienojumu **40a** ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **39a** (0,34 g; 0,96 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 2-((3-aminopropil)amino)etan-1-olu (**30**) (0,12 ml; 1,1 mmol; 1,1 ekviv.). (Iznākums: 0,26 g; 60%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.54 – 7.50 (m, 1H), 7.49 – 7.45 (m, 2H), 7.42 – 7.29 (m, 6H), 7.09 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.82 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 5.11 (s, 4H), 3.59 (s, 2H), 3.45 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.61 – 2.45 (m, 6H *signāls pārklājas ar šķīdinātāja pīķi*), 1.55 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H). ¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ: 148.2, 146.6, 140.2, 137.4, 134.4, 133.1, 130.2, 128.4, 127.7, 127.6, 127.5, 127.0, 125.8, 120.4, 114.4, 114.2, 70.0, 69.3, 60.2, 52.7, 51.7, 47.7, 46.9, 29.6. AIMS (m/z): [M+H]⁺ aprēķināts C₂₆H₃₂N₂O₃Cl: 455,2101. Noteikts: 455,2110.



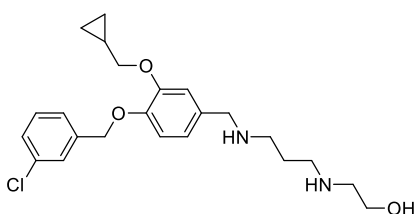
2-((3-((4-((3-hlorbenzil)oksi)-3-etoksibenzil) amino) propil) amino) etan-1-ols (40b). Savienojumu **40b** ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **39b** (0,36 g; 1,2 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar amīnu **30** (0,16 ml; 1,4

mmol; 1,1 ekviv.). (Iznākums: 0,40 g; 82%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.53 – 7.50 (m, 1H), 7.43 – 7.34 (m, 3H), 6.97 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.78 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 5.08 (s, 2H), 4.02 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.59 (s, 2H), 3.44 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.62 – 2.47 (m, 6H *signāls pārklājas ar šķīdinātāja pīķi*), 1.56 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.33 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H). ¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ: 148.4, 146.4, 140.2, 134.5, 133.1, 130.3, 127.6, 127.1, 125.9, 119.9, 114.5, 113.5, 69.4, 63.8, 60.1, 52.7, 51.7, 47.7, 47.0, 29.6, 14.8. AIMS (m/z): [M+H]⁺ aprēķināts C₂₁H₃₀N₂O₃Cl: 393,1945. Noteikts: 393,1941.



2-((3-((4-((3-hlorbenzil)oksi)-3-(difluormetoksi) benzil) amino) propil) amino) etan-1-ols (40c). Savienojumu **40c** ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **39c** (0,23 g; 0,74 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar amīnu **30** (0,09 ml;

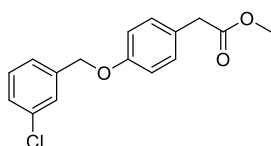
0,81 mmol; 1,1 ekviv.). Tehnisko produktu attīra ar apgrieztās fāzes hromatogrāfiju, lineārā gradientā 0% līdz 100% MeCN ar 0,1% HCOOH ūdens šķīdumu. (Iznākums: 0,21 g; 69%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 8.37 (s, 2H), 7.54 – 7.52 (m, 1H), 7.45 – 7.37 (m, 3H), 7.30 – 7.28 (m, 1H), 7.25 (dd, *J* = 8.5, 2.0 Hz, 1H), 7.19 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.10 (, *J*_{HF} = 73.6, 1H), 5.19 (s, 2H), 3.78 (s, 2H), 3.62 (t, *J* = 4.4 Hz, 2H), 2.95 – 2.89 (m, 4H), 2.70 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 1.83 (p, *J* = 7.0 Hz, 2H). ¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ: 165.9, 148.8, 139.6 (t, *J*_{CF} = 3.4 Hz), 139.3, 133.2, 130.7, 130.4, 127.9, 127.2, 127.0, 126.0, 122.1, 117.0 (t, *J*_{CF} = 258.2 Hz), 114.4, 69.1, 56.8, 50.6, 49.2, 45.4, 45.1, 24.4. ¹⁹F-KMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ: -80.6, -80.8. AIMS (m/z): [M+H]⁺ aprēķināts C₂₀H₂₆N₂O₃F₂Cl: 415,1600. Noteikts: 415,1605.



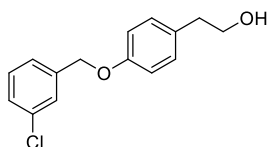
2-((3-((4-((3-hlorbenzil)oksi) -3- (ciklopropilmetoksi) benzil) amino) propil) amino) etan-1-ols (40d). Savienojumu **40d** ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes B** savienojuma **39d** (0,50 g; 1,6 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar

amīnu **30** (0,20 ml; 1,7 mmol; 1,1 ekviv.). (Iznākums: 0,51 g; 78%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.55 – 7.52 (m, 1H), 7.42 – 7.34 (m, 3H), 6.97 – 6.90 (m, 2H), 6.78 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 5.09 (s, 2H), 3.82 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.58 (s, 2H), 3.44 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.62 – 2.50 (m, 6H), 1.55 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.29 – 1.17 (m, 1H), 0.58 – 0.54 (m, 2H), 0.36 – 0.29

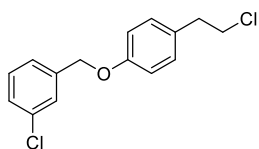
(m, 2H). ^{13}C -KMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 148.6, 146.5, 140.2, 134.5, 133.1, 130.2, 127.6, 127.1, 125.9, 120.1, 114.6, 113.9, 72.9, 69.5, 60.1, 52.7, 51.6, 47.7, 47.0, 29.5, 10.3, 3.1. AIMS (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ aprēķināts $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}$: 419,2101. Noteikts: 419,2105.



Metil-2-(4-((3-hlorbenzil)oksi)fenil)acetāts (42). Savienojumu **42** ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes A**, savienojuma **41** (5,00 g; 30,0 mmol; 1 ekviv.), K_2CO_3 (4,70 g; 34,0 mmol; 1,3 ekviv.) šķīdumu DMF iepriekš atdzesējot 0°C ledus vannā. Maisījumam pievienoja 1-(brommetil)-3-hlorbenzolu (**33a**) (4,5 ml; 34 mmol; 1,3 ekviv.) un karsēja 3 stundas 60°C . Tehnisko produktu attīra uz SiO_2 kolonnas, eluents PE:EtOAc (10:1 / 10:1,25). (Iznākums 7,15 g; 82%). ^1H -KMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.40 – 7.38 (m, 1H), 7.27 – 7.25 (m, 2H *signāls pārklājas ar šķīdinātāja pīķi*), 7.19 – 7.14 (m, 2H), 6.90 – 6.85 (m, 2H), 4.98 (s, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.53 (s, 2H).

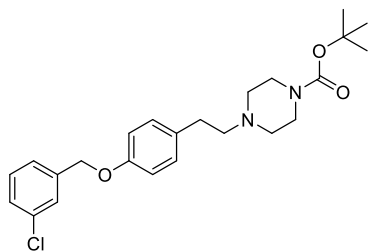


2-(4-((3-Hlorbenzil)oksi)fenil)etan-1-ols (43). Savienojuma **42** (1,00 g; 3,44 mmol; 1 ekviv.) šķīdumu THF (10 ml) atdzesēja 0°C ledus vannā un pa porcijām 5 minūšu laikā pievienoja LiAlH_4 (0,26g; 6,9 mmol; 2 ekviv.) un maisīja istabas temperatūrā 24 stundas. Reakcijas maisījumu atdzesēja 0°C ledus vannā un pievienoja H_2O , neitralizējot reakciju, un turpināja maisīt istabas temperatūrā 30 minūtes. Ekstrahēja ar EtOAc (2x30 ml), mazgāja ar H_2O (20 ml) un pies. NaCl šķīdumu (20 ml), žāvēja ar b/ū Na_2SO_4 , iegūstot baltu cietu vielu. (Iznākums 0,88 g; 94%). Savienojums zināms literatūrā [41]. ^1H -KMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.45 – 7.42 (m, 1H), 7.32 – 7.28 (m, 3H), 7.17 – 7.13 (m, 2H), 6.93 – 6.89 (m, 2H), 5.02 (s, 2H), 3.83 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.82 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H).



1-Hlor-3-((4-(2-hloretil)fenoksi)metil)benzols (44). Savienojuma **43** (1,73 g; 6,58 mmol; 1 ekviv.) šķīdumu DCM (25 ml) atdzesēja 0°C ledus vannā, pievienoja pa pilienam 2 minūšu laikā SOCl_2 (1,2 ml; 15,8 mmol; 2,4 ekviv.) un DMF (0,15 ml; 1,9 mmol; 0,3 ekviv.). Reakcijas maisījumu 4 stundas karsēja 45°C , atdzesēja un šķīdinātāju ietvaicēja. Atlikumu izšķīdināja EtOAc (80 ml) un mazgāja ar H_2O (5x25 ml) un pies. NaCl šķīdumu (20 ml), žāvēja ar b/ū Na_2SO_4 . Tehnisko produktu attīrīja uz SiO_2 kolonnas, eluents PE: EtOAc (20:1 / 20: 1,5), iegūstot savienojumu **32** kā bezkrāsainu šķīdru vielu. (Iznākums: 1,53 g, 83%). ^1H -KMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.34 – 7.30 (m, 1H),

7.22 – 7.17 (m, 3H), 7.06 – 6.99 (m, 2H), 6.84 – 6.77 (m, 2H), 4.90 (s, 2H), 3.56 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.90 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H).

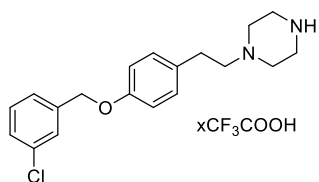


Terc-butil-4-(4-((3-hlorbenzil) oksī) fenetil) piperazīna-1-karboksilāts (46). Savienojuma **44** (0,30 g; 1,1 mmol; 1 ekviv.), K_2CO_3 (0,29 g; 2,1 mmol; 2 ekviv.) un NaI (0,16 g; 1,1 mmol; 1 ekviv.) šķīdumam DMF (5 ml) pievienoja *terc*-butilpiperazīna-1-karboksilātu (**45**) (0,27 g; 1,3 mmol; 1,2 ekviv.).

Reakcijas maisījumu karsēja 5 stundas $80^\circ C$ un atdzesēja līdz istabas temperatūrai. Atšķaidīja ar 20 ml H_2O , ekstrahēja ar EtOAc (3x35 ml) un mazgāja ar H_2O (5x20 ml) un pies. NaCl šķīdumu (20 ml), žāvēja ar b/ū Na_2SO_4 . Tehnisko produktu attīrīja uz SiO_2 kolonnas, eluents DCM:MeOH (100:1,5 / 100:2), iegūstot dzeltenu eļļu. (Iznākums: 0,40 g; 64%). 1H -KMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.45 – 7.39 (m, 1H), 7.31 – 7.23 (m, 3H), 7.15 – 7.07 (m, 2H), 6.92 – 6.84 (m, 2H), 5.00 (s, 2H), 3.49 – 3.42 (m, 4H), 2.78 – 2.70 (m, 2H), 2.59 – 2.52 (m, 2H), 2.48 – 2.40 (m, 4H), 1.46 (s, 9H).

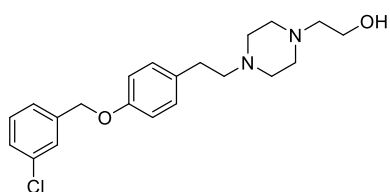
Vispārīgā metode C savienojumu 47, 57a-b iegūšanai

1-(4-((3-Hlorbenzil)oksi)fenetil)piperazīna (**47**) sintēzes apraksts ir dots kā vispārīgs piemērs.



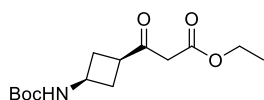
1-(4-((3-Hlorbenzil)oksi)fenetil)piperazīns (47). Savienojuma **46** (0,40 g; 0,93 mmol; 1 ekviv.) šķīdumu DCM (4 ml) atdzesēja $0^\circ C$ ledus vannā, pievienoja TFA (2 ml) un maisīja istabas temperatūrā 5 stundas. Reakcijas maisījumu koncentrēja vakuumā un attīrīja ar

apgrieztās fāzes hromatogrāfiju lineārā gradientā 0% līdz 60% MeCN ar 0,1% TFA ūdens šķīdumu, iegūstot produktu **47** kā trifluoroacetātu. (Iznākums: 0,30 g; 72%). 1H -KMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.51 – 7.49 (m, 1H), 7.45 – 7.37 (m, 3H), 7.21 – 7.16 (m, 2H), 6.99 – 6.95 (m, 2H), 5.11 (s, 2H), 3.40-2.7 (m, 12H, *signāls pārklājas ar ūdens pīķi*).



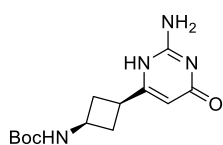
2-(4-(4-((3-Hlorbenzil) oksī) fenetil) piperazīn-1-il) etan-1-ols (49). Savienojumam **47** (0,23 g; 0,52 mmol; 1 ekviv.), K_2CO_3 (0,20 g; 1,5 mmol; 2,8 ekviv.), NaI (0,05 g; 0,3 mmol; 0,6 ekviv.) šķīdumam MeCN (7 ml) pievienoja 2-brometan-1-olu (**48**) (0,04 ml; 0,6 mmol; 1,2 ekviv.) un karsēja 48 stundas $80^\circ C$. Tehnisko produktu attīrīja uz SiO_2 kolonnas, eluents DCM:MeOH (40:1 / 40:2 / 40:4 / 40:6 / 40:8) un atkārtoti ar

apgrieztās fāzes hromatogrāfiju, lineārā gradientā 0% līdz 80% MeCN ar 0,1% TEA ūdens šķīdumu. (Iznākums: 0,13 g; 66%). ¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.46 – 7.40 (m, 1H), 7.33 – 7.26 (m, 3H), 7.15 – 7.07 (m, 2H), 6.91 – 6.85 (m, 2H), 5.00 (s, 2H), 3.62 (t, *J* = 5.0 Hz, 2H), 2.79 – 2.69 (m, 3H), 2.65 – 2.50 (m, 11H). ¹³C-KMR (101 MHz, CDCl₃) δ: 157.0, 139.4, 134.6, 133.0, 129.9, 129.8, 128.1, 127.5, 125.4, 114.9, 69.3, 60.8, 59.4, 57.9, 53.3, 53.0, 32.8. AIMS (m/z): [M+H]⁺ aprēķināts C₂₁H₂₈N₂O₂Cl: 375,1839. Noteikts: 375,1850.



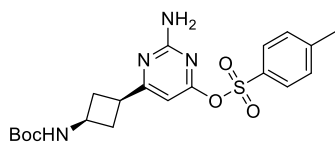
Etil-3-(cis-3-((*tert*-butoksikarbonil) amino) ciklobutil)-3-oksopropanoāts (52).

Cis-3-((*tert*-butoksikarbonil) amino) ciklobutānkarbonskābi (**51**) (0,65 g; 3,0 mmol; 1 ekvīv.) izšķīdināja 15 ml DCM, pievienoja meldrumskābi (**50**) (0,48 g; 3,3 mmol; 1,1 ekvīv.), DMAP (0,55 g; 4,5 mmol; 1,5 ekvīv.) un atdzesēja 0°C ledus vannā. Pievienoja EDC·HCl (0,81 g; 4,2 mmol; 1,4 ekvīv.) un maisīja inertā atmosfērā 24 stundas istabas temperatūrā. Reakcijas maisījumu atšķaidīja 80 ml DCM, mazgāja ar 5% KHSO₄ (4x30 ml), H₂O (2x20 ml) līdz pH ~7 un pies. NaCl šķīdumu (20 ml), žāvēja ar b/ū Na₂SO₄. Ekstrakciju kontrolēja ar PSH (DCM:EtOH 10:0,5). Šķīdinātāju ietvaicēja, iegūto starpproduktu izšķīdināja abs. EtOH (10 ml) un vārīja 95 °C inertā atmosfērā 5 stundas. Tehnisko produktu attīrīja uz SiO₂ kolonnas, eluents DCM: EtOH (100:1,25 / 100:1,5) un ar apgrieztās fāzes hromatogrāfiju (MeCN:H₂O), iegūstot dzeltenu viskozu vielu (Iznākums: 0,35 g; 41%). ¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 4.79 (s, 1H), 4.21 – 4.02 (m, 3H), 3.38 (s, 2H), 3.01 (p, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.57 – 2.46 (m, 2H), 2.09 – 1.97 (m, 2H), 1.40 (s, 9H), 1.28 – 1.21 (m, 3H).



***Terc* – butil - (cis -3- (2 – amino – 6 – okso -3,6- dihidropirimidīn -4-il) ciklobutil) karbamāts (53).**

Iegūto savienojumu **52** (0,35 g; 1,2 mmol; 1 ekvīv.), guanidīna karbonātu (0,24 g; 2,7 mmol; 2,2 ekvīv.) izšķīdināja abs. EtOH (1,2 ml) un vārīja 80 °C inertā atmosfērā 24 stundas. Reakcijas maisījumu atdzesēja, no kura izkrita gaiši dzeltenas nogulsnes, kuras nofiltrēja pazeminātā spiedienā. Ieguva baltu cietu vielu (Iznākums 0,19 g; 56%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO) δ: 7.07 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.55 (s, 2H), 5.37 (s, 1H), 3.91 – 3.78 (m, 1H), 2.76 – 2.64 (m, 1H), 2.40 – 2.30 (m, 2H), 1.98 – 1.86 (m, 2H), 1.36 (s, 9H). ¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ: 170.8, 164.0, 156.0, 154.5, 97.8, 77.6, 41.2, 35.3, 33.4, 28.3.

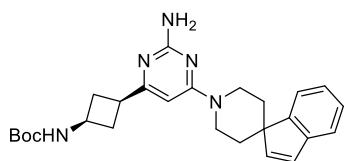


2-Amino-6-(*cis*-3-((*tert*-butoksikarbonil) amino) ciklobutil)-1,4-dihidropirimidīn-4-il-4-metilbenzolsulfonāts (53). Iegūtā tehniskā savienojuma **53** (0,96 g; 3,4 mmol; 1 ekviv.), TsCl (1,31

g; 6,9 mmol; 2 ekviv.) šķīdumam DCM (30 ml) pievienoja Et₃N (1,4 ml; 10,3 mmol; 3 ekviv.), DMAP (0,08 g; 0,7 mmol; 0,2 ekviv.) un maisīja istabas temperatūrā 48 stundas. Reakcijas maisījumu ietvaicēja un atlikumu suspendēja EtOAc (50 ml), mazgāja ar H₂O (2x20 ml) un pies. NaCl šķīdumu (20 ml), žāvēja ar b/ū Na₂SO₄. Tehnisko produktu attīrīja uz SiO₂ kolonnas, eluents DCM: EtOH (100:1,5) (Iznākums 0,58 g; 39 %). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.99 – 7.91 (m, 2H), 7.51 – 7.43 (m, 2H), 7.11 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.00 – 6.90 (m, 2H), 6.14 (s, 1H), 3.96 – 3.82 (m, 1H), 3.00 – 2.88 (m, 1H), 2.47 – 2.38 (m, 2H), 2.42 (s, 3H) 2.04 – 1.92 (m, 2H), 1.36 (s, 9H).

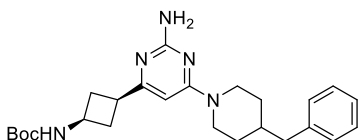
Vispārīgā metode D savienojumu 56a,b iegūšanai

Savienojuma **56a** sintēzes apraksts ir dots kā paraugs.



Terc-butil- (*cis*-3- (2-amino-6- (spiro[indēna-1,4'-piperidīn]-1'-il) pirimidīn-4-il) ciklobutil) karbamāts (54). Savienojumu **54** (0,41 g; 0,95 mmol; 1 ekviv.) izšķīdina MeCN (10 ml),

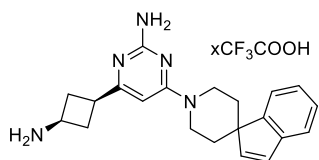
pievieno spiro[indēna-1,4'-piperidīna] hidrochlorīdu **55a** (0,32 g; 1,4 mmol; 1,5 ekviv.), Et₃N (0,48 ml; 3,4 mmol; 3,6 ekviv.) un karsēja 80 °C inertā atmosfērā 24 stundas. No reakcijas maisījuma izkrita nogulsnes, kuras nofiltrēja pazeminātā spiedienā. Nogulsnes izšķīdināja EtOAc (30 ml) un mazgāja ar H₂O (2x20 ml), pies. NaCl šķīdumu (15 ml) un žāvēja ar b/ū Na₂SO₄, iegūstot baltu cietu vielu (Iznākums 0,30 g; 70%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.42 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.35 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.26 – 7.20 (m, 1H), 7.19 – 7.07 (m, 3H), 6.86 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 6.11 – 5.94 (m, 3H), 4.44 (d, *J* = 13.3 Hz, 2H), 3.95 – 3.81 (m, 1H), 3.30 – 3.22 (m, 2H), 2.84 (tt, *J* = 10.0, 7.7 Hz, 1H), 2.48 – 2.36 (m, 2H), 2.12 – 1.92 (m, 4H), 1.38 (s, 9H), 1.27 (d, *J* = 13.2 Hz, 2H).



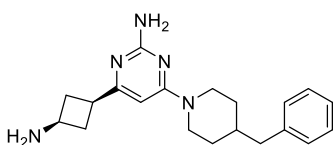
Terc -butil- ((1s,3s)-3-(2-amino-6- (4-benzilpiperidīn-1-il) pirimidīn-4-il) ciklobutil) karbamāts (56b). Savienojumu **56b** ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes D** savienojuma **54** (0,22

g; 0,51 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar 4-benzilpiperidīnu **55b** (0,13 ml; 0,76 mmol; 1,5 ekviv.). Tehnisko reakcijas produktu attīrīja uz SiO₂ kolonnas, eluents DCM:MeOH:Et₃N (100:1:1). Atkārtoti tiek veikta attīrīšana uz SiO₂ kolonnas ar eluentu CHCl₃:MeOH (100:0/100:1).

(Iznākums: 0,89 g; 40%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 8.31 (s, 1H), 7.31 – 7.25 (m, 2H), 7.21 – 7.15 (m, 3H), 7.11 – 7.04 (m, 1H), 5.91 (s, 2H), 4.30 (d, *J* = 13.2 Hz, 2H), 3.87 (p, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.37 – 3.26 (m, 3H *signāls pārklājas ar H₂O*), 2.83 – 2.65 (m, 3H), 2.42 – 2.34 (m, 2H), 2.05 – 1.95 (m, 2H), 1.63 – 1.55 (m, 2H), 1.37 (s, 9H), 1.12 – 1.02 (m, 2H).



4-(cis-3-aminociklobutil)-6-(spiro[indēna-1,4'-piperidīn]-1'-il)pirimidīn-2-amīna trifluoretiķskābes sāls (57a). Savienojumu **57a** ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes C**, savienojumam **56a** (0,30 g; 0,67 mmol; 1 ekviv.) pievienojot TFA (2,0 ml; 27 mmol; 40 ekviv.) un maisot istabas temperatūrā inertā atmosfērā 3 stundas. Reakcijas maisījumu ietvaicēja un veic apgrieztās fāzes hromatogrāfiju (MeCN: 0,1% TFA), iegūstot baltu cietu vielu (Iznākums: 230 mg; 50%). ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 13.03 (s, 1H), 8.41 – 8.25 (m, 3H), 8.11 (s, 2H), 7.43 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.35 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.27 – 7.13 (m, 3H), 6.87 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 6.50 (s, 1H), 4.95 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 4.40 (d, *J* = 13.9 Hz, 1H), 3.87 – 3.73 (m, 1H), 3.60 (t, *J* = 12.6 Hz, 1H), 3.39 (t, *J* = 12.5 Hz, 1H), 3.34 – 3.20 (m, 1H), 2.72 – 2.59 (m, 2H), 2.43 – 2.31 (m, 2H), 2.14 – 1.96 (m, 2H), 1.34 (d, *J* = 13.2 Hz, 2H). ¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ: 161.4, 159.4 (q, *J*_{CF}=34.2 Hz, CF₃COOH), 158.1, 155.4, 151.1, 142.6, 141.4, 130.2, 127.1, 125.5, 121.9, 121.4, 116.6 (q, *J*_{CF}=295.1 Hz, CF₃COOH), 91.5, 52.1, 44.3, 42.4, 40.6, 33.4, 32.9, 32.3, 32.2, 29.7. ¹⁹F-KMR (376 MHz, DMSO) δ: -74.4. AIMS (m/z): [M+H]⁺ aprēķināts C₂₁H₂₆N₅: 348,2203. Noteikts: 348,2188.



4-((1s,3s)-3-aminociklobutil)-6-(4-benzilpiperidīn-1-il)pirimidīn-2-amīns (57b). Savienojumu **57b** ieguva pēc iepriekš aprakstītās **metodes C** no savienojuma **56b** (0,32 g; 0,73 mmol; 1 ekviv.) reakcijā ar TFA (2,5 ml; 29,2 mmol; 40 ekviv.). Tehnisko produktu attīrīja divreiz uz apgrieztās fāzes (MeCN: 0,1% TFA) un atkārtoti (MeCN:0,1% Et₃N), iegūstot savienojumu **57b** kā cietu vielu. (Iznākums: 40 mg; 16%) ¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.31 – 7.24 (m, 2H), 7.21 – 7.14 (m, 3H), 5.85 (s, 3H), 4.29 (d, *J* = 13.1 Hz, 2H), 3.21 – 3.12 (m, 3H *signāls pārklājas ar H₂O*), 2.68 (t, *J* = 11.6 Hz, 3H), 2.41 – 2.30 (m, 2H), 1.86 – 1.69 (m, 3H), 1.62 – 1.53 (m, 2H), 1.05 (qd, *J* = 12.4, 4.1 Hz, 2H). ¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ: 171.3, 163.2, 163.0, 162.7, 140.2, 129.0, 128.2, 125.9, 89.6, 44.3, 43.6, 42.3, 37.8, 33.6, 31.3. AIMS (m/z): [M+H]⁺ aprēķināts C₂₀H₂₈N₅: 338,2345. Noteikts: 338,2348.

SECINĀJUMI

1. Sākotnēji identificētā trāpījuma savienojuma **MZ-1054** analogus, ar mainīgiem benzilgrupas aizvietotājiem (modifikācija A), var iegūt 2 stadiju sintēzē, izmantojot viegli pieejamas un lētas izejvielas: vanilīnu un benzilbromīda vai –hlorīda atvasinājumus.
2. Modificējot **MZ-1054** centrālā benzola gredzena 2-pozīciju (modifikācija B), analogus iespējams iegūt 3 stadiju sintēzē no 3,4-dihidroksibenzaldehīda. Sintēzes grūtākais posms izrādījās alkilēšanas reakcijas *meta* blakusprodukta **37a** atdalīšana.
3. Savienojuma **MZ-1054** diamīna linkera pozīcijas analogu **49** (modifikācija C) ieguva 6 stadijās ar labiem iznākumiem visos sintēzes posmos.
4. Atslēgas stadija, izstrādājot jaunās sintēzes shēmu efluksa sūkņa AcrA **57a** un **57b** inhibitoriem, bija spirociklisko amīnu **55a** un **55b** pievienošana pirimidona ciklam **53**, izmantojot tozila aizejošo grupu.
5. Funkcionālo grupu lipofilitāte ietekmē sintezēto **MZ-1054** analogu inhibitoro aktivitāti. Lipofīlākas grupas benzilgrupas aizvietotājā uzrāda mazāku antibakteriālo aktivitāti (MIC) un labāku piperacilīna iedarbību (MSC).
6. Pieaugot halogēna elektronegativitātei **MZ-1054** analogu virknē Br- < Cl- < F-, samazinās savienojumu sinerģiskās īpašības.
7. Pētījuma gaitā izdevās iegūt savienojumus, kas uzrāda labāku sinerģismu par sākotnējo trāpījuma savienojumu **MZ-1054**. Augstāko aktivitāti uzrādīja 3,5-dihlorbenzilaizvietotais savienojums **31k**, kuram piemīt 10x attiecība starp MSC 12,5 μM un MIC 125 μM vērtībām.

LITERATŪRAS SARAKSTS

1. AlMatar, M.; Albarri, O.; Makky, E. A. u.c. Efflux pump inhibitors: new updates. *Pharmacol Rep.* **2021**, *73*, 1-16. DOI: 10.1007/s43440-020-00160-9.
2. Antibiotic resistance, The National Health Service. <https://www.nhs.uk/conditions/antibiotics/antibiotic-antimicrobial-resistance/> (skatīts 6.12.2021.).
3. Lomovskaya, O.; Warren, M. S.; Lee, A.; Galazzo, J.; Fronko, R.; Lee, M. A. Y.; Lee, V. J. Identification and characterization of inhibitors of multidrug resistance efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*: novel agents for combination therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, *45*(1), 105-116. DOI: 10.1128/AAC.45.1.105-116.2001.
4. Amaral, L.; Martins, A.; Spengler, G. & Molnar, J. Efflux pumps of Gram-negative bacteria: what they do, how they do it, with what and how to deal with them. *Front. pharmacol.* **2014**, *4*, 168. DOI: 10.3389/fphar.2013.00168.
5. Haynes, K. M.; Abdali, N.; Jhavar, V.; Zgurskaya, H. I.; Parks, J. M.; Green, A. T. & Walker, J. K. Identification and structure–activity relationships of novel compounds that potentiate the activities of antibiotics in *Escherichia coli*. *J. Med. Chem.* **2017**, *60*(14), 6205-6219. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b00453.
6. Bohnert, J. A.; Schuster, S.; Kern, W. V.; Karcz, T.; Olejarz, A.; Kaczor, A. & Kieć-Kononowicz, K. Novel piperazine arylideneimidazolones inhibit the AcrAB-TolC pump in *Escherichia coli* and simultaneously act as fluorescent membrane probes in a combined real-time influx and efflux assay. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2016**, *60*(4), 1974-1983. DOI: 10.1128/AAC.01995-15.
7. Machado, D.; Fernandes, L.; Costa, S. S.; Cannalire, R.; Manfroni, G.; Tabarrini, O. & Viveiros, M. Mode of action of the 2-phenylquinoline efflux inhibitor PQQ4R against *Escherichia coli*. *PeerJ* **2017**, *5*, e3168. DOI: 10.7717/peerj.3168.
8. Bohnert, J. A.; Schuster, S. & Kern, W. V. Pimozide inhibits the AcrAB-TolC efflux pump in *Escherichia coli*. *Open Microbiol. J.* **2013**, *7*: 83–86.
9. Antibiotiku lietošana un antibakteriālā rezistence, Slimību profilakses un kontroles centrs. <https://www.spkc.gov.lv/lv/antibiotiku-lietosana-un-antimikrobiāla-rezistence> (skatīts 6.12.2021.).
10. Lamut, A.; Peterlin Mašič, L.; Kikelj, D. & Tomašič, T. Efflux pump inhibitors of clinically relevant multidrug resistant bacteria. *Medicinal Research Reviews.* **2019**, *39*(6), 2460-2504. DOI: 10.1002/med.21591.

11. Alav, I.; Sutton, J. M.; & Rahman, K. M. Role of bacterial efflux pumps in biofilm formation. *J. Antimicrob. Chemother.* **2018**, 73(8), 2003-2020. DOI: 10.1093/jac/dky042.
12. Resistance mechanisms, Reactgroup. <https://www.reactgroup.org/toolbox/understand/antibiotic-resistance/resistance-mechanisms-in-bacteria/> (skatīts 6.12.2021.).
13. Webber, M. A. & Piddock, L. J. V. The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, 51(1), 9-11. DOI: 10.1093/jac/dkg050.
14. Li, X. Z.; Plésiat, P. & Nikaido, H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* **2015**, 28(2), 337-418. DOI: 10.1128/CMR.00117-14.
15. Blair, J. M.; Webber, M. A.; Baylay, A. J.; Ogbolu, D. O. & Piddock, L. J. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat. Rev. Microbiol.* **2015**, 13(1), 42-51. DOI: 10.1038/nrmicro3380.
16. Blanco, P.; Hernando-Amado, S.; Reales-Calderon, J. A.; Corona, F.; Lira, F.; Alcalde-Rico, M. & Martinez, J. L. Bacterial multidrug efflux pumps: much more than antibiotic resistance determinants. *Microorganisms* **2016**, 4(1), 14. DOI: 10.3390/microorganisms4010014.
17. Chetri, S.; Bhowmik, D.; Paul, D.; Pandey, P.; Chanda, D. D.; Chakravarty, A. & Bhattacharjee, A. AcrAB-TolC efflux pump system plays a role in carbapenem non-susceptibility in Escherichia coli. *BMC microbiology* **2019**, 19(1), 1-7. DOI: 10.1186/s12866-019-1589-1.
18. Chowdhury, N.; Suhani, S.; Purkaystha, A.; Begum, M. K.; Raihan, T.; Alam, M. J. & Azad, A. K. Identification of AcrAB-TolC efflux pump genes and detection of mutation in efflux repressor AcrR from omeprazole responsive multidrug-resistant Escherichia coli isolates causing urinary tract infections. *Microbiology Insights* **2019**, 12. DOI: 10.1177/1178636119889629.
19. Blair, J. M. & Piddock, L. J. Structure, function and inhibition of RND efflux pumps in Gram-negative bacteria: an update. *Curr. Opin. Microbiol.* **2009**, 12(5), 512-519. DOI: 10.1016/j.mib.2009.07.003.
20. K. Bhardwaj, A. & Mohanty, P. Bacterial efflux pumps involved in multidrug resistance and their inhibitors: Rejuvenating the antimicrobial chemotherapy. *Recent Pat. Antiinfect Drug Discov.* **2012**, 7(1), 73-89. DOI: 10.2174/157489112799829710.
21. Sharma, A.; Gupta, V. K. & Pathania, R. Efflux pump inhibitors for bacterial pathogens: From bench to bedside. *Indian J. Med. Res.* **2019**, 149(2), 129. DOI: 10.4103/ijmr.IJMR_2079_17.

22. Green, A. T.; Moniruzzaman, M.; Cooper, C. J.; Walker, J. K.; Smith, J. C.; Parks, J. M. & Zgurskaya, H. I. Discovery of multidrug efflux pump inhibitors with a novel chemical scaffold. *Biochim. Biophys. Acta. Gen. Subj.* **2020**, 1864(6). DOI: 10.1016/j.bbagen.2020.129546.
23. Stavri, M.; Piddock, L. J. & Gibbons, S. Bacterial efflux pump inhibitors from natural sources. *J. Antimicrob. Chemother.* **2007**, 59(6), 1247-1260. DOI: 10.1093/jac/dkl460.
24. Lee, M. D.; Galazzo, J. L.; Staley, A. L.; Lee, J. C.; Warren, M. S.; Fuernkranz, H. & Miller, G. H. Microbial fermentation-derived inhibitors of efflux-pump-mediated drug resistance. *IL farmaco* **2001**, 56(1-2), 81-85. DOI: 10.1016/S0014-827X(01)01002-3.
25. Sabatini, S.; Gosetto, F.; Iraci, N.; Barreca, M. L.; Massari, S.; Sancineto, L. & Cecchetti, V. Re-evolution of the 2-phenylquinolines: ligand-based design, synthesis, and biological evaluation of a potent new class of *Staphylococcus aureus* NorA efflux pump inhibitors to combat antimicrobial resistance. *J. Med. Chem.* **2013**, 56(12), 4975-4989. DOI: 10.1021/jm400262a.
26. Sabatini, S.; Gosetto, F.; Manfroni, G.; Tabarrini, O.; Kaatz, G. W.; Patel, D. & Cecchetti, V. Evolution from a natural flavones nucleus to obtain 2-(4-Propoxyphenyl) quinoline derivatives as potent inhibitors of the *S. aureus* NorA efflux pump. *J. Med. Chem.* **2011**, 54(16), 5722-5736. DOI: 10.1021/jm200370y.
27. Pedersen, S. K.; Gudmundsson, H. G.; Nielsen, D. U.; Donslund, B. S.; Hammershøj, H. u.c. Main element chemistry enables gas-cylinder-free hydroformylations. *Nat. Catal.* **2020**, 3(10), 843-850. DOI: 10.1038/s41929-020-00510-z.
28. Manuskripts sagatavošanā, rezultāti iegūti RESET-ME projektā.
29. Bucevičius, J.; Lukinavičius, G. & Gerasimaitė, R. The use of Hoechst dyes for DNA staining and beyond. *Chemosensors* **2018**, 6(2), 18. DOI: 10.3390/chemosensors6020018.
30. Atkins, P. & de Paula, J. Data Section. *Physical Chemistry*, Eight Edition; W. H. Freeman and Company: 41 Madison Avenue New York, NY 10010, 2006, 1012. lpp.
31. Lipinski, C. A. Lead-and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug discovery today: Technologies* **2004**, 1(4), 337-341. DOI: 10.1016/j.ddtec.2004.11.007.
32. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W. & Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, 23(1-3), 3-25. DOI: 10.1016/S0169-409X(96)00423-1.
33. Landry, M. L. & Crawford, J. J. Log D contributions of substituents commonly used in medicinal chemistry. *ACS Med. Chem. Lett.* **2019**, 11(1), 72-76. DOI: 10.1021/acsmchemlett.9b0048.

34. Chamakuri, K.; Muppavarapu, S. M. & Yellu, N. R. Synthesis, characterization, and pharmacological evaluation of some novel hydrazone derivatives derived from 3-((4-formyl-2-methoxyphenoxy) methyl) benzonitrile. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **2016**, 7(4), 1633.
35. Sathyanarayana, R.; Poojary, B.; Srinivasa, S. M.; Merugumolu, V. K.; Chandrashekarappa, R. B. & Rangappa, S. In vitro, in vivo and in silico-driven identification of novel benzimidazole derivatives as anticancer and anti-inflammatory agents. *J. Iran. Chem. Soc.* **2021**, 1-17. DOI: 10.1007/s13738-021-02381-y.
36. Zhang, J.; Zhao, L.; Zhu, C.; Wu, Z.; Zhang, G.; Gan, X. & Song, B. Facile synthesis of novel vanillin derivatives incorporating a bis (2-hydroxyethyl) dithioacetal moiety as antiviral agents. *J. Agric. Food Chem.* **2017**, 65(23), 4582-4588. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b01035.
37. Liu, D.; Zhang, J.; Zhao, L.; He, W.; Liu, Z.; Gan, X. & Song, B. First discovery of novel pyrido [1, 2-a] pyrimidinone mesoionic compounds as antibacterial agents. *J. Agric. Food Chem.* **2019**, 67(43), 11860-11866. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b03606
38. Williams, S. J.; Stapleton, D.; Zammit, S.; Kelly, D. J.; Gilbert, R. E.; Krum, H. Preparation of cinnamoyl anthranilates and analogs thereof with antifibrotic activity. WO2008003141, 2008.
39. Tawari, N. R.; Bag, S.; Raju, A.; Lele, A. C.; Bairwa, R.; Ray, M. K. & Degani, M. S. Rational drug design, synthesis and biological evaluation of dihydrofolate reductase inhibitors as antituberculosis agents. *Future Med. Chem.* **2015**, 7(8), 979-988. DOI: 10.4155/fmc.15.48.
40. Kim, R. M.; Kahne, D. E.; Chapman, Kevin T. Preparation of glycopeptides as antibacterial agents. WO2000069893, 2000.
41. Renaut, P.; Bellamy, F.; Boucher, T. Preparation of benzenealkanamines and analogs as monoamine oxidase inhibitors. FR2645019, 1990.
42. Eiropas Komisija, Nodokļu politika un muitas savienība, H/P frāzes Veselības aizsardzība un darba drošība: https://ec.europa.eu/taxation_customs/dds2/SAMANCTA/LV/Safety/HP_LV.htm (skatīts 20.05.2022.).

PIELIKUMI

Bakalaura darbs “Jaunu AcrAB-TolC efluksa sūkņa inhibitoru sintēze” izstrādās Latvijas Organiskās sintēzes institūtā.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti.

Autors: _____
(personiskais paraksts)

Laura Pauniņa
(paraksta atšifrējums)

Rekomendēju/nerekomendēju darba aizstāvēšanai

Darba vadītājs Dr. sci. nat. Jānis Veliks: _____
(personiskais paraksts) (datums)

Recenzents, Prof., Dr. chem. Edgars Sūna: _____
(personiskais paraksts) (datums)

Darbs iesniegts Ķīmijas fakultātē: _____ (datums)

Dekāna pilnvarotā persona, metodiķe: _____ Ilze Gaile
(personiskais paraksts)

Darbs aizstāvēts bakalaura gala pārbaudījuma komisijas sēdē:

_____ protokols Nr. _____
(datums) (protokola Nr.)

Komisijas sekretāre, lektore: _____
(personiskais paraksts) (paraksta atšifrējums)

Izmantoto vielu saraksts

Vielas nosaukums, formula	H/P frāzes
1-(Brommetil)-3-brombenzols (C ₇ H ₆ Br ₂)	H314, P260, P264, P280, P301+P330+P331, P302+P361+P354, P304+P340, P305+P354+P338, P316, P321, P363, P405, P501
3-(Hlormetil)benzonitrils (C ₈ H ₆ ClN)	H302, H315, H319, P264, P264+P265, P270, P280, P301+P317, P302+P352, P305+P351+P338, P321, P330, P332+P317, P337+P317, P362+P364, P501
1-(Brommetil)-3-fluorbenzols (C ₇ H ₆ BrF)	H314, H335, P260, P261, P264, P271, P280, P301+P330+P331, P302+P361+P354, P304+P340, P305+P354+P338, P316, P319, P321, P363, P403+P233, P405, P501
1-(Hlormetil)-3-metilbenzols (C ₈ H ₉ Cl)	H302, H314, H315, H319, H335, P260, P261, P264, P264+P265, P270, P271, P280, P301+P317, P301+P330+P331, P302+P352, P302+P361+P354, P304+P340, P305+P351+P338, P305+P354+P338, P316, P319, P321, P330, P332+P317, P337+P317, P362+P364, P363, P403+P233, P405, P501
1-(Hlormetil)-3-metoksibenzols (C ₈ H ₉ ClO)	H314, P260, P264, P280, P301+P330+P331, P302+P361+P354, P304+P340, P305+P354+P338, P316, P321, P363, P405, P501
1-(Brommetil)-3-izopropilbenzols (C ₁₀ H ₁₃ Br)	H302, H314, H335, P260, P261, P264, P270, P271, P280, P301+P317, P301+P330+P331, P302+P361+P354, P304+P340, P305+P354+P338, P316, P319, P321, P330, P363, P403+P233, P405, P501
1-Brom-4-(brommetil)benzols (C ₇ H ₆ Br ₂)	H314, H317, H334, P260, P261, P264, P272, P280, P284, P301+P330+P331, P302+P352, P302+P361+P354, P304+P340, P305+P354+P338, P316, P321, P333+P313, P342+P316, P362+P364, P363, P405, P501
1-(Brommetil)-2,3-dihlorbenzols (C ₇ H ₅ BrCl ₂)	H290, H314, H318, P234, P260, P264, P264+P265, P280, P301+P330+P331, P302+P361+P354, P304+P340, P305+P354+P338, P316, P317, P321, P363, P390, P405, P406, P501
2-(Brommetil)naftalīns (C ₁₁ H ₉ Br)	H314, H317, P260, P261, P264, P272, P280, P301+P330+P331, P302+P352, P302+P361+P354,

	P304+P340, P305+P354+P338, P316, P321, P333+P313, P362+P364, P363, P405, P501
2-(Brommetil)hinolīns (C ₁₀ H ₈ BrN)	H302, H318, P264, P264+P265, P270, P280, P301+P317, P305+P354+P338, P317, P330, P501
1-(Brommetil)-3,5-dihlorbenzols (C ₇ H ₅ BrCl ₂)	H301, H311, H314, H331, P260, P261, P264, P270, P271, P280, P301+P316, P301+P330+P331, P302+P352, P302+P361+P354, P304+P340, P305+P354+P338, P316, P321, P330, P361+P364, P363, P403+P233, P405, P501
4-Hidroksi-3-metoksibenzaldehīds (C ₈ H ₈ O ₃)	H317, H319, H302, H411, P261, P264+P265, P272, P280, P302+P352, P305+P351+P338, P321, P333+P313, P337+P317, P362+P364, P501
2-((3-Aminopropil)amino)etan-1-ols (C ₅ H ₁₄ N ₂ O)	H314, P260, P264, P280, P301+P330+P331, P302+P361+P354, P304+P340, P305+P354+P338, P316, P321, P363, P405, P501
3,4-Dihidroksibenzaldehīds (C ₇ H ₆ O ₃)	H315, H319, H335, P261, P264, P264+P265, P271, P280, P302+P352, P304+P340, P305+P351+P338, P319, P321, P332+P317, P337+P317, P362+P364, P403+P233, P405, P501
1-(Brommetil)-3-hlorbenzols (C ₇ H ₆ BrCl)	H314, P260, P264, P280, P301+P330+P331, P302+P361+P354, P304+P340, P305+P354+P338, P316, P321, P363, P405, P501
(Brommetil)benzols (C ₇ H ₇ Br)	H315, H319, H335, P261, P264, P264+P265, P271, P280, P302+P352, P304+P340, P305+P351+P338, P319, P321, P332+P317, P337+P317, P362+P364, P403+P233, P405, P501
Jodētāns (C ₂ H ₅ I)	H226, H302, H315, H317, H319, H332, H334, H335, P210, P233, P240, P241, P242, P243, P261, P264, P264+P265, P270, P271, P272, P280, P284, P301+P317, P302+P352, P303+P361+P353, P304+P340, P305+P351+P338, P317, P319, P321, P330, P332+P317, P333+P313, P337+P317, P342+P316, P362+P364, P370+P378, P403+P233, P403+P235, P405, P501
Nātrija 2-hlor-2,2-difluoracetāts (C ₂ ClF ₂ NaO ₂)	H315, H319, H335, P261, P264, P271, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338
3-(Ciklopropilmetoksi)-4-hidroksibenzaldehīds (C ₁₁ H ₁₂ O ₃)	H302, H315, H319, P261, P305+P351+P338
4-Hidroksibenzaldehīds (C ₇ H ₆ O ₂)	H315, H319, H335, P261, P305+P351+P338
Metil-2-(4-hidroksifenil)acetāts (C ₉ H ₁₀ O ₃)	H315, H319, H335, P261, P264, P264+P265, P271, P280, P302+P352, P304+P340, P305+P351+P338, P319, P321, P332+P317, P337+P317, P362+P364, P403+P233, P405, P501

Terc-butilpiperazīna-1-karboksilāts (C ₉ H ₁₈ N ₂ O ₂)	H314, H315, H319, H335, P260, P261, P264, P264+P265, P271, P280, P301+P330+P331, P302+P352, P302+P361+P354, P304+P340, P305+P351+P338, P305+P354+P338, P316, P319, P321, P332+P317, P337+P317, P362+P364, P363, P403+P233, P405, P501
2-Brometan-1-ols (C ₂ H ₅ BrO)	H301, H311, H314, H331, P260, P261, P264, P270, P271, P280, P301+P316, P301+P330+P331, P302+P352, P302+P361+P354, P304+P340, P305+P354+P338, P316, P321, P330, P361+P364, P363, P403+P233, P405, P501
2,2-Dimetil-1,3-dioksān-4,6-dions (C ₆ H ₈ O ₄)	H315, H319, H335, H400, H411, P261, P264, P264+P265, P271, P273, P280, P302+P352, P304+P340, P305+P351+P338, P319, P321, P332+P317, P337+P317, P362+P364, P391, P403+P233, P405, P501
(1s,3s)-3-((Terc-butoksikarbonil)amino)ciklobutān-1-karbonskābe (C ₁₀ H ₁₇ NO ₄)	H302, H315, H319, H332, H335, P261, P264, P264+P265, P271, P280, P302+P352, P304+P340, P305+P351+P338, P319, P321, P332+P317, P337+P317, P362+P364, P403+P233, P405, P501
Spiro[indēna-1,4'-piperidīna] hidrohlorīds (C ₁₃ H ₁₆ ClN)	H302+H312+H332, H319, H335, P261, P264, P270, P271, P280, P301+P312+P330, P302+P352+P312, P304+P340+P312, P305+P351+P338, P337+P313, P363, P403+P233, P405, P501
4-Benzilpiperidīns (C ₁₂ H ₁₇ N)	H315, H319, H335, P261, P264, P264+P265, P271, P280, P302+P352, P304+P340, P305+P351+P338, P319, P321, P332+P317, P337+P317, P362+P364, P403+P233, P405, P501
1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimīda hidrohlorīds (C ₈ H ₁₇ N ₃ ·HCl)	H315, H318, H335, P261, P264, P271, P280, P302+P352, P304+P340+P312, P305+P351+P338+P310
Kālija karbonāts (K ₂ CO ₃)	H315, H319, H335, P261, P280, P302+P352, P305+P351+P338, P321, P403+P233, P501
N,N-Dimetilformamīds (DMF)	H226, H312 + H332, H319, H360D, P210, P280, P303 + P361 + P353, P304 + P340 + P312, P305 + P351 + P338, P308 + P313
Etilacetāts (C ₄ H ₈ O ₂)	H225, H319, H336, P210, P233, P240, P241, P242, P305 + P351 + P338
Petrolēteris (C ₆ H ₁₄)	H224, H304, H315, H336, H340, H350, P210, P233, P301 + P310, P303 + P361 + P353, P331, P403 + P233
Metanols (CH ₃ OH)	H225, H301, H311, H331, H370, P210, P233, P240, P241, P242, P243, P260, P261, P264, P270, P271, P280, P301+P316, P302+P352, P303+P361+P353, P304+P340, P308+P316, P316, P321, P330, P361+P364, P370+P378, P403+P233, P403+P235, P405, P501

Etanols (C_2H_5OH)	H225, H319, P210, P337+P313, P370+P378, P403+P235, P501
Nātrija triacetoksiboorhidrīds ($NaBH(OAc)_3$)	H228 - H260 - H302 - H318 - H360FD, P210, P231 + P232, P280, P301 + P312, P305 + P351 + P338, P308 + P313
Etiķskābe (CH_3COOH)	H226, H314, P210, P280, P301 + P330 + P331, P303 + P361 + P353, P305 + P351 + P338 + P310
Metilēnchlorīds (CH_2Cl_2)	H315, H319, H336, H351, P202, P261, P264, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P308 + P313
Amonija hidroksīds (NH_4OH)	H314, H335, H410, P261, P271, P273, P280, P303 + P361 + P353, P305 + P351 + P338
Litija alumīnija hidrīds ($LiAlH_4$)	H260, H314, P223, P231 + P232, P280, P305 + P351 + P338, P310, P370 + P378, P422
4-Dimetilaminopiridīns ($C_7H_{10}N_2$)	H301, H310, H315, H319, P280, P302+P352, P305+P351+P338, P310, P405
Guanidīna karbonāts ($C_3H_{12}N_6O_3$)	H302, H315, H319, H335, P261, P264, P270, P271, P280, P301 + P312, P302 + P352, P304 + P340, P305 + P351 + P338, P312, P321, P330, P332 + P313, P337 + P313, P362, P403 + P233, P405, P501
4-Toluolsulfonilchlorīds ($C_7H_7ClO_2S$)	H290, H315, H317, H318, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338 + P310
Trietilamīns ($C_6H_{15}N$)	H225, H302, H311, H312, H314, H318, H331, H332, H335, P210, P233, P240, P241, P242, P243, P260, P261, P264, P264+P265, P270, P271, P280, P301+P317, P301+P330+P331, P302+P352, P302+P361+P354, P303+P361+P353, P304+P340, P305+P354+P338, P316, P317, P319, P321, P330, P361+P364, P362+P364, P363, P370+P378, P403+P233, P403+P235, P405, P501
Acetonitrils (CH_3CN)	H225, H302+H312+H332, H319, P210, P280, P305+P351+P338, P403+P235
Trifluoretiķskābe (CF_3COOH)	H290, H314, H332, H412, P260, P280, P303+P361+P353, P304+P340, P305+P351+P338, P312
Tionilchlorīds ($SOCl_2$)	H314, H318, H301, H330, H370, P261, P280, P305 + P351 + P338, P310
Nātrija jodīds (NaI)	H315, H319, H372, H400, P260, P264, P273, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P314
Kālija jodīds (KI)	H372, P270

H/P frāžu atšifrējums [42]

H224	Īpaši viegli uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.
H225	Viegli uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.
H226	Uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.
H228	Uzliesmojoša cieta viela.
H260	Nonākot saskarē ar ūdeni, izdala uzliesmojošas gāzes, kas var spontāni aizdegties.
H290	Var kodīgi iedarboties uz metāliem.
H301	Toksisks, ja norij.
H302	Kaitīgs, ja norij.
H304	Var izraisīt nāvi, ja norij vai iekļūst elpceļos.
H310	Nonākot saskarē ar ādu, iestājas nāve.
H311	Toksisks, ja nonāk saskarē ar ādu.
H312	Kaitīgs, ja nonāk saskarē ar ādu.
H314	Izraisa smagus ādas apdegumus un acu bojājumus.
H315	Kairina ādu.
H317	Var izraisīt alerģisku ādas reakciju.
H318	Izraisa nopietnus acu bojājumus.
H319	Izraisa nopietnu acu kairinājumu.
H330	Ieelpojot, iestājas nāve.
H331	Toksisks ieelpojot.
H332	Kaitīgs ieelpojot.
H334	Ja ieelpo, var izraisīt alerģiju vai astmas simptomus, vai apgrūtināt elpošanu.
H335	Var izraisīt elpceļu kairinājumu.
H336	Var izraisīt miegainību vai reiboņus.
H340	Var izraisīt ģenētiskus bojājumus <norādīt iedarbības ceļu, ja ir nepārprotami pierādīts, ka citi iedarbības ceļi nerada bīstamību>.
H350	Var izraisīt vēzi <norādīt iedarbības ceļu, ja ir nepārprotami pierādīts, ka citi iedarbības ceļi nerada bīstamību>.
H351	Ir aizdomas, ka var izraisīt vēzi <norādīt iedarbības ceļu, ja ir nepārprotami pierādīts, ka citi iedarbības ceļi nerada bīstamību>.
H360	Var kaitēt auglībai vai nedzimušajam bērnam <norādīt īpašo ietekmi, ja tā ir zināma> <norādīt iedarbības ceļu, ja ir nepārprotami pierādīts, ka citi iedarbības ceļi nerada bīstamību>.
H370	Rada orgānu bojājumus <vai norādīt visus skartos orgānus, ja tie ir zināmi> <norādīt iedarbības ceļu, ja ir nepārprotami pierādīts, ka citi iedarbības ceļi nerada bīstamību>.

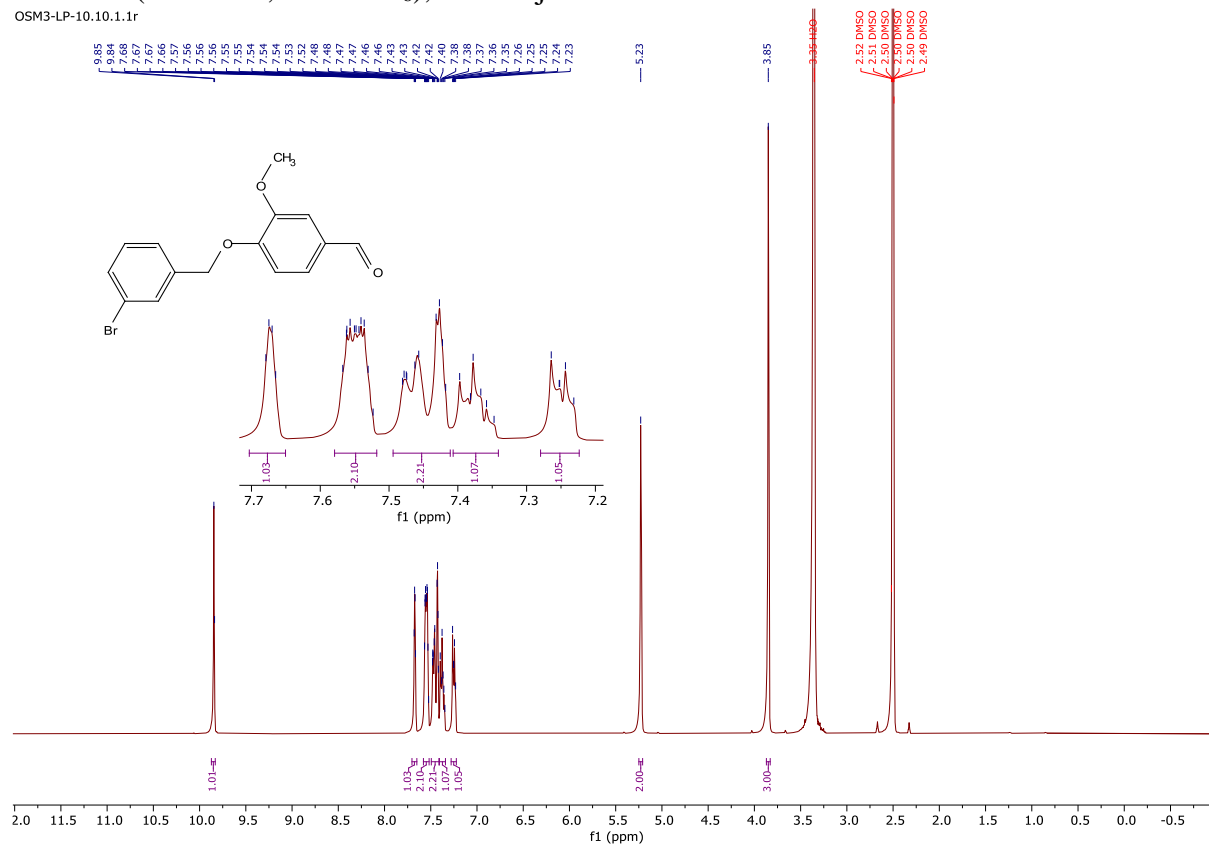
H372	Izraisa orgānu bojājumus <vai norādīt visus skartos orgānus, ja tie ir zināmi> ilgstošas vai atkārtotas iedarbības rezultātā <norādīt iedarbības ceļu, ja ir nepārprotami pierādīts, ka citi iedarbības ceļi nerada bīstamību>.
H400	Ļoti toksisks ūdens organismiem.
H410	Ļoti toksisks ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.
H411	Toksisks ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.
H412	Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.
P202	Neizmantot pirms nav izlasīti un saprasti visi apzīmējumi.
P210	Sargāt no karstuma, karstām virsmām, dzirkstelēm, atklātas uguns un citiem aizdegšanās avotiem. Nesmēķēt.
P223	Nepieļaut saskari ar ūdeni.
P231	Saturu izmantot un glabāt tikai inertas gāzes vidē/...
P232	Aizsargāt no mitruma.
P233	Tvertni stingri noslēgt.
P234	Turēt tikai oriģināliepakojumā.
P235	Turēt vēsumā.
P240	Tvertnes un saņēmējiekārtas iezemēt un savienot.
P241	Izmantot sprādziendrošas [elektriskās/ventilācijas/apgaismošanas/...] iekārtas.
P242	Izmantot instrumentus, kas nerada dzirksteles.
P243	Nodrošināties pret statiskās enerģijas izlādi.
P260	Neieelpot putekļus/tvaikus/gāzi/dūmus/izgarojumus/smidzinājumu.
P261	Izvairīties ieelpot putekļus/tvaikus/gāzi/dūmus/izgarojumus/smidzinājumu.
P264	Pēc izmantošanas ... kārtīgi nomazgāt.
P270	Neēst, nedzert un nesmēķēt produkta izmantošanas laikā.
P271	Izmantot tikai ārā vai labi vēdināmās telpās.
P272	Piesārņoto darba apģērbu neiznest ārpus darba telpām.
P273	Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē.
P280	Izmantot aizsargcimdus/aizsargdrēbes/acu aizsargus/sejas aizsargus.
P284	[Neatbilstošas ventilācijas gadījumā] lietot elpošanas orgānu aizsargierīces.
P231 + P232	Saturu izmantot un glabāt tikai inertas gāzes vidē/.... Aizsargāt no mitruma.
P301	NORĪŠANAS GADĪJUMĀ:
P302	SASKARĒ AR ĀDU:
P303	SASKARĒ AR ĀDU (vai matiem):
P304	IEELPOJOT:
P305	IEKĻŪSTOT ACĪS:

P308	Ja saskaras vai saistīts ar:
P310	Nekavējoties sazinieties ar SAINDĒŠANĀS INFORMĀCIJAS CENTRU/ārstu/....
P311	Sazinieties ar SAINDĒŠANĀS INFORMĀCIJAS CENTRU/ārstu/....
P312	Sazinieties ar SAINDĒŠANĀS INFORMĀCIJAS CENTRU/ārstu/..., ja jums ir slikta pašsajūta.
P313	Lūdziet palīdzību mediķiem.
P314	Lūdziet palīdzību mediķiem, ja jums ir slikta pašsajūta.
P321	Īpaša medicīniskā palīdzība (skat. ... uz šīs etiķetes).
P330	Izskalot muti.
P331	NEIZRAISĪT vemšanu.
P332	Ja rodas ādas iekaisums:
P333	Ja rodas ādas iekaisums vai izsitumi:
P334	Iegremdēt vēsā ūdenī [vai ietīt mitros apsējos].
P337	Ja acu iekaisums nepāriet:
P338	Izņemiet kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un to ir viegli izdarīt. Turpiniet skalot.
P340	Nogādāt cietušo svaigā gaisā un nodrošināt netraucētu elpošanu.
P342	Ja rodas elpošanas traucējumu simptomi:
P351	Uzmanīgi skalot ar ūdeni vairākas minūtes.
P352	Nomazgāt ar lielu ūdens/.. daudzumu.
P353	Noskalot ādu ar ūdeni [vai iet dušā].
P360	Nekavējoties noskalot piesārņoto apģērbu un skarto ādu ar lielu daudzumu ūdens pirms apģērba novilkšanas.
P361	Novilkt nekavējoties visu piesārņoto apģērbu.
P362	Novilkt piesārņoto apģērbu.
P363	Pirms atkārtotas lietošanas piesārņoto apģērbu izmazgāt.
P370	Ugunsgrēka gadījumā:
P375	Dzēst ugunsgrēku no attāluma eksplozijas riska dēļ.
P376	Apstādināt noplūdi, ja to var izdarīt drošā veidā.
P378	Dzēšanai izmantojiet
P380	Evakuēt zonu.
P390	Uzsūkt izšļakstījumus, lai novērstu materiālus zaudējumus.
P391	Savākt izšļakstīto šķidrumu.
P301 + P330 + P331	NORIŠANAS GADĪJUMĀ: izskalot muti. NEIZRAISĪT vemšanu.
P302 + P352	SASKARĒ AR ĀDU: nomazgāt ar lielu ūdens/.. daudzumu.

P303 + P361 + P353	SASKARĒ AR ĀDU (vai matiem): Nekavējoties novilkt visu piesārņoto apģērbu. Noskalot ādu ar ūdeni [vai iet dušā].
P304 + P340	IEELPOŠANAS GADĪJUMĀ: nogādāt cietušo svaigā gaisā un nodrošināt netraucētu elpošanu.
P305 + P351 + P338	SASKARĒ AR ACĪM: Uzmanīgi izskalot ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemt kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un ja to var vienkārši izdarīt. Turpināt skalot.
P308 + P313	JA saskaras vai saistīts ar: sazinieties ar SAINDĒŠANĀS INFORMĀCIJAS CENTRU/ārstu/...
P332 + P313	Ja rodas ādas iekaisums: lūdziet mediķu palīdzību.
P333 + P313	Ja rodas ādas iekaisums vai izsitumi: lūdziet mediķu palīdzību.
P337 + P313	Ja acu iekaisums nepāriet: lūdziet mediķu palīdzību.
P370 + P378	Ugunsgrēka gadījumā: dzēšanai izmantojiet ...
P405	Glabāt slēgtā veidā.
P406	Glabāt korozijizturīgā/... tvertnē ar iekšējo pretkorozijas izolāciju.
P403 + P233	Glabāt labi vēdināmās telpās. Tvertni turēt cieši noslēgtu.
P403 + P235	Glabāt labi vēdināmās telpās. Turēt vēsumā.
P501	Atbrīvoties no satura/tvertnes...

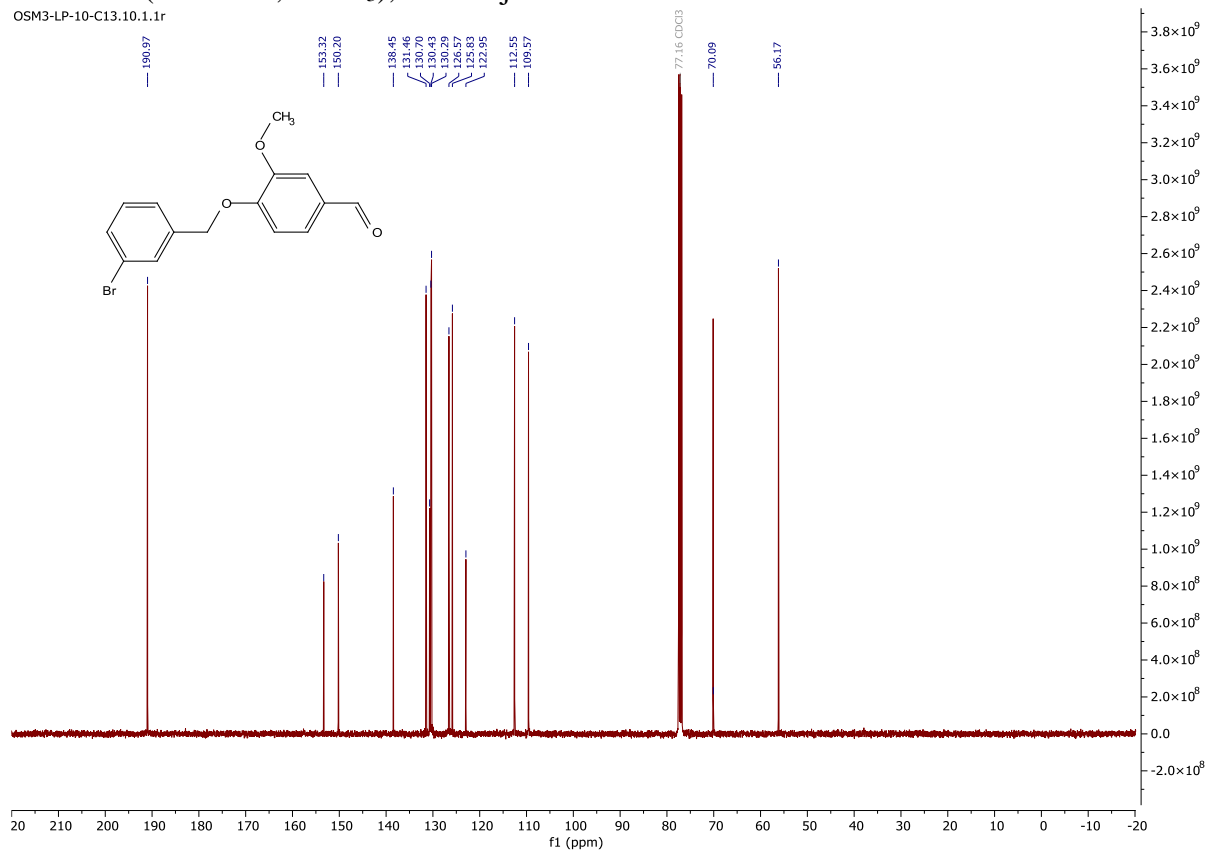
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums **29a**

OSM3-LP-10.10.1.1.r



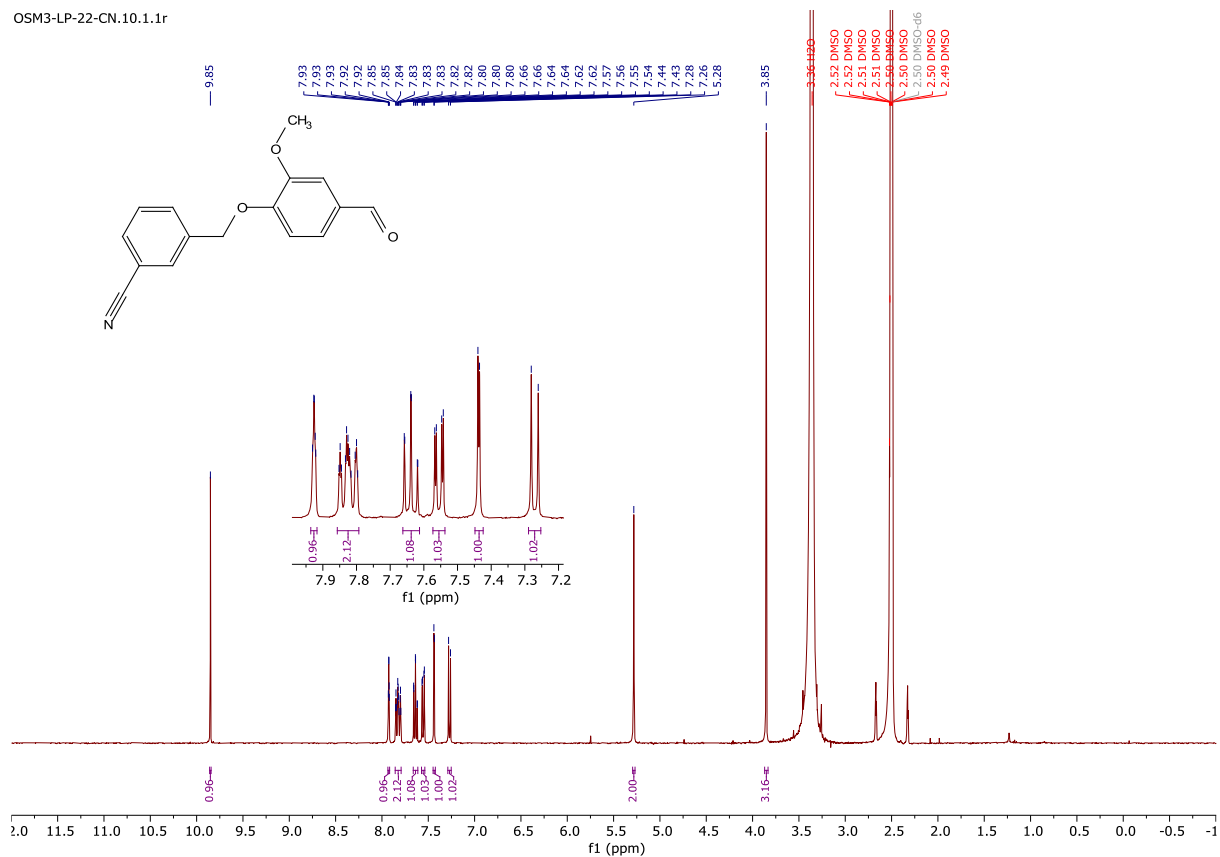
¹³C-KMR (101 MHz, CDCl₃), savienojums **29a**

OSM3-LP-10-C13.10.1.1.r



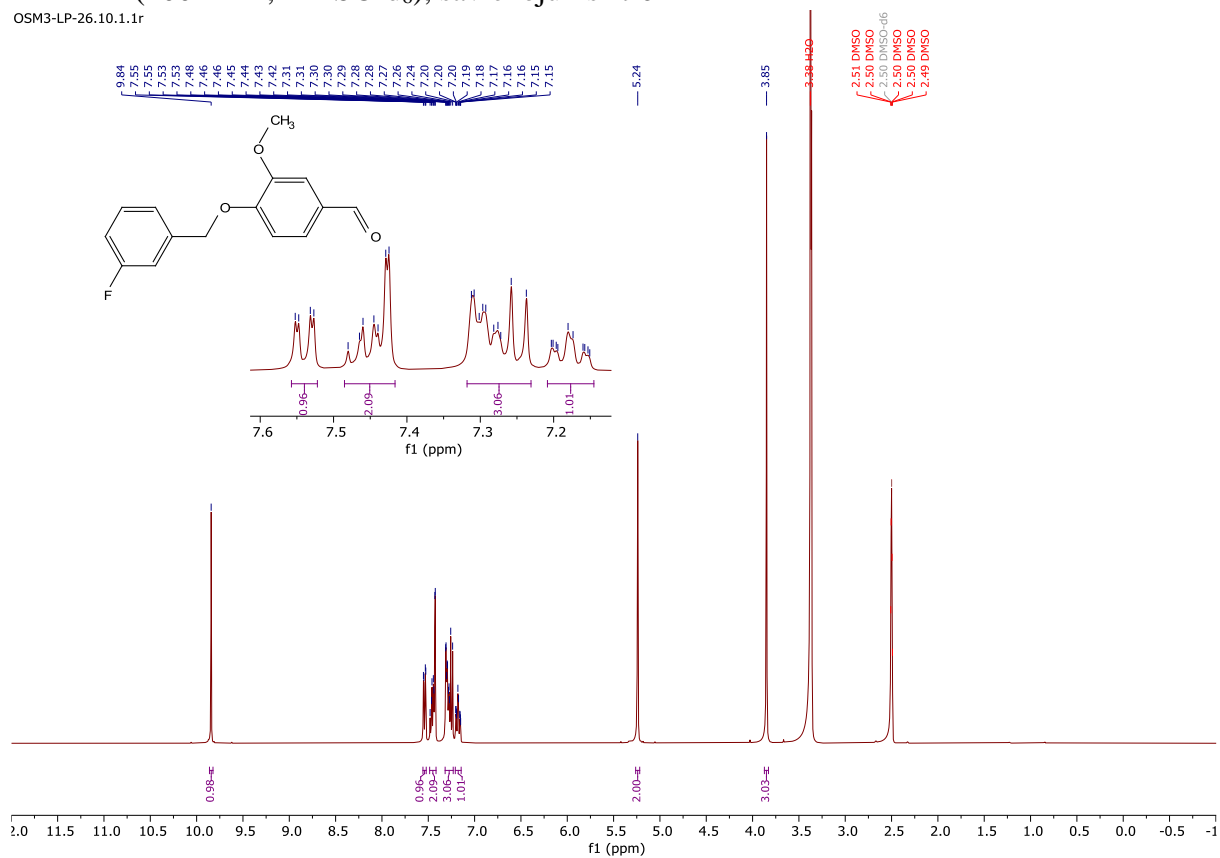
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums **29b**

OSM3-LP-22-CN.10.1.1r



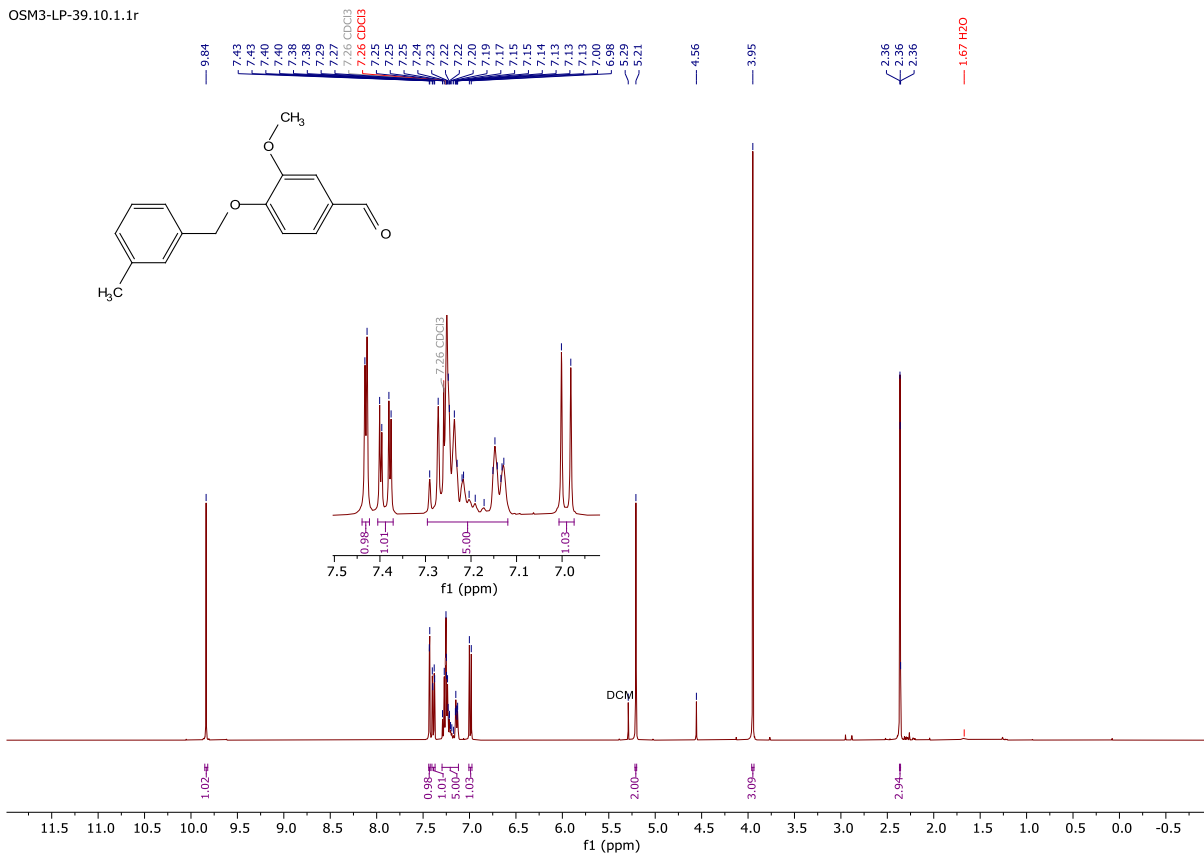
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums **29c**

OSM3-LP-26.10.1.1r



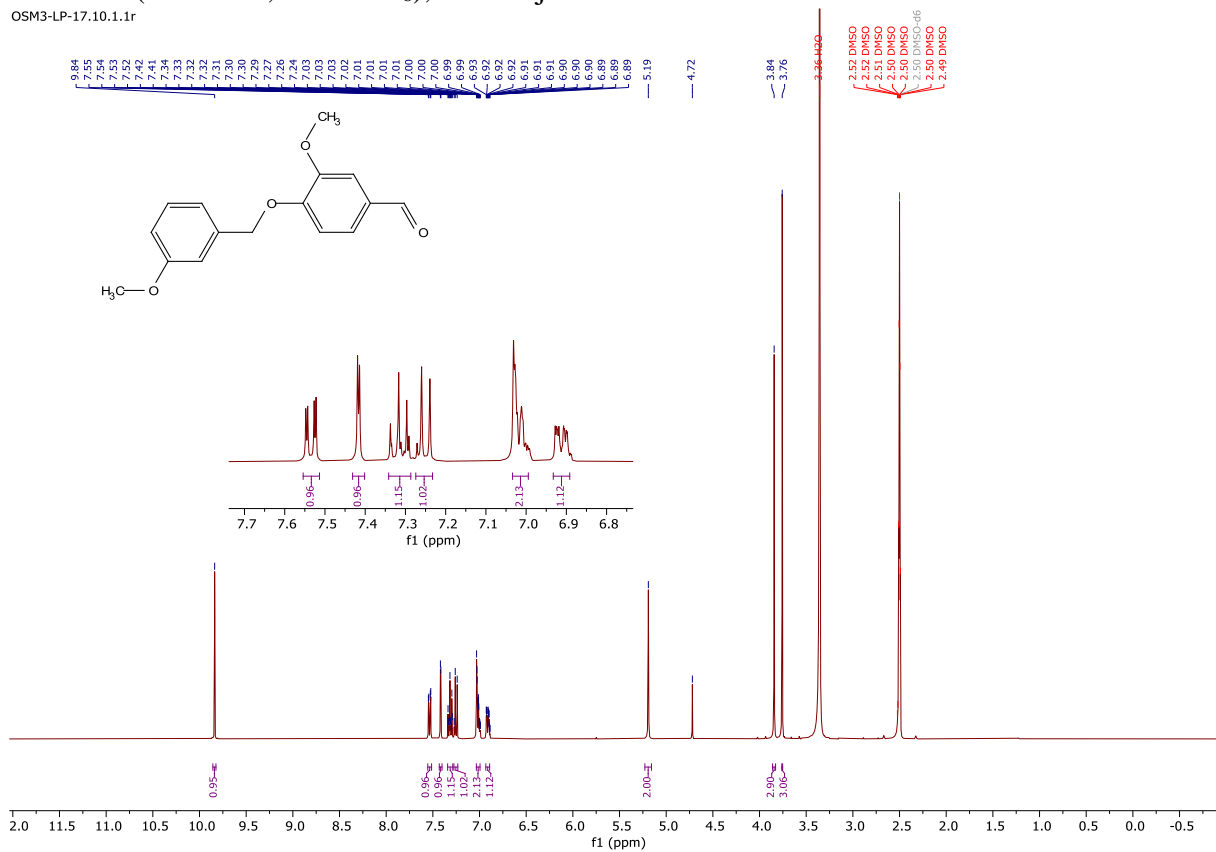
¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃), savienojums 29d

OSM3-LP-39.10.1.1r



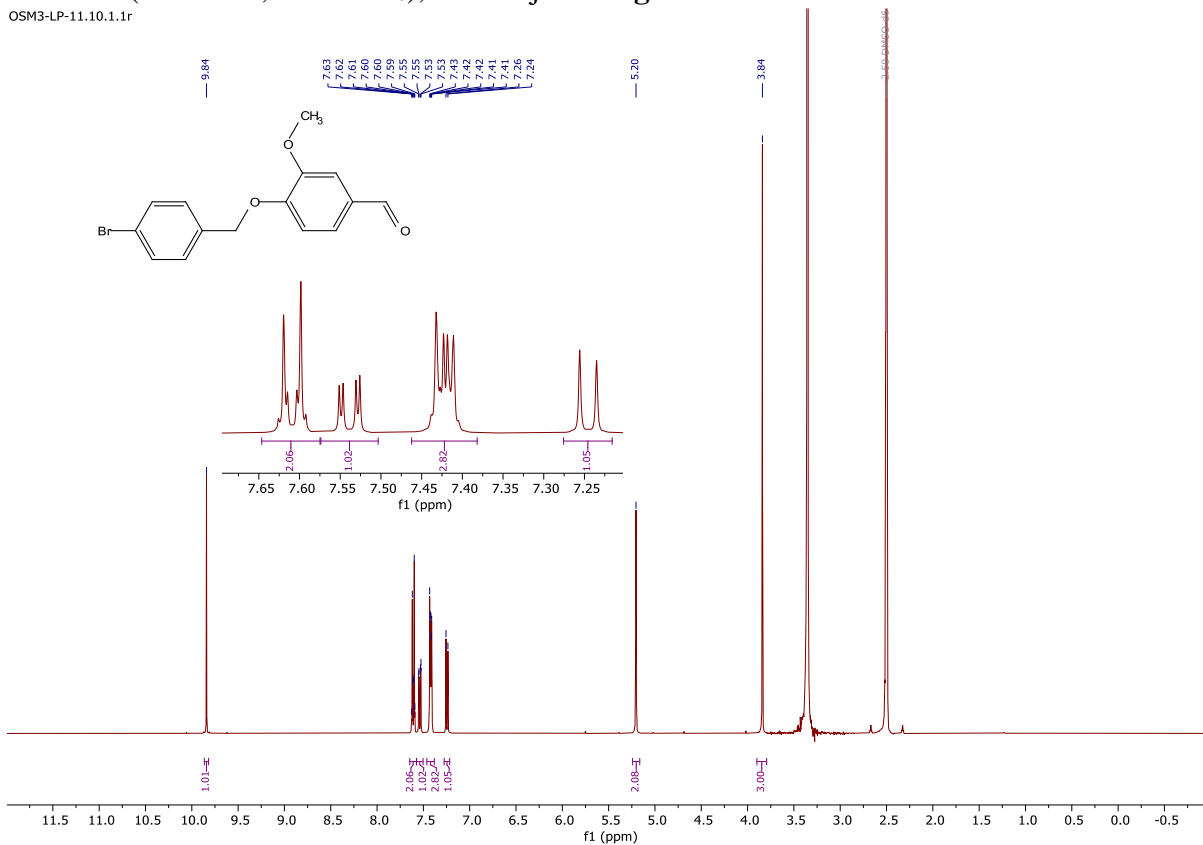
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums 29e

OSM3-LP-17.10.1.1r



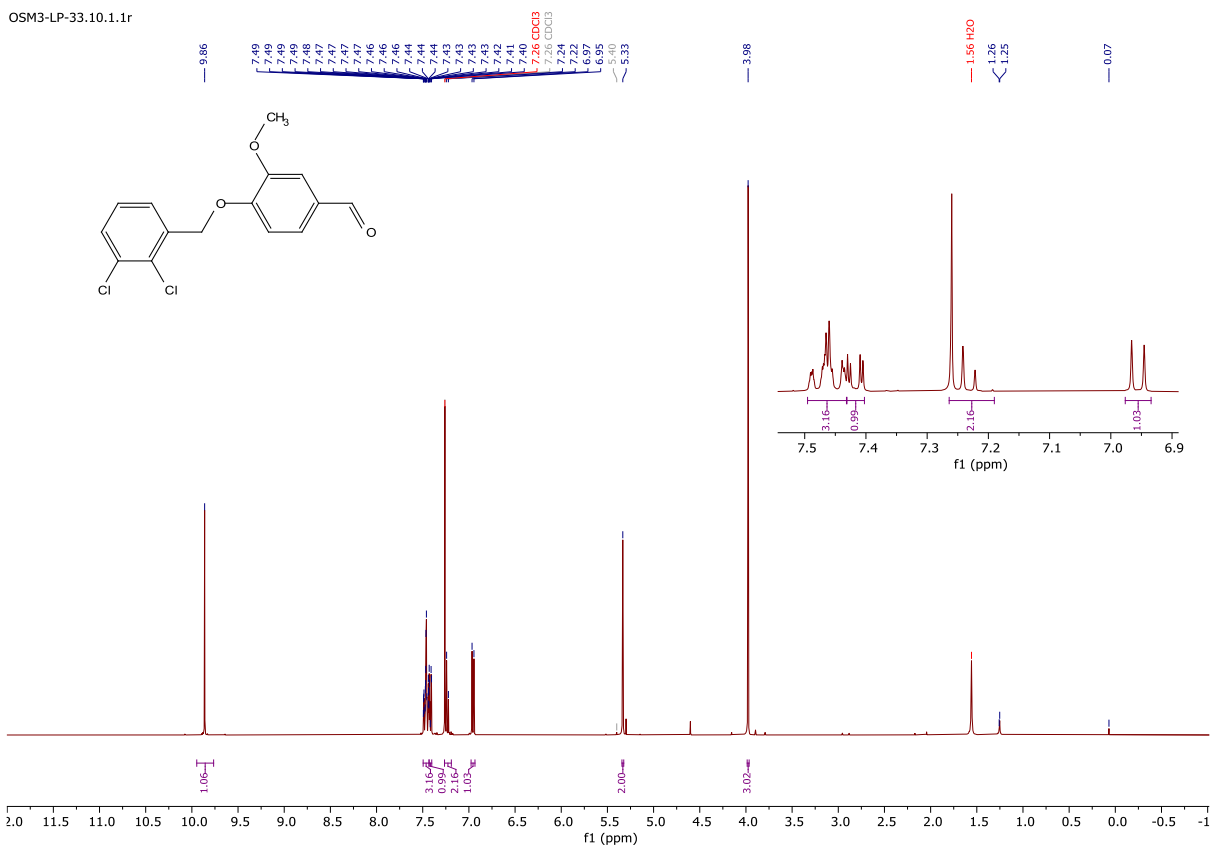
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums 29g

OSM3-LP-11.10.1.1r



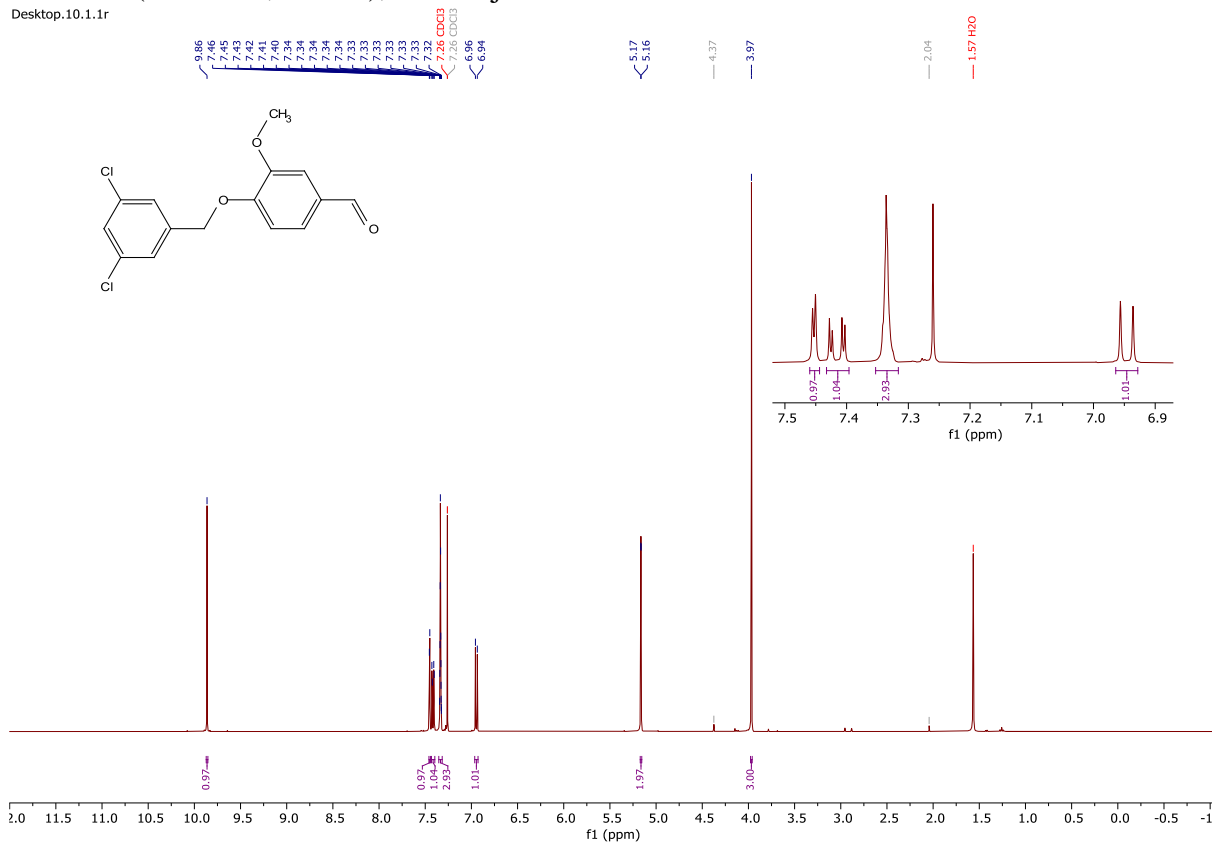
¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃), savienojums 29h

OSM3-LP-33.10.1.1r



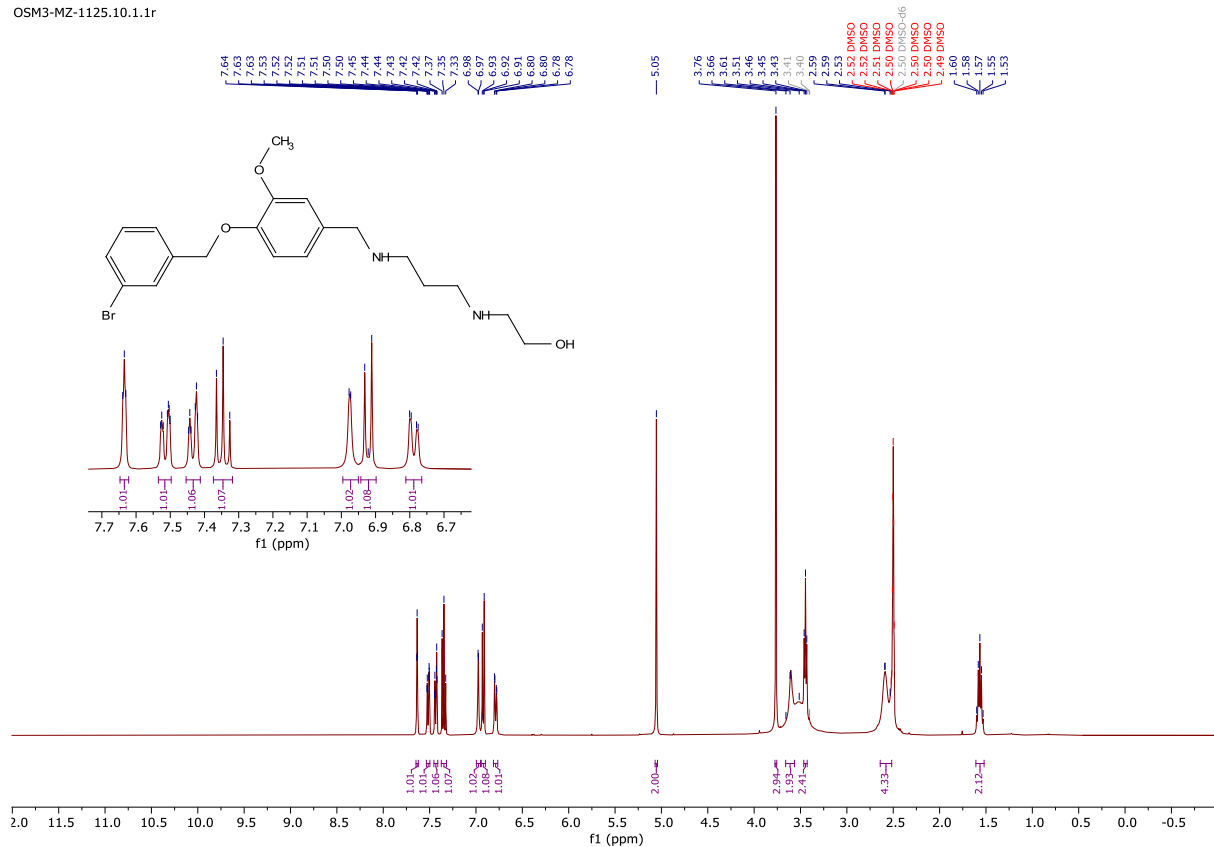
¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃), savienojums **29k**

Desktop.10.1.1r



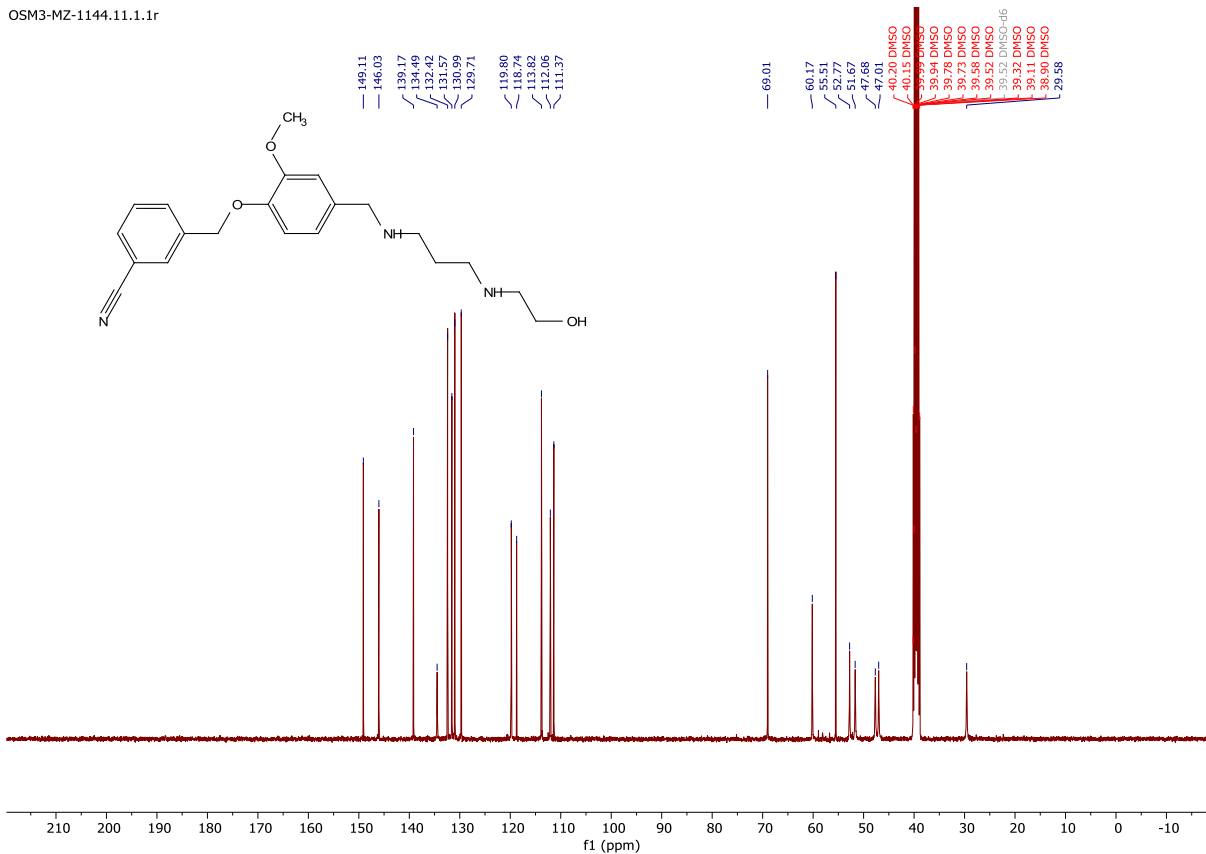
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums **31a**

OSM3-MZ-1125.10.1.1r



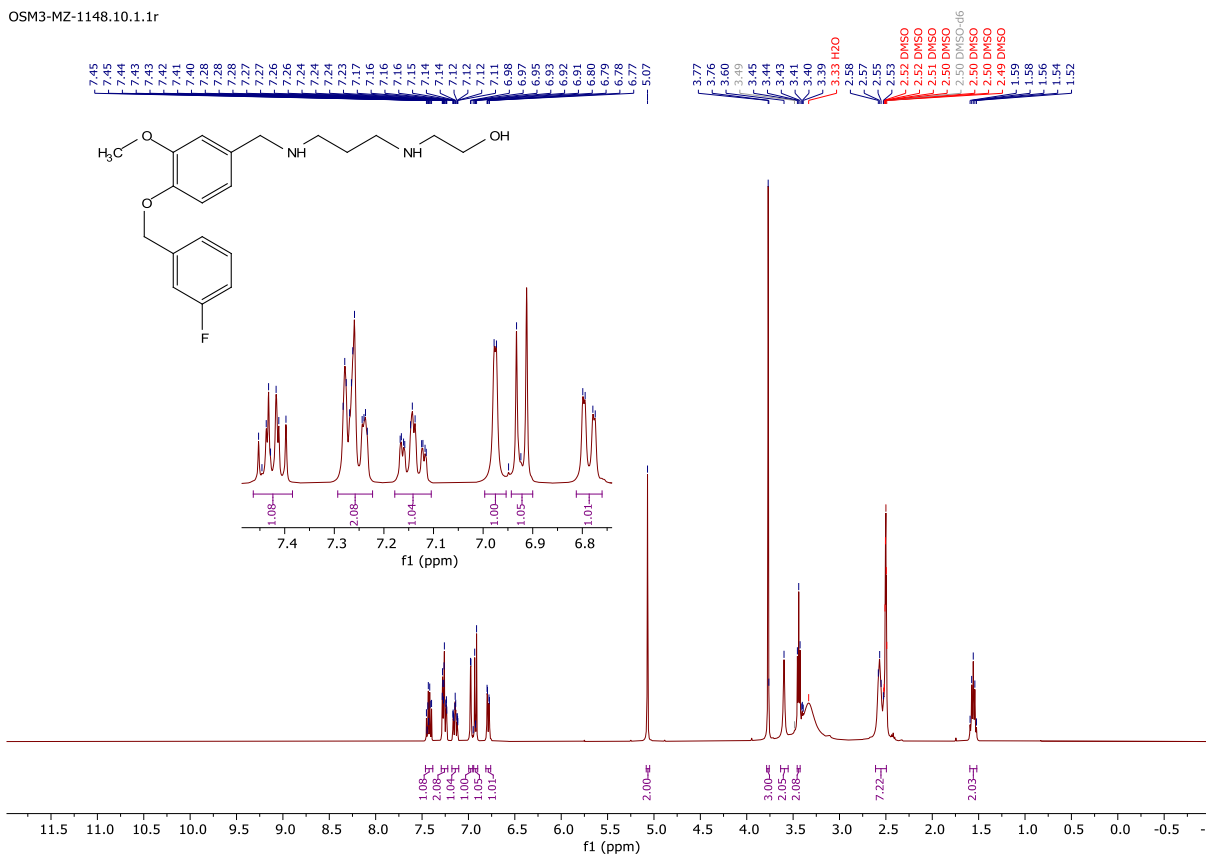
^{13}C -KMR (101 MHz, DMSO- d_6), savienojums **31b**

OSM3-MZ-1144.111.1.1r



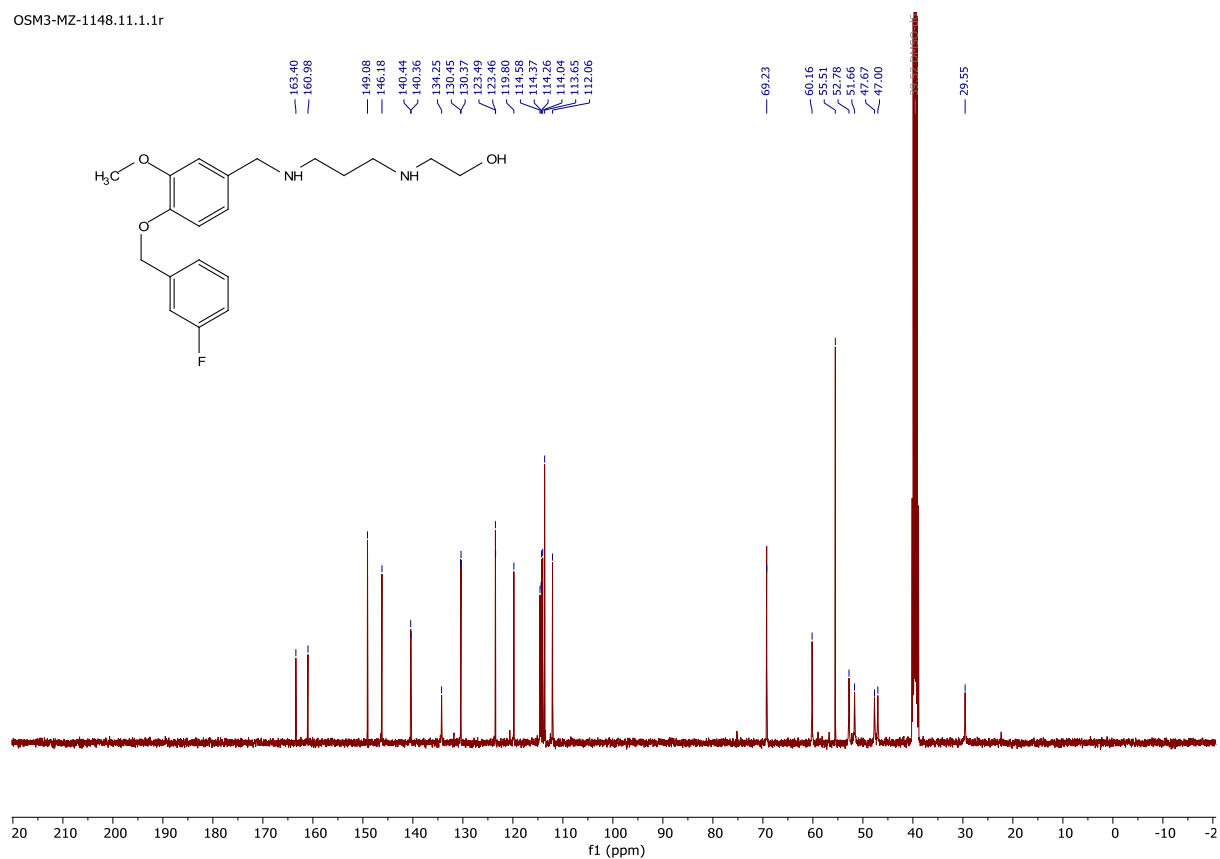
^1H -KMR (400 MHz, DMSO- d_6), savienojums **31c**

OSM3-MZ-1148.10.1.1r



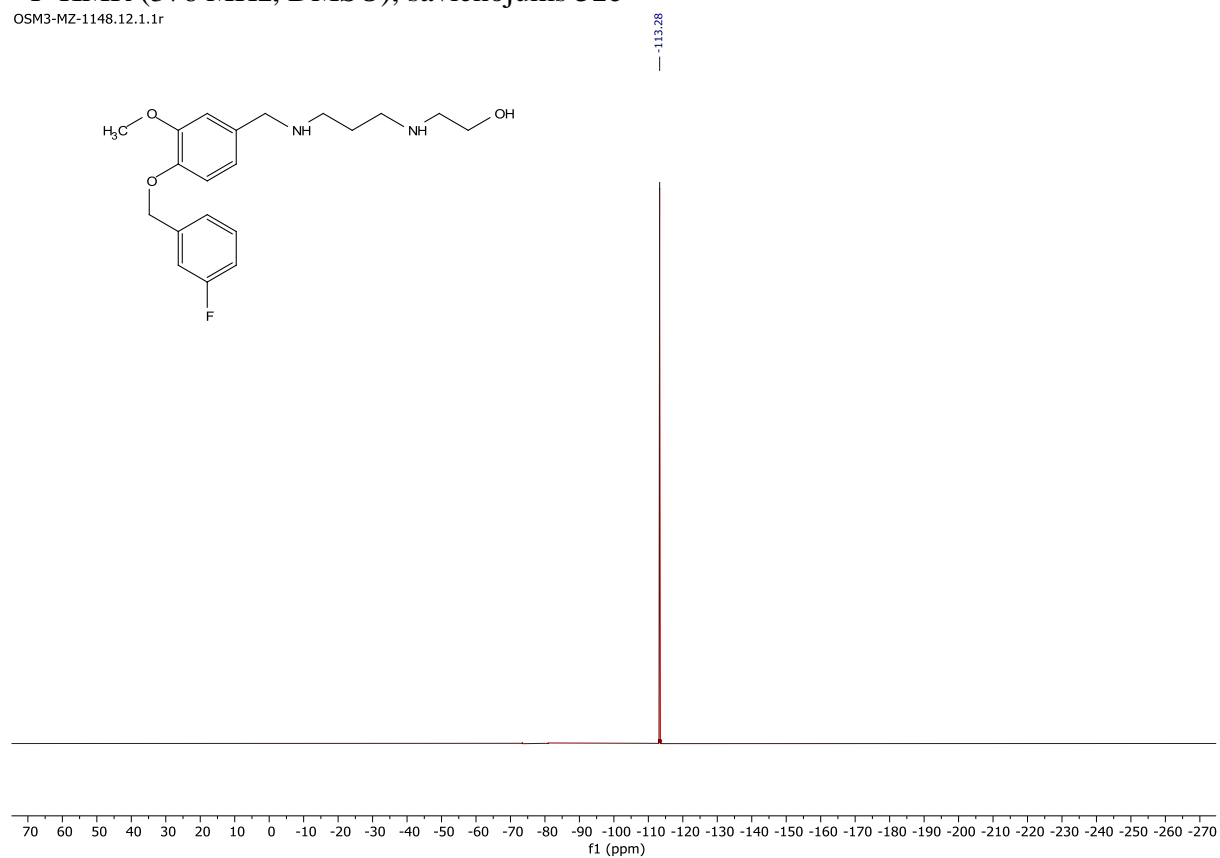
¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆), savienojums **31c**

OSM3-MZ-1148.11.1.1r



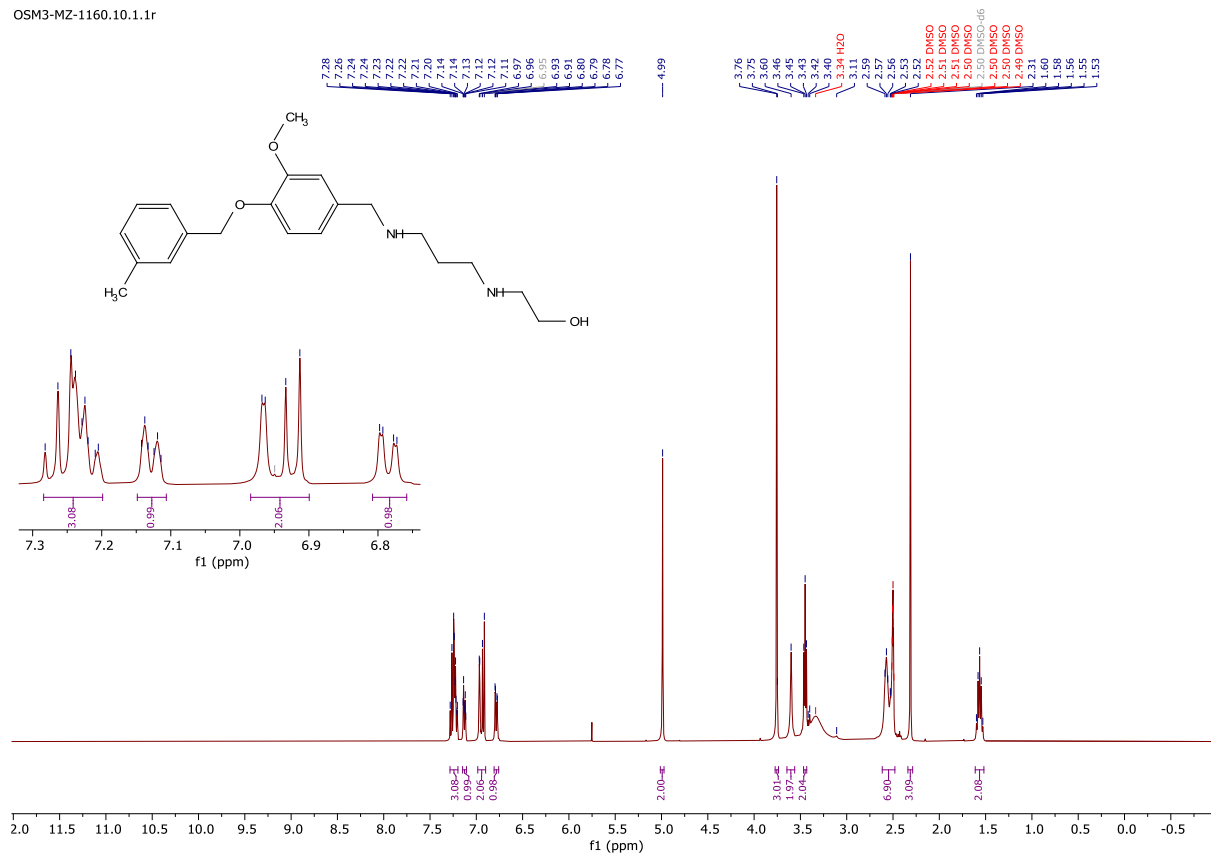
¹⁹F-KMR (376 MHz, DMSO), savienojums **31c**

OSM3-MZ-1148.12.1.1r



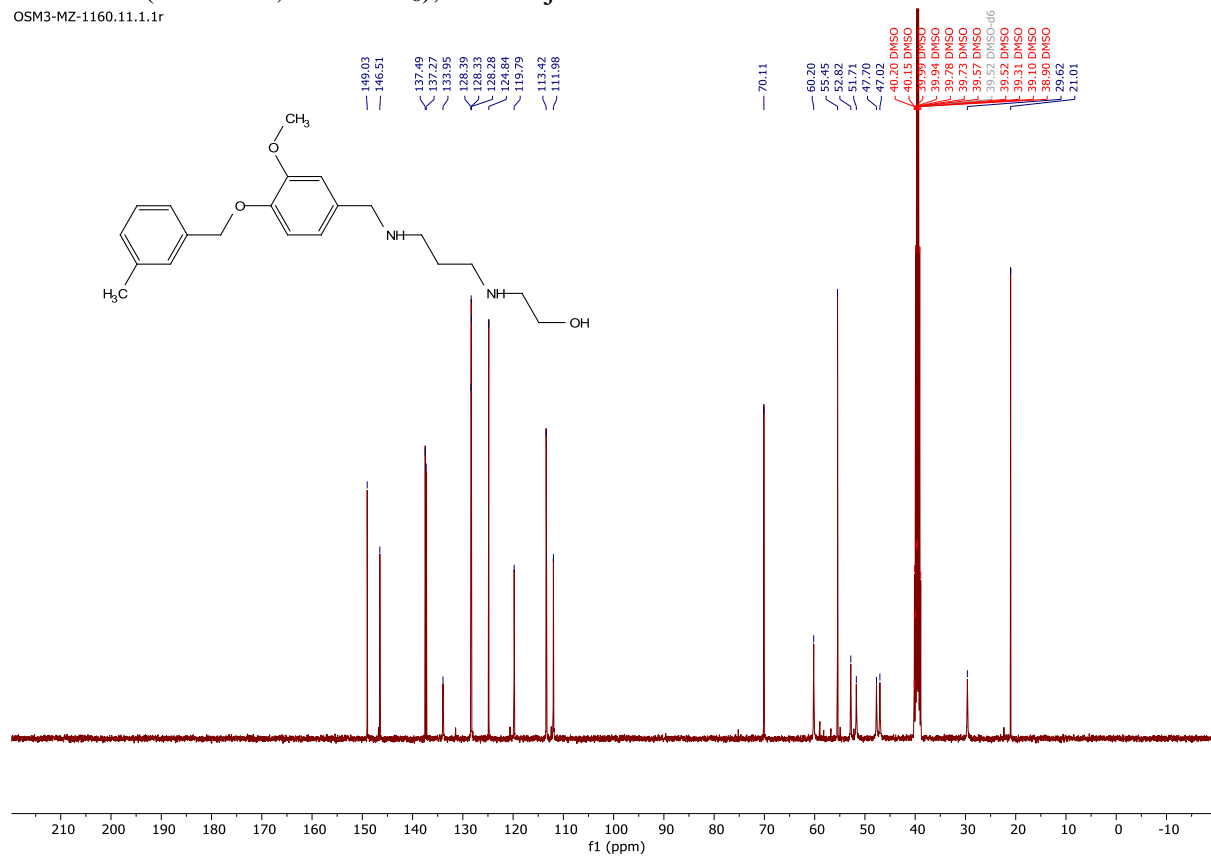
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums **31d**

OSM3-MZ-1160.10.1.1r



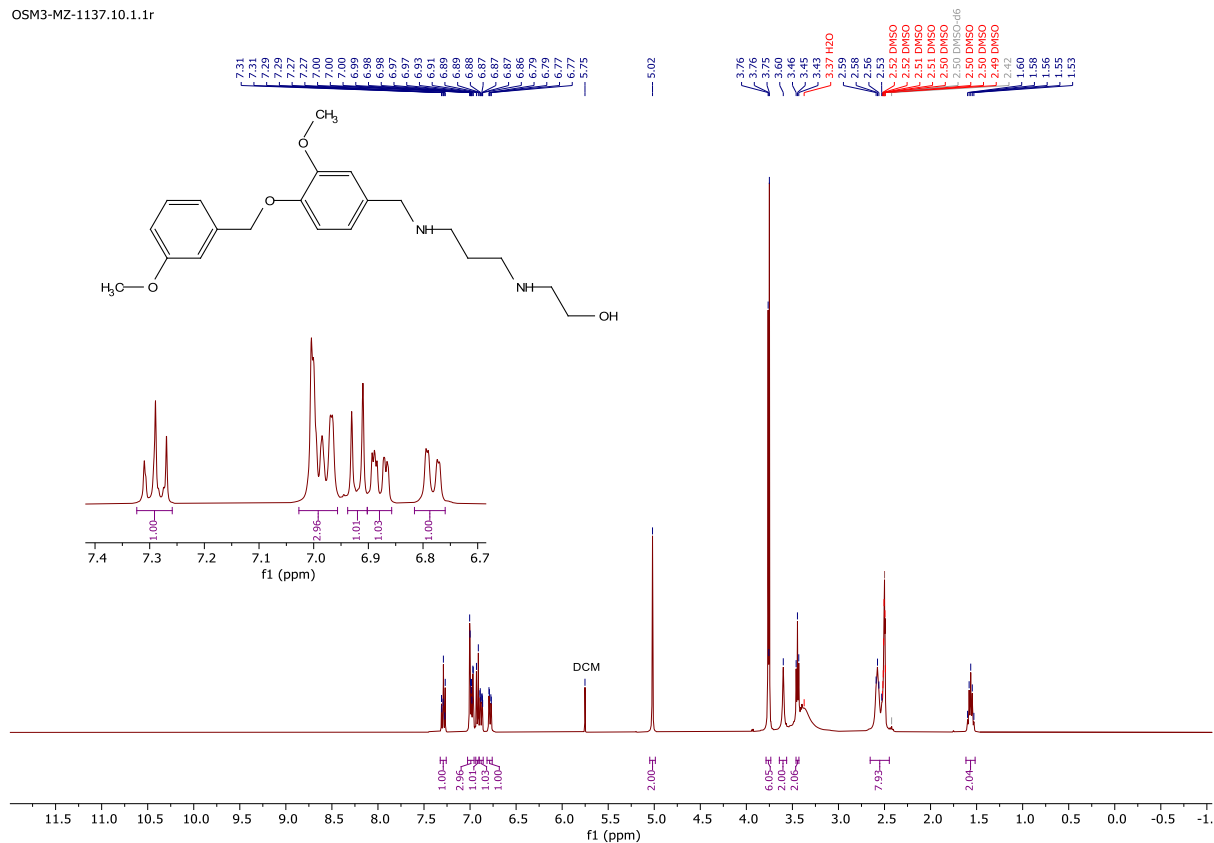
¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆), savienojums **31d**

OSM3-MZ-1160.11.1.1r



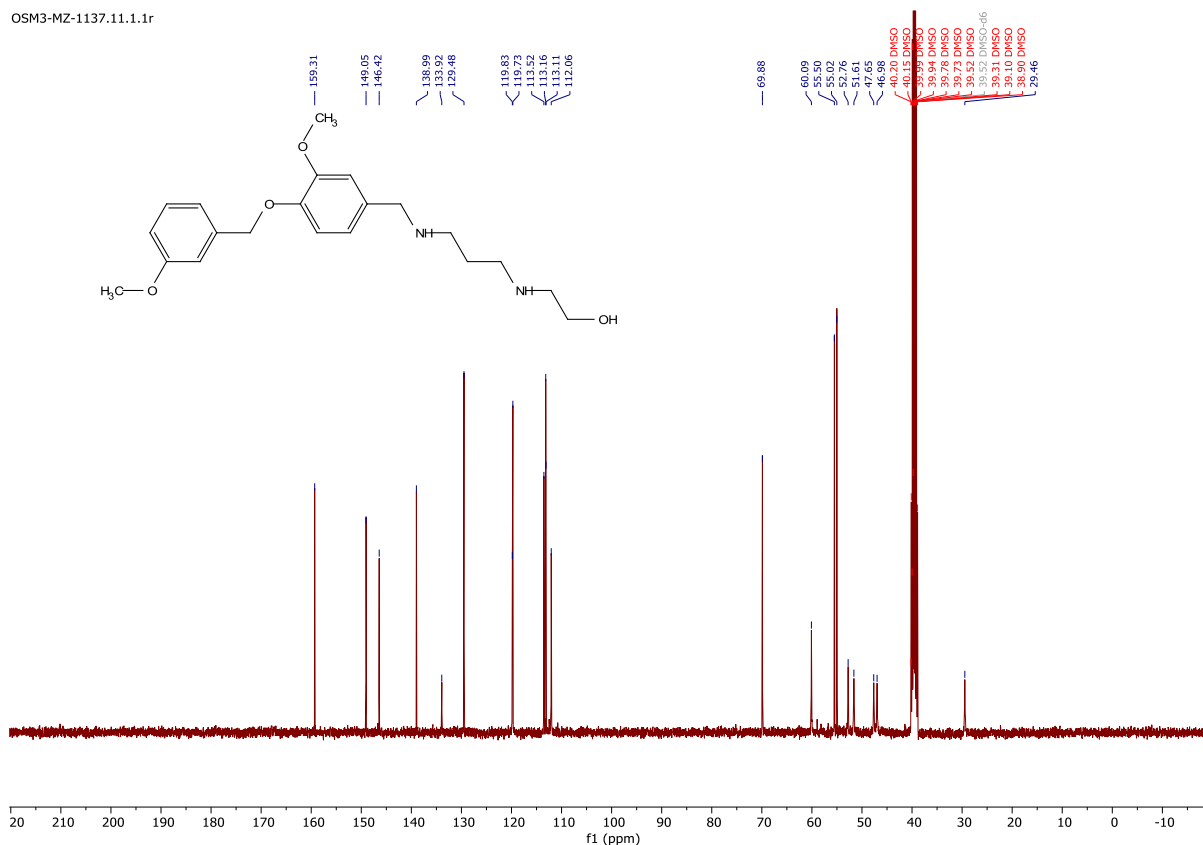
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums **31e**

OSM3-MZ-1137.10.1.1r



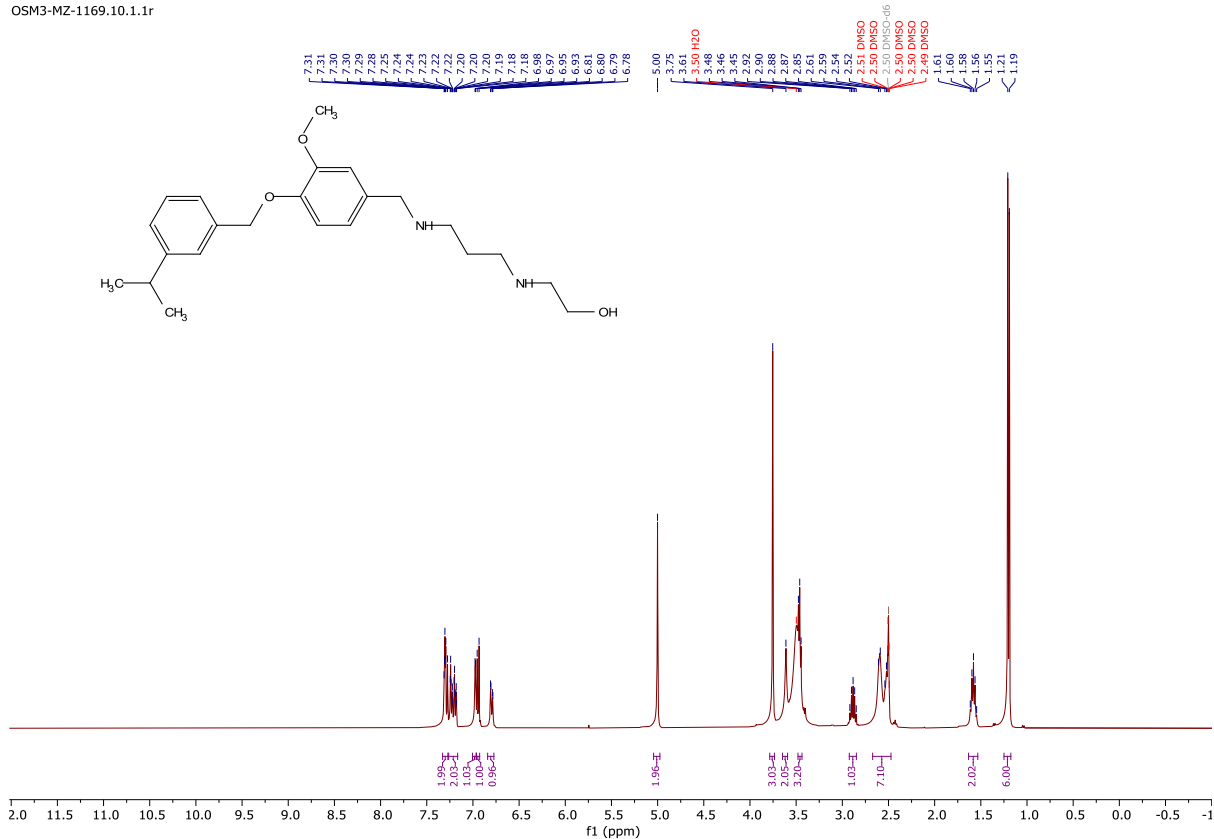
¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆), savienojums **31e**

OSM3-MZ-1137.11.1.1r



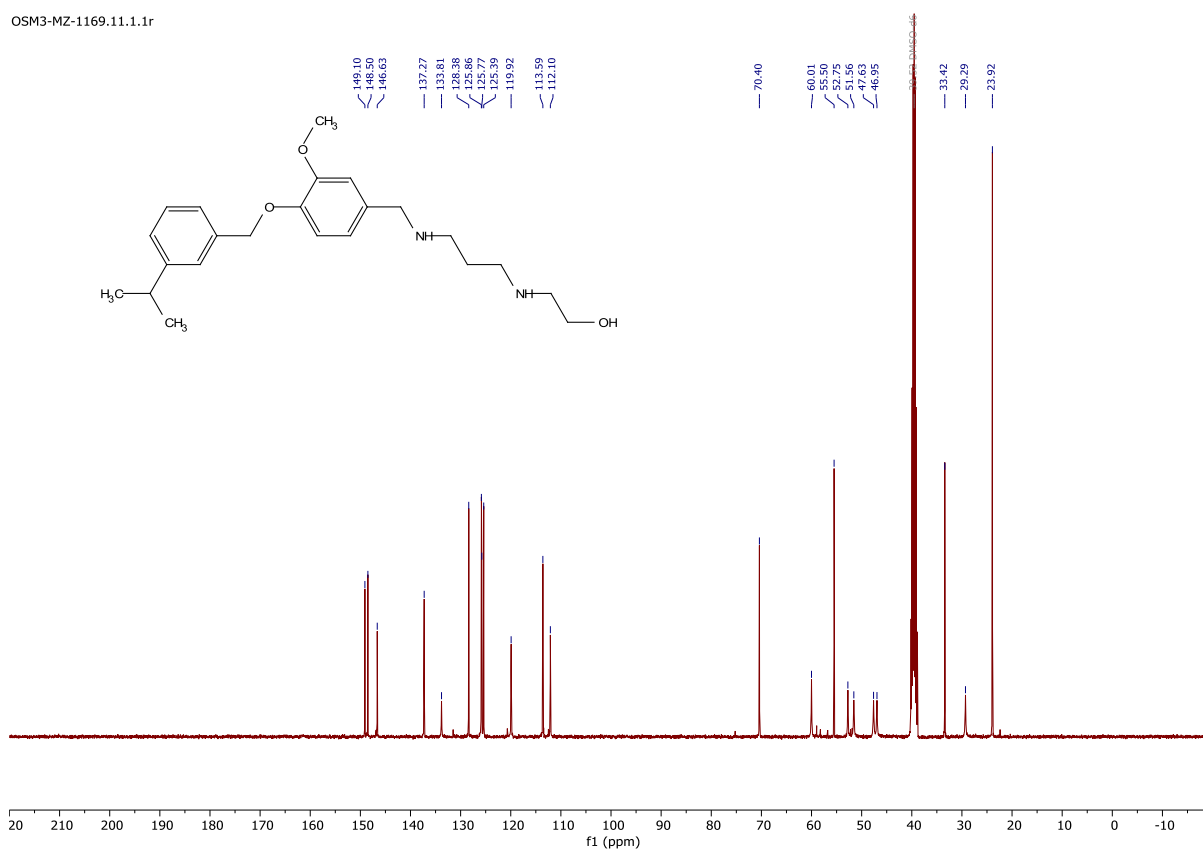
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums **31f**

OSM3-MZ-1169.10.1.1r



¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆), savienojums **31f**

OSM3-MZ-1169.11.1.1r



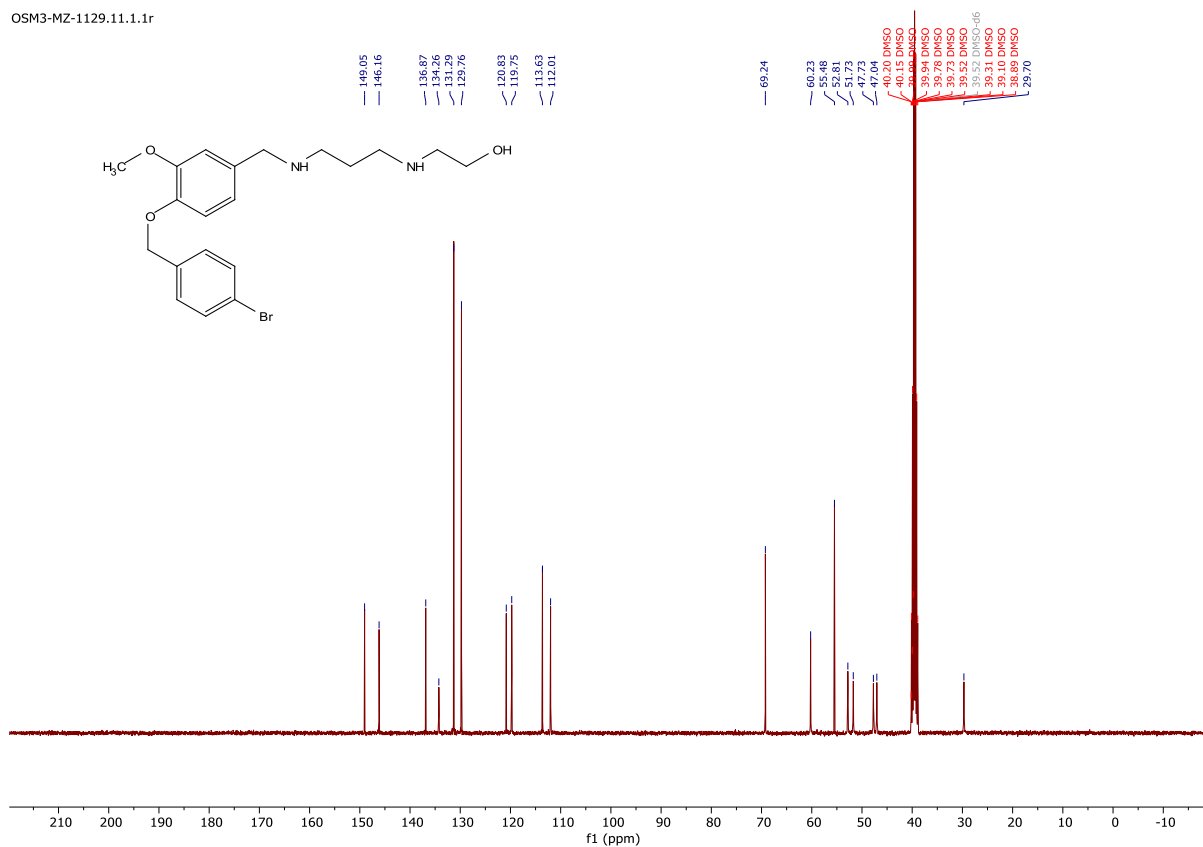
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums **31g**

OSM3-MZ-1129.10.1.1r



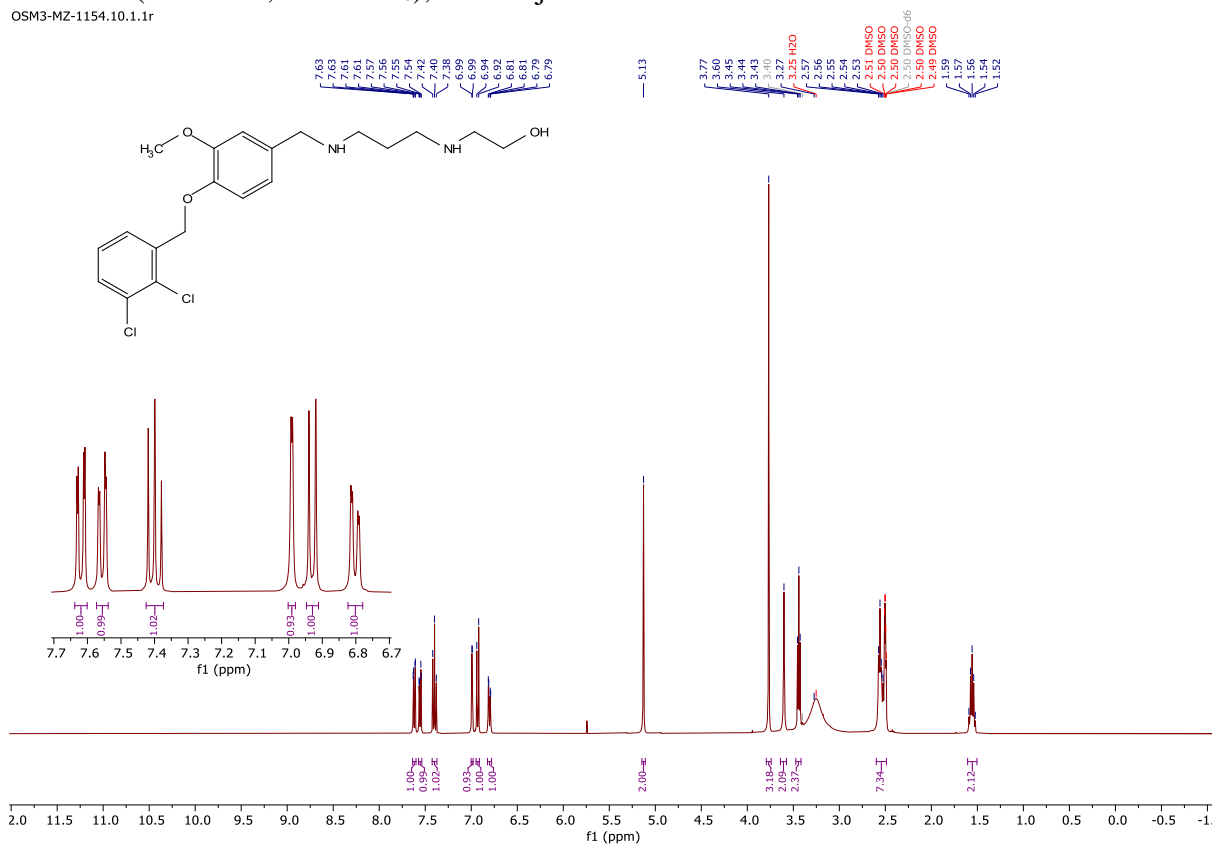
¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆), savienojums **31g**

OSM3-MZ-1129.11.1.1r



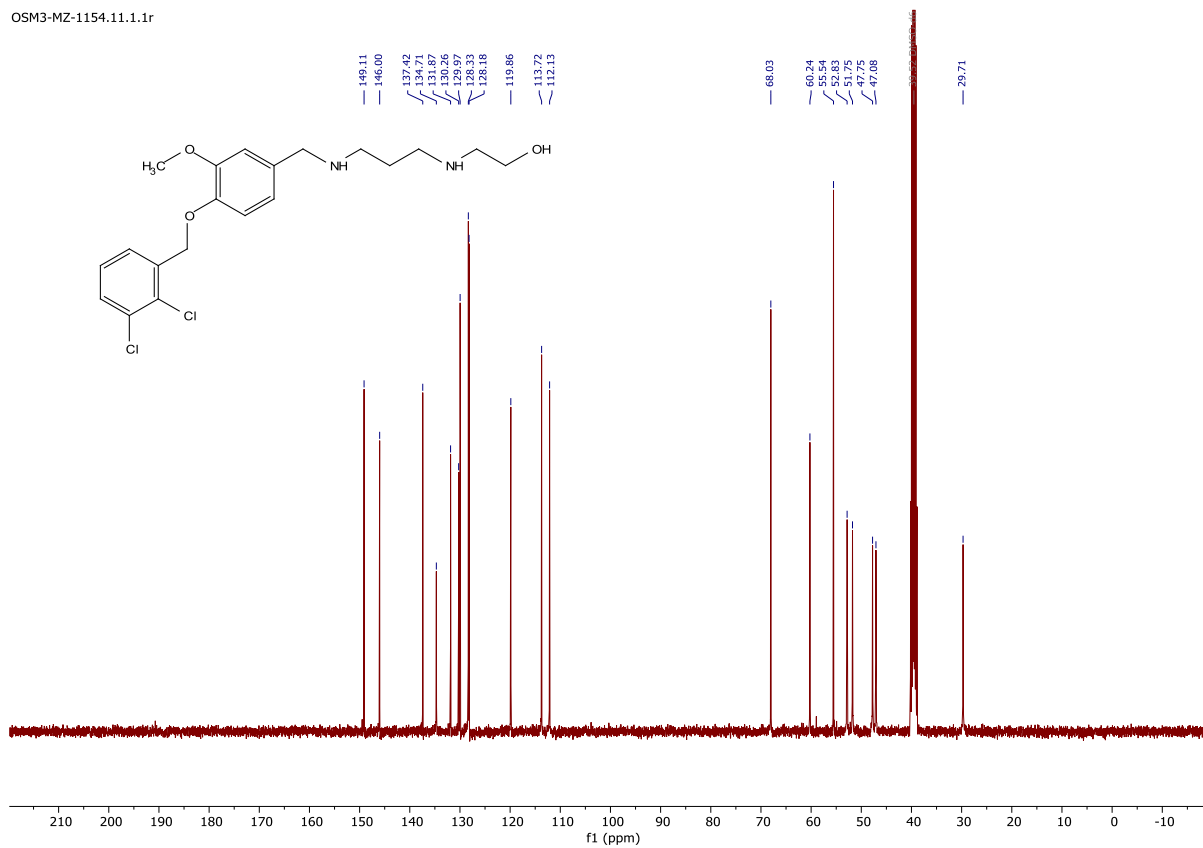
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums 31h

OSM3-MZ-1154.10.1.1r



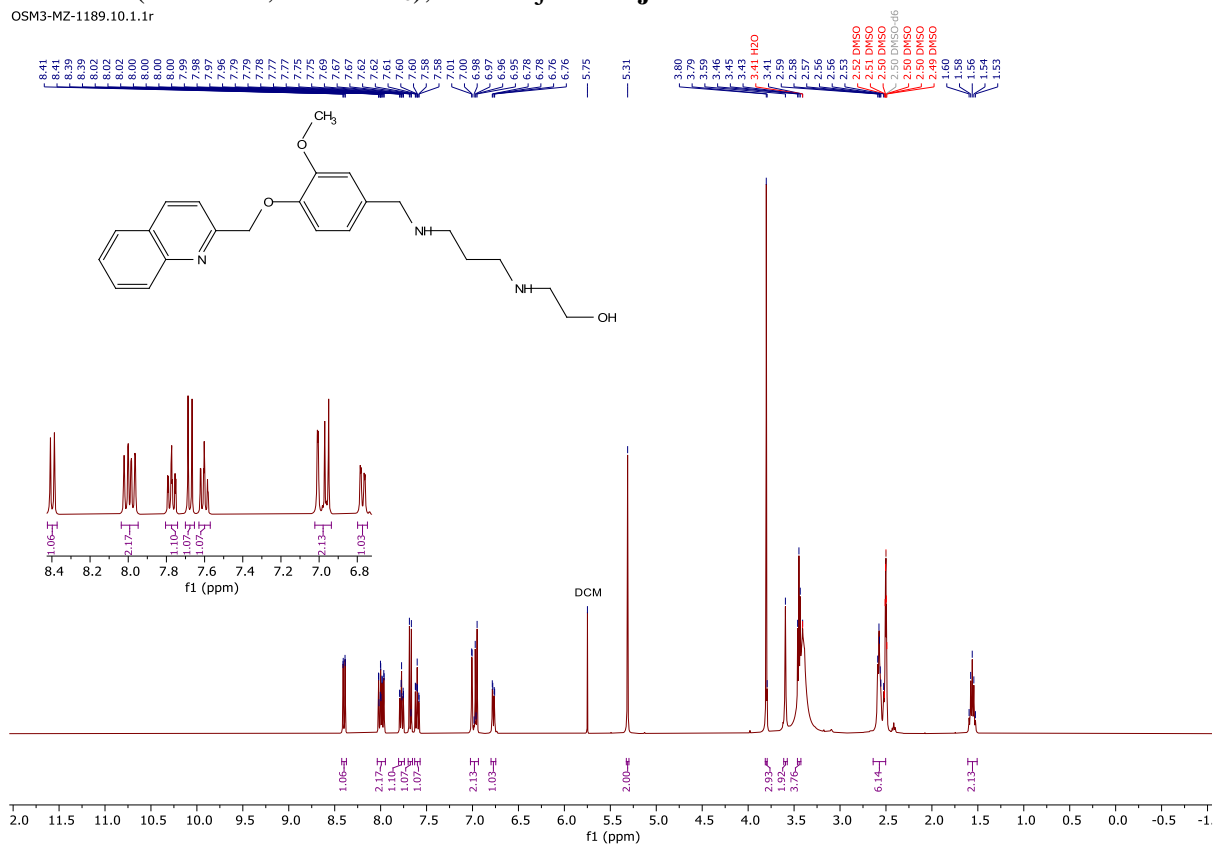
¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆), savienojums 31h

OSM3-MZ-1154.11.1.1r



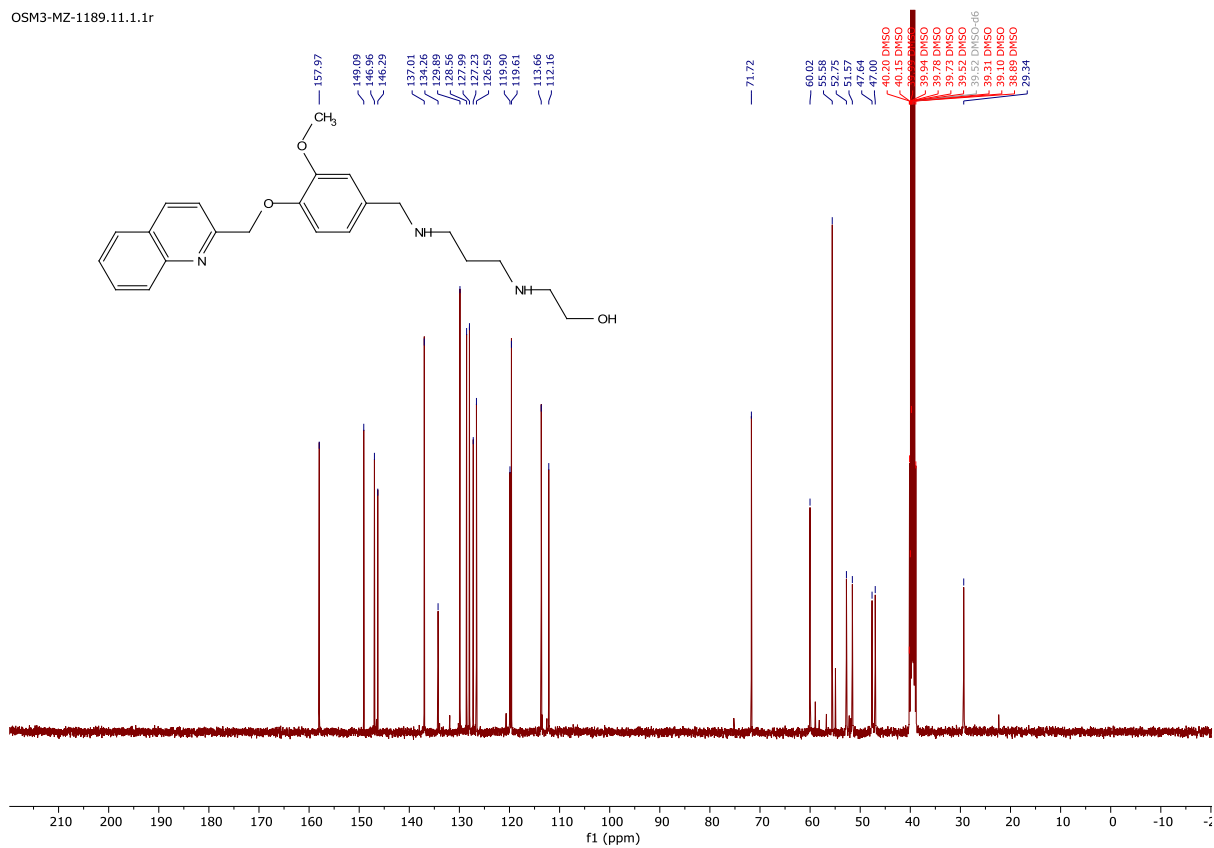
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums **31j**

OSM3-MZ-1189.10.1.1r



¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆), savienojums **31j**

OSM3-MZ-1189.11.1.1r



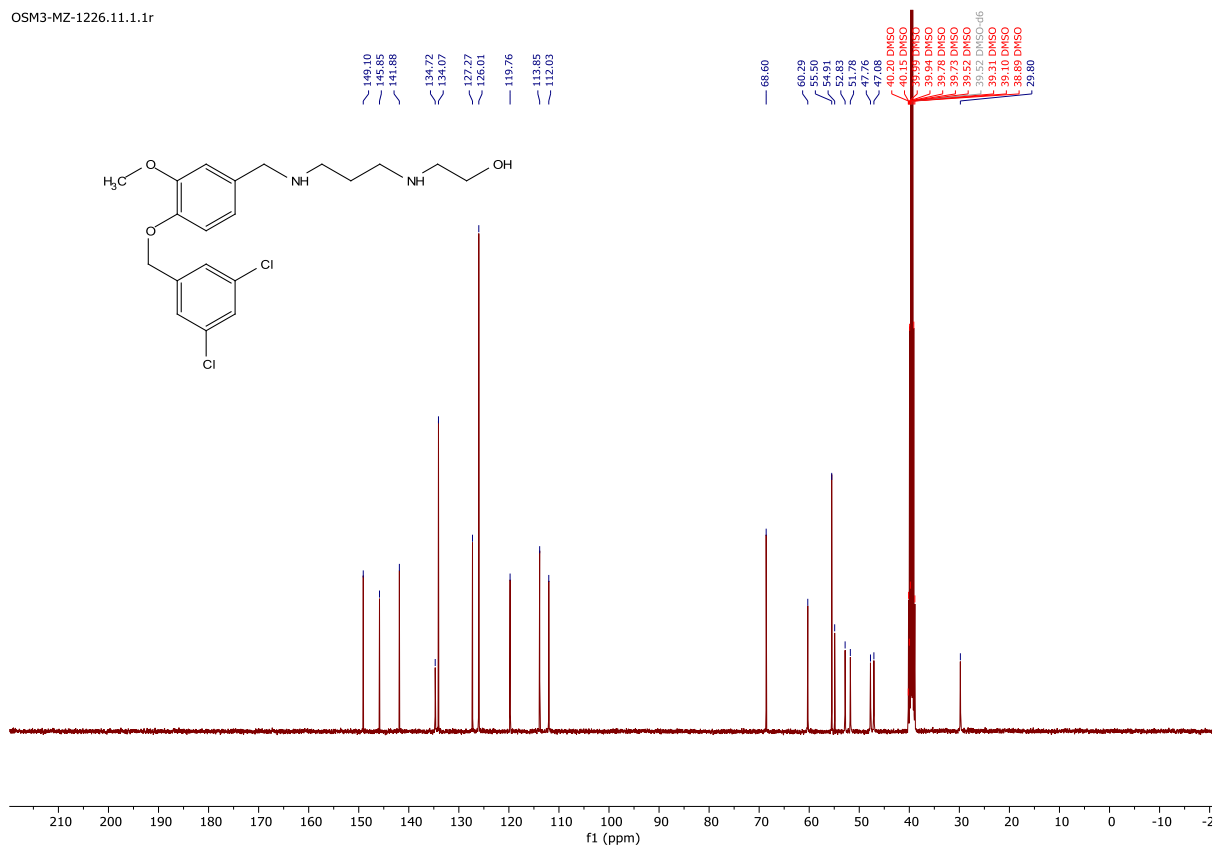
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums **31k**

OSM3-MZ-1226.10.1.1r



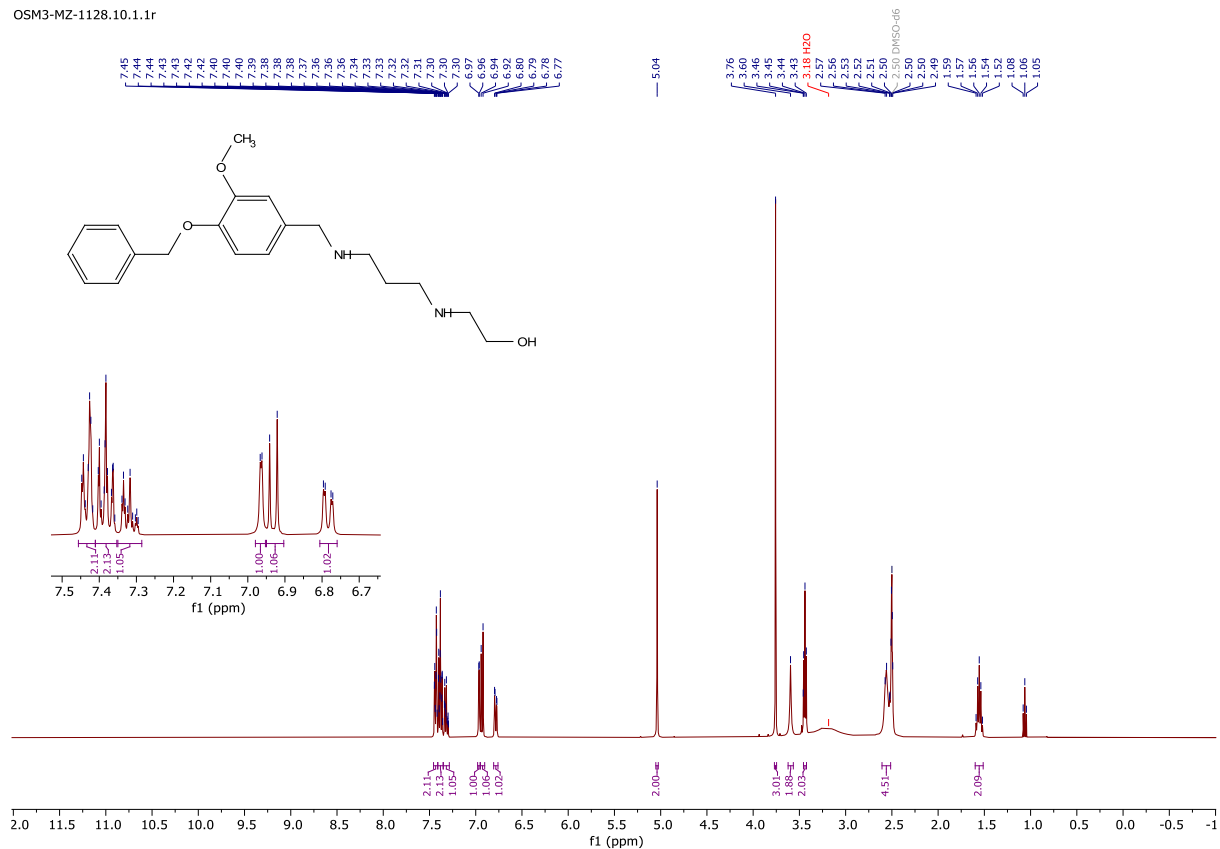
¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆), savienojums **31k**

OSM3-MZ-1226.11.1.1r



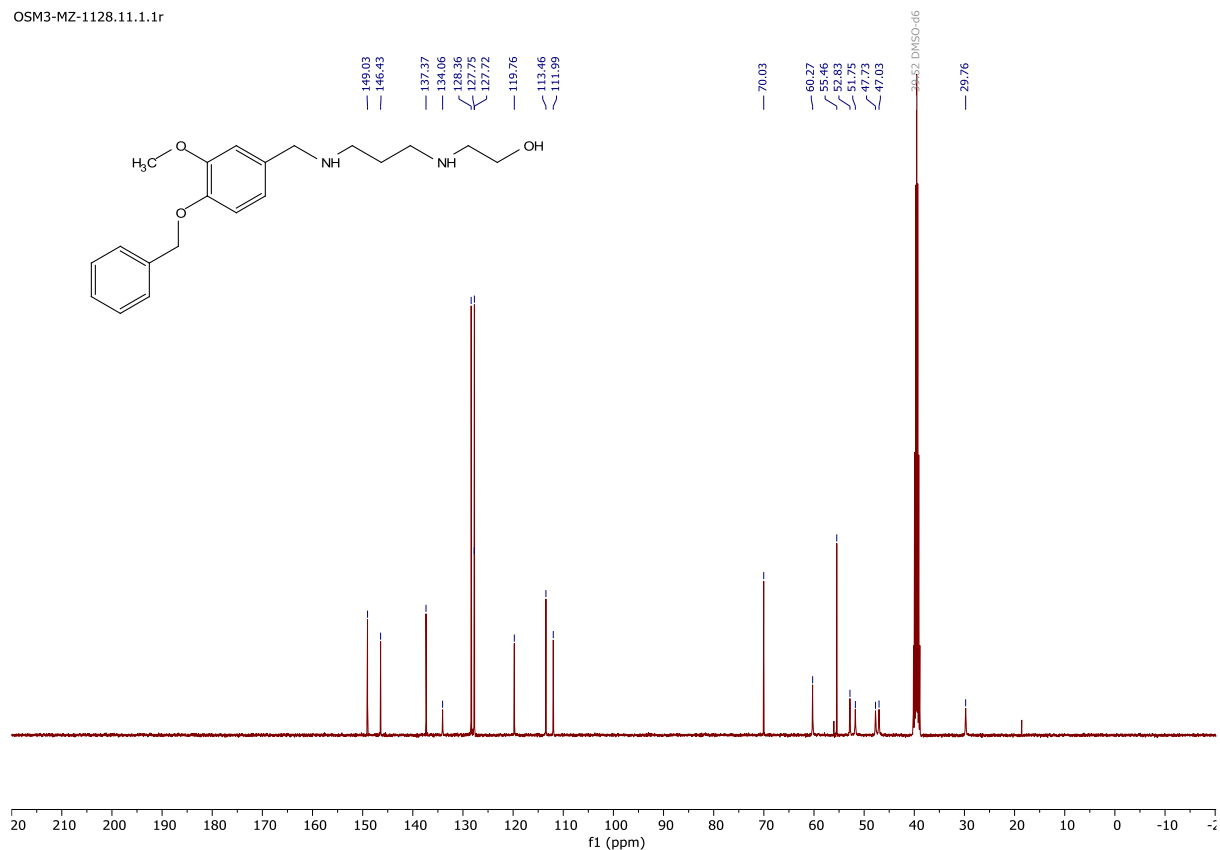
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums **311**

OSM3-MZ-1128.10.1.1r



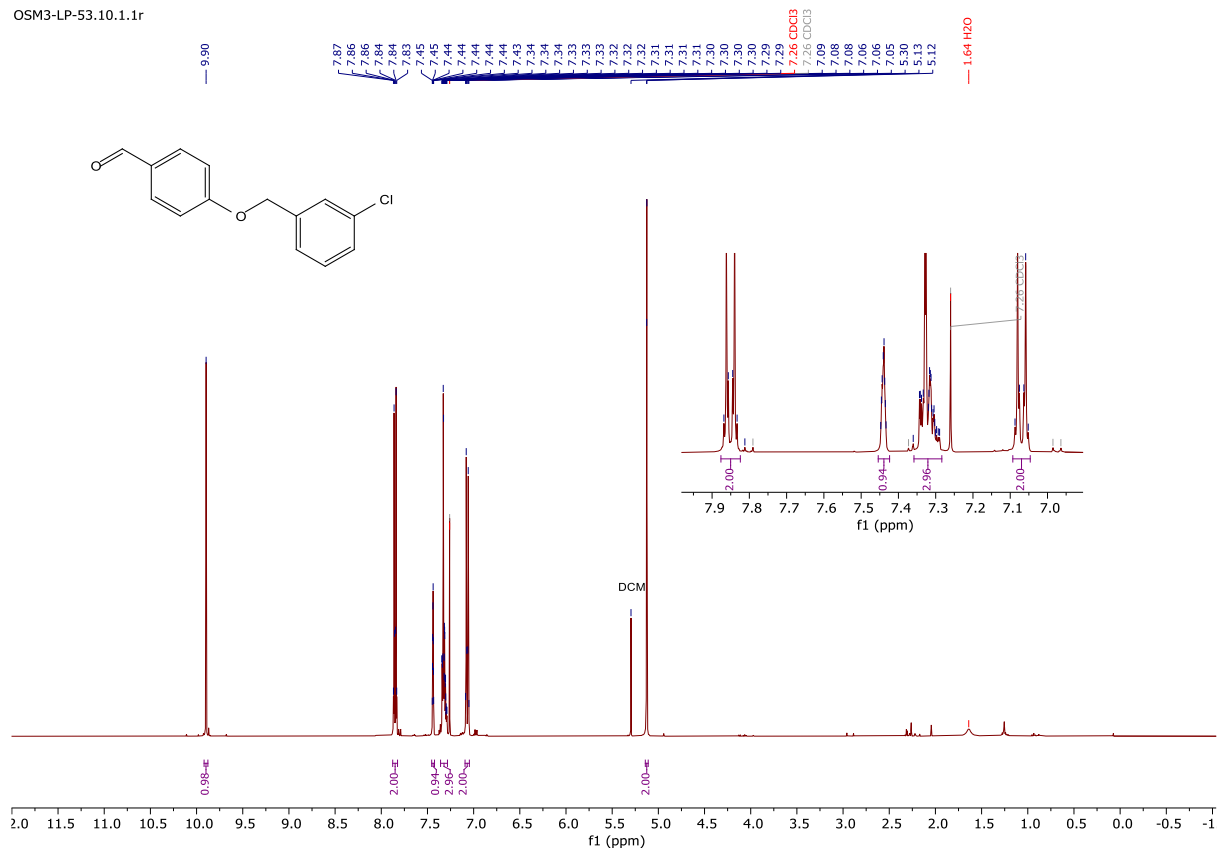
¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆), savienojums **311**

OSM3-MZ-1128.11.1.1r



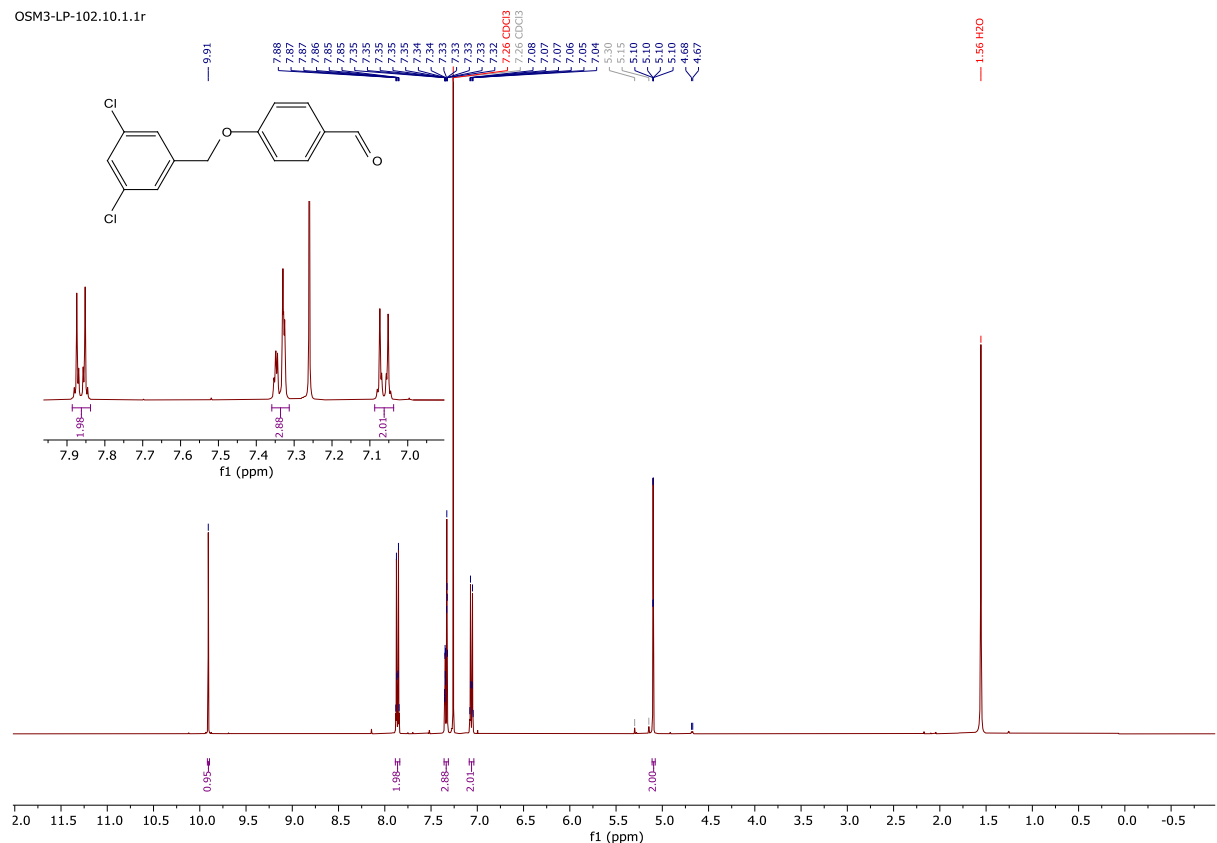
^1H -KMR (400 MHz, CDCl_3), savienojums **34a**

OSM3-LP-53.10.1.1r



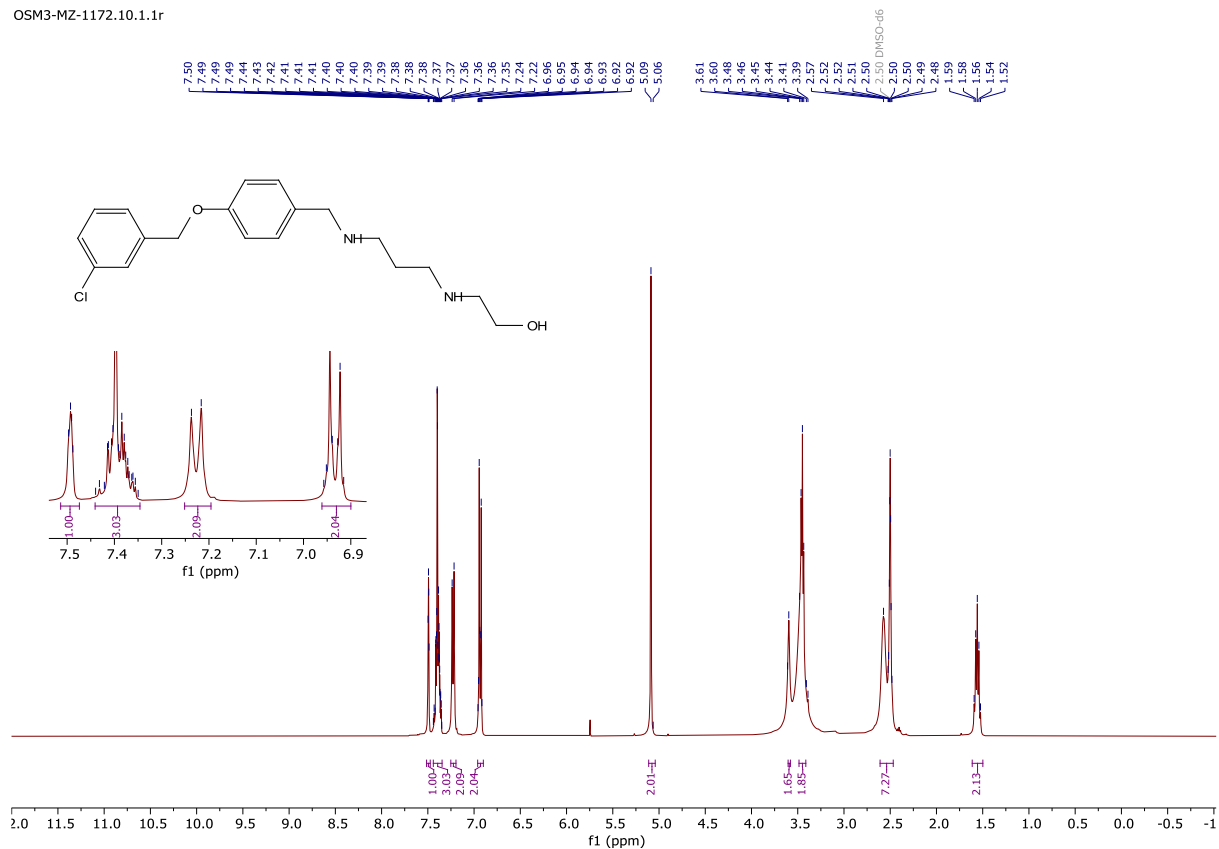
^1H -KMR (400 MHz, CDCl_3), savienojums **34b**

OSM3-LP-102.10.1.1r



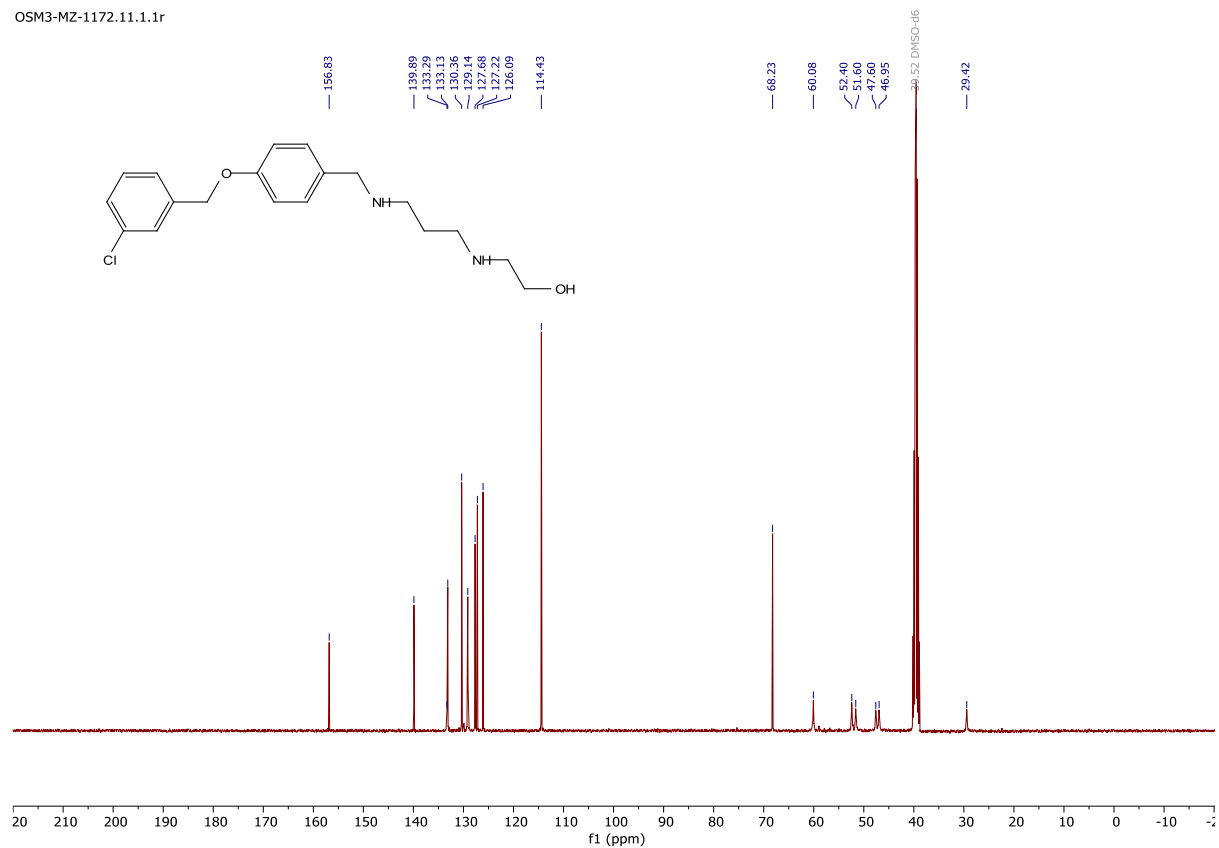
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums **35a**

OSM3-MZ-1172.10.1.1r



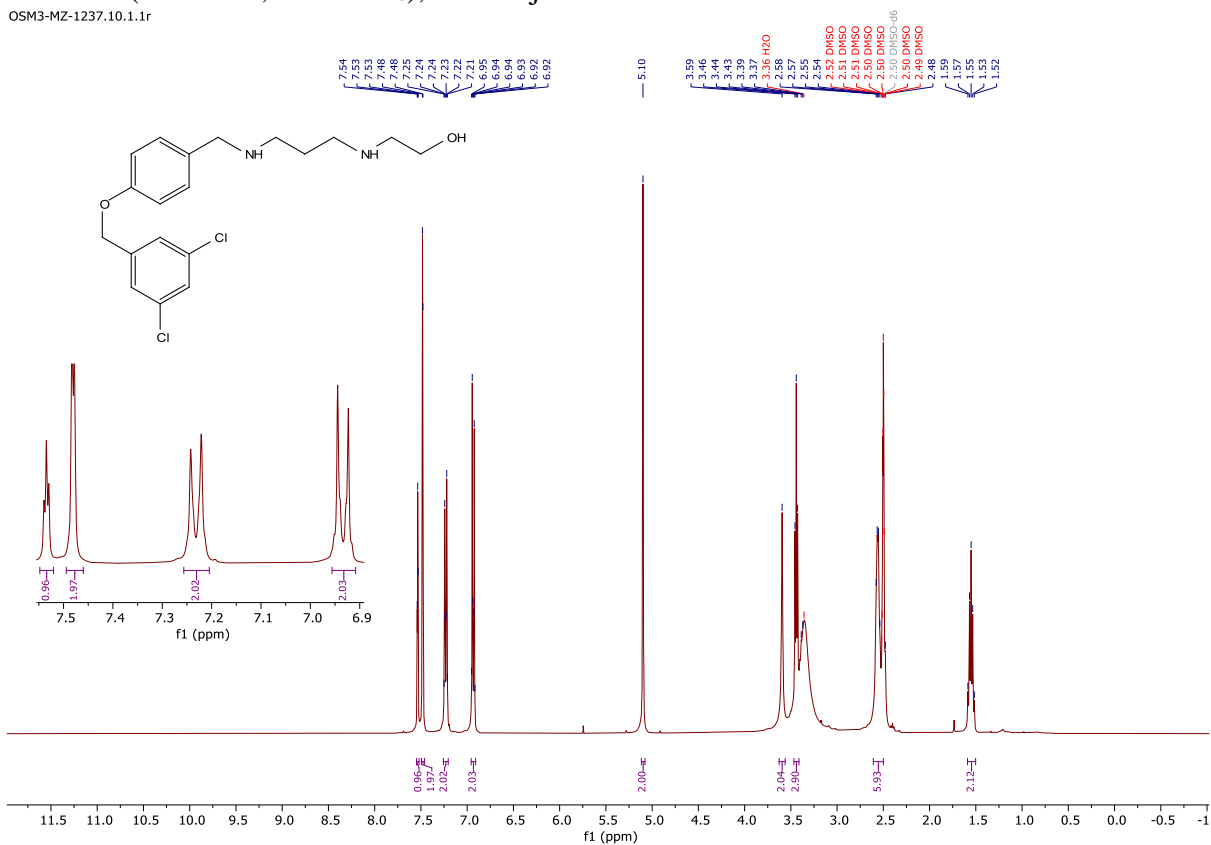
¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆), savienojums **35a**

OSM3-MZ-1172.11.1.1r



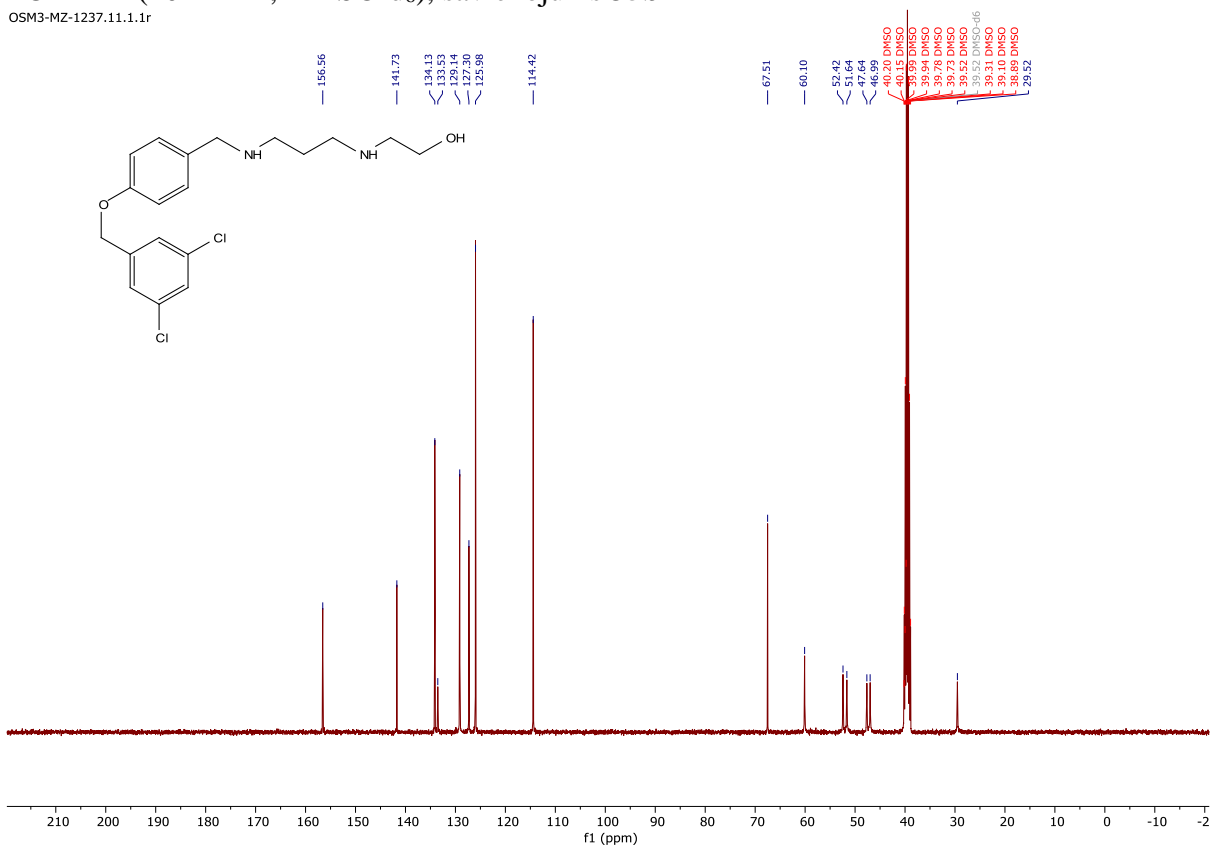
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums **35b**

OSM3-MZ-1237.10.1.1r



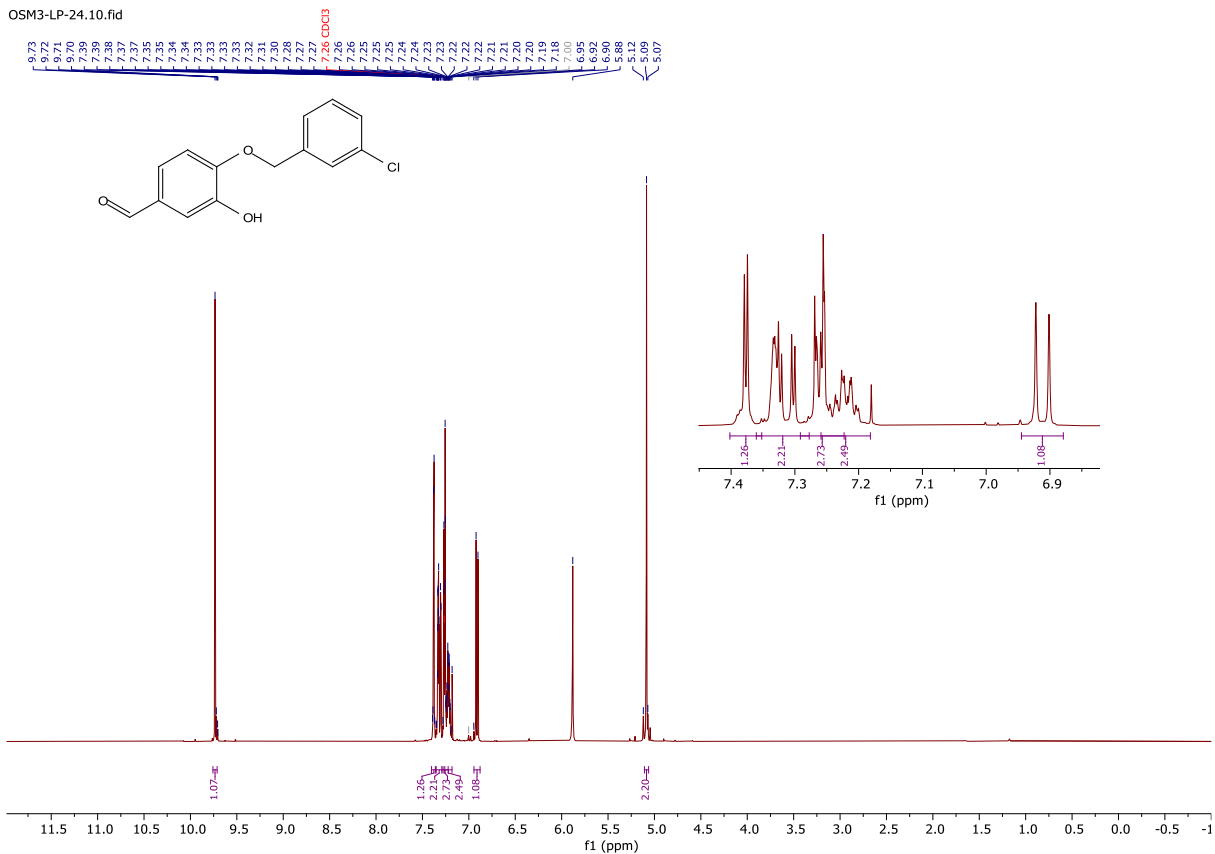
¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆), savienojums **35b**

OSM3-MZ-1237.11.1.1r



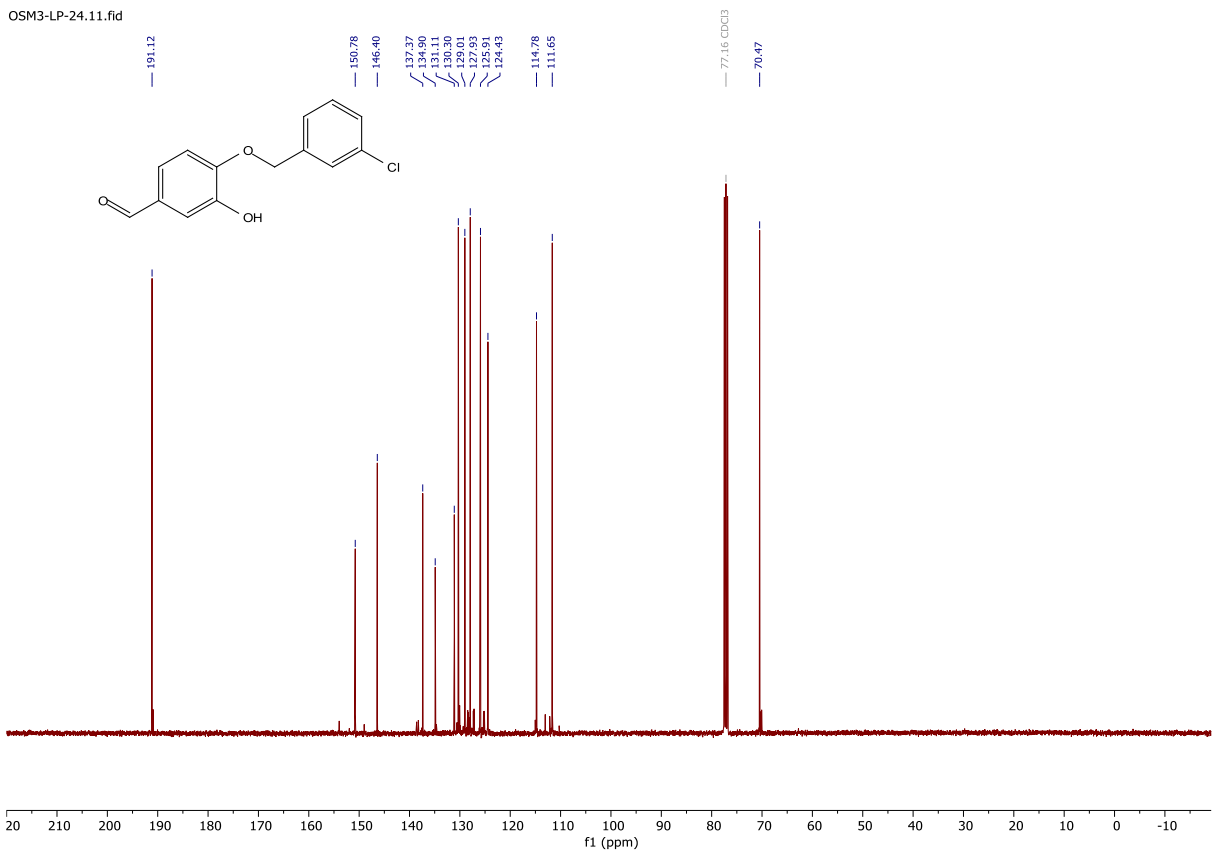
^1H -KMR (400 MHz, CDCl_3), savienojums 37

OSM3-LP-24.10.fid

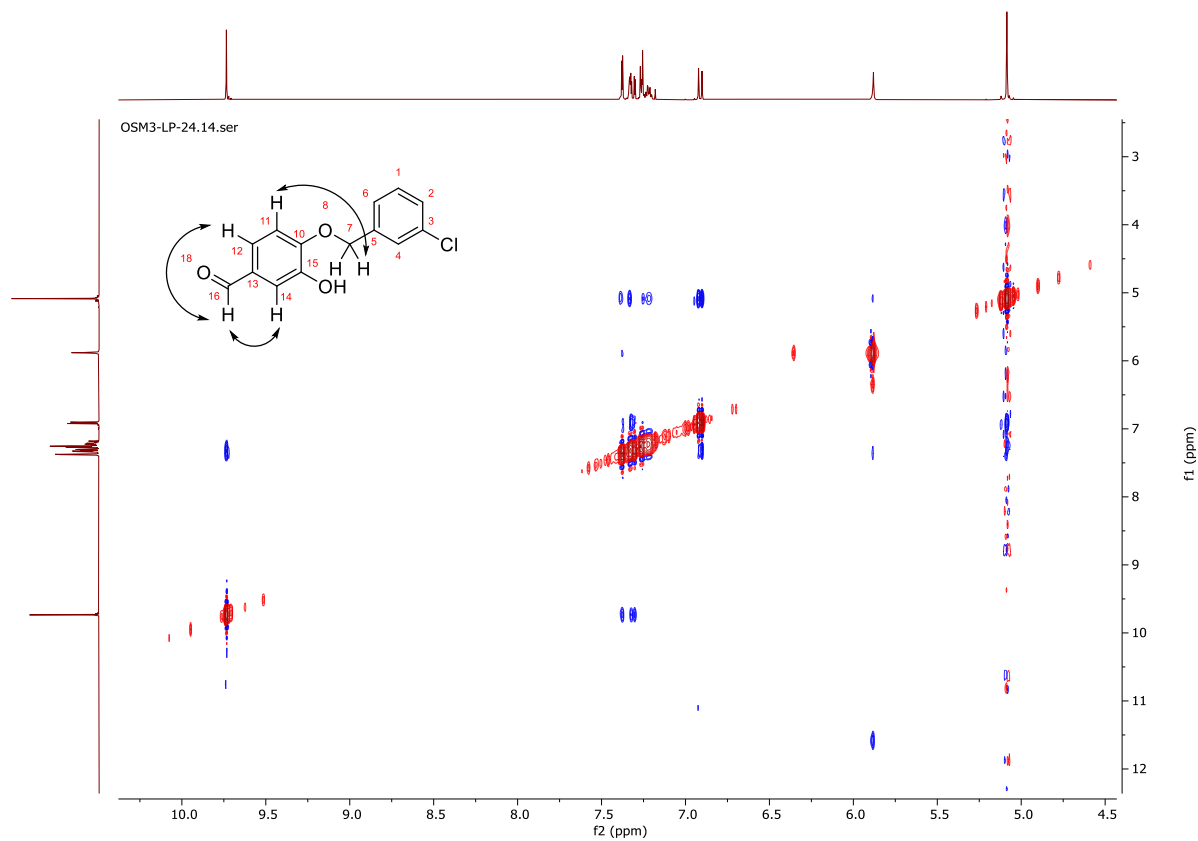


^{13}C -KMR (101 MHz, CDCl_3), savienojums 37

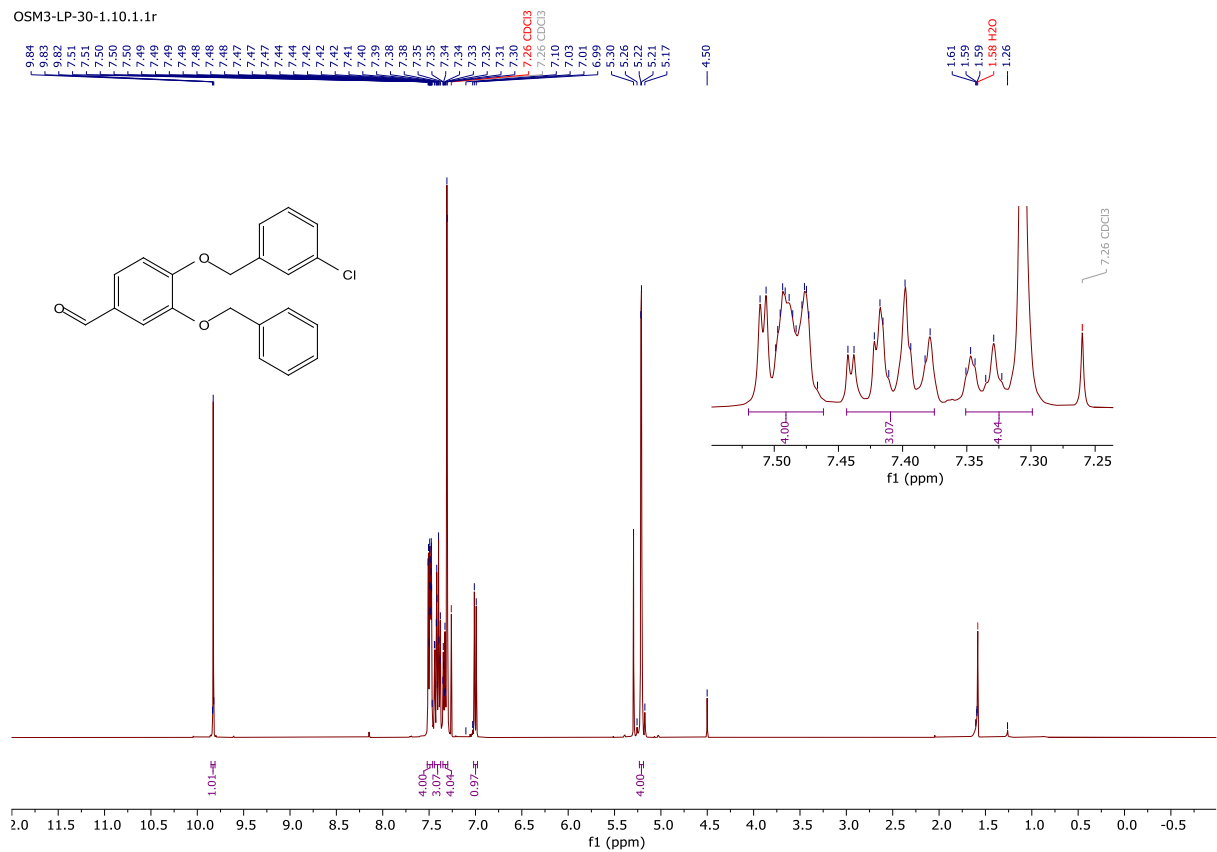
OSM3-LP-24.11.fid



2D NOESY KMR (400 MHz, CDCl₃), savienojums 37

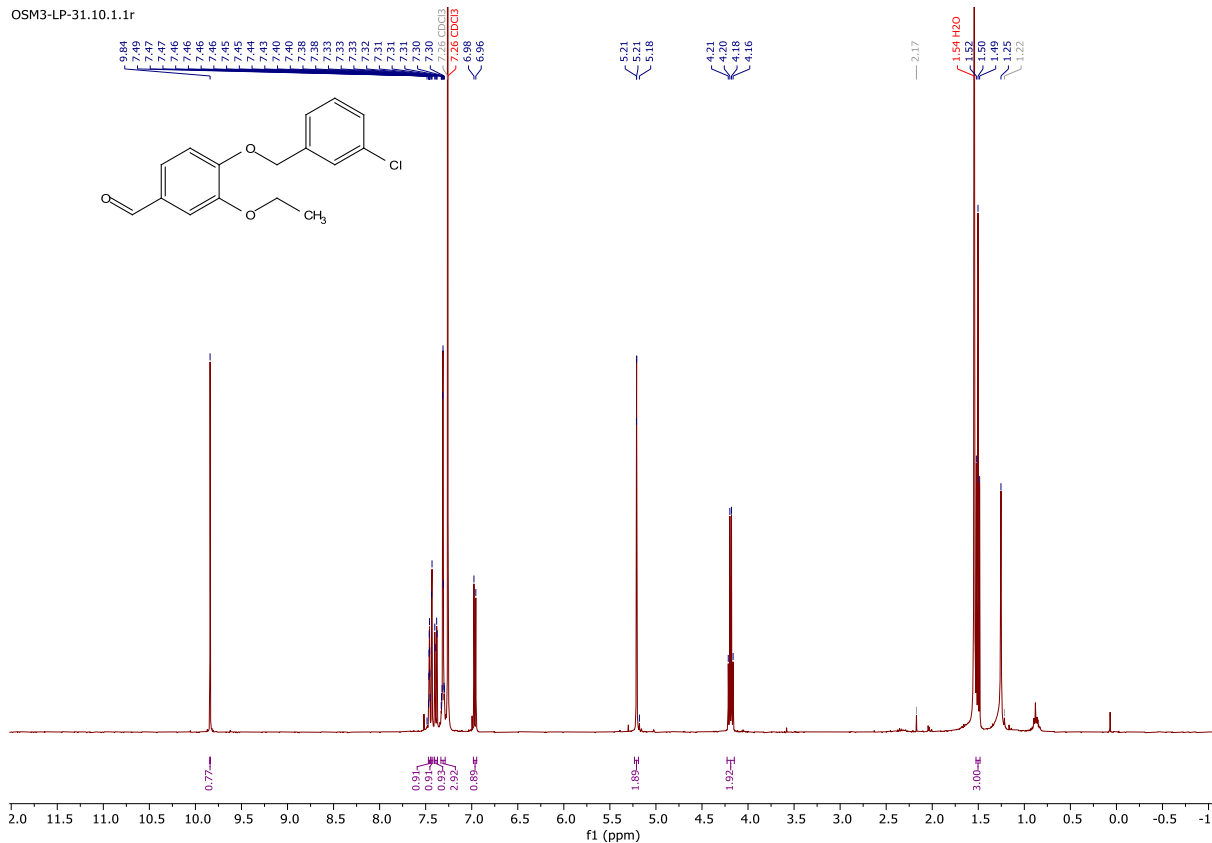


¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃), savienojums 39a



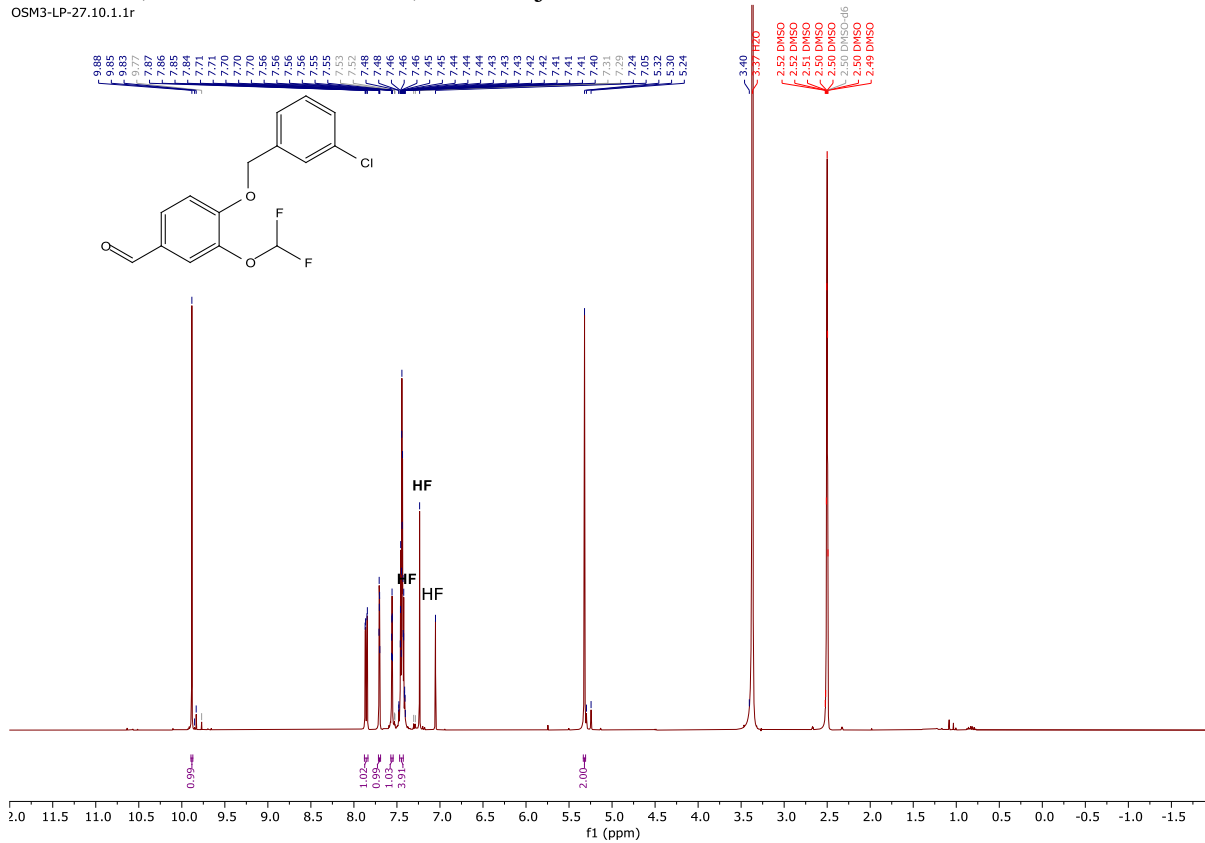
¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃), savienojums **39b**

OSM3-LP-31.10.1.1r



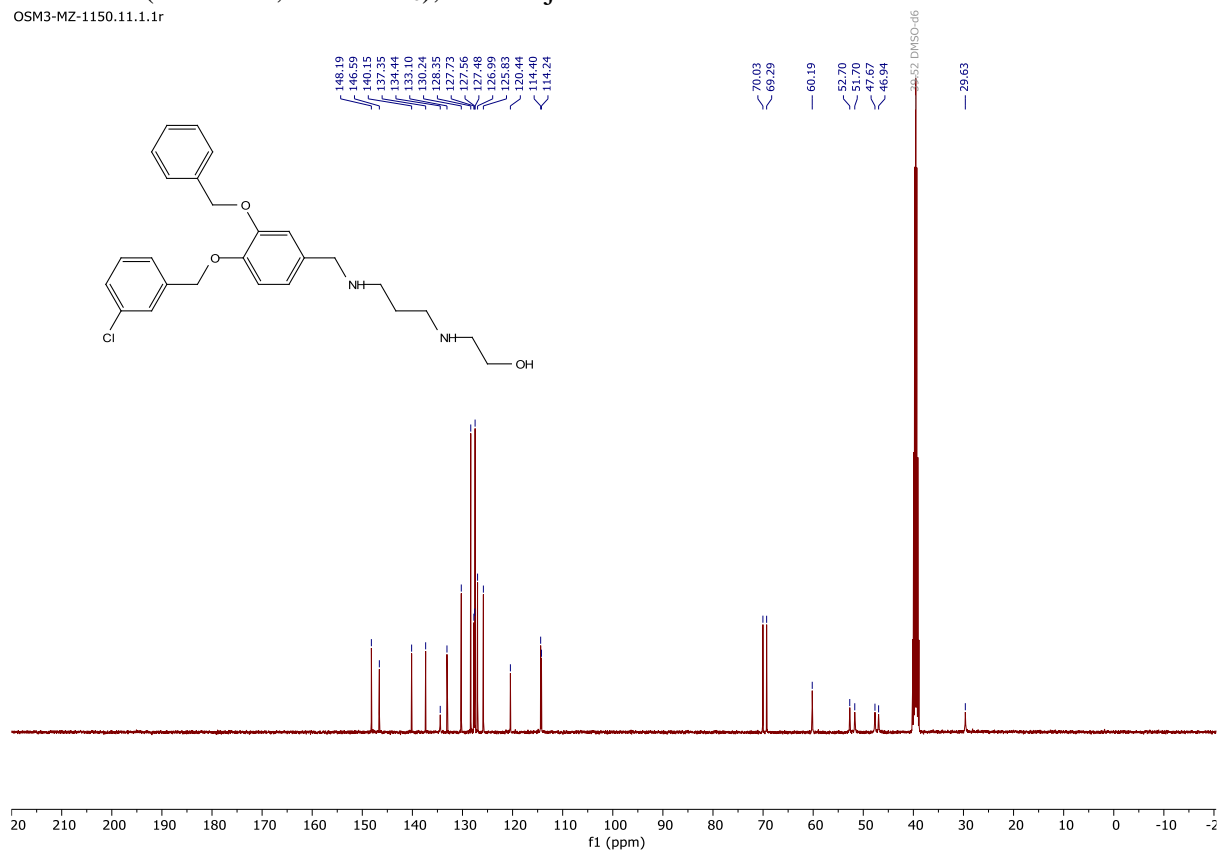
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums **39c**

OSM3-LP-27.10.1.1r



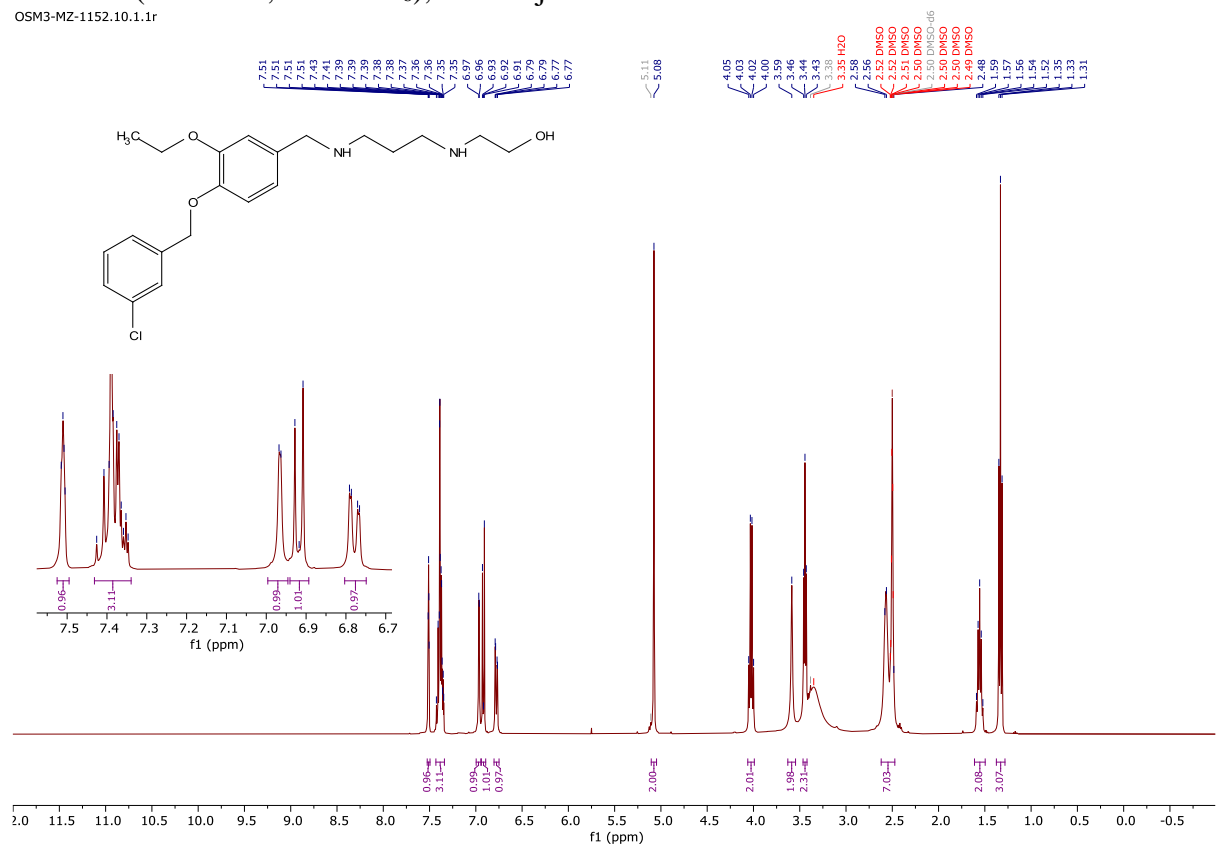
¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆), savienojums 40a

OSM3-MZ-1150.11.1.1r



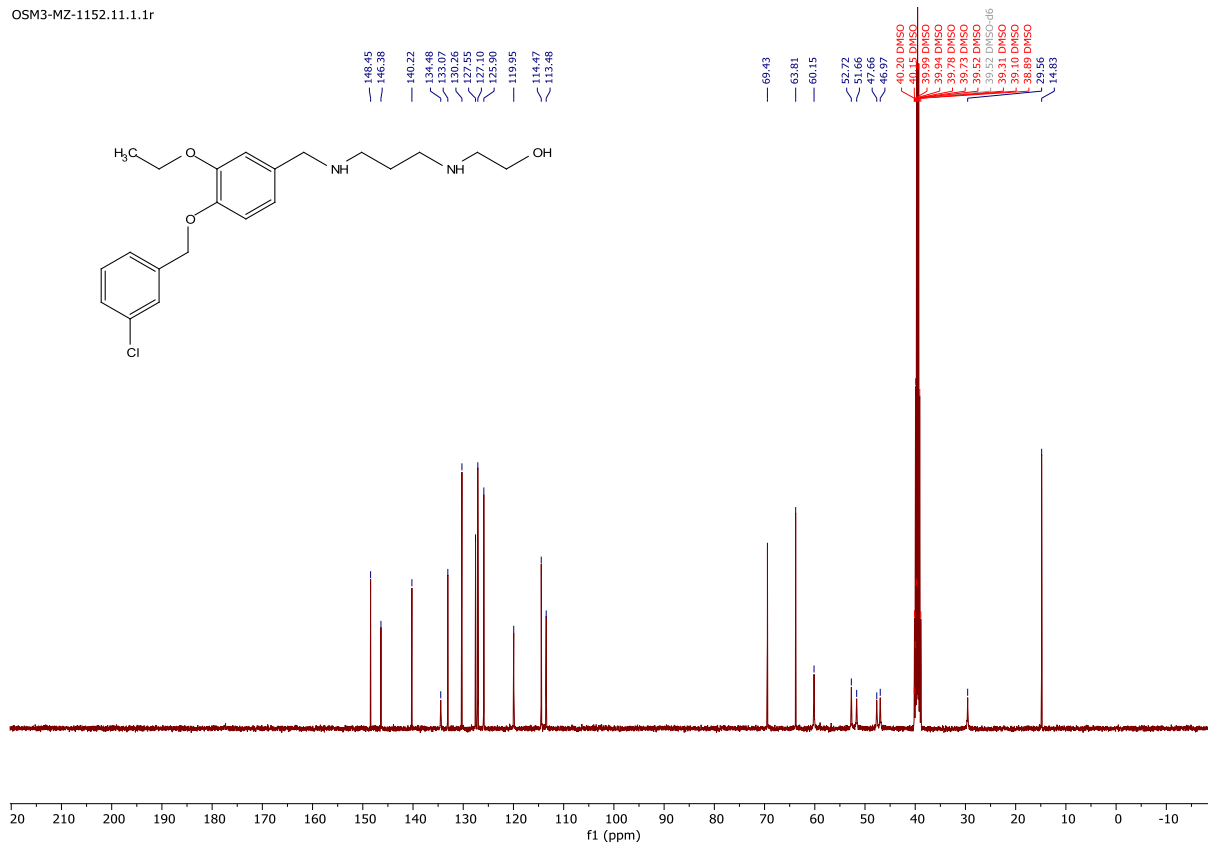
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums 40b

OSM3-MZ-1152.10.1.1r



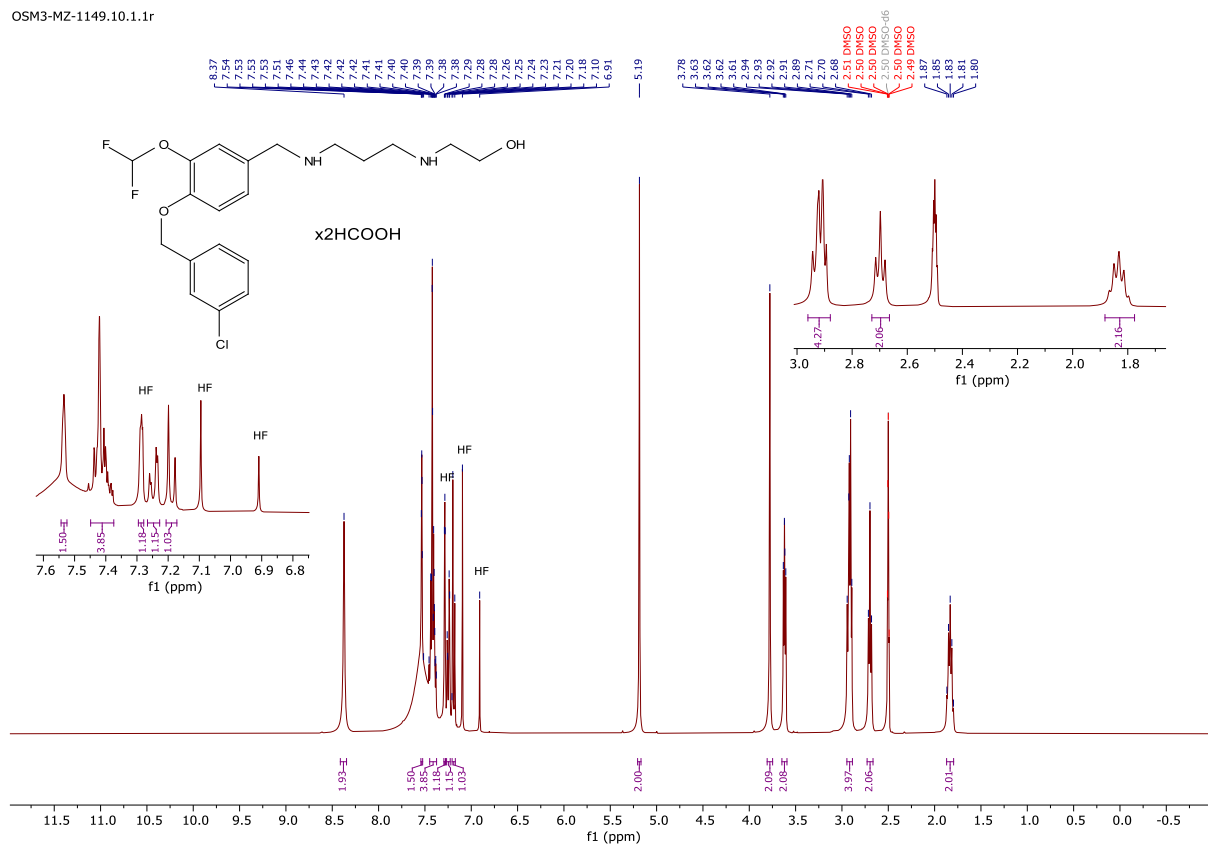
¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆), savienojums **40b**

OSM3-MZ-1152.11.1.1r



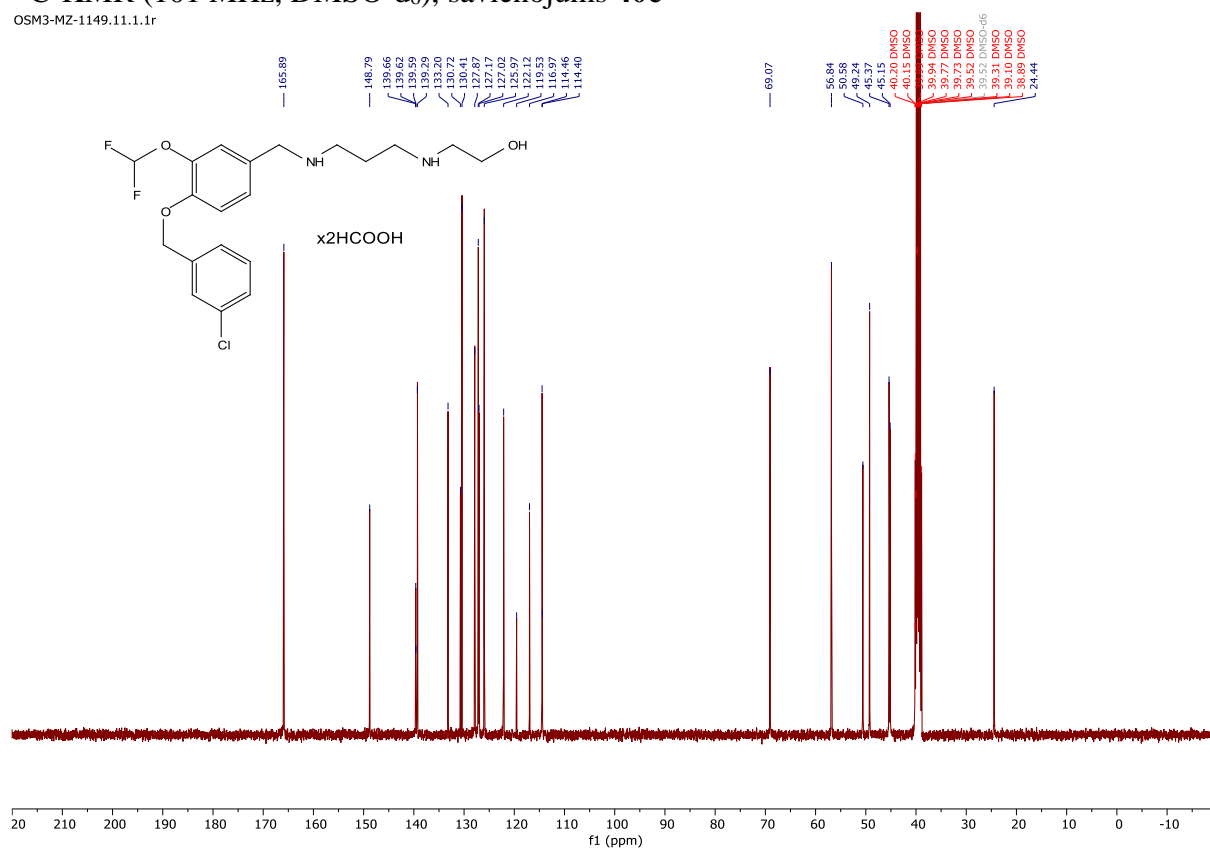
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums **40c**

OSM3-MZ-1149.10.1.1r



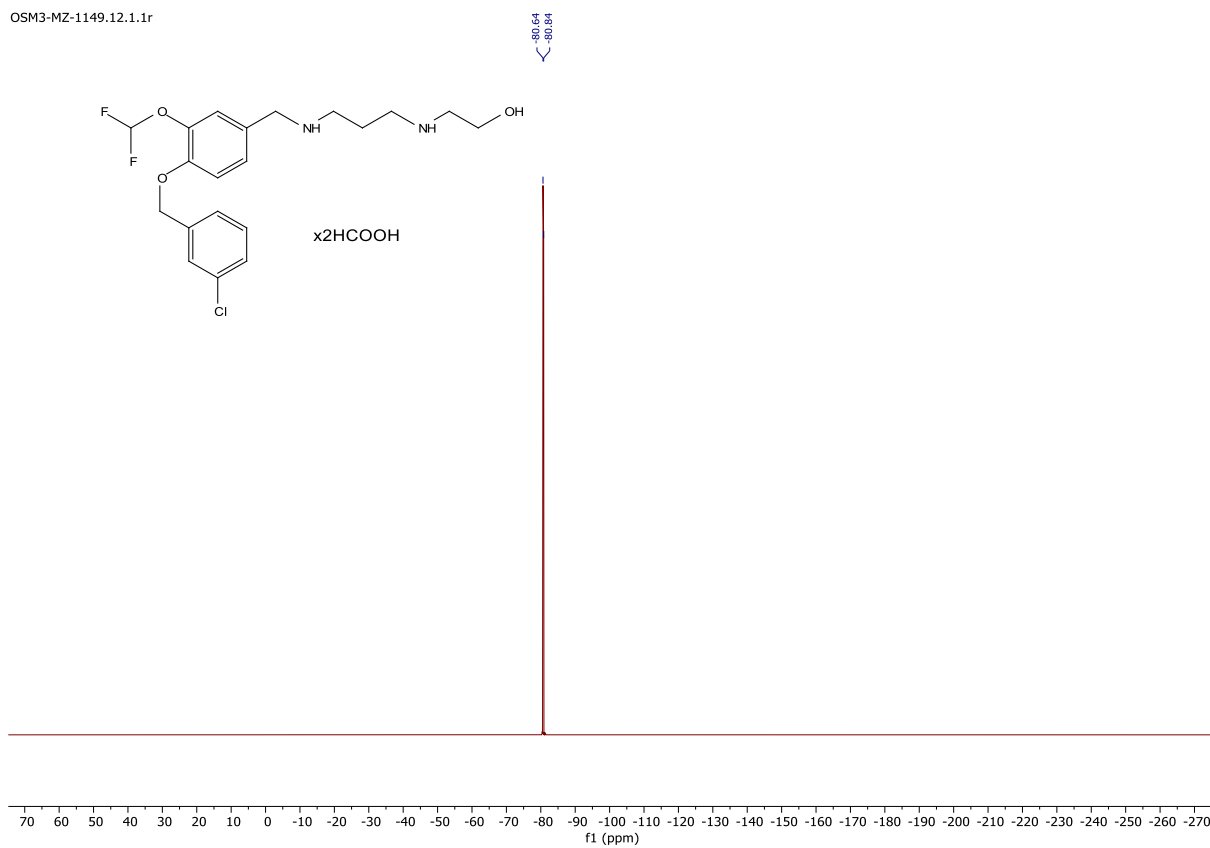
^{13}C -KMR (101 MHz, DMSO- d_6), savienojums **40c**

OSM3-MZ-1149.11.1.1r



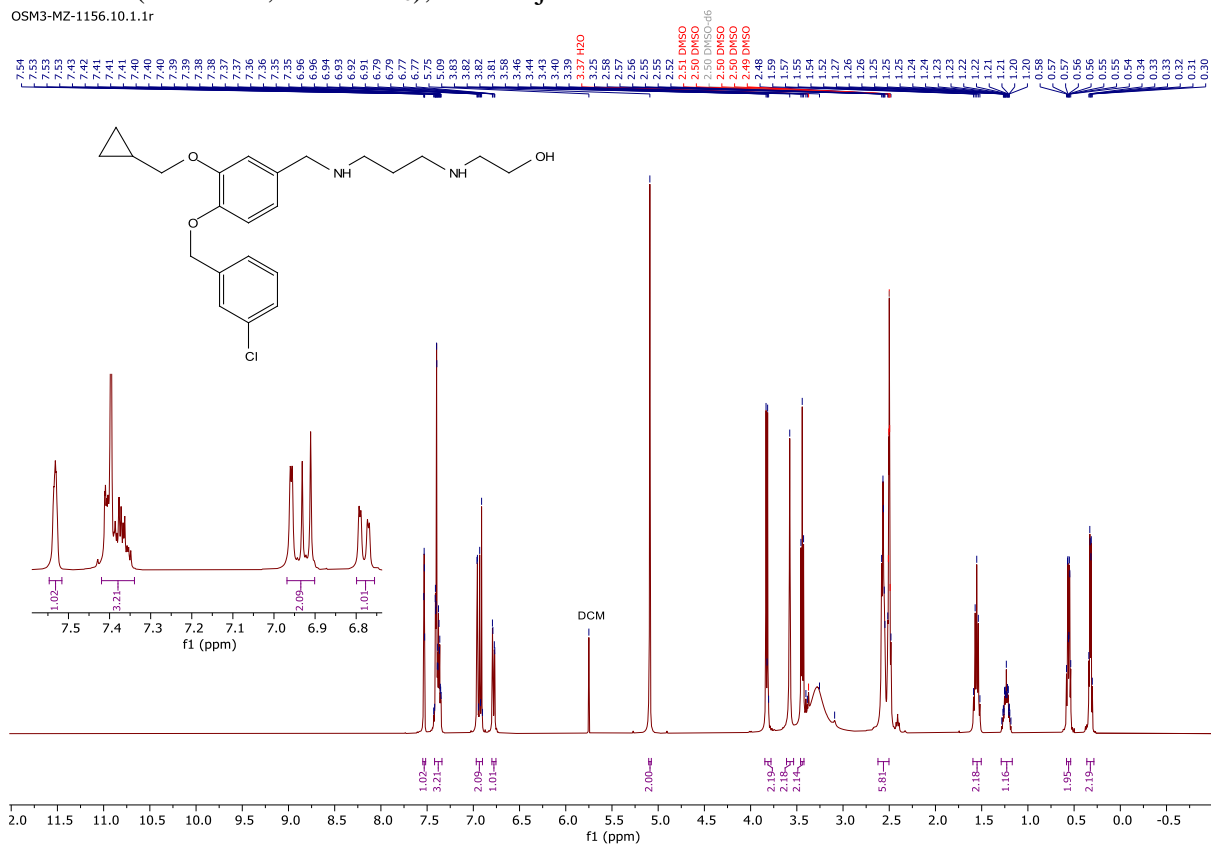
^{19}F -KMR (376 MHz, DMSO- d_6), savienojums **40c**

OSM3-MZ-1149.12.1.1r



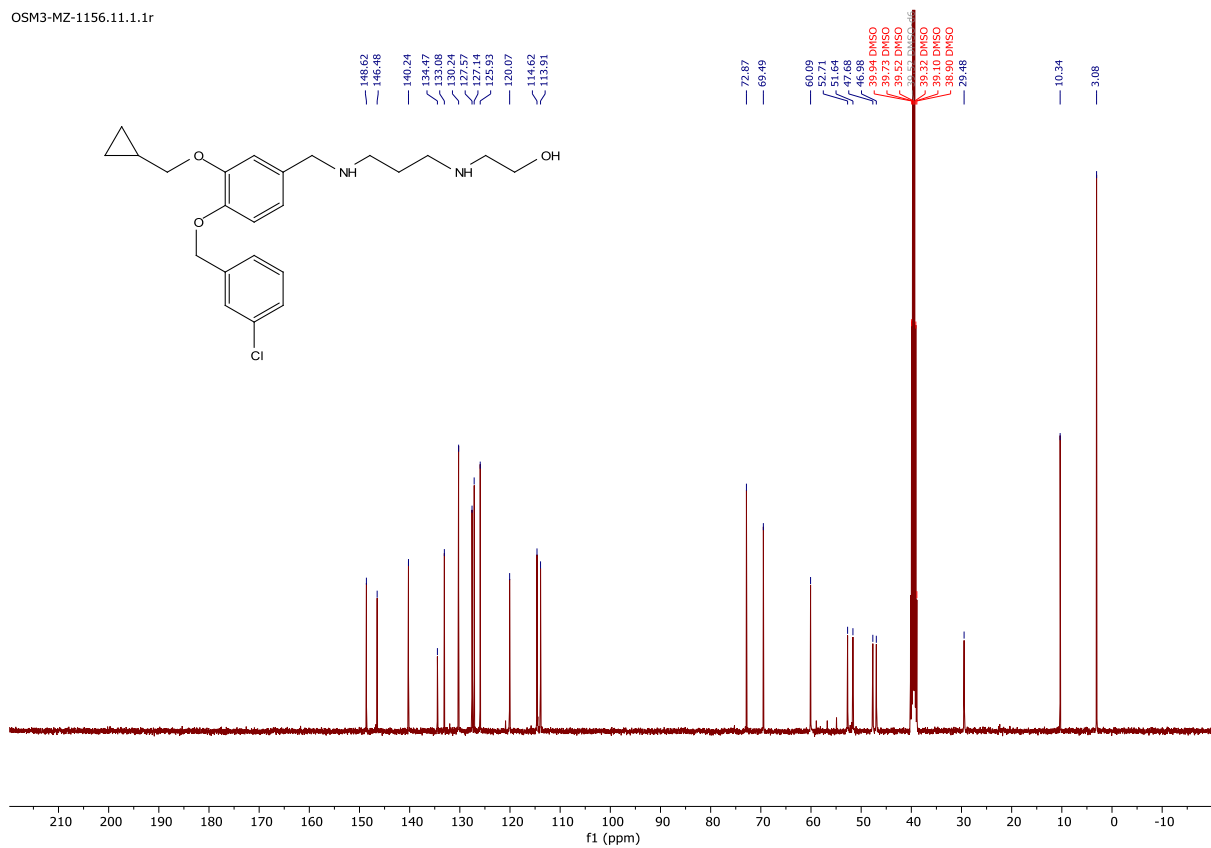
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums 40d

OSM3-MZ-1156.10.1.1r



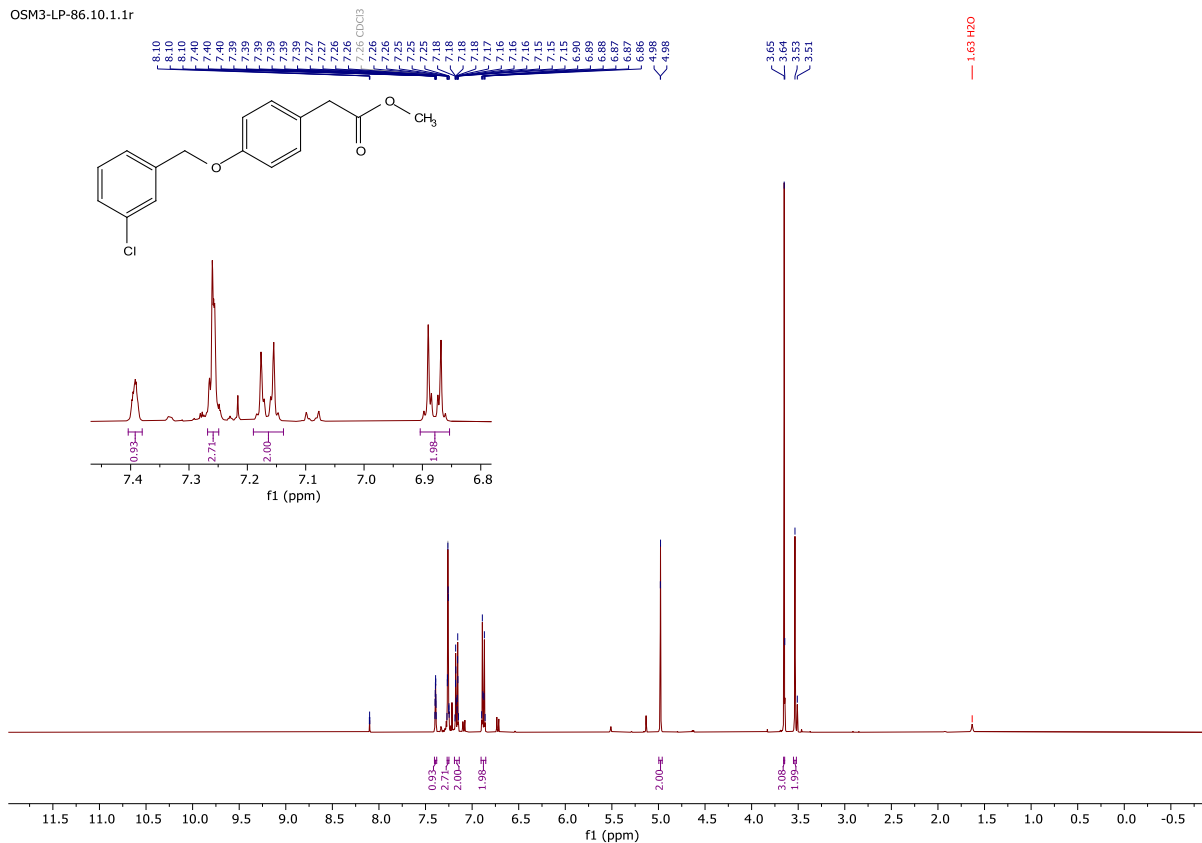
¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆), savienojums 40d

OSM3-MZ-1156.11.1.1r



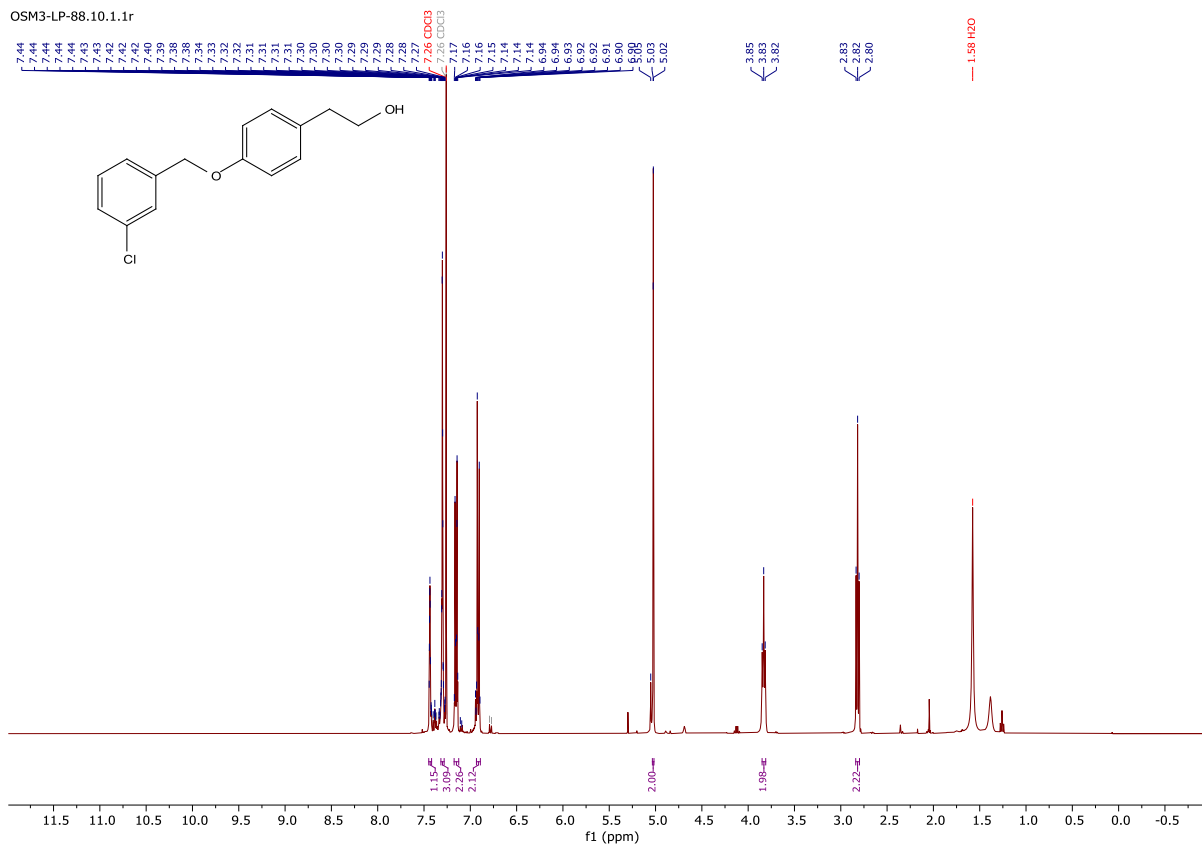
¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃), savienojums 42

OSM3-LP-86.10.1.1r



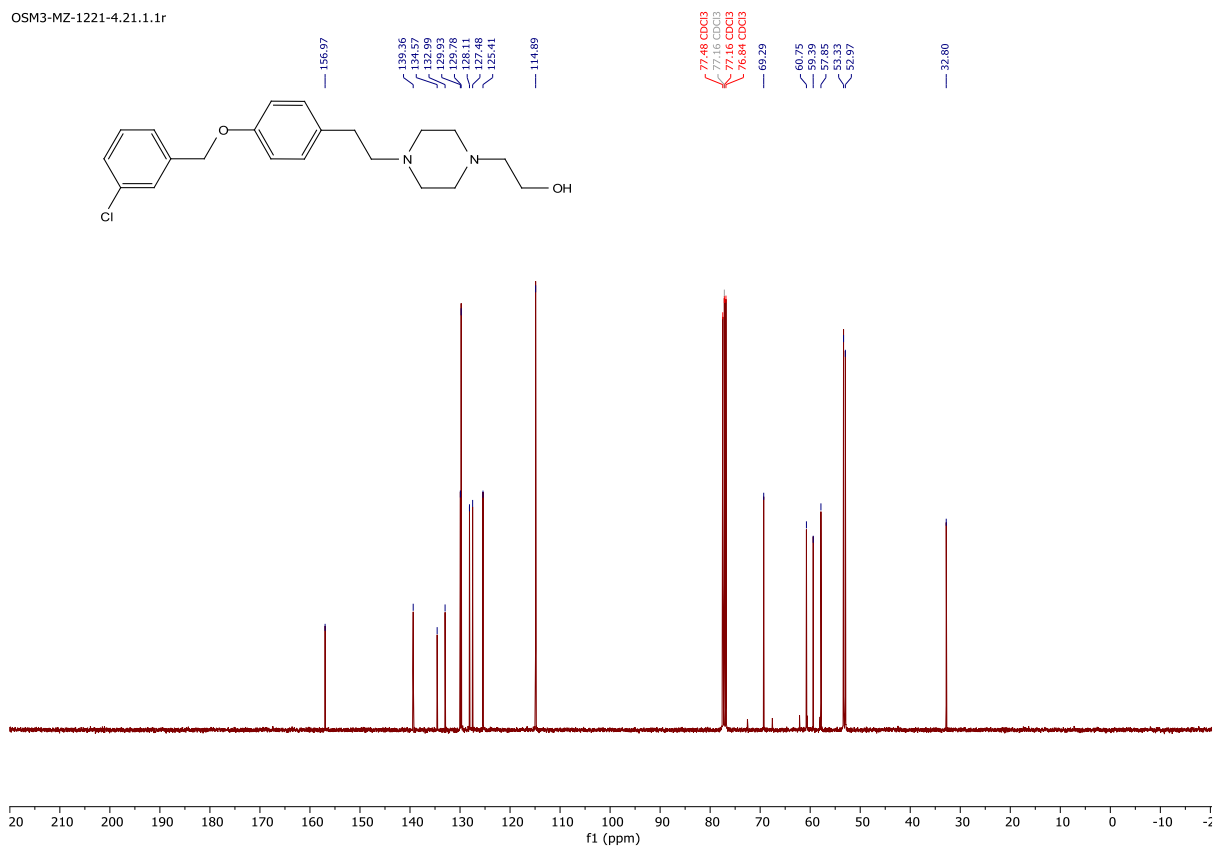
¹H-KMR (400 MHz, CDCl₃), savienojums 43

OSM3-LP-88.10.1.1r



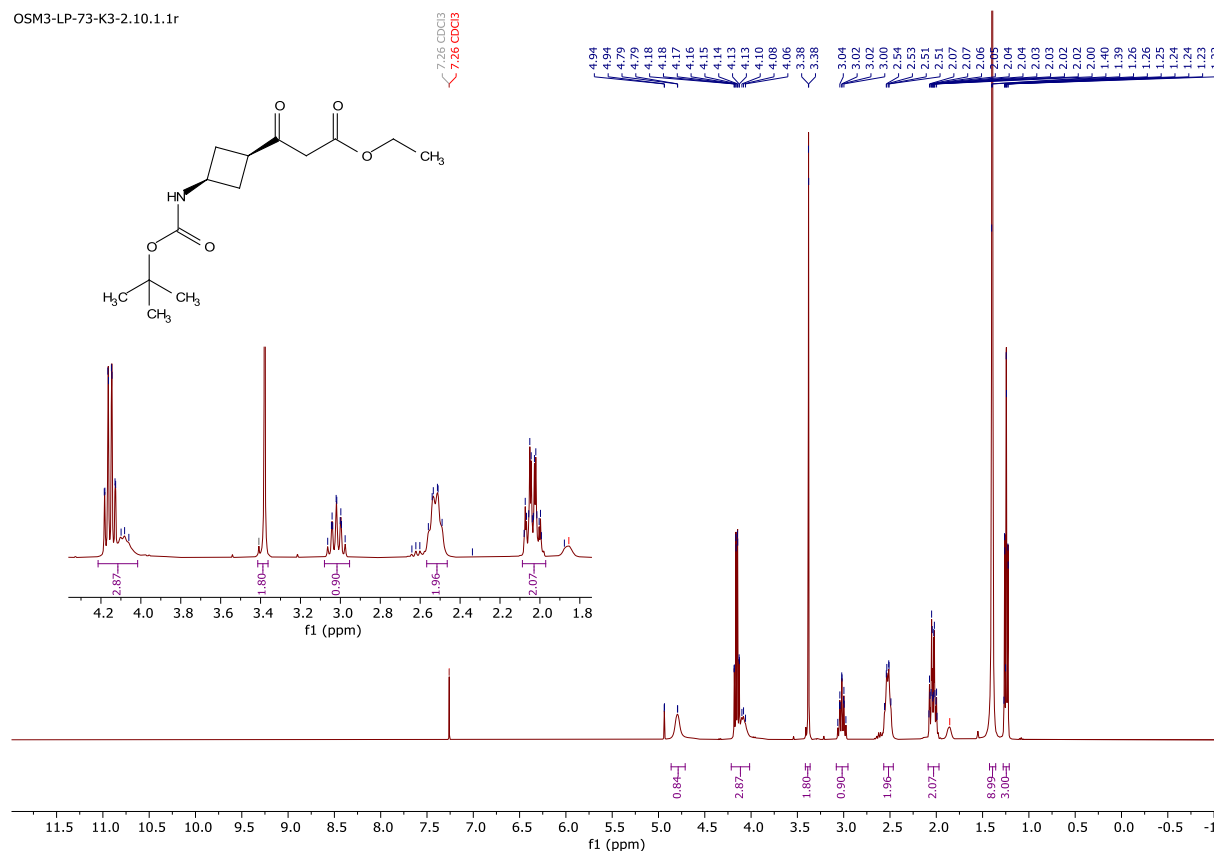
^{13}C -KMR (101 MHz, CDCl_3), savienojums 49

OSM3-MZ-1221-4.21.1.1r



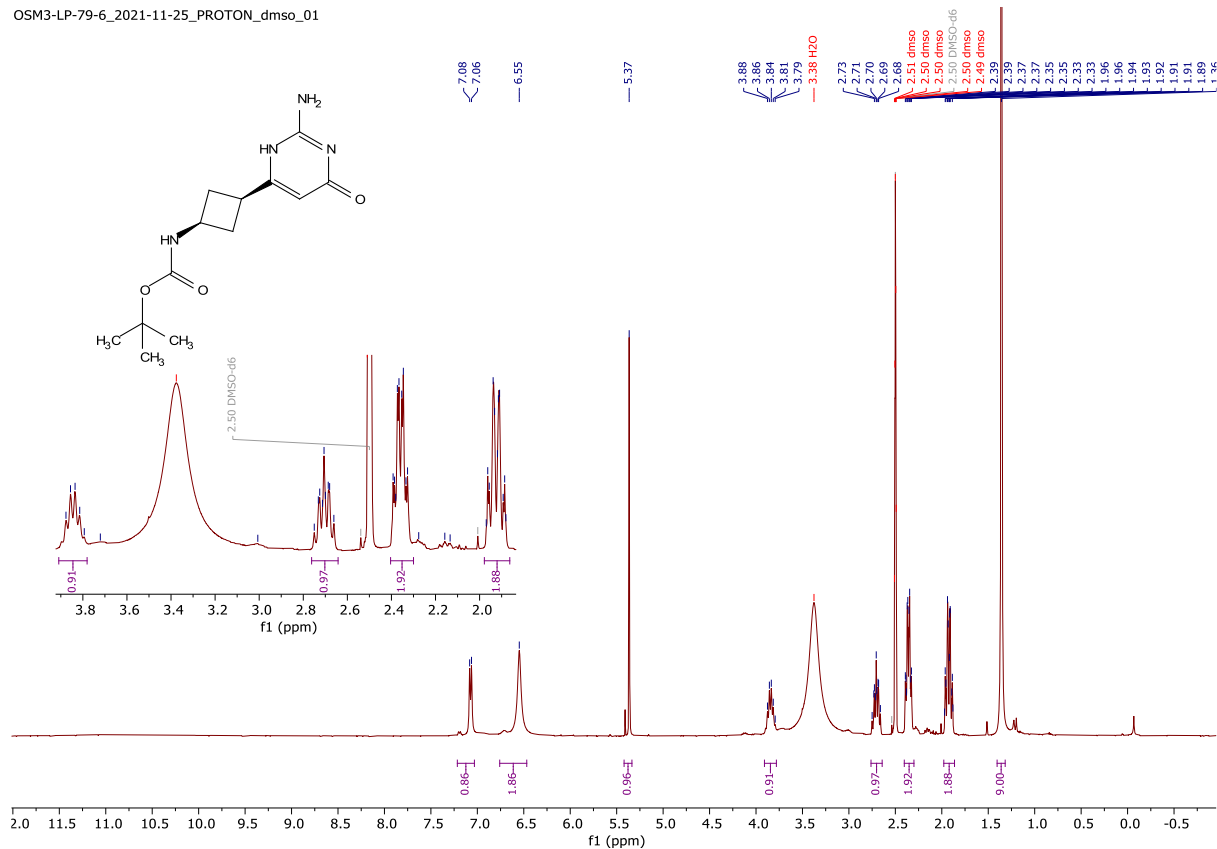
^1H -KMR (400 MHz, CDCl_3), savienojums 52

OSM3-LP-73-K3-2.10.1.1r



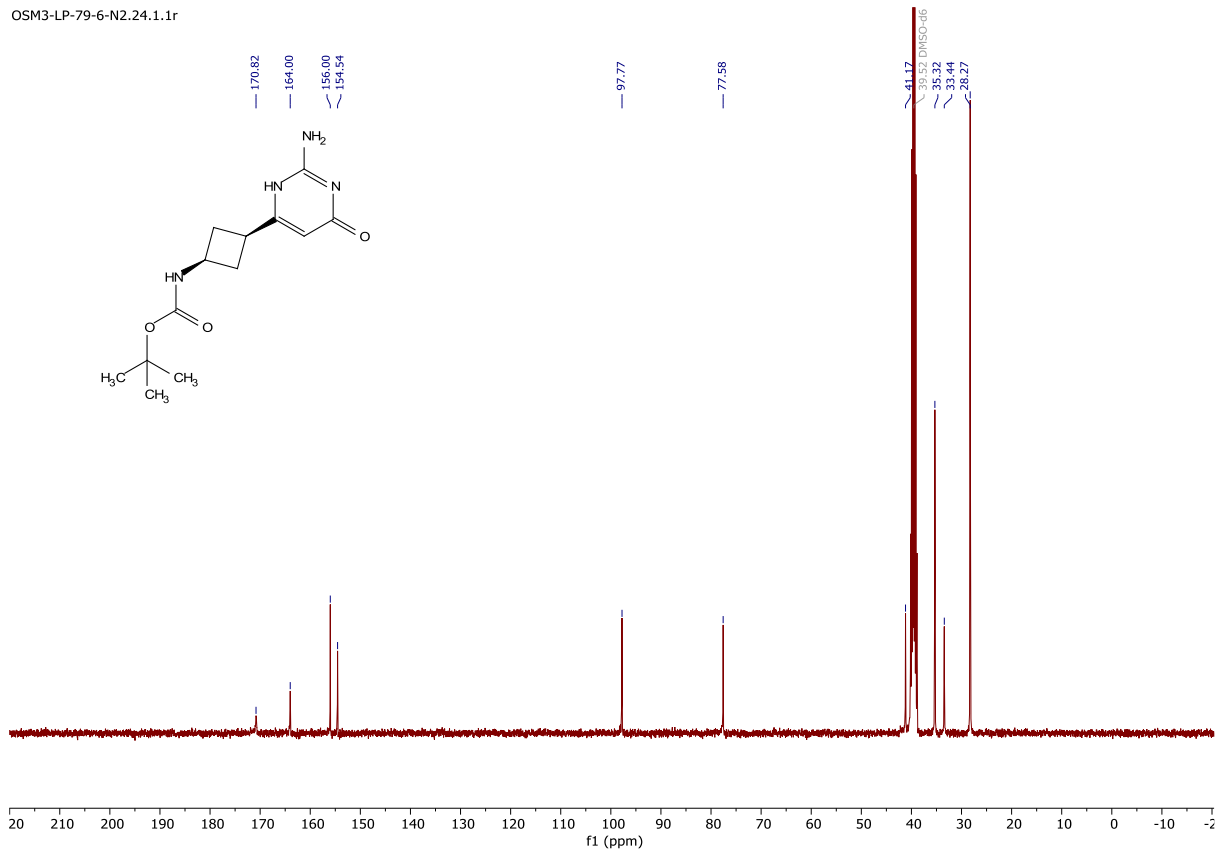
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums 53

OSM3-LP-79-6_2021-11-25_PROTON_dms0_01



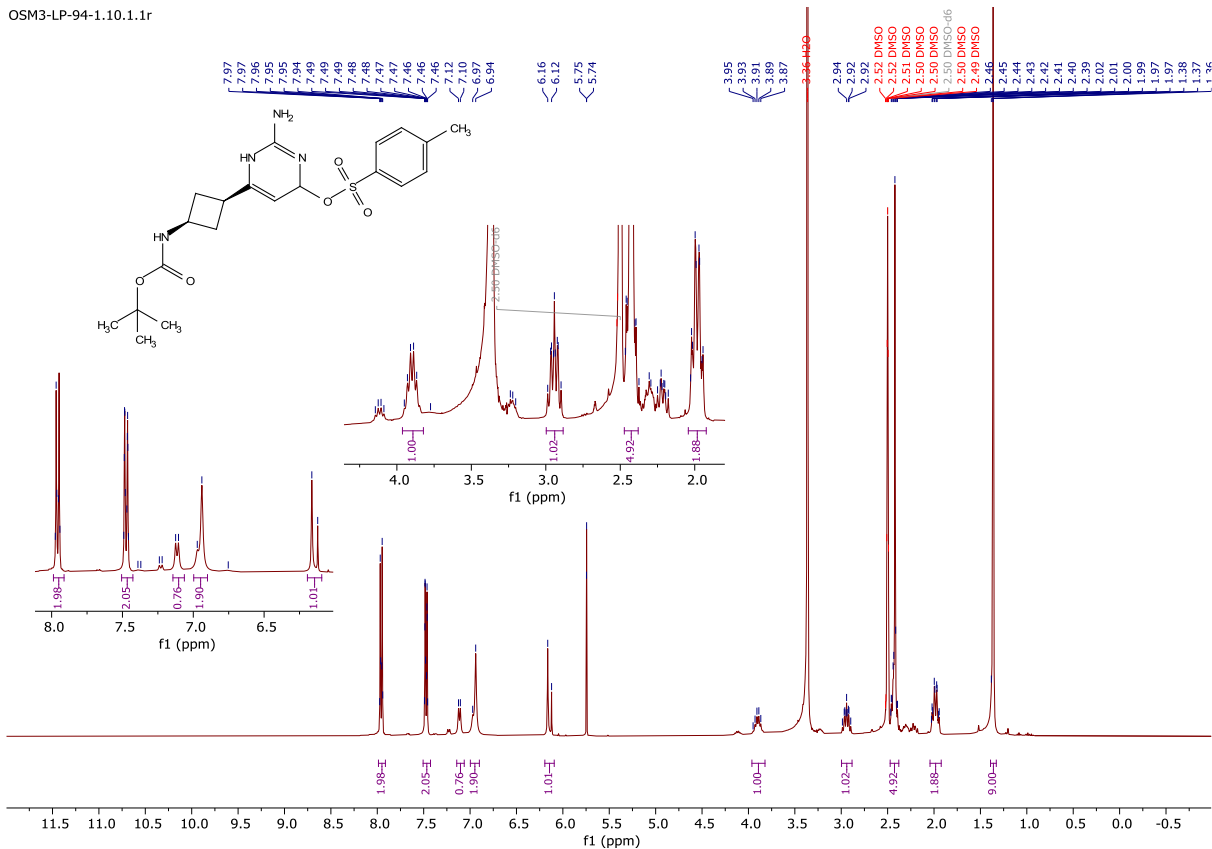
¹³C-KMR (101 MHz, DMSO-d₆), savienojums 53

OSM3-LP-79-6-N2.24.1.1r



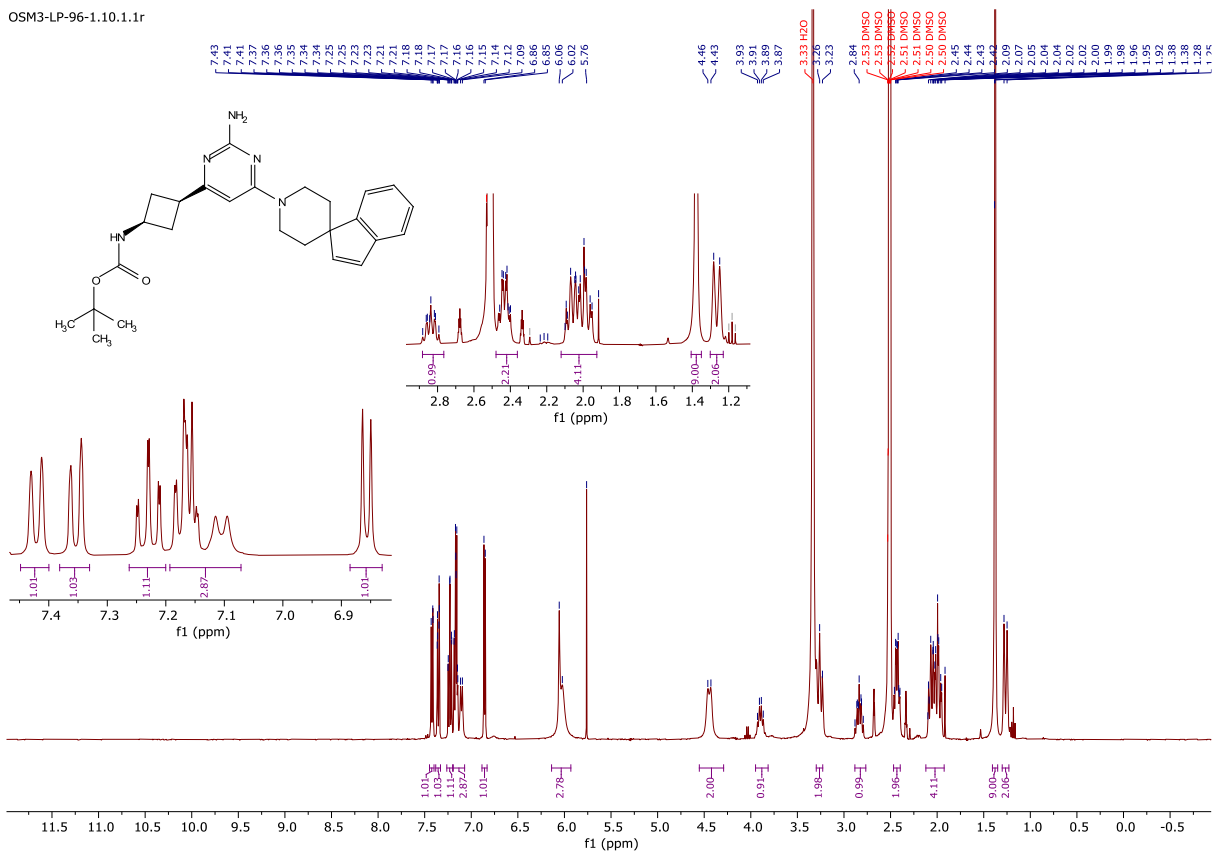
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums 54

OSM3-LP-94-1.10.1.1r



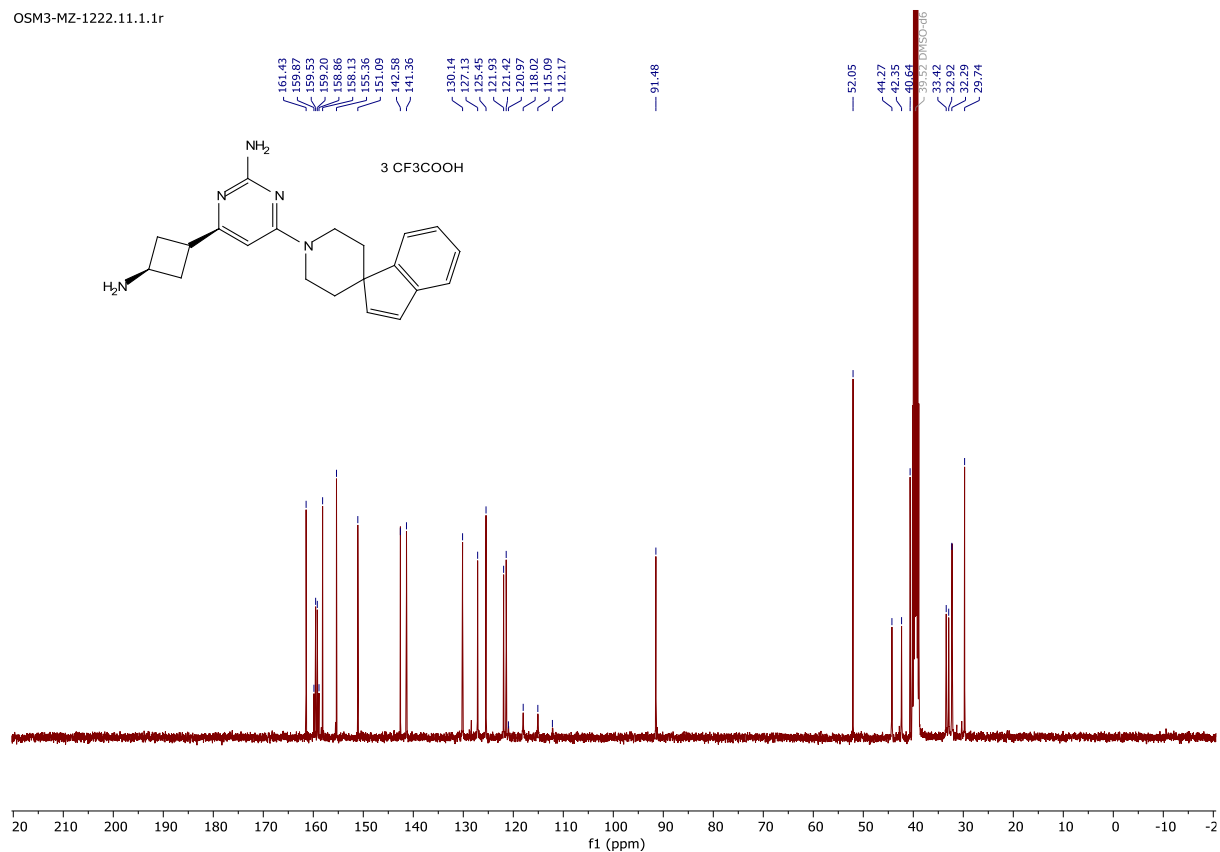
¹H-KMR (400 MHz, DMSO-d₆), savienojums 56a

OSM3-LP-96-1.10.1.1r



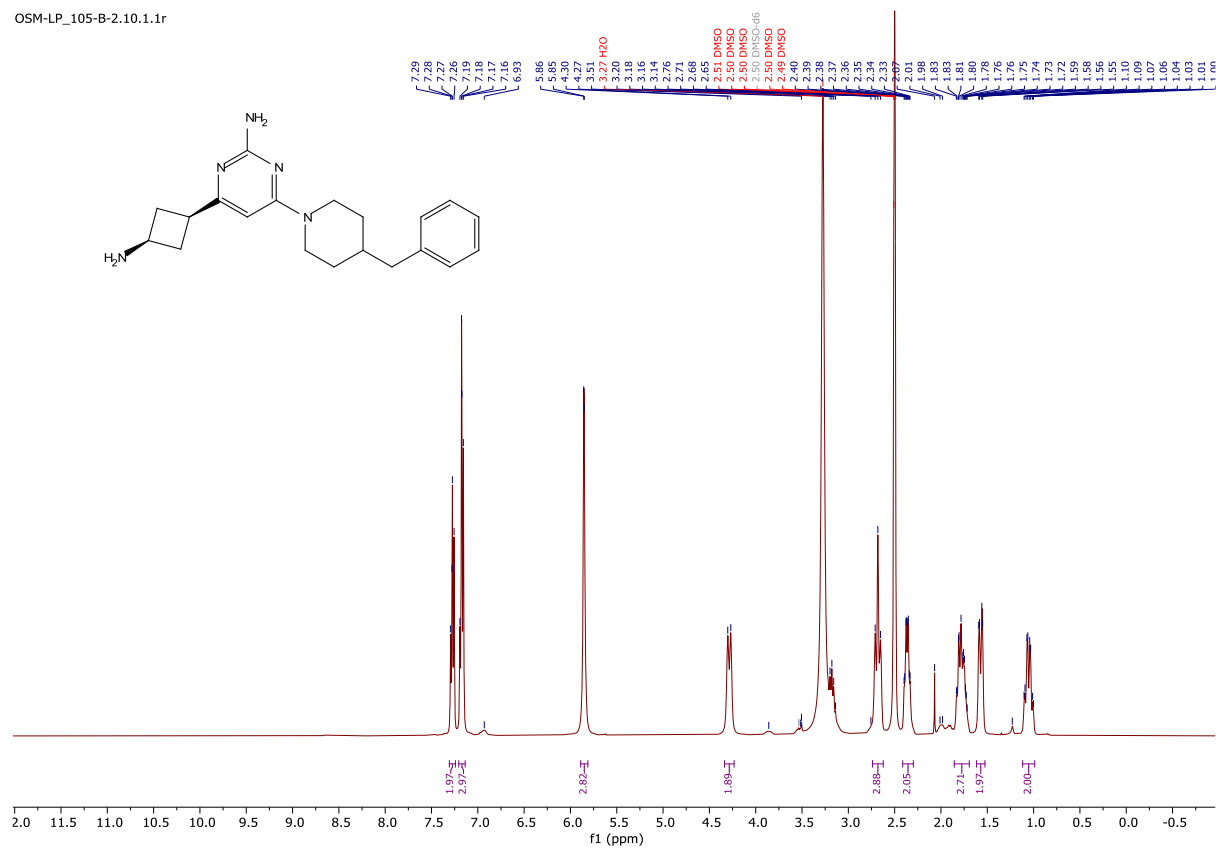
^{13}C -KMR (101 MHz, DMSO- d_6), savienojums **57a**

OSM3-MZ-1222.11.1.1r



^1H -KMR (400 MHz, DMSO- d_6), savienojums **57b**

OSM-LP_105-B-2.10.1.1r



^{13}C -KMR (101 MHz, DMSO- d_6), savienojums **57b**

OSM-LP_105-B-2.111.1.1r

