

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕИТ

имени М. В. ЛОМОНОСОВА

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Станишевский Владислав Витальевич

Актуальные проблемы спектроскопии ЯМР ^{15}N

1.4.3. Органическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научный руководитель:

Доктор химических наук,

Чертков Вячеслав Алексеевич

Москва – 2024

Оглавление

1.	Введение	4
2.	Обзор литературы	8
2.1.	<i>Синтез ^{15}Nобогащенных соединений и их применение.....</i>	<i>8</i>
2.1.1.	Введение изотопной метки через ^{15}N азотную кислоту и ^{15}N нитраты	9
2.1.2.	Введение изотопной метки с использованием ^{15}N нитрита натрия	14
2.1.3.	Введение изотопной метки через $\text{CH}_3^{15}\text{NO}_2$	17
2.1.4.	Введение изотопной метки через цианиды металлов.....	18
2.1.5.	Введение изотопной метки через $^{15}\text{NH}_2\text{OH}$	23
2.1.6.	Введение изотопной метки через аммиак и соли аммония	25
2.1.7.	Введение изотопной метки с использованием $^{15}\text{N}_2$ мочевины и $^{15}\text{N}_3$ гуанидина.....	39
2.1.8.	Введение изотопной метки через глицин.....	41
2.1.9.	Использование фталимида.....	44
2.2.	<i>Экспериментальные особенности наблюдения сигналов ЯМР ядер ^{15}N.....</i>	<i>47</i>
2.2.1.	Прямое наблюдение	48
2.2.2.	Прямое наблюдение с использованием передачи поляризации	49
2.2.3.	Инверсионно-градиентная регистрация.....	50
2.3.	<i>Параметры спектров ЯМР ^{15}N.....</i>	<i>51</i>
2.3.1.	Химический сдвиг ядра ^{15}N	52
2.3.2.	КССВ	55
2.3.3.	Использование параметров спектров ЯМР ^{15}N в структурных исследованиях.....	56
2.4.	<i>Квантово-химические расчеты параметров спектров ЯМР ^{15}N.....</i>	<i>60</i>
2.4.1.	Квантово-химические расчеты химического сдвига ядра ^{15}N	61
2.4.2.	Расчеты КССВ с участием ядра ^{15}N	63
2.4.3.	Сольватационные эффекты при расчете параметров спектров ЯМР	66
3.	Обсуждение результатов	68
3.1.	<i>Синтез обогащенных соединений.....</i>	<i>68</i>
3.1.1.	Синтез изотопологов бензамида	69
3.1.2.	Синтез ^{15}N анилина	71
3.1.3.	Синтез ^{15}N индола	73
3.1.4.	Синтез производных ^{15}N бензилиденанилинов и ^{15}N бензиланилинов.....	75
3.2.	<i>Спектрально-структурная информация синтезированных обогащенных соединений.....</i>	<i>79</i>
3.2.1.	ЯМР спектры изотопологов бензамида	79
3.2.2.	ЯМР спектры ^{15}N индола	93
3.2.3.	Расшифровка мультиплетной структуры спектра ЯМР ^1H индола.....	106
3.3.	<i>Динамическая структура бензамида по данным спектроскопии ЯМР и квантово-химических расчётов.....</i>	<i>109</i>
3.4.	<i>Квантово-химический расчет параметров спектров ЯМР ^{15}N.....</i>	<i>116</i>
3.4.1.	Выбор объектов	117
3.4.2.	Выбор метода расчета и набора базисных функций для расчета КССВ	120
3.4.3.	Проведение предварительных квантово-химических расчетов	121
3.4.4.	Определение знака КССВ $^nJ_{\text{CN}}$	122
3.4.5.	Расчет КССВ $^nJ_{\text{CN}}$ в серии нитрилов	123
3.4.6.	Расчет КССВ $^nJ_{\text{CN}}$ в серии изонитрилов.....	126
3.4.7.	Расчет КССВ $^nJ_{\text{CN}}$ в серии ароматических нитросоединений.....	129
3.4.8.	Расчет КССВ $^nJ_{\text{CN}}$ в серии шестичленных азотсодержащих гетероциклов	130
3.4.9.	Расчет КССВ $^nJ_{\text{CN}}$ в серии пятичленных азотсодержащих гетероциклов	133
3.4.10.	Расчет КССВ $^nJ_{\text{CN}}$ в серии анилинов и анилиновых ионов.....	135
3.4.11.	Расчет химических сдвигов ядер ^{15}N	139
3.5.	<i>Конформационные равновесия</i>	<i>140</i>

3.5.1.	Выбор объектов	141
3.5.2.	Протонирование исследуемых соединений	144
3.5.3.	Расчет сечения ППЭ внутреннего вращения	147
3.5.4.	Расчет констант спин-спинового взаимодействия	155
4.	Экспериментальная часть	157
4.1.	<i>Синтез соединений</i>	157
4.1.1.	Синтез [D ₅]бромбензола	158
4.1.2.	Синтез [D ₅]бензойной кислоты	158
4.1.3.	Синтез [D ₅]бензоилхлорида	159
4.1.4.	Синтез [D ₅]бензамида	159
4.1.5.	Синтез [² H ₅ , ¹⁵ N]бензамида.....	160
4.1.6.	Синтез [¹⁵ N]бензамида	161
4.1.7.	Синтез [¹⁵ N]N-бромбензамида	162
4.1.8.	Синтез [¹⁵ N]анилина	162
4.1.9.	Синтез [¹⁵ N]2-(Гидроксиимино)-N-фенилацетамида	163
4.1.10.	Синтез [¹⁵ N]индол-2,3-диона.....	164
4.1.11.	Синтез [¹⁵ N]индола	165
4.1.12.	Синтез [¹⁵ N]N-бензилиденанилина.....	166
4.1.13.	Синтез [¹⁵ N]N-(<i>орто</i> -метилбензилиден)анилина	166
4.1.14.	Синтез [¹⁵ N] <i>орто</i> -фторбензилиденанилина.....	167
4.1.15.	Синтез [¹⁵ N] <i>орто</i> -гидроксibenзилиденанилина	168
4.1.16.	Синтез [¹⁵ N] <i>орто</i> -метоксибензилиденанилина	168
4.1.17.	Синтез [¹⁵ N]N-безиланилина	169
4.1.18.	Синтез [¹⁵ N] <i>орто</i> -метилбензиланилина	170
4.1.19.	Синтез [¹⁵ N] <i>орто</i> -фторбензиланилина	170
4.1.20.	Синтез [¹⁵ N] <i>орто</i> -гидроксibenзиланилина	171
4.1.21.	Синтез [¹⁵ N] <i>орто</i> -метоксибензиланилина	172
4.2.	<i>Регистрация спектров ЯМР</i>	173
4.3.	<i>Регистрация масс-спектров</i>	174
4.4.	<i>Проведение квантово-химических расчетов параметров спектров ЯМР</i>	174
5.	Заключение	175
6.	Список литературы.....	178

1. Введение

Актуальность исследования. Настоящая работа является частью проводимых на кафедре органической химии систематических исследований структуры и свойств органических соединений. Особый интерес представляют азотсодержащие соединения благодаря исключительной важности знания их физических и химических свойств, для понимания механизмов поведения живых систем и создания новых лекарственных препаратов. Существенную информацию о структуре и свойствах органических соединений дает спектроскопия ЯМР. Для азотсодержащих соединений естественный интерес представляет магнитные свойства ядер азота. Основным изотопом азота является квадрупольное ядро ^{14}N . Сигналы в спектрах ЯМР ^{14}N из-за квадрупольных свойств этих ядер могут иметь короткие времена релаксации T_1 , что делает эти спектры малоинформативными. Напротив, минорный изотоп ^{15}N имеет спин $\frac{1}{2}$ и приемлемые для регистрации спектров ЯМР времена релаксации, однако на природном содержании (0.38%) в спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C соответствующие сателлитные сигналы оказываются, как правило, слишком слабыми для того, чтобы извлечь информацию о величинах КССВ с участием ^{15}N . Использование ^{15}N меченых соединений позволяет получить принципиально новую спектроструктурную информацию.

В настоящей работе синтезирован ряд модельных ^{15}N -обогащенных соединений и проведен анализ их спектров ЯМР с целью извлечения точных и надежных параметров спектров ЯМР ^{15}N и параметров молекулярной динамики в этих системах. Актуально создание на этой базе новых методов получения информации о структуре и свойствах азотсодержащих соединений.

Степень разработанности темы. К настоящему времени в литературе достаточно широко представлены синтезы различных ^{15}N -обогащенных органических соединений и их применение. Однако данные не систематизированы по источникам изотопных меток и синтетическим путям, что может не до конца раскрывать синтетический потенциал различных методов введения изотопной метки.

Анализ малых молекул остаётся актуальной задачей в структурной органической химии. В частности, несмотря на кажущуюся простоту молекулы бензамида, значительное количество спектральной ЯМР информации к началу настоящей работы оставалось нераскрытой.

Получившие в последнее время широкое распространение методы двумерной спектроскопии ЯМР COSY, ^{13}C -HSQC и ^{13}C -HMBC могут быть недостаточно эффективными, в частности, для полиядерных азотсодержащих гетероциклов. В этом плане перспективными представляются методики, основанные на параметрах спектров ЯМР ^{15}N . Однако, получение критически значимой структурной информации может потребовать знания опорных значений для межжольцевых КССВ ^1H - ^{15}N , которые к началу настоящей работы были мало изучены.

В литературе представлены многочисленные разрозненные данные по КССВ ^{13}C - ^{15}N . В подавляющем большинстве случаев не были установлены знаки этих констант.

Теоретический анализ этих параметров проведен не был. Всё это ограничивало возможность их использования в структурном анализе.

Целью работы является разработка оригинальных подходов получения новой спектроскопической информации с использованием ^{15}N обогащённых соединений: химических сдвигов ЯМР ^{15}N , КССВ ^{13}C - ^{15}N и ^1H - ^{15}N , изотопных сдвигов ядер ^{13}C , вызванных заменой $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$.

Задачами работы были:

1. Синтез модельных ^{15}N обогащенных соединений: $[\text{}^2\text{H}_5, \text{}^{15}\text{N}]$ бензамида, ^{15}N индола и серии производных ^{15}N бензилиденанилина и ^{15}N бензиланилина.
2. Регистрация спектров высокого разрешения обогащенных по азоту соединений, а также проведение квантово-химических расчетов параметров спектров ЯМР ^{15}N соединений, изученных в настоящей работе, так и представленных в литературе.
3. Построение теоретической модели ЯМР – параметров с участием ядер ^{15}N в рамках современных квантово-химических методов.

Предметом исследования являются методы синтеза ^{15}N -обогащенных по азоту соединений (бензамид, индол и серия бензилиденанилинов и бензиланилинов), получение параметров спектров ЯМР ^{15}N для исследования их конформации и динамики.

Научная новизна диссертации заключается в следующем: 1) разработаны оригинальные схемы синтеза серии ^{15}N -обогащенных соединений исходя из ^{15}N -обогащенных солей аммония и проведен полный анализ их спектров ЯМР ^1H , ^{13}C и ^{15}N ; 2) проведен кластерный анализ расчетных и экспериментальных КССВ ^{13}C - ^{15}N для репрезентативной выборки конформационно жестких и структурно фиксированных азотсодержащих соединений, квантово-химический расчет значений КССВ вместе с анализом их экспериментальных значений. Показано, что этот метод может быть использован для установления структуры новых соединений; 3) на примере бензамида показано, что использование обогащенных по азоту соединений может дать качественно новую информацию об их динамике; 4) расшифрована тонкая мультиплетная структура спектра ЯМР ^1H и протонно-связанного спектра ЯМР ^{15}N индола. Получен полный набор КССВ ^1H - ^1H и ^1H - ^{15}N для ^{15}N индола в растворе CD_3CN . Неэмпирические квантово-механические расчеты КССВ продемонстрировали высокий уровень соответствия с экспериментом.

Теоретическая и практическая значимость.

Показано, что квантово-химический расчет параметров спектров ЯМР ^{15}N азотсодержащих соединений с последующим учетом корреляционных зависимостей экспериментальных и расчетных констант ${}^nJ_{\text{CN}}$ позволяет предсказывать эти параметры с точностью достаточной для решения структурных задач. Методом динамического ЯМР детально исследован процесс внутреннего вращения протонов амидной группы бензамида в растворе полярного ДМСО. В настоящей работе впервые охарактеризован димер $[\text{}^2\text{H}_5, \text{}^{15}\text{N}]$ бензамида в растворе хлороформа и проведено экспериментальное измерение КССВ ^1H - ^{15}N . На примере ^{15}N индола впервые количественно проанализирован механизм

передачи спин-спинового взаимодействия между ядрами ^1H и ^{15}N в терминах параметров его электронной структуры.

Методология диссертационного исследования основана на сочетании прецизионных измерений и анализа спектров ЯМР серии ^{15}N -меченых соединений с квантово-химическими расчетами их структуры, динамики и параметров спектров ЯМР. Спектральный анализ выполнен на спектрометрах ЯМР в оптимальных режимах регистрации одномерных и двумерных ЯМР экспериментов. Для расшифровки спектральной информации использовались пакеты программ TopSpin и разработанные ранее в нашей исследовательской группе специализированные программные комплексы VALISA, ANATOLIA, PAREMUS, DNMR6, DNMR DP, Revibr и Razbiralka.

Квантово-химический расчет структуры азотсодержащих соединений и параметров спектров ЯМР ^{15}N проводился с использованием программных комплексов Gaussian09W и NBO-6.0. При моделировании спектральных параметров использовались пакеты программ GaussView, Statistica, OriginPro8.1.

Положения, выносимые на защиту.

1. Разработана оптимальная схема синтеза $[^{15}\text{N}]$ индола, $[^2\text{H}_5, ^{15}\text{N}]$ бензамида, серии обогащенных $[^{15}\text{N}]$ бензилиденанилина и $[^{15}\text{N}]$ бензиланилина.
2. На примере $[^{15}\text{N}]$ индола показано, что изотопные эффекты замены $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ на химические сдвиги ^{13}C обладают высокой информационной емкостью.
3. Квантово-химический расчет КССВ $^nJ_{\text{CN}}$ в представительной серии азотсодержащих соединений и КССВ $^nJ_{\text{HN}}$ в $[^{15}\text{N}]$ индоле показал, что эти параметры могут быть использованы для предсказания констант в новых соединениях.
4. Динамическая структура бензамида в растворе ДМСО определяется двумя независимыми факторами: заторможенным внутренним вращением как NH_2 -группы вокруг связи $\text{C}(\text{O})\text{-N}$, так и карбамидной группы в целом относительно бензольного кольца.
5. Совокупность данных квантово-химических расчетов и спектроскопии ЯМР может быть использована для количественного описания конформационных равновесий в ряду производных бензилиденанилина и бензиланилина.

Личный вклад автора. В работах, опубликованных в соавторстве, основополагающий вклад принадлежит соискателю. Соискатель непосредственно принимал участие в постановке научных задач, осуществлял сбор и анализ научной литературы по теме исследования, проводил всю экспериментальную работу, участвовал в обсуждении полученных результатов, анализе данных, полученных рядом физических методов: ЯМР, масс-спектрометрии высокого разрешения, проводил квантово-химические расчеты и их обработку, принимал активное участие в предоставлении их в печати, а именно: занимался подготовкой и редактированием текстов публикаций, представлял полученные результаты на научных конференциях.

Публикации. По материалам диссертационного исследования опубликовано 3 статьи в рецензируемых научных журналах, индексируемых международными базами

данных (Web of Science, Scopus) и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.4.3 – органическая химия.

Апробация результатов. Результаты работы были представлены на следующих конференциях: Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2018» (Москва, 2018), 15th International School-Conference «Spinus 2018 – Magnetic resonance and its applications» (Saint Petersburg, 2018), Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2019» (Москва, 2019), Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2021» (Москва, 2021), Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2022» (Москва, 2022), 19th International School-Conference «Spinus 2022 – Magnetic resonance and its applications» (Saint Petersburg, 2022), 20th International School-Conference «Spinus 2023 – Magnetic resonance and its applications» (Saint Petersburg, 2023), Высшая школа: научные исследования. Материалы Межвузовского международного конгресса (Москва, 2024).

Объем и структура диссертационной работы. Работа состоит из 6 разделов: введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 201 странице текста и включает 50 рисунков, 81 схему, 25 таблиц и список цитируемой литературы из 299 наименований.

2. Обзор литературы

2.1. Синтез [¹⁵N]обогащенных соединений и их применение

Изотопно-меченные соединения нашли широкое применение в выяснении механизмов химических реакций, в установлении метаболических путей в биохимии, в визуализации органов в медицине. Поскольку изотопы могут быть обнаружены из-за различий в их физических свойствах и выступать в качестве индикаторов, позволяющих отследить за поведением отдельных атомов внутри молекулы в ходе реакции [1]. В настоящем обзоре рассматриваются соединения, содержащие изотопную метку ¹⁵N.

Существуют два изотопа азота, которые используются при маркировке соединений ¹³N и ¹⁵N. Азот-13 представляет собой позитрон-излучающий изотоп с коротким периодом полураспада, который используется в томографии с позитронной эмиссией. Азот-15 является стабильным изотопом, с природным содержанием 0.38%. Обогащение изотопом азота-15 в промышленных масштабах достигают фракционной перегонкой аммиака или оксида азота (IV), а также в ходе высокоэффективной фракционной дистилляции азотной кислоты [2]. Обогащение такими методами позволяет производить соединения с обогащением по ядру ¹⁵N до 99.9%.

Стабильный изотоп азота ¹⁵N может быть обнаружен методом масс-спектрометрии, который позволяет определить степень изотопного обогащения изотопно-меченного соединения. Помимо масс-спектрометрии охарактеризовать ¹⁵N-меченные соединения можно с помощью метода ЯМР. В отличие от изотопа ¹⁴N, имеющего спин 1 и, следовательно, электрический квадрупольный момент, который ведет к сильному уширению сигналов, азот ¹⁵N имеет спин 1/2 и спектры ЯМР этого ядра характеризуются узкими линиями. Оба изотопа азота имеют низкую относительную чувствительность, а у азота ¹⁵N ещё и чрезвычайно низкая абсолютная чувствительность, из-за низкого природного содержания. Использование соединений, меченных изотопом ¹⁵N, позволяет преодолеть проблему низкой чувствительности [3].

Огромное прикладное значение и преимущество спектроскопии ЯМР ¹⁵N раскрываются при наличии меченного ¹⁵N соединения, в связи с чем первостепенной задачей является синтез обогащенного соединения. Источником изотопной метки могут служить коммерчески доступные препараты, широко используемые в синтезе изотопно-обогащенных соединений, среди них можно отметить обогащенные по азоту: азотную кислоту и нитраты, аммиак и соли аммония, мочевины, цианид калия, фталидид и др. [1].

С точки зрения реакционной способности обогащенные соединения почти не отличаются от своих небогащенных аналогов (исключения могут составлять случаи

кинетических изотопных эффектов), однако, многие методы синтеза могут существенным образом отличаться, ввиду ограниченной доступности ^{15}N соединений. При планировании синтеза изотопно-меченного соединения особое внимание следует обратить на стадию ввода изотопной метки. Для получения обогащенного соединения с максимальным выходом желательно вводить изотопную метку на заключительных этапах синтеза, и методами, минуя образование нежелательных примесей [4]. Ранний ввод изотопной метки, как и содержание даже незначительного количества примеси, влечет потерю целевого продукта в расчете на исходное соединение содержащее ^{15}N метку [5].

Широко используемым приемом при планировании синтеза является отработка методики на небогатых соединениях. Многие методики получения малых молекул на природном содержании атомов азота долгие годы не представляли интереса для химиков-органиков в повседневной работе, однако, стали определяющими при синтезе обогащенных препаратов.

Широкий выбор источников изотопной метки ограничивается их дороговизной, что часто приводит к необходимости в тщательном планировании синтетической схемы, исходя из имеющихся прекурсоров. В ряде случаев, модифицируют источник изотопной метки, например, получают нитрит натрия из нитрата, а в некоторых случаях изменяют путь синтеза, подбирая его таким образом, чтобы задействовать имеющийся источник изотопной метки.

Настоящий раздел литературного обзора посвящен:

- Методам введения ядра ^{15}N в молекулу, используя различные источники изотопной метки;
- Синтетическим превращениям ^{15}N соединений, с целью получения важнейших обогащенных субстратов и ключевых молекул, используемых в последующих синтезах;
- Применению обогащенных по азоту соединений в современной практике.

2.1.1. Введение изотопной метки через ^{15}N азотную кислоту и ^{15}N нитраты

^{15}N Азотная кислота является одним из распространенных коммерчески доступных первичных источников изотопной метки ^{15}N . Использование ^{15}N азотной кислоты в реакциях ароматического электрофильного замещения позволяет получить обогащенные по азоту нитросоединения, которые, если не представляют отдельного интереса, вводятся в последующие стадии синтеза. Данный способ ввода изотопной метки имеет ограничения по выбору субстрата ввиду селективности реакции нитрования, однако, является надежным, в случае региоселективного получения продуктов.

Одним из основных субстратов для проведения нитрования является бензол. В работе [6] изучали ^{15}N -ядерную поляризацию в нитровании и родственных реакциях. $[^{15}\text{N}]$ Нитробензол (**1**) получали взаимодействием бензола с 40% $[^{15}\text{N}]$ азотной кислотой в смеси $\text{Ac}_2\text{O} - \text{AcOH}$ с последующим добавлением концентрированной серной кислоты и перемешиванием реакционной смеси при 0°C в течение 3 ч (Схема 1). Выход продукта составил 95%.

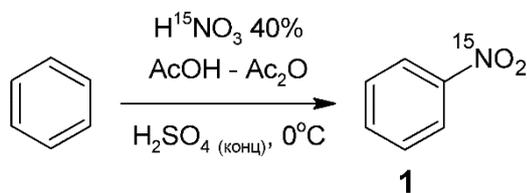


Схема 1.

Нитрование $[^{15}\text{N}]$ азотной кислотой является наиболее удобным способом введения изотопной метки, когда ароматические нитропроизводные являются конечной целью исследования. В работе [7] авторы синтезировали различные изотопнозамещенные нитробензолы, включая соединение **1**, которое удобнее всего получить прямым нитрованием бензола. В качестве изотопной метки авторы располагали $[^{15}\text{N}]$ хлоридом аммония. Обогащенный хлорид аммония окислили под действием KMnO_4 в щелочном растворе в автоклаве при 180°C , с последующим добавлением серной кислоты для получения нитрующего агента – H^{15}NO_3 (Схема 2). Выход производного **1** в пересчете на $[^{15}\text{N}]$ хлорид аммония составил 23%.

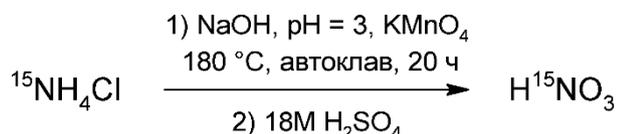


Схема 2.

Ограниченный выбор источников изотопной метки ^{15}N , иногда может приводить к тому, что схема синтеза целевого продукта оказывается весьма нетривиальной. В работе [8] был предложен синтез $[^{15}\text{N}]$ индола (**2**) исходя из толуола, используя в качестве источника изотопной метки $[^{15}\text{N}]$ азотную кислоту (Схема 3).

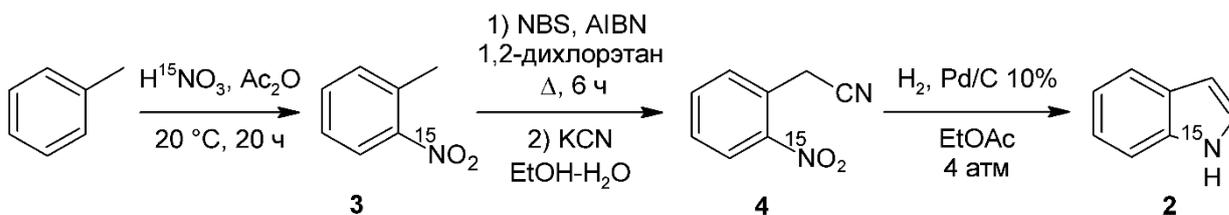


Схема 3.

На первой стадии осуществляется нитрование толуола с образованием *орто*-производного **3**, однако, около трети продукта составляет *пара*-производное, которое, в

конечном счете не приводит к целевому продукту. Разделение смеси изомеров происходит лишь на стадии образования нитрильных производных **4**, используя хроматографию. Замыкание пятичленного цикла авторы проводили под действием водорода на палладиевом катализаторе в автоклаве с выходом 85%.

Обогащенные ароматические нитропроизводные являются удобной моделью для изучения влияния заместителя бензольного кольца на величины КССВ ${}^nJ_{CN}$ [9]. Различные группы атомов по-разному влияют на величину константы, которая зависит от электронных свойств как самого заместителя, так и азотсодержащей функциональной группы. Определяющим фактором является геометрия молекулы и стерические отталкивания отдельных групп атомов. Например, объемные заместители в орто-положении по отношению к компланарно расположенной нитрогруппе бензольного кольца приводят к повороту нитрогруппы относительно плоскости бензольного кольца, и как следствие, к изменению значения КССВ ${}^1J_{CN}$.

В работе [9] была изучена серия ароматических $[{}^{15}\text{N}]$ нитропроизводных, большинство из которых синтезировали реакцией нитрования соответствующих субстратов 37.7-процентной $[{}^{15}\text{N}]$ азотной кислотой. Нитрование проводили согласно методикам, оптимизированным на небогащенных соединениях. Полученные таким образом соединения позволили получить экспериментальную информацию по КССВ, которая далее сопоставлялась с результатами модельных квантово-химических расчетов и служила для детального описания полученных зависимостей констант от структурных факторов.

Ароматические $[{}^{15}\text{N}]$ нитропроизводные могут служить для синтеза других соединений, содержащих изотопную метку. Так в работе [10] изучали кинетические изотопные эффекты и механизм фото-инициируемой перегруппировки Валлаха с использованием $[{}^{15}\text{N}_2]$ азоксибензола (**5**).

Замена ${}^{14}\text{N}$ -азота на более тяжелый изотоп ${}^{15}\text{N}$ приводит к кинетическим изотопным эффектам, позволяющим детально изучить механизмы реакций в органической химии. Требуемый азоксибензол **5** получали восстановлением соединения **1** в растворе метанола в присутствии гидроксида натрия с высоким выходом 98% (Схема 4).

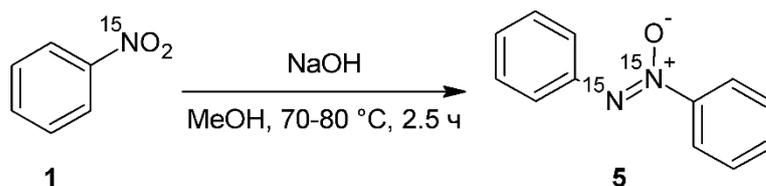


Схема 4.

Введение изотопной метки в молекулу не всегда совпадает с требуемой функционализацией органического вещества, в таком случае вводимая группа претерпевает

дальнейшие превращения. Ароматические нитропроизводные являются исходными субстратами для синтеза анилинов. Так в работе [11] синтезировали [¹⁵N]дифениламин (**6**), используя в качестве источника изотопной метки [¹⁵N]азотную кислоту (Схема 5).

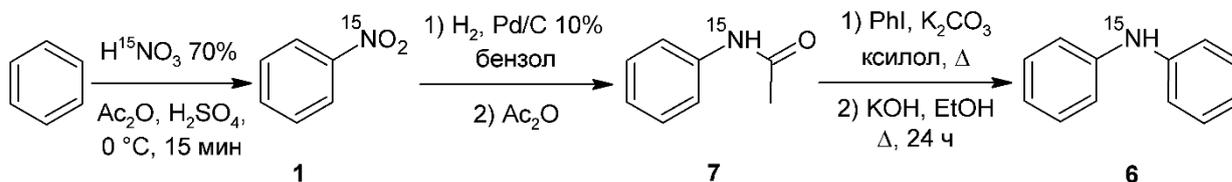


Схема 5.

Нитрование бензола проводили 70% H^{15}NO_3 в Ac_2O с последующим добавлением концентрированной серной кислоты при 0°C . Полученный нитробензол **1** с выходом 98%, восстанавливали водородом на палладиевом катализаторе. Образовавшийся анилин был выделен в виде ацетанилида **7** с выходом 85%. Получение амина **6** проводили взаимодействием производного **7** с иодбензолом, с последующим отщеплением ацетатной группы в щелочных условиях при кипячении. Использование удобного метода введения изотопной метки и воспроизводимых реакций с высоким выходом позволяют получить целевой продукт с минимальными потерями в расчете на исходную [¹⁵N]азотную кислоту.

В качестве субстрата в реакциях нитрования может выступать не только бензол и его гомологи, но и гетероциклические соединения. Так, 4-бромимидазол (**8**) нитруется [¹⁵N]азотной кислотой с высоким выходом 89% [12] с образованием нитропроизводного имидазола **9**. В дальнейшем соединение **9** модифицируют, и в субстрате **10** введенная ранее нитрогруппа восстанавливается до аминогруппы на никеле Ренея (Схема 6) с образованием целевого продукта **11**. Таким образом, имидазол функционализировали [¹⁵N]аминогруппой в несколько стадий.

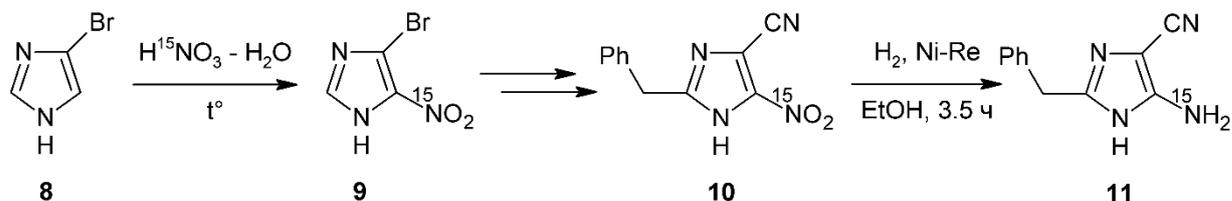


Схема 6.

В качестве доступных препаратов для введения изотопной метки ¹⁵N используют [¹⁵N]нитраты калия и натрия. Твердые соли являются более практичными в использовании и применяются для нитрования ароматических субстратов. Нафталин нитруется по положению 1 действием [¹⁵N]нитрата калия и концентрированной серной кислоты при 60°C с выходом 74% [13] (Схема 7).

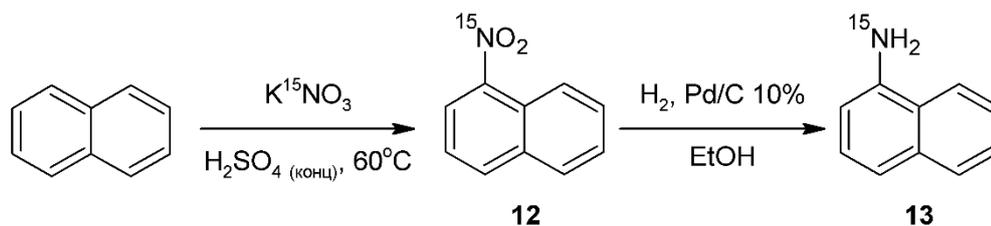


Схема 7.

Образовавшийся нитронафталин **12** затем восстанавливают до аминафталина **13**. Реакция нитрования с последующим восстановлением нитрогруппы является широко используемым методом введения аминогруппы в ароматический субстрат, поскольку аминогруппа открывает значительно больше возможностей для дальнейшей структурной модификации азотсодержащего соединения по сравнению с нитрогруппой.

Описанные выше методы введения изотопной метки включают в себя реакцию электрофильного ароматического замещения, однако это не единственная возможность ввода изотопной метки с использованием $[^{15}\text{N}]$ азотной кислоты.

В работе [14] были получены эфиры $[^{15}\text{N}]$ азотной кислоты моносахаридов и полисахаридов. Тринитрат целлюлозы (**14**) является важным твердым ракетным топливом с широким спектром применения. Несмотря на значительные многолетние усилия, затраченные на изучение его свойств, остается ряд фундаментальных вопросов. Одним из таких вопросов является изучение денитрации таких эфиров под действием гидроксилламина.

Эфиры сахаридов получали по реакции этерификации целлюлозы (**15**) с 100% $[^{15}\text{N}]$ азотной кислотой в присутствии P_2O_5 с выходом 95% (Схема 8).

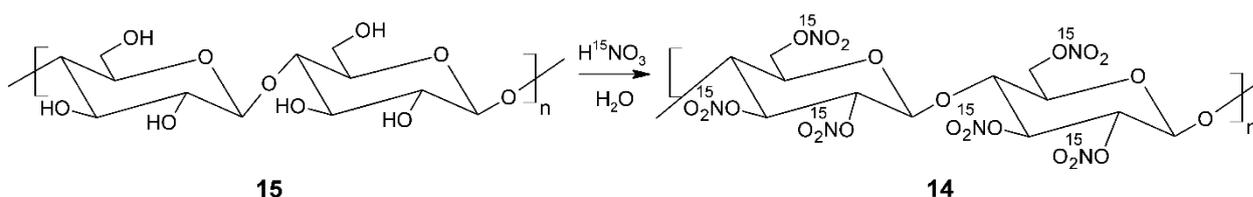


Схема 8.

Использование изотопно-обогащенных нитратов сахаридов позволило подробно изучить структуру таких соединений, а также селективность денитрации. Результаты показывают, что денитрация нитратов полисахаридов является региоспецифичной реакцией, протекающей только в положении 2-, в то время как денитрация нитратов моносахаридов происходит с меньшей избирательностью, преимущественно в 4-положении и в меньшей степени в положении 3-.

2.1.2. Введение изотопной метки с использованием [¹⁵N]нитрита натрия

Развитие методов синтеза обогащенных по азоту пуриновых оснований приводит к всё более и более изящным методам введения изотопной метки. Синтез пуриновых оснований, как правило, подразумевает наличие в субстратах аминогрупп, вводить которые следует в мягких условиях, ввиду специфики пуринового кольца.

Одним из широко используемых методов введения аминогруппы является реакция азосочетания пуринового кольца или предшествующих структур с диазотирующим агентом. Так [¹⁵N]нитрит натрия является классическим препаратом для синтеза обогащенных диазосоединений. В работе [15] авторы синтезировали [7-¹⁵N]дезоксиаденозин, используя в качестве изотопной метки [¹⁵N]нитрит натрия. На первой стадии было получено диазосоединение взаимодействием анилина с [¹⁵N]нитритом натрия в солянокислом растворе. Затем к образовавшемуся раствору добавили 4,6-диаминопиримидин с выделением соответствующего азосоединения **16** с выходом 72% (Схема 9).

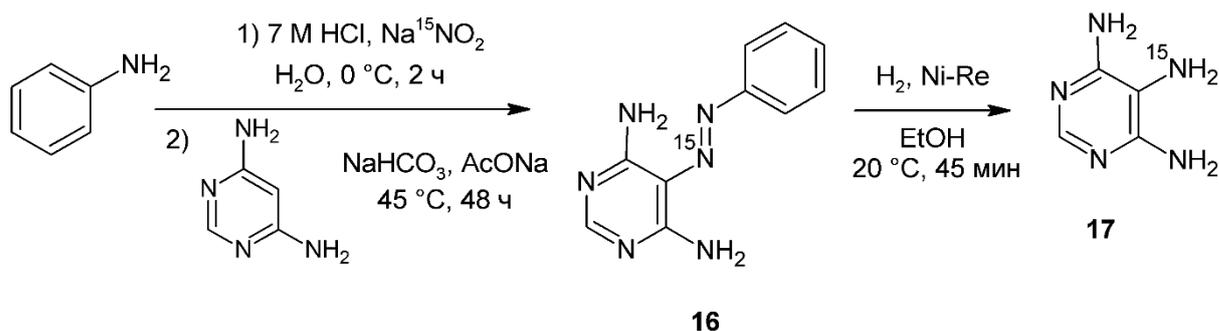


Схема 9.

Азосоединение **16** восстанавливали водородом на никеле Ренея и получали триаминопиримидин **17** с выходом 74%, в котором только одна из аминогрупп включала в себя изотопную метку ¹⁵N. Селективно меченый триаминопиримидин **17** далее взаимодействовал с диэтоксиметилацетатом с образованием [7-¹⁵N]аденина (**18**) с выходом 69% (Схема 10).

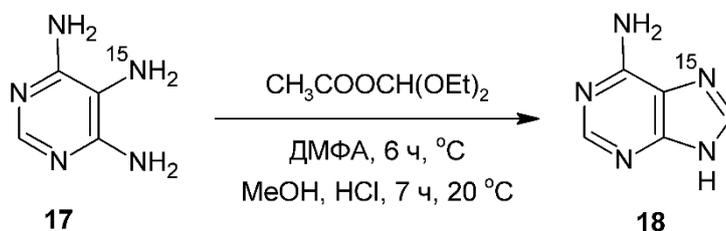


Схема 10.

Реализованный подход по введению изотопной метки имеет ряд преимуществ. Реакция азосочетания протекает региоселективно, а образующееся азосоединение может быть легко выделено и очищено.

Другим примером введения изотопной метки через реакцию азосочетания может служить работа [16], в которой авторы провели синтез ^{15}N -обогащенного флавинмононуклеотида. Ключевая стадия заключалась в ведении изотопной метки в замещенный анилин **19** через диазосоединение, полученное исходя из ^{15}N нитрита натрия и анилина. (Схема 11).

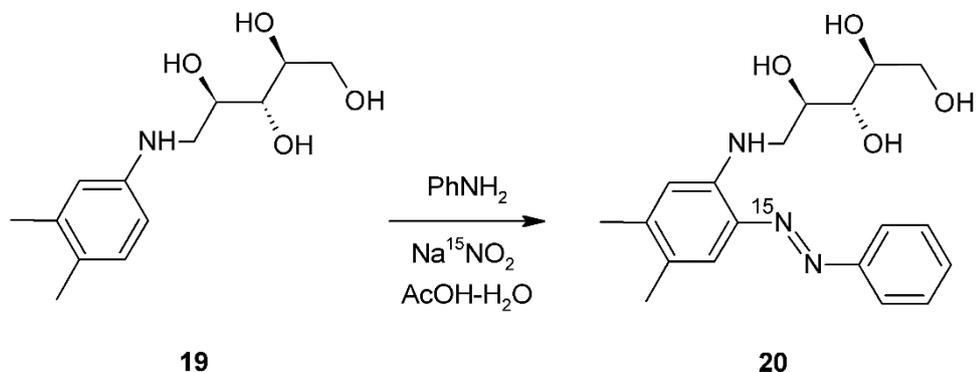


Схема 11.

Синтезированное азосоединение **20**, вступало в реакцию конденсации с барбитуровой кислотой с получением требуемого гетероциклического каркаса.

^{15}N Нитрит натрия является достаточно редким продажным препаратом, к тому же в лаборатории он может быть синтезирован из более доступного ^{15}N нитрата натрия нагреванием со свинцом с практически количественным выходом [17], [18] (Схема 12).

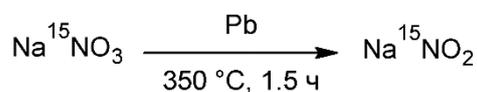


Схема 12.

Ещё одним примером введения изотопной метки с использованием ^{15}N нитрита натрия может служить синтез $[2\text{-}^{15}\text{N}]$ индазола (**21**) [19] (Схема 13).

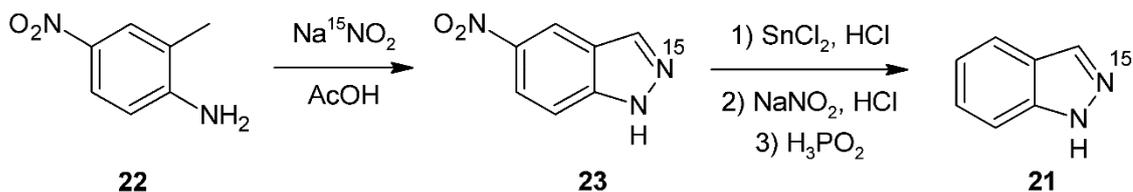


Схема 13.

Ключевой стадией синтеза является создание пятичленного цикла с двумя атомами азота, которое происходит под действием ^{15}N нитрита натрия на производное **22**. 5-Нитроиндазол **23** затем восстанавливают двухвалентным хлоридом олова и удаляют аминогруппу с получением селективно меченного индазола **21**.

Синтез $[1-^{15}\text{N}]$ индазола (**24**) осуществляется из *орто*-производного **3**, которое восстанавливают до *орто*-аминотолуола (**25**) двухвалентным хлоридом олова, а затем вводят в конденсацию с оксидом азота (III) (Схема 14).

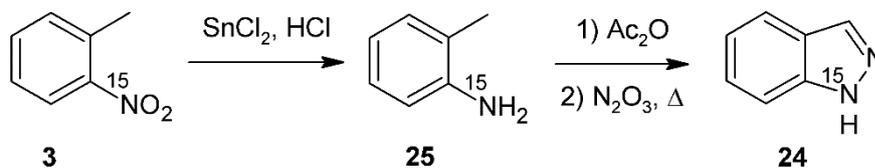


Схема 14.

Синтез селективно меченных индазолов **21** и **24** позволил авторам изучить КССВ $^nJ_{\text{CN}}$ и сравнить их с константами других классов гетероциклических соединений, имеющих схожий гетероциклический каркас.

Другой пример создания пятичленного кольца представлен в работе [20], в которой синтезировали различные замещенные пирролы, необходимые для сборки порфиринового каркаса. Изотопную метку вводили реакцией конденсации диэтилмалоната с $[^{15}\text{N}]$ нитритом натрия в кислой среде (Схема 15).

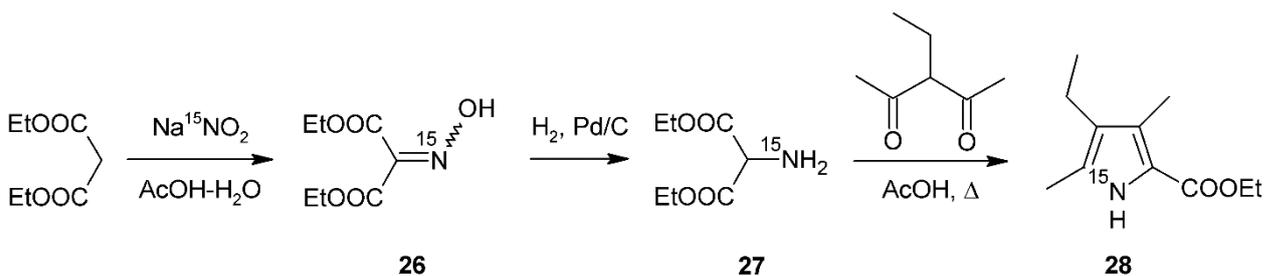


Схема 15.

Образовавшийся оксим **26** восстанавливали водородом на палладиевом катализаторе и выделяли производное **27**, содержащее обогащенную аминогруппу. Конденсацией с 1,3-дикарбонильным соединением был получен замещенный пиррол **28**, используемый в дальнейших превращениях. Данный синтетический подход можно рассматривать как общий метод синтеза $[^{15}\text{N}]$ -обогащенных пирролов исходя из $[^{15}\text{N}]$ нитрита натрия.

$[^{15}\text{N}]$ Нитрит натрия был использован для получения алифатических $[^{15}\text{N}]$ нитросоединений по реакции нуклеофильного замещения [21]. Исходя из диэтилбромсукцината (**29**) был получен $[^{15}\text{N}]$ нитродиэтилсукцинат (**30**), который затем превращали в 3-нитропропановую кислоту (**31**) (Схема 16).

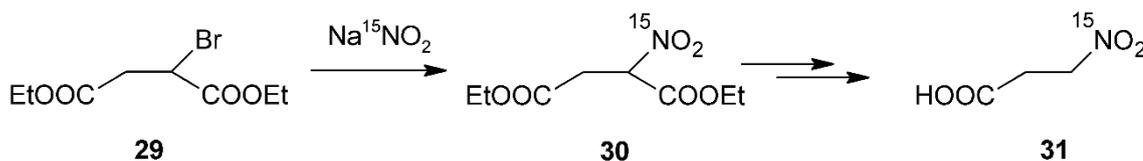


Схема 16.

Возможность введения [^{15}N]нитрогруппы через нитрит натрия, открывает возможность для синтеза и изучения алифатических обогащенных [^{15}N]нитросоединений. Примером такой работы может служить синтез [^{15}N]нитрометана (**33**), который был получен с выходом 32% исходя из хлоруксусной кислоты (**32**) в присутствии борной кислоты [22] (Схема 17).

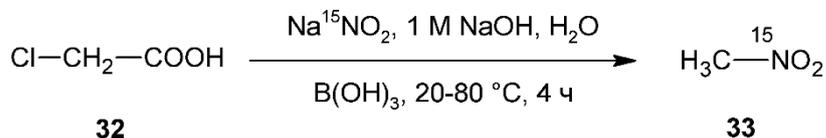


Схема 17.

2.1.3. Введение изотопной метки через $\text{CH}_3^{15}\text{NO}_2$

[^{15}N]Нитрометан используется в качестве стандарта в спектроскопии ЯМР ^{15}N , а также представляет фундаментальный интерес при изучении КССВ с ядром ^{15}N и изотопных химических сдвигов [23]. В ряде специфических случаев он был также использован и для ввода изотопной метки. Одним из таких примеров может служить работа [24], в которой авторы изучали различные синтетические бактериохлорины (Рисунок 1). [^{15}N]Бактериохлорины дали важную информацию для описания фото-химических процессов этих макроциклов, в основном и возбужденном состоянии.

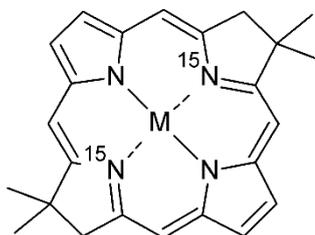


Рисунок 1. Структура [$^{15}\text{N}_2$]Бактериохлорина.

Ключевым соединением для синтеза [^{15}N]бактериохлорина является [^{15}N]нитроэтилпиррол (**34**). Введение [^{15}N]изотопной метки проводилось с использованием [^{15}N]нитрометана (Схема 18). Пиррол-2-карбальдегид (**35**) вводили в реакцию Анри с [^{15}N]нитрометаном, с последующим восстановлением боргидридом лития в ТГФ. Обогащенный по нитрогруппе пиррол **34** был получен с выходом 38%.

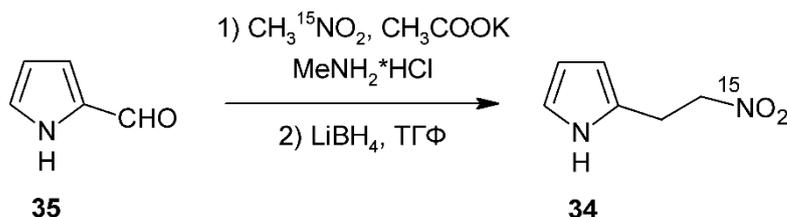


Схема 18.

Данный способ ввода изотопной метки позволил авторам существенным образом упростить дальнейшую схему синтеза и в несколько стадий получить требуемый [¹⁵N]бактериохлорин.

В работе [22] авторы сообщают о прямом восстановительном N-арилровании нитрометана с помощью катализируемого фосфорорганическими соединениями восстановительного C-N-сочетания с производными арилбороновой кислоты. Этот метод основан на действии катализатора на основе фосфорорганического соединения (1,2,2,3,4,4-гексаметилфосфетан Р-оксид) вместе с мягким терминальным восстановителем фенилгидросилоаном. Этот метод обеспечивает единый синтетический подход к синтезу изотопно-меченых [¹⁵N]метиланилинов из [¹⁵N]нитрометана.

Так, исходя из 4-бромфенилбороновой (36) кислоты был получен [¹⁵N]4-бром-N-метиланилин (37) с выходом 91% (Схема 19).

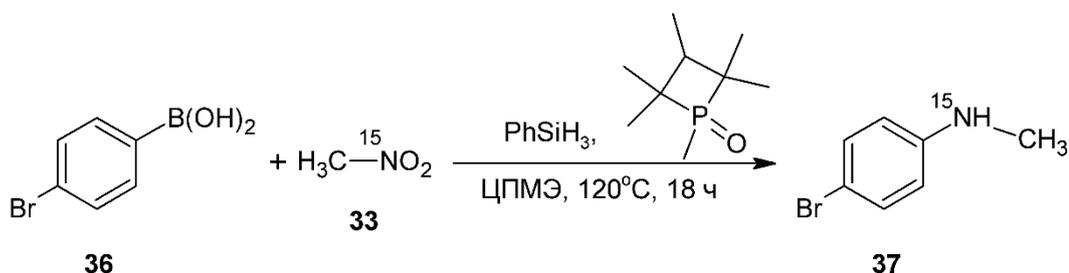


Схема 19.

Таким образом, [¹⁵N]нитрометан может служить в качестве универсального прекурсора для прямого присоединения [¹⁵N]-меченной метиламиногруппы.

2.1.4. Введение изотопной метки через цианиды металлов

Использование [¹⁵N]цианида калия нашло широкое применение в качестве источника изотопной метки. Следует отметить, что наряду с доступным [¹⁵N]цианидом калия, также используется и [¹³C, ¹⁵N]цианид калия для введения сразу двух изотопных меток, что особенно популярно при синтезе биоорганических препаратов или при их модификации [25].

В работе [26] был синтезирован [¹⁵N₂]глутаронитрил (38) по реакции нуклеофильного замещения с 1,3-дибромпропаном (39) с выходом 85% (Схема 20).

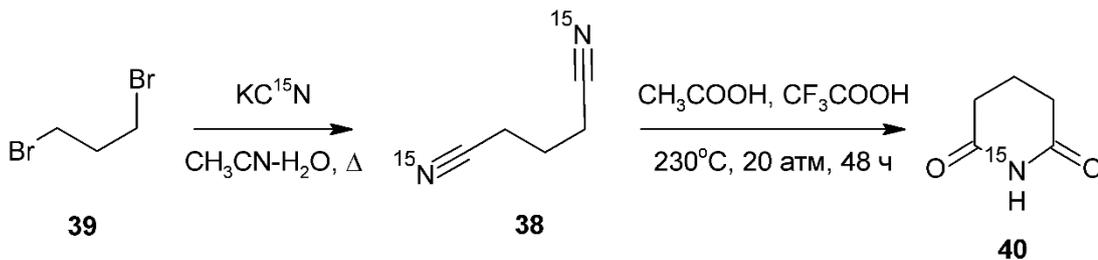


Схема 20.

Образовавшийся динитрил **38** далее гидролизovali в смеси уксусной и трифторуксусной кислоты под давлением в течение 48 ч и, таким образом, получили имид **40** с выходом 82%.

Нуклеофильное замещение – самый популярный способ введения изотопной метки с использованием цианидов. При подборе оптимальных условий, реакции замещения протекают с высокими выходами, что во многих случаях исключает образование побочных продуктов. Полученные таким образом обогащенные нитрилы могут представлять собственный интерес для изучения параметров спектров ЯМР и механизмов реакций этих соединений [27].

Дальнейшие превращения нитрилов протекают с сохранением изотопной метки в молекуле. Однако в процессе гидролиза динитрила **38** один из атомов азота ^{15}N отщепляется от целевой молекулы, что ведет к невынужденной потере введенного дефицитного изотопа.

Обогащенные нитрилы могут выступать в качестве C-нуклеофилов, что использовалось в работе [28] для функционализации 3-аминопиридазинов. Использование обогащенных препаратов позволило авторам установить механизм этой реакции. Фенилацетонитрил (**41**) был получен по реакции нуклеофильного замещения исходя из бензилбромида (**42**) с выходом 91% (Схема 21).

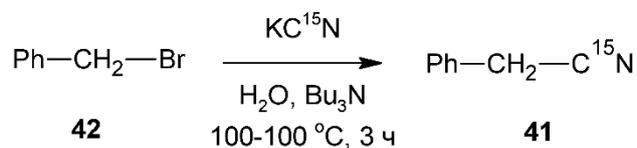


Схема 21.

Взаимодействие бромуксусной кислоты (**43**) и ^{15}N цианида калия позволяет получить цианоуксусную кислоту с выходом 90% [29]. Этиловый эфир цианоуксусной кислоты (**44**) при конденсации с хлоридом гуанидина в метаноле в присутствии метилата натрия образует гетероциклическое соединение (**45**), являющееся прекурсором в синтезе квеузина (Схема 22).

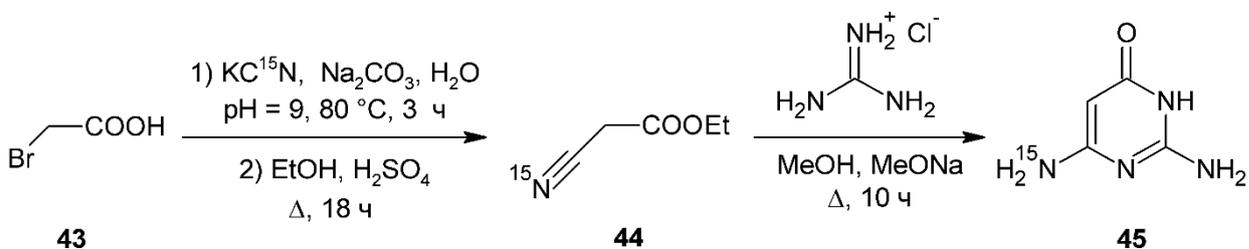


Схема 22.

В большинстве случаев, синтезируемые нитрилы восстанавливают до амина, таким образом, в две стадии функционализируют органическое соединение изотопнообогащенной

аминогруппой. Данный подход нашел широкое применение в синтетической практике и часто используется для синтеза аминокислот.

В работе [30], исходя из этилового эфира 4-бромбутановой кислоты (**46**), в две стадии была синтезирована 5-[¹⁵N]аминопентановая кислота (**47**) с суммарным выходом 69% в расчете на исходный K¹⁵N (Схема 23).

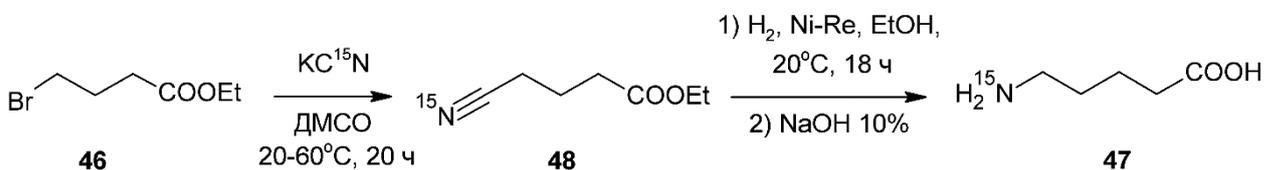


Схема 23.

Выход на стадии ввода изотопной метки составил 91%. Реакцию нуклеофильного замещения проводили в сухом ДМСО при 20-60°C с образованием цианидного производного **48**, которое затем восстанавливали водородом на никеле Ренея и на завершающей стадии гидролизовали в щелочном растворе.

Другая аминокислота [6-¹⁵N]L-лизин (**49**) также была получена в результате введения изотопной метки реакцией нуклеофильного замещения с использованием [¹⁵N]цианида калия [31] с последующим восстановлением нитрильной группы (Схема 24).

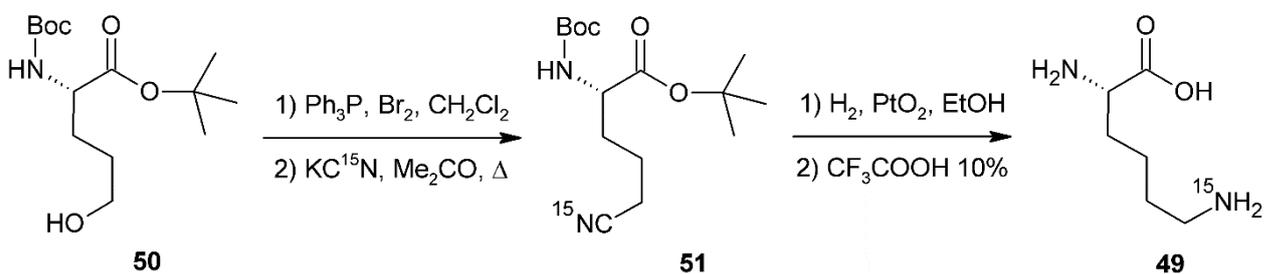


Схема 24.

В синтезированном ранее сложном эфире **50** заменили гидроксильную группу на атом брома, после чего ввели изотопную метку с использованием [¹⁵N]цианида калия. Выход цианидного производного **51** составил 80%. Затем, производное **51** восстановили на катализаторе Адамса и провели снятие защитной группы с аминогруппы с суммарным выходом 92%. Данный способ позволил получить селективно меченую аминокислоту **49**.

В качестве источника изотопной метки также использовали [¹⁵N]цианид натрия. В работе [32] использовали [¹⁵N]цианид натрия для синтеза изотопно-обогащенного 4-нитрофенилэтиламина (**52**) (Схема 25).

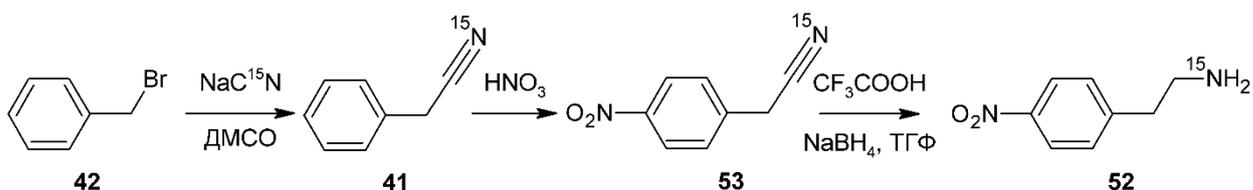


Схема 25.

Следует отметить весьма низкий выход (53%) в реакции получения нитрила **41**, а также в реакции восстановления нитрильной группы в соединении **53** (выход 41%). Такие результаты, по-видимому, могут быть объяснены недостаточно тщательной апробацией методик на небогатых соединениях.

Подходы к синтезу селективно обогащенных по азоту пиримидиновых оснований включают в себя самые разнообразные способы введения изотопной метки. Так в работе [33] были синтезированы обогащенные по азоту пиримидиновые основания: урацил и тимин. Ключевым соединением в синтезе урацила и тимина является [1,3-¹⁵N₂]5,6-дигидроурацил (**54**), который может быть получен исходя из [¹⁵N]цианида калия (Схема 26).

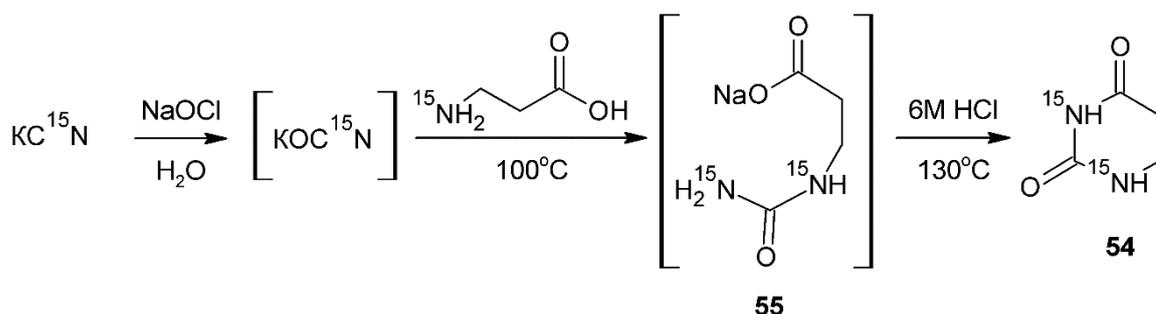
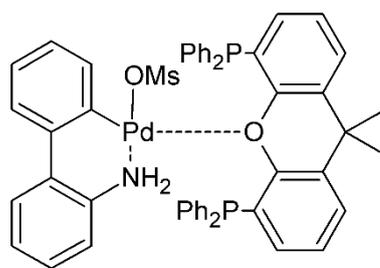


Схема 26.

На первой стадии цианид калия окисляли до цианата, который затем, не выделяя вводили в реакцию с 3-[¹⁵N]аминопропановой кислотой. Промежуточное соединение **55** не выделяли после подкисления 6 М НСl. Необходимый предшественник урацила и тимина **54** был выделен с суммарным выходом 96%.

Современные исследования в области биохимии тесно связаны с исследованиями в области спектроскопии ЯМР ¹⁵N, в связи с чем, важной составляющей новых синтетических методов является апробация введения изотопной метки. В работе [34] представлен способ цианирования на поздних стадиях синтеза в очень мягких условиях, применимый к высокофункционализированным субстратам и проводимый в мягких условиях [35].

В качестве катализатора был выбран ксанфосодержащий комплекс палладия **P8** (Рисунок 2). Данный катализатор позволяет проводить реакцию при 55-65°C, а также требуется в значительно меньших количествах (всего 0.50-0.70 моль %) по сравнению с аналогичными палладий-содержащими катализаторами.



P8

Рисунок 2. Ксантофосодержащий комплекс палладия **P8**, используемый в качестве катализатора.

Цианирование проводится в водной мицеллярной среде, в качестве источника изотопной метки в этой работе выступает легкодоступный $\text{Zn}(\text{C}^{15}\text{N})_2$ [36]. Введение изотопной метки не вызвало осложнений и было опробовано на различных гетероароматических бромпроизводных тиофена **56**, пиридина **57** и пиримидина **58** с образованием соответствующих цианидных производных **59-61** (Схема 27).

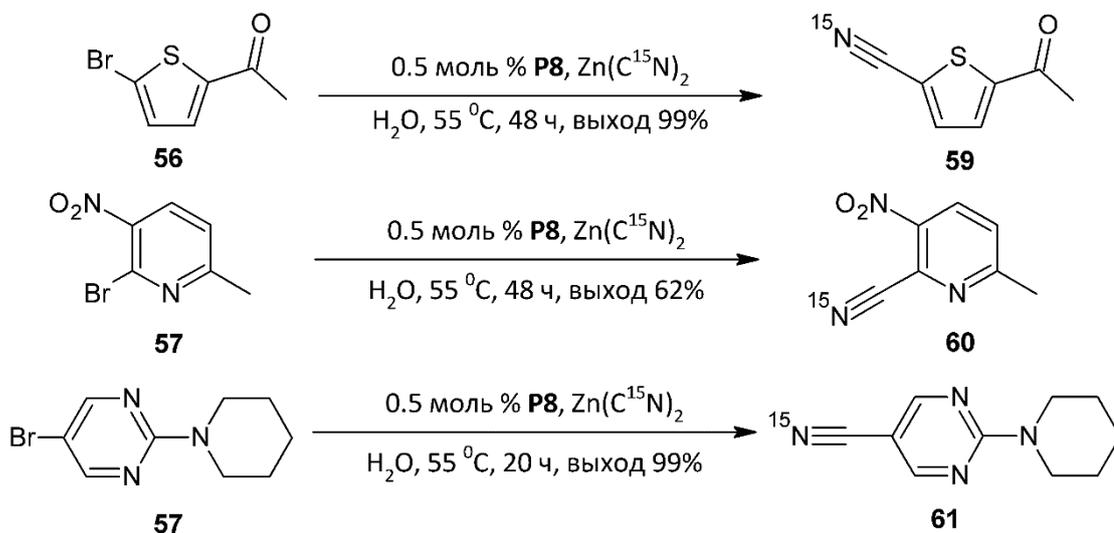


Схема 27. Цианирование различных гетероароматических галогенпроизводных.

Синтез потенциальных лекарственных препаратов всё чаще сопровождается использованием самых разнообразных источников изотопной метки. Так в работе [37] авторами был синтезирован $[\text{}^{13}\text{CD}_2\text{}^{15}\text{N}]\text{N}$ -(бензо[*b*]тиенил-3-метил)-сульфамид (**62**), являющийся изотопно-обогащенным аналогом лекарственного препарата JNJ-26990990. Данное соединение принадлежит к классу новых производных бензо-конденсированных гетероарилсульфамидов, выступающих в качестве важных противосудорожных агентов, и может быть использовано для лечения эпилепсии и связанных с ней расстройств.

Ключевая стадия синтеза заключалась во введении изотопной метки с использованием доступного дважды обогащенного цианида меди (I) $\text{Cu}^{13}\text{C}^{15}\text{N}$ (Схема 28).

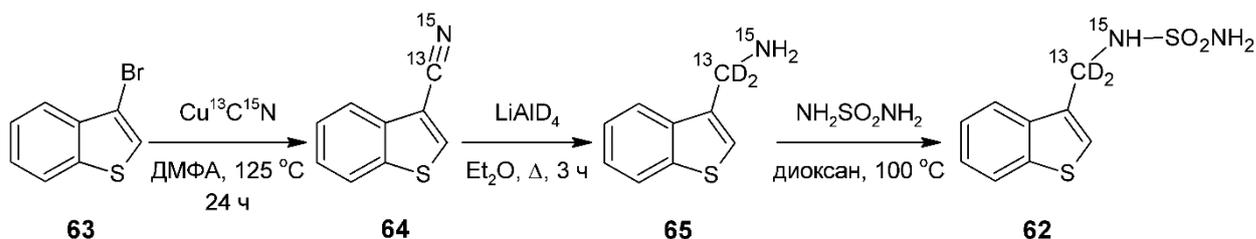


Схема 28.

Цианирование бромида **63** проводили в растворе ДМФА при 125°C, выход цианида **64** составил 83%. Восстановление производного **64** дейтерированным алюмогидридом лития позволил ввести в молекулу ещё два стабильных изотопа дейтерия с образованием амина **65**. Стабильно меченое соединение **62** использовалось в качестве внутреннего стандарта для количественного биоанализа лекарственного соединения и его метаболитов методом жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии.

2.1.5. Введение изотопной метки через $^{15}\text{NH}_2\text{OH}$

Гидрохлорид [^{15}N]гидроксиламина использовался для введения изотопной метки за счет конденсации с карбонильными соединениями. Образующиеся в результате конденсации оксимы могут быть выделены с высокими выходами и восстановлены далее до аминов. Такой путь введения изотопной метки через превращение карбонильной группы в аминогруппу имеет ряд преимуществ, поскольку доступный гидрохлорид [^{15}N]гидроксиламина прост в использовании по сравнению с газообразным аммиаком, и к тому же его использование в заметной степени снижает образование побочных продуктов.

В работе [38] синтезировали хелатный комплекс **66** на основе платины (Рисунок 3), содержащий как ^{15}N изотопную метку, так и метку ^{13}C . Данный комплекс проявляет противораковую активность, в связи с чем подробно изучались пути его метаболизма в организме. Наличие ^{15}N изотопной метки позволило с помощью спектроскопии ЯМР ^{15}N получить важные сведения о реакциях гидратирования, связывания с нуклеотидами, аминокислотами, пептидами и белками, а также селективности образования аддуктов платина-ДНК.

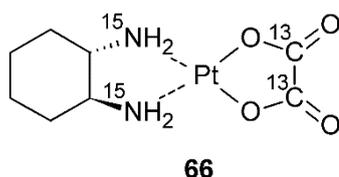


Рисунок 3. Комплекс на основе платины (II).

Одним из лигандов в комплексе **66** выступает транс-1,2-диаминоциклогексан (**67**). Введение изотопной метки осуществлялось по реакции конденсации циклогександиона-1,2 (**68**) с гидрохлоридом [^{15}N]гидроксиламина с образованием диоксима **69** с выходом 99%

(Схема 29). Дальнейшее восстановление диоксима **69** проводили натрием в этаноле с выделением продукта **67** в винной кислоте.

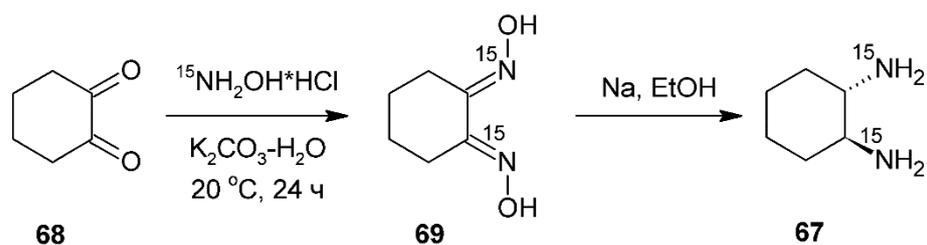


Схема 29.

Другим примером конденсации гидрохлорида ^{15}N гидроксиламина может служить работа [39], в которой было получено производное пиррола **70**, являющееся одним из стартовых соединений для синтеза порфиринового кольца (Схема 30).

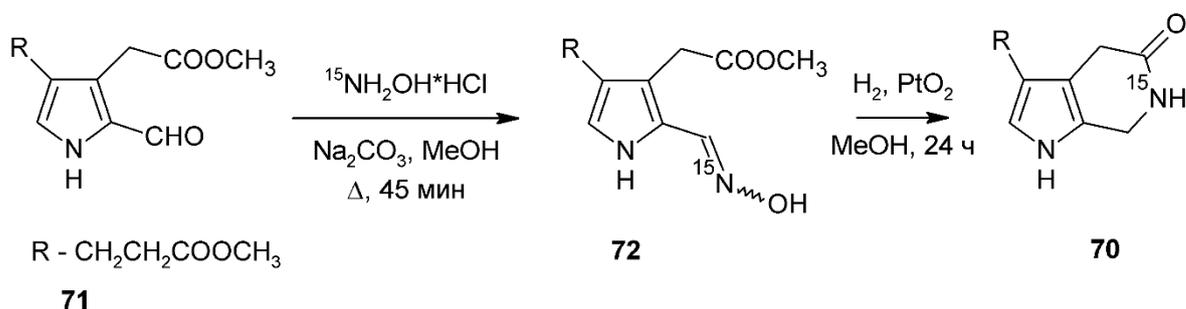


Схема 30.

Выход продукта конденсации замещенного пиррол-карбальдегида **71** с хлористым ^{15}N гидроксиламином составляет 97%. Последующее восстановление оксима **72** на катализаторе Адамса приводит к циклическому амиду **70**, который далее участвует в синтезе порфиринового кольца.

В редких случаях оксимы, образующиеся в результате реакции конденсации, не подвергаются восстановлению, а используют в альтернативных синтетических целях. Авторами работы [40] был синтезирован ^{15}N нейлон-6 (**73**) исходя из циклогексанона.

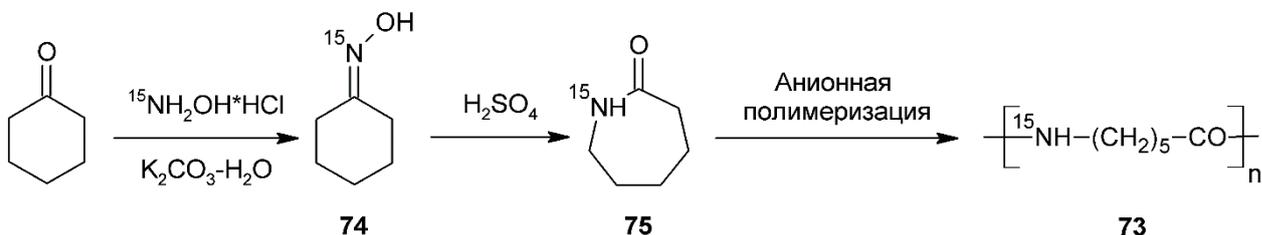


Схема 31.

На первой стадии была введена изотопная метка с почти количественным выходом. Образующийся в результате конденсации обогащённый оксим **74** вводили в реакцию Бекмана. Анионной полимеризацией лактама **75** был получен нейлон **73** с выходом 91%. Синтез изотопно-обогащенного полимера позволил авторам изучить его морфологические свойства с помощью ЯМР спектроскопии в твердом теле. Ранее предпринятые попытки

изучения нейлона на естественном содержании изотопа ^{15}N методами ЯМР успехами не увенчались из-за очень низкого отношения сигнал-шум в полученных спектрах.

Гидроксиламин используется в промышленно значимой реакции с нитрилами, которая осуществляется в тонном масштабе в спиртовых растворах (Схема 32). В работе [27] исследован механизм взаимодействия нитрилов с $[^{15}\text{N}]$ гидроксиламином. Показано, что в зависимости от природы нитрила при взаимодействии с гидроксиламином образуется значительное количество побочного продукта – амида, который вызывает дополнительные проблемы с анализом и очисткой.

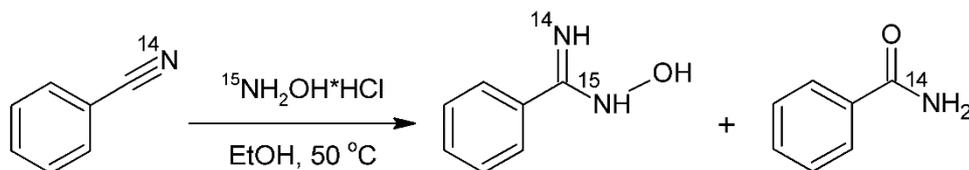


Схема 32.

Таким образом, гидроксиламин является одним из перспективных источников изотопной метки и успешно применяется для синтеза как биологически активных органических соединений, так и полимерных материалов.

2.1.6. Введение изотопной метки через аммиак и соли аммония

Одним из наиболее часто используемых источников ^{15}N является $[^{15}\text{N}]$ аммиак, который доступен как в свободном состоянии в виде газа в баллоне, так и в виде солей аммония таких как $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$, $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3$. Из солей аммония аммиак может быть получен непосредственно в ходе синтеза, в связи с чем, соли гораздо удобнее в использовании в лабораторной практике. Использование аммиака позволяет получить важнейшие органические молекулы, такие как анилин, мочевины, фталимид и др., которые являются стартовыми субстратами во многих схемах синтеза органических веществ. Реакционная способность аммиака во многом определяет два основных способа ввода изотопной метки – через реакции конденсации с карбонильными соединениями и через реакции замещения галогена в хлорангидридах карбоновых кислот. Оба способа дают отличные результаты и широко используются в органической практике.

Одним из примеров использования аммиака может служить работа, [41] в которой авторы синтезировали $[^{15}\text{N}]$ бензиламин (**76**) исходя из бензальдегида (Схема 33).

На первой стадии $[^{15}\text{N}]$ аммиак, предварительно растворенный в дистиллированной воде, вступал в реакцию конденсации с бензальдегидом в метанольном растворе. Выход составил 97%.

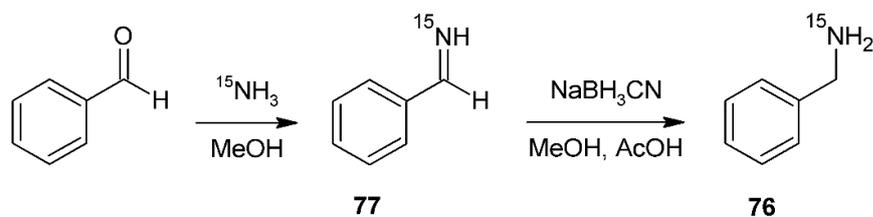


Схема 33.

Имин **77** восстанавливали цианоборгидридом натрия с образованием бензиламина **76** с выходом 69%.

Конденсация [^{15}N]аммиака с карбонильными соединениями была успешно применена для синтеза алкалоидов [^{15}N]кониина (**78**) и [^{15}N]никотина (**79**) [42]. Необходимое для синтеза [^{15}N]кониина 1,5-дикарбонильное соединение **80** было получено окислением 1-пропилциклопентена-1 (**81**) тетраоксидом осмия и введено реакцию конденсации с [^{15}N]аммиаком (Схема 34).

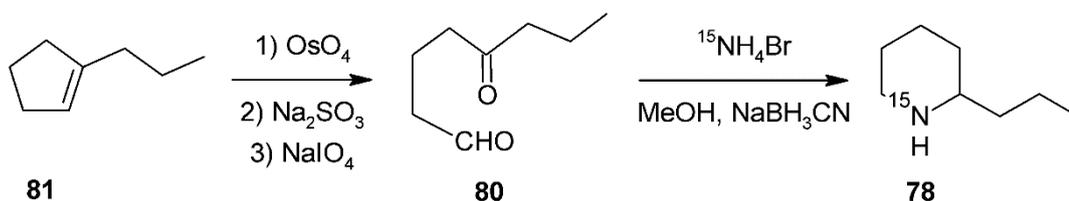


Схема 34.

Реакцию проводили в течение 72 ч при комнатной температуре в метанольном растворе. [^{15}N]Аммиак вводили в реакцию в виде бромида [^{15}N]аммония. Выход алкалоида **78** составил 58%.

Синтез соединения **79** проводили исходя из 4-оксо(3-пиридил)бутановой кислоты, которую восстановили до 1,4-дикарбонильного соединения (**82**). В качестве источника изотопной метки использовали бромид [^{15}N]аммония, реакцию проводили в метанольном растворе при комнатной температуре в течение 48 ч (Схема 35). Образующийся в ходе конденсации норникотин (**83**), вводили в реакцию метилирования с раствором муравьиной кислоты и формальдегида, суммарный выход алкалоида **79** в двух стадиях составил 42%.

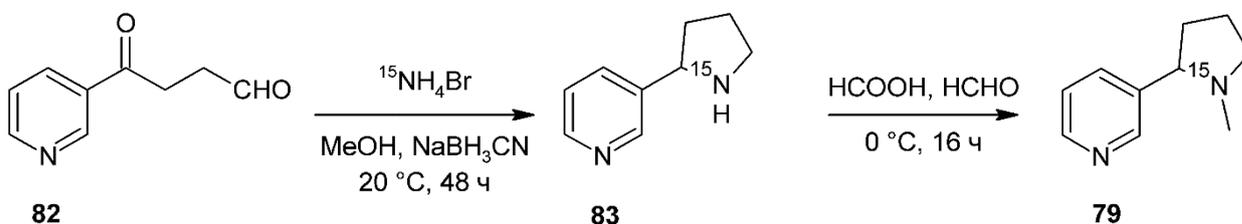


Схема 35.

Синтез **79** также был проведен в работе [43] исходя из 3-бромпиридина. Изотопное обогащение позволяет детально изучить деметилирование никотина и дальнейший метаболизм норникотина.

Общий подход к синтезу гетероциклического каркаса, содержащего азот, был успешно реализован в работе [44], в которой авторы синтезировали [¹⁵N]изохинолин (**84**) реакцией конденсации аммиака с дикарбонильным соединением **85** (Схема 36).

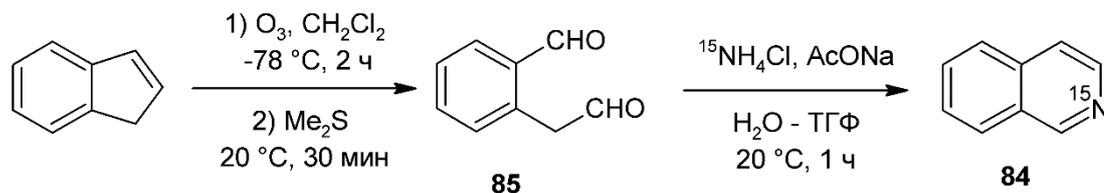


Схема 36.

Восстановительным озонированием индена было получено дикарбонильное соединение **85**, которое затем вводили в реакцию с хлоридом [¹⁵N]аммония в бинарной системе вода-ТГФ в присутствии ацетата натрия. Синтез проводили при 20°C, выход [¹⁵N]изохинолина составил 60%.

Синтез [¹⁵N]пиридина (**86**) [45] был проведен исходя из 2-этокси-3,4-дигидропирана (**87**) (Схема 37).

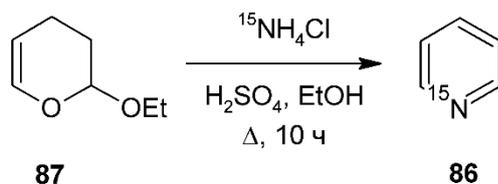


Схема 37.

В кислой среде пиран **87** раскрывает цикл и образующееся 1,5-дикарбонильное соединение конденсируется с [¹⁵N]аммиаком, который был введен в реакцию в виде хлорида [¹⁵N]аммония. Выход пиридина **86** составил 55%. Данная методика также была успешно применена для синтеза [¹⁵N]пиридина в работе [46]. Исходя из [¹⁵N]пиридина **86** авторами были синтезированы различные хлорзамещенные пиридины с целью дальнейшей их характеристики методами спектроскопии ЯМР.

В работе [47] предложен ещё один способ синтеза пиридинового кольца с использованием реакции Цинке. Авторы получили [1-¹⁵N]никотинамид (**88**) с выходом 55% и полным сохранением изотопной чистоты (98%) исходя из небогатенного никотинамида (**89**) (Схема 38).

На первой стадии была получена «соль Цинке» (**90**) взаимодействием никотинамида **89** с 2,4-динитрохлорбензолом (**91**) в растворе ДМСО при 45°C в течение 120 ч. Соль **90** выделили и ввели в реакцию с хлоридом [¹⁵N]аммония в метанольном растворе в присутствии метилата натрия. Полученный таким образом обогащенный амид **88** был использован для зондирования метаболических процессов, поскольку является одним из

ключевых витаминов РР, который широко используется для лечения туберкулеза, ВИЧ, рака и других заболеваний.

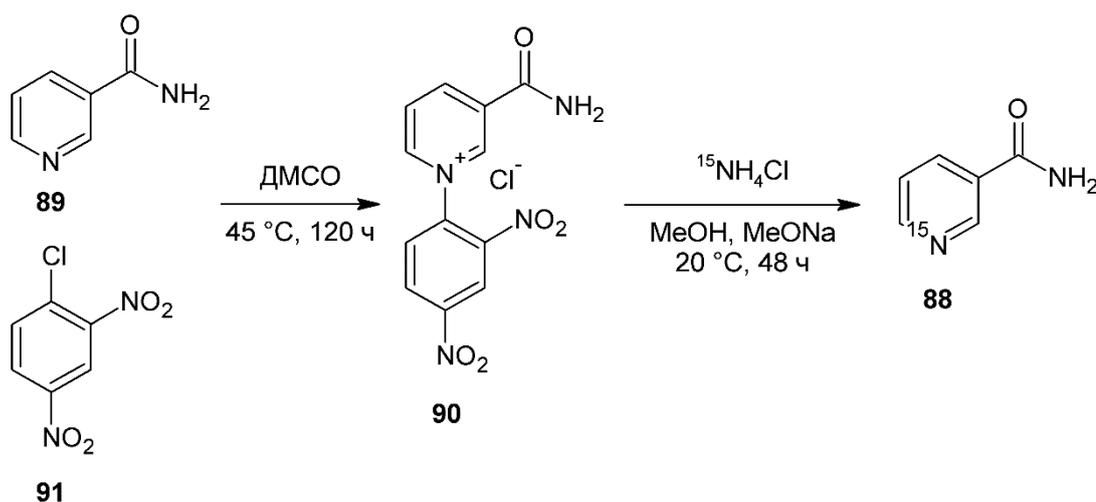


Схема 38.

Более того, представленная синтетическая методология использует мягкие условия реакции, и поэтому может быть потенциально применена для синтеза широкого спектра обогащенных ^{15}N пиридинов.

Авторами [48], активно изучаются методы гиперполяризации ЯМР, усиливающей поляризацию ядерных спинов на несколько порядков, что в свою очередь может приводить к сильному увеличению чувствительности. Это позволяет применять новые методы спектроскопии ЯМР, начиная от изучения малых молекул с помощью спектроскопии ЯМР высокого разрешения и заканчивая визуализацией метаболизма в реальном времени *in vivo* [49].

Усиление сигнала путем обратимого обмена — это недорогой и сверхбыстрый метод гиперполяризации, который, как было показано [50], является универсальным для ядер ^{15}N . Хотя гиперполяризация позволяет добиться значительного повышения чувствительности, природное содержание ^{15}N составляет всего $\sim 0.4\%$, поэтому для использования всех преимуществ данного состояния необходим синтез изотопнообогатенных молекул, которые будут гиперполяризованы. Так, авторами [49] был синтезирован дважды обогащенный [$^{15}\text{N}_2$]имидазол (**92**), который затем был использован для синтеза соединения **94**, представляющего фармакологический интерес (Схема 39).

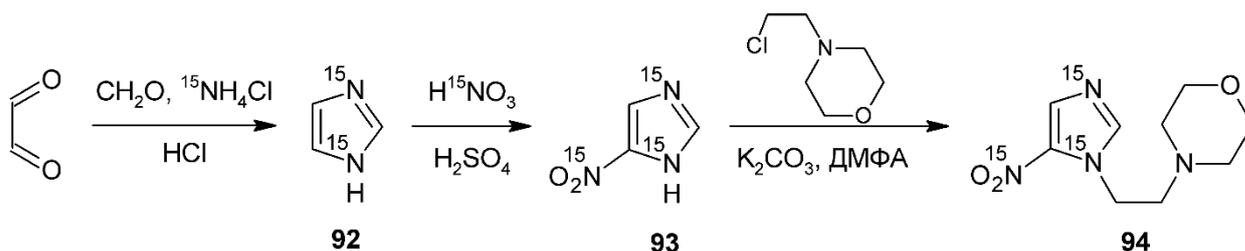


Схема 39.

Конденсацией глиоксаля, формальдегида и $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ был получен $^{15}\text{N}_2$ имидазол. Нитрование $^{15}\text{N}_2$ имидазола обогащенной ^{15}N азотной кислотой, позволило получить производное **93**, содержащее три изотопные метки, которые вводились с использованием различных источников.

Введение изотопной метки в субстрат может проходить в жестких условиях. Так превращение 2-гидроксинафталина (**95**) под действием хлорида ^{15}N аммония в 2-аминонафталин (**96**) протекает при 280°C в течение 10 ч в автоклаве в растворе ледяной уксусной кислоты и ацетата натрия [51] (Схема 40). По окончании реакции раствор гидролизуют и выделяют соединение **96** с выходом 40%.

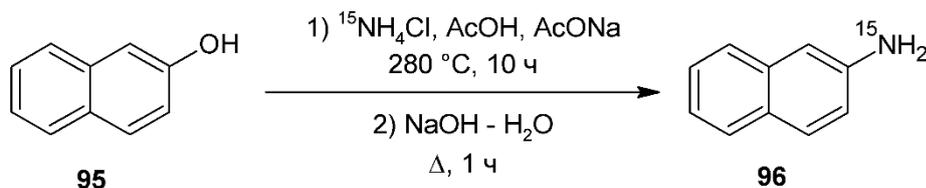


Схема 40.

Введение изотопной метки таким образом сопровождается значительными потерями азота ^{15}N , однако открывает путь синтеза анилинов и нафтиламинов исходя из фенолов.

Другим широко используемым методом введения азота ^{15}N является образование амидов исходя из хлорангидридов карбоновых кислот. Амидная связь подробно изучается на протяжении многих лет, в связи с чем обогащённые амиды часто представляют собственный интерес для исследований в области молекулярной динамики, медицинской химии, спектроскопии ЯМР, однако, в большинстве случаев амиды претерпевают дальнейшие превращения.

Дегидратация с образованием нитрилов имеет ключевое значения для получения ароматических нитрилов. Как было показано ранее [36], цианирование ароматических галогенпроизводных происходит в специфических условиях, с применением катализа и чаще всего используется для получения важнейших лекарственных препаратов и их предшественников. Данный путь позволяет также получать и алифатические нитрилы, что становится особенно актуальным при отсутствии в качестве источника изотопной метки цианидов металлов.

Одним из примеров такого превращения может служить работа [52], в которой авторами был синтезирован $^{15}\text{N}_2$ малонодинитрил (**97**). Изотопную метку вводили реакцией аммонолиза диэтилмалоната под действием концентрированного раствора ^{15}N аммиака (Схема 41). Выход диамида составил 84%.

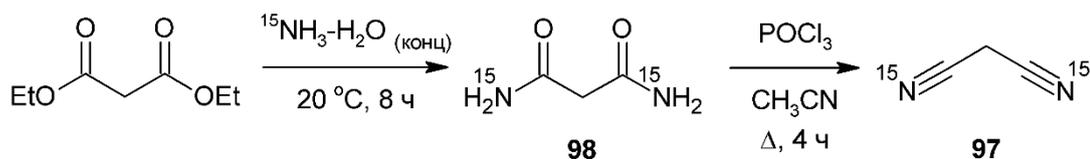


Схема 41.

Полученный диамид **98** превращали в динитрил **97** под действием хлорокиси фосфора в ацетонитриле при кипячении. Выход продукта составил 75%. Динитрил **97** может быть использован как стартовое соединение в синтезе различных гетероциклических структур, таких как пиразолы, пиридины и пиримидины, тиофены, конденсированные пиридазины и конденсированные пиррольные кольца [52].

Получение ^{15}N бензонитрила (**99**) исходя из ^{15}N бензамида (**100**) представлено в работе [53].

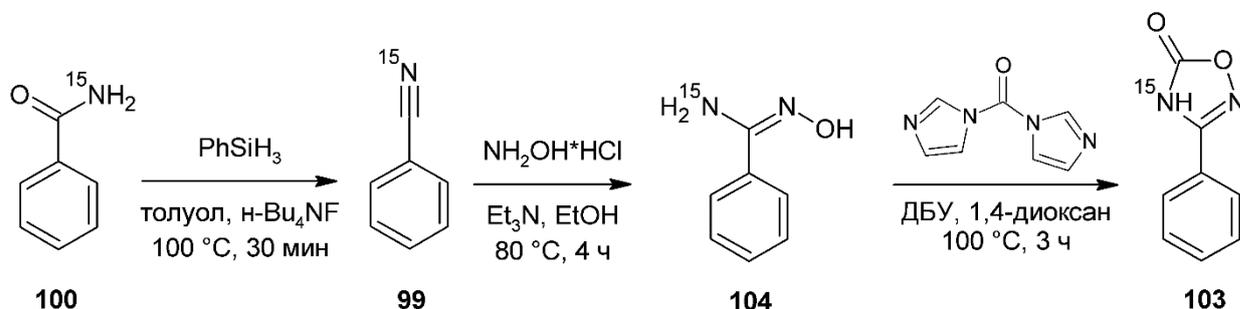


Схема 42.

Авторами был проведен синтез первичных азаароматических аминов (**101**) и (**102**) с помощью оксадиазолон **103** (Схема 42). Как уже отмечалось ранее [27], нитрилы вступают в реакцию с гидроксиламином с образованием производного (**104**), которое в сильнощелочной среде превращается в оксадиазолон **103**.

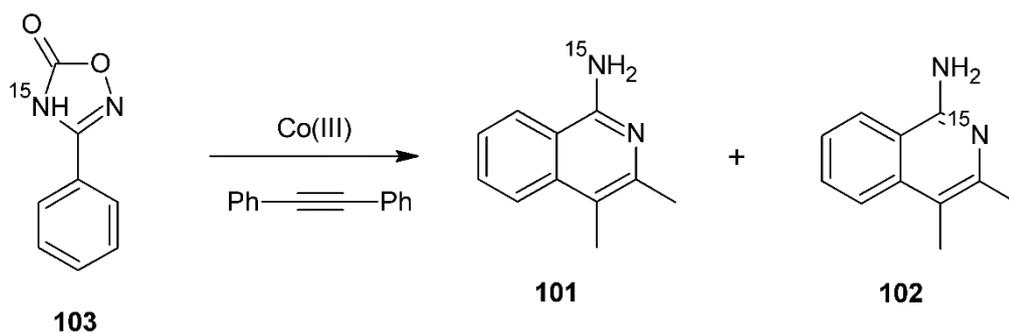


Схема 43.

Благодаря наличию изотопной метки в оксадиазолоне **103**, авторами был установлен механизм образования первичных азаароматических аминов **101** и **102** по распределению изотопной метки в продукте реакции [53] (Схема 43).

Несмотря на огромное синтетическое и фармацевтическое значение первичных азаароматических аминов, они остаются труднодоступными для получения по реакциям

функционализации С-Н связи. Данный подход может позволить получать данные соединения иным способом.

Таким образом, нитрилы являются ключевыми соединениями в синтезе ряда гетероциклических структур.

Другой способ превращения амидов заключается в их восстановлении до первичных аминов, среди которых особое значение имеет [¹⁵N]бензиламин (**105**), поскольку является удобным реагентом для ввода аминогруппы. Последующее восстановление водородом позволяет удалить бензильный фрагмент в молекуле с получением первичных аминов, которые могут претерпевать различную функционализацию и вступать в большое количество реакций. [¹⁵N]Бензиламин (**105**) может быть использован для введения изотопной метки, в частности, для получения аминокислот и производных, содержащих обогащенную аминогруппу. Примером использования соединения **105** может служить работа [54], в которой авторы синтезировали обогащенный аденин (**106**). На первом этапе, бензамид **100** был восстановлен алюмогидридом лития в эфире, далее амин **105** вступал в реакцию с 6-хлорпурином (Схема 44).

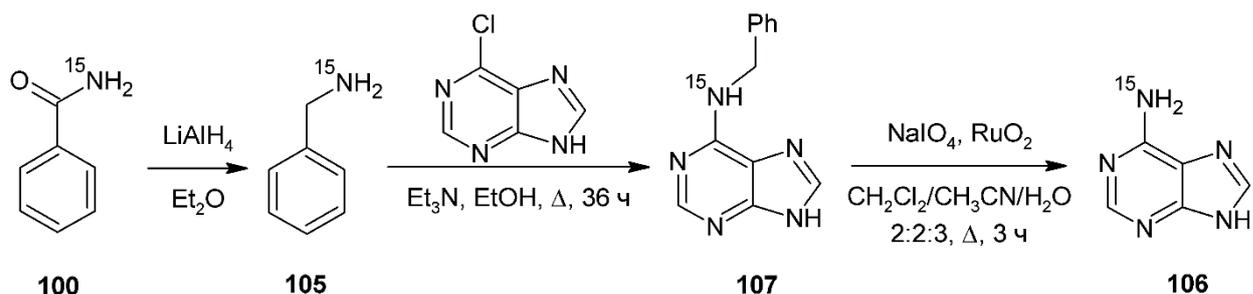


Схема 44.

Замещение хлора происходило при кипячении в этаноле в течение 36 часов. Полученное таким образом бензилпроизводное **107** содержало изотопную метку в 6- положении. Удаление бензильного фрагмента осуществляли под действием периодата натрия и оксида рутения (IV) в многокомпонентном растворе при кипячении в течение 3 ч. Синтез аналогичного небогащенного препарата с использованием аммиака требовал бы гораздо более жестких условий реакции. Использование [¹⁵N]бензиламина на стадии ввода изотопной метки позволило получить селективно меченый [6-¹⁵N]аденин **106** в относительно мягких условиях.

Нуклеофильные свойства бензиламина могут быть использованы для введения изотопной метки при раскрытии N-активированных хиральных азиридиновых циклов [55] (Схема 45).

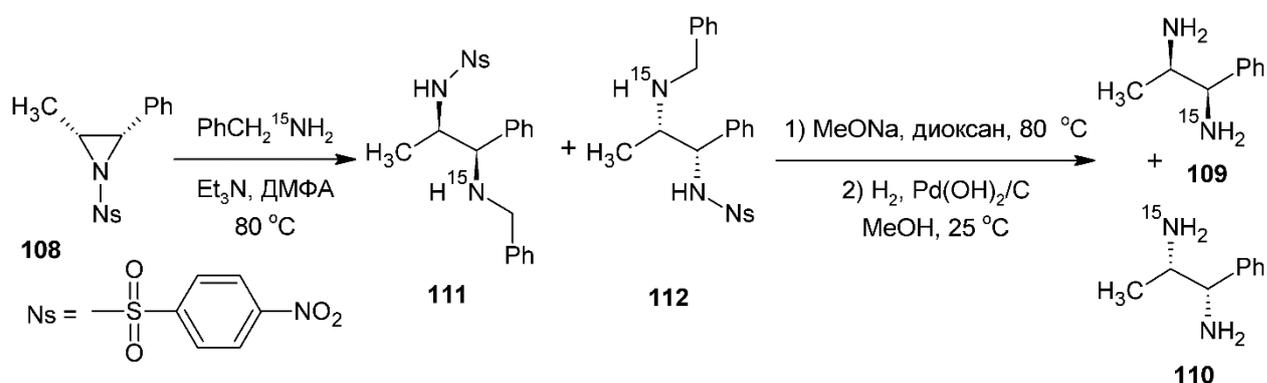


Схема 45.

В ходе данной реакции удастся получить две диастереомерные серии вицинальных диаминов **109** и **110**, в которых один из атомов азота является ядром ^{15}N

На первой стадии синтеза [^{15}N]бензиламин раскрывает азиридиновый цикл субстрата **108** с образованием смеси N-бензил производных **111** и **112**. Бензильная группа может быть легко удалена восстановлением водородом в мягких условиях на палладиевом катализаторе. Образующиеся вицинальные диамины **109** и **110** представляют большую ценность, поскольку входят в состав противораковых соединений на основе платины **113** (Схема 46). Введение изотопной метки позволяет использовать спектроскопию ЯМР ^{15}N , которая является мощным инструментом для изучения свойств платиносодержащих комплексов с аминами [55].

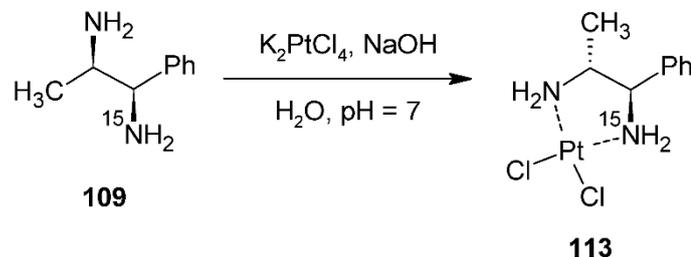


Схема 46.

Введение изотопной метки исходя, из солей аммония при взаимодействии с хлорангидридами кислот, подробно описано в работах [56, 57, 58], где особое внимание уделяется методике проведения реакции. Взаимодействие реагентов проводят в водно-щелочной среде, содержащей небольшое количество бензола, который позволяет сохранить весь аммиак в сфере реакции. Синтез проводят при комнатной температуре, продукт реакции перекристаллизовывают из этанола. Выделенный таким образом бензамид **100** можно вносить в реакцию восстановления алюмогидридом лития в диэтиловом эфире и получить [^{15}N]бензиламин с выходом 85%.

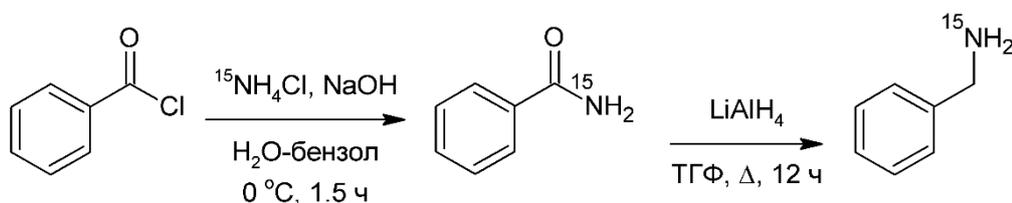


Схема 47.

Бензиламин может быть легко модифицирован по аминогруппе, что нашло широкое применение при синтезе N-замещенных аминов. В работе [56] авторы синтезировали N,N-диметилбензиламин (**114**) исходя из соединения **105**. Триметилсилиловое производное **115** получили с хорошим выходом в работе [57]. В работе [58] авторы получили замещенный амин **116**, являющийся основой будущего ^{15}N пиридинового цикла (Схема 48).

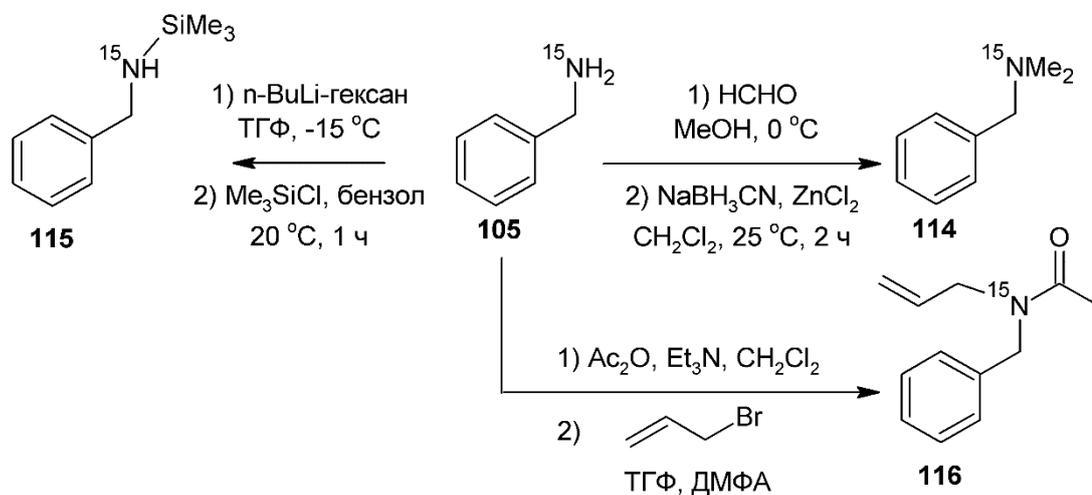


Схема 48.

Помимо ^{15}N -бензиламина **105** аналогичным способом был синтезирован 2-(β-нафтил)метиламин (**117**) исходя из хлорангидрида β-нафталинкарбоновой кислоты (**118**) [59] (Схема 49).

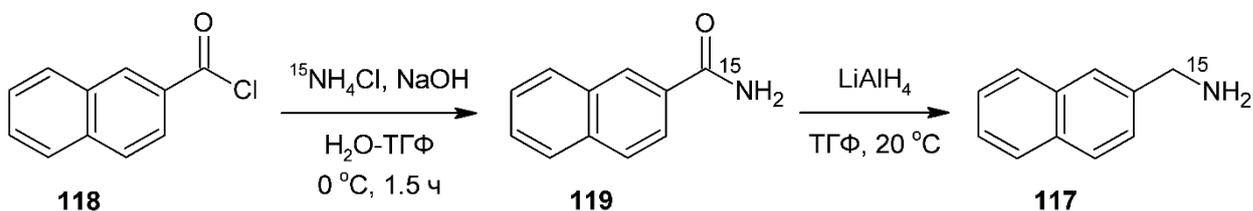


Схема 49.

Введение изотопной метки осуществлялось под действием хлорида ^{15}N -аммония в растворе вода-ТГФ при добавлении щелочи. Полученный амид **119** восстанавливали под действием алюмогидрида лития в растворе ТГФ при комнатной температуре. Выделенный амин **117** в дальнейшем использовался для синтеза пирролидинового цикла.

Данные примеры демонстрируют огромное разнообразие синтетической химии используемой на основе бензиламинов, позволяющих планировать стратегию синтеза исходя из реакционноспособного соединения.

Широко используется превращение амидов в первичные амины в ходе перегруппировки Гофмана. В случае ароматических производных данная реакция открывает путь синтеза анилинов – важнейших стартовых веществ для получения гетероциклических соединений. Данный способ превращения амидов является синтетическим эквивалентом нитрования с последующим восстановлением. При наличии $[^{15}\text{N}]$ аммиака или солей $[^{15}\text{N}]$ аммония можно синтезировать $[^{15}\text{N}]$ анилин (**120**) в две стадии, что нашло своё широкое применение в органическом изотопно-обогащенном синтезе.

Использование данного подхода позволяет получать N-замещенные анилины. В работе [60] авторами был синтезирован N,N-диметиланилин (**121**) исходя из хлорангидрида бензойной кислоты (Схема 50). Ключевой стадией синтеза была перегруппировка Гофмана.

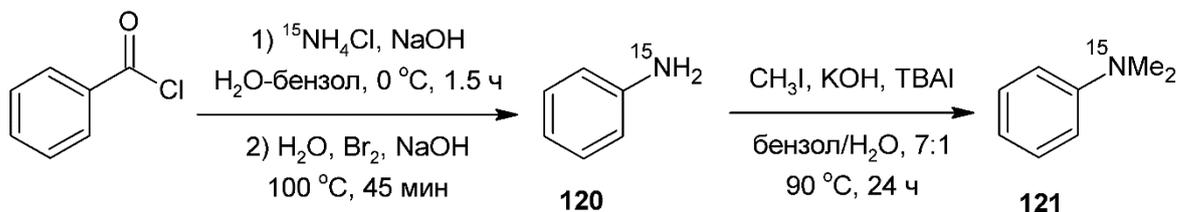


Схема 50.

Полученный таким образом анилин **120** с выходом 79%, был метилирован митилиодидом в бензольно-водном растворе. Данный подход позволяет получать анилины, не прибегая к реакциям нитрования для введения ^{15}N изотопной метки.

Производные нафталина также вступают в реакцию Гофмана с образованием соответствующих нафтиламинов. Введение изотопной метки происходит по реакции аминолиза хлорангидрида **122** и протекает с высоким выходом (Схема 51).

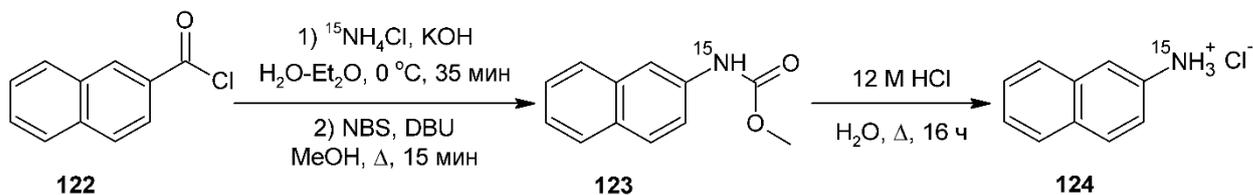


Схема 51.

Полученный амид вводят в перегруппировку Гофмана с выделением промежуточного продукта **123** с выходом 44%. Гидролизом производного **123** в солянокислом растворе был выделен гидрохлорид **124**, исходя из которого легко получают 2-аминонафталин.

Используя [¹⁵N]para-хлоранилин (**125**) авторами [61] был получен para-хлорнитрозобензол (**126**), который использовали в синтезе несимметричных азобензолов при конденсации с [¹⁵N]анилином (Схема 52).

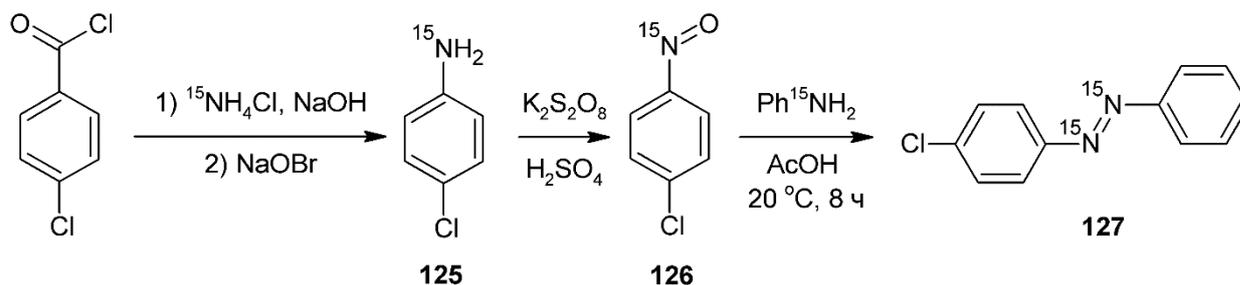


Схема 52.

Необходимые для синтеза анилина были получены с использованием перегруппировки Гофмана. Производное **126** получали окислением соответствующего анилина **125** персульфатом калия в серной кислоте. Выделенное нитрозосоединение **126** с выходом 53%, взаимодействовало с обогащенным анилином с образованием несимметричного азобензола **127**.

Анилин используется в синтезе самых разнообразных гетероциклических структур, в том числе в синтезе хинолина. Авторы работы [62] получили [¹⁵N]анилин исходя из хлорангирида бензойной кислоты используя в качестве источника изотопной метки [¹⁵N]нитрат натрия, после чего ввели [¹⁵N]анилин в синтез [¹⁵N]хинолина (**128**) по Скраупу (Схема 53).

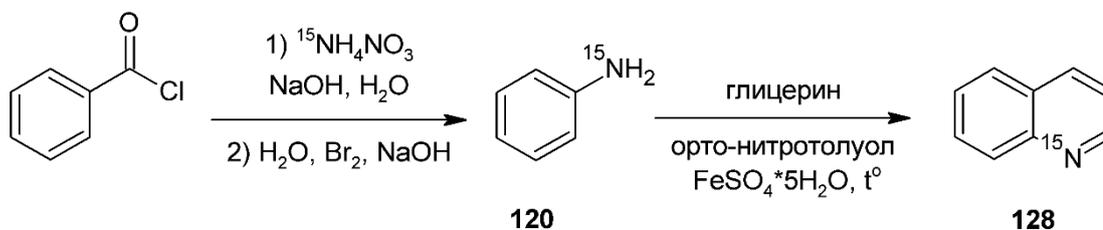


Схема 53.

[¹⁵N]Хинолин был получен с выходом 75%. Аналогичным образом были получены различные метилхинолины, которые участвовали в образовании нитратных комплексов серебра и были охарактеризованы с помощью спектроскопии ЯМР.

Перегруппировку Гофмана также применяют для получения алифатических аминов. Стратегия синтеза при этом остается прежней. В работе [63] авторами был синтезирован [¹⁵N]пивалинамид (**129**) с выходом 94% (Схема 54).

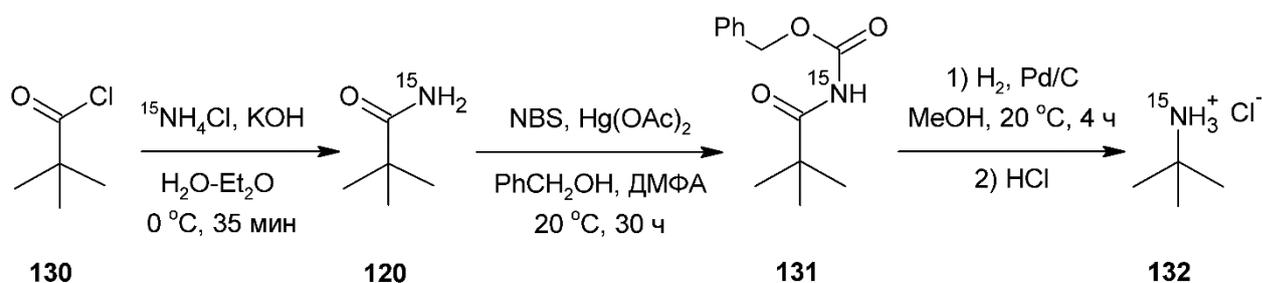


Схема 54.

Аммонолиз пивалинхлорида (**130**) проводили в водно-эфирном растворе с использованием хлорида [^{15}N]аммония в качестве источника изотопной метки. Перегруппировку Гофмана проводили с использованием бензильного спирта для более удобного выделения промежуточного продукта **131**. Бензильную группу удаляли гидрированием производного **131** на палладиевом катализаторе и выделяли солянокислый амин **132** с выходом 93%.

В некоторых случаях бензамиды могут быть применены для синтеза специфических гетероциклических структур. В работе [64] изучалась фотохимическая реакция раскрытия цикла фенилзамещенных 1,2,4-тиодиазолов с использованием ^{15}N изотопного обогащения.

Для исследования механизма реакции авторами были синтезированы [$2\text{-}^{15}\text{N}$]3-фенил-1,2,4-тиодиазол (**133**) и [$4\text{-}^{15}\text{N}$]5-фенил-1,2,4-тиодиазол (**134**). В качестве стартового соединения содержащего ^{15}N выступало соединение **100**. Для получения производного **135** бензамид вводили в реакцию с хлор(хлорсульфанил)метаном при кипячении в толуоле, а затем в реакцию с этилцианоформиаом (Схема 55).

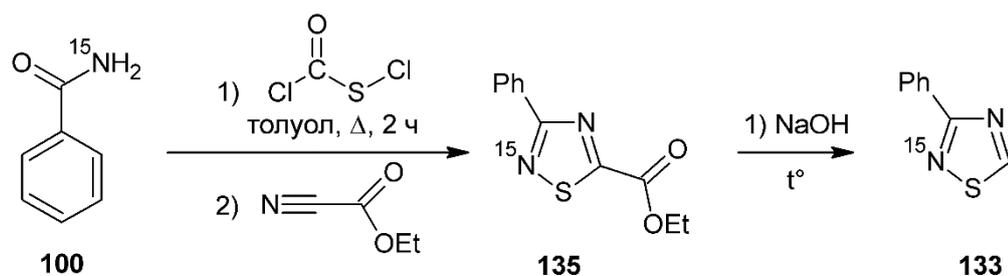


Схема 55.

Конечное вещество **133** получали удалением сложноэфирной группы. Для синтеза производного **134**, в котором изотопная метка находится у другого атома азота, **100** превращали в тиобензамид (**136**), а затем уже собирали 1,2,4-тиодиазольное кольцо исходя из производного **137** (Схема 56).

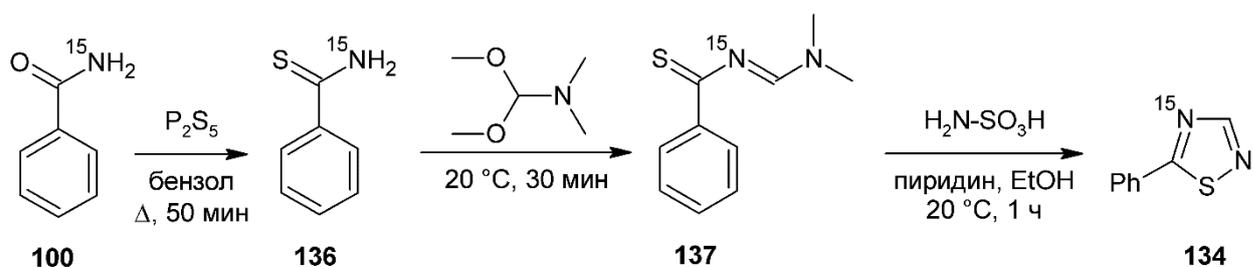


Схема 56.

Полученные соединения **133** и **134** вводили в фотохимическую реакцию с раскрытием цикла, и по распределению изотопной метки в продуктах реакции авторы [64] определяли механизм и направления фотохимической реакции. Данный подход с использованием бензамида открывает путь синтеза многих ^{15}N -меченных гетероциклических структур подобного типа.

Особое значение [^{15}N]аммиака, как источника изотопной метки, состоит в возможности синтеза ключевых малых молекул, являющихся важнейшими «билдинг-блоками» в синтезе природных соединений. Исходя из [^{15}N]аммиака в качестве единственного источника изотопной метки был осуществлен 14-стадийный синтез [$^{15}\text{N}_5$]цилиндроспермопсина – токсичного, структурно сложного, цвиттер-ионного урацил-гуанидинового алкалоида.

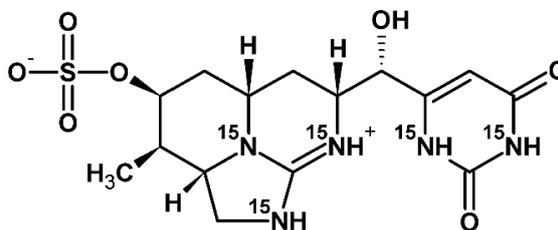


Рисунок 4. Структура [$^{15}\text{N}_5$]цилиндроспермопсина.

Данное соединение вырабатывается в процессе цветения цианобактериальных водорослей в пресной воде и представляет серьезный риск для здоровья человека. Возможность обнаружения и количественного определения присутствия цилиндроспермопсина в образцах воды возможно при наличии изотопномеченного стандарта для аналитической масс-спектрометрии.

Для реализации данного синтеза авторами была получена обогащенная барбитуровая кислота (**138**) (Схема 57).

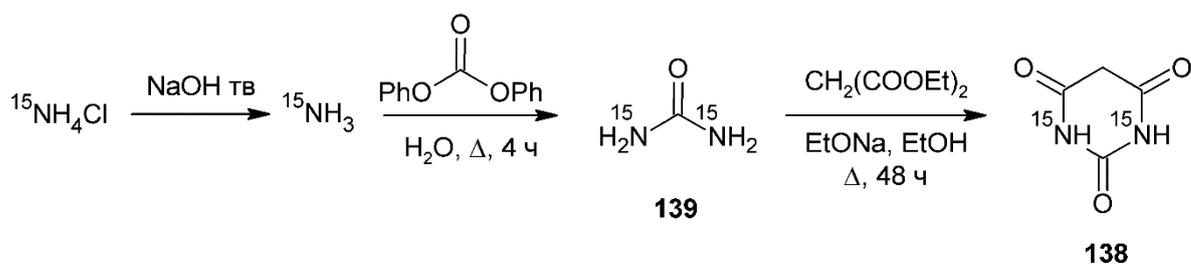


Схема 57.

На первой стадии из хлорида [^{15}N]аммония был получен газообразный [^{15}N]аммиак, взаимодействием с твердой щелочью и вымораживанием газа в специальный сосуд. Вводные растворы [^{15}N]аммиака вводили в последующие стадии синтеза. Изотопнообогатенная мочеваина **139** была получена взаимодействием водного раствора дифенилакарбоната с [^{15}N]аммиаком, выход составил 94%. Конденсация [$^{15}\text{N}_2$]мочевины с диэтилмалонатом протекала в растворе этанола в присутствии этилата натрия при кипячении, выход кислоты **138** составил 90%. Синтетические возможности [$^{15}\text{N}_2$]мочевины и [$^{15}\text{N}_2$]барбитуровой кислоты будут рассмотрены ниже.

Помимо [$^{15}\text{N}_2$]барбитуровой кислоты, другим важнейшим билдинг-блоком в синтезе [$^{15}\text{N}_5$]цилиндроспермопсина является хлористый [$^{15}\text{N}_3$]гуанидин (**140**), синтез которого также был осуществлён исходя из газообразного [^{15}N]аммиака (Схема 58).

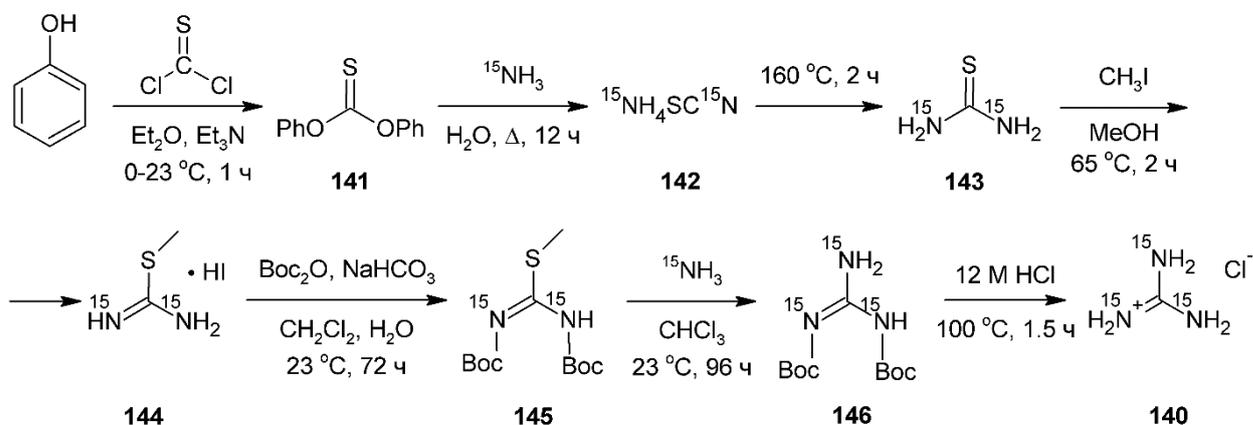


Схема 58.

Требуемый для синтеза дифенилтиокарбонат (**141**) был получен исходя из фенола, после чего был введен в реакцию с [^{15}N]аммиаком. Образующийся [$^{15}\text{N}_2$]изотиоцианат аммония **142** при нагревании превращали в обогащенную [$^{15}\text{N}_2$]тиомочевину **143**. Синтез проводили 6 раз небольшими порциями с суммарным выходом 57%. Дальнейшие стадии синтеза заключались в метилировании [$^{15}\text{N}_2$]тиомочевины с образованием производного **144**. Последующее замещение серы проводили, исходя из производного **145**, содержащего защитные группы на двух атомах азота. Все стадии отмечались высокими выходами продуктов и изотопной чистотой. Снятие Boc-защиты в соединении **146** проводили кипячением раствора в присутствии 12 М HCl с выделением целевого продукта **140**.

2.1.7. Введение изотопной метки с использованием [¹⁵N₂]мочевина и [¹⁵N₃]гуанидина

Смещение синтеза изотопнообогащенных соединений в сторону медицинской химии привело к тому, что [¹⁵N₂]мочевина и [¹⁵N₃]гуанидин стали доступными источниками изотопа азота ¹⁵N. Использование этих малых молекул главным образом направлено на синтез важнейших гетероциклических каркасов, являющиеся основой пуриновых оснований и многих других биологически значимых молекул. Синтез пиримидиновых оснований позволяет выйти на синтез обогащенных нуклеозидов и внедрить их в спираль ДНК, что позволяет получить важнейшие сведения о характере межмолекулярных взаимодействий.

В работе [65] авторами был синтезирован [¹⁵N₂]урацил (**147**) исходя из ацетиленкарбоновой кислоты (**148**), источником изотопной метки служила [¹⁵N₂]мочевина (Схема 59).

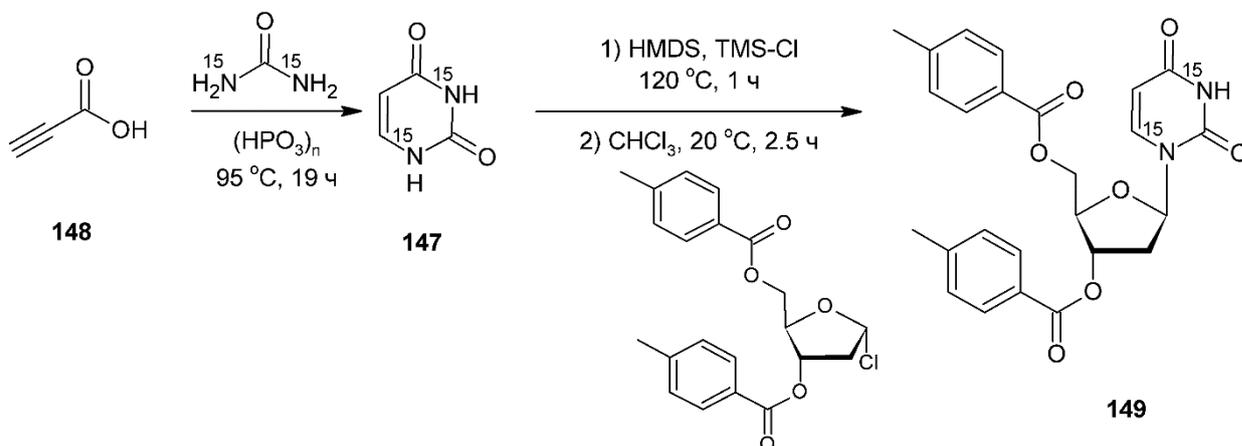


Схема 59.

После чего соединение **147** по реакции нуклеозидирования вводили в будущий каркас нуклеозида и в дальнейшем производное **149** в несколько стадий было превращено в фосфорамидит, который использовался для синтеза 30-мерных олигонуклеотидов. Наличие двух изотопных меток позволило авторам, используя масс-спектрометрию высокого разрешения, определить механизм и активность 5-карбокситозина в стволовых клетках.

Другим интересным примером использования изотопного обогащения может служить работа [66], где авторы изучали комплементарность синтетического цианурилового нуклеозида, который функционирует как пиримидиновое основание, включающее в себя фрагмент циануровой кислоты. Данный нуклеозид способен образовывать триаду посредством водородной связи в двух направлениях с двумя аденинами (Рисунок 5).

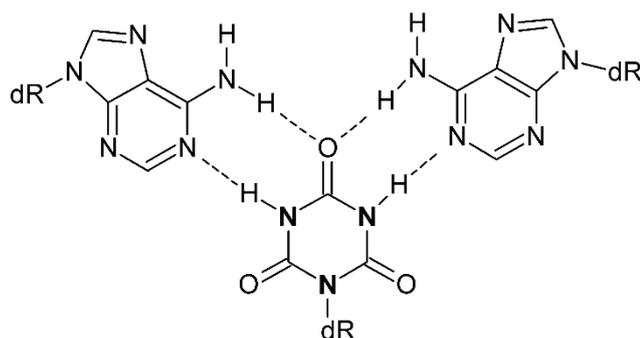


Рисунок 5. Водородные связи между синтетическим циануриловым нуклеозидом и двумя молекулами аденина.

Для доказательства образования водородной связи между циануриловым нуклеозидом и адениновым основанием, был синтезирован нуклеозид **150**, содержащий три изотопные метки ^{15}N , после чего он был включен в целевые последовательности. Структурный анализ проводили, используя спектроскопию ЯМР ^1H и ^{15}N .

Требуемую $[^{15}\text{N}_3]$ циануровую кислоту (**151**) получали из $[^{15}\text{N}_2]$ мочевины нагреванием в керосине в присутствии сульфата аммония в течение 7 ч (Схема 60).

$[^{15}\text{N}_3]$ Циануровую кислоту вводили в дальнейшие превращения с целью получения требуемого нуклеозида **150**. Данный синтез позволил авторам зафиксировать образование водородных связей между циануриловым нуклеозидом и аденином, основываясь на результатах спектроскопии ЯМР ^1H и ^{15}N .

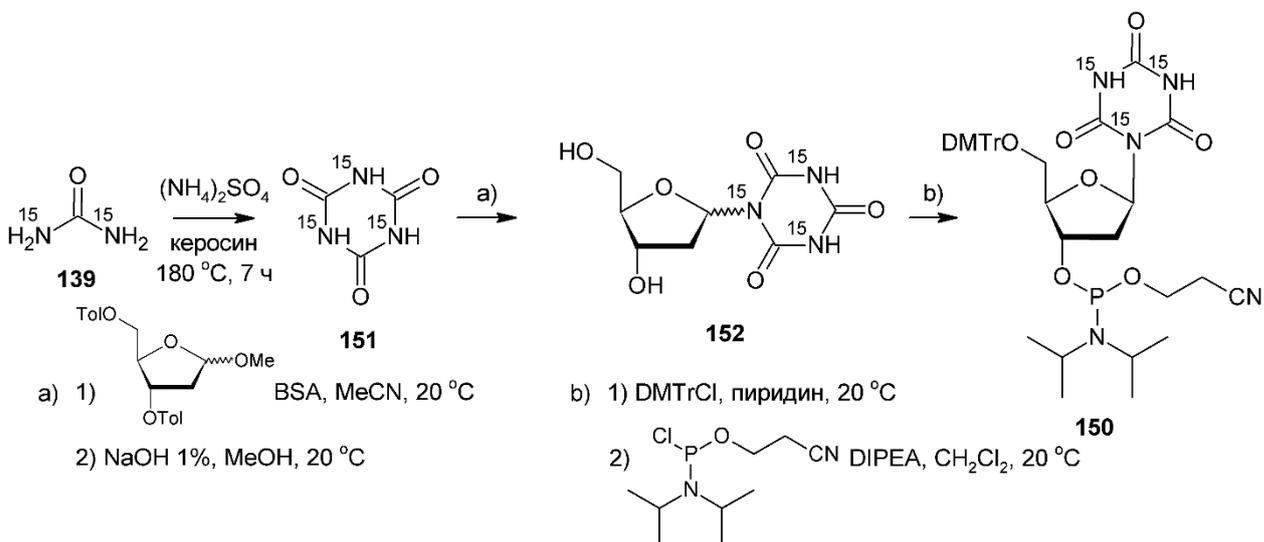


Схема 60.

Использование $[^{15}\text{N}_2]$ барбитуровой кислоты (синтез которой приведен в работе [29]) продемонстрировано на примере образования сложного гетероциклического каркаса рибофлавина **152** взаимодействием с ранее синтезированным азопроизводным **153** (Схема 61).

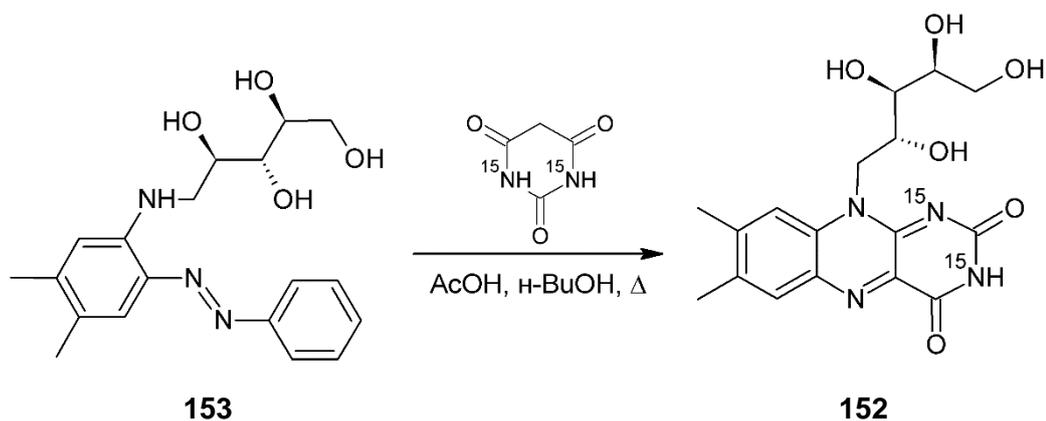


Схема 61.

Изотопнообогащенный рибофлавин **152** является мощным инструментом для изучения структуры и механизма катализа флавоферментами с помощью различных физико-химических методов, включая ЯМР, ИК, масс-спектрометрию.

В свою очередь, [¹⁵N₃]гуанидин используется для получения 2-аминопиримидинового кольца, являющегося структурным фрагментом модифицированного нуклеозида квеозина, подробно изученного в работе [16].

Данный синтетический подход открывает возможность синтеза различных пиримидиновых оснований с обогащенными азотами пиримидинового фрагмента.

2.1.8. Введение изотопной метки через глицин

Развитие методов введения изотопных меток постепенно расширило количество источников ¹⁵N обогащенных соединений. Многие из синтезированных ранее препаратов, содержащих ¹⁵N, стали коммерчески доступными, в первую очередь, ввиду их широкого применения и удобства использования в реакциях. Всё это привело к относительно новому первичному источнику аминокислоте [¹⁵N]глицину (**154**).

Синтез аминокислот содержащих ¹⁵N имеет фундаментальное значение для биохимиков и в совокупности с использованием методов спектроскопии ЯМР ¹⁵N и масс-спектрометрии высокого разрешения позволяет решать сложнейшие структурные задачи. В работе [5] приведен синтез селективно меченного триптофана (**155**), важнейшей аминокислоты, содержащий индольный фрагмент. Синтез альфа-аминокислот осуществляют взаимодействием гидантоина соответствующим альдегидом. Требуемый обогащенный [¹⁵N]гидантоин (**156**) авторы получали исходя из аминокислоты **154** в качестве источника изотопной метки (Схема 62).

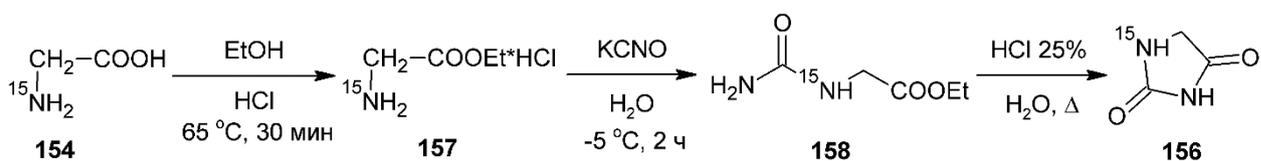


Схема 62.

Солянокислый эфир глицина **157** взаимодействовал с цианатом калия в водном растворе с образованием производного **158**, которое затем конденсировалось в продукт **156** с суммарным выходом 93%. [^{15}N]Гидантоин вводили в реакцию с индол-3-карбальдегидом (**159**). Восстановление и гидролиз образовавшегося производного **160** позволило получить соединение **155**, содержащее изотопную метку в аминогруппе с выходом 75% в пересчете на обогащенную аминокислоту **154** (Схема 63).

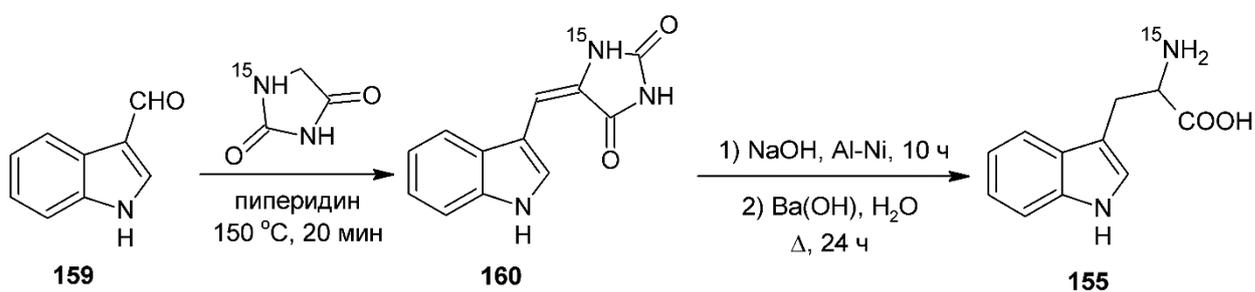


Схема 63.

Синтез аминокислот не единственная прикладная область использования соединения **154**. Так в работе [67] авторы изучали тансаннулярную перегруппировку активированных лактамов, эта новая реакция представляет большой интерес для химиков-органиков и специалистов в области медицинской химии, поскольку позволяет получать пятичленные гетероциклы. Реакционная способность в основных условиях N-Вос активированных 2,5-дикетопиперазинов обеспечивает высоко стереоселективный путь к исходным пирролидин-2,4-дионам, которые впоследствии могут быть диастереоселективно восстановлены и превращены в ценные аналоги статинов.

Для синтеза необходимых соединений, авторы использовали аминокислоту **157** в качестве источника изотопной метки. На первой стадии был получен дипептид **161**, который затем циклизовался под действием микроволнового излучения (Схема 64). Введение ядра ^{15}N позволило более детально изучить структурные изменения на молекулярном уровне с использованием спектроскопии ЯМР ^{15}N .

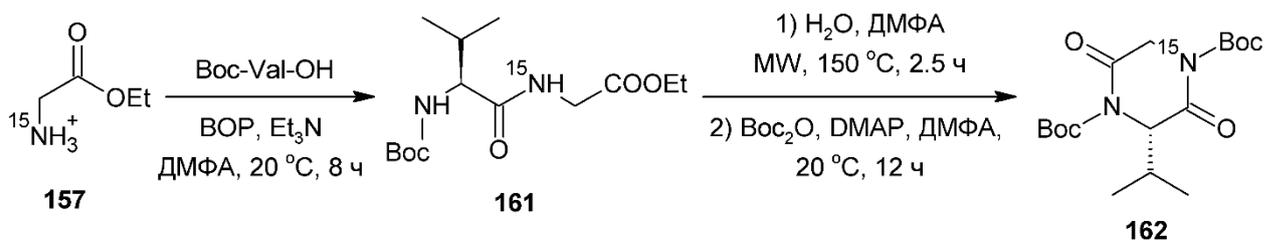


Схема 64.

Меченый дикетопипезин **162** затем использовался для проведения тансаннулярной перегруппировки активированных лактамов и её алкилирующего варианта. Сужение кольца протекает полностью региоселективно с образованием продукта **163** с расположением группы, содержащей метку ^{15}N вне основного пятичленного кольца. В случае перегруппировки, сопровождающейся алкилированием с получением производного **164**, реакция протекает стереоселективно, что подтверждается результатами хирального ВЭЖХ-анализа (Схема 65).

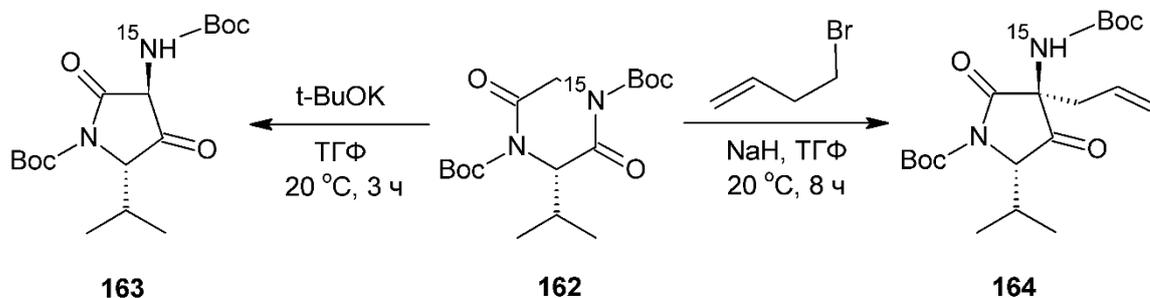


Схема 65.

Важно отметить, что полученные соединения **163** и **164** обладают структурной аналогией с фрагментами, присутствующими в биологически активных молекулах, таких как статины и блеомицин, что делает синтез таких объектов, содержащих изотопную метку, особенно привлекательным.

Одним из интересных применений аминокислоты **154** в качестве источника изотопной метки может служить работа [68], в которой авторы синтезировали различные азотсодержащие гетероциклы расщеплением C-N связи в анилинах. Так, производное анилина **165**, содержащего защитную тозилльную группу и фенилэтинильный заместитель во втором положении, было переведено в соответствующий обогащенный анилин **166** путем расщепления C-N связи (Схема 66).

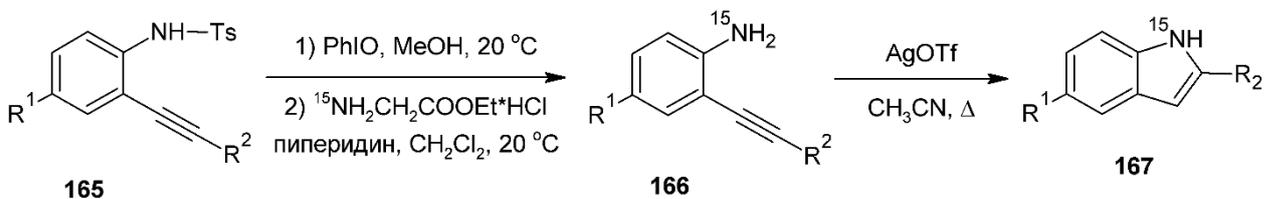


Схема 66.

Подобные 2-фенилэтиновые производные обогащенных анилинов интересны тем, что могут быть переведены в 2-замещенные индолы **167** под действием трифлата серебра с высокими выходами. Представлены данные по синтезу множества таких 2-замещенных индолов, которые могут быть использованы в качестве прекурсоров для синтеза различных органических соединений, содержащих индольный фрагмент [68].

Было показано [68], что данное превращение может быть использовано для синтеза многих других ^{15}N меченных гетероциклов. Например, используя соответствующие 2-замещенные анилины в качестве исходных субстратов, можно получить замещенные акридины **168**, хинолины **169**, карбазолы **170** и фенантридины **171**, содержащие изотопную метку ^{15}N (Схема 67).

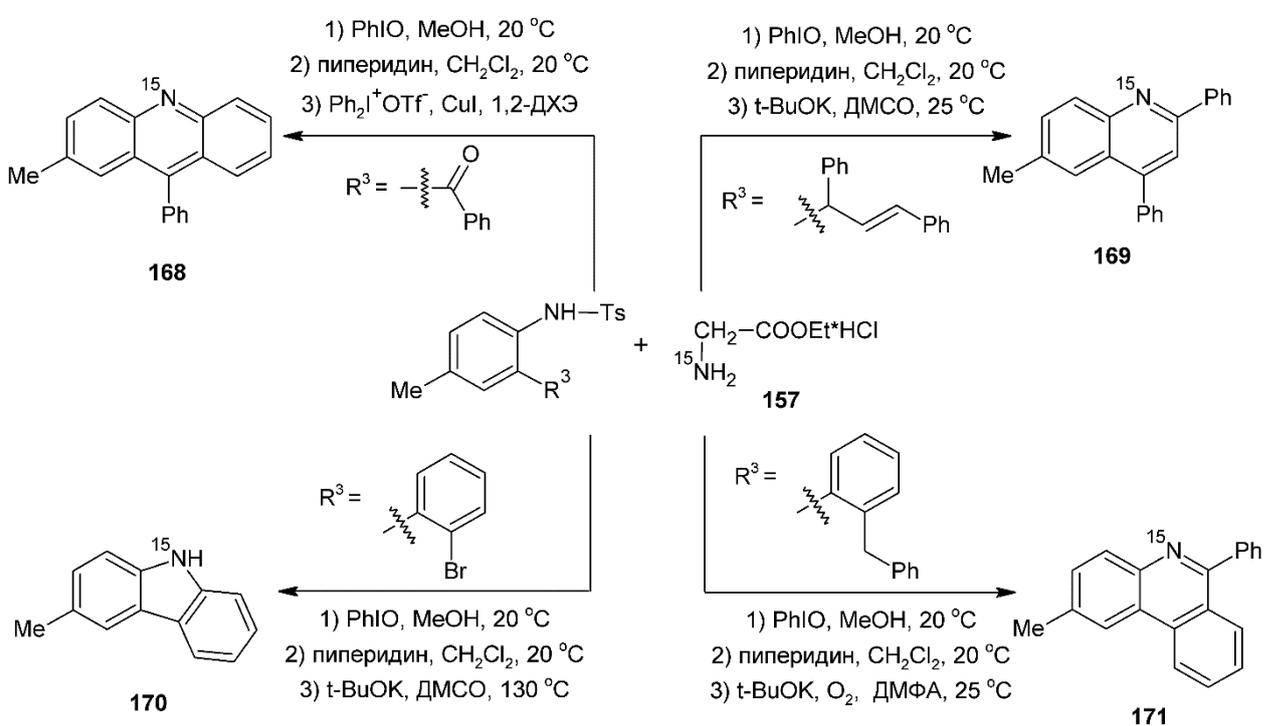


Схема 67.

Данный подход использования соединения **157** позволяет открыть путь синтеза огромного числа замещенных гетероциклов, содержащих атом азота ^{15}N . Всё это делает аминокислоту **154** чрезвычайно полезным источником изотопной метки для синтеза самых разнообразных органических препаратов.

2.1.9. Использование фталимида

Введение $^{15}\text{NH}_2$ -аминогруппы может быть реализовано при использовании в качестве источника изотопной метки [^{15}N]фталимида (**172**). Фталимид является классическим реагентом в синтезе первичных аминов по Габриэлю, позволяющего получать самые разнообразные амины с хорошим выходом. Так в работе [69] авторы синтезировали 2-аминоэтанол (**173**) используя соединение **172**, синтезированное из

[¹⁵N]аммиака (Схема 68). Снятие фталиимидной защиты производили кипячением производного **174** в щелочном растворе.

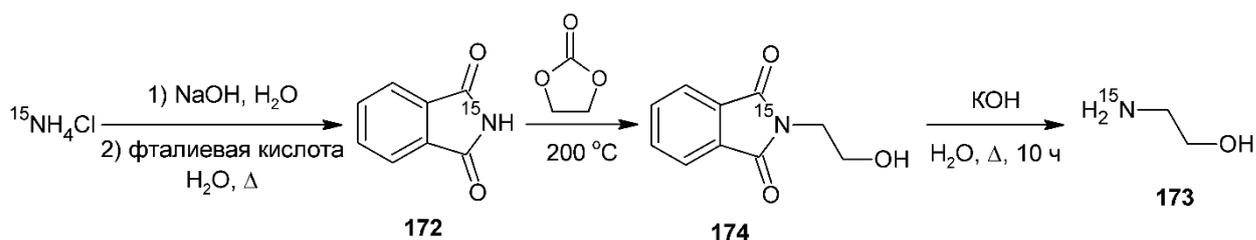


Схема 68.

На данный момент [¹⁵N]фталиимид калия (**175**) является доступным реагентом, успешно применяемым в органическом синтезе. Исходя из [¹⁵N]фталиимида калия авторами [70] был предложен синтез [¹⁵N]таурина (**176**). Цель исследования состояла в изучении метаболизма и биодоступности таурина – аминокислоты в организме человека и многих других видов. Нуклеофильное замещение с 1,2-дибромэтаном позволило ввести изотопную метку с образованием производного (**177**) (Схема 69).

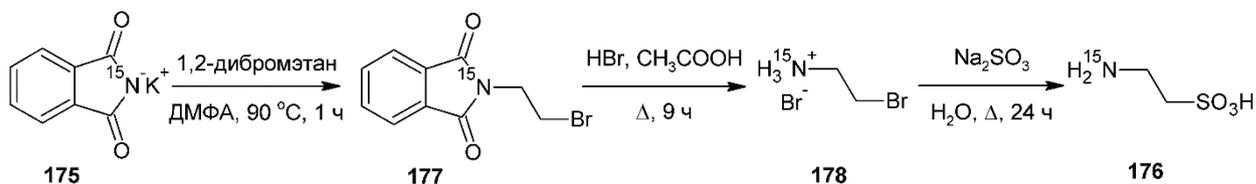


Схема 69.

Снятие фталиимидной защиты осуществляли кипячением в среде бромоводородной и уксусной кислот с образованием соединения **178**. Суммарный выход [¹⁵N]таурина составил 55% в расчете на источник изотопной метки.

Область метаболомики стремится охарактеризовать и количественно оценить малые молекулы, обнаруженные в биологической системе. Эта задача упрощается, если два аналитических метода могут быть использованы в тандеме, например, использование спектроскопии ЯМР и масс-спектрометрии для идентификации неизвестных метаболитов, среди которых может выступать производное (**179**) [71].

Введение изотопной метки осуществляли с использованием [¹⁵N]фталиимида. Гидразин/гидрат использовался для снятия защитной фталиимидной группы в производном **180**, что позволило получить требуемый амин, который был переведен в соль **179**, взаимодействием с концентрированной бромоводородной кислотой (Схема 70).

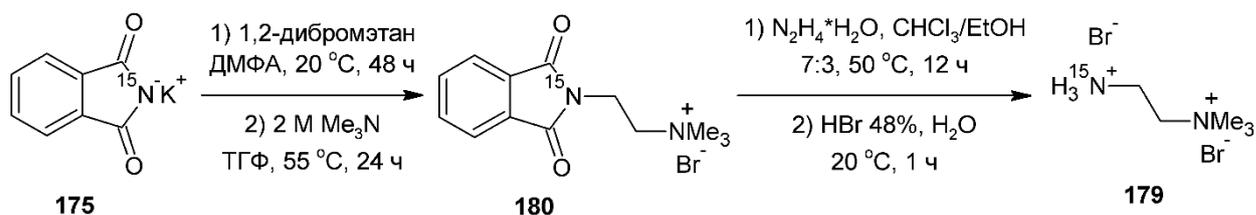


Схема 70.

Фталимид может быть использован не только для синтеза низкомолекулярных аминов, так в работе [72] был синтезирован 1-аминооктадекан (**181**), исходя из соответствующего бромида. Снятие фталимидной защиты в соединении **182** производили под действием гидразингидрата. В результате двухстадийного синтеза был получен амин **181** с суммарных 76% выходом (Схема 71).

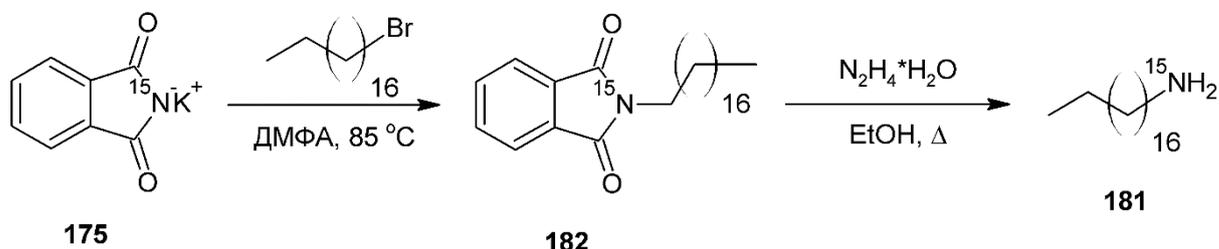


Схема 71.

Требуемый амин использовался для синтеза поликарбодииминов и характеристики данных полимеров с использованием спектроскопии ЯМР ^{15}N .

Как уже упоминалось ранее [29], синтез предшественника квеозина был осуществлен с введением изотопных меток в различные структурные фрагменты молекулы. Использование соединения **175** позволило авторам синтезировать обогащенный по алифатической аминогруппе предшественник квеозина (Схема 72).

Таким образом, рассмотренные способы введения изотопной метки ^{15}N демонстрируют огромные возможности для синтеза самых разнообразных меченных органических веществ, в том числе представляющих повышенный интерес со стороны медицинской химии и фармацевтической промышленности.

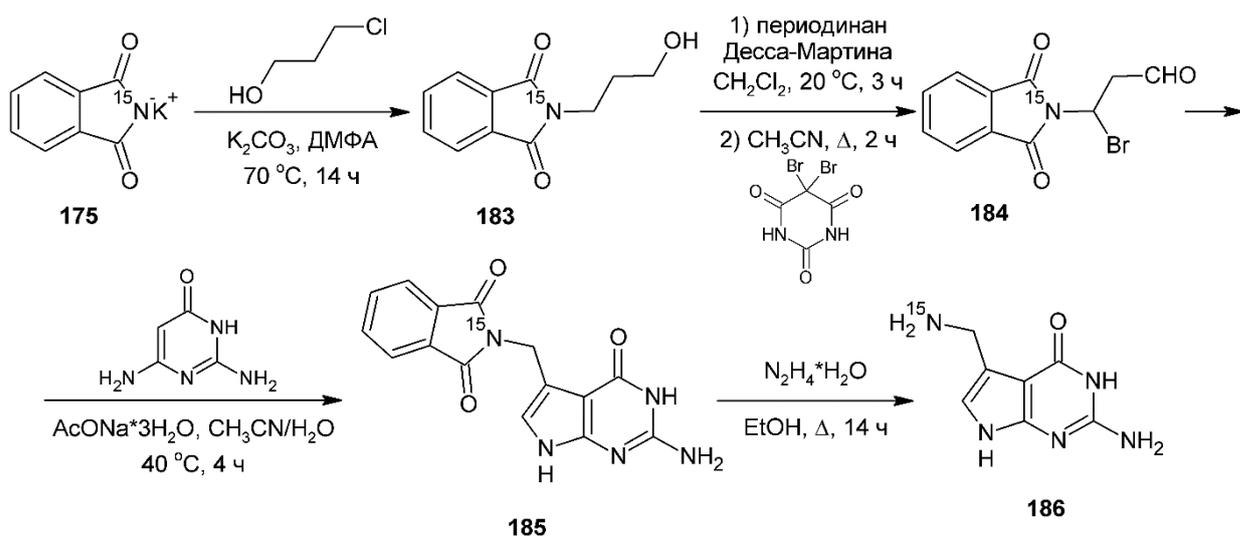


Схема 72.

Ценность представляют, как селективно-меченные соединения, так и объекты, в которых все или большая часть атомов азота заменены на ядро ^{15}N . В настоящий момент синтез новых органических препаратов всё чаще включает апробацию методик для

получения обогащенных соединений, поскольку данная тенденция определяется их повсеместным использованием для изучения совокупностью физико-химических методов.

2.2. Экспериментальные особенности наблюдения сигналов ЯМР ядер ^{15}N

Ширина линий в спектрах ЯМР ^{15}N органических молекул сравнима с шириной линий в спектрах на ядрах ^1H и ^{13}C . В связи с этим, ЯМР спектроскопия ядра ^{15}N является предпочтительней спектроскопии более распространенного квадрупольного изотопа ^{14}N , спектры которого характеризуются широкими линиями. Благодаря этой благоприятной спектральной характеристике, спектроскопия ЯМР на ядрах ^{15}N способна охарактеризовать сложную структуру азотсодержащих молекул.

Спектроскопия ЯМР ^{15}N обладает изначально низкой чувствительностью. Разница в энергии между состояниями ядерных спинов составляет порядка 10^{-5} от тепловой энергии при комнатной температуре [73]. Поэтому усиление сигнала ЯМР является одной из ключевых задач при работе с ядром азота ^{15}N . Чувствительность (отношение сигнал-шум S/N) одномерного эксперимента с участием ядер со спином $\frac{1}{2}$ выражается следующим образом:

$$\frac{S}{N} \sim NAT^{-1}\gamma_{exc}\gamma_{det}^{3/2}B_0^{3/2}T_2^*(NS)^{1/2} \quad (1)$$

где N – число молекул в наблюдаемом объеме образца, A – член представляющий избыток ЯМР-активных спинов, участвующий в эксперименте, T – температура, γ_{exc} и γ_{det} – гиромагнитные отношения возбужденного и детектируемого спинов соответственно, B_0 – статическое магнитное поле, T_2^* – эффективное время поперечной релаксации, NS – общее число накопленных сканов.

Выражение 1 позволяет определить факторы, влияющие на увеличение отношения сигнал-шум S/N:

- 1) увеличить количество молекул (N) путем увеличения концентрации образца при фиксированном объеме или увеличить наблюдаемый объем образца при фиксированной концентрации;
- 2) Увеличить количество активных ядер ЯМР (A) путем изотопного обогащения;
- 3) Выбрать возбужденные (γ_{exc}) и детектированные (γ_{det}) ядра с максимально возможными гиромагнитными отношениями;
- 4) Увеличить статическое магнитное поле B_0 ;
- 5) Увеличить NS, либо увеличив время накопления сканов, либо уменьшив время повторения (например, путем уменьшения времени релаксации с помощью релаксационных агентов).

Для конкретного образца и напряженности магнитного поля B_0 и при естественном содержании ядра ^{15}N , только пункт 3 может быть оптимизирован за счет выбора схемы импульсов [74].

Для измерения параметров спектров ЯМР ^{15}N можно использовать принципиально три различных метода. Прямое детектирование ядра ^{15}N – является исторически наиболее распространенным способом. В качестве недостатков данного метода стоит отметить очень низкую чувствительность, поскольку $\gamma_{\text{exc}} = \gamma_{\text{det}} = \gamma_{\text{N}}$.

Усиление относительно нечувствительного ядра ^{15}N путем переноса поляризации от протона (или другого ЯМР-чувствительного ядра) составляет основу второго класса экспериментов ($\gamma_{\text{exc}} = \gamma_{\text{H}}$, $\gamma_{\text{det}} = \gamma_{\text{N}}$). Наконец, эксперименты, основанные на возбуждении и детектировании протонов (обратное или косвенное детектирование) с использованием $\gamma_{\text{exc}} = \gamma_{\text{H}}$, $\gamma_{\text{det}} = \gamma_{\text{H}}$, представляют собой наиболее мощный подход к определению параметров спектров ^{15}N . Косвенное определение параметров ^{15}N является предпочтительным по сравнению с другими методами из-за благоприятных свойств атома водорода по сравнению с атомом азота.

2.2.1. Прямое наблюдение

Прямое наблюдение является наиболее распространенным методом регистрации спектров ЯМР ^{15}N всех типов атомов азота. К сожалению, данный метод имеет существенные ограничения в применении ввиду совокупности следующих факторов: низкое природное содержание ядра азота ^{15}N , низкое и отрицательное гиромагнитное отношение, низкая относительная чувствительность, а также во многих случаях длительное время релаксации ядер азота ^{15}N . Для данного типа эксперимента характерно проведение длительных накоплений спектров ЯМР ^{15}N , даже при использовании ЯМР спектрометров с высокой напряженностью магнитного поля. Изотопное обогащение ядром ^{15}N , широко используется для преодоления проблемы низкой чувствительности в спектроскопии ЯМР ^{15}N , однако требует синтеза селективно меченных органических веществ.

Относительно большое время релаксации ядра ^{15}N , характерное для атомов азота в малых молекулах, может быть уменьшено с использованием релаксационных реагентов, таких как ацетилацетонат хрома (III). При использовании таких реагентов, наблюдаются незначительные эффекты изменения химического сдвига ядра ^{15}N (обычно не более 1 м.д.), а также уширение сигналов в спектрах ЯМР ^{15}N .

Можно использовать несколько экспериментов с прямым наблюдением ^{15}N , различающихся по применению развязки от протонов. При отсутствии развязки во время последовательности импульсов наблюдаются спектры азота с константами спин-спинового

взаимодействия с протонами. Как правило, такие спектры характеризуются плохим соотношением сигнал-шум, поскольку азотный сигнал расщепляется на несколько компонент из-за КССВ с ядром ^1H . Спектры ЯМР ^{15}N без развязки от протонов позволяют извлечь КССВ $^nJ_{\text{HN}}$, однако, особенно для дальних КССВ, порой невозможно определить с каким именно протоном наблюдается взаимодействие. Развязка от протонов, позволяет значительно увеличить интенсивность сигнала азота и упрощает вид спектра. Следует отметить, что развязку от протонов следует применять с осторожностью, поскольку на интенсивность сигнала азота ^{15}N может сильно повлиять ядерный эффект Оверхаузера. ЯЭО определяется следующим образом,

$$\eta = \frac{1}{2} \times \frac{\gamma_{\text{H}}T_1}{\gamma_{\text{N}}T_{1(\text{DD})}} \quad (2)$$

где γ_{H} и γ_{N} гиромагнитное отношение водорода и азота соответственно, T_1 – время спин-решетчатой релаксации, а $T_{1(\text{DD})}$ – время диполь-дипольной релаксации. Следовательно, интенсивность сигнала определяется в соответствии с уравнением

$$\frac{M_z}{M_z(0)} = 1 + \frac{1}{2} \times \frac{\gamma_{\text{H}}T_1}{\gamma_{\text{N}}T_{1(\text{DD})}} \quad (3)$$

где M_z – z-намагниченность, а $M_z(0)$ - z-намагниченность при тепловом равновесии.

Для $T_1 = T_{1(\text{DD})}$, в случае, когда механизм релаксации имеет исключительно диполь-дипольное происхождение, достигается теоретическое значение $\eta = -4.93$ (уравнение 2). В этом случае сигнал резонанса ядра ^{15}N имеет отрицательную интенсивность, что характерно для протон-связанных атомов азота. Теоретический максимум ЯЭО составляет $\eta = -3.93$, согласно уравнению 2. Сигнал полностью исчезает, если $\eta = -1$. Однако, сигнал можно наблюдать в эксперименте с использованием инверсной развязки. В этом эксперименте расщепление сигнала азота ^{15}N из-за КССВ с протоном устраняется путем применения развязки во время регистрации, но без развязки в период релаксации. Различия в населенности из-за ЯЭО в этом случае значительно ослабляются.

2.2.2. Прямое наблюдение с использованием передачи поляризации

Методы переноса поляризации INEPT [75], DEPT [76] повышают интенсивность сигнала путем переноса большей разности населенностей высокопольных спинов на спин-связанные ядерные спины с меньшими больцмановскими различиями в населенностях [77, 78]. Это процесс заменяет γ_{N} на γ_{H} в качестве члена γ_{exc} в выражении 1 и таким образом обеспечивает увеличение чувствительности $\gamma_{\text{H}}/\gamma_{\text{N}}$. Более того, повторение импульса в данном случае определяется более коротким временем релаксации протонов ($T_1^{\text{H}} < T_1^{\text{N}}$). Одним из основных условий для реализации переноса поляризации является спин-спиновое взаимодействие между ядрами, однако в случае очень низких значений

КССВ эти методы не работают и прямое наблюдение сигнала азота ^{15}N , несмотря на все вышеперечисленные недостатки, остается единственным методом определения параметров спектров ЯМР ^{15}N в таких системах. Усиление интенсивности сигнала за счет переноса поляризации для ядра ^{15}N значительно выше, чем для ядра ^{13}C .

Таким образом, методы, включающие перенос поляризации, экспериментально предпочтительнее методов прямого детектирования из-за их значительно большей чувствительности.

2.2.3. Инверсионно-градиентная регистрация

В экспериментах с инверсным детектированием ядро ^1H используется как для возбуждения, так и для наблюдения сигнала ЯМР. Этот подход вводит γ_{H} в качестве членов γ_{exc} и γ_{det} в выражение 1, тем самым значительно увеличивая чувствительность. Как и в других методах, основанных на переносе поляризации, инверсные эксперименты выигрывают от уменьшения времени повторения, за счет гораздо меньшего времени релаксации протонов.

Несмотря на то, что эксперименты по корреляции ^1H -X с инверсным наблюдением известны уже около 40 лет, они не сразу нашли широкое применение в структурной химии соединений с естественным содержанием изотопов ^{13}C и ^{15}N . Недостаточная стабильность спектрометров часто приводила к тому, что желаемые сигналы в протонных спектрах при выборе путей когерентности на основе фазового циклирования полностью перекрывались остаточными протонными сигналами от пар ^1H - ^{14}N . Эта проблема была решена практической реализацией градиентов импульсного поля в спектроскопии ЯМР высокого разрешения в начале 1990-х годов. Импульсные градиенты поля представляют собой чрезвычайно мощный подход к подавлению сигнала. Коэффициенты ослабления, превышающие 1000:1, легко достигаются за одно сканирование, что означает, что подавление сигналов ^1H - ^{14}N (99.63% интенсивности протонного сигнала) является практически полным [79].

Существуют две широко используемые методики, обеспечивающие корреляцию с использованием прямых КССВ ядер ^1H и ^{15}N – HSQC и HMQC, а соответствующие градиентные версии обозначаются как GHSQC и GHMQC (или gs-HSQC и gs-HMQC).

Метод HSQC [80] был первоначально разработан для корреляции ^1H - ^{15}N и часто используется в биомолекулярной ЯМР-спектроскопии для определения протонных и азотных резонансов амидных групп белка. Дэвис и соавторы [81] опубликовали градиентную версию HSQC (GHSQC), а в 1992 году была опубликована работа по улучшению чувствительности GHSQC [82]. По сравнению со своим аналогом HMQC метод

HSQC характеризуется лучшей формой линий в спектрах и поэтому часто используется в ЯМР высокого разрешения. Обе эти методики могут быть включены в гибридные корреляционные эксперименты (например, HSQC-TOCSY [83, 84], HMQC-TOCSY, HSQC-NOESY).

В настоящее время более популярным методом корреляции химического сдвига гетероядерных соединений является метод HMBC – гетероядерная многосвязная корреляционная спектроскопия [85]. В данном методе используется низкочастотный J -фильтра для подавления прямых КССВ. Усиленная градиентом версия HMBC (GHMBC или gs-HMBC) [86] в настоящее время регулярно используется для отнесения сигналов и определения параметров непротонированных атомов азота ^{15}N .

Во многих типах органических молекул (например, в алкалоидах) [87] атомы азота присутствуют преимущественно в третичной или четвертичной форме. Корреляционные сигналы ^1H - ^{15}N таких соединений относительно хорошо разделены в спектрах, поэтому включение низкочастотного J -фильтра [88] обычно не требуется [89]. Этот тип эксперимента, оптимизированный для корреляций ^1H - ^{15}N , стал известен под аббревиатурой GHNMQC [90]. В спектрах часто появляются остаточные дублеты, обусловленные прямой КССВ $^1J_{\text{HN}}$. С практической точки зрения это выгодно для малых молекул, поскольку в одном эксперименте появляются кросс-пики корреляций как для односвязных, так и для многосвязных взаимодействий.

В заключение следует отметить, что использование методов инверсионно-градиентной регистрации спектров ЯМР ^{15}N является предпочтительным, из-за значительно более высокой чувствительности по сравнению с прямым наблюдением.

2.3. Параметры спектров ЯМР ^{15}N

Атом азота входит в состав многих важных органических молекул, среди которых биомакромолекулы, биологически важные вторичные метаболиты и лиганды, а также противоопухолевые и противовирусные препараты на основе пурина. Азот является одним из центров межмолекулярных взаимодействий и является важнейшим элементом образующим супрамолекулярные комплексы. Кроме того, электронное окружение атома азота драматическим образом зависит от изменения топологии молекулы и межмолекулярных взаимодействий. Электронные изменения отражаются на параметрах спектров ЯМР ядра азота, среди которых химический сдвиг, прямые и дальние КССВ и время релаксации.

Азот существует почти исключительно в виде квадрупольного изотопа ^{14}N (~ 99.63%) со спином 1 и обычно имеет короткое время спин-решеточной релаксации в

спектрах ЯМР. Это приводит к сильным уширениям соседних с атомом азота сигналов групп в спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C и приводит к значительной потере спектральной информации. Ядро азота ^{15}N имеет очень низкое природное содержание ($\sim 0.37\%$), однако обладает спином $1/2$ и довольно низкими скоростями релаксации сигналов ЯМР. Всё это делает ядро ^{15}N высокоинформативным и перспективным для ЯМР исследований.

2.3.1. Химический сдвиг ядра ^{15}N

Шкала химических сдвигов ядра ^{15}N для органических молекул изменяется в широком диапазоне порядка 1000 м.д., эта цифра может достигать и больших значений порядка 1200 м.д. при рассмотрении комплексных соединений. Химический сдвиг ^{15}N обладает высокой чувствительностью к электронным взаимодействиям с участием неподеленной электронной пары азота, что привело к использованию ядра ^{15}N в качестве надежного инструмента для описания структурных изменений и межмолекулярных взаимодействий. Протонирование, комплексообразование, N-алкилирование и N-окисление вызывают наибольший отклик в изменении химического сдвига ядра ^{15}N , поскольку атомы азота фактически находятся в центре каждого из этих взаимодействий. Во всех вышеперечисленных случаях непосредственно затрагивается неподеленная электронная пара азота. Так химический сдвиг ядра ^{15}N может быть использован для изучения влияния заместителей и степени делокализации неподеленной электронной пары азота [91].

Каждый класс органических соединений характеризуется определенной областью химических сдвигов, более узкие резонансные линии ^{15}N сводят к минимуму вероятность перекрытия сигналов в спектрах ЯМР ^{15}N [92]. Существует множество корреляций и параметров заместителей, позволяющих предсказать химический сдвиг азота для определенного класса соединений, причем наблюдается определенное сходство с аналогичными параметрами для спектроскопии ^{13}C , однако наличие у атома азота неподеленной электронной пары вносит свои отличительные особенности.

В спектроскопии ЯМР азота исторически использовались несколько эталонных соединений, что объясняется совершенно разными свойствами и природным содержанием двух изотопов ^{14}N и ^{15}N . Нитрометан как внутренний или внешний эталон наиболее широко использовался для ядра ^{14}N и лишь в некоторой степени для ^{15}N , в то время как жидкий аммиак был популярным внешним эталоном для спектроскопии ЯМР ^{15}N [93].

Два наиболее часто используемых стандарта ^{15}N – это жидкий аммиак и нитрометан. В аммиаке азот экранирован сильнее, чем в большинстве других органических соединений, в которых азот резонирует в более низком поле и демонстрирует более высокое

положительное значение химического сдвига. Подобная шкала химических сдвигов ЯМР ^{15}N схожа с известной для спектроскопии ЯМР ^1H и ^{13}C . Использование аммиака в качестве стандарта приводит к трудоемкой пробоподготовке такого образца в рутинном режиме, более того химический сдвиг азота принятый $\delta(\text{NH}_3) = 0.0$ м.д., зависит как от температуры, так и от кислотности среды.

Наиболее часто используемым стандартом у химиков-органиков является нитрометан, применяемый в повсеместной практике. Однако, положение азотного резонанса нитрометана дает в основном отрицательные значения химических сдвигов для большинства типичных органических соединений, когда он используется в качестве первичного стандарта. Это не соответствует шкалам используемым для спектроскопии ЯМР ^1H и ^{13}C , что несколько усложняет восприятие получаемых результатов.

Рекомендуется использовать жидкий аммиак в качестве эталона для ядра ^{15}N в большинстве биохимических приложений спектроскопии ЯМР ^{15}N [94], и был рекомендован IUPAC/IUPAB для использования в таких исследованиях [95]. В тоже время авторы [93] рекомендуют использовать нитрометан в качестве эталона, в соответствии с общепринятым использованием во многих других приложениях спектроскопии ЯМР ^{15}N .

Другими ранее используемыми стандартами являются хлорид аммония, нитрат аммония и азотная кислота. Все эти стандарты чувствительны к изменениям pH и колебаниям температуры образца, в связи с чем менее пригодны для стандартизации в рутинных экспериментах. Другой стандарт, предложенный Уишартом [96] - 1M раствор мочевины в растворе ДМСО- D_6 . Данный стандарт очень легко приготовить, и он относительно нечувствителен к изменениям температуры образца.

С точки зрения удобства приготовления, стабильности и получаемой шкалы химических сдвигов, рекомендуется использовать следующие два вторичных внешних стандарта: 1M раствор мочевины в растворе ДМСО- D_6 ($\delta(\text{N}) = 77.0$ м.д.) и раствор CH_3NO_2 ($\delta(\text{N}) = 381.7$ м.д.) [97].

В зависимости от области применения спектроскопии ЯМР ^{15}N , используются различные эталонные соединения азота, что в конечном счете, привело к огромному массиву данных по химическим сдвигам ядра ^{15}N не приведенному к единой шкале. За нулевое значение шкалы химических сдвигов ^{15}N приписывается жидкому аммиаку. Химические сдвиги, представленные в литературе с использованием различных шкал для химического сдвига ядра ^{15}N , представлены в таблице, что позволяет перевести значения химического сдвига азота в единую шкалу [96].

Таблица 1. Взаимосвязь химических сдвигов ^{15}N нескольких веществ, используемых в качестве стандартов химического сдвига ^{15}N для ориентированных по полю образцов, при 298K [96].

Эталонный стандарт химического сдвига ядра ^{15}N .

	NH_3 ж.	$\text{CH}_3\text{NO}_2^{\text{a}}$	$\text{CH}_3\text{NO}_2^{\text{б}}$	$(\text{NH}_2)_2\text{CO}^{\text{в}}$	$^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3^{\text{г}}$	$\text{NH}_4\text{Cl}^{\text{д}}$
NH_3 ж.	0.0	-381.7	-379.8	-77.0	-21.0	-23.6
$\text{CH}_3\text{NO}_2^{\text{a}}$	381.7	0.0	1.9	304.7	360.7	258.1
$\text{CH}_3\text{NO}_2^{\text{б}}$	379.8	-1.9	0.0	302.8	358.8	356.2
$(\text{NH}_2)_2\text{CO}^{\text{в}}$	77.0	-304.7	-302.8	0.0	56.0	53.4
$^{15}\text{NH}_4\text{NO}_3^{\text{г}}$	21.0	-360.7	-358.8	-56.0	0.0	2.6
$\text{NH}_4\text{Cl}^{\text{д}}$	23.6	-358.1	-356.2	-53.4	-2.6	0.0

^а чистый растворитель

^б раствор в хлороформе (1:1)

^в 1M p-p в ДМСО- D_6

^г 1M p-p в 1M p-ре HNO_3

^д 2.9M p-p в 1M HCl

Значительную экономию времени и усилий можно получить при использовании соотношения частот Ξ для расчета химических сдвигов при одновременном измерении двух или более различных типов ядер [98, 99]. Величина Ξ определяется как отношение резонансной частоты наблюдаемого ядра к резонансной частоте ТМС в растворе хлороформа.

$$\Xi = \frac{\nu_X^{\text{obs}}}{\nu_{\text{ТМС}}^{\text{obs}}} \quad (4)$$

Согласно рекомендациям ИЮПАК химический сдвиг ТМС в растворе дейтерохлороформа в протонном ЯМР спектре следует использовать в качестве эталона и следует считать химический сдвиг протоном равным нулю. В работе показано, что химический сдвиг ТМС в растворе CDCl_3 был постоянным, при объёмной доле ТМС в растворе ниже 1%. Так же известно, что и температурный сдвиг также мал, обычно составляет всего 0.01 ppm в диапазоне температур около 20°C, и поэтому не требует корректировки для подавляющего большинства данных ЯМР, относящихся к ТМС.

Использование соотношения частот Ξ требует измерения одного эталонного соединения для одного типа ядер ^1H , для косвенного определения нулевого эталона для другого ядра, например ^{15}N . Следует особо отметить тот факт, что для измерений в области биоорганической химии в качестве эталонного соединения используют триметилсилилпропансульфонат натрия (ДСС) – стандарт ЯМР для водных растворов, широко используемых в биохимической практике. Измеренные таким образом соотношения частот являются универсальными и могут использоваться на большинстве

коммерческих спектрометров, работающих при любой конфигурации и напряженности магнитного поля.

Таблица 2. Рекомендованные значения Ξ для различных нуклидов^a.

Изотоп	Соотношение частот, Ξ , %	Эталонное соединение	Условия применения эталонного соединения
¹⁴ N	7.226317	MeNO ₂	Без растворителя/р-р CDCl ₃ ^b
¹⁵ N	10.136767	MeNO ₂	Без растворителя/р-р CDCl ₃ ^b
	10.132912 ^b	NH ₃ ж.	В качестве внешнего эталона

^a более подробная информация представлена в работе [93].

^b Это значение, взятое из работы [94], представляет Ξ^{DCC} , а не само Ξ . Разницу в приблизительно 0.07 м.д. следует учитывать при сравнении значений Ξ и Ξ^{DCC} .

^b Небольшое количество дейтерированного соединения, добавленное в чистую жидкость или недеийтерированный растворитель для получения lock-сигнала.

Значения Ξ для различных эталонных соединений азота представлены в таблице 2, наряду со значениями для йодистого тетраметиламмония, который был предложен в качестве внутреннего эталона для ¹⁴N и ¹⁵N, поскольку тетраэдрическая геометрия дает резкие линии для обоих изотопмеров. Пересчеты на другие эталонные соединения могут быть легко сделаны с использованием литературных значений. Представленные значения можно рассматривать как рекомендованные ИЮПАК [95].

Таблицы 1 и 2 могут быть использованы для исправления или корректировки ранее опубликованных результатов в соответствии с приведенными выше поправками. В то время как существующая в настоящее время неограниченность в определении химического сдвига ЯМР ¹⁵N в прошлом не представляла особой проблемы, очевидно, что отсутствие правил и четко определенных стандартов в настоящее время начинает оказывать негативное влияние на прогресс в ряде областей биомолекулярной ЯМР-спектроскопии.

2.3.2. КССВ

Значения прямых КССВ $^1J_{HN}$ охватывают приблизительно диапазон 50-140 Гц, причем большая часть значений находится в интервале 90-100 Гц. Эти значения используются для установки оптимальных параметров градиентно-селективных двумерных экспериментов ЯМР ¹H-¹⁵N HSQC и ¹H-¹⁵N HMQC. Данные эксперименты позволяют связать сигналы протонов и азота. Значения КССВ могут быть определены как из ¹H спектров, так и из расщеплений соответствующих пиков в двумерных экспериментах. Абсолютные значения $^1J_{HN}$ используются для определения тауамерных равновесий,

поскольку химический обмен в таких системах может привести к заметному уменьшению значения прямых констант для одной из таутомерных форм [100, 101].

Значения дальних КССВ ${}^nJ_{HN}$, где $n = 2-5$ находятся в диапазоне 0-20 Гц и широко используются в двумерных корреляционных ЯМР экспериментах гетероядерного НМВС. Большинство современных ЯМР экспериментов основано на применении косвенного детектирования ядра ${}^{15}\text{N}$ с целью преодоления изначально низкой чувствительности. Этот факт определяет более важную экспериментальную настройку по сравнению с аналогичными методами корреляции для ядер ${}^1\text{H}-{}^{13}\text{C}$. Как отмечается в работе [102], КССВ ${}^2J_{HN}$ и ${}^3J_{HN}$ обычно предпочтительнее для определения дальнедействующих корреляций.

Применение КССВ атома азота ${}^{15}\text{N}$ с другими важнейшими атомами, имеющими высокую природную распространенность, в частности с ${}^{13}\text{C}$, ${}^{31}\text{P}$ и ${}^{19}\text{F}$, ограничивается длительностью ЯМР эксперимента в случае образцов на естественном содержании атомов азота. Изотопное обогащение позволяет существенно расширить спектр применения дальних КССВ азота с другими гетероатомами. Например, детальное исследование оснований Шиффа, полученных из замещенных салициловых альдегидов и обогащенного $[{}^{15}\text{N}]$ метиламина, основывалось на использовании дальних КССВ ${}^nJ_{CN}$ [103]. Данный подход позволил изучить внутримолекулярные водородные связи в подобных соединениях. Прямые КССВ ${}^1J_{CN}$ могут быть использованы для различия между иминной и енаминной формой основания Шиффа.

Значения ${}^1J_{CN}$ варьируются от 7 Гц для иминной формы, до 16 Гц для таутомерной формы енаминного основания Шиффа. Константы через две связи ${}^2J_{CN}$ очень чувствительны к геометрии молекулы. Для транс- конфигурации электронной пары на атоме азота относительно связанного углерода находится в диапазоне от 1 до 3 Гц, а для цис- конфигурации от -7 до -11 Гц.

2.3.3. Использование параметров спектров ЯМР ${}^{15}\text{N}$ в структурных исследованиях

Параметры спектров ЯМР ${}^{15}\text{N}$ зависят от электронных и стерических эффектов, делокализации заряда, наличия или отсутствия водородной связи. Они широко используются для структурного анализа азотсодержащих органических соединений.

Химические сдвиги ${}^{15}\text{N}$, а также некоторые КССВ ${}^nJ({}^{15}\text{N}, X)$ достаточно чувствительны и используются для характеристики и определения различных типов изомерии. Для установления однозначной структуры 7-дезоксипанкратастина авторами [104] были использованы корреляционные эксперименты ${}^1\text{H}-{}^{15}\text{N}$, поскольку ни на одной из стадий синтеза стандартные методы ЯМР, включающие КССВ ${}^1\text{H}-{}^1\text{H}$ и ${}^1\text{H}-{}^{13}\text{C}$, не оказались

достаточными. Корреляция азота с метиленовыми протонами бензильной группы являлась ключевой при установлении структуры данного соединения.

В работе [105] авторы использовали значения химических сдвигов ядра ^{15}N для доказательства структуры продуктов окисления 2-хлорпиперазина. Окисление пероксидом в уксусной кислоте или м-хлорпербензойной кислоте приводит к N(4)-оксиду, тогда как персульфат калия в серной кислоте дает N(1)-оксид в качестве основного продукта. Результаты измерений ЯМР подтвердили структуру изомерных N-оксидов. Также сообщается об исследованиях протонирования полученных соединений. Предпочтительным местом протонирования является атом азота, который не испытывает стерических затруднений.

Среди многочисленных применений спектроскопии ЯМР ^{15}N для определения структуры региоизомеров, особую важность представляет работа, в которой авторы исследовали N(7)- и N(9)- региоизомеры производных пурина [106, 107]. Соединения были исследованы с помощью ЯМР ^{15}N высокого разрешения в растворе.

В работе [108] авторы изучали серию бензамидоксимов с использованием спектроскопии ЯМР ^{15}N на естественном содержании атомов азота. Эксперименты проводили в двух растворителях: ацетон- D_6 и CDCl_3 . Прямые КССВ $^1J_{\text{HN}}$ для серии бензамидоксимов были определены с помощью импульсной последовательности INEPT. В каждом случае эксперимент показал только один триплет для ядра ^{15}N , что указывает на эквивалентность двух протонов. Известно, что КССВ $^1J_{\text{HN}}$ зависят от гибридизации атома азота, становясь более отрицательными с увеличением s-характера связи N-H. Значения измеренных констант находились в диапазоне от -87.9 до -86.6 Гц, что свидетельствует о том, что связь N-H бензамидоксимов имеет очень слабый s-характер. В качестве объяснения этой гибридизации авторы предполагают, что неподеленная электронная пара азота может быть делокализована между двумя атомами азота. В растворе ацетона- D_6 при увеличении концентрации бензамидоксимов в протонном спектре наблюдалось смещение сигнала группы $^{15}\text{NH}_2$ в сторону более слабого поля. Было высказано предположение, что это может быть связано с самоассоциацией ариламидоксимов за счет водородных связей с образованием димерных комплексов при более высоких концентрациях или, альтернативно, с электростатическим притяжением между N-2 одной молекулы и C-3 другой, что приводит к уменьшению электронного заряда на атоме азота группы NH_2 . Последняя альтернатива считается более вероятной и подтверждается теоретическими расчетами для О-винилбензамидоксима, которые показали, что электронная плотность на N-2 больше, чем на N-4, в сочетании с положительным зарядом на C-3. Для изучения молекулярной ассоциации в бензамидоксимах было проведено сравнение данных

химического сдвига азота соединений в DMSO-D₆, CDCl₃ и ацетоне-D₆. Было обнаружено, что химические сдвиги зависят от растворителя, что позволило предположить наличие водородно-связанных комплексов между бензамидоксимами и растворителем.

Основания Шиффа, полученные из ароматических *орто*-гидрокибензальдегидов, представляют повышенный интерес благодаря своей структуре, биологической активности и обширному применению [109]. Их свойства в значительной степени контролируются переносом протона и образованием внутримолекулярных водородных связей. Одной из наиболее интересных проблем данного класса соединений является образование так называемой резонансно-усиленной водородной связи [110]. Поскольку химический сдвиг ядра ¹⁵N зависит от участия азота в невалентных взаимодействиях, то при исследуя этот параметр можно получить количественную оценку прочности водородной связи и положения протона [111].

В соединениях, не способных образовывать внутримолекулярные водородные связи, иминный атом азота имеет неподеленную электронную пару и его химический сдвиг близок к значению $\delta(N) = 322$ м.д. Для иминов способных образовывать такие связи химический сдвиг иминного азота смещается до значения $\delta(N) = 292$ м.д., при образовании водородной связи. Влияние переноса протона от кислорода к азоту сильнее, чем для типичной водородной связи. Следовательно, неподеленная электронная пара азота участвует в образовании такой связи, и упомянутый сигнал азота еще больше смещается в слабое поле, даже до значений $\delta(N) = 142$ м.д. [110].

В молекулярных системах, где таутомерное равновесие смещено в сторону NH-формы, КССВ ¹J_{HN} используются для количественной характеристики данного равновесия [112]. В шкале времени ЯМР образование внутримолекулярной водородной связи может рассматриваться как быстрый процесс, что приводит к среднему значению константы ¹J_{HN} для смеси таутомеров. Для чистой формы ОН значение константы ¹J_{HN} = 0 Гц, а для чистой формы NH ¹J_{HN} = - 100 Гц, соответственно, среднее значение приблизительно пропорционально вкладу формы NH [110]. Такие оценки позволяют количественно охарактеризовать таутомерные равновесия с переносом протона.

Спектроскопия ЯМР ¹⁵N используется для изучения комплексов металлов с азотсодержащими лигандами. Комплексообразование атомов азота с металлами может быть доказано путем изучения изменений в химических сдвигах ядра ¹⁵N и, когда это возможно, с использованием КССВ ⁿJ(¹⁵N, X). Изменение химического сдвига ядра ¹⁵N при комплексообразовании называется координационный сдвиг, который может быть рассчитан по формуле $\Delta\delta(^{15}\text{N}) = \delta(^{15}\text{N})_{\text{комплекс}} - \delta(^{15}\text{N})_{\text{лиганд}}$. Экспериментально наблюдаемые координационные сдвиги, охватывают широкий диапазон значений от отрицательных

(превышающих -100 м.д. для азота пиридинового типа) [113] до положительных сдвигов в районе нуля (+ 4.5 м.д. для алифатических аминов) [114]. Координационные сдвиги для ^{15}N в лигандах, не участвующих непосредственно в координации, обычно довольно малы, имеют как положительные, так и отрицательные значения в диапазоне от - 7.9 до + 3.1 м.д. [115].

Наиболее часто изучаются комплексы платины и серебра с азотсодержащими лигандами. В большинстве случаев координационные сдвиги ^{15}N ЯМР ярко выражены, что позволяет определить атомы азота, участвующие в комплексообразовании [116, 117]. Активное использование платина-содержащих комплексов в биохимических исследованиях, способствует детальному изучению структуры таких соединений методами спектроскопии ЯМР ^{15}N .

В последние годы вращение вокруг связи C-N активно изучается с использованием спектроскопии ЯМР ^{15}N [118]. Существует большое количество модельных объектов, для которых исследуют скорость превращения ротамеров в зависимости от температуры и структурных факторов. Исследования в этой области позволяют отследить влияние объемных заместителей в бензольном кольце на природу водородных связей и конформации амидов [119]. Конформационный анализ проводится путем обработки кинетических зависимостей обмена ротамеров и получения требуемых энергий вращения вокруг C-N связей. Данные исследования базируются как на величинах химических сдвигов, так и КССВ, которые очень чувствительны к изменению геометрии молекулы. Подкрепляя полученные результаты квантово-химическими расчетами, можно получить полные сведения о заторможенном внутреннем вращении вокруг C-N связи [120]. Данные исследования актуальны при изучении природных объектов, содержащих пептидную связь [121].

Эксперименты по корреляции ^1H - ^{15}N особенно полезны для выяснения структуры азотсодержащих соединений, когда вместо ожидаемого продукта реакции выделяется продукт перегруппировки [122]. Данная проблема особенно характерна при сборке гетероциклических соединений с несколькими атомами азота. Конденсация с мочевиной в ряде случаев может привести к существенным молекулярным перестройкам. В случае большого количества атомов азота в молекуле спектры ^1H - ^{15}N gs-НМВС играют решающую роль в выяснении структуры этих соединений [123]. Важным фактором, способствующим отнесению сигналов в спектрах ЯМР ^{15}N является существенное различие в химических сдвигах вторичных и третичных атомов азота. В работе авторы использовали данную стратегию при отнесении сигналов в сложных азотсодержащих органических соединениях [124].

Двумерная спектроскопия ЯМР, основанная на дальних корреляциях ^1H - ^{15}N , широко используется для структурного анализа природных объектов на естественном содержании изотопов. Данная область исследований активно развивается и уже сейчас успешно позволяет изучать алкалоиды, содержащие изохинолиновый фрагмент, и многие другие объекты [102]. В ряде работ описаны зависимости величин КССВ $^3J_{\text{HN}}$ от двугранных углов в различных природных объектах по аналогии с зависимостью Карплуса [125], а также эффекты замещения, существенным образом влияющие на величины КССВ [87, 126, 127].

2.4. Квантово-химические расчеты параметров спектров ЯМР ^{15}N

Спектроскопия ЯМР, в тандеме с современными методами квантовой химии, стала незаменимым инструментом для изучения структуры и динамики органических соединений. Внедрение новых импульсных, многомерных методов ЯМР [128] и эффективных методов расшифровки сложной мультиплетной структуры [129, 130] позволяет получать более точные значения химических сдвигов ЯМР и дальних КССВ. Все это может сделать выяснение структуры новых соединений все более простым, точным и надежным.

Само по себе нахождение даже самых точных и надежных значений параметров спектров ЯМР не решает всех проблем структурной химии для исследуемого соединения. Азот - важнейший элемент, участвующий во многих взаимодействиях в химии, живых систем, образовании водородных связей, в кислотно-основном балансе и т.д. Он играет ключевую роль в построении огромного количества органических и природных соединений. В настоящее время структурные исследования азотсодержащих соединений требуют новых подходов, основанных на все более точных и проверенных методах. В этой связи весьма перспективными представляются константы спин-спинового взаимодействия с ядрами ^{15}N .

Значения констант в первую очередь зависят от структуры молекулы и относительно слабо зависят от эффектов среды и межмолекулярных взаимодействий [131], поэтому они широко используются как параметры молекулярной системы, характеризующие конформационное состояние молекул [132].

Квантово-химические расчеты параметров спектров ЯМР представляют собой мощный инструмент для предсказания спектральных данных и интерпретации полученных экспериментальных результатов [133]. Расчеты параметров ЯМР состоят из нескольких этапов: оптимизация геометрии молекулы, расчет константы экранирования, расчет химического сдвига или КССВ и расчет усредненных параметров ЯМР для различных форм (конформеров, таутомеров) для процессов химического обмена в изучаемой системе [134].

Точная оптимизация геометрии молекулярной или супромолекулярной структуры является необходимым условием для корректного расчета параметров спектров ЯМР [135, 136].

Расчеты констант экранирования ЯМР включают оценку эффектов корреляции электронов, поправок на колебания в нулевой точке, температурных эффектов, межмолекулярных взаимодействий, эффектов растворителя и, наконец, релятивистских эффектов [137]. В связи с чем ключевым вопросом при проведении квантово-химических расчетов параметров спектров ЯМР является выбор уровня теории, который следует применить.

2.4.1. Квантово-химические расчеты химического сдвига ядра ^{15}N

Полуэмпирическая квантовая химия пытается устранить два препятствия, а именно, медленную скорость и низкую точность расчетов, путем опускания или параметризации определенных интегралов, основанных на экспериментальных данных, таких как энергия ионизации атомов и дипольные моменты молекул, и пренебрежения эффектами корреляции электронов. Всё это делает полуэмпирические методы достаточно быстрыми, применимыми к большим молекулам и могут давать приемлемые результаты расчетов для молекул, особенно в тех случаях, когда структура схожа с теми молекулами, которые использовались для параметризации. Однако, несмотря на всё это, в настоящее время почти никто не применяет такие полуэмпирические методы, как частичное пренебрежение дифференциальным перекрыванием (MNDO), модель Остина 1 (AM1) или семейство параметризованных моделей 3 (PM3) для расчета молекулярных свойств, таких как химические сдвиги ЯМР ^{15}N в органических молекулах, вероятно, за исключением очень больших молекулярных систем, состоящих из нескольких сотен или даже тысяч атомов [138].

В настоящее время для расчета параметров ЯМР, таких как химические сдвиги ЯМР ^{15}N , обычно применяются следующие уровни теории: Теория функционала плотности (DFT) и, альтернативно, методы *ab initio* с волновыми функциями, включая некоррелированный ограниченный Хартри-Фок (RHF), теорию возмущений Мёллера-Плессе с учетом эффектов корреляции электронов до второго порядка (MP2), теорию парных кластеров (CCSD) и теорию парных кластеров с возмущающими поправками (CCSD (T)). В большинстве работ, посвященных расчетам химических сдвигов ЯМР ^{15}N , применяются гораздо более экономичные методы DFT, а не трудоемкие расчеты волновых функций.

Среди факторов, влияющих на точность расчета химических сдвигов ЯМР ^{15}N на уровне DFT, ключевое значение имеет выбор правильной комбинации функционала и

базисного набора [139]. В работе [140] константы изотопного экранирования ^{15}N аммиака и HCN были рассчитаны на уровнях RHF и V3PW91 с использованием корреляционно-согласованных базисных наборов Даннинга aug-cc-pVXZ, X = D, T, Q. Константы экранирования ЯМР ^{15}N монотонно сходятся к своим значениям полного базисного набора (CBS), причем сходились быстрее, чем их не дополненные аналоги. Этот эффект был немного более выражен для аммиака, чем для HCN.

Работа [141] была посвящена исследованию базисных наборов, используемых для расчетов химических сдвигов ядра ^{15}N . По сравнению с корреляционно-согласованными базисными наборами, было неизвестно, могут ли поляризационно-согласованные базисные наборы Дженсена pc-n (которые первоначально были разработаны для расчетов HF и DFT) обеспечить монотонное и более быструю сходимость к пределу базисного набора для результатов на корреляционных уровнях, а также лучшую точность для аналогичного числа функций базисного набора. Также было неизвестно, могут ли поляризационно-согласованные базисные наборы Дженсена эффективно вычислять вторые производные энергии, такие как тензоры ядерного магнитного экранирования. Результаты показали, что по сравнению с базисными наборами cc-pVXZ и aug-cc-pVXZ, базисные наборы pc-n быстрее сходятся к пределу базисного набора на уровнях RHF, DFT, MP2 и CCSD(T). Поскольку наборы базисов pc-n показывают более быструю сходимость для достижения точности, полученной с наборами базисов aug-cc-pVXZ, требуется меньшее количество функций базисного набора, что позволяет быстрее проводить расчеты химических сдвигов ЯМР ^{15}N . Подход CBS на уровне V3LYP для расчета параметров ЯМР был далее расширен [142] путем применения базисных наборов Даннинга sspVXZ, cc-pCVXZ, cc-pVXZ-sd, cc-pVXZ-sd+t (X = D, T, Q, 5 и 6) и Дженсена pcJ-n (n = 0, 1, 2, 3 и 4) после тщательного отбора точек данных, используемых для подгонки.

Ряд функционалов и базисных наборов, используемых для расчета химических сдвигов ^{15}N ЯМР в ключевых азотсодержащих гетероциклах (азолы, оксазолы, тиазолы, азины), были протестированы на предмет сходимости DFT-расчетов с экспериментом [143]. При расчете химических сдвигов ЯМР ^{15}N наилучший результат был достигнут при использовании функционала KT3 в сочетании с набором базисов Дженсена pcS-3, что привело к величине средней абсолютной ошибки всего 5 м.д. для диапазона более 270 м.д. в эталонной серии из 23 азотсодержащих гетероциклов с общим числом 41 различных химических сдвигов ядра ^{15}N . Основным выводом, сделанным из этих данных, состоит в том, что наилучший результат при расчете химических сдвигов ^{15}N представительной серии азотсодержащих гетероциклов на уровне DFT был достигнут при использовании корреляционно-обменных функционалов Кила-Тозера KT2 [144] и KT3 [145] и базисных

наборов Дженсена рсS-2 и рсS-3 [146], характеризующихся средней абсолютной ошибкой около 5 м.д. в диапазоне около 300 м.д.

На сегодняшний день расчетные значения химических сдвигов ядер ^{15}N в органических молекулах существенным образом способствуют решению различных структурных задач. Изучению ^{15}N экранирования в аминах и использование расчетов ЯМР ^{15}N в конформационном анализе посвящена работа [147]. Расчеты химических сдвигов также были использованы при изучении пиразолов [148], N-замещенных пиразолов и индазолов [149], пиразоло[1,5-а]пиримидинов [150] и ряда алифатических, ароматических и гетероароматических азотсодержащих соединений [151], таутомеров пиразолинов [152] и др.

2.4.2. Расчеты КССВ с участием ядра ^{15}N

С развитием новых теоретических методов и компьютерных программ расчет констант спин-спинового взаимодействия позволил лучше понимать, интерпретировать и предсказывать спектры ЯМР. Развитие методов расчета констант привело к появлению большого числа приложений во многих областях химии. Большинство расчетов констант в настоящее время проводится с помощью DFT, который является наиболее экономически эффективным методом для таких расчетов, и способен успешно предсказывать многие типы КССВ.

В результирующее значение константы вносят вклад четыре фактора: Ферми-контактный член (FC), диамагнитный спин-орбитальный член (DSO), парамагнитный спин-орбитальный член (PSO) и спин-дипольный член (SD). Это приводит к тому, что константы являются наиболее трудновоспроизводимым параметром спектров ЯМР, в частности спектров ЯМР ^{15}N .

Для расчета КССВ используют различные методы: многоконфигурационного самосогласованного поля (MCSCF), многоконфигурационного самосогласованного линейного отклика поля (MCLR), связанных кластеров (CC) и DFT [133, 153].

Метод DFT является менее ресурсоёмким по сравнению с другими неэмпирическими методами, поскольку при описании электронной системы используется не многоэлектронная волновая функция, а матрица электронной плотности, которая в свою очередь, является функцией трех координат. Данный подход значительно упрощает задачу, однако методы DFT являются параметрическими и уступают по точности расчета констант неэмпирическим методам расчета. Методы DFT являются наиболее подходящими для расчета констант больших молекул [154], а также молекул, содержащих переходные металлы.

Среди некоторых расчетных схем, основанных на идее функционала электронной плотности, следует отметить:

Tun DFT-FPT (метод конечного возмущения, теория Попла), реализованный в программном комплексе GAUSSIAN 09 [155].

Tun SOS (суммирование по возбужденным состояниям - Sum-over-States)-DFPT: “deMon” - пакет программ, разработанный Салагубом, Малкиным и Малкиной [156, 157]. Данным методом считают FC, PSO и DSO составляющие, но не SD член.

Tun CPDFT-KS (оператор Кона-Шама) использовал Кремер [158], впервые рассчитав все составляющие.

Для этих методов используют различные функционалы соответствующего типа, из которых наиболее употребительны следующие: VWN, PWP, B3PW91, B3LYP и их версии для систем с открытыми оболочками [159].

Наиболее точным для учета электронной конфигурации является метод конфигурационного взаимодействия (CI). Данный метод представляет полную волновую функцию в виде линейной комбинации слейтеровских определителей, построенных из молекулярных орбиталей, полученных из решения задачи Хартри-Фока. Коэффициенты разложения находят вариационным методом. Особое место занимает метод многоконfigurационного самосогласованного поля, где также варьируются коэффициенты разложения молекулярных орбиталей по атомным. Оба метода очень затратные по ресурсоёмкости, их применение ограничивается простыми молекулами. Реализует программа DALTON (Рууд, Хелгакер) [133].

Самыми точными неэмпирическими являются методы, основанные на теории связанных кластеров CC, поскольку отличаются от методов CI способом построения волновых функций, которые так же записывают линейной комбинацией детерминантных функций [160]. Методы CC считаются одними из лучших методов, благодаря компромиссу между расчётными затратами и точностью расчёта. В рамках теории связанных кластеров для расчёта КССВ широко используется подход, основанный на формализме уравнений движения EOM (Equation of Motion) - CCSD (Coupled Cluster Singles and Doubles): программа ACES [133].

Методы, основанные на теории поляризационного пропагатора являются высокоточными и эффективными для вычисления КССВ в молекулах среднего размера. Данный метод является широко распространенным приближением в рамках данной теории является метод SOPPA (Second-Order Polarization Propagator Approximation) [161].

Среди важнейших факторов, влияющих на точность расчета КССВ следует отметить выбор базисного набора. Используемые базисные наборы должны быть оптимизированы

для расчёта молекулярных свойств второго порядка, а также корректно описывать распределения электронной плотности на поверхности ядра [162].

Примеры использования разнообразных стандартных базисных наборов: 6-31G**, 6-311G**, IGLO-III, aug-cc-pVDZ, aug-cc-pV5Z, aug-cc-pVT и др. для расчета КССВ представлены в работе [133]. Проблемой оптимального выбора базисного набора занимались авторы работы [163], в которой показано, что для получения хороших результатов необходимо включать дополнительные поляризационные функции (приближение типа V3LYP/6-311G(d,p), а в случае расчета заряженных частиц и молекул содержащих полярные группы, рекомендуется использовать дополнительные диффузные функции (приближение типа V3LYP/6-311++G(d,p).

В случае расчета КССВ относительно больших молекул широко применяется подход локально-плотных базисных наборов [164]. Данный подход основан на применении разных базисных наборов для атомов, между которыми рассчитывается константа и для всех остальных атомов молекулы. Стандартные базисные наборы разработаны для описания валентной области электронной системы и недостаточно хорошо учитывают электронную плотность возле поверхности ядра. Для атомов, между которыми рассчитывается КССВ, применяют различные специальные базисные наборы с добавлением большого количества функции с учётом электронной корреляции с участием внутренних электронов (cc-pCVXZ [165]) и функции с большими значениями экспонент, необходимых для описания электронной плотности на поверхности ядра (aug-cc-pVTZ [166]).

Величина КССВ сильно зависит от взаимного расположения ядер в молекуле. Данное свойство широко используется в структурном анализе молекул на качественном уровне. Можно было рассчитывать на то, что комплексный подход, основанный на сравнении эксперимента и квантово-механических расчетов КССВ, позволит дать более надежные результаты для предсказания геометрии молекул. При этом, однако, возникает ряд технических проблем. Проведенные ранее оценки показали, что существенным фактором, влияющим на значения КССВ, является эффект колебаний атомных ядер, вклад которого зависит от температуры, но может оказаться существенным даже для “нулевых колебаний” при температуре абсолютного нуля [167]. Величины КССВ можно получить, пользуясь распределением Больцмана по всей совокупности колебательных уровней молекулы. Следует отметить, что учёт колебательных поправок достаточно трудоёмкая задача, требующая расчёта КССВ множества конфигураций молекул. В работе [168] рассчитали колебательные поправки для КССВ ^{15}N - ^{15}N через водородную связь на уровне EOM-CCSD. В данной работе рассматривались всего две колебательные моды, а величина

КССВ пересчитывалась для 108 различных геометрических конфигураций, что иллюстрирует огромную ресурсоёмкость расчётов этого типа. В подавляющем большинстве работ колебательными поправками пренебрегают, полагая, что они вносят относительно малый вклад в суммарную величину КССВ.

2.4.3. Сольватационные эффекты при расчете параметров спектров ЯМР

Для получения приемлемого соответствия между теоретическими и экспериментальными химическими сдвигами ^{15}N в растворе необходимо учитывать эффекты растворителя как при оптимизации геометрии, так и при расчете химического экранирования. Специфические взаимодействия (водородная связь) между растворителем и растворенным веществом обычно плохо описываются с помощью только континуальной моделью растворителя и должны моделироваться явным добавлением молекул растворителя. Особенность расчета химических сдвигов ядра ^{15}N заключается в непосредственном участии атома азота в межмолекулярных взаимодействиях. Если химические сдвиги ^{13}C в растворе или твердом состоянии могут быть воспроизведены, даже если для расчета используется только изолированная молекула в вакууме, то для химических сдвигов ^{15}N это наблюдается не во всех случаях, и необходимо учитывать межмолекулярные взаимодействия.

Предложено несколько подходов, учитывающих эффект растворителя в квантово-химических расчетах параметров спектров ЯМР. Наиболее часто используются континуальные модели растворителя [169, 170, 171] и молекулярная динамика. Модель континуального растворителя, которая обычно используется в расчетах химических сдвигов ^{15}N , – это модель поляризуемого континуума (PCM) [172, 173]. В данном подходе молекула растворенного вещества помещается в полость, образованную оболочкой из сфер атомов или групп атомов растворителя. Внутри полости относительная диэлектрическая проницаемость равна 1, как в вакууме, тогда как вне полости она принимает объемное значение растворителя. Растворитель поляризуется благодаря присутствию молекулы растворенного вещества. Такая поляризация создает поле реакции, которое описывается в терминах эффективных зарядов на поверхности полости. Метод PCM может быть применен на обоих этапах, как при оптимизации геометрии, так и при оценке констант магнитного экранирования.

Молекулярная динамика может быть разделена на классические и *ab initio* методы. В классической молекулярной динамике поверхность потенциальной энергии рассчитывается с помощью молекулярной механики; *ab initio* молекулярная динамика выполняется на поверхности потенциальной энергии, рассчитанной *ab initio*. Системы

могут также рассматриваться с помощью гибридного подхода, при котором система подразделяется на несколько частей или слоев, которые рассматриваются на разных уровнях теории. Наиболее важная часть системы, т.е. область, где происходят интересующие нас локальные явления, образует модельную систему и описывается на самом высоком уровне теории, в то время как последующие слои описываются с помощью все менее точных методов, т.е. менее сложной модели квантовой механики или молекулярной механики [174, 175].

В работе [176] сравнили PCM модель с методологией последовательной молекулярной динамики/квантовой механики (SMD/MD) для расчета химических сдвигов ^{13}C и ^{15}N ЯМР в производных гуанилгидразонов. В подходе DFT-PCM геометрии были оптимизированы методом B3LYP/6-311G** с использованием PCM. Константы экранирования были получены с использованием метода B3LYP/6-311G** и подхода GIAO (эффекты растворителя не учитывались). Расчеты MD проводились с использованием согласованного валентного силового поля (CVFF). Для интегрирования уравнений движения использовался метод скачка Верле. Структуры, полученные в результате MD-симуляций, использовались для квантово-механических расчетов химических сдвигов. Наибольшая разница между экспериментальными и расчетными значениями для химических сдвигов ^{15}N составляет 130.0 м.д. при использовании модели DFT-PCM и 21.5 м.д. при использовании методики S-MD/QM.

Рассчитанный химический сдвиг ядра ^{15}N может быть использован при изучении конформационного поведения молекул, таутомерии и водородной связи, а также для отнесения экспериментальных значений химических сдвигов. Целью конформационного анализа (или исследования таутомерии) является выяснение геометрии конкретного конформера и расчет популяций конформеров (таутомеров). Для конформационного исследования геометрия конкретного конформера оптимизируется, а популяции конформеров рассчитываются в соответствии с их энергетическими уровнями. Затем рассчитываются химические сдвиги отдельных конформеров или средневзвешенного значения (в соответствии с популяциями). Точность конформационного анализа проверяется путем сравнения этих значений, рассчитанных для отдельных конформеров или средневзвешенного значения, с экспериментальными значениями химических сдвигов. Расчеты химических сдвигов ядра ^{15}N использованы для изучения таутомерии пиримидинов [177, 178], конформационного поведения и протонного обмена в замещенных по кольцу бензгидроксамовых кислот [179], фуроксановую перегруппировку производных пиридофуросана [180] и конформацию аминов [181].

Для учета влияния среды при расчетах КССВ на практике часто применяется континуальная модель РСМ [182]. Энергию электростатического взаимодействия, наведенную внешней средой, вводят в гамильтониан дополнительными членами. Предшественником модели РСМ является модель реакционного поля [183], в которой изучаемая молекула помещается в сферическую полость, окруженную однородной диэлектрической средой.

В работе [184] с помощью модели РСМ детально изучили влияние растворителя на величины КССВ для ацетилена. Расчет проводился на уровне теории B3LYP и CASSCF в шести различных растворителях: циклогексане, бензоле, хлороформе, ацетонитриле, воде и ацетоне. Также в этой работе авторы провели сравнение с аналогичными расчетами, выполненными с помощью модели реакционного поля на уровне теории CASSCF [185], и с экспериментальными данными [186]. Наибольшая поправка была рассчитана для прямой углерод-углеродной КССВ в ацетонитриле, ацетоне и воде. Она оказалась равной ≈ 10 Гц, что достаточно точно совпадает с экспериментом и составляет 5% от величины этой константы в изолированной молекуле. Сольватационный эффект для прямых углерод-протонных КССВ составил 0.8 Гц, т.е. 0.3% от экспериментальной величины в изолированной молекуле. Такой же небольшой эффект был рассчитан для геминальных углерод-протонных и вицинальных протон-протонных констант в ацетиле: 0.8% и 0.2%, соответственно. В работе [187] величина поправки в КССВ, которую вносит учет растворителя так же не превышает несколько процентов.

3. Обсуждение результатов

3.1. Синтез обогащенных соединений

С точки зрения реакционной способности обогащенные соединения почти не отличаются от своих необогащенных аналогов (исключения могут составлять случаи кинетических изотопных эффектов), однако, многие методы синтеза могут существенным образом отличаться, ввиду значительной дороговизны ^{15}N соединений. При планировании синтеза изотопно-меченного соединения особое внимание следует обратить на стадию ввода изотопной метки. Желательно вводить изотопную метку на заключительных этапах синтеза, и методами, позволяющими не только получить вещество с максимальным выходом, но и в чистом виде, минуя образование нежелательных примесей. Ранний ввод изотопной метки, как и содержание даже незначительного количества примеси, влечет потерю целевого продукта в расчете на исходное соединение содержащее ^{15}N метку.

Широко используемым приемом при планировании синтеза является отработка методики на необогащенных соединениях. Многие методики получения малых молекул на

природном содержании атомов азота долгие годы не представляли интерес химиков органиков в повседневной работе, однако, стали определяющими при синтезе обогащенных препаратов.

3.1.1. Синтез изотопологов бензамида¹

Получение [¹⁵N]бензамида подробно описано в работах [56, 57, 58], где в качестве источника изотопной метки используются ¹⁵N соли аммония. Мы провели отработку данных методик на небогащенных аналогах, поскольку особое внимание при проведении синтеза ¹⁵N обогащенных препаратов уделяется именно стадии ввода изотопной метки.

Использование газообразного [¹⁵N]аммиака при аммонолизе бензоилхлорида либо влечет за собой низкий выход продукта, (в работе [188] всего 40%) либо сложную в экспериментальном плане процедуру регенерации [¹⁵N]аммиака. Удобнее всего использовать соли аммония и получать аммиак непосредственно в реакционной смеси. Для реализации подобной идеи, как правило, используются двухфазные системы: бензол-вода, хлороформ-вода и эфир-вода. Органический растворитель покрывает воду тонким слоем, что приводит к уменьшению потери обогащенного аммиака, который образуется в системе. Для генерации самого аммиака используют водно-щелочные растворы. Реакция аммонолиза протекает на поверхности раздела фаз, поскольку хлористый бензоил растворим в органической фазе, это приводит к минимальному протеканию побочной реакции гидролиза бензоилхлорида с образованием бензойной кислоты.

В ходе отработки методики на небогащенных солях аммония особое внимание уделяли выделению бензамида. В процессе протекания реакции при комнатной температуре в водном слое начинает выпадать белый осадок бензамида. При отделении осадка, важным моментом является охлаждение реакционной смеси до 2-3°C, что заметно снижает растворимость бензамида в воде и способствует выделению большей части продукта.

Одной из основных задач при проведении синтеза на небогащенном бензамиде (187) была отработка методики выделения дополнительного количества продукта из маточных растворов и промывных жидкостей. Дополнительные порции вещества были получены за счет отгонки растворителей из промывных вод, бензольного раствора

¹ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные автором лично или в соавторстве, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования: Станишевский В.В., Шестакова А.К., Чертков В.А. Динамическая структура молекул в растворе по данным спектроскопии ЯМР и квантово-химических расчетов: IV. Бензамид // Журнал органической химии. 2023. – Т. 59. №8. – С. 1012-1024. Stanishevskii V.V., Schestakova A.K., Chertkov V.A. Dynamic structure of organic compounds in solution by dynamic NMR measurements and quantum molecular dynamics calculations: IV. Benzamide // Russian Journal of Organic Chemistry. 2023. – Т. 59. № 8. – С. 1298-1308. Объем 1.10 п.л. Личный вклад автора 30%.

реакционной смеси и эфирных вытяжек при экстракции водного раствора. Проведение процедуры подробно прописано в экспериментальной части. Важно отметить, что побочный продукт синтеза – бензойная кислота присутствует только в дополнительных порциях бензамида и может быть легко отделена перекристаллизацией.

Перекристаллизацию бензамида проводили в этаноле, причем в два этапа. Основную порцию бензамида перекристаллизовывали из этанола, маточный раствор смешивали с дополнительной порцией бензамида содержащей бензойную кислоту. После чего проводили перекристаллизацию второй порции бензамида. Данный подход позволяет существенным образом увеличить выход кристаллического бензамида, а также полностью избавиться от примеси бензойной кислоты.

Отработанная методика была применена для получения [¹⁵N]бензамида (**100**) исходя из бензоилхлорида с выходом 91%.

Синтез дейтерированного бензоилхлорида (**187**) требуемого для синтеза двух других изотопологов бензамида был осуществлён исходя из дейтеробензола (Схема 73).

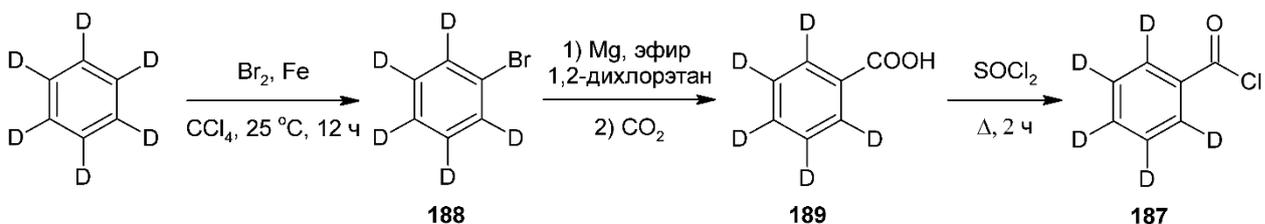


Схема 73.

Бромирование бензола проводили в четыреххлористом углероде, избыток растворителя отгоняли на приборе с высоким дефлегматором с головкой обратного отбора, для предотвращения потери летучего продукта. Полученный [²H₅]бромбензол (**188**) использовали для получения [²H₅]бензойной кислоты (**189**) карбонилированием реактива Гриньяра. Взаимодействие кислоты **189** с хлористым тионилем проводили при кипячении с образованием [²H₅]бензоилхлорида (**187**).

Синтез [²H₅, ¹⁵N]бензамида (**190**) был осуществлен аналогично синтезу бензамида **100**, исходя из свежеперегнанного хлорангида **187** с выходом 92% (Схема 74).

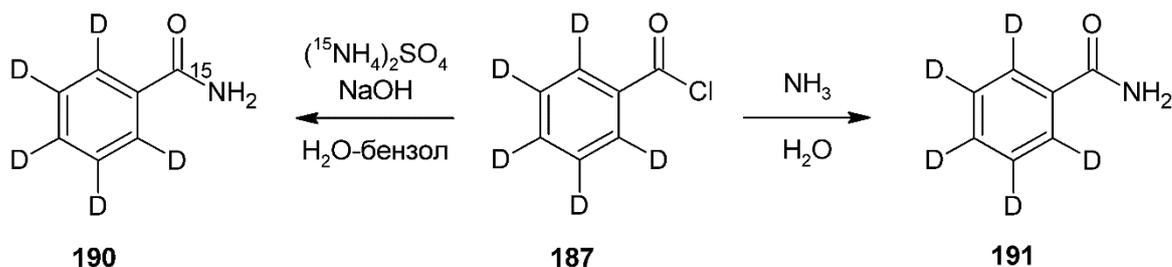


Схема 74.

Синтез $[^2\text{H}_5]$ бензамида (**191**) был осуществлен без отработки методики на необогащенных соединениях и включал в себя взаимодействие свежеперегнанного хлорангидрида **187** с 5-7 кратным избытком аммиака. Реакцию проводили в течение 2 часов, бензамид **191** выпадает в виде объемистого белого осадка. Для получения дейтерированных производных использовали дейтеробензол, что исключало стадии введения изотопной метки и отработку методик на необогащенных соединениях.

Синтез обогащенных по азоту бензамидов **100** и **190**, демонстрирует важнейший метод введения изотопной метки в органическую молекулу.

3.1.2. Синтез $[^{15}\text{N}]$ анилина²

Анилин является ключевым соединением в синтезе многих азотсодержащих гетероциклических соединений и может быть использован для получения таких производных как азосоединения или основания Шиффа – объектов, представляющих интерес в качестве перспективных молекулярных переключателей.

Проведение перегруппировки Гофмана широко используется в обогащенном синтезе для получения аминов из соответствующих амидов, что подробно отражено в обзоре литературы. Среди многочисленных методов проведения перегруппировки Гофмана мы остановились на способе использующем гипогалогениты [189]. Побочным процессом данной реакции является бромирование образующегося анилина избытком брома или гипобромитом находящемся в реакционной смеси. Избыток брома используют для увеличения выхода в реакции, чтобы весь амид перевести в соответствующий N-бромамид, однако какой-то конкретной методики по выделению бром-производных анилина в литературе нет. В работе [190] при получении толуидина, образовывался *para*-бромтолуидин, от которого авторы избавлялись длительным гидрогенолизом на никеле Ренея при повышенном давлении. Оработка данной методики на самом анилине была невозможной ввиду отсутствия необходимого оборудования, позволяющей провести синтез с водородом при повышенной температуре.

Наиболее перспективным способом получения анилина является проведение реакции Гофмана в два этапа, с выделением промежуточного N-бромбензамида, предложенным в работе [189] (Схема 76). В ходе отработки реакции на необогащенном

² При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные автором лично или в соавторстве, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования: Shestakova A.K., Stanishevskiy V.V., Chertkov V.A. Synthesis and NMR spectra of $[^{15}\text{N}]$ indole // Chemistry of Heterocyclic Compounds. 2023. – Т. 59. № 9-10. – С. 657-665. Объем 1.07 п.л. Личный вклад автора 30%.

бензамиде была проведена серия синтезов, включающих в себя оптимизацию предложенной методики.

На первом этапе получали гипобромит натрия добавлением брома к гидроксиду натрия. Синтез следует проводить на ледяной бане при 0-5°C, при интенсивном перемешивании, в случае более низких температур возможно выпадение дигидрата гипобромита натрия в виде осадка желтого цвета. Добавление бензамида в реакционную смесь следует проводить небольшими порциями, поддерживая температуру реакционной смеси в районе 0°C. В случае изменения температурного режима окраска светло-желтого раствора начинает темнеть. Синтез следует проводить в течение 20 - 30 мин с момента начала добавления всего бензамида. Результаты ЯМР исследований реакционной смеси показали, что за это время доля непрореагировавшего бензамида обычно не превышает 5-7%, а побочных продуктов разложения N-бромамида не было обнаружено.

Выделение N-бромамида осуществляли осаждением на смеси льда и уксусной кислоты. Осадок промывается небольшими порциями холодной воды, чтобы избавиться от следов брома и гипобромита. Данный подход позволил получить достаточно чистый N-бромамид, который использовался в реакции Гофмана. В случае, если N-бромамид не представляет отдельный интерес, его можно использовать на следующей стадии синтеза минуя дополнительной стадии очистки и используя во влажном состоянии.

Проведение перегруппировки Гофмана проводили в растворе щелочи в 20-40 кратном избытке, согласно описанной методике. Ключевым фактором является выделение продукта. По окончании реакции, водный раствор солянокислого анилина экстрагировали небольшими порциями эфира, для удаления побочных органических продуктов и только после этого подщелачивали, для выделения самого [¹⁵N]анилина.

Экстракцию анилина проводили небольшими порциями эфира, затем эфир упаривали на роторе. Поскольку мы располагали небольшим количеством вещества, то отгонку проводили на приборе с высоким дефлегматором, снабженным головкой обратного отбора. Данная процедура позволит существенным образом снизить потерю анилина. Остаток эфира 2-3 мл отгоняли на роторном испарителе, анилин перегоняли в вакууме.

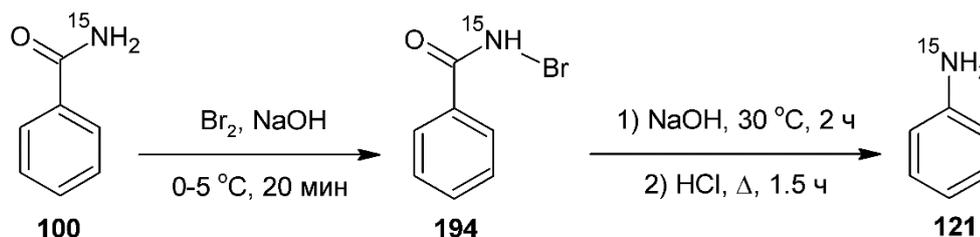


Схема 75.

Данный подход позволил избежать образования трудноотделимых побочных продуктов и выделить чистый [¹⁵N]анилин с выходом 56% в расчете на исходный [¹⁵N]бензамид.

3.1.3. Синтез [¹⁵N]индола³

В литературе представлено несколько способов синтеза [¹⁵N]индола, использующих различные источники изотопной метки. Мы исходили из ранее синтезированного [¹⁵N]анилина, поскольку анилин – ключевое соединения в синтезе гетероциклов, в том числе и индола.

Анализ литературных данных показал, что одним из наиболее удобных способов получения индола является восстановление изатина (Схема 76).

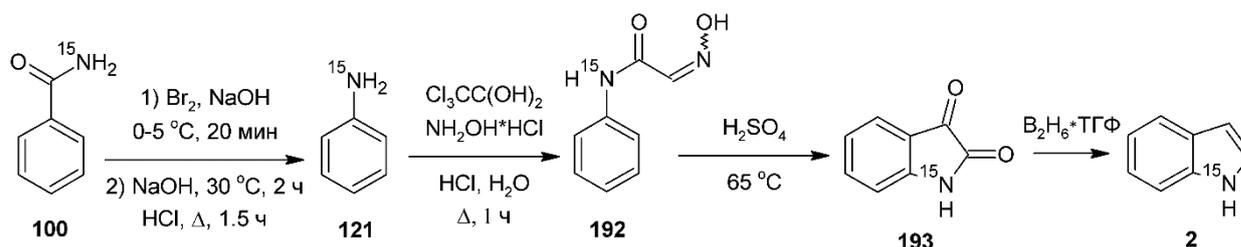


Схема 76.

Первая стадия синтеза [¹⁵N]индола заключалась в получении [¹⁵N]изонитрозоацетанилида по реакции Зендмеера и дальнейшим получением из него [¹⁵N]изатина. В работе [191] был получен обогащенный изонитрозоацетанилид исходя из [¹⁵N]анилина с высоким выходом 88%. Затем конденсация [¹⁵N]изонитрозоацетанилида в серной кислоте приводит к образованию [¹⁵N]изатина с выходом 92%. Особое внимание при отработке данных реакций на небогащенных соединениях уделялось выделению продуктов, поскольку требовалась работа с малыми нагрузками вещества.

Следует отметить, что при получении [¹⁵N]изонитрозоацетанилида используется именно сульфат натрия, который играет ключевую роль в процессе высаливания при охлаждении. Продукт следует тщательно высушить, перед использованием в следующей стадии синтеза, поскольку влажный [¹⁵N]изонитрозоацетанилид, существенным образом разогревает реакционную смесь при проведении конденсации в концентрированной серной кислоте.

При синтезе [¹⁵N]изатина, следует внимательно отнестись к условиям проведения конденсации, поскольку взаимодействие с серной кислотой начинается только при 65 °C.

³ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные автором лично или в соавторстве, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования: Shestakova A.K., Stanishevskiy V.V., Chertkov V.A. Synthesis and NMR spectra of [¹⁵N]indole // Chemistry of Heterocyclic Compounds. 2023. – Т. 59. № 9-10. – С. 657-665. Объем 1.07 п.л. Личный вклад автора 30%.

По окончании реакции, смесь выливали в снег, на котором выпадает характерный красный осадок [¹⁵N]изатина. При работе с небольшим количеством вещества, следует иметь в виду, что выпадение [¹⁵N]изатина происходит не сразу.

В ходе проведения синтезов, [¹⁵N]изонитрозоацетанилид был получен с выходом 77%. Выделение [¹⁵N]изатина требует многократное промывание осадка холодной водой, до нейтральной реакции промывных вод, выход изатина составил 68%.

Заключительной стадией синтеза [¹⁵N]индола является восстановление [¹⁵N]изатина, используя такие восстановители, как диборан или алюмогидрид лития. Как оказалось, в зависимости от условий проведения реакции продукты восстановления могут быть самыми разнообразными.

При изучении условий восстановления изатина (**195**) с помощью алюмогидрида лития обнаружено, что в качестве продуктов реакции могут образоваться индол (**196**), 3-гидроксииндолин (**197**), лейкоиндиго (**198**) и лейкоиндирубин (**199**) [192].

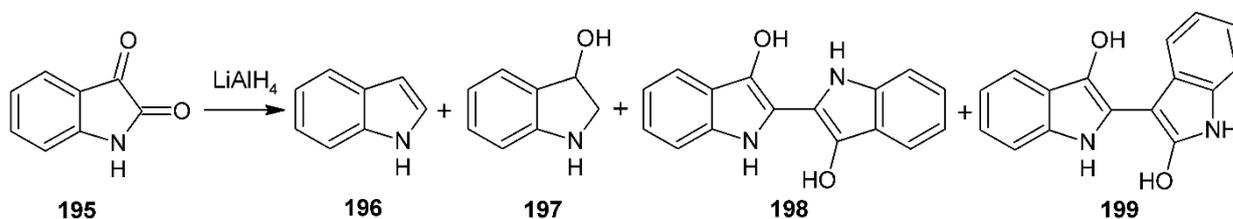


Схема 77.

Соотношение продуктов восстановления, зависит от условий проведения реакции, но так или иначе, все они будут присутствовать в конечной реакционной смеси. Из данных видно, что максимальный выход индола наблюдается при проведении реакции указанных в эксперименте № 1.

Таблица 3. Условия проведения реакции восстановления изатина литийалюминийгидридом.

№	Порядок добавления реагентов	Растворитель	Время реакции	Температура, °С	Выход в %		
					196	198	199
1	LiAlH ₄ к изатину	Эфир	5 ч	Нач. 2 Кон. 21	67	13	7
2	LiAlH ₄ к изатину	Эфир	6 ч	35	55	21	13
3	Изатин к LiAlH ₄	Эфир + ТГФ	3 ч	Нач. 35 Кон. 65	25	28	4
4	Изатин к LiAlH ₄	ТГФ	20 мин	65	34	16	14
5	Изатин к LiAlH ₄	Диоксан	25 мин	101	46	13	10
6	Изатин к LiAlH ₄	Эфир + диоксан	35 мин	2	34	9	11

При восстановлении изатина алюмогидридом лития обязательно образуются побочные продукты и реакция очень чувствительна к выбору растворителя и температуры, которые сильно влияют на выход индола и побочных продуктов.

Другим альтернативным вариантом рассматривалась реакция восстановления изатина дибораном. При изучении условий реакции показано, что замещенные индолы получают с выходами 60-66%, в случае незамещенного индола, указано, что он образуется с количественным выходом [193]. При отработке данной методики на необогащенном изатине выход составил 37%.

Требуемый для синтеза диборан синтезировали непосредственно перед проведением восстановления. Особое внимание уделялось выделению индола. В отличие от оригинальной методики, в которой растворитель после экстракции индола отгоняли на ротаторе, в нашей работе, для минимизации потерь индола большую часть растворителя отгоняли в приборе с высоким дефлегматором, снабженным головкой обратного отбора. Оставшиеся 2-3 мл растворителя отгоняли на роторном испарителе.

В работе [193] также ничего не говорится о методах очистки продукта. Для очистки продукт решили пропустить через колонку с силикагелем, предварительно исследовав подвижность необогащенного индола. Было обнаружено, что почти весь индол выходит в первой фракции. Помимо использования колонки с силикагелем, для обогащенного индола использовали перекристаллизацию из пентана. Выход обогащенного индола рассчитывали только на кристаллический продукт. Маточные раствора индола пригодны для проведения последующих синтезов и могут быть использованы в качестве стартового соединения в обогащенном синтезе, однако для получения образца индола высокого разрешения, требовался высокочистый кристаллический продукт, полученный после нескольких последовательных кристаллизаций. Выход [^{15}N]индола составил 16%.

3.1.4. Синтез производных [^{15}N]бензилиденанилинов и [^{15}N]бензиланилинов

Для изучения конформационных равновесий нами были выбраны *орто*-замещенные бензилиденанилины и бензиланилины, поскольку их структурный мотив способствует возникновению внутримолекулярной водородной связи в зависимости от типа заместителя. Данные объекты представляют повышенный интерес для изучения конформационных равновесий, контролируемых кислотностью среды.

В качестве исходного соединения использовался [^{15}N]анилин, который при взаимодействии с карбонильными соединениями образует требуемые основания Шиффа, которые гидрированием легко могут быть переведены в соответствующие бензиланилины.

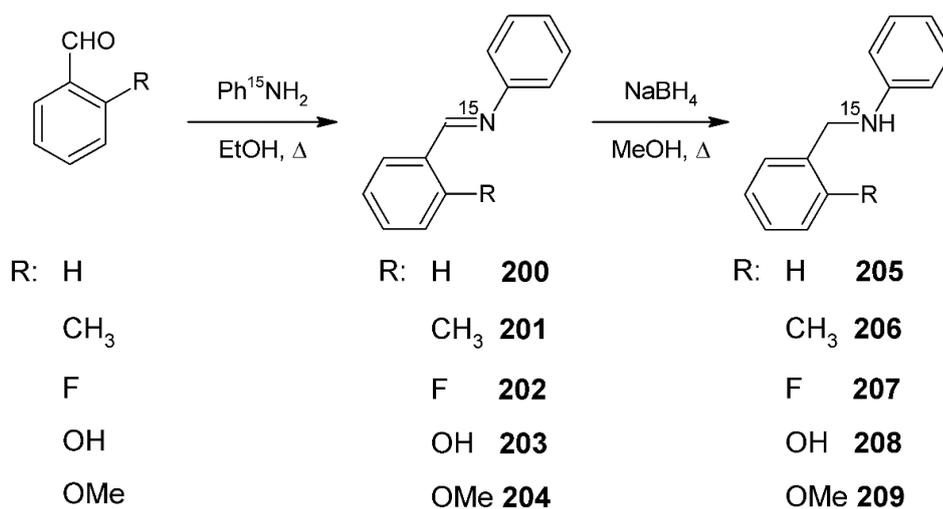


Схема 78. Схема синтеза замещенных [¹⁵N]бензилиденанилинов и [¹⁵N]бензиланилинов.

Наиболее универсальным способом синтеза бензилиденанилинов состоит во взаимодействии соответствующего альдегида и первичного амина. При выборе методики проведения реакции мы основывались на главных принципах синтеза обогащенных препаратов. Желательно использовать эквимольные количества вещества, чтобы обеспечить удобный способ выделения целевого продукта, но в тоже время с высоким выходом, поскольку проведение синтеза в полумикроколичествах может заметно усложнить стадию выделения. Среди различных методик проведения данной реакции мы остановились на способе, предлагаемом в работе [194], в которой авторы изучали полимеризацию ε-капролактона под действием трисалициламидных комплексов иттрия. В качестве лигандов в этих комплексах выступали замещенные бензилиденанилины. Реакцию проводили в этаноле при кипячении с использованием *para*-толуолсульфо кислоты в качестве кислотного катализатора, однако в ряде случаев, проводился синтезе и без использования катализатора. Подбор условий реакции зависит от строения соответствующего первичного амина и альдегида и подробно изучался на небогащенных соединениях.

Для отработки проведения реакции использовались бензальдегиды содержащие заместитель в *ortho*-положении и небогащенный анилин. В процессе отработки реакции варьировались такие параметры, как использование кислотного катализатора *para*-толуолсульфо кислоты, время проведения реакции, а также ввиду проведения синтеза в микро-количествах особое внимание уделялось стадии выделения и очистки вещества.

Оптимизация времени проведения реакции проводилась по результатам количественного интегрирования характерных сигналов в спектрах ¹H реакционной смеси. Количество продукта определяли по характерному сигналу иминного протона, а остаточный сигнал альдегидного протона, позволял определить полноту протекания

реакции. Использование *para*-толуолсульфокислоты влекло за собой дополнительную стадию очистки – проведение флеш-хроматографии на окиси алюминия (элюент – гексан), которая могла повлечь за собой неизбежную потерю продукта.

Для производных **200**, **201**, **203**, **204** было показано, что оптимальный метод синтеза не включал в себя использование кислотного катализатора. Выделение продукта реакции состоит в очистке от кислотного катализатора (если он использовался) с последующей отгонкой растворителя.

В оригинальной методике [194] очистка синтезированных бензилиденанилинов проводилась перекристаллизацией из этанола, нами было решено проводить перекристаллизацию из гексана. Это связано с тем, что в исследуемых нами химических равновесиях движущей силой является образование внутримолекулярной водородной связи и даже небольшая примесь этанола или воды может нежелательно повлиять на этот процесс. Перекристаллизация проводилась при пониженной температуре -20°C. Важным условием для проведения перекристаллизации является необходимость использования строго рассчитанного количества анилина и альдегида, так как избыток любого из реагентов может существенно понизить температуру плавления продукта.

Отработанные методики синтеза на небогатенных соединениях были применены для получения обогащенных соединений. Основные условия проведения синтеза и выход продуктов представлен в (Таблица 4).

Таблица 4. Условия проведения реакции и выход синтезированных бензилиденанилинов.

В-во	Время проведения реакции, ч.	Выделение вещества	Выход, %
200	3	Перекристаллизация из гексана.	92
201	6.5	Перекристаллизация из гексана*	63
202	2	Проведение флеш-хроматографии на окиси алюминия (элюент – гексан), затем перекристаллизация из гексана. **	91
203	4	Перекристаллизация из гексана	86
204	3	Промывание гексаном. ***	83

* Выход был рассчитан только на кристаллический продукт.

** Синтез проводили с добавлением *para*-толуолсульфокислоты.

*** Вещество **204** нерастворимо в гексане.

Соединения **200**, **203** и **204** представляют собой твердые кристаллы при н.у., а соединения **201** и **202** вязкие жидкости, что осложняло стадию их очистки.

Производные бензилиденанилинов подвержены реакциям гидролиза с разрывом двойной C=N связи, в связи с чем, синтез и выделение соединений следует проводить или

непосредственно перед ЯМР исследованиями или проводить перекристаллизацию повторно, чтобы избежать появления сигналов альдегида и анилина. По этой же причине следует сразу же проводить следующую стадию синтеза – восстановление.

Существуют различные методы восстановления оснований Шиффа. Выбор оптимальной методики зависит от структуры соединения и подбирается с учетом воздействия восстановителя на присутствующие функциональные группы. Мы учитывали наличие F- замещенного соединения **202**, поэтому избегали использование жестких восстановителей, которые могут привести к замещению атома фтора в ароматическом кольце. Отделить такую примесь от основного вещества может стать трудоемкой задачей, которая повлечет за собой потерю целевого продукта. Мы остановились на работе [195], в которой авторы изучали восстановление оснований Шиффа боргидридом натрия. Данная методика является оптимальной для субстратов, в которых двойная $-C=N-$ связь не является стерически нагруженной. Исследования проводились на соединениях бензилиденового ряда с различными заместителями в ароматических кольцах [195].

Ранее синтезированные небогатенные бензилиденанилины **200-205** использовались для отработки методики восстановления. Варьировалось количество восстановителя, а также стадия выделения вещества. Восстановление бензилиденанилинов вели в метанольном растворе под действием боргидрида натрия при кипячении в течение 20-30 минут. Для реакции использовался 1.4-2.5 кратный избыток боргидрида натрия в расчете на один моль амина. После проведения восстановления реакционную смесь разлагали водой, после чего наблюдалось выделение объемистого белого осадка борных кислот. Гомогенизацию раствора проводили путем добавления твердого гидроксида натрия. Амин экстрагировали эфиром, после чего проводили его перекристаллизацию из гексана.

Оптимальные условия восстановления обогащенных производных бензилиденанилинов представлены ниже (Таблица 5).

Для соединений **206** и **209** использовался большой избыток восстановителя, для полноты протекания реакции. Избыток боргидрида натрия не оказывает существенных сложностей при выделении целевого продукта. При экстракции соединений **208** и **209** дополнительно добавляли в экстрагируемую смесь хлорид натрия, для лучшего разделения водной и органической фазы.

Соединения **205**, **206**, **208**, **208** представляют собой твердые кристаллические вещества, в то время как **207** плавится при комнатной температуре. Большие загрузки для серии F-замещенных соединений **202** и **207** объяснялись сложностями при проведении микро-кристаллизации на стадии очистки продукта.

Таблица 5. Условия проведения реакции и выход синтезированных аминов.

Соединение	Избыток NaBH ₄	Выделение вещества	Выход, %
205	1.46	Экстракция эфиром из щелочного раствора, перекристаллизация из гексана.	92
206	2.26	Экстракция эфиром из щелочного раствора, перекристаллизация из гексана.	90
207	1.41	Экстракция эфиром из щелочного раствора, перекристаллизация из гексана.	92
208	1.47	Экстракция эфиром из щелочного раствора с добавлением хлористого натрия, промывание гексаном. *	88
209	2.53	Экстракция эфиром из щелочного раствора с добавлением хлористого натрия, промывание гексаном. *	89

* Вещество не растворялось в гексане, очистку проводили промыванием осадка в свежеперегнанном гексане.

3.2. Спектрально-структурная информация синтезированных обогащенных соединений

3.2.1. ЯМР спектры изотопологов бензамида⁴

Амидная связь играет ключевую роль в биохимии и содержится в нуклеиновых кислотах, пептидах, белках, а также в значительном количестве лекарственных препаратов (например, местные анестетики, такие как лидокаин, артикаин, бупивакаин и т.д.). В связи с этим, амидную функциональную группу вполне можно рассматривать, как одну из наиболее важных функциональных групп в химии, которая долгие годы является предметом тщательных исследований. Существует несколько подходов к изучению свойств соединений, содержащих амидную группу, в которых она несет основную функцию.

В строение амидной группы вносит вклад резонансная форма, вызванная взаимодействием неподеленной электронной пары атома азота с карбонильным центром. Такое взаимодействие приводит к тому, что связь между атомом азота и углерода в амидной группе носит характер частично двойной связи и приводит к компланарному расположению атомов в амидной группе с большим барьером вращения вокруг амидной связи [196, 197].

⁴ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные автором лично или в соавторстве, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования: Станишевский В.В., Шестакова А.К., Чертков В.А. Динамическая структура молекул в растворе по данным спектроскопии ЯМР и квантово-химических расчетов: IV. Бензамид // Журнал органической химии. 2023. – Т. 59. №8. – С. 1012-1024. Stanishevskii V.V., Schestakova A.K., Chertkov V.A. Dynamic structure of organic compounds in solution by dynamic NMR measurements and quantum molecular dynamics calculations: IV. Benzamide // Russian Journal of Organic Chemistry. 2023. – Т. 59. № 8. – С. 1298-1308. Объем 1.10 п.л. Личный вклад автора 30%.

Это приводит к неэквивалентности заместителей и различию химических сдвигов в ^1H -спектрах ЯМР для цис- и транс- конформеров [198]. Определение химических сдвигов протонов в амидной группе является нетривиальной задачей ввиду наличия динамических эффектов в амидной группе. В совокупности с наличием ядра азота ^{14}N сигналы амидных протонов в спектрах ЯМР ^1H существенно уширены, что не позволяет точно определить значение химического сдвига.

Анализ малых молекул остаётся актуальной задачей в структурной органической химии. Несмотря на кажущуюся простоту молекулы бензамида, значительное количество спектральной ЯМР информации остаётся нераскрытой. Синтез изотопологов бензамида и их ЯМР спектры позволили получить принципиально новую спектральную информацию.

Для амидных протонов характерной особенностью является их неэквивалентность из-за частично двойной связи между амидным атомом углерода и азотом (см. ниже). В небогатенном бензамиде эти сигналы дополнительно уширены за счёт влияния квадрупольного ядра ^{14}N . Введение изотопной метки ^{15}N позволило избавиться от эффектов квадрупольного уширения амидных протонов и провести их отнесение методами спектроскопии ЯМР высокого разрешения, что, в частности, позволяет корректно сравнить экспериментальные данные с результатами квантовохимических расчетов [20].

Среди синтезированных изотопологов бензамида наибольший интерес представляет собой дважды обогащенный бензамид **190**. Дейтерированное бензольное кольцо позволяет скрыть сигналы протонов ароматики, что позволяет детально изучить протоны амидной группы без перекрывания с сигналами ароматических протонов. Перекрывание сигналов амидных протонов с протонами ароматического бензольного кольца наблюдается в растворе ДМСО- D_6 . Важнейшими экспериментальными параметрами спектров ЯМР ^1H , являются химические сдвиги амидных протонов, их отнесение и величины КССВ.

Регистрацию спектров проводили в двух растворителях: полярном – ДМСО- D_6 и неполярном хлороформе. Данные растворители по-разному взаимодействуют с молекулами амидов, что отражается на параметрах спектров ЯМР ^1H .

В таблице приведены основные параметры спектров ЯМР ^1H для изотополога бензамида **190**.

В растворе ДМСО- D_6 амидные протоны хорошо разрешены и каждому из них соответствует отдельный уширенный пик.

На рисунке изображен ^1H ЯМР спектр дважды обогащенного бензамида **190** в растворе ДМСО- D_6 при температуре 303 К. Амидные протоны проявляются в виде дублетов. Узкие линии сигналов амидных протонов упрощает процедуру определения химических сдвигов и их отнесения с помощью методик двумерной спектроскопии ЯМР.

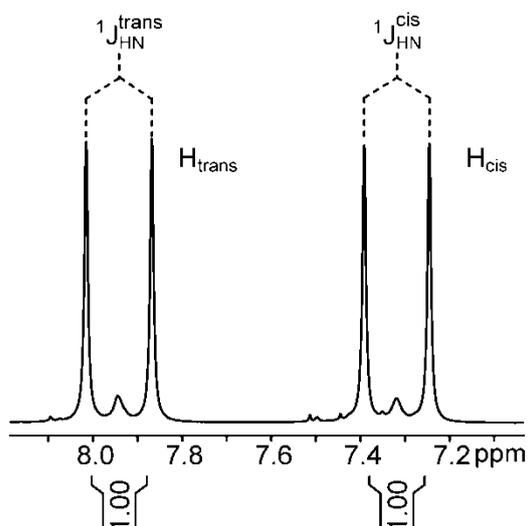


Рисунок 6. Фрагмент спектра ЯМР ^1H [$^2\text{H}_5$, ^{15}N]бензамида (ДМСО- D_6 , 293 К, “Bruker AV-600”). Показана область амидных протонов.

Чтобы обнаружить геминальную КССВ амидных протонов, нами был подготовлен образец с меньшей концентрацией бензамида **190**. Регистрацию ^1H ЯМР спектра проводили при температуре 293 К. На рисунке представлен фрагмент зарегистрированного при данных условиях ЯМР спектра, предварительно обработанного с помощью набора гауссовских функций. На спектре проявляется геминальная КССВ амидных протонов бензамида, ранее неопиcанная в литературе. Ее значение составило всего -1.23 Гц, для протона H_{trans} .

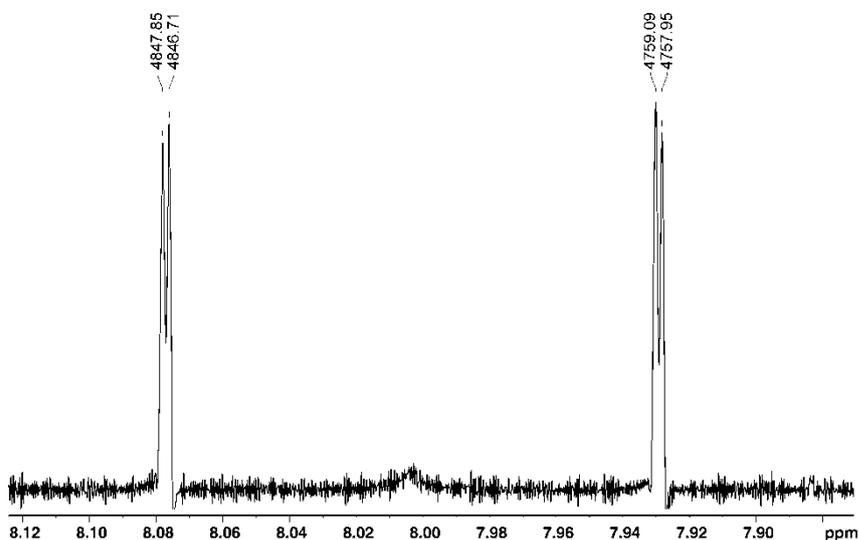


Рисунок 7. Фрагмент спектра ЯМР ^1H [$^2\text{H}_5$, ^{15}N]бензамида (ДМСО- D_6 , 293 К, “Bruker AV-600”). Показана область протона H_{trans} .

ЯМР спектры ^1H дважды обогащенного бензамида **190** характеризуются узкими линиями амидных протонов и отсутствием сигналов атомов водорода бензольного кольца. Всё это позволило точно определить как химический сдвиг амидных протонов, так и ранее неизвестную КССВ.

В растворе хлороформа сигналы амидных протонов плохо разрешены и перекрываются. В ходе наших исследований и литературных данных, было показано, что химический сдвиг амидных протонов в спектрах ЯМР ^1H , существенным образом зависит, как от температуры регистрации спектра, так и от концентрации, что делает процедуру отнесения сигналов в протонном спектре амидов нетривиальной задачей.

В растворе хлороформа сигналы амидных протонов не перекрываются с сигналами протонов бензольного кольца, поэтому необязательно использовать бензамид с полностью протейтерированным бензольным кольцом. На рисунке изображен спектр обогащенного по азоту бензамида **100**, зарегистрированный при 303 К. Амидные протоны проявляются в виде дублета с $^1J_{\text{HN}} = -88.77$ Гц. Не смотря на замену квадрупольного ядра азота ^{14}N , линии в спектре ЯМР ^1H уширены и сигналы амидных протонов всё ещё выглядят как эквивалентные. Следует отметить, что наряду с дублетным расщеплением на ядрах ^{15}N в спектрах ЯМР ^1H наблюдаются сигналы небогащенного бензамида. Они имеют вид уширенных синглетов.

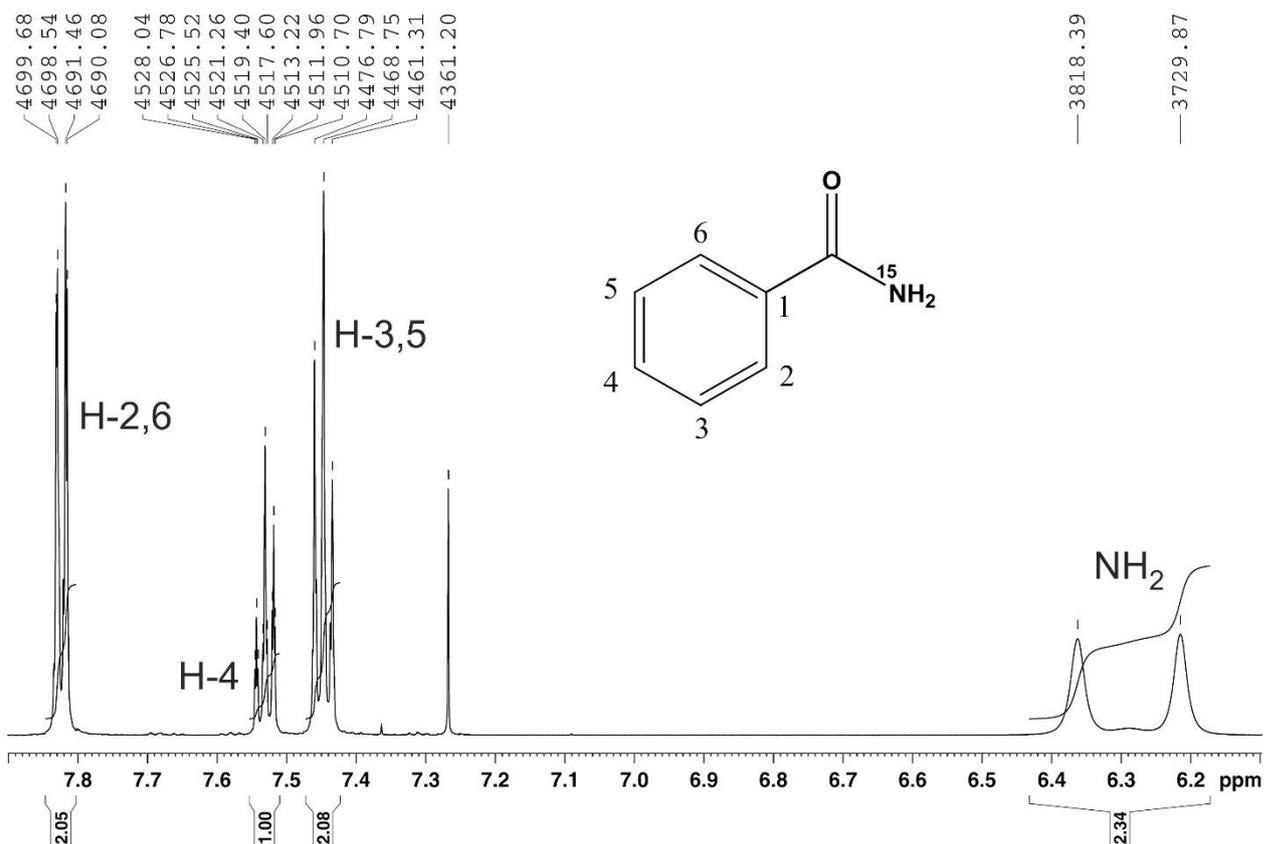


Рисунок 8. Обзорный спектр ЯМР ^1H [$^2\text{H}_5$, ^{15}N]бензамида (CDCl_3 , 303 К, “Bruker AV-600”).

Подбор оптимальных условий регистрации спектров ЯМР ^1H заключался в подборе температуры и концентрации бензамида в растворе CDCl_3 . В ходе исследований было показано, что растворимость бензамида в хлороформе существенно снижается при низких температурах, а наличие в образце взвеси или осадка бензамида, существенно снижает

разрешение в спектрах. Подбор условий регистрации спектров позволил добиться необходимого разрешения в протонном спектре и в явном виде определить как геминальную КССВ ${}^2J_{HH} = -2.39$ Гц амидных протонов в $CDCl_3$, так и значения химических сдвигов протонов амидной группы. На рисунке изображен фрагмент ЯМР спектра 1H бензамида **190** в растворе хлороформа при 260 К. Из спектра хорошо видна неэквивалентность протонов амидной группы, более того, следует отметить различия в ширинах сигналов амидных протонов.

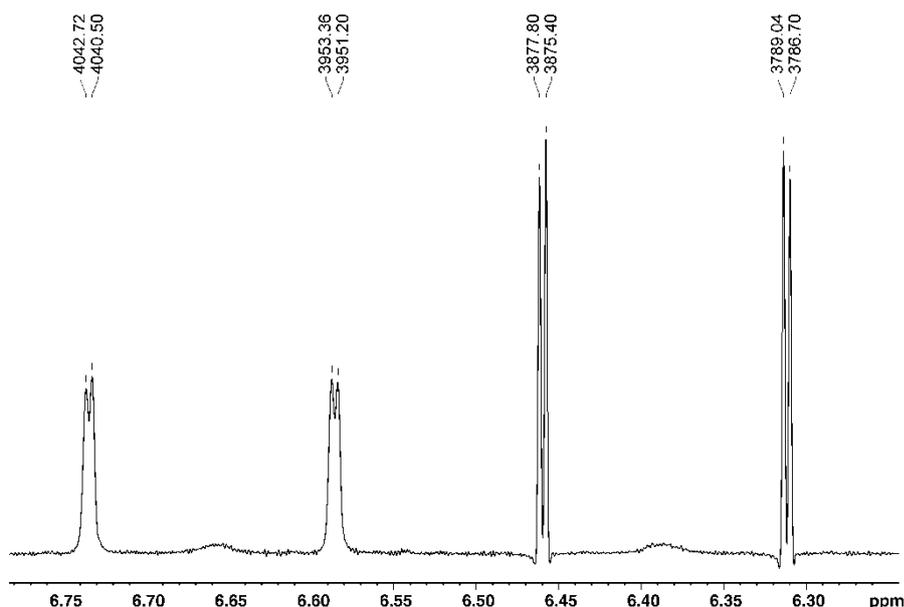


Рисунок 9. Фрагмент спектра ЯМР 1H [2H_5 , ${}^{15}N$]бензамида ($CDCl_3$, 260 К, "Bruker AV-600"). Показана область амидных протонов.

Различия в ширине сигналов амидных протоном вызвано участием одного из протонов во межмолекулярных взаимодействиях. Дальнейшее понижение температуры образца, привело к увеличению разрешения и, как следствие, проявлению мультиплетности сигнала протона H_{cis} . При переходе от ДМСО к хлороформу меняется как полярность растворителя, так и его сольватирующая способность, что в конечном счете оказывает существенное влияние на динамические свойства амидов. Так известны случаи образования димерных комплексов амидов в растворе хлороформа. В действительности при регистрации спектров ЯМР 1H при температуре 254 К, протон H_{cis} проявлялся в виде уширенного дублета дублетов. Данная мультиплетная структура сигнала протона H_{cis} согласуется с образованием димерного комплекса бензамида (Рисунок 10).

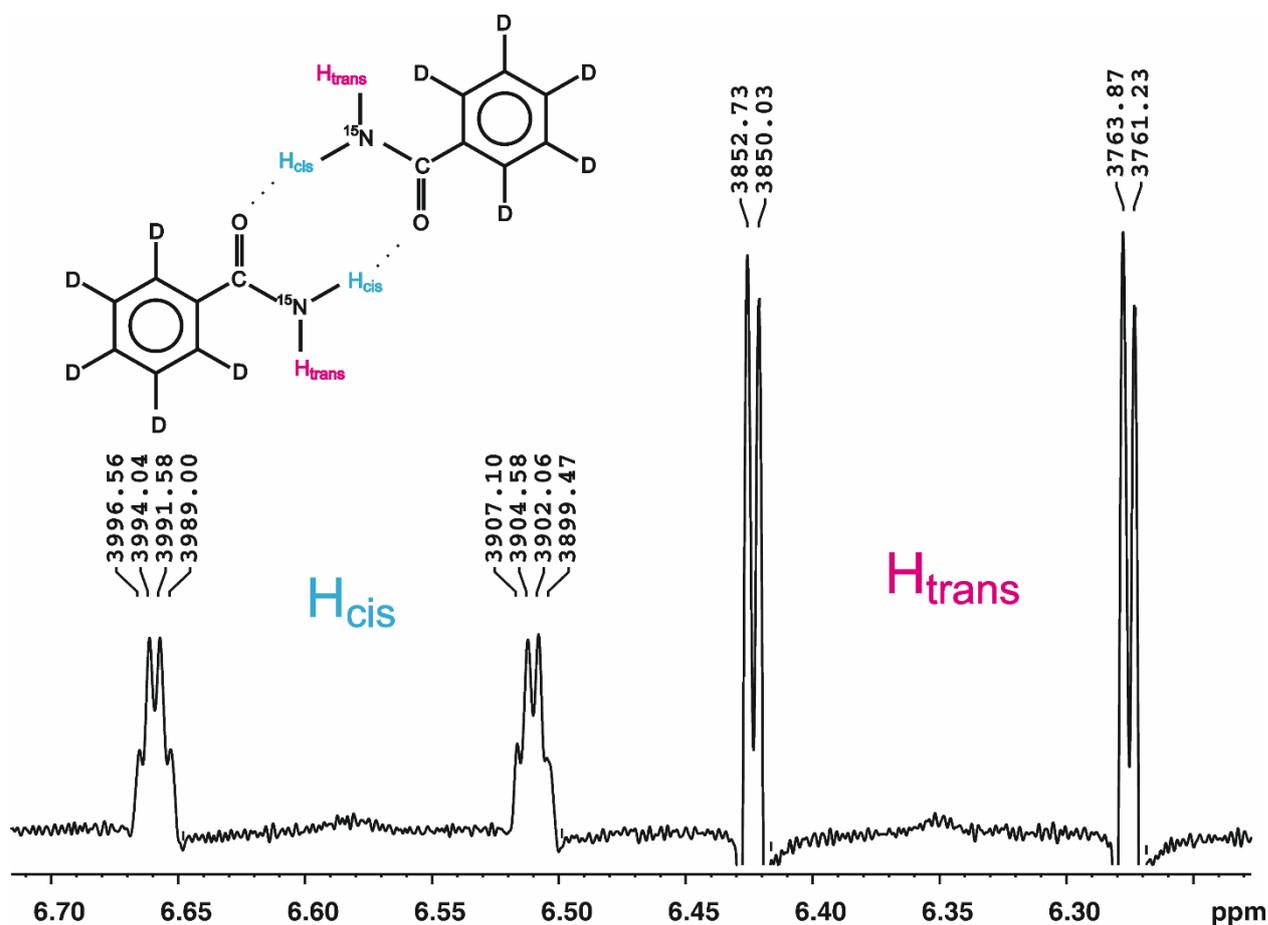


Рисунок 10. Фрагмент спектра ЯМР ^1H [$^2\text{H}_5$, ^{15}N]бензамида (CDCl_3 , 254 К, "Bruker AV-600"). Показана область амидных протонов.

Амидные протоны бензамида в растворе хлороформа являются не эквивалентными, что приводит к необходимости их отнесения используя методы двумерной спектроскопии ЯМР. Нашей задачей было подобрать оптимальные параметры для регистрации двумерных кросс-корреляционных спектров, однозначно демонстрирующих отнесение амидных протонов в бензамиде.

Расположение атомов водорода H_{cis} и H_{trans} по отношению к атомам углерода C_i и C_o значительным образом отличается, что должно приводить к разнице в величинах $\text{KCCB}^2 J_{\text{CH}}$ и $^3 J_{\text{CH}}$. Хорошо известно, что вицинальная $\text{KCCB}^3 J_{\text{CH}}$ зависит от двугранного угла и служит надежным инструментом для отнесения протонов в алициклах и олефинах. Наличие ядра ^{14}N приводит к значительному уширению сигналов амидных протонов в спектрах ^1H , что не позволяет разрешить два сигнала, для корректного проведения эксперимента.

Изотопное обогащение ядром ^{15}N позволило достичь узких линий амидных протонов в спектрах ЯМР ^1H и разрешить два сигнала. В ходе предварительных экспериментов с селективной развязкой, было показано, что характеристичная константа $^3 J_{\text{CH}}$ проявляется в протон-связанном углеродном спектре только для протона H_{cis} , что являлось надежным

инструментом для отнесения сигналов амидных протонов. Хорошо известно, что максимальные значения КССВ ${}^3J_{CH}$ проявляет при двугранных углах близких к 120° .

В качестве наглядной иллюстрации представлен спектр НМВС [2H_5 , ${}^{15}N$]бензамида:

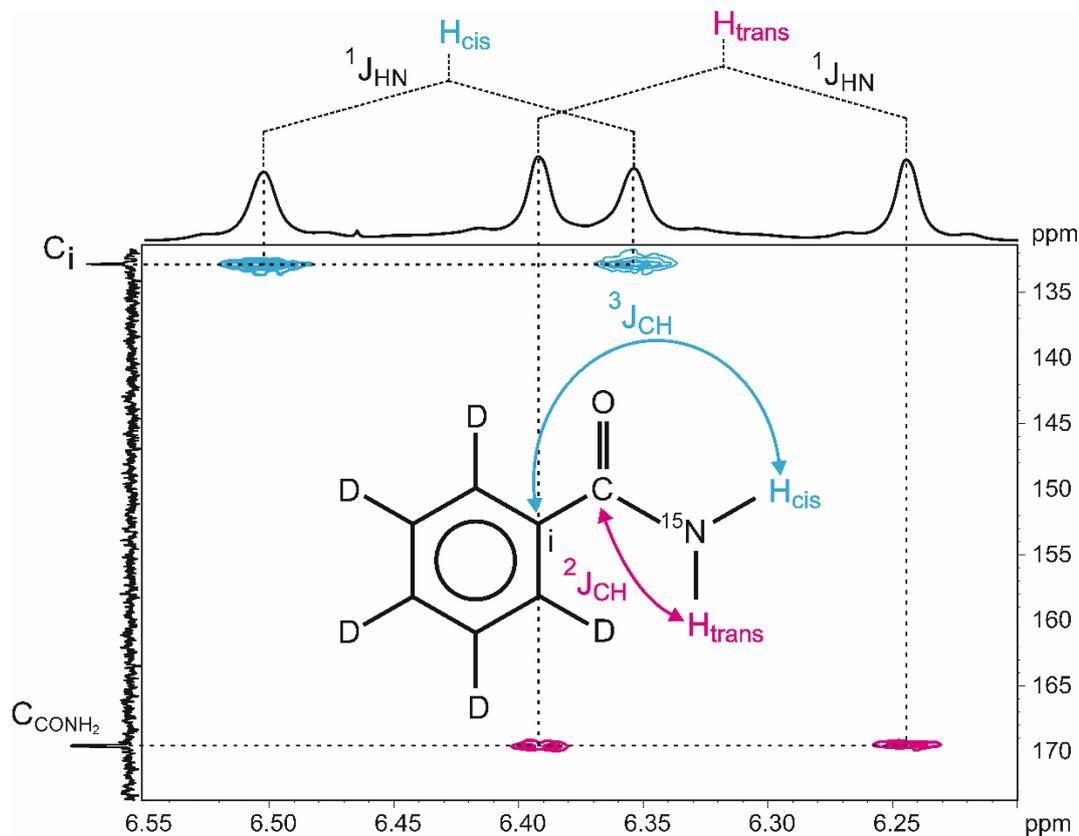


Рисунок 11. Спектр ЯМР НМВС [2H_5 , ${}^{15}N$]бензамида ($CDCl_3$, 303 К, "Bruker AV-600").

Одним из широко используемых инструментов спектроскопии ЯМР для определения структуры молекулы является описание электронных эффектов в молекуле, которые влияют на значения КССВ и положения химических сдвигов. Амиды **190** и **191** содержат атомы дейтерия в ароматическом кольце, которые не так удобны для регистрации и наблюдения тонких эффектов, которые можно наблюдать на соединениях, не обогащенных атомом дейтерия. Однако, одним из возможных инструментов для получения такой важной информации являются времена релаксации атомов дейтерия. Имеющиеся экспериментальные данные [199] и теоретические оценки [200] показали, что времена релаксации дейтерия критически зависят от однородности плотности распределения заряда в зоне ядра дейтерия. При этом наличие существенной неоднородности сопровождается увеличением скорости релаксации квадрупольных ядер дейтерия. Времена релаксации зависят от электронного окружения атома и могут быть использованы для описания электронных эффектов в молекуле.

В данной работе мы измерили времена релаксации атомов дейтерия бензольного кольца амида **190** в разбавленном растворе $DMCO-D_6$ и $CDCl_3$ методом инверсия-

восстановление [201]. Серию экспериментов ЯМР ^2H при температуре 303 К, регистрировали варьируя значения задержки d_2 в диапазоне от $d_2 = 0$ мс до пяти времен релаксации $d_2 = 5t_1$. В зависимости от времени задержки d_2 интенсивность сигналов дейтерия меняется и для каждого атома дейтерия бензольного кольца амида **190**. Характер этих изменений был детально рассчитан.

Полученный массив данных серии ^2H ЯМР экспериментов обрабатывался с учетом того, что изменение интенсивности сигналов дейтерия в спектрах ^2H описывается экспоненциальной зависимостью, представленной на уравнении 5, где M_z и M_0 значения интенсивности сигналов, τ – задержка между импульсами d_2 , а T_1 – искомое значение времени релаксации.

$$M_z = M_0(1 - 2e^{-\frac{\tau}{T_1}}) \quad (5)$$

В качестве математической функции, описывающей данную зависимость, использовалась функция, представленная на уравнении 6, где по оси ординат откладывались значения интенсивности сигналов, а по оси абсцисс задержки d_2 .

$$y = A_1 e^{\frac{-x}{t_1}} + y_0 \quad (6)$$

В ходе обработки интенсивности сигналов дейтерия из набора спектров, были получены экспоненциальные зависимости, описываемые уравнением 6.

Характерной особенностью таких зависимостей является почти неизменяемая интенсивность сигналов при достижении параметром d_2 значений в $5t_1$.

Сигналы дейтерия D_o и D_m имеют близкие времена релаксации:

$$T_1(D_o) = 0.0787(4)\text{с},$$

$$T_1(D_m) = 0.0767(4)\text{с}.$$

В то же время для дейтерия в *para*-положении время релаксации оказалось почти в два раза короче:

$$T_1(D_p) = 0.0453(6)\text{с}.$$

Это может свидетельствовать о том, что наведенный карбамидной группой градиент электрического поля в области *para*-протона бензамида значительно больше, чем в позиции *орто*- и *мета*-протонов [199, 200].

Одной из проблем при регистрации дейтериевых спектров является отнесение сигналов атомов дейтерия в целевой молекуле. Отнесение сигналов дейтерия проводили в соответствии с протонным спектром. При сравнении положения сигналов дейтерия относительно сигналов ядер ^1H .

Таблица 6. Значения функции 2, для атомов дейтерия молекулы [$^2\text{H}_5$, ^{15}N]бензамида в растворе ДМСО и хлороформе, а так же для самих растворителей.

Пик	y_0	A_1	t_1	стандартное отклонение	χ^2	R^2
<i>DMSO</i>	-14.4576	28.7784	0.6155	0.0049	0.0011	0.9999
<i>Do</i>	$-2.62 \cdot 10^{-3}$	$5.08 \cdot 10^{-3}$	0.0787	$3.69 \cdot 10^{-4}$	$2.92 \cdot 10^{-10}$	0.9999
<i>Dp</i>	$-7.17 \cdot 10^{-4}$	$1.42 \cdot 10^{-3}$	0.0453	$5.87 \cdot 10^{-4}$	$1.66 \cdot 10^{-10}$	0.9990
<i>Dm</i>	$-2.73 \cdot 10^{-3}$	$5.26 \cdot 10^{-3}$	0.0767	$4.06 \cdot 10^{-4}$	$4.14 \cdot 10^{-10}$	0.9998
<i>CDCl₃</i>	-225.4703	450.3631	1.4271	0.1317	0.0042	0.9999
<i>Do</i>	-0.06854	0.13234	0.2673	$1.19 \cdot 10^{-3}$	$1.84 \cdot 10^{-7}$	0.9999
<i>Dp</i>	-0.02699	0.05402	0.1740	$4.11 \cdot 10^{-3}$	$9.21 \cdot 10^{-7}$	0.9967
<i>Dm</i>	-0.07119	0.14024	0.2778	$3.28 \cdot 10^{-3}$	$1.41 \cdot 10^{-6}$	0.9992

Как видно из таблицы 6 все времена релаксации рассчитаны с высокой степенью точности. В тоже время следует обратить внимание на то, что релаксация атомов дейтерия находящихся в *орто*- и *мета*- положениях драматическим образом отличаются от таковых значения для пара- атома дейтерия. Данная тенденция наблюдается, как для раствора в хлороформе, так и для раствора в ДМСО.

Общее обогащение бензольного кольца дейтерием по данным масс-спектрометрии составляет 99.2%. Сигналы остаточных протонов ароматического кольца проявляются в виде уширенных триплетов для остаточных *орто*-протонов (8.10 м.д., соотношение интенсивностей компонент 1 : 1 : 1) и квинтетов для остаточных *мета*- и *пара*-протонов (7.46 и 7.53 м.д., соотношение интенсивностей компонент 1 : 2 : 3 : 2 : 1). Мультиплетность сигналов остаточных протонов определяется, главным образом, КССВ $^3J_{\text{HD}}$ с соседними атомами дейтерия (от 0.95 до 1.11 Гц), а быстрая квадрупольная релаксация дейтерия вызывает дополнительное уширение и даже частичное слияние линий, подробнее см. [202]. Степень обогащения для протонов H_o и H_m составляет 99.6%, а для H_p 99.2%, каждый из них занимает компактный диапазон частот и легко опознаётся в спектре ЯМР ^1H как по его положению, так и по мультиплетности. Существенно для настоящего исследования то, что наличие этих остаточных сигналов протонов бензольного кольца не мешает последующей обработке динамических спектров ЯМР амидных протонов.

Углеродные спектры изотопологов бензамида, также представляют интерес. Так, на рисунке представлен обзорный спектр амида **100** с отнесением сигналов углеродов.

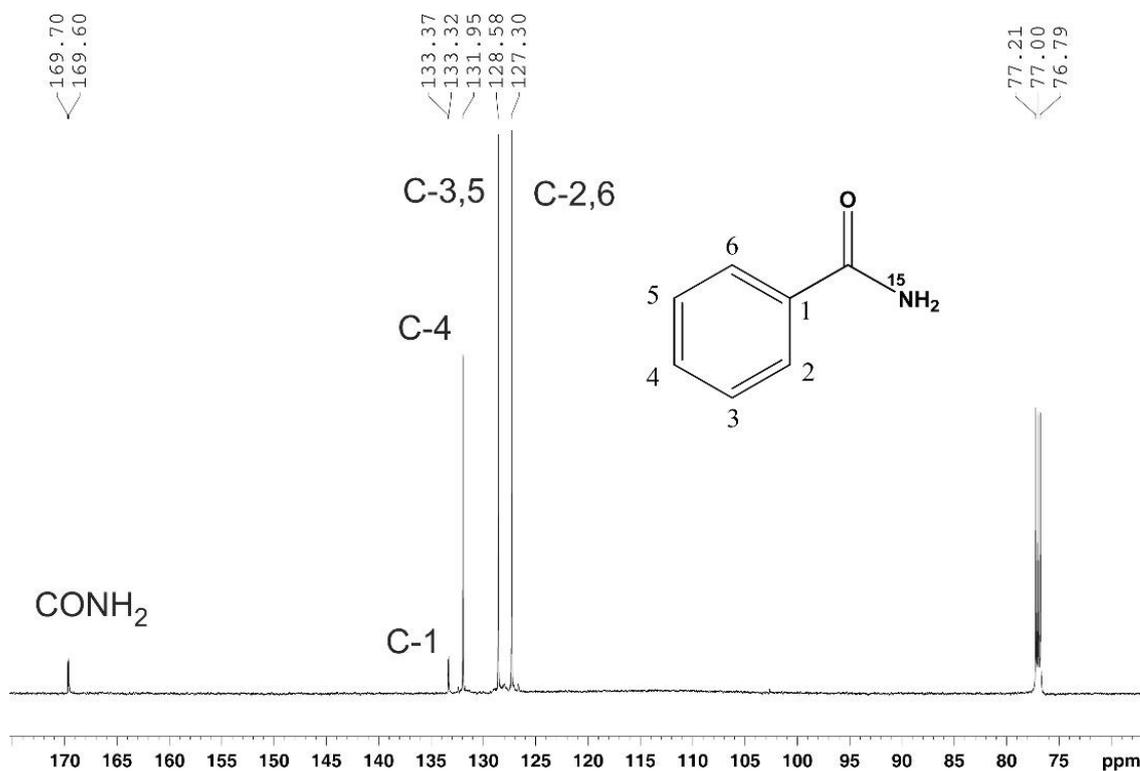


Рисунок 12. Спектр ЯМР ^{13}C [^{15}N]бензамида (CDCl_3 , 303 K, "Bruker AV-600").

Замена атома азота ^{14}N на более тяжелый изотоп ^{15}N приводит к возникновению изотопных химических сдвигов. В случае амида **190** атомы дейтерия бензольного кольца вносят дополнительную мультиплетность.

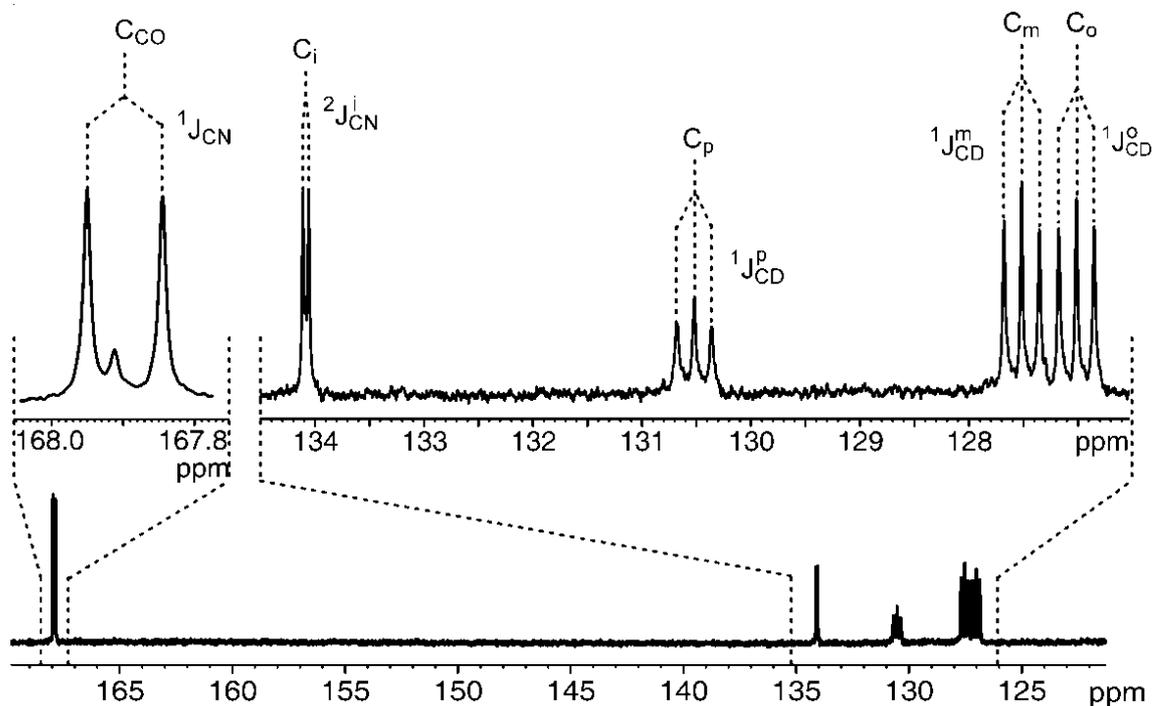


Рисунок 13. Спектр ЯМР ^{13}C [$^2\text{H}_5$, ^{15}N]бензамида (CDCl_3 , 303 K, "Bruker AV-600").

Поскольку атом углерода содержится во всех органических молекулах, изучению влияния изотопа дейтерия на химические сдвиги ^{13}C атомов углерода посвящено много

работ и ряд подробных обзорных статей, которые показывают возможность использования значений ${}^n\Delta C(D)$ для описания конформационных свойств молекул, прочности и протяженности

Однако изотопные химические сдвиги от ядра ${}^{15}\text{N}$ могут быть использованы в качестве эффективного инструмента для анализа структуры некоторых азотсодержащих гетероциклов. Так, в работе сообщается о значениях ${}^1\Delta C2(\text{N}) = 22$ млрд.д. и ${}^1\Delta C4(\text{N}) = 34$ млрд.д. в изотопно обогащенных по атому азота 2,4- или 2,5-дизамещенных тиазолах. Были изучены изотопные химические сдвиги *inco*- атомов углерода от ядра ${}^{15}\text{N}$ в изотопно обогащенных по атому азота азобензолах и бензо[с]хиннолинах.

Выбор изотопного обогащения в [${}^2\text{H}_5$, ${}^{15}\text{N}$]бензамиде продиктован задачами ЯМР; однако наличие в молекуле сразу двух типов атомов обогащенных ядер создает дополнительные трудности в интерпретации изотопных химических сдвигов в этом соединении. При анализе спектров ЯМР ${}^{13}\text{C}$ бензамида видно, что все сигналы атомов углерода смещены в более сильное поле, что соответствует положительному изотопному эффекту. Наиболее сложная картина наблюдается для атомов C_i и C_{CO} , поскольку на химические сдвиги этих атомов влияют как пять атомов дейтерия бензольного кольца, так и ядро ${}^{15}\text{N}$ амидной группы. В случае использования модельных соединений, содержащих только один тип изотопной метки, и химические сдвиги, вызванные введением изотопа, каким-то образом приписываются именно этому типу атомов. В случае влияния двух типов изотопов в молекуле, изотопный химический сдвиг является суммой двух эффектов, как от атомов дейтерия, так и от ядра ${}^{15}\text{N}$ в нашей молекуле.

При этом с увеличением расстояния между атомами углерода и дейтерия изотопный химический сдвиг дейтерия уменьшается, и в случае амидного атома углерода он, может быть, сравним по величине с эффектом от атома ${}^{15}\text{N}$.

Чтобы оценить вклад каждого типа атомов в общий изотопный химический сдвиг в **190**, мы провели синтез бензамидов, содержащих только один тип изотопной метки, а именно бензамид, обогащенный атомом азота амидной группы **100**, и бензамид, обогащенный дейтерием в бензольном кольце **191**. Для оценки значений изотопных химических сдвигов атомов углерода мы использовали метод смешивания изотопно обогащенного вещества с его небогащенным аналогом, такой подход позволяет избежать привязки к внешнему стандарту и одинаковым условиям при регистрации спектров, а также избежать различий, вызванных действием растворителя.

Были зарегистрированы спектры ЯМР ${}^{13}\text{C}$ изотопно обогащенных бензамидов с бензамидом при естественном содержании атомов в двух растворителях CDCl_3 и DMSO-D_6 . Поскольку все серии измерений содержали небогащенный бензамид **187**, химические

сдвиги ядер его атомов углерода служили опорными сигналами для расчета изотопных химических сдвигов других бензамидов.

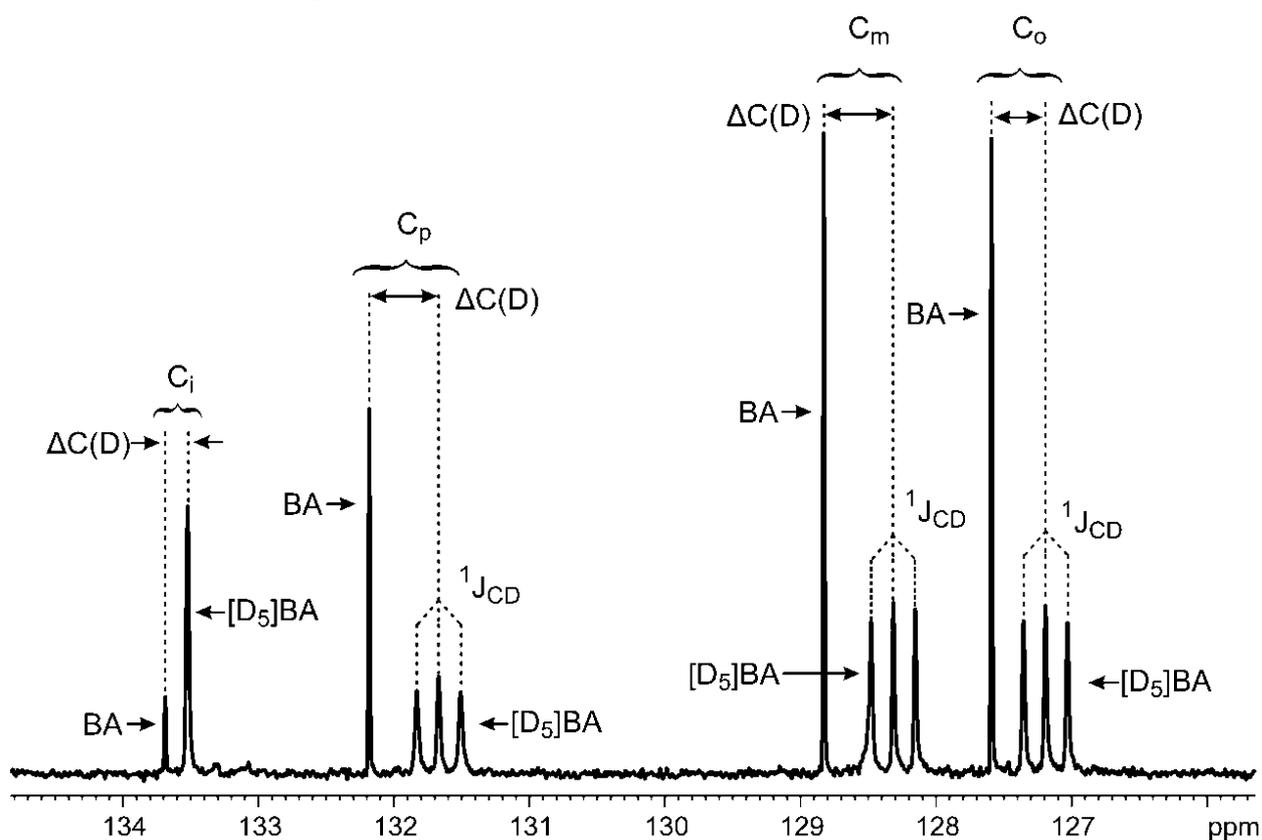


Рисунок 14. Спектр ЯМР ^{13}C смеси бензамида **187** (BA) и бензамида **191** ($[\text{D}_5]\text{BA}$) для оценки изотопных сдвигов от ядра дейтерия.

Таким образом, в таблице приведены значения изотопных химических сдвигов атомов углерода серий бензамидов **100**, **190** и **191** относительно небогащенного бензамида.

Таблица 7. Значения изотопных химических сдвигов атомов углерода серий бензамидов **100**, **190** и **191** относительно небогащенного бензамида.

	Растворитель	C_{CO}	C_i	C_o	C_m	C_p
^{15}N бензамид 100	CDCl_3	12.40	1.25	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5
	DMSO-D_6	14.67	0.88	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5
$^2\text{H}_5$ бензамид 191	CDCl_3	*5.0	165.4	399.0	512.4	512.3
	DMSO-D_6	20.70	178.1	397.6	507.0	504.2
$^2\text{H}_5, ^{15}\text{N}$ бензамид 190	CDCl_3	16.65	166.75	399.7	512.0	514.0
	DMSO-D_6	35.35	179.15	398.6	506.5	506.0

Как видно из таблицы 7, общий изотопный химический сдвиг атомов углерода в **190** представляет собой сумму эффектов от атомов дейтерия и от атома азота. Таким образом, в ходе анализа полученных данных удалось оценить вклад атома азота в общий изотопный химический сдвиг. Для амидного атома углерода первичный изотопный эффект положителен и равен $^1\Delta C(N) = 12.40$ млрд.д. в хлороформе и $^1\Delta C(N) = 14.67$ млрд.д. в ДМСО- D_6 . Как и ожидалось, вторичный изотопный эффект также положителен, но гораздо менее значителен и составляет $^2\Delta C(N) = 1.25$ млрд.д. в хлороформе и $^2\Delta C(N) = 0.88$ млрд.д. в ДМСО- D_6 . Даже для атомов углерода C_o изотопный химический сдвиг не наблюдался, и по нашим оценкам, не превышает 0.5 млрд.д. В связи с тем, что $^3\Delta C(N) \leq 0.5$ млрд.д., атом азота амидной группы практически не вносит вклад в изотопный химический сдвиг атомов углерода C_o , C_m и C_p бензамида **190**, для этих атомов изотопное смещение обусловлено исключительно влиянием пяти атомов дейтерия бензольного кольца.

В литературе для ряда монозамещенных ароматических соединений хорошо известна величина прямого изотопного эффекта дейтерия на атом углерода $^1\Delta C(D) = 280 - 310$ млрд.д. В отличие от ^{15}N , дейтерий оказывает значительное влияние на положение химического сдвига атомов углерода и через несколько связей $^2\Delta C(D) = 75 - 110$ млрд.д. и $^3\Delta C(D) \leq 20 - 25$ млрд.д. Таким образом, различное взаимное расположение пяти атомов дейтерия бензольного кольца молекулы [2H_5 , ^{15}N]бензамида по отношению к атомам углерода резко влияет на значения изотопных химических сдвигов. Так для атомов углерода C_m и C_p изотопный химический сдвиг представляет собой сумму прямого изотопного эффекта $^1\Delta C(D)$ и двух эффектов $^2\Delta C(D)$ через две связи, так как каждый из этих атомов имеет два атома дейтерия через две связи, в результате чего смещение для этих атомов происходит на $\Delta C_m(D) = 512$ млрд.д. и $\Delta C_p(D) = 514$ млрд.д. (в растворе $CDCl_3$).

В отличие от атомов C_m и C_p , атом углерода C_o характеризуется наличием только одного дейтерия через две связи, и общий изотопный эффект в основном состоит из двух больших по величине эффектов, что отражается в изотопном химическом сдвиге $\Delta C_o(D) = 399.7$ млрд.д. (в растворе $CDCl_3$). В свою очередь, при интерпретации изотопных сдвигов можно отнести сигналы атомов углерода в ароматической области, в частности, для атомов углерода C_m и C_o , сходных по интенсивности и величине химического сдвига, наблюдается значительная разница в величине изотопного химического сдвига в **190**, что может служить надежным ориентиром при отнесении этих сигналов в спектре. Для атома углерода C_i общий изотопный химический сдвиг составляет $\Delta C_i(D) = 165.4$ млрд.д., это различие с другими ароматическими атомами углерода объясняется отсутствием первичного изотопного эффекта дейтерия на атоме C_i . В данной работе мы говорим о суммарном

изотопном эффекте пяти атомов дейтерия, поскольку оценка эффекта каждого отдельного атома дейтерия является самостоятельной научной проблемой.

Важной особенностью дейтерия является проявление так называемого отрицательного изотопного эффекта при большой степени удаленности от атома углерода $^n\Delta C(D) \leq 0$ млрд.д., $n \geq 4$. Согласно таблице 2, в $[^2H_5, ^{15}N]$ бензамиде наблюдается суммарный положительный изотопный эффект от пяти атомов дейтерия на амидном атоме углерода, как в растворе ДМСО- D_6 $\Delta C_{CO}(D) = 20.7$ млрд.д., так и в растворе $CDCl_3$ $\Delta C_{CO}(D) = 5.0$ млрд.д.

Одним из ключевых вопросов при исследовании изотопно обогащенных соединений, содержащих атом азота ^{15}N , является наблюдение сигнала ядра азота в спектрах ЯМР, а также оценка значений его химического сдвига. Для наблюдения сигнала ^{15}N мы зарегистрировали 2D ЯМР спектры HSQC $[^2H_5, ^{15}N]$ бензамида в ДМСО- D_6 , 303 К: $\delta(^{15}N) = 96.846$ м.д. и $CDCl_3$, 303К: $\delta(^{15}N) = 96.846$ м.д.

Пять атомов дейтерия бензольного кольца $[^2H_5, ^{15}N]$ бензамида могут проявлять суммарные изотопные сдвиги на ^{15}N . Чтобы оценить значение $\Delta N(D)$, образец **190** сравнивали с его недейтерированным аналогом **100** в растворе ДМСО- D_6 .

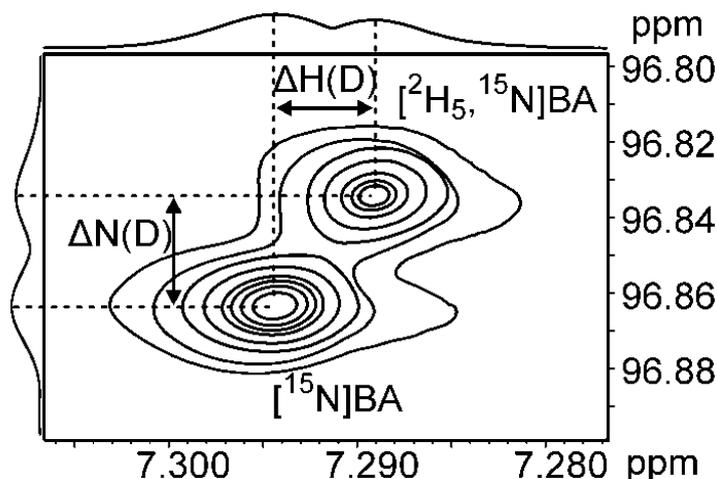


Рисунок 15. Фрагмент высокоразрешенного 2D корреляционного ЯМР спектра HSQC
Фрагмент двумерного спектра ЯМР ^{15}N HSQC смеси (1 : 1, моль/моль) амидов **1**
($[^2H_5, ^{15}N]BA$) и **4** ($[^{15}N]BA$). (ДМСО- d_6 , 303 К, Bruker AV-600).

На рисунке 15 приведена область корреляции *цис*-амидного протона H_{cis} с азотом в двумерном эксперименте ЯМР ^{15}N HSQC для ^{15}N -обогащенных соединений **1** и **4** (смесь 1 : 1, моль/моль). Этот эксперимент проведен в режиме, выявляющем кросс-пики для ^{15}N соответствующий константе ССВ ^{15}N -H азота с *цис*-амидным протоном через одну связь. Количественный анализ положения приведенных на этом рисунке частично перекрывающихся сигналов показал, что замещение всех пяти атомов водорода на дейтерий бензольного кольца вызывает достаточно сильное смещение в сильное поле сигнала ^{15}N :

$$\Delta\delta^{15}\text{N}(^2\text{H}/^1\text{H}) = -29.4 \text{ млрд. д.}$$

Соответствующий изотопный эффект для протонов имеет то же направление, но значительно меньше по модулю и составляет примерно -5.4 млрд. д. Следует отметить то, что разрешённость сигналов в двумерном спектре ЯМР выше, чем в проекциях на каждую из осей и то, что данный эффект наблюдался только для *цис*-протона амидной группы. Это очевидно свидетельствует о том, что взаимное расположение места изотопического замещения и ядра-детектора может напрямую влиять на величину изотопного химического сдвига.

В спектре ЯМР ^1H соединения **1** наблюдаются интенсивные сигналы протонов амидной группы. Общее обогащение бензольного кольца дейтерием по данным масс-спектрометрии составляет 99.2%.

Сигналы остаточных протонов ароматического кольца проявляются в виде уширенных триплетов для остаточных *орто*-протонов (8.10 м.д., соотношение интенсивностей компонент 1 : 1 : 1) и квинтетов для остаточных *мета*- и *пара*-протонов (7.46 и 7.53 м.д., соотношение интенсивностей компонент 1 : 2 : 3 : 2 : 1). Мультиплетность сигналов остаточных протонов определяется, главным образом, КССВ $^3J_{\text{HD}}$ с соседними атомами дейтерия (от 0.95 до 1.11 Гц), а быстрая квадрупольная релаксация дейтерия вызывает дополнительное уширение и даже частичное слияние линий, подробнее см. [30]. Степень обогащения для протонов H_o и H_m составляет 99.6%, а для H_p 99.2%, каждый из них занимает компактный диапазон частот и легко опознаётся в спектре ЯМР ^1H как по его положению, так и по мультиплетности. Существенно для настоящего исследования то, что наличие этих остаточных сигналов протонов бензольного кольца не мешает последующей обработке динамических спектров ЯМР амидных протонов.

3.2.2. ЯМР спектры [^{15}N]индола⁵

Индольный фрагмент занимает особое место в структурном разнообразии химии гетероциклических и природных соединений, он определяет функцию многих биологически активных веществ и лекарственных препаратов [203, 204, 205]. Поэтому поиск новых методов установления структуры, свойств и аналитического контроля продуктов на основе производных индола является актуальным [206, 207]. Весьма показательна история разработки нового метода синтеза полиалкилиндолов

⁵ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные автором лично или в соавторстве, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования: Shestakova A.K., Stanishevskiy V.V., Chertkov V.A. Synthesis and NMR spectra of [^{15}N]indole // Chemistry of Heterocyclic Compounds. 2023. – Т. 59. № 9-10. – С. 657-665. Объем 1.07 п.л. Личный вклад автора 30%.

трансформацией солей полиалкил-3-нитропиридиния под действием кетиминов (и смесей кетонов с аминами) [206, 207]. Этот процесс не имел аналогий в текущей литературе и был настолько необычным, что для установления формальной схемы протекания реакции потребовались новые методики определения структуры образующихся в ходе реакции алкилиндолов представительной серии алкилированных индолов, с использованием протонно-связанных спектров ЯМР ^{13}C [206, 207].

Получившие в последнее время широкое распространение методы двумерной спектроскопии ЯМР COSY, HSQC и HMBC оказываются недостаточно эффективными, в частности, для полиядерных гетероциклов, когда получение критически значимой структурной информации может потребовать знания малых по величине межкольцевых КССВ [208]. В этом плане для азотсодержащих соединений перспективными представляются методики, основанные на параметрах спектров ЯМР ^{15}N .

На природном содержании индол содержит в смеси 99.636% основного изотопомера с ядрами ^{14}N (спин 1) и 0.364% минорного изотопомера с ядрами ^{15}N (спин $\frac{1}{2}$). В каждом из изотопомеров ядра азота вовлечены в спин-спиновое взаимодействие практически со всеми протонами и ядрами ^{13}C молекулы. При этом быстрая релаксация квадрупольного ядра ^{14}N вызывает значительное уширение связанных с ним сигналов, что сильно осложняет расшифровку тонкой мультиплетной структуры [199, 202, 209].

Данные по константам спин-спинового взаимодействия дают важную структурную информацию. Для [^{15}N]индола особый интерес представляют КССВ с участием ядер ^{15}N . Эти параметры могут быть особенно полезными для установления структуры замещенных азолов [210, 211, 212] и полиядерных гетероциклов на их основе в тех случаях, когда данных по КССВ ^1H - ^1H и ^{13}C - ^1H оказывается недостаточно, см. обсуждение в работе [213]. Также надежные данные по КССВ ^{15}N - ^1H в индоле могут служить хорошими опорными значениями для задания оптимальных режимов двумерных экспериментов ^{15}N -HSQC и ^{15}N -HMBC [128].

Предсказательная сила спектральных методов определяется, среди прочих факторов, доступностью и точностью опорных значений спектральных параметров. В популярной монографии по спектроскопии, [214] базе спектральных данных AIST [215] и работе [207] приведены противоречивые данные по химическим сдвигам ЯМР ^{13}C индола, что несомненно требует проверки и уточнения.

Для точной расшифровки спектров ЯМР существенное осложнение представляет сам гетероатом. Изотоп азота ^{14}N является квадрупольным ядром, которое релаксирует значительно быстрее, чем ядра со спином $\frac{1}{2}$. При этом ядра ^{14}N и ^{15}N имеют близкие по абсолютной величине, но противоположные по знаку гироманнитные соотношения. Для ^{14}N

$\gamma = 1.93377981 \cdot 10^{-7}$ рад $\text{с}^{-1} \text{T}^{-1}$, а для ^{15}N $\gamma = -2.712618911 \cdot 10^{-7}$ рад $\text{с}^{-1} \text{T}^{-1}$. Константы спин-спинового взаимодействия с участием этих ядер имеют относительно близкие по модулю значения, но противоположны по знаку. Одновременное сочетание двух факторов – наличия относительно больших констант ССВ ядер ^1H и ^{13}C с азотом ^{14}N (см. ниже) и его быстрой квадрупольной релаксации – приводит к значительному уширению линий в спектрах азотсодержащих соединений на природном содержании изотопов азота. В результате, уширенные сигналы не несут полезной информации о величинах констант спин-спинового взаимодействия, причем не только о тех константах, которые определяются взаимодействием с ядром ^{14}N , но и со всеми остальными ядрами. В принципе, это уширение можно устранить с использованием спиновой развязки от ^{14}N , однако, эта процедура требует специального оборудования.

В спектре ЯМР ^1H [^{15}N]индола практически нет примесных сигналов, а мультиплеты имеют вид, близкий к первому порядку (Рисунок 16). В изученных нами спектрах за счет точной настройки однородности магнитного поля и высокоэффективной методики цифровой обработки достигнуто высокое разрешение и просматривается мультиплетная структура двадцати шести КССВ [^{15}N]индола (только две дальние константы с участием NH-протона не проявляются в виде расщеплений в спектрах).

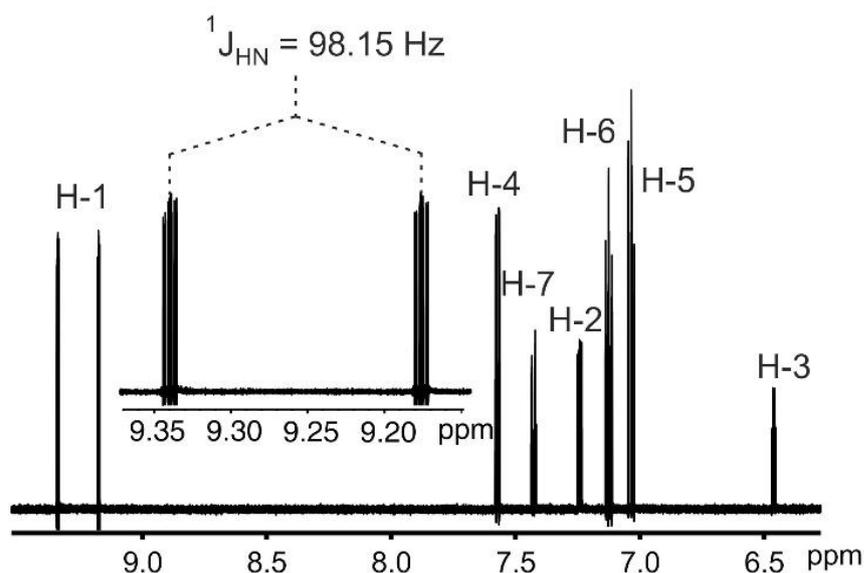


Рисунок 16. Спектр ЯМР ^1H [^{15}N]индола (0.25 M раствор в CD_3CN , “Bruker AV-600”, 303 K). На вставке приведена область протона N-H.

Очевидно, что полная расшифровка спектров ЯМР со столь сложной мультиплетной структурой представляет самостоятельную задачу и требует использования специальных методов [129, 130].

На предварительной стадии анализа таких спектров необходимо сделать надежное отнесение всех мультиплетов определенным протонам молекулярной структуры (Рисунок

17). Наряду с протонными спектрами изучены спектры ЯМР ^{13}C и ^{15}N , а также двумерные корреляционные спектры COSY, ^{13}C -HSQC, ^{13}C -HMBC, ^{15}N -HSQC и ^{15}N -HMBC. Отметим, что из вида обзорного протонного спектра ^{15}N индола безусловно следует отнесение протона Н-1, непосредственно связанного с азотом и имеющего с ним большую константу ССВ $^1J_{HN} = 98.15$ Гц.

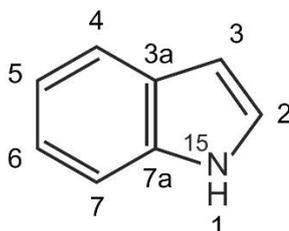


Рисунок 17. Нумерация атомов в ^{15}N индоле.

Существенную качественную информацию о мультиплетной структуре спектров ЯМР ^1H дают двумерные спектры COSY, в которых проявляются кросс-пики, обусловленные протон-протонными константами ССВ (Рисунок 18).

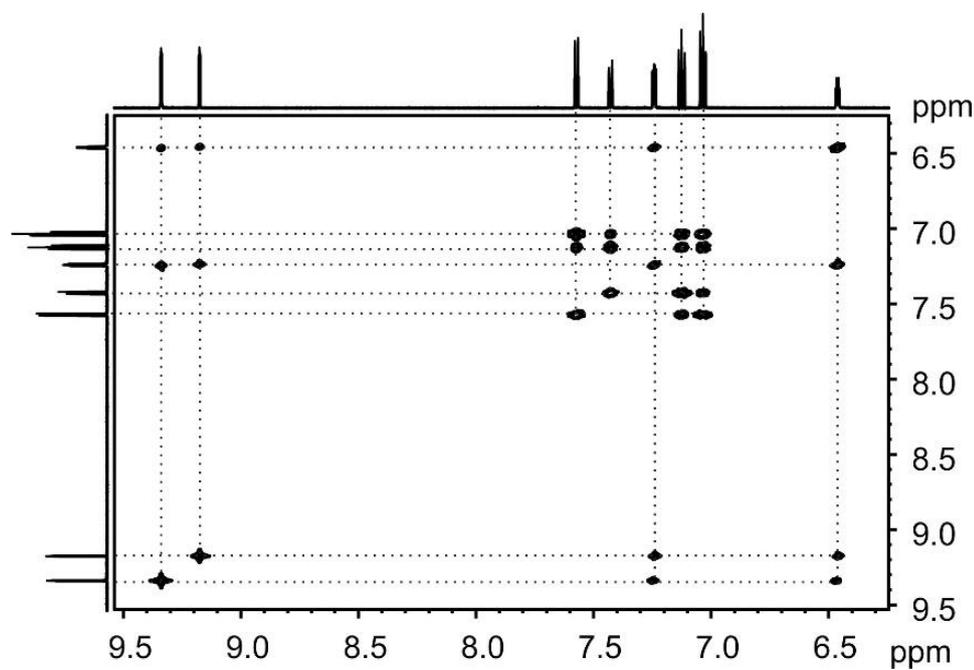


Рисунок 18. Спектр ЯМР COSY ^{15}N индола (0.25 М раствор в CD_3CN , "Bruker AV-600", 303 К).

В качестве опорного сигнала для отнесения сигналов в спектре ЯМР COSY использовали сигнал протона Н-1 [208]. После этого сразу следует отнесение сигналов протонов пятичленного кольца Н-2 и Н-3, которые имеют характерные кросс-пики с Н-1 за счет внутрикольцевых КССВ.

Четыре протона шестичленного кольца образуют собственную систему связанности (Рисунок 19).

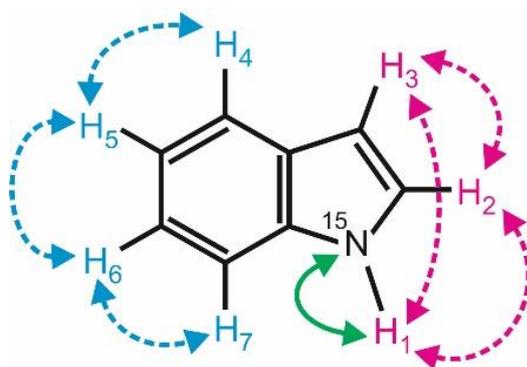


Рисунок 19. Схема главных связностей протонов между собой (пунктирные линии) и с ядром азота (сплошная линия) в $[^{15}\text{N}]$ индоле.

Так, протоны H-4 и H-7 имеют дублетную константу с соседним вицинальным протоном порядка 7-8 Гц, а протоны H-6 и H-5 имеют триплетное расщепление с константами близкими к 7-8 Гц.

Величину химических сдвигов ЯМР определяет совокупность факторов пространственной и электронной структуры молекулы. В частности, на представительной серии замещенных бензолов показано, что главными факторами, определяющими изменения параметров спектров ЯМР, являются эффекты сопряжения и индуктивные эффекты, каждый из которых составляет примерно по 35-40% их варибельности [216]. При этом индуктивный эффект затухает достаточно быстро по мере удаления от позиции структурного возмущения, в то время как эффекты сопряжения проявляются на значительно большем удалении. Однако, эта информация не может быть напрямую использована для отнесения сигналов в ароматических гетероциклах. В последние годы разработаны два новых подхода для предсказания химических сдвигов. Первый из них основан на расширенной полуэмпирической модели анизотропии химического сдвига и дает достаточно точные предсказания химических сдвигов протонов. Так, для индола в растворе CDCl_3 этот метод для протонов H-2 и H-3 дает близкие к эксперименту значения 7.32 и 6.61 м.д., соответственно [217].

Второй подход основан на продвинутом квантово-механическом подходе [159]. Мы провели расчеты химических сдвигов индола в рамках формализма DFT в приближении B3LYP с базисными функциями 6-311++G(3df,2pd) с последующей коррекцией результатов на завершающем этапе [218]. Эта относительно новая методика позволяет оценить химические сдвиги протонов и ядер ^{13}C с точностью 0.12 и 2.07 м.д., соответственно. Результаты наших расчетов в рамках этого подхода также дали близкие к эксперименту оценки химических сдвигов для протонов H-2 и H-3: 7.18 и 6.70 м.д., соответственно. Этого вполне достаточно для того, чтобы сделать надежное отнесение сигнала H-3, но недостаточно для отнесения в парах сигналов {H-5, H-6} и {H-4, H-7}.

Более детальное отнесение сигналов протонов индола становится возможным благодаря использованию гетероядерной корреляционной спектроскопии ЯМР. В углеродном спектре [¹⁵N]индола (см. Рисунок 20) критичным становится отнесение сильнополюсного сигнала углерода при 102.32 м.д.

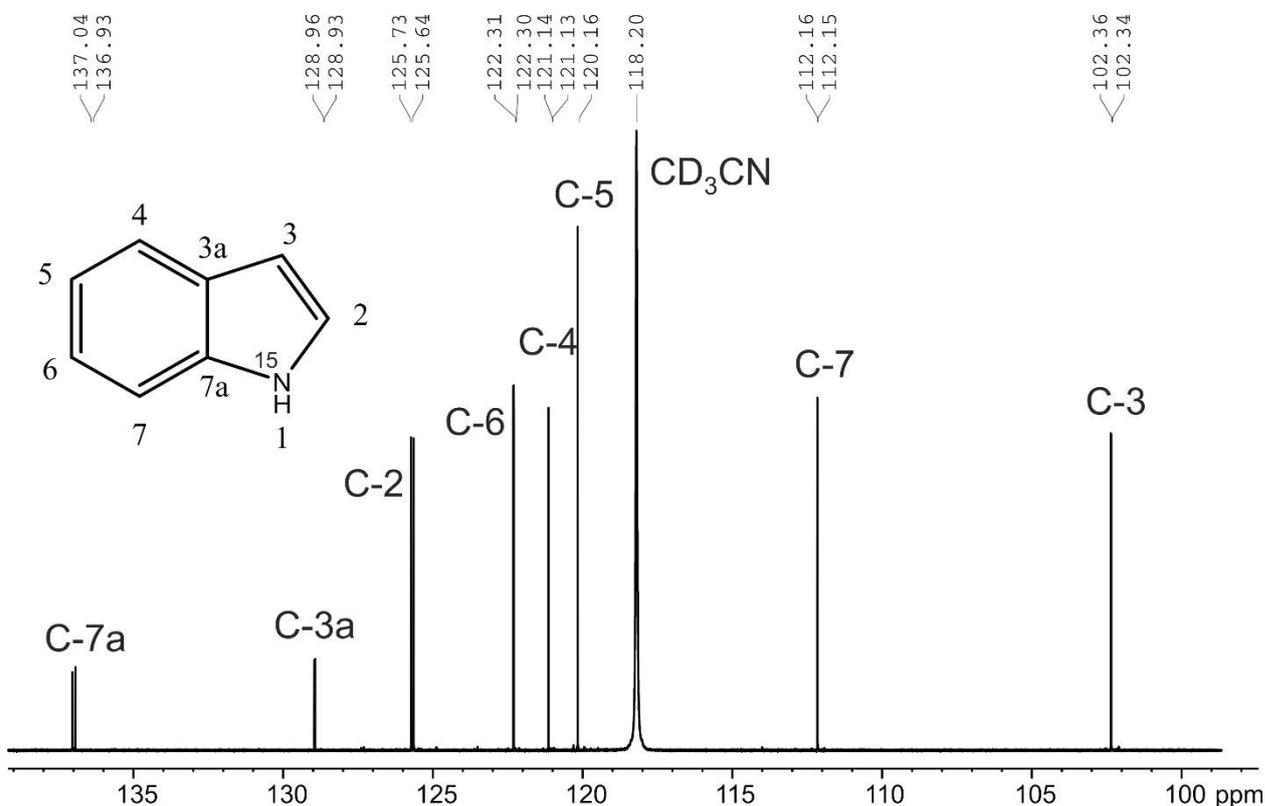


Рисунок 20. Обзорный спектр ЯМР ¹³C [¹⁵N]индола (0.25 М раствор в CD₃CN, “Bruker AV-600”, 303 К).

Естественно предположить, что перераспределение электронной плотности в π-электронной системе индола существенным образом повысит электронную плотность на атоме углерода C-3, что приведет к смещению сигнала C-3 в сильное поле. Действительно, этот механизм подтверждается проведенными нами расчетами электронной структуры индола методом NBO [219]. При этом наблюдается образование NBO за счет “перетекания” электронной плотности от неподеленной пары электронов азота на разрыхляющую орбиталь двойной связи C2-C3 с энергией стабилизации 36.1 ккал/моль. При этом на атоме C-3 возникает максимальный в молекуле отрицательный заряд 0.286 ē.

Количественный DFT расчет химических сдвигов ¹³C по приведенной выше схеме [159, 218] (приближение B3LYP с базисными функциями 6-311++G(3df,2pd)) дал значение химического сдвига C-3 101.76 м.д., что однозначно решает задачу отнесения сильнополюсного сигнала в спектре ЯМР ¹³C и делает его опорной точкой для отнесения оставшихся сигналов в рамках настоящей работы. Двумерный корреляционный спектр ¹³C-¹H HSQC (Рисунок 21) однозначно подтверждает правильность отнесения сигналов

углерода C-3 и протона H-3, что позволяет далее методом исключения подтвердить корректность отнесения H-2.

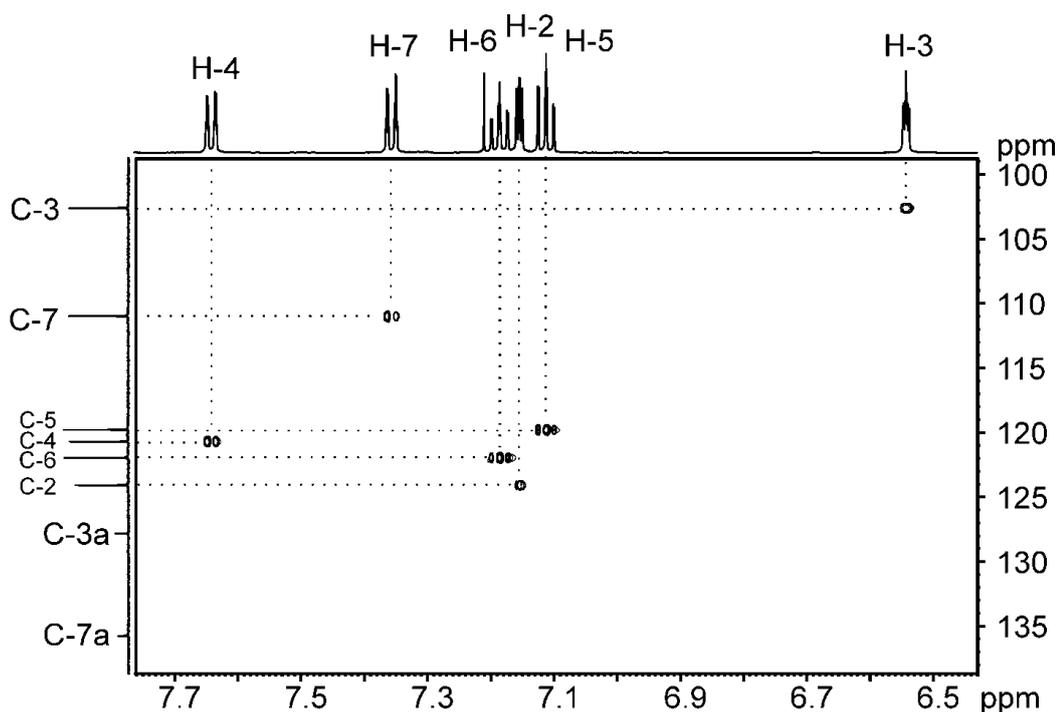


Рисунок 21. Спектр ЯМР HSQC [^{15}N]индола
(0.25 M раствор в CD_3CN , "Bruker AV-600", 303 K).

Соотнесение сигналов атомов углерода с сигналами протонов шестичленного фрагмента становится окончательно понятным при рассмотрении спектра НМВС, представленного на Рисунок 22.

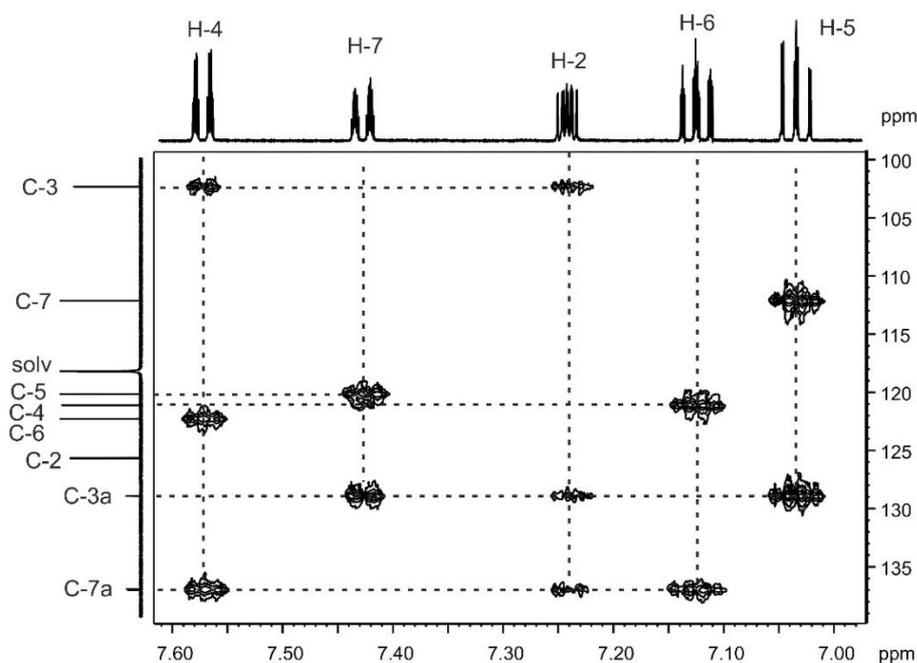


Рисунок 22. Спектр ЯМР НМВС [^{15}N]индола
(0.25 M раствор в CD_3CN , "Bruker AV-600", 303 K).

Опорными параметрами для отнесения могут служить характерные для ароматики

вицинальные константы ССВ ^{13}C -H [220]. Так, для протона Н-4 проявляются кросс-пики с сигналами С-3, С-7а и С-6, в то время как для протона Н-7 наблюдается связанность с атомами углерода С-3а и С-5. Аналогичные соображения актуальны и для протонов Н-5 и Н-6, имеющих схожее триплетное расщепление в протонном спектре. Так для протона Н-5 в спектре НМВС наблюдаются кросс-пики с С-3а и С-7, в то время как для протона Н-6, соответственно, с С-4 и С-7а. Таким образом, использование совокупности спектральной информации позволяет надежно произвести отнесение сигналов протонов и углеродов в молекуле ^{15}N индола. Параметры спектра ЯМР ^{13}C [^{15}N]индола приведены в таблице 8.

Таблица 8. Химические сдвиги ядер ^{13}C (δC , м.д.), изотопные сдвиги атомов углерода, вызванные заменой ядра ^{14}N на ^{15}N ($\Delta\delta\text{C}$, млрд.д.; в скобках приведены их стандартные отклонения, $\Sigma\Delta$, млрд.д.) и КССВ ^{13}C - ^{15}N ($^n\text{J}_{\text{CN}}$, Гц) в индоле (0.2 М раствор в CD_3CN , 303К).

Атом углерода	δC	$\Delta\delta\text{C}$	$^n\text{J}_{\text{CN}}$
С-2	125.68	-19.8 (0.4)	-13.08
С-3	102.35	-5.7 (0.1)	-2.55
С-3а	128.94	-3.3 (0.2)	-4.80
С-4	121.14	-1.5 (0.1)	-1.18
С-5	120.16	-1.5 (0.1)	(+)0.15
С-6	122.30	-1.2 (0.1)	-2.02
С-7	112.16	-3.0 (0.1)	-1.63
С-7а	136.98	-19.7 (0.5)	-15.36

Полученные нами данные, для большинства углеродных сигналов соответствуют данным, из работы, [207] но отличаются отнесением С-5 и С-6 от данных, приведенных в работах [214, 215]. Можно было допустить, что это отличие вызвано влиянием растворителя. Мы провели дополнительные эксперименты ЯМР для 0.2 М раствора в CDCl_3 , использованного в работах [214, 215].

При этом выявились незначительные эффекты среды при переходе от CD_3CN к CDCl_3 , которые, однако не меняют порядка С-5 и С-6 в спектрах ЯМР ^{13}C .

Влияние растворителей на величины химических сдвигов атомов углерода и водорода в молекуле ^{15}N индола детально анализировалось и результаты представлены в таблице 9 и 10. Как видно из таблиц, влияние растворителей оказывает существенное влияние на величины химических сдвигом и может повлиять на отнесение сигналов как протонов, так и атомов углерода.

Таблица 9. Значения химических сдвигов δ (м.д.) протонов в молекуле $[^{15}\text{N}]$ индола в различных растворителях.

	H-4	H-7	H-6	H-2	H-5	H-3	NH
CDCl₃	7.6441	7.3639	7.1888	7.1633	7.1149	6.5474	8.0364
DMSO-D₆	7.5322	7.3906	7.0694	7.3181	6.9772	6.1330	11.0397
C₆D₆	7.6770	7.0458	7.2017	6.5577	7.1612	6.4671	6.6870
MeOD-D₄	7.5287	7.3616	7.0723	7.1912	6.9811	6.4189	10.3290
CD₃CN	7.5728	7.4272	7.1245	7.2429	7.0341	6.4611	9.3350

Таблица 10. Значения химических сдвигов δ (м.д.) атомов углерода в молекуле $[^{15}\text{N}]$ индола в различных растворителях.

	C-7a	C-3a	C-2	C-6	C-4	C-5	C-7	C-3
CDCl₃	135.794	127.868	124.096	121.990	120.734	119.821	111.003	102.638
DMSO-D₆	135.755	127.513	124.043	120.742	119.871	118.629	111.254	100.849
C₆D₆	136.224	128.512	124.026	122.130	121.110	120.116	111.260	102.683
MeOD-D₄	137.687	129.465	125.442	122.176	121.168	119.978	112.117	102.269
CD₃CN	137.097	129.031	125.824	122.391	121.231	120.252	112.268	102.434

В спектре ЯМР ^{13}C $[^{15}\text{N}]$ индола (Рисунок 20) для всех сигналов наблюдается тонкая мультиплетная структура, обусловленная взаимодействием с азотом ^{15}N . При этом наряду с дублетным расщеплением на ядрах ^{15}N в спектре ЯМР ^{13}C наблюдаются сигналы небогатенного индола. Как правило, они имеют вид уширенных синглетов (Рисунок 23).

Степень уширения определяется двумя факторами: быстрой релаксацией квадрупольного ядра ^{14}N и наличием значимой константы ССВ между ядрами ^{14}N и ^{13}C . Количественная теория этого эффекта разработана в серии работ [23, 199, 202]. Наличие в спектрах сигналов обеих изотопных форм азота позволяет определять степень обогащения непосредственно интегрированием соответствующих сигналов.

Этот метод дает достаточно точные и воспроизводящиеся результаты в тех случаях, когда удается зарегистрировать хорошо разрешенные сигналы ^{13}C обоих изотопмеров. При этом подразумевается, что сравнению подлежат интенсивности сигналов одного типа, т.е. отдельно сигналы метильных, метиленовых, метиновых или четвертичных атомов углерода.

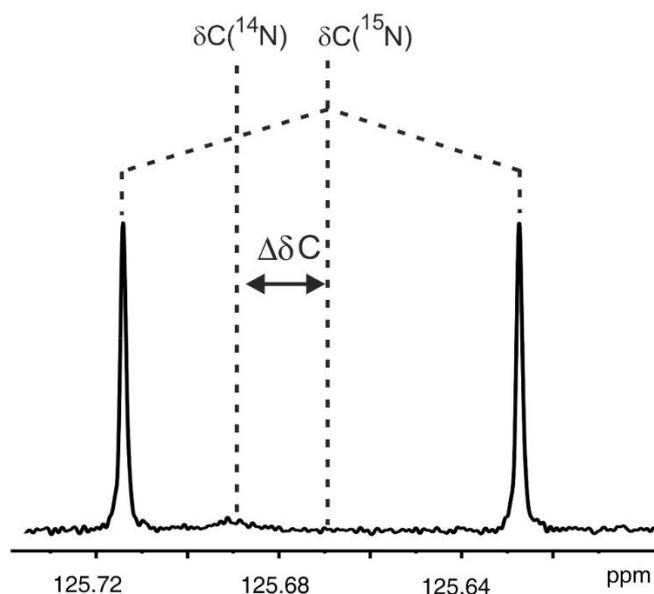


Рисунок 23. Фрагмент спектра ЯМР ^{13}C [^{15}N]индола (0.25 М раствор в CD_3CN , “Bruker AV-600”, 303 К). Показана область атома углерода C-2.

Это позволяет минимизировать нежелательные ошибки, обусловленные различием факторов NOE при спиновой развязке от протонов.

Замена ядра ^{14}N на ^{15}N приводит к смещению сигналов атомов углерода обогащенного соединения. Изотопный химический сдвиг $\Delta\delta\text{C}$ определяется по формуле:

$$\Delta\delta\text{C} = \delta\text{C}(^{15}\text{N}) - \delta\text{C}(^{14}\text{N}), \quad (7)$$

где $\delta\text{C}(^{15}\text{N})$ – химический сдвиг атома углерода в ^{15}N -обогащенном соединении, $\delta\text{C}(^{14}\text{N})$ – химический сдвиг атома углерода, содержащего изотоп ^{14}N [201].

Диапазон изменения изотопных сдвигов атомов углерода, вызванные заменой ядра ^{14}N на ^{15}N составляет примерно 20 млрд.д., (Таблица 8). Изотопные химические сдвиги могут быть измерены достаточно точно. Для большинства атомов углерода точность измерения параметров $\Delta\delta\text{C}$ составляет 0.1 млрд.д. (Таблица 8). Однако, для тех атомов углерода, сигналы которых уширены от близко расположенного квадрупольного ядра ^{14}N , точность несколько ниже. Это, в первую очередь, касается имеющих наибольшие по модулю КССВ с азотом C_2 , C_{3a} и C_{7a} (Таблица 8). Сигналы этих атомов углерода приобретают из-за этого дополнительную ширину линии 0.6, 0.2 и 0.5 Гц, соответственно (Рисунок 23), что непосредственно отражается на их точности. Однако сами значения $\Delta\delta\text{C}$ в этих случаях оказываются значительно бóльшими по величине.

Количественно мера информативности \mathbf{H} для совокупности \mathbf{N} изотопных сдвигов может быть оценена по формуле Шеннона: [216, 221].

$$\mathbf{H} = \sum_{i=1}^{\mathbf{N}} \log_2(\text{abs}(\Delta\delta\text{C}_i)/\text{SD}_i), \quad (8)$$

где абсолютные значения изотопных химических сдвигов $\text{abs}(\Delta\delta\text{C})$ выступают в качестве меры вариабельности свойства, а их стандартные отклонения (SD) как мера точности (Таблица 8). Соотношение 8 показывает, что чем больше величина изотопного сдвига превышает экспериментальную точность (в логарифмической шкале), тем более информативным будет данный параметр.

Оценка суммарной информативности N всех восьми изотопных сдвигов в индоле с использованием соотношения 8 составляет 35 бит. Это позволяет рассматривать их сопоставимыми с традиционно используемыми параметрами спектров ЯМР: химическими сдвигами и константами спин-спинового взаимодействия. Так, измерение всей совокупности традиционных параметров спектров ЯМР - химических сдвигов протонов и ядер ^{13}C вместе с КССВ $^1\text{H}-^1\text{H}$ и $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ в монозамещенных бензолах имеет информационную емкость порядка 120 бит [216]. Это, несомненно больше, чем 35 бит. Но и измерение всего этого блока данных является весьма трудоемкой задачей. В то же время анализ мультиплетов в спектрах ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, наблюдающихся для ^{15}N -обогащенных органических соединений, является относительно простой аналитической задачей, и этот подход, по нашему мнению, может оказаться весьма затребуемым в структурном анализе.

Возникает вопрос, какую структурную информацию могут передавать эти параметры? Естественно ожидать, что наибольшие значения изотопных сдвигов наблюдаются для тех атомов углерода, которые ближе остальных расположены к изотопной метке. Данная тенденция наблюдалась ранее для изотопных сдвигов атомов углерода, вызванных заменой ядра ^{12}C на ^{13}C в циклопентане, бензоле [222, 223] и тетрагидрофуране-2- ^{13}C [224]. В соответствии с этим предположением, для индола - это непосредственно связанные с азотом углеродные атомы С-2 и С-7а, а также удаленные от азота на две связи углеродные атомы С-3, С-3а и С-7. Действительно, для С-2 и С-7а в индоле наблюдается максимальный изотопный сдвиг (Таблица 8). Примерно в три раза меньший по величине изотопный сдвиг наблюдается С-3. Для С-3а и С-7 изотопный эффект уменьшается еще примерно в два раза по абсолютной величине. Очевидно, что в этом случае необходимо учитывать другие структурные факторы, в частности то, что атом С-3а занимает узловую позицию молекулы индола и в результате должен иметь пониженную амплитуду колебательных движений. Атом углерода С-7 находится в стороне от направляющего вектора валентного колебания связи N-H, что может вызвать понижение наблюдаемого изотопного эффекта по абсолютной величине. Для наиболее удаленных от изотопной метки атомов углерода С-4, С-5 и С-6 происходит дальнейшее ослабление изотопного эффекта. Следует отметить, что все приведенные в таблице 1 значения изотопных сдвигов отрицательны. Это означает, что замена изотопа ^{14}N на более тяжелый

изотоп ^{15}N приводит к увеличению экранирования всех атомов углерода в индоле. Эффект повышения экранирования, вызванный более тяжелым изотопом в спектроскопии ЯМР наблюдался ранее экспериментально во многих молекулярных системах. [201, 225] Высказывалось мнение, что формально, проявление этого эффекта можно ассоциировать с пониженной электроотрицательностью более тяжелого изотопа [201].

Описание изотопных химических сдвигов в терминах теории строения молекул в настоящее время имеет лишь качественный характер. Согласно текущей модели явления, изотопные сдвиги определяются тонкими эффектами формы колебательных волновых функций и фактором заполнения соответствующих колебательных уровней с учетом суммарной массы различающихся изотопным составом фрагментов [225]. Соответствующие цифровые оценки до настоящего времени проведены только для ограниченного числа модельных систем [226]. По нашему мнению, физическая природа изотопных эффектов требует более глубокого теоретического обоснования. Полученные в настоящей работе новые экспериментальные данные могут стать базой для разработки новых количественных методов описания изотопных сдвигов, например, на основе квантовой молекулярной динамики параметров спектров ЯМР [227, 228].

Следует отметить, что семь из восьми приведенных в таблице 8 КССВ ${}^nJ_{\text{CN}}$ имеют отрицательный знак, что установлено нами с помощью модельных квантово-химических расчетов в приближении DFT (базис 6-311++G(2df,2p)) по методике, описанной в работах [229, 230]. Лишь малая по модулю КССВ через четыре связи между С-5 и ^{15}N , скорее всего, положительна.

Значительный интерес представляет разработка методов прямого наблюдения ЯМР ^{15}N . В классической монографии [128] отмечается, что спектры ЯМР на ядрах ^{15}N с природным содержанием изотопов азота характеризуются исключительно слабыми сигналами. Интенсивность сигналов в спектрах ЯМР ^{15}N примерно в 1000000 раз ниже, чем для сигналов на ядрах ^1H . При этом следует учесть три главных фактора: низкое природное содержание изотопа ^{15}N (0.37%), малое по абсолютной величине (примерно в десять раз меньше, чем для протонов) значение гиромагнитной постоянной и медленная продольная релаксация сигналов на ядрах ^{15}N (см., например, обсуждение в работе [231]). Отрицательное значение гиромагнитной постоянной и близкое к единице значение ядерного эффекта Оверхаузера в экспериментах $^{15}\text{N}\{^1\text{H}\}$ приводят к тому, что результирующий сигнал имеет, как правило, весьма малую интенсивность. Дополнительно возникают проблемы из-за длительных времен продольной релаксации ядер ^{15}N , особенно в тех случаях, когда азот не связан непосредственно с протоном.

Получив ^{15}N -обогащенные соединения, мы можем “отыграть” более трехсот раз по

чувствительности сигнала ЯМР ^{15}N . Это наглядно показывает эксперимент с прямым наблюдением ЯМР на ядрах ^{15}N для соединения **2**. Соответствующий протонно-связанный спектр ЯМР монорезонанса ^{15}N , зарегистрированный в течение 10 часов на спектрометре ЯМР “Bruker AM-360”, приведен на Рисунок 24. Химический сдвиг ^{15}N в индоле имеет значение -254.05 м.д., что находится в удовлетворительном соответствии с расчетными данными [232]. Этот спектр имеет узкие линии ($\Delta\nu_{1/2} \approx 0.03$ Гц) и позволяет наблюдать отдельно спин-спиновое взаимодействие со всеми восемью протонами молекулы. Следует отметить, что привлечение этого спектра может дать ключевую информацию для расшифровки сложной мультиплетной структуры спектра ЯМР ^1H [^{15}N]индола.

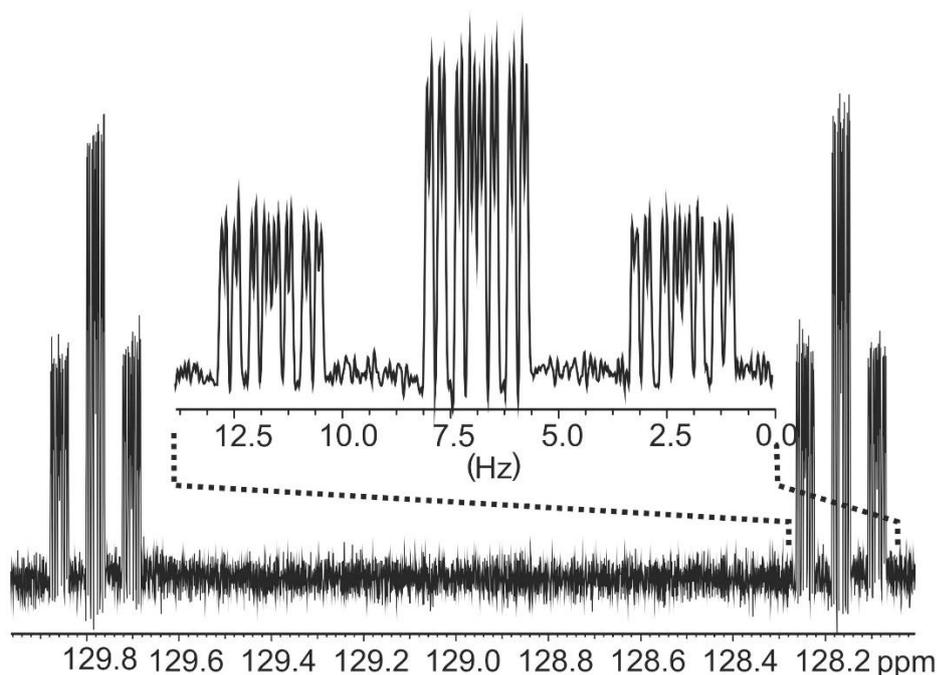


Рисунок 24. Протонно-связанный спектр ЯМР ^{15}N [^{15}N]индола. На вставке изображена правая часть мультиплета и указана относительная ширина в Гц.

На завершающем этапе проведена регистрация двумерных спектров ЯМР ^{15}N -HSQC- $\{^{15}\text{N}\}$ (Рисунок 25). Необходимо отметить, что этот эксперимент относится к типу инверсных экспериментов. Непосредственно регистрируется сигнал на ядрах ^1H , а для получения спин-развязанного спектра используется облучение на резонансной частоте ядер ^{15}N . Это позволяет решить проблему потери чувствительности сигнала при использовании классической схемы проведения эксперимента в режиме “прямого” наблюдения ядер ^{15}N со спиновой развязкой от протонов. При настройке на величину прямой константы ССВ ^{15}N - H порядка 100 Гц в двумерном эксперименте ^{15}N -HSQC- $\{^{15}\text{N}\}$ наблюдается лишь один кросс-пик, обусловленный константой спин-спинового взаимодействия ^{15}N - H через одну связь (Рисунок 25).

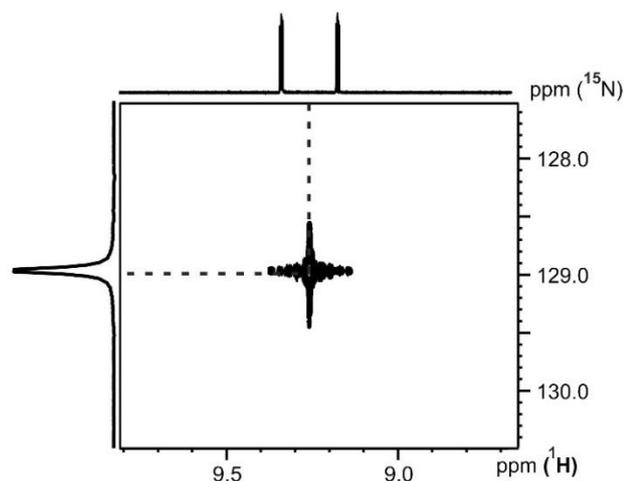


Рисунок 25. Спектр ЯМР ^{15}N -HSQC [^{15}N]индола (0.25 М раствор в CD_3CN , “Bruker AV-600”, 303 К).

По вертикальной оси (Рисунок 25) приведена проекция двумерного спектра на ось химического сдвига азота. Наблюдаемый при этом сигнал имеет высокое отношение сигнал/шум. По нашим оценкам, предельная концентрация, при которой можно надежно зарегистрировать сигнал этого типа для [^{15}N]индола составляет величину порядка $1.0 \cdot 10^{-6}$ М. Следует отметить, что двумерный спектр этого типа одновременно характеризует как химический сдвиг ^{15}N меченого соединения, так и сдвиг связанного с ним протона. Это важно как для идентификации вещества, так и для получения информации о сохранении и/или модификации ^{15}N -изотопной метки в ходе последовательных химических и биохимических трансформаций. Этот результат свидетельствует о больших возможностях использования предложенного в настоящей работе подхода для характеристики продуктов метаболизма с использованием ^{15}N -меченых соединений при изучении новых лекарственных препаратов и т.д. [233, 234, 235].

3.2.3. Расшифровка мультиплетной структуры спектра ЯМР ^1H индола

Проведенное ранее детальное исследование совокупности обзорных спектров ЯМР ^1H , ^{13}C и ^{15}N , включая квантовохимические расчеты опорных атомов и двумерные эксперименты COSY, HSQC и HMBC позволило сделать надежное отнесение мультиплетов протонного спектра и сигналов в спектре ^{13}C . В спектре ЯМР ^1H [^{15}N]индола практически нет примесных сигналов, а мультиплеты имеют вид, близкий к первому порядку (Рисунок 16). В изучаемых нами спектрах за счет точной настройки однородности магнитного поля и высокоэффективной методики цифровой обработки достигнуто высокое разрешение и просматривается мультиплетная структура двадцати шести констант ССВ [^{15}N]индола (только две дальние константы с участием NH-протона не проявляются в виде расщеплений в спектрах).

На предварительном этапе расшифровки в спектре ЯМР ^1H [^{15}N]индола мы провели трассировку всех мультиплетов, а выявленные эквидистантные расстояния соотнесли со схемой главных связанностей протонов и с ядром ^{15}N .

В качестве начального приближения для дальних КССВ ^1H - ^1H , включая межкольцевые константы, использованы данные проведенных ранее расчетов спектров ЯМР ^1H бензофурана [236] и бензотиофена [237]. При этом мы использовали модули оценок трассировки со знаками всех межкольцевых КССВ ^1H - ^1H из работ [236, 237].

Цифровая оценка значения КССВ $^1J_{\text{NH}}$ не представляла труда из-за ее большой величины (98.15 Гц по модулю). Мы приписали этой константе отрицательный знак на основании следующих качественных соображений. Величина обеих КССВ через одну связь ^{13}C - ^1H и ^{15}N - ^1H должна определяться Ферми-контактным членом, а приведенные константы для находящихся в состоянии sp^2 -гибридизации азота и углерода должны быть близкими по модулю из-за того, что гиромагнитные отношения для ^{13}C по абсолютной величине примерно в полтора раза больше, чем для ^{15}N , но они противоположны по знаку [238]. Поэтому можно ожидать, что соответствующие КССВ $^1J(^{13}\text{C}-\text{H})$ и $^1J(^{15}\text{N}-\text{H})$ в родственных структурных фрагментах должны быть одного порядка по величине, но разного знака. КССВ $^1J(^{13}\text{C}-\text{H})$ в ароматике лежат в диапазоне от 155 до 170 Гц. Отсюда следует, что $^1J(^{15}\text{N}-\text{H})$ должна принимать значение от -100 до -130 Гц. Более точные оценки см. обсуждение ниже.

Аналогично, для дальних КССВ ^{15}N - ^1H в качестве пробных значений использовали соответствующие эквидистантные расстояния с отрицательным знаком.

Итерационный анализ спектра проводили в рамках восьмиспиновой системы ABCDEFGX, где A, B, C, D, E, F, и G – семь неэквивалентных протонов пятичленного и шестичленного колец [^{15}N]индола, а - X – ядро ^{15}N . с использованием программного комплекса LCN6DP [239]. В расчете использовались 896 чистот экспериментальных линий, СКО составляет 0.0053 Гц (Таблица 11).

Расчеты проведены методом DFT в приближении B3LYP с базисными функциями augccpvtz.

Окончательные значения КССВ приведены в таблице 11. В этой таблице приведены также величины стандартных отклонений параметров. Для всех найденных КССВ значения стандартных отклонений не превышают 1 мГц.

Мы провели также квантовохимические расчеты молекулярной структуры индола (MP2, aug-CC-pVTz) и затем, с использованием этих геометрических параметров, - расчеты констант спин-спинового взаимодействия всех протонов индола между собой и с ядром ^{15}N (B3LYP, aug-CC-pVTz). Все эти расчеты проводились в вакуумном приближении.

Таблица 11. Сопоставление экспериментальных^a и расчётных КССВ ${}^nJ_{H1-Hj}$ и ${}^nJ_{H1-N}$ (Гц) для [${}^{15}N$]индола. (0.25 М раствор в CD_3CN , “Bruker AM-360”, 303 К, (в скобках приведены последние значащие цифры стандартных отклонений параметров; все параметры в Гц).

Тип КССВ	Эксперимент	Расчет
${}^3J_{H1-H2}$	2.4705 (7)	2.98
${}^4J_{H1-H3}$	2.0320 (7)	2.08
${}^5J_{H1-H4}$	0.8175 (7)	0.71
${}^6J_{H1-H5}$	-0.0002 (7)	-0.14
${}^5J_{H1-H6}$	-0.0001 (7)	-0.13
${}^4J_{H1-H7}$	0.1309 (7)	0.40
${}^1J_{H1-N}$	98.2120 (10)	-101.17
${}^3J_{H2-H3}$	3.1882 (7)	3.63
${}^5J_{H2-H4}$	0.1594 (7)	0.06
${}^6J_{H2-H5}$	0.1034 (7)	-0.13
${}^5J_{H2-H6}$	0.3912 (7)	0.34
${}^4J_{H2-H7}$	0.0567 (7)	-0.29
${}^2J_{H2-N}$	4.7513 (10)	-5.30
${}^4J_{H3-H4}$	-0.1446 (7)	-0.06
${}^5J_{H3-H5}$	0.0200 (7)	-0.04
${}^6J_{H3-H6}$	-0.0943 (7)	-0.33
${}^5J_{H3-H7}$	0.9600 (7)	0.87
${}^3J_{H3-N}$	4.7361 (10)	-5.23
${}^3J_{H4-H5}$	7.9648 (7)	9.05
${}^4J_{H4-H6}$	1.1688 (7)	0.72
${}^5J_{H4-H7}$	0.8154 (7)	0.66
${}^4J_{H4-N}$	0.2959 (10)	-0.38
${}^3J_{H5-H6}$	7.0456 (7)	8.14
${}^4J_{H5-H7}$	1.0052 (7)	0.59
${}^5J_{H5-N}$	0.0986 (10)	-0.14
${}^3J_{H6-H7}$	8.2184 (7)	9.23
${}^4J_{H6-N}$	0.6972 (10)	-0.70
${}^3J_{H7-N}$	1.2146 (10)	-1.66

Примечания: ^a результаты анализа 940 линий экспериментального спектра ЯМР 1H . ^b

Следует отметить практически количественное соотношение экспериментальных и расчетных значений (Рисунок 26). Эта зависимость характеризуется линейным соотношением 9:

$${}^nJ_{\text{exptl}} = a {}^nJ_{\text{calcd}} + b \quad (9)$$

со следующими параметрами: $R = 0.998$; $СКО = 0.05$ Гц, $a = 1.13(1)$ и $b = -0.10(4)$.

Высокая точность полученных в настоящей работе соотношений экспериментальных и расчетных КССВ убеждает в справедливости сделанных нами предположений о знаках дальних КССВ протонов с ядром ${}^{15}N$ и дальних межкольцевых протон-протонных КССВ.

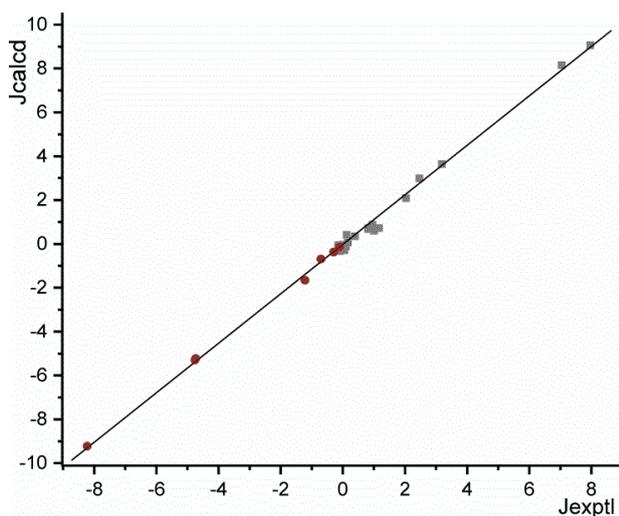


Рисунок 26. Фрагмент спектра ЯМР ^{13}C [^{15}N]индола (0.25 М раствор в CD_3CN , “Bruker AM-360”, 303 К). J_{exptl} и J_{calcd} – экспериментальные и расчетные КССВ $^nJ_{\text{NH}}$ и $^nJ_{\text{NH}}$, где верхний левый индекс n – число связей, разделяющих вовлеченные в спин-спиновое взаимодействие ядра. Для $^nJ_{\text{NH}}$ (■) n принимает значения от 3 до 6 и для $^nJ_{\text{NH}}$ (●) n принимает значения от 2 до 5, см. табл. 9.

Этот результат свидетельствует о больших возможностях использования, предложенного в настоящей работе подходов для характеристики продуктов новых азотсодержащих соединений при изучении новых лекарственных препаратов и т.д. [240, 234, 235].

3.3. Динамическая структура бензамида по данным спектроскопии ЯМР и квантово-химических расчётов⁶

Для растворов амидов в большинстве случаев характерно эффективное взаимодействие с растворителем [241, 242, 243]. Отмечались случаи, когда положение сигналов ЯМР амидных протонов зависит и от концентрации амида, что свидетельствует о проявлении эффектов само-ассоциации при высоких концентрациях [244, 245, 246]. В этих случаях одновременно протекают оба указанные выше внутримолекулярных процесса плюс образование димеров и т.д. Причем, как правило, само-ассоциация протекает со значительно более высокими скоростями, чем заторможенное внутреннее вращение. Количественное описание такого комплексного динамического явления требует разработки специального подхода.

⁶ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные автором лично или в соавторстве, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования: Станишевский В.В., Шестакова А.К., Чертков В.А. Динамическая структура молекул в растворе по данным спектроскопии ЯМР и квантово-химических расчетов: IV. Бензамид // Журнал органической химии. 2023. – Т. 59. №8. – С. 1012-1024. Stanishevskii V.V., Schestakova A.K., Chertkov V.A. Dynamic structure of organic compounds in solution by dynamic NMR measurements and quantum molecular dynamics calculations: IV. Benzamide // Russian Journal of Organic Chemistry. 2023. – Т. 59. № 8. – С. 1298-1308. Объем 1.10 п.л. Личный вклад автора 30%.

Для изучения структуры и динамики азотсодержащих соединений важную информацию дают параметры ЯМР с непосредственным участием азота, однако получить ее можно лишь с использованием ^{15}N -обогащенных соединений. В синтезе этих соединений в качестве первичного источника изотопной метки могут использоваться ^{15}N -аммониевые соли и обогащенные бензамиды. В настоящей работе исследована динамическая структура бензамида, которая определяется двумя независимыми факторами: заторможенным внутренним вращением как NH_2 -группы вокруг связи $\text{C}(\text{O})\text{-N}$, так и карбамидной группы в целом относительно бензольного кольца. Знание параметров этих процессов важно для содержательной интерпретации и предсказания биологической активности ароматических амидов в живых системах, прочности, конформации супрамолекулярных комплексов амидов с ионами лантанидов и актинидов. Для того, чтобы избежать перекрытия в спектрах ЯМР ^1H протонов карбамидной группы и ароматического кольца синтезирован дважды обогащенный [$^2\text{H}_5$, ^{15}N]бензамид.

Замена квадрупольного азота на ядро ^{15}N сама по себе не решает всех проблем, возникающих при описании динамической структуры бензамида. Например, для ароматических амидов в растворах одновременно могут протекать два процесса: заторможенное внутреннее вращение аминогруппы вокруг связи $\text{C}_i\text{-N}$ и само-ассоциация с образованием димеров [197]. Серия проведенных нами предварительных экспериментов показала, что во всех изученных нами растворителях наблюдается динамика в шкале времени метода ЯМР. Сигналы ЯМР амидных протонов бензамида обнаруживают температурную зависимость, характерную для вырожденного двухпозиционного обмена в терминах динамической спектроскопии ЯМР [247]. При пониженной температуре наблюдаются узкие линии для сигналов обоих обменивающихся амидных протонов.

Проведенные нами тестовые эксперименты показали, что для раствора в ДМСО в широком диапазоне концентраций (5.7 – 57 ммоль/л) химические сдвиги амидных протонов практически не зависят от концентрации бензамида (градиент химических сдвигов каждого амидного протона не превышает $1.2 \cdot 10^{-2}$ млрд./град.). Это свидетельствует о том, что этот сильно сольватирующий растворитель подавляет процесс само-ассоциации бензамида. Этот вывод подтверждается данными эксперимента DOSY [248, 249], который показал, что в растворе ДМСО бензамид преимущественно мономерен и не образует прочных комплексов с растворителем.

Полученные нами результаты дают основание проводить обработку динамического процесса в бензамиде **1** в рамках модели внутримолекулярного заторможенного внутреннего вращения вокруг связи C-N амидного фрагмента. В настоящей работе мы изучили динамику этого процесса в растворе ДМСО- D_6 как экспериментально методами

динамической спектроскопии ЯМР [247], так и теоретически в рамках подхода квантовой молекулярной динамики [250].

Одна из основных задач настоящей работы состояла в количественной характеристике молекулярной динамики бензамида как на основании экспериментальных данных для раствора в диметилсульфоксиде, так и на основании результатов моделирования методами квантовой молекулярной динамики.

При вращении вокруг амидной связи пропадает энергетически выгодное перекрывание неподеленной электронной пары азота с карбонильным атомом углерода, что приводит к возникновению барьера вращения. На примере формамида исследовано влияние растворителя на барьер обмена протонов амидной группы. Оценки величины этого барьера имеют близкие значения для растворов формамида в серии полярных растворителей. Значения свободной энергии активации в воде, ДМСО и в чистой жидкости составляют 18.2(0.1), 17.8(0.1), и 18.0(0.1) ккал/моль, соответственно [251]. Следует, однако, отметить, что приведенные данные оценены по температуре коллапса сигналов, которая для процесса в каждом новом растворителе своя. Строго говоря, эти данные справедливы лишь для сравнения в очень ограниченном температурном диапазоне. Тем не менее, этим методом получена оценка параметров динамики вращения амидных групп в серии соединений [244, 252].

Для определения барьера вращения изучаемого бензамида, нами использовался метод динамической спектроскопии ЯМР [247]. Как отмечалось ранее, при вращении вокруг амидной связи происходит обмен неэквивалентных амидных протонов, в свою очередь, динамические спектры ЯМР чувствительны к скорости этого обмена и обеспечивают хорошо зарекомендовавший себя способ извлечения кинетических параметров с помощью экспериментов ЯМР с вариацией температуры [247, 253].

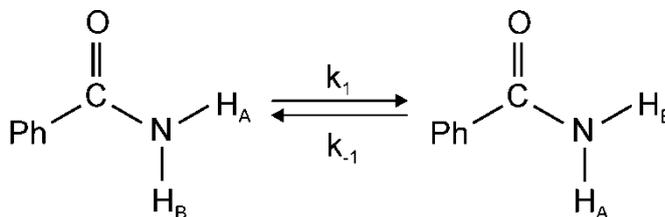


Рисунок 27. Параметры химического обмена амидных протонов в бензамиде.

Наличие ядра ^{15}N позволяет получить сигналы с хорошим разрешением ввиду отсутствия квадрупольного уширения от ядра ^{14}N . Так при температуре 293 К амидные протоны соединения **190** проявляются в виде хорошо разрешенных дублетов дублетов. Это позволяет надежно определить значения химического сдвига амидных протонов. С

увеличением температуры происходит уширение сигналов амидных протонов, а при температуре 372 К происходит их слияние (коллапс) в один широкий пик (Рисунок 28.)

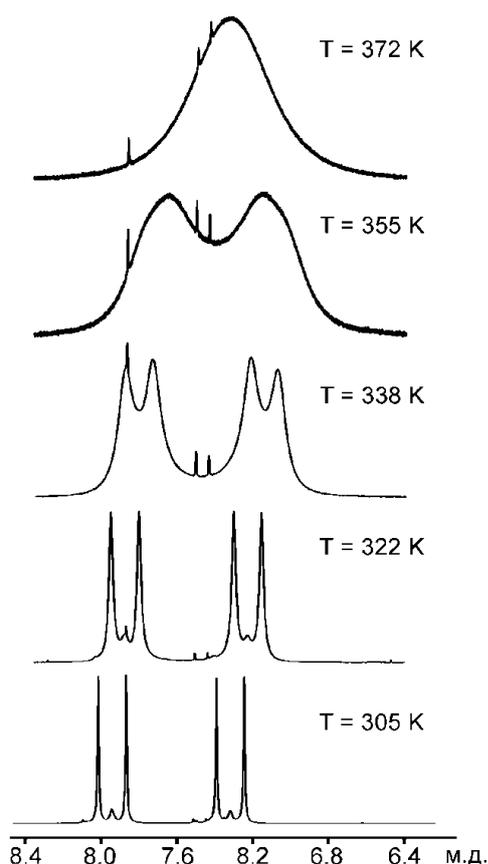


Рисунок 28. Характерные точки температурной зависимости сигналов амидных протонов в спектрах ЯМР ^1H соединения **190**.

Для каждого из амидных протонов H_{trans} и H_{cis} наблюдается линейная температурная зависимость химического сдвига, которая описывается соотношениями **10** и **11**, соответственно:

$$\delta(\text{H}_{\text{cis}}) = -0.0039T + 9.1436 \pm 0.01061 \quad (10)$$

$$\delta(\text{H}_{\text{trans}}) = -0.0055T + 8.9786 \pm 0.01127, \quad (11)$$

где $\delta(\text{H})$ – химические сдвиги в м.д. и T – абсолютная температура.

Как видно из приведенных уравнений, оба изученных химических сдвига протонов смещаются в сильное поле при увеличении температуры, причем химический сдвиг протона H_{trans} примерно в 1.4 раза более чувствителен к температурным изменениям, чем сдвиг H_{cis} . Анализ подобных зависимостей позволяет предсказать значения химического сдвига при абсолютном нуле температуры, поскольку эти значения могут быть использованы для сравнения с расчетными значениями.

Вращение группы NH_2 в бензамиде является примером симметричного двухпозиционного обмена [247, 246]. Энергия активации Гиббса при температуре коалесценции может быть рассчитана с помощью соотношения **12**:

$$\Delta G^\ddagger = RT_c(22.96 + \ln \frac{T_c}{\delta_\nu}), \quad (12)$$

где параметры T_c и δ_ν – температура коллапса и разница частот обменивающихся сигналов ЯМР. Для соединения **190** мы получили этим методом значение ΔG^\ddagger , равное 16.8(0.2) ккал/моль, что несколько выше, чем для формамида [251], см. выше.

Ранее такой метод широко применялся при описании заторможенного внутреннего вращения в серии родственных амидов [244, 252] и может служить полезной информацией на ранних стадиях исследования, поскольку во многих случаях достаточно получить качественную характеристику скорости реакции без использования ресурсоемких экспериментов динамического ЯМР. Количественную меру скорости динамического процесса обеспечивает анализ полной формы линии вовлеченных в обмен сигналов ЯМР в достаточно широком диапазоне варьируемой температуры [247].

Хорошо известно, что в используемом нами методе обработки динамических спектров ЯМР по полной форме линии неопределенность задания фактора ширины линии может вносить значительную систематическую ошибку для оценки скорости обмена в низкотемпературной области. Такая проблема может возникнуть из-за того, что определенное при медленных скоростях обмена значение T_2 может сильно меняться на большом диапазоне температуры, например, из-за неучтенных процессов сольватации или из-за того, что оценка времени релаксации T_2 может содержать случайные ошибки из-за ограниченности выборки. Необходимо отметить, что вблизи от точки коалесценции нельзя точно определить положение сигналов, поэтому при использовании этого подхода следует предварительно изучить зависимость химических сдвигов обоих обменивающихся форм на достаточно широком диапазоне температуры.

Цифровую обработку температурной зависимости формы линии амидных протонов соединения **190** проводили с помощью программного комплекса DNMRD5 отдельно для каждого значения температуры. На завершающем этапе температурную зависимость константы скорости реакции анализировали с использованием уравнения Эйринга теории переходного состояния. Стандартная энтропия активации ΔS^\ddagger равна 1.49 ккал/моль·К, что соответствует изменению энтропии при переходе из начального состояния системы в активированный комплекс. Значение энергии активации E_a составляет 16.6 ккал/моль. Энтальпия активации ΔH^\ddagger равна 15.93 ккал/моль. Полученные термодинамические величины могут быть использованы в качестве опорных значений при сравнении барьеров вращения в схожих системах, а также при расчете методами квантовой молекулярной динамики.

Теоретическое описание динамической структуры бензамида основано на предположении, что она определяется двумя основными структурными факторами: вращением группы NH_2 вокруг связи $\text{C}(\text{O})\text{-N}$ (угол ψ) и вращением амидной группы в целом относительно бензольного кольца (угол ϕ) (Рисунок 29). Здесь и в дальнейшем, нулевое значение для угла ϕ ($\text{C}^6\text{C}^1\text{C}^7\text{O}$) соответствует плоской ориентации карбонила с *цис* ориентацией H_8 и атома кислорода, а для угла ψ ($\text{C}^1\text{C}^7\text{NH}^{8\text{trans}}$) – плоской конфигурации карбамидной группы.

Это предположение основано на том, что в основном состоянии как атом азота, так и атом углерода карбонильной группы должны находиться в состоянии гибридизации sp^2 . Этому способствует сопряжение карбонильной группы как с π -системой бензольного кольца, так и с неподеленной парой азота. Проведенные нами квантовомеханический расчет основного состояния бензамида в приближении MP2 с базисными функциями aug-cc-pVTZ [155, 159], в целом, подтвердил это предположение. Однако, эта конфигурация молекулы оказалась не точкой минимума энергии, а седловой точкой.

На следующем этапе мы провели серию расчетов (в том же приближении MP2 с базисными функциями aug-cc-pVTZ) с полной оптимизацией энергии молекулы со сканированием двугранного угла ϕ с шагом 6° при фиксировании плоской геометрии аминогруппы. Сечение поверхности потенциальной энергии бензамида как функция двугранного угла ϕ приведено ниже (Рисунок 30). Минимальное значение энергии бензамида достигается для значения двугранного угла ϕ равного 24° .

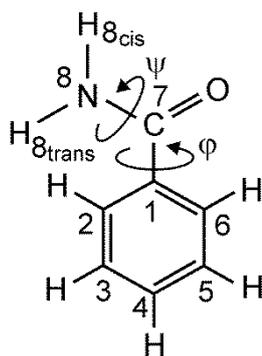


Рисунок 29. Направления главных осей заторможенного внутреннего вращения в бензамиде (углы ψ и ϕ).

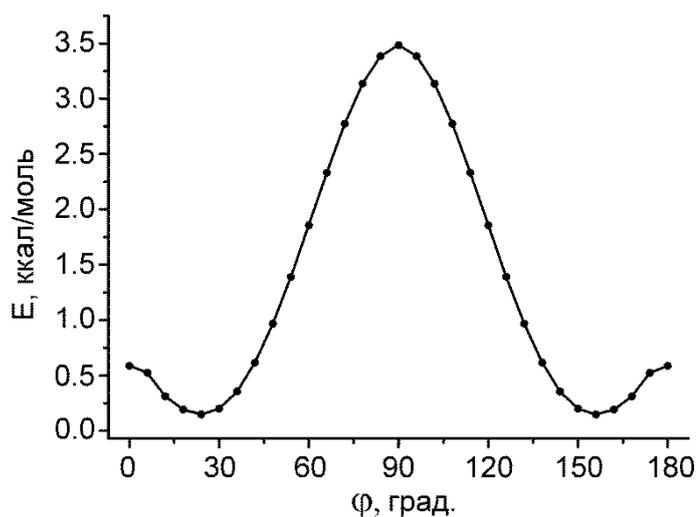


Рисунок 30. Сечение поверхности потенциальной энергии бензамида как функция двугранного угла ϕ при фиксировании плоской геометрии аминогруппы.

Анализ геометрии этой структуры показал, что отклонение от плоской формы вызваны стерическим отталкиванием *орто*-протонов бензольного кольца и атома водорода

N_{8trans} аминогруппы. Аналогичный эффект наблюдался ранее для стирола [227] и бензальдегида [254].

Как и следовало ожидать, это сечение потенциала достигает максимального значения 3.5 ккал/моль в конфигурации, для которой плоскость карбамидной группы ортогональна плоскости бензольного кольца (угол φ равен 90°). Действительно, в этой конфигурации совершенно отсутствует сопряжение электронных систем карбамидной группы и бензольного кольца.

Значительно более сложную картину представляет процесс заторможенного вращения аминогруппы вокруг связи C_7-N_8 . Для этого мы воспользовались аналогичной процедурой, как и в предыдущем случае, но сканировали угол ψ тоже с шагом 6° . При этом был зафиксировано значение двугранного угла φ так, чтобы оба сечения сопрягались в точке $\varphi = 24^\circ$. Результат оказался неожиданным. Уже на самых начальных стадиях процесса наблюдается нарушение плоскостности координационной сферы аминогруппы, которое монотонно усиливается по мере удаления от исходной точки и достигает максимальной степени, когда достигается конфигурация характерная для sp^3 -гибридизации азота. Неподделенная электронная пара занимает при этом направление в сторону одной из вершин тетраэдра. При этом наблюдаются два максимума потенциала, в которых неподделенная пара азота находится в плоскости сопряженного с бензольным кольцом карбонила, но направлена либо в сторону бензольного кольца (конфигурация *син*), либо в сторону атома кислорода (конфигурация *анти*). Очевидно, что сближение неподделенной пары электронов с несущим избыточный отрицательный заряд атомом кислорода в конфигурации *анти* вызывает дестабилизацию энергии по сравнению с конфигурацией *син*. Значения потенциальной энергии в этих точках сечения потенциала равны 18.3 и 14.2 ккал/моль, соответственно. Следует отметить, что графическое изображение сечений поверхности потенциальной энергии как функции двугранного угла ψ оказывается излишне сложным из-за того, что в ходе процесса изменяется конфигурация аминогруппы. Значительно лучше в данном случае в качестве аргумента использовать значение координаты реакционного пути, значения которой определяются совокупностью перемещений всех атомов динамической системы, [подробнее см. 230]. Сечение поверхности потенциальной энергии заторможенного внутреннего вращения группы NH_2 вокруг связи $C(O)-N$ бензамида как функция координаты реакционного пути представлено ниже (Рисунок 31).

Как следует из приведенных данных, этот процесс тоже является циклическим. Минимальное значение энергии соответствует плоской конфигурации карбамидного фрагмента, но плоскость карбамидного фрагмента повернута относительно плоскости бензольного кольца на угол $\varphi = 24^\circ$.

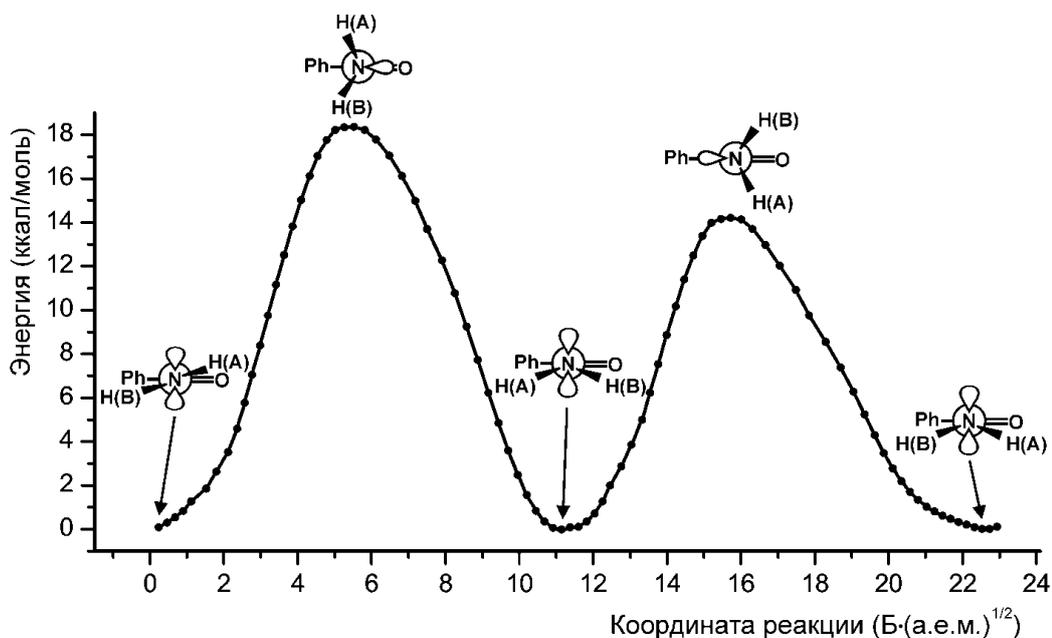


Рисунок 31. Сечение поверхности потенциальной энергии заторможенного внутреннего вращения группы NH_2 вокруг связи $\text{C}(\text{O})\text{-N}$ бензамида как функция координаты реакции с фиксацией двугранного угла φ (см. текст).

При прохождении молекулярной системы через каждый из двух барьеров происходит химический обмен протонов, помеченных символами А и В. Преодоление барьера, соответствующего конфигурации *син* для значения координаты реакционного пути равном $15.7 \text{ Б}(\text{а.е.м.})^{1/2}$ требует значительно меньшей энергии активации, чем для барьера, соответствующего конфигурации *анти*. Поэтому реакция обмена протонов амидной группы должна пойти именно по этому маршруту. Таким образом, рассчитанное значение энергии активации составляет 14.2 ккал/моль , что несколько ниже экспериментального значения. По нашему мнению, это различие может быть обусловлено эффектами среды.

3.4. Квантово-химический расчет параметров спектров ЯМР $^{15}\text{N}^7$

Спектроскопия ЯМР, поддерживаемая современными квантово-химическими методами расчетов, в настоящее время является незаменимым инструментом для изучения структуры и динамики органических соединений. Внедрение новых импульсных, многомерных методов ЯМР [128] и эффективных методов спектрального анализа сложных мультиплетов [129, 130] позволяет получить более точные значения химических сдвигов и

⁷ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные автором лично или в соавторстве, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования: Stanishevskiy V.V., Shestakova A.K., Chertkov V.A. Analysis of 2D Maps Based on Similarity in DFT-Calculated vs Experimental $^{13}\text{C}\text{-}^{15}\text{N}$ Spin Couplings for a Representative Sample of Conformationally Rigid and Structurally Fixed Nitrogen-Containing Organic Compounds // Applied Magnetic Resonance. 2022. – Т. 53. № 12. – С. 1693-1713. Объем 1.30 п.л. Личный вклад автора 45%.

дальних КССВ. Все это делает выяснение структуры новых соединений все более простым, точным и надежным. Целый ряд актуальных спектрально-структурных задач, таких как характеристика электронной и пространственной структуры молекул возникает на основе параметров спектров ЯМР, найденных в эксперименте. В качестве альтернативы можно поставить обратную спектрально-структурную задачу и предсказать, какие параметры спектров ЯМР можно ожидать для заданной модельной конфигурации предварительно заданных молекул [208, 217]. Однако этот подход имеет ряд недостатков по сравнению с современными методами расчета параметров спектров ЯМР, основанными на квантовой теории строения молекул [134, 159]. Однако само по себе нахождение даже самых точных и надежных значений параметров спектров ЯМР не решает всех проблем структурной химии для исследуемого соединения.

Азот - важнейший элемент, участвующий во многих взаимодействиях в живой химии, образовании водородных связей, участии в кислотно-основном равновесии в жизненно важных системах. Он играет ключевую роль в построении огромного количества органических и природных соединений. В настоящее время структурные исследования азотсодержащих соединений требуют новых подходов. В этом отношении очень перспективными представляются КССВ с ядрами ^{15}N . Величины констант в первую очередь зависят от структуры молекулы и относительно слабо зависят от эффектов среды и межмолекулярных взаимодействий [131, 255], поэтому они широко используются в конформационном анализе [132, 256].

3.4.1. Выбор объектов

Специфические магнитные свойства ядра ^{15}N со спином $\frac{1}{2}$ и довольно низкие скорости релаксации сигналов делают его высокоинформативным и перспективным для ЯМР исследований. Эта информация может напрямую отражать электронную структуру гетероатома и его расположение относительно соседних протонов и/или ядер ^{13}C . Однако на практике для измерения спин-спиновых взаимодействий с участием ядер ^{15}N требуются соответствующие изотопнообогащенные соединения. Это значительно ограничивает список возможных объектов исследования. При использовании меченых соединений КССВ ^{13}C - ^{15}N может быть относительно легко измерена по соответствующему расщеплению дублета из спектра ЯМР ^{13}C . Именно эта простота определяет значимость таких соединений для практических структурных исследований. Изотопное обогащение также позволяет определять КССВ ^{15}N - ^1H , однако дополнительные сложности, неизбежно возникающие при выяснении мультиплетной структуры спектров ЯМР ^1H связанных КССВ с азотом, могут

стать решающим фактором, ограничивающим широкое использование констант ^{15}N - ^{1}H в исследовательской практике.

Проведенный нами анализ литературных данных показал, что КССВ ^{15}N - ^{1}H встречаются в литературе гораздо реже, чем КССВ ^{13}C - ^{15}N , см. ниже. Задача, которую мы ставим состоит в оценке возможности современных методов квантово-химических расчетов для предсказания КССВ ^{13}C - ^{15}N в представительной серии азотсодержащих соединений. Требовалось выяснить насколько точным может быть этот метод для практической оценки распознавания молекулярной структуры, конформационного анализа, изучения таутомерных форм, заряженных молекул и т.д.

На точность расчетных данных существенно влияют систематические ошибки. Это могут быть неучтенные эффекты среды, неточности в оптимизации геометрии молекулы, скажем, влияние неучтенных конформационных равновесий, таутомерных превращений, фактические ошибки в методе расчета (ограниченный набор используемых базисных функций). Мы предполагаем, что по крайней мере значительная их часть может быть связана с определенными структурными мотивами. Для проверки этого можно проанализировать локальную серию соединений, которые имеют общий структурный мотив, а соединения, объединенные в нее, отличаются длиной и разветвленностью углеродных цепей и/или наличием различных заместителей. Можно ожидать, что по крайней мере часть систематических ошибок будет иметь общий характер для всей локальной выборки. В этом случае эффективная точность предсказания желаемого свойства может быть значительно улучшена. Можно отметить, что использование этого подхода позволило получить точность предсказания констант спин-спиновой связи $^nJ_{\text{HH}}$ в стироле в диапазоне 0.01-0.02 Гц [227].

В данной работе представлены расчеты восьми представительных серий азотсодержащих соединений, которые, как мы надеемся, позволяют более точно оценить влияние систематических ошибок. Данный подход может быть распространен и на другие структурные мотивы при появлении надежных и, главное, разнообразно представленных экспериментальных данных. Выводы о влиянии систематических ошибок можно делать только при наличии значительного числа экспериментальных точек. Поэтому серии с небольшой выборкой (2-3 объекта) в данной работе не рассматривались.

При сравнении эксперимента и расчета следует также учитывать тот факт, что экспериментальные данные могут содержать значительные случайные погрешности. Этот фактор может иметь особое значение для экспериментов ЯМР 30-40 летней давности.

Используемая здесь схема расчета включает два этапа. На первом этапе, используя методы многомерной оптимизации [134], находят точную геометрию молекулы. Во многих

случаях в качестве исходных данных для этой процедуры использовались результаты более ранних структурных исследований. Текущие исследования были ограничены конформационно жесткими и структурно фиксированными азотсодержащими соединениями. Данное ограничение позволяет сосредоточиться на методе расчета констант спин-спинового взаимодействия. Учет конформационной динамики в терминах QMD [227, 230] связан с использованием больших вычислительных ресурсов и заслуживает самостоятельного изучения, например, для алифатических аминов. Кроме того, имеющиеся в литературе экспериментальные данные [257, 258], требуют дополнительной проверки. Почти то же самое относится к азотсодержащим соединениям, участвующим в быстрых процессах химического обмена (протонирование, таутомерные равновесия), например, к производным пиразола. В этих случаях конечные значения КССВ ^{13}C - ^{15}N являются усредненными между обменными формами, и эти объекты также стоит изучать отдельно.

КССВ являются надежным источником информации о структуре органических веществ, поскольку они существенно зависят от способа передачи спин-спинового взаимодействия, геометрии молекулы, а также от электронного состояния атома и типа его гибридизации. Как упоминалось ранее, азот является важнейшим атомом, участвующим во многих взаимодействиях в живой химии, образует водородные связи и может участвовать в кислотно-основных равновесиях.

Разнообразие форм азота в органических соединениях приводит к значительному разбросу параметров спектроскопии ЯМР, включая КССВ. Квантово-химический расчет констант является важнейшей задачей в структурной органической химии, поскольку может быть использован не только для подтверждения уже известной структуры, но и в качестве опоры для отнесения сигналов или для решения сложных структурных задач. Чтобы проверить точность расчетных методов оценки КССВ, мы выбрали объекты, в которых атом азота находится в различных типах гибридизации: тетрагональной sp^3 -, планарной sp^2 - и линейной sp -. Оптимизация геометрии таких молекул с последующим расчетом КССВ позволяет оценить точность расчетных методов для различных типов атома азота. Как известно, детальное представление электронных свойств атома азота в квантово-химическом расчете играет решающую роль в оценке величины КССВ. Однако значения констант зависят не только от электронной структуры атома азота, но и от структуры основного каркаса молекулы. В этом отношении ароматические соединения являются удобными объектами для изучения влияния заместителей на величину КССВ. Неподделенная электронная пара азота, может взаимодействовать с π -электронной системой бензольного кольца, тем самым передавая электронные возмущения отдельных заместителей на атом азота, что в свою очередь влияет на величину констант $^nJ_{CN}$. Влияние

многих электронодонорных и электроноакцепторных групп на величины КССВ хорошо известны. Однако важно проанализировать точность расчетных данных, которые должны отражать уже известные зависимости и давать правильные и хорошо воспроизводимые результаты.

В качестве объектов в данной работе были включены нитрилы и изоцианиды, содержащие экзоциклический sp -гибридизованный атом азота. Ароматические амины и нитросоединения, которые содержат азот в состоянии sp^2 -гибридизации, но электронные свойства самих групп сильно отличаются. Протонированные анилины представляют собой соединения с sp^3 -гибридизацией и значительным эффективным зарядом на атоме азота. Среди циклических объектов мы рассмотрели 3,4-дигидроизохинолины и индазолы, а также ряд малых молекул, таких как производные индола и пиридина.

Представленный выбор объектов охватывает широкий диапазон факторов пространственной и электронной структуры азотсодержащих соединений и, как следствие, широкий диапазон значений констант ${}^nJ_{CN}$ и позволяет оценить корректность квантово-химического метода при расчете ${}^nJ_{CN}$ с различным типом атомов азота.

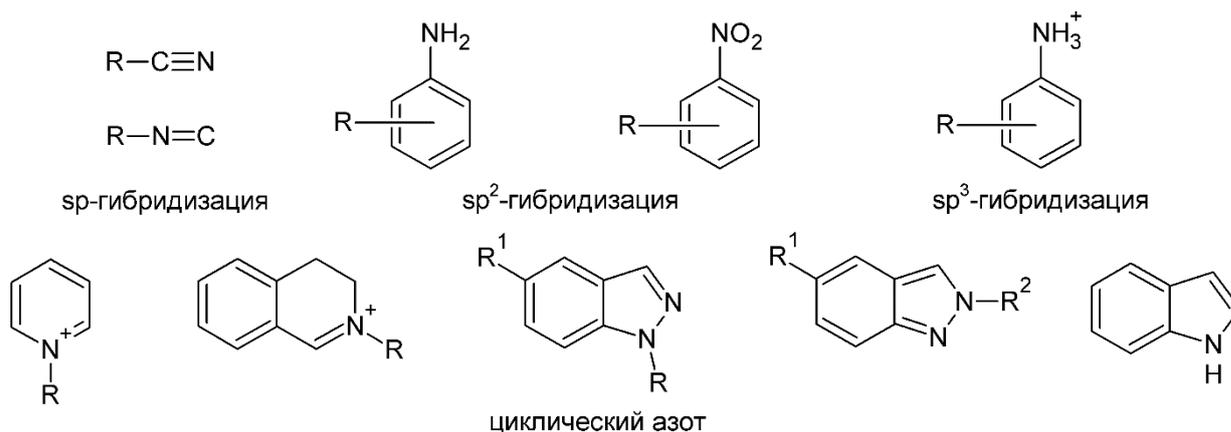


Рисунок 32. Изученные соединения.

3.4.2. Выбор метода расчета и набора базисных функций для расчета КССВ

В ходе анализа литературных данных мы выбрали метод DFT, поскольку он не требует существенных временных ресурсов, а также показал себя как надежный метод расчета КССВ с ядром ${}^{15}\text{N}$. Для сравнения был также использован метод РВЕ. Данный метод зарекомендовал себя для расчета химических сдвигов ядра ${}^{15}\text{N}$, однако требовались данные по расчету КССВ. Оба метода реализованы в программном комплексе Gaussian 16.

Проблемой оптимального выбора базисного набора занимались авторы работы, в которой показано, что для получения хороших результатов необходимо включать дополнительные поляризационные функции (приближение типа B3LYP/6-311G(d,p), а в случае расчета заряженных частиц и молекул содержащих полярные группы,

рекомендуется использовать дополнительные диффузные функции (приближение типа V3LYP/6 311++G(d,p). Таким образом мы остановились на выборе трех базисных наборов, используемых нами для проведения серии предварительных расчетов.

3.4.3. Проведение предварительных квантово-химических расчетов

Для проведения предварительных квантово-химических расчетов нами были выбраны 22 соединения, имеющие различный структурный мотив и тип гибридизации атома азота. К этим соединениям относятся: нитрометан, нитробензол, анилин, пиридин и катион пиридиния, [1-¹⁵N]индазол, [2-¹⁵N]индазол, 1-метил[1-¹⁵N]индазол, 1-метил[2-¹⁵N]индазол, 3,4-дигидрохинолин и его протонированная форма, N-оксид 3,4-дигидроизохинолина и его протонированная форма, фенилизоцианид, метилизоцианид, этилизоцианид, винилизоцианид, пара-нитробензонитрил, пара-метоксибензонитрил и ацетонитрил. Данная выборка соединений представлена 82 КССВ $^nJ_{CN}$. Представлены как прямые, так и дальние КССВ с широким диапазоном значений. Была проведена серия расчетов двумя методами, с тремя наборами базисных функций, для каждого из 22-х соединений. Для полученных значений КССВ проводилась корреляция с экспериментальными значениями, взятыми из литературы или полученными в настоящей работе. Для статистической обработки экспериментальных и расчетных значений КССВ использовалась двухпараметрическая линейная регрессионная модель.

$$J_{\text{эксп}} = \alpha J_{\text{расч}} + \beta. \quad (13)$$

Результаты предварительных расчетов приведены ниже (Таблица 12).

Таблица 12. Результаты предварительных квантово-химических расчетов 82 КССВ $^nJ_{CN}$.

		V3LYP 6-311+G(2df,2p)		PBE 6-311+G(2df,2p)	
СКО		0.1615579		0.2011714	
	Значение	Стандартное отклонение		Значение	Стандартное отклонение
α	-0.0666532882	0.1615578751		0.0579401454	0.2011713785
β	1.0610512156	0.0183028328		1.0287772922	0.0227906322
		V3LYP 6-311++G(2df,2p)		PBE 6-311++G(2df,2p)	
СКО		0.1606905		0.2012715	
	Значение	Стандартное отклонение		Значение	Стандартное отклонение
α	-0.0645338101	0.1606905448		0.0573433806	0.2012715138
β	1.0619463801	0.0182045733		1.0286646993	0.0228019765
		V3LYP 6-311++G(3df,2pd)		PBE 6-311++G(3df,2pd)	
СКО		0.1583401		0.1968294	
	Значение	Стандартное отклонение		Значение	Стандартное отклонение
α	-0.0846073746	0.1583400843		0.0538052063	0.1968294062
β	1.0630383611	0.0179382905		1.0324736164	0.0222987317

Согласно данным, представленным в таблице 12, метод PBE имеет хуже погрешность при вычислении КССВ ${}^nJ_{CN}$, но в тоже время лучше корреляционную зависимость на приведенной выборке соединений. Увеличение набора базисных функций сказывается на точности расчета, однако существенной разницы не наблюдается. Стоит отметить, что для расчета КССВ с использованием базисных функций 6-311++G(3df,2pd) требуется гораздо больше времени, что не приводит к существенному улучшению расчетных значений. Исходя из предварительных расчетов мы остановились на методе расчета КССВ DFT, поскольку данный метод показал лучшее соответствие КССВ. В качестве набора базисных функций мы остановились на 6-311++G(2df,2p), поскольку он дает приемлемый результат за относительно непродолжительное время расчета.

3.4.4. Определение знака КССВ ${}^nJ_{CN}$

Важнейшим прикладным аспектом данного исследования является определение знаков констант ${}^nJ_{CN}$. Хорошо известно, что ядро ${}^{15}\text{N}$ имеет отрицательный гиромагнитный коэффициент, в связи с этим можно ожидать, что подавляющее большинство констант ${}^{13}\text{C}-{}^{15}\text{N}$, изучаемых в данной работе, будут отрицательными. Проведенные нами предварительные расчеты показывают, что по крайней мере несколько из констант ${}^{13}\text{C}-{}^{15}\text{N}$ должны быть положительными. Модуль константы ${}^nJ_{CN}$ может быть определен экспериментально как расщепление дублета из обычного спектра ЯМР ${}^{13}\text{C}$. В отличие от этого, экспериментальное определение знака может потребовать специальных ЯМР экспериментов, таких как, например, тройной селективный эксперимент ${}^{13}\text{C}\{{}^1\text{H}, {}^{15}\text{N}\}$, soft-COSY, COSY 45 или HMBC и HSQC высокого разрешения [78, 128]. До настоящего времени такие доказательные ЯМР эксперименты не проводились для определения знака констант ${}^nJ_{CN}$. Поэтому вопрос о том, какой знак имеют константы ${}^{13}\text{C}-{}^{15}\text{N}$ представленные в описанной литературе, пока остается актуальным. Таким образом, именно применение квантово-химических расчетов играет существенную роль в определении их знака.

Использование расчетных величин позволяет определить абсолютное значение констант, не прибегая к сложным и трудоемким экспериментам ЯМР для каждого отдельного соединения. Определяющим фактором остается оценка набора экспериментальных и расчетных данных в виде двухпараметрической модели, поскольку такой подход позволяет оценить практическую ошибку при сравнении экспериментальных КССВ с теоретическими. Этот подход хорошо подходит для случаев, когда КССВ велики по модулю и теория дает разумное приближение к эксперименту. Однако если совпадение экспериментальных и расчетных значений недостаточно хорошее, то знак константы может быть приписан ошибочно. В данной работе предлагается критерий, базирующийся на

доверительной вероятности принятия решения в основе которых лежат методы теории вероятностей [259]. Исходная информация для определения знака константы может быть получена из сравнения совокупности экспериментальных и расчетных данных для достаточно представительной выборки данных. Метод принятия решения основан на кластеризации 2D карт на основе сходства в DFT-расчетах и экспериментальных констант ^{13}C - ^{15}N , который здесь представлен.

3.4.5. Расчет КССВ $^nJ_{CN}$ в серии нитрилов

Одним из структурных фрагментов, в котором атом азота находится в состоянии sp-гибридизации, является нитрильная группа $-\text{C}\equiv\text{N}$. Оптимизация геометрии молекулы подтвердила структуру линейного фрагмента $-\text{C}\equiv\text{N}$ во всей серии нитрилов **210-223**. Экспериментальные и расчетные значения констант $^1J_{CN}$ и $^2J_{CN}$ в ряду алифатических нитрилов **210-219** (Таблица 13) и ароматических нитрилов **219-223** (Таблица 14) представлены ниже.

Таблица 13. Экспериментальные и расчетные значения констант $^1J_{CN}$ и $^2J_{CN}$ в серии алифатических нитрилов **210-218**.

№	Вещество	$^1J_{CN}$	$^2J_{CN}$	Растворитель	Лит.
210	$\text{CH}_3\text{C}^{15}\text{N}$	-17.8	2.9	CDCl_3 , C_6F_6	эксп, [260]
		-17.53	2.9	Ацетон- D_6	эксп, [261]
		-17.0	n/a	ТГФ- D_8	эксп, [262]
		-17.5	3.0	n/a	эксп, [263]
		-17.8	3.34		расч ^a
211	$^{15}\text{NCCH}_2\text{COOH}$	-17.56	2.85	ДМСО- D_6	эксп, [29]
		-17.93	3.28		расч ^a
212	$^{15}\text{NCCH}_2\text{COOEt}$	-17.63	3.27	CDCl_3	эксп, [29]
		-18.01	3.31		расч ^a
213	$^{15}\text{NCCH}_2\text{C}^{15}\text{N}$	-17.9	1.89	CDCl_3	эксп, [264]
		-17.3	3.0	D_2O	эксп, [52]
		-16.22	3.55		расч ^a
214	$^{15}\text{NC}(\text{CH}_2)_3\text{C}^{15}\text{N}$	-16.4	3.0	ДМСО- D_6	эксп, [26]
		-16.91	3.39		расч ^a
215	$\text{PhCH}_2\text{C}^{15}\text{N}$	-17.0	3.0	CDCl_3	эксп, [32]
		-17.28	3.31		расч ^a
216	$p\text{-NO}_2\text{PhCH}_2\text{C}^{15}\text{N}$	-17.1	3.0	CDCl_3	эксп, [32]
		-17.07	3.32		расч ^a
217	$Z\text{-BrCH=CHC}^{15}\text{N}$	-17.8	3.8	CDCl_3	эксп, [264]
		-18.59	3.99		расч ^a
218	$E\text{-PhCH=CHC}^{15}\text{N}$	-17.5	2.5	C_6D_6	эксп, [265]
		-18.33	4.09		расч ^a

^a В настоящей работе

Как видно из представленных значений, теоретические и расчетные значения констант находятся в узком диапазоне значений как для алифатических, так и для ароматических производных. Так, прямая КССВ, согласно литературным данным, находится в диапазоне $^1J_{CN} = -18.1 - -16.3$ Гц, а КССВ через две связи $^2J_{CN} = 1.89 - 3.8$ Гц.

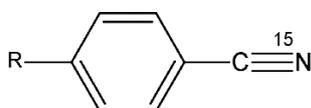


Таблица 14. Экспериментальные и расчетные значения констант $^1J_{CN}$ и $^2J_{CN}$ в серии ароматических нитрилов **219-223**.

№	R	$^1J_{CN}$	$^2J_{CN}$	Растворитель	Лит.
219	H	-17.8	н/д	н/д	эсп, [266]
		-17.93	3.23		расч ^a
220	t-Bu	-16.3	3.8	C ₆ D ₆	эсп, [265]
		-18.04	3.20		расч ^a
221	OMe	-18.1	2.7	CDCl ₃	эсп, [267]
		-17.98	3.22		расч ^a
222	Br	-16.3	3.8	C ₆ D ₆	эсп, [265]
		-17.90	3.25		расч ^a
		-17.5	н/д		C ₆ D ₆
223	NO ₂	-17.8	2.5-3.2	DMCO-D ₆	эсп, [265]
		-17.77	3.27		расч ^a

^a В настоящей работе

Показана корреляция между экспериментальными и расчетными значениями констант $^1J_{CN}$ и $^2J_{CN}$ в ряду нитрилов **210-223** (Рисунок 33).

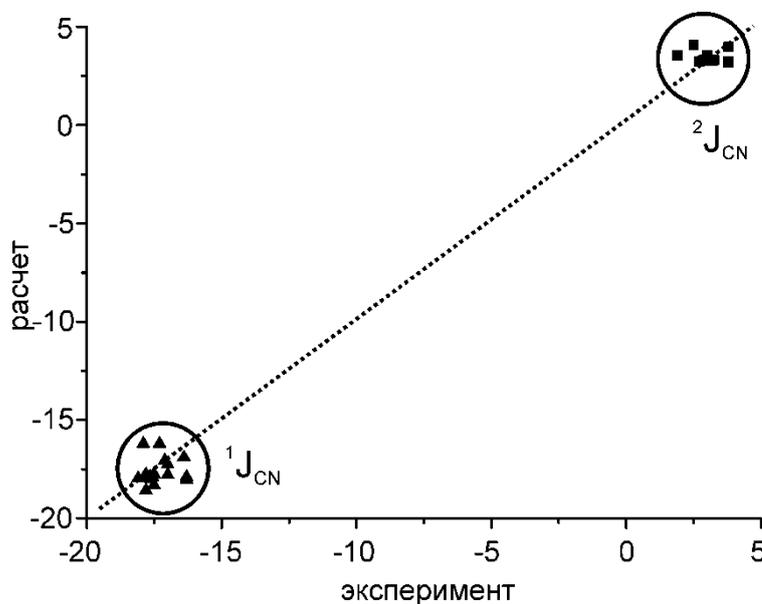


Рисунок 33. Сопоставление расчетных и экспериментальных значений констант $^1J_{CN}$ и $^2J_{CN}$ в нитрилах **210-223**.

Для статистической обработки экспериментальных и расчетных значений КССВ использовалась двухпараметрическая линейная регрессионная модель.

$$J_{\text{эксп}} = \alpha J_{\text{расч}} + \beta. \quad (14)$$

Для уравнения **14** в серии нитрилов **210-223** коэффициент корреляции равен 0.99, при этом коэффициент наклона незначительно отличается от единицы ($\alpha = 1.03 \pm 0.01$) и свободный член ($\beta = 0.28 \pm 0.17$), что указывает на отсутствие систематической ошибки в квантово-химическом методе, используемом для оценки констант в алифатических и ароматических нитрилах.

Как видно (Рисунок 33), значения констант $^1J_{CN}$ и $^2J_{CN}$ сильно различаются как по модулю, так и по знаку. Высокая точность рассчитанных значений позволяет надежно определить знак констант – параметр, характеризующий энергию взаимодействия между ядрами, участвующими в спин-спиновом взаимодействии.

Рассчитанные значения КССВ через две связи для нитрилов **210-223** лежат в диапазоне $^2J_{CN} = 2.50-4.09$ Гц, а стандартное отклонение экспериментальных и рассчитанных значений связи составляет 0.76 Гц, что позволяет приписать прямой константе $^1J_{CN}$ отрицательный знак, а константе через две связи $^2J_{CN}$ положительный знак. К такому же выводу мы приходим, используя методологию теории вероятности. Возможное отнесение любой прямой констант $^{13}\text{C}-^{15}\text{N}$ из первого кластера (Рисунок 33) в предположении разных знаков экспериментальной константы вызовет расхождение около 32 Гц. В то же время, среднее расхождение внутри этого кластера описывается куда меньшей величиной всего 0.76 Гц. Отношение 32 к 0.76 является значим по сравнению с критическим значением Стьюдента, что также надежно позволяет приписать знак константе.

Таким образом, все значения КССВ $^1J_{CN}$ этого кластера относятся к отрицательным. Геминальные константы $^{13}\text{C}-^{15}\text{N}$ из второго кластера имеют более близкие к нулевым значения. Тем не менее, $^2J_{CN}$ для соединения **221** дает $(2 \cdot 2.7)/0.76 = 7.1$. Отношение значимо для уровня доверия 99.99%. В этом случае мы приписываем знак константе, согласно данным квантово-химического расчета. Представленные данные в таблицах, уже содержат эту поправку. Таким образом было показано, что константы $^1J_{CN}$ во всей серии нитрилов **210-223** имеют отрицательный знак, в то время как значения константы $^2J_{CN}$ положительны. Аналогичный подход в определении знака КССВ используется и для последующих серий соединений. В случае, если полученная оценка значима на уровне менее 99%, приписывается абсолютное значение константы в соответствующую таблицу, но знак берется в скобки.

Такой узкий диапазон значений констант $^1J_{CN}$ и $^2J_{CN}$ объясняется удаленностью нитрильной группы от основного каркаса молекулы. Так, в ароматических субстратах **219-223** величины КССВ азота и углерода через одну и две связи, практически не

изменяются при переходе от электронодонорного к электроноакцепторному заместителю и слабо зависят от структурных факторов. Более того, при переходе от алифатических нитрилов к ароматическим изменяется тип гибридизации sp^3 - и sp^2 -, соответственно, атома углерода вовлеченного в спин-спиновое взаимодействие через две связи с атомом азота, что могло бы повлиять на величину константы ${}^2J_{CN}$. Тем не менее, как для экспериментальных, так и для расчетных констант ${}^2J_{CN}$ наблюдается схожий диапазон значений как для алифатических, так и для ароматических нитрилов.

3.4.6. Расчет КССВ ${}^nJ_{CN}$ в серии изонитрилов

Зависимость величин КССВ наиболее ярко выражена, когда атом азота находится в непосредственной близости от основного скелета молекулы. Ярким примером является изоцианидная группа, в которой атом азота находится в состоянии sp -гибридизации и связан с двумя атомами углерода разных типов (Рисунок 34). Пунктирной линией показана константа ${}^1J_{C\equiv N}$ с концевым карбеновым атомом углерода, а сплошной линией – константа ${}^1J_{C-N}$ с атомом углерода основного скелета молекулы. Оптимизация геометрии изоцианидов **224-237**, подтвердила линейный фрагмент изоцианидной группы, что согласуется с литературными данными [269].

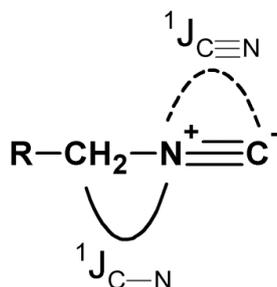


Рисунок 34. Два типа КССВ через одну связь (${}^1J_{C\equiv N}$ and ${}^1J_{C-N}$) в алифатических изонитрилах.

Результаты расчетов констант ${}^1J_{C\equiv N}$ и ${}^1J_{C-N}$ в ряду изонитрилов представлены в (Таблица 15).

Экспериментальное значение константы ${}^1J_{C\equiv N}$ имеет узкий диапазон значений -8.88 – -5.2 Гц и практически не зависит от структурных особенностей скелета молекулы. Напротив, величина константы ${}^1J_{C-N}$ существенно зависит от типа гибридизации атома углерода и варьируются в очень широком диапазоне значений -20.0 – -7.0 Гц. Как отмечалось ранее, константа ${}^2J_{C\equiv N}$ в нитрилах не зависит от типа гибридизации атома углерода; напротив, в случае изоцианидов наблюдается четкая зависимость между величиной константы и типом гибридизации атома углерода, участвующего в спин-спиновом взаимодействии.

Таблица 15. Экспериментальные и расчетные значения констант $^1J_{C=N}$ и $^1J_{C-N}$ (Гц) в серии изонитрилов **224-237**.

№	Вещество	$^1J_{C=N}^{\text{эксп}}$	$^1J_{C-N}^{\text{эксп}}$	Лит.	$^1J_{C=N}^{\text{расч}}$	$^1J_{C-N}^{\text{расч}}$
224	CH ₃ NC	н/д	-10.7	[270]	-7.55	-12.23
		н/д	-9.1	[271]		
225	EtNC	-8.88	н/д	[272]	-6.76	-10.35
		-7.4	н/д	[270]		
226	i-PrNC	н/д	-10.2	[273]	-5.96	-9.02
227	t-BuNC	-7.4	-7.8	[270]	-5.20	-7.92
228	H ₂ C=CHNC	-6.7	-7.0	[270]	-7.59	-19.18
229	H ₂ C=C=CNC	-5.2	-16.4	[270]	-6.72	-23.59
230	H ₂ C=CHCH ₂ NC	-7.0	-20.0	[270]	-6.56	-11.99
231	(Z)-CH ₃ CH=CHNC	-6.6	-9.82	[270]	-8.29	-18.88
232	PrNC	-7.01	-16.13	[270]	-6.96	-10.43
233	PhNC	-7.99	-9.12	[270]	-7.52	-20.69
234	p-CH ₃ -PhNC	-7.99	-18.5	[270]	-7.77	-21.09
235	p-CH ₃ O-PhNC	-7.3	-18.79	[270]	-7.66	-21.35
236	CyNC	-7.57	-17.39	[270]	-6.40	-9.69
237	2,6-(CH ₃) ₂ PhNC	-6.87	-8.13	[270]	-7.88	-18.97
		-6.31	-17.25	[270]		

^a Спектр зарегистрирован при 306 К, 1 М раствор в смеси растворителей CCl₄/CD₃CN/TMS с мольным соотношением 75:23:2

Рисунок 35 демонстрирует корреляционную зависимость между рассчитанными и экспериментальными значениями КССВ $^1J_{C=N}$ и $^1J_{C-N}$ в ряду изоцианидов, среди которых представлены как изоцианиды с sp²-гибридизованным атомом углерода основного молекулярного каркаса, так и изоцианиды с sp³-гибридизованным атомом углерода.

Значения экспериментальных и расчетных величин констант $^1J_{C=N}$ представлены на пунктирной областью (▲) и имеют узкий разброс значений для всей серии изонитрилов **224-237**.

Значения констант $^1J_{C-N}$ показаны (■) для изоцианидов **224-227**, **230**, **232**, **236**, в которых атом углерода находится в состоянии sp³-гибридизации. Здесь можно выделить три кластера, каждый из которых объединяет константы с различными гибридизациями атома углерода. Значения $^1J_{C-N}$ больше, чем $^1J_{C=N}$, и также лежат в узком диапазоне, тогда как аналогичные значения константы (●) для субстратов, содержащих sp²-гибридизованный атом углерода, значительно отличаются по величине (Рисунок 35).

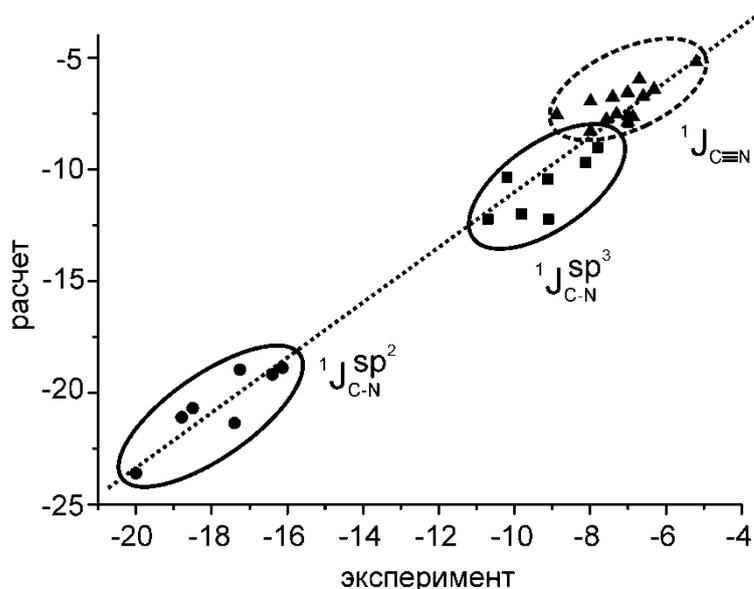


Рисунок 35. Сопоставление расчетных и экспериментальных значений констант $^1J_{CN}$ в изоцианидах **224-237**.

Следует отметить, что все константы этого типа отрицательны. Однако относительные значения констант демонстрируют неожиданную зависимость. Можно было ожидать, что представленные константы с участием атома азота будут вести себя аналогично родственным константам между ядрами углерода ^{13}C - ^{13}C , для которых наблюдается почти линейное увеличение константы от s-характера связи между атомами углерода. Для изученных нами констант через одну связь с участием азота, наоборот, для тройной связи $\text{C}\equiv\text{N}$ наблюдаются наименьшие значения. Мы считаем этот факт неожиданным, и он требует дополнительного теоретического обоснования в рамках подхода NJC/NBO [274].

Для статистической обработки экспериментальных и расчетных значений КССВ в изоцианидах была использована двухпараметрическая линейная регрессионная модель в соответствии с уравнением 1.

Для уравнения **14** в ряду изоцианидов **224-237** коэффициент корреляции равен 0.99, при этом значение коэффициента наклона отлично от единицы ($\alpha = 1.23 \pm 0.04$) и свободного члена ($\beta = 1.44 \pm 0.40$), что позволяет судить о систематической ошибке в квантово-химическом методе, использованном при расчете изоцианидных КССВ. Высокое значение коэффициента корреляции свидетельствует о том, что в расчетах учтено перераспределение электронной плотности с учетом перехода атома углерода из sp^3 в sp^2 гибридизацию, и рассчитанные значения КССВ имеют ту же зависимость, что и экспериментальные значения связей. Среднеквадратичное отклонение экспериментальных и расчетных значений связей составляет 1.22 Гц, что позволяет надежно определить знак прямых КССВ.

Константы ${}^1J_{C-N}$ и ${}^1J_{C=N}$ имеют отрицательные значения для всей серии изоцианидов **224-237**.

Такие значительные различия между константами ${}^1J_{C-N}$ в ароматических и алифатических изонитрилах могут служить надежной опорой для структурных исследований органических молекул и этого класса объектов.

3.4.7. Расчет КССВ ${}^nJ_{CN}$ в серии ароматических нитросоединений

Ароматические нитросоединения представляют собой очень удобный класс органических соединений, для исследования зависимостей КССВ от наличия заместителей в бензольном кольце. Взаимное расположение заместителей, а также их различные электронные свойства позволяют рассмотреть значительную выборку соединений, многие из которых легко доступны. Как уже отмечалось ранее, существуют зависимости величин КССВ от структурных факторов молекулы. Одними из первых появились зависимости для различных ароматических субстратов.

В Таблица 16 приведены экспериментальные и расчетные значения констант ${}^1J_{CN}$ в серии ароматических нитросоединений **238-253**. Несмотря на различное варьирование заместителей в бензольном кольце, величина константы ${}^1J_{CN}$ изменяется в узком диапазоне значений. Отметим, что введение электронодонорных или электроноакцепторных заместителей оказывает лишь незначительное влияние на величину константы. К примеру, *para*-замещенные соединения **244** и **253** содержат в своем составе заместители с противоположными электронными эффектами, однако величина константы ${}^1J_{CN}$ изменяется при этом незначительно.

При оптимизации молекулы нитробензола **238** нитрогруппа расположена в плоскости бензольного кольца, что обеспечивает максимальное перекрывание sp^2 -гибридизованного атома азота с ароматической π -системой молекулы. Введение заместителей в *ortho*-положение, (например, как в соединении **245**), приводит к тому, что нитрогруппа выходит из плоскости бензольного кольца, однако это не оказывает существенного влияния на величину константы ${}^1J_{CN}$.

Все рассчитанные значения констант ${}^1J_{CN}$ находятся в хорошем согласии с экспериментальными данными, что позволяет надежно определить их знак (Таблица 16).

Экспериментальные и расчетные значения дальних КССВ ${}^nJ_{CN}$ находятся в хорошем соответствии друг с другом, что является результатом корректной интерпретации электронных свойств молекулы на стадии оптимизации геометрии. Введение такого сильно электроноакцепторного заместителя в бензольное кольцо, приводит к существенному перераспределению электронной плотности на атомах углерода ароматической π -системы.

Таблица 16. Экспериментальные [9] и расчетные значения КССВ $^1J_{CN}$ в серии ароматических нитросоединений.

№	X	Y	Y'	Z	Z'	$^1J_{CN}^{эксп}$	$^1J_{CN}^{расч}$
238	H	H	H	H	H	-14.7	-14.58
239	H	H	H	H	NH ₂	-14.8	-15.10
240	CH ₃	NO ₂	H	CH ₃	NH ₂	-15.8	-16.08
241	NH ₂	H	H	H	H	-16.2	-15.76
242	NH ₂	CH ₃	CH ₃	H	H	-15.8	-15.00
243	CH ₃	H	NO ₂	CH ₃	NH ₂	-15.6	-15.45
244	CH ₃ O	H	H	H	H	-15.9	-16.15
245	NH ₂	H	NO ₂	CH ₃	CH ₃	-16.6	-14.48
246	(CH ₃) ₂ N	CH ₃	CH ₃	H	H	-14.7	-14.28
247	t-C ₄ H ₉	H	H	H	H	-15.0	-14.72
248	CH ₃	NO ₂	NO ₂	H	H	-18.0	-14.25
249	CH ₃	H	H	H	H	-14.9	-14.66
250	Cl	H	H	H	H	-15.4	-17.40
251	H	NO ₂	H	H	H	-15.9	-13.61
252	CH ₃	H	H	CH ₃	CH ₃	-14.7	-13.83
253	NO ₂	H	H	H	H	-15.3	-14.58

В случае нитробензола (238) авторы [275] также измерили дальние КССВ $^nJ_{CN}$ (Таблица 17).

Таблица 17. Экспериментальные и расчетные значения КССВ $^nJ_{CN}$ (Гц) в нитробензоле.

Вещество	$^1J_{CN}$	$^2J_{CN}$	$^3J_{CN}$	$^4J_{CN}$	Лит.
238	-14.57	-1.672	-2.324	(+)0.603	эксп, [275]
	-13.80	-1.946	-2.222	0.598	расч ^a

^a В настоящей работе

При расчете констант в подобных объектах, ключевое значение может иметь стадия расчета оптимизации геометрии молекулы и квантово-химического описания электронных свойств. Каждый из этих параметров может существенным образом влиять на величину КССВ с участием ядра азота.

3.4.8. Расчет КССВ $^nJ_{CN}$ в серии шестичленных азотсодержащих гетероциклов

Среди подробно изученных шестичленных азотсодержащих гетероциклических соединений следует отметить 3,4-дигидроизохинолины. Интерес к этим объектам

объясняется различными типами связи атома азота, находящегося в состоянии sp^2 -гибридизации, с соседними атомами углерода. Это делает особенно привлекательными предсказания и проверка расчетных значений прямых КССВ. Важно отметить, что в таких несимметричных системах ключевым является маршрут передачи спин-спинового взаимодействия, в связи с чем дальние константы ${}^nJ_{CN}$ могут иметь самые различные значения.

Из таблицы 18 видно, что значения связей ${}^nJ_{CN}$ $n = 1-3$ иминого атома азота имеют широкий диапазон значений, что позволяет судить об электронной структуре атома азота в таких соединениях. Из значений констант, приведенных в таблице 6, следует отметить, что наличие свободной электронной пары на атоме азота существенно влияет на величину константы ${}^1J_{CN}$. Так, константа иминого атома азота и sp^2 -гибридизованного атома углерода C1 в $[{}^{15}\text{N}]3,4$ -дигидроизохинолине (**254**) составляет ${}^1J_{C1N} = 2.9$ Гц.

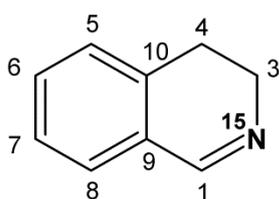


Таблица 18. Экспериментальные и расчетные значения КССВ ${}^nJ_{CN}$ (Гц) в серии 3,4-дигидроизохинолинов **254-257**.

№	Атом азота	${}^1J_{C1N}$	${}^1J_{C3N}$	${}^2J_{C9N}$	${}^3J_{C8N}$	${}^3J_{C10N}$	Лит.
254	N	-2.9	3.4	2.0	н/д	н/д	эксп, [276]
		-4.05	7.21	2.08	-2.06	-2.87	расч ^a
255	NH ⁺	-15.6	-5.9	н/д	-1.5	-2.0	эксп, [276]
		-17.20	-5.53	0.710	-3.04	-4.91	расч ^a
256	N ⁺ —O ⁻	-21.5	-7.8	н/д	-3.4	-2.4	эксп, [276]
		-24.51	-6.18	0.142	-3.83	-4.19	расч ^a
257	N ⁺ —OH	-20.5	-6.8	н/д	-3.9	-2.4	эксп, [276]
		-19.74	-6.30	0.57	-3.69	-4.81	расч ^a

^a В настоящей работе

В случае связывания неподеленной электронной пары азота в результате протонирования или при образовании N-оксида величина константы ${}^1J_{C1N}$ заметно возрастает и находится в диапазоне ${}^1J_{C1N} = -15,6 - -21,5$ Гц для соединений **255-257**.

Согласно нашим расчетам, при протонировании пиридина в зависимости от растворителя значение константы изменяется в диапазоне ${}^1J_{CN} = 0.45-0.70$ Гц, а для протонированного пиридина ${}^1J_{CN} = -12.1$ Гц (в растворе трифторуксусной кислоты) [277] (Таблица 19). Важно отметить, что в случае ароматических субстратов величина КССВ меньше, чем для соединения **254**.

Таблица 19. Экспериментальные и расчетные значения КССВ ${}^nJ_{CN}$ (Гц) в производных пиридина.

№	Вещество	${}^1J_{CN}$	${}^2J_{CN}$	${}^3J_{CN}$	Лит.
258	Пиридин	(+)0.45	2.4	-3.6	эксп, [277]
		(+)0.7	2.6	-3.8	эксп, [277]
		1.74	2.68	-4.00	расч ^a
259	Катион пиридиния	-12.0	(-)2.1	-5.3	эксп, [277]
		-12.76	-1.35	-5.93	расч ^a
260	N-оксид пиридина	-15.24	(+)1.32	-5.13	эксп, [278]
		-14.60	0.79	-4.99	расч ^a

^a В настоящей работе

КССВ иминного атома азота и sp^3 -гибридизованного атома углерода C3 также увеличивается при переходе от соединения **254** ${}^1J_{C3N} = 3.4$ Гц к соединениям **255-257** ${}^1J_{C3N} = 5.9-7.8$ Гц, в которых неподеленная электронная пара атома азота связана, однако это увеличение не столь значительно, как в случае иминного атома углерода C1.

Важно отметить, что для соединений **255-257** значения вицинальных констант ${}^2J_{C4N}$ и ${}^2J_{C9N}$ имеют значение ${}^nJ_{CN} < 1$ Гц [276]. Вицинальные константы ${}^2J_{CN}$ хорошо коррелируют с данными наших расчетов: рассчитанные значения ${}^2J_{C4N}$ и ${}^2J_{C9N}$ находятся в диапазоне 0.142-0.776 Гц (Таблица 18). В тоже время для пиридина **258** и его производных **259-260** значение вицинальные константы характеризуются большими значениями, чем для неароматических соединений. Для соединения **258** значение константы варьируется в узком диапазоне ${}^2J_{CN} = 2.4-2.6$ в зависимости от растворителя.

Более информативны КССВ азота и углерода через три связи в соединениях **255-257**. Согласно литературным данным [276], значения констант для **255-257** находятся в диапазоне ${}^3J_{C8N} = 1.5-3.9$ Гц, а ${}^3J_{C10N} = 2.0-2.4$ Гц. В этом случае весь набор КССВ представляется в виде одного неделимого кластера, что характеризует удовлетворительную корреляцию теории и эксперимента (Рисунок 36).

Для уравнения **12** в серии исследуемых соединений (27 КССВ) коэффициент корреляции составляет 0.98 при значении коэффициента наклона ($\alpha = 1.05 \pm 0.04$) и свободного члена ($\beta = -0.05 \pm 0.32$). Объединенные данные для 27 КССВ позволяют наглядно продемонстрировать высокую сходимость расчетных значений для всех измеренных констант в серии шестичленных циклов. Стандартное отклонение для всей выборки данных составляет 1.44 Гц.

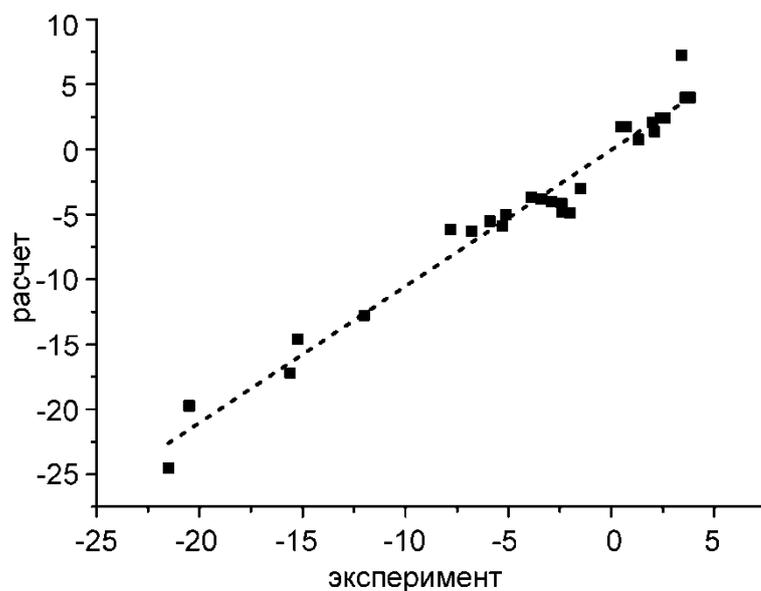


Рисунок 36. Сопоставление расчетных и экспериментальных значений констант ${}^nJ_{CN}$ в 3,4-дигидроизохинолинах 254-257 и производных пиридина 258-260.

3.4.9. Расчет КССВ ${}^nJ_{CN}$ в серии пятичленных азотсодержащих гетероциклов

В работе [279] подробно представлены экспериментальные значения констант ${}^nJ_{CN}$ в ряду индазолов. Незамещенный индазол имеет два типа атомов азота N-1 пиррольного типа и N-2 пиридинового типа. Варьирование заместителей и селективное введение изотопной метки приводит к значительному разнообразию сопряжений и маршрутов переноса спин-спинового взаимодействия. Различные индазолы, изученные в работе [46], представлены в (Таблица 20).

Таблица 20. Расположение заместителей и изотопной метки на атоме азота в ряду индазолов 261-269.

		№	Заместитель	${}^{15}\text{N}^a$	№	Заместитель	${}^{15}\text{N}^a$
		261	-	N-1	266	1-CH ₃ , 5-NO ₂	N-2
		262	-	N-2	267	2-CH ₃	N-1
		263	5-NO ₂	N-2	268	2-CH ₃	N-2
		264	1-CH ₃	N-1	269	2-CH ₃ , 5-NO ₂	N-2
		265	1-CH ₃	N-2			

^a положение ядра ${}^{15}\text{N}$.

Экспериментальные и расчетные значения констант ${}^nJ_{CN}$ ряда индазолов приведены в (Таблица 21). Значения констант существенно зависят от пути спин-спиновой связи. Определение знака констант стало возможным благодаря высокой степени корреляции между экспериментальными и расчетными значениями констант.

Таблица 21. Экспериментальные^a [279] и расчетные значения констант ${}^nJ_{CN}$ (Гц) в серии индазолов 261-269.

№	${}^{15}\text{N}^b$	C-3	C-4	C-6	C-7	C-3a	C-7a	CH ₃ -	Лит.
261	N-1	н/д	-1.47	-2.02	-1.83	-5.8	-13.56	-	эксп, [279]
		-0.48	-1.81	-2.04	-1.48	-7.77	-15.61	-	расч ^c
262	N-2	н/д	-1.10	(-)0.55	н/д	1.8	1.1	-	эксп, [279]
		0.41	-1.36	-0.98	0.75	2.15	1.438	-	расч ^c
263	N-1	н/д	-1.65	-1.83	-1.10	-6.60	-15.03	-13.8	эксп, [279]
		-0.85	-1.71	-1.99	-1.24	-7.39	-15.72	-15.46	расч ^c
264	N-2	н/д	(-)0.92	(-)0.55	н/д	1.83	(+)0.8	-5.5	эксп, [279]
		0.47	-1.34	-1.01	0.61	1.91	1.244	-8.23	расч ^c
265	N-1	н/д	н/д	-3.12	-7.33	(+)0.73	1.83	-6.4	эксп, [279]
		0.80	-0.32	-3.69	-8.29	2.08	3.142	-8.02	расч ^c
266	N-2	-13.20	-3.30	(-)0.55	-4.22	-4.95	-1.28	-12.8	эксп, [279]
		-14.27	-3.35	-0.65	-4.52	-6.09	-1.72	-14.18	расч ^c
267	N-2	н/д	-1.10	н/д	н/д	1.83	1.28	-	эксп, [279]
		0.66	-1.47	-0.47	0.71	2.32	1.59	-	расч ^c
268	N-2	н/д	-1.28	н/д	н/д	1.83	1.28	-5.9	эксп, [279]
		0.72	-1.47	-0.91	0.56	1.89	1.41	-7.99	расч ^c
269	N-2	-13.37	-3.48	н/д	-4.03	-4.76	(-)0.73	-12.8	эксп, [279]
		-14.36	-3.54	-0.43	-4.41	-6.05	-1.39	-13.51	расч ^c

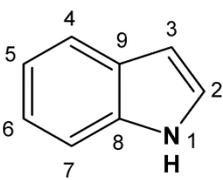
^a Экспериментальные спектры регистрировались в растворе ДМСО- D_6

^b Положение изотопной метки

^c В настоящей работе

В таблице 22 представлены экспериментальные и расчетные значения констант ${}^nJ_{CN}$ в [${}^{15}\text{N}$]индоле. Полученные в данной работе экспериментальные данные имеют большое значение для формирования целостной картины о структуре и константах в пятичленных азотсодержащих гетероциклических соединениях. Высокая степень корреляции между полученными экспериментальными данными и квантово-химическим расчетом вместе с результатами для производных индазола показана на рисунке 37.

Таблица 22. Экспериментальные и расчетные значения констант ${}^nJ_{CN}$ (Гц) в индоле.

Соединение	${}^1J_{C2N}$	${}^2J_{C3N}$	${}^3J_{C4N}$	${}^4J_{C5N}$	${}^3J_{C6N}$	${}^2J_{C7N}$	${}^1J_{C8N}$	${}^2J_{C9N}$	Лит.
	-13.08	-2.55	-1.19	(+)0.14	-2.02	-1.63	-15.37	-4.80	эксп ^a
(270)	-14.27	-3.65	-1.40	0.18	-2.12	-1.63	-16.41	-5.91	расч ^a

^a В настоящей работе.

На рисунке 37 показана корреляция между экспериментальными и расчетными значениями КССВ ${}^nJ_{CN}$ в ряду индазолов **261-269** и индола **270**, где $n = 1 - 4$. В этом случае также весь набор констант представляется в виде одного кластера, что характеризует хорошую степень корреляции между теорией и экспериментом.

Для статистической обработки экспериментальных и рассчитанных сопряжений была использована двухпараметрическая линейная регрессионная модель уравнения **14**.

Для уравнения **14** в серии исследуемых соединений (53 КССВ) коэффициент корреляции равен 0.99 при значении коэффициента наклона ($\alpha = 1.10 \pm 0.02$) и свободного члена ($\beta = -0.18 \pm 0.10$). Объединенные данные для 53 констант позволяют наглядно продемонстрировать высокую сходимость расчетных значений для всех измеренных КССВ в ряду пятичленных азотсодержащих гетероциклов. Стандартное отклонение для всей выборки данных составляет 0.59 Гц, что позволяет надежно определить знак КССВ, превышающих это значение. Более того, дальние константы через 3 и 4 связи хорошо вписываются в общую картину, которая достоверно описывает структурные параметры в индазолах в соответствии с рассчитанными значениями.

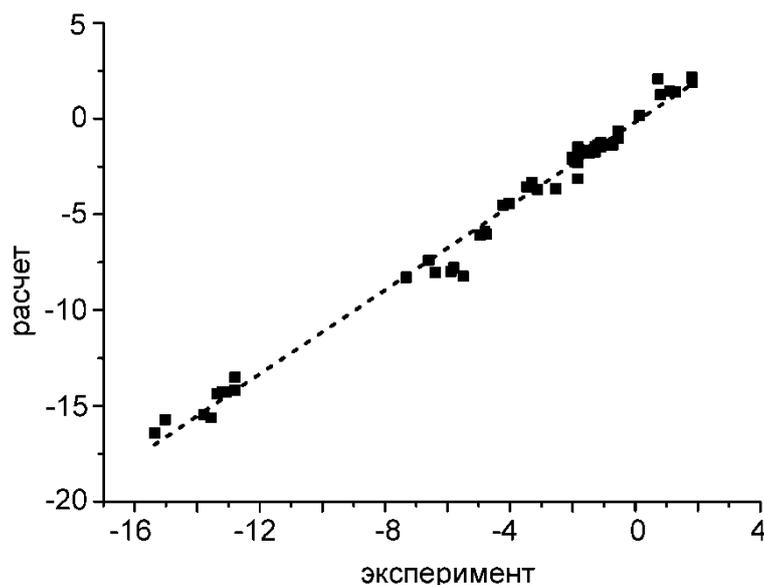


Рисунок 37. Сопоставление расчетных и экспериментальных значений констант ${}^nJ_{CN}$ в серии индазолов **261-269** и в индоле **270**.

3.4.10. Расчет КССВ ${}^nJ_{CN}$ в серии анилинов и анилиниевых ионов

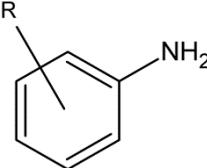
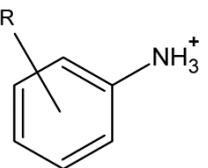
В ароматических аминах **271-283** азот находится в состоянии sp^2 -гибридизации, в котором неподеленная электронная пара атома азота аминогруппы максимально перекрывается с ароматической π -системой. При протонировании аминогруппы, азот

переходит в состояние sp^3 -гибридизации, и на азоте возникает эффективный положительный заряд.

Важным аспектом является изучение поведения прямой КССВ $^1J_{CN}$ в ряду замещенных аминов **46-58** и ионов анилина **284-294**, поскольку протонирование приводит к изменению типа гибридизации атома азота и, следовательно, величины КССВ.

Таким образом, экспериментальные и расчетные значения констант $^1J_{CN}$ представлены в таблице 23.

Таблица 23. Экспериментальные [280] и расчетные значения (в настоящей работе) констант $^1J_{CN}$ (Гц) в анилинах^a **271-283** и ионах анилина^b **284-294**.

№		$^1J_{CN}^{эксп}$	$^1J_{CN}^{расч}$	№		$^1J_{CN}^{эксп}$	$^1J_{CN}^{расч}$
271	2,4,6-(Br) ₃	-17.6	-18.47	284	2,4,6-(Br) ₃	-13.5	-12.23
272	2,4-(NO ₂) ₂	-16.9	-19.27	285	2-NO ₂ , 4-Cl	-11.0	-8.29
273	4-NO ₂	-14.7	-13.51	286	2-Br	-11.0	-8.13
274	3-Cl	-13.2	-10.77	287	2-Cl	-10.9	-7.69
275	3-Br	-13.2	-10.81	288	2-NO ₂	-10.4	-7.63
276	3-CF ₃	-12.5	-11.40	289	4-NO ₂	-9.2	-4.50
277	3-OCH ₃	-12.5	-10.03	290	4-Br	-9.2	-4.60
278	4-Cl	-12.5	-10.76	291	4-Cl	-9.1	-4.69
279	4-Br	-12.5	-10.76	292	4-F	-8.6	-4.95
280	H	-12.1	-10.18	293	H	-8.6	-6.77
281	3-CH ₃	-11.8	-10.12	294	3-Br	-7.9	-4.03
282	4-CH ₃	-11.8	-10.02				
283	4-OCH ₃	-11.0	-9.59				

^a 1.0 M solution in DMSO-D₆

^b 1.0 M solution in HFSO₃

Как видно из приведенных значений в случае анилинов, расположение заместителей в бензольном кольце молекулы оказывает существенное влияние на величину КССВ. Хорошо известно, что электронные свойства заместителя, по-разному влияют на величину константы. Например, для 4-нитроанилина, содержащего электроноакцепторный заместитель, значение константы $^1J_{CN} = -14.7$ Гц, в то время как донорный заместитель СН₃О в 4-метоксианилина изменяет значение константы $^1J_{CN} = -11.0$ Гц. Поскольку заместители находятся на значительном расстоянии относительно аминогруппы, изменения значений КССВ в основном обусловлены электронными эффектами в молекуле. Благодаря тому, что константа $^1J_{CN}$ в анилинах изменяется даже при введении заместителя в удаленное

para-положение, значения констант изменяются в широком диапазоне, что может быть использовано в структурных исследованиях.

Расчетные и экспериментальные значения констант спин-спинового взаимодействия $^1J_{CN}$ в анилинах в солях анилина находятся в хорошем соответствии. В линейной модели коэффициент корреляции равен $R = 0.95$.

Как видно из таблицы 23, значения констант $^1J_{CN}$ в протонированной форме анилинов **284-294** находятся в диапазоне от -13.5 до -7.9 Гц и заметно отличаются от аналогичных значений для непротонированных анилинов. Следует отметить, что наблюдается заметное уменьшение величины констант по модулю. При протонировании анилина, азот переходит в состояние sp^3 -гибридизации и нарушается планарная конформация аминогруппы. Хотя диапазон значений констант $^1J_{CN}$ остается примерно таким же, как и соответствующий диапазон значений для анилинов, изменяется воздействие заместителей на величины КССВ.

Для ряда исследованных анилинов четко прослеживается значительное влияние электронного эффекта заместителя в бензольном кольце, тогда как для ионов анилина значения прямых констант в меньшей степени зависят от электронных свойств заместителей, например, для соединений **289** и **290**, где в *para*-положении находятся заместители с противоположным π -электронным эффектом, значение константы остается одинаковым.

Таким образом, детальное исследование показывает, что существует сильный и систематический электронный эффект взаимодействия между заместителями. И эти эффекты четко проявляются в прямых КССВ ^{13}C - ^{15}N . Природа этого эффекта пока не ясна, и его стоит изучить более детально.

В таблице 24 приведены значения дальних констант $^3J_{CN}$ и $^4J_{CN}$ азота с ароматическими атомами углерода в анилине и дифениланилине. Стоит особо отметить, что по результатам представленным в таблицах 17, 18, 19, 21 и 22, дальние КССВ $^3J_{CN}$ и $^4J_{CN}$ совпадают с экспериментальными значениями в пределах 0.5 Гц.

Таблица 24. Экспериментальные и расчетные значения констант $^nJ_{CN}$ (Гц) в анилине и дифениламинe.

Вещество	$^1J_{CN}$	$^2J_{CN}$	$^3J_{CN}$	$^4J_{CN}$	Лит.
Анилин	-11.47	-2.67	-1.29	(-)0.27	эксп [281]
(280)	-10.18	-3.33	-1.23	-0.47	расч ^a
Дифениламин	-15.3	-2.3	-1.5	н/д	эксп [282]
(295)	-17.75	-2.66	-1.87	(-)0.04	расч ^a

^a В настоящей работе

Существенное влияние на значение констант оказывает заместитель в *орто*-положении по отношению к протонированной аммониевой группе. Следует отметить, что природа свойств заместителя играет незначительную роль; расположение двух объемных заместителей в *орто*-положениях бензольного кольца оказывает гораздо большее влияние на величину константы. Таким образом, стерическое препятствие двух заместителей в *орто*-положении друг к другу к аммониевой группе может привести к заметному увеличению модуля константы ${}^1J_{CN}$.

Как и в случае анилинов, рассчитанные значения КССВ ${}^1J_{CN}$ в серии анилиниевых ионов дают завышенную оценку и наблюдается систематическая ошибка. Однако, следует отметить, что в рассчитанных значениях констант все же ощущается динамическое изменение характера влияния на прямую константу. Для тех же соединений **289** и **290** рассчитанные значения констант отличаются на 4.5 Гц от экспериментальных, но они отличаются друг относительно друга всего на 0.1 Гц, как и в случае экспериментальных значений.

Такая серьезная систематическая ошибка в расчетах может быть вызвана рядом факторов. В случае неполного протонирования аминогруппы в экспериментальных условиях КССВ ${}^1J_{CN}$ будет представлять собой среднее значение вкладов двух форм свободного анилина и анилинового иона. В случае протонированных соединений и влияния стерического эффекта важную роль играет выбор растворителя, как для регистрации спектра, так и для квантово-химических расчетов. Расчеты в приближении изолированной молекулы дают очень точные оценки связей для объектов, слабо взаимодействующих с растворителем.

На Рисунок 38 показана корреляция между экспериментальными и расчетными значениями всего набора КССВ ${}^nJ_{CN}$, изученных в данной работе.

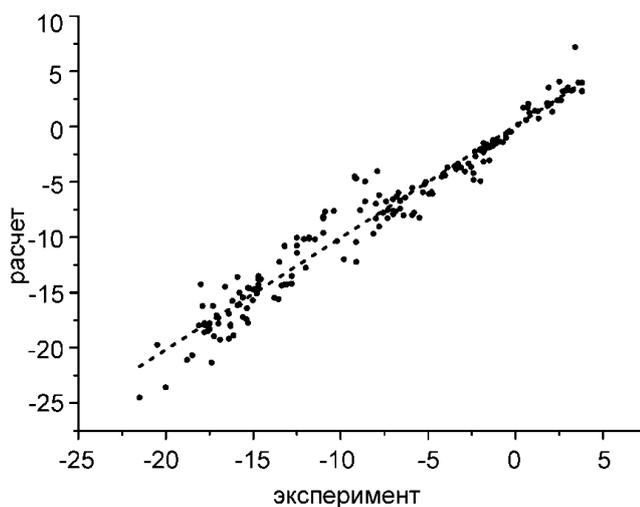


Рисунок 38. Общая корреляция между расчетными и экспериментальными значениями КССВ ${}^nJ_{CN}$ во всех исследованных соединениях.

Для статистической обработки экспериментальных и рассчитанных связей использовалась двухпараметрическая модель линейной регрессии.

Для уравнения **14** в серии изученных соединений (193 КССВ) коэффициент корреляции равен 0.98 при значении коэффициента наклона, незначительно отличающемся от единицы ($\alpha = 1.01 \pm 0.01$) и свободного члена ($\beta = 0.08 \pm 0.16$). Совокупность данных по 193 константам демонстрирует высокую сходимость рассчитанных значений и возможность использования этих регрессионных схем для предсказания неизвестных экспериментальных значений. Среднеквадратичное отклонение для всей выборки данных составляет 1.48 Гц, что позволяет надежно определять знак констант, превышающих это значение.

3.4.11. Расчет химических сдвигов ядер ^{15}N

Химические сдвиги ^{15}N рассчитаны методом FPT-DFT в приближении B3LYP с базисом 6-311++G(2df,2p). Статистическая обработка всех данных проводилась в терминах однопараметрической линейной регрессионной модели:

$$\delta^{\text{exptl}} = \alpha \delta^{\text{calcd}} + \beta. \quad (15)$$

В случае химических сдвигов ядер ^{15}N коэффициент корреляции равен 0.99 при значении коэффициента наклона, ($\alpha = -1.17 \pm 0.01$) и свободного члена ($\beta = 263.9 \pm 10.0$). Среднеквадратичное отклонение экспериментальных и рассчитанных химических сдвигов составляет 37 м.д. (Рисунок 39).

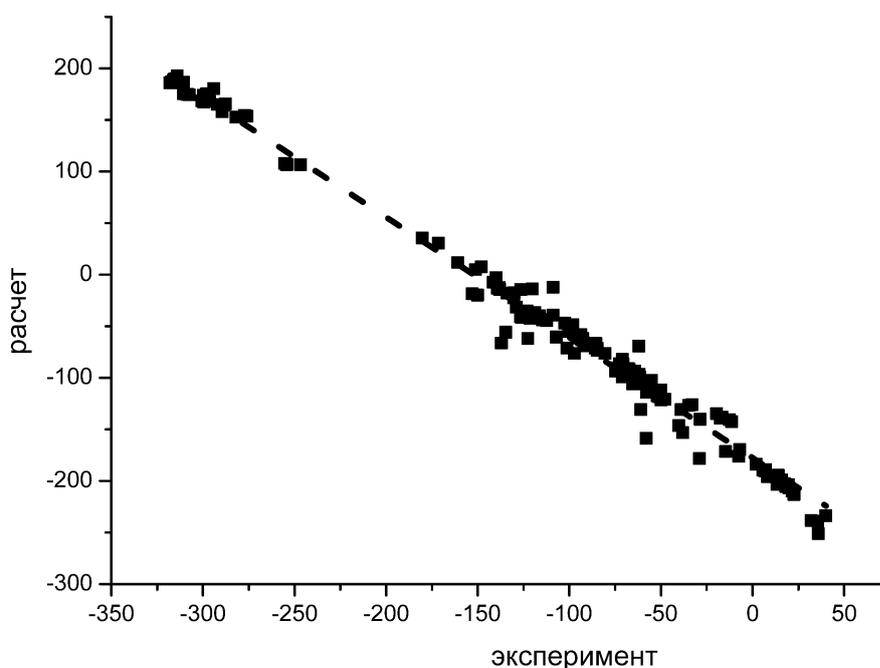


Рисунок 39. Сопоставление экспериментальных и расчетных значений химических сдвигов в серии шестичленных азотсодержащих соединений.

Кластерный анализ совокупности экспериментальных и рассчитанных значений параметров спектроскопии ЯМР ^{15}N , а также используемая в настоящей работе форма представления теоретических и экспериментальных данных в виде двумерного кросс-корреляционного отображения может дать четкое и достоверное представление о строении азотсодержащего соединения по данным ядерного магнитного резонанса.

Растворитель по-разному взаимодействует с различными классами азотсодержащих соединений, напротив, для соединений одного класса или структурного мотива следует ожидать схожий эффект растворителя, в том числе и на величины химических сдвигов.

3.5. Конформационные равновесия

Основные понятия конформационного анализа были сформулированы в работе Хендрикса [283]. Автор впервые определил понятие семейства конформаций, а также предложил их качественное описание, в частности, количественные характеристики формы циклических молекул на основе формализма параметров складчатости цикла и угла псевдовращения, которые были впервые введены в работе Килпатрика [284]. В конформационном анализе рассматривают различные способы перехода одного конформера в другой, но наиболее часто реализуемый переход вызван вращением относительно связей.

Взаимные превращения конформеров описывается населенностью соответствующих форм и скоростями реакций в терминах химической кинетики и динамики [285]. Наряду с классической медленной кинетикой в практике широко используется подход, основанный на динамических эффектах спектроскопии ЯМР [286]. В последние годы главный аспект изучения конформационного анализа сместился в область анализа молекулярных структур динамических объектов [286]. При этом рассматриваемые объекты характеризуются не дискретным набором состояний, а непрерывным множеством конформаций с плавно меняющимися свойствами, такими как геометрические параметры, энергия системы, дипольный момент, химические сдвиги, константы спин-спинового взаимодействия и т.д.

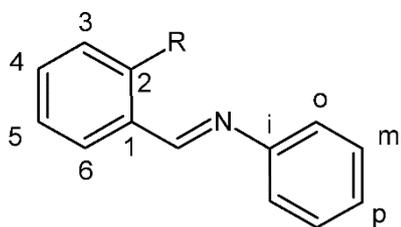
Молекулярные системы могут иметь множество конформаций, большинство из которых реализуются под действием теплового возмущения. Некоторые конформационные взаимопревращения возможно замедлить, снизив температуру, и обнаружить уникальные конформационные состояния молекулы. Интересной представляется ситуация, когда конформационный переход затруднен и не реализуется в заданном нами диапазоне температур, однако возможен под действием другого, иного от теплового, внешнего

воздействия. Именно такие переходы представляют особый интерес в области структурной химии и лежат в основе молекулярных переключателей.

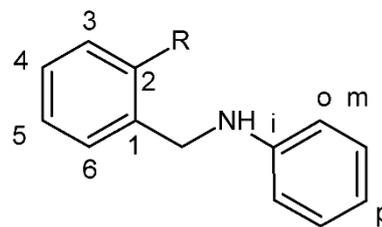
Молекулярные системы, обратимо меняющие относительное положение своих составных частей под внешним влиянием, называют механическими или конформационными молекулярными переключателями. [287, 288]. Интересные результаты были получены для производных бензилиденанилина, которые служат перспективными соединениями для конструирования молекулярных переключателей [289].

3.5.1. Выбор объектов

Для проведения исследований конформационных равновесий производных бензилиденанилинов и бензиланилинов нами были выбраны объекты, содержащие *орто*-заместитель в бензальдегидном кольце. В данных соединениях возможно взаимодействие *орто*-заместителей с неподеленной электронной парой атома азота в нейтральных молекулах или со связью N⁺-H в протонированных формах. Заместители при *мета*- и *пара*-углеродных атомах находятся на слишком большом расстоянии от атома азота и не будут взаимодействовать с ним. В зависимости от электронных свойств, расположение заместителей в *орто*-положении может как способствовать, так и препятствовать образованию внутримолекулярной водородной связи.



R = H (**200**), -CH₃ (**201**), -F (**202**),
-OH (**203**), -OCH₃ (**204**).



R = H (**205**), -CH₃ (**206**), -F (**207**),
-OH (**208**), -OCH₃ (**209**).

Схема 79. Нумерация атомов в изученных соединениях.

Родоначальником ряда соединений, изученных в данной работе, является бензилиденанилин **200** и бензиланилин **205** (Схема 79). Эти соединения служат отправной точкой при изучении конформационного поведения исследуемых объектов. При введении заместителей возникают внутримолекулярные эффекты, такие как стерическое отталкивание и/или невалентное взаимодействие с удаленным протоном в закисленных формах основания шиффа [290]. Среди ряда изученных соединений, по нашему мнению, особый интерес представляет фтор как заместитель. Этот элемент широко представлен в спектре новых лекарственных препаратов (см., например, обсуждение в [211, 291]). Новые данные о параметрах водородных связей атома фтора с удаленным протоном могут

оказаться полезными при оценке механизмов молекулярного распознавания в комплексах гость-хозяин со сложными органическими лигандами [292].

Для соединения **201** характерно стерическое отталкивание метильной группы от удаленного атома азота, как за счет невалентных взаимодействий с неподеленной электронной парой азота, соединение **201**, так и за счет отталкивания от атомов водорода протонированной по азоту формы (**201a**).

Примерно 40% лекарственных соединений содержат в своем составе атом фтора, а азот является одним из важнейших биогенных элементов. Изучение взаимодействия данных атомов является актуальной задачей. Отталкивание неподеленной электронной парой атомов азота и фтора в соединении **202** и **207** должно приводить к дестабилизации конформации, когда эти атомы располагаются близко в пространстве. С другой стороны, атом фтора обладает способностью к образованию прочной водородной связи, которая может возникнуть при протонировании соединения **202** и **207**.

Хорошо известно, что в соединении **203** наблюдается образование внутримолекулярной водородной связи между O-H...N [289], а также внутримолекулярный фотоиндуцированный перенос протона с образованием хиноидной структуры. При протонировании соединения **203** возникает возможность образования внутримолекулярной водородной связи между атомом кислорода гидроксильной группы и кватернизованным атомом азота. Для исключения возможности фотоиндуцированного переноса протона нами предложено синтезировать соединение **204**.

В настоящей работе охарактеризовано взаимодействие находящихся в удаленном от атома азота бензольном кольце групп H, CH₃, F, OH и OCH₃ с неподеленной парой электронов азота бензилиденанилина и со связью H-N⁺ соответствующих протонированных форм. Данные эксперимента сопоставляются с результатами квантовомеханических расчетов потенциалов внутреннего вращения вокруг связи Ar-CH и KCCB ¹³C-¹⁵N во всех этих структурах. Имеющиеся литературные данные позволяют рассчитывать на то, что ключевая информация о динамической структуре этих объектов может быть получена с использованием KCCB ¹⁵N-H и ¹⁵N-¹³C [293, 294]. В работе синтезирована серия селективно меченых изотопом ¹⁵N соединений, зарегистрированы спектры ЯМР высокого разрешения с использованием техники ЯМР ¹³C-титрования, проведен “встречный” квантовомеханический расчет ППЭ и целевых KCCB ¹⁵N-¹³C для канонических конформаций изучаемых молекул, как в форме свободных оснований, так и в протонированных формах. В работе на этой базе сделана оценка конформационного состояния в ряду исследуемых молекулярных систем и проанализирована возможность построения молекулярных переключателей нового типа, основанных на рассматриваемом структурном мотиве.

Для характеристики структурных фрагментов бензольного кольца с удаленным атомом азота в связях $-\text{C}=\text{N}-\text{Ph}$, $-\text{C}=\text{NH}^+-\text{Ph}$, $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{Ph}$ и $-\text{CH}_2-\text{NH}_2^+-\text{Ph}$ использовали КССВ, которые, как правило, хорошо «чувствуют» особенности геометрии молекулы. В настоящей работе была предпринята попытка использовать для этой цели КССВ с участием ядер азота и углерода ${}^nJ({}^{13}\text{C}-{}^{15}\text{N})$.

Протонирование азота в ряду модельных соединений **200-209** в ряде случаев может способствовать образованию внутримолекулярной водородной связи, с перестройкой каркаса молекулы. Изменение геометрии молекулы не единственная причина изменения КССВ с атомом азота. Возникновение эффективного положительного заряда может существенным образом изменить величины КССВ, даже без изменения геометрии молекулы. В работе [294] нами проводились исследования соответствия экспериментальных и расчетных КССВ с участием изотопа ${}^{15}\text{N}$. Было показано [294], что протонирование соединений с жестким каркасом приводит к изменениям в величинах КССВ ${}^nJ_{\text{CN}}$, мы полагаем, что разработанный подход может служить перспективным инструментом для описания конформационных равновесий с использованием значений КССВ, которые зависят как от геометрии молекулы, так и от степени протонирования атома азота.

Расшифровку изученных соединений проводили на основе совокупности спектров: ${}^1\text{H}$, ${}^{13}\text{C}$, COSY, HSQC и HMBS. Отнесение сигналов делали на основании стратегии, следующей из принципа наибольшей простоты. Отнесение сигналов в спектре ЯМР ${}^1\text{H}$ замещенного бензольного кольца сделано из соображений согласованного эффекта двух *орто*-заместителей $-\text{F}$ (+M эффект) и $-\text{CH}=\text{N}-\text{Ph}$ (-M эффект), а также из мультиплетности пиков.

В отличие от протонных спектров мультиплетность линий в спектрах ЯМР ${}^{13}\text{C}$ со спиновой развязкой от протонов значительно проще. Среди изученных объектов наиболее сложный случай представляют соединения, содержащие атом фтора **202** и **207**. Фтор вносит дополнительную мультиплетность в спектры ЯМР ${}^{13}\text{C}$. Прямая КССВ ${}^1J_{\text{CF}}$ имеет весьма характерную величину в районе 250 Гц, так для атома углерода C-2 в соединении **202** значение ${}^1J_{\text{CF}} = 253.02$ Гц, а в соединении **207** значение ${}^1J_{\text{CF}} = 245.66$ Гц, что заметно облегчает расшифровку мультиплетной структуры в спектрах ${}^{13}\text{C}$. Однако дальние КССВ со фтором могут принимать значения сопоставимые с КССВ с атомом ${}^{15}\text{N}$. В соединении **202** атомы углерода: C-1, C-6 и CH проявляются в виде дублетов дублетов, с сопоставимыми КССВ. Для расшифровки данных мультиплетов, мы синтезировали небогатенные по азоту аналоги соединений **202** и **207**, в которых данные атомы углерода в спектрах ЯМР ${}^{13}\text{C}$ проявляются в виде дублетов с КССВ с атомом фтора.

На рисунке изображены фрагменты спектров ЯМР ^{13}C для соединения **202** и его небогащенного аналога.

Следует отметить, что данный подход также был использован для определения КССВ $^nJ_{\text{CN}}$ в протонированных формах соединений **202** и **207**, поскольку там также в спектрах ^{13}C , некоторые атомы углерода проявлялись в виде дублета дублетов с сопоставимыми по величинам КССВ атома углерода с ядрами фтора и азота.

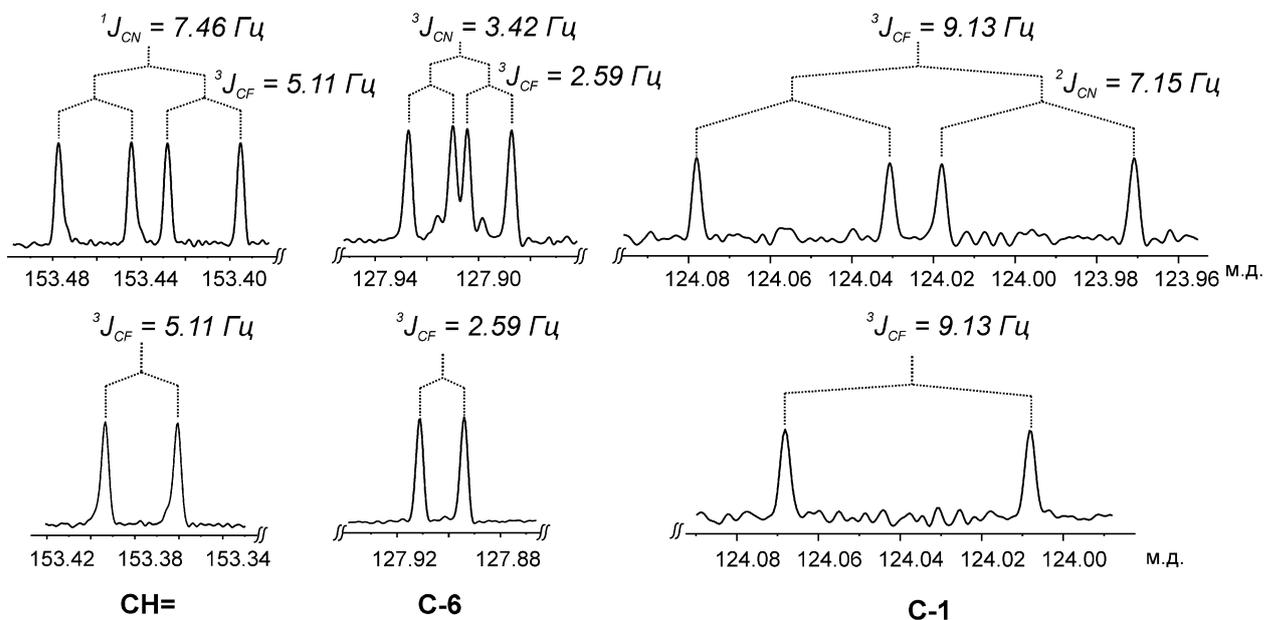


Рисунок 40. Фрагменты спектров ЯМР ^{13}C для соединения **202** и его небогащенного аналога.

Надежное отнесение сигналов с спектров ЯМР ^1H и ^{13}C является определяющим фактором при изучении динамической структуры данных объектов.

3.5.2. Протонирование исследуемых соединений

Для изучения конформационного поведения мы провели серию экспериментов по методике ЯМР-титрования. При этом надо было подобрать титрант, чтобы он обеспечивал переход от основной формы к кислотной таким образом, чтобы мы могли надежно характеризовать конформационные свойства протонированных форм изученных оснований. В ходе предварительных экспериментов в качестве титранта мы использовали трифторуксусную кислоту, при этом сами эксперименты проводили в среде дейтерированного метанола или ацетонитрила- D_3 . При этом оказалось, что для всех изученных систем линии в спектрах ЯМР ^1H оказались сильно уширенными. Для того чтобы получить более информативные спектры, мы использовали более сильную безводную трифторметансульфоновую кислоту и эксперименты проводили в растворе сухого дейтерированного хлороформа. При проведении титрования с концентрацией титруемого вещества 10-20 мг на 680 мкл р-ра точка эквивалентности исследуемых

соединений может быть определена с точностью порядка 10%. Причем линии протонированной формы оказываются достаточно узкими для того, чтобы разрешалась мультиплетная структура, необходимая для надежной характеристики конформационного состояния молекулы.

Следует отметить, что мультиплетность ароматических протонов всех изученных соединений остается довольно сложной, и их расшифровка не входит в задачи данной работы. Напротив, мультиплетность линий в спектрах ЯМР ^{13}C со спиновой развязкой от протонов оказываются значительно проще. Для $[^{15}\text{N}]$ обогащенных соединений появляется возможность определить КССВ ^{13}C - ^{15}N с достаточно высокой точностью (Таблица 25).

При протонировании соединений **203** и **204** в спектрах ЯМР ^1H наблюдалось разрушение целевого бензилиденанилина по реакции гидролиза, соединения оказались неустойчивыми. Для всех остальных протонированных форм был зарегистрирован полный набор спектров ЯМР необходимый как для определения КССВ, так и для отнесения сигналов. Следует отметить, что смещение положения сигналов атомов водорода и углерода было значительным и требующим применение двумерной ЯМР спектроскопии для полной расшифровки всех протонированных форм соединений **200-202** и **205-209**. Данные по КССВ протонированных форм серии соединений приведены в таблице 25.

Таблица 25. Экспериментальные и рассчитанные значения КССВ ^{13}C - ^{15}N (Гц) в серии изученных соединений и их протонированных форм.

Тип КССВ	200		200a		205		205a	
	Эксп.	Расч.	Эксп.	Расч.	Эксп.	Расч.	Эксп.	Расч.
$^2\text{J}_{\text{C1N}}$	-6.69	-7.7		0.4	-0.57	-0.9	0.74	0.6
$^3\text{J}_{\text{C2N}}$	-2.94	-3.5	-1.95	-3.0	-1.39	-1.1	-0.73	-0.9
$^4\text{J}_{\text{C3N}}$		0.2		0.3		0.4		0.9
$^5\text{J}_{\text{C4N}}$	-0.74	-1.2		-1.1		-0.6		-1.0
$^4\text{J}_{\text{C5N}}$		0.0		0.0		0.0		0.0
$^3\text{J}_{\text{C6N}}$		0.0		0.0		0.0		0.0
$^1\text{J}_{\text{CiN}}$	-1.3	-0.7	-12.83	-13.2	-12.88	-11.6	-8.53	-4.8
$^2\text{J}_{\text{CoN}}$	-2.9	-3.4	-1.18	-2.1	-2.43	-2.8	-1.59	-2.1
$^3\text{J}_{\text{CmN}}$	-1.48	-1.5	-2.17	-2.5	-1.29	-1.2	-1.86	-1.9
$^4\text{J}_{\text{CpN}}$		0.0		1.0		-0.5		0.5
$^1\text{J}_{\text{C}\alpha\text{N}}$	-7.28	-8.3	-17.86	-19.3	-9.66	-8.2	± 3.62	0.1

Тип КССВ	201		201a		206		206a	
	Эксп.	Расч.	Эксп.	Расч.	Эксп.	Расч.	Эксп.	Расч.
$^2\text{J}_{\text{C1N}}$	-6.31	-7.4		0.3	-0.47	-0.5	0.72	0.7
$^3\text{J}_{\text{C2N}}$	-2.34	-3.2	-2.92	-3.3	-1.06	-0.65	-0.82	-0.9
$^4\text{J}_{\text{C3N}}$		0.0		0.3		0.6		0.8
$^5\text{J}_{\text{C4N}}$		-1.1		-1.2		-0.64		-1.0
$^4\text{J}_{\text{C5N}}$		0.4		0.4		0.57		0.9
$^3\text{J}_{\text{C6N}}$	-3.35	-4.8	-1.87	-2.7	-1.35	-1.01	-0.72	-1.0
$^1\text{J}_{\text{CiN}}$	-1.17	-0.6	-12.8	-13.4	-12.75	-11.2	-8.46	-4.8
$^2\text{J}_{\text{CoN}}$	-2.88	-3.4	-1.59	-2.1	-2.42	-2.83	-1.59	-2.1

$^3J_{CmN}$	-1.45	-1.5	-2.31	-2.5	-1.28	-1.17	-1.85	-1.9
$^4J_{CpN}$		0.4	0.68	0.9		-0.48		0.5
$^1J_{C\alpha N}$	-6.8	-8.1	-18.09	-19.3	-9.6	-7.67	± 3.65	0.2

Тип КССВ	202		202а		207		207а	
	Эксп.	Расч.	Эксп.	Расч.	Эксп.	Расч.	Эксп.	Расч.
$^2J_{C1N}$	-7.17	-8.2		0.9	0.65	-0.6	-0.67	-0.7
$^3J_{C2N}$	-2.67	-3.1	-2.81	-1.5	-1.18	-0.9	-0.84	-0.8
$^4J_{C3N}$		0.1		0.7		0.6		0.6
$^5J_{C4N}$	-0.75	-1.1		-1.2		-0.6		-0.6
$^4J_{C5N}$		0.5		0.19		0.6		0.5
$^3J_{C6N}$	-3.43	-4.5		-3.4	-1.28	-0.7	-0.69	-1.2
$^1J_{CiN}$	-1.34	-0.6	-12.62	-13.0	-12.76	-11.1	-8.4	-5.2
$^2J_{CoN}$	-2.95	-3.4	-1.54	-2.1	-2.47	-2.9	-1.53	-2.2
$^3J_{CmN}$	-1.50	-1.6	-2.29	-2.6	-1.32	-1.2	-1.88	-2.0
$^4J_{CpN}$	-0.34	-0.4		1.1		-0.5		0.5
$^1J_{C\alpha N}$	-7.51	-8.5	-17.03	-19.1	9.85	-7.9		0.0

Продолжение таблицы 25

Тип КССВ	203		203а		208		208а	
	Эксп.	Расч.	Эксп. ⁶	Расч.	Эксп.	Расч.	Эксп.	Расч.
$^2J_{C1N}$	-3.27	-3.7		0.74		-0.7		0.6
$^3J_{C2N}$	-0.52	-0.8		-1.00		-0.6	-0.55	-0.6
$^4J_{C3N}$		0.24		0.66		0.3		0.6
$^5J_{C4N}$	-0.84	-1.1		-1.17		-0.4		-0.6
$^4J_{C5N}$		-0.0		0.07		0.2		0.4
$^3J_{C6N}$	-2.59	-2.7		-3.29	-1.20	-1.3		-1.3
$^1J_{CiN}$	-3.83	-3.1		-13.23	-13.34	-8.8	-8.5	-5.7
$^2J_{CoN}$	-2.80	-3.2		-2.08	-2.34	-2.7	-1.41	-2.2
$^3J_{CmN}$	-1.76	-1.7		-2.47	-1.20	-1.2	-1.69	-1.9
$^4J_{CpN}$	0.52	0.5		0.98		-0.3	-0.59	0.4
$^1J_{C\alpha N}$	-7.24	-7.6		-18.30		0		0.0
$^5J_{HOCC}$ CN	1.71	3.5		0.74		-5.1		-1.0

Тип КССВ	204		204а		209		209а	
	Эксп.	Расч.	Эксп. ⁶	Расч.	Эксп.	Расч.	Эксп.	Расч.
$^2J_{C1N}$	-6.88	-7.90		0.8	-0.46	-0.6	0.76	0.7
$^3J_{C2N}$	-2.54	-3.00		-0.8	-1.09	-0.7	-0.51	-0.5
$^4J_{C3N}$		0.09		0.6		0.5		0.6
$^5J_{C4N}$	-0.78	-1.14		-1.1		-0.5		-0.6
$^4J_{C5N}$	0.28	0.47		0.1		0.4		0.5
$^3J_{C6N}$	-3.56	-4.74		-3.3	-1.3	-1.0	-0.92	-1.3
$^1J_{CiN}$	-1.32	-0.63		-13.4	-13.48	-10.7	-8.52	-6.3
$^2J_{CoN}$	-2.93	-3.49		-2.1	-2.39	-2.9	-1.57	-2.2
$^3J_{CmN}$	-1.45	-1.50		-2.4	-1.26	-1.1	-1.82	-1.9
$^4J_{CpN}$	0.29	0.37		0.9		-0.5		0.4
$^1J_{C\alpha N}$	-7.19	-8.35		-17.9	-10.44	-7.1	-4.01	-0.9

^a Значение КССВ $J(^{13}C-^{15}N)$ меньше наблюдаемой ширины линии ^{13}C .

⁶ Соединение неустойчиво.

3.5.3. Расчет сечения ППЭ внутреннего вращения

Теоретическое описание динамической структуры производных бензилиденанилинов **200-205** основано на предположении, что она определяется вращением бензольных колец вокруг связи C₂-C₁-C₇-N (угол φ) (Схема 80). Здесь и в дальнейшем, нулевое значение для угла φ (C₂-C₁-C₇-N) соответствует плоской конформации молекулы.

Для построения поверхности потенциальной энергии производных бензилиденанилина использовали метод сканирования по двугранному углу φ (C₂-C₁-C₇-N).

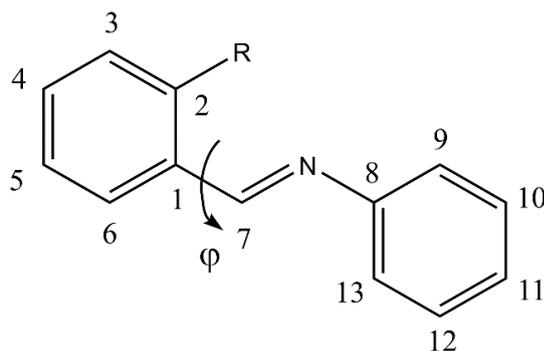


Схема 80. Нумерация атомов в производных бензилиденанилина.

Оптимизацию структуры для каждой точки проводили методом FPT DFT (B3LYP) с базисными функциями 6-311++G(2d,p) с использованием программного комплекса GAUSSIAN 09 [155, 159].

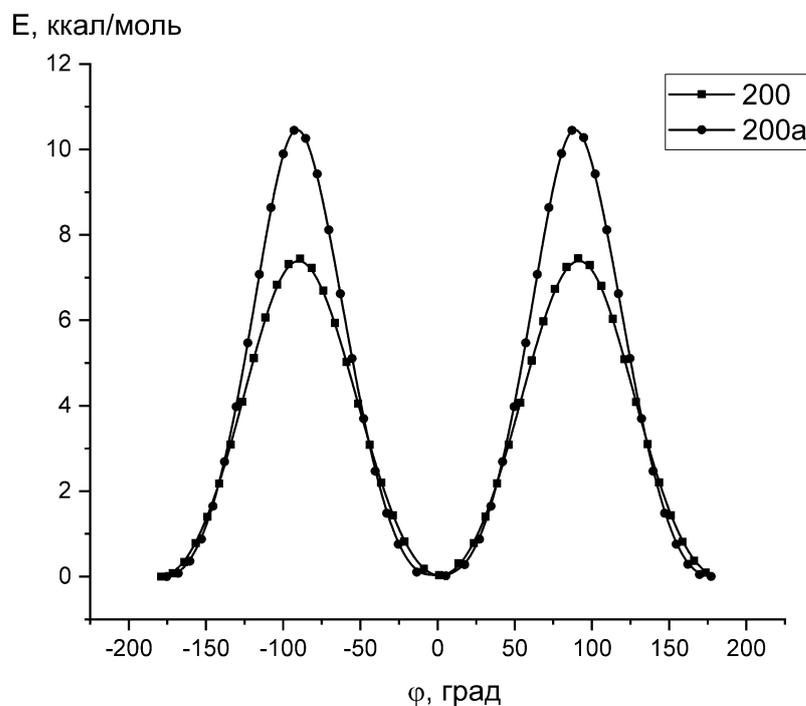


Рисунок 41. Сечение поверхности потенциальной энергии бензилиденанилина **200** и его протонированной формы **200a** как функция двугранного угла φ .

Оба потенциала вращения являются периодическими функциями с периодом 180° (Рисунок 41). Минимум энергии достигается при значении двугранного угла $\varphi=0^\circ$, а максимум - при $\varphi = 90^\circ$. Протонирование бензилиденанилина практически не влияет на характер ППЭ вблизи минимума ($\varphi = 0^\circ$), однако оно довольно сильно сказывается на конформационном поведении системы вблизи максимума. Максимальное значение энергии бензилиденанилина достигает 7.45 ккал/моль при $\varphi = \pm 90^\circ$, энергия протонированной формы оказывается на 3.12 ккал/моль выше при аналогичном значении двугранного угла. Анализ конформационного поведения системы показывает, что вращение одного кольца происходит независимо от другого. Стоит отметить, что ни в одном из представленных конформационных состояний бензилиденанилина и его протонированной формы не реализуется плоская форма молекулы. Это можно объяснить сильным стерическим отталкиванием протонов иминогруппы и одного из *орто*-протонов анилинового фрагмента ($R_{H-H} = 2.1\text{\AA}$) и азометиновым протоном и другим *орто*-протоном анилинового фрагмента ($R_{H-H} = 2.0\text{\AA}$).

Сечение поверхности потенциальной энергии *орто*-метилбензилиденанилина **201** и его протонированной формы **201a** изображены на рисунке 42.

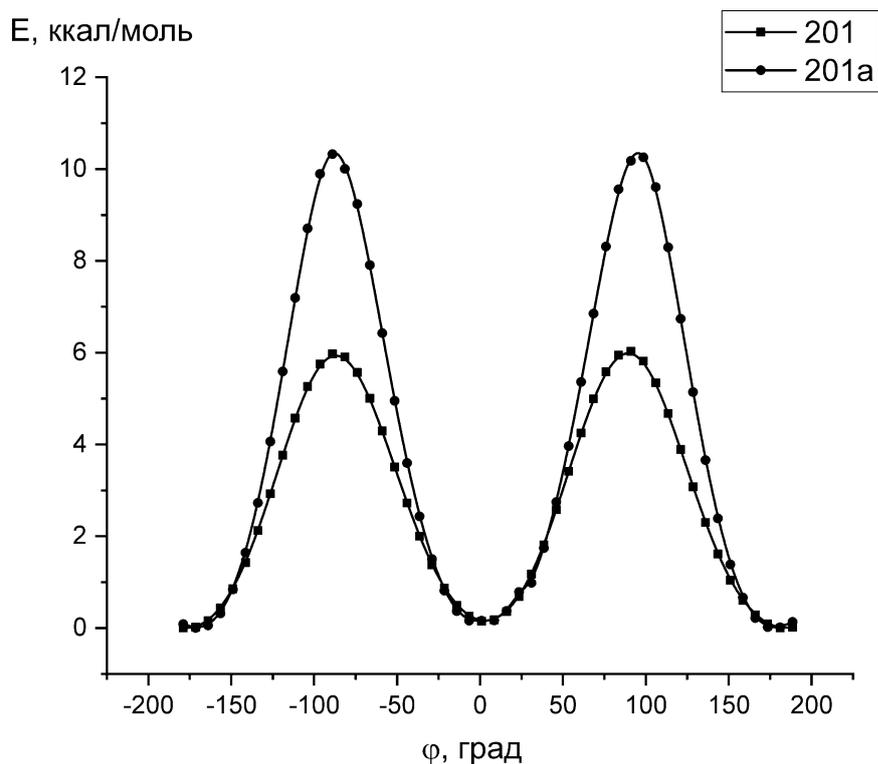


Рисунок 42. Сечение поверхности потенциальной энергии бензилиденанилина **201** и его протонированной формы **201a** как функция двугранного угла φ .

Они имеют схожий характер с ППЭ для незамещенного бензилиденанилина **200** и его протонированной формы **200a**, но не являются периодическими функциями. Глобальный

минимум обеих форм находится при значении двугранного угла $\varphi = -180^\circ$, а при $\varphi = 0^\circ$ наблюдается незначительное стерическое отталкивание между протонами метильной группы и протоном азометиновой группы, которое приводит к повышению энергии на ~ 0.14 ккал/моль. Максимум энергии для соединения **201** (5.97 ккал/моль) находится при значении угла $\varphi = \pm 90^\circ$. Как следовало ожидать, максимум соответствующей протонированной формы **201a** лежит еще выше по энергии – 10.49 ккал/моль. Понижение барьера при введении метильной группы в молекулу бензилиденанилина (соединение **201**) связано со стерическими эффектами, которые обусловлены отталкиванием протонов метильной группы от формильного протона или НЭП атома азота и повышают энергию основного состояния молекулы. Интересно отметить, что эти эффекты, оказываются примерно одинаковыми.

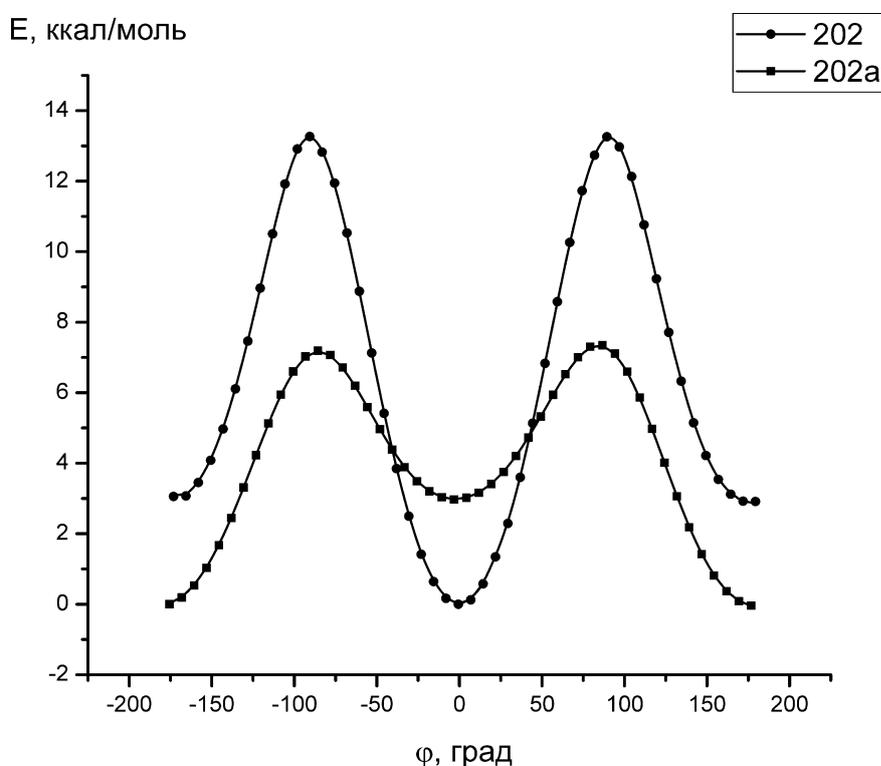


Рисунок 43. Сечение поверхности потенциальной энергии бензилиденанилина **202** и его протонированной формы **202a** как функция двугранного угла φ .

Сечение поверхности потенциальной энергии *орто*-фторбензилиденанилина **202** и его протонированной формы **202a** от двугранного угла представлены на рисунке 43. Стоит отметить, что эти графики довольно сильно отличаются от графиков, представленных выше. Соединение **202** имеет глобальный минимум энергии при $\varphi = -180^\circ$, а при $\varphi = 0^\circ$ наблюдается довольно высокий локальный минимум $E = 2.97$ ккал/моль. В протонированной форме **202a** наблюдается обратная картина: глобальный минимум энергии находится при значении двугранного угла $\varphi = 0^\circ$, а локальный – при $\varphi = -180^\circ$.

Максимумы обоих соединений находятся при $\varphi = \pm 90^\circ$. Как и в предыдущих случаях, максимум протонированной формы соединения **202a** лежит гораздо выше по энергии ($E = 13.37$ ккал/моль), чем максимальное значение энергии для соединения **202** – $E = 7.19$ ккал/моль. Такое поведение потенциалов свидетельствует о том, что при протонировании соединения **202** происходит образование сильной внутримолекулярной водородной связи атома фтора с протоном кватернизованного атома азота азометиновой группы (Рисунок 44).

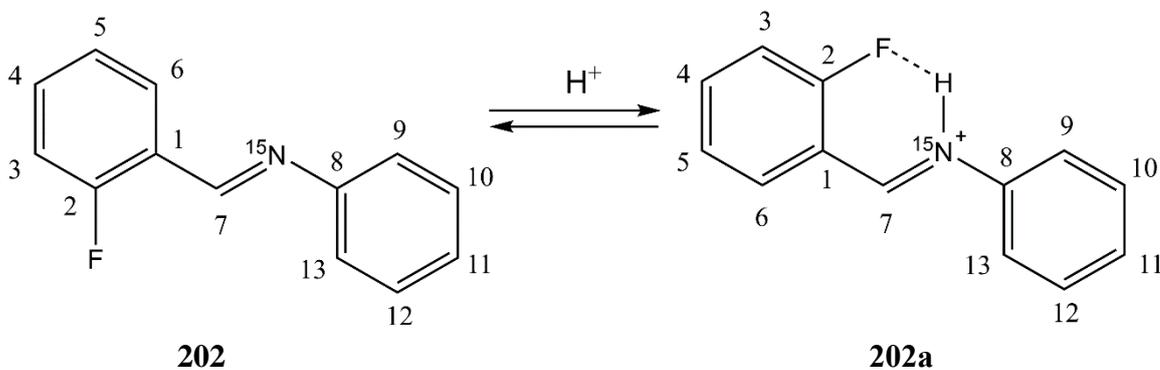


Рисунок 44. Конформационный переход соединения **202** при протонировании.

Энергию этой внутримолекулярной водородной связи можно оценить величиной ~ 6 ккал/моль. Данный результат подтверждается обнаруженным нами необычно большим значением КССВ атома фтора с удаленным атомом азота в соединении **202a** $\{J(^{19}\text{F}-^{15}\text{N}) = -15$ Гц $\}$. Очевидно, что при рассмотрении этой КССВ, как передающейся через систему ковалентных связей, она не может иметь столь высокого значения.

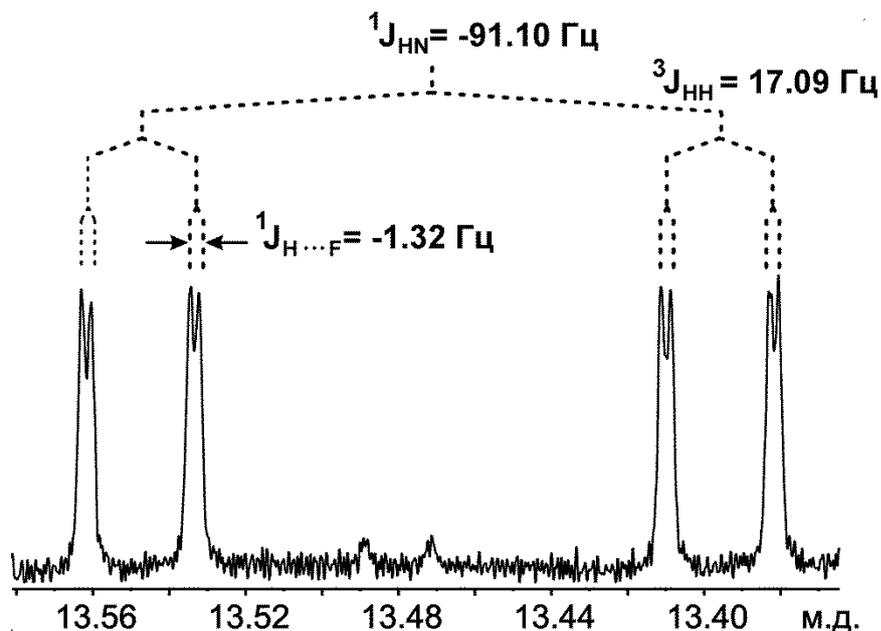


Рисунок 45. Фрагмент спектра ЯМР ^1H протонированной формы $[^{15}\text{N}]$ орто-фторбензилиденанилина, показан сигнал протона кватернизованного атома азота (CD_3CN , 303 К, “Bruker AV-600”).

Единственным разумным объяснением может служить факт образования прочной внутримолекулярной водородной связи. Согласно нашим расчетам, для минимума потенциальной энергии характерным расстоянием между атомом фтора и протоном кватернизованного азота составляет 1.98 Å.

Образование прочной внутримолекулярной водородной связи проявляется в спектрах ЯМР ^1H . Протон кватернизованного атома азота в соединении **202a** проявляется в спектре ЯМР ^1H в виде дублета дублетов дублетов, что соответствует трем расщеплениям. Прямая КССВ с атомом азота ^{15}N и вицинальная константа с протоном метинового фрагмента проявляют весьма характерные значения (Рисунок 45). Дальняя КССВ через пять связей со фтором $^5J_{\text{HF}} = -1.32$ Гц проявляется в спектре благодаря наличию водородной связи, поскольку как передающаяся через систему ковалентных связей, она не может иметь столь высокого значения.

Несмотря на протонирование соединения **203**, в сечениях поверхности потенциальной энергии обеих форм положение минимума не изменяется. Минимум энергии для обеих форм соединения **203** достигается при значении двугранного угла $\varphi = 0^\circ$. Данный факт объясняется тем, что гидроксильная группа за счет свободного вращения вокруг связи C2-O, может стабилизировать как протонированную форму соединения **203**, так и непротонированный *орто*-гидроксibenзилиденанилин.

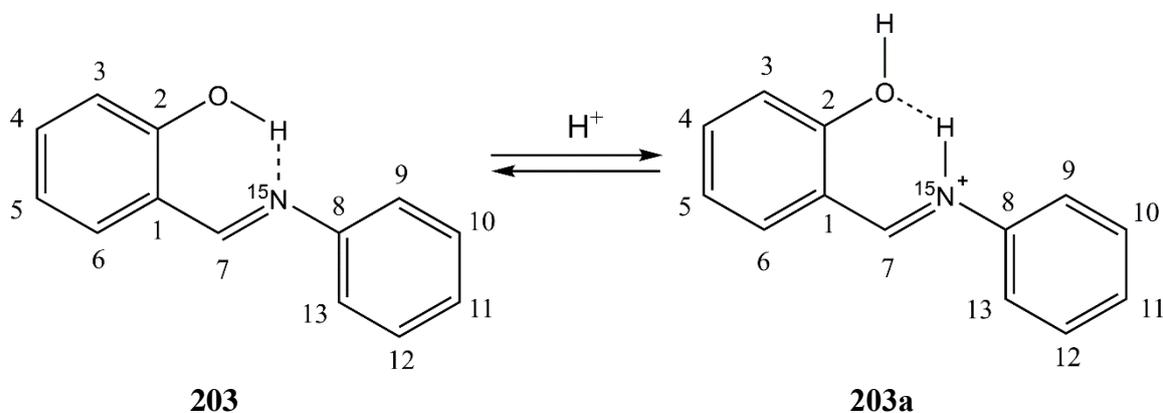


Рисунок 46. Конформационный переход соединения **4** при протонировании.

В непротонированной форме молекула стабилизируется за счет образования водородной связи между протоном гидроксила и атомом азота. Согласно расчетным значениям, расстояние между атомами водорода и азота составляет всего 1.74 Å, что свидетельствует об образовании прочной водородной связи. Гидроксильный протон проявляется в спектрах ЯМР ^1H в слабом поле 13.5 м.д., что обусловлено участием данного протона в образовании водородной связи.

Протонирование *орто*-гидроксибензилиденанилин не приводит к изменению положения минимума на сечении поверхности потенциальной энергии, поскольку гидрокильная группа стабилизирует и протонированную форму за счет образования водородной связи между атомом водорода кватернизованного атома азота и кислородом гидроксила. Согласно расчетам, расстояние между этими атомами составляет 1.95 Å, что соответствует длине водородной связи. За счет собственного вращения гидрокильная группа способствует стабилизации как протонированной, так и непротонированной форм соединения **203**.

Если вместо гидрокильной группы во 2-ом положении введена метокси-группа, конформационное состояние системы существенным образом изменяется. Сечение поверхности потенциальной энергии замещенного бензилиденанилина **204** и его протонированной формы **204a** от двугранного угла представлены ниже (Рисунок 47).

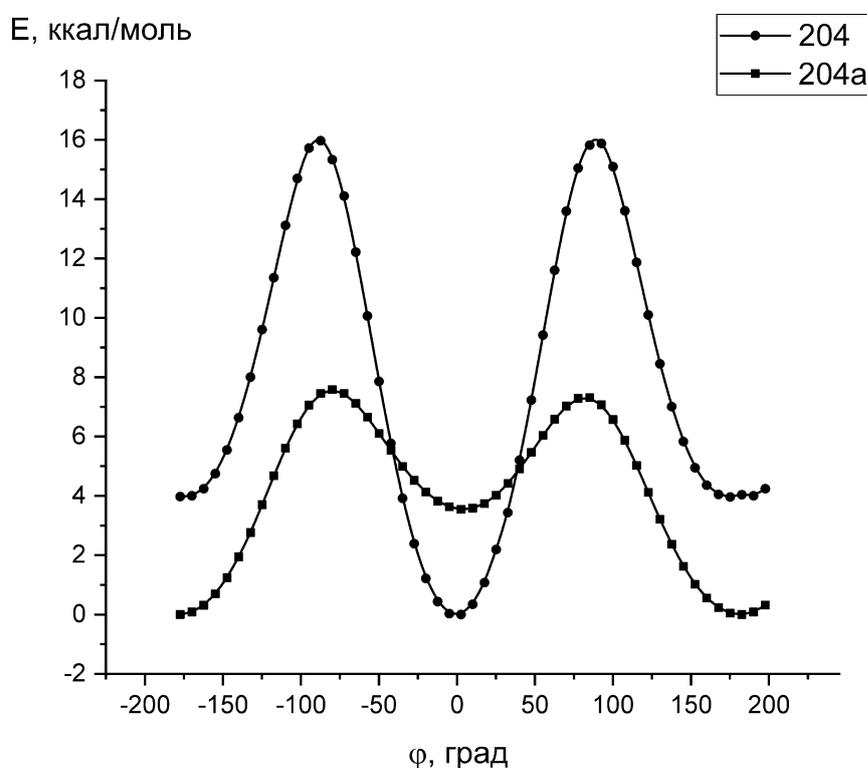


Рисунок 47. Конформационный переход соединения **204** при протонировании.

Минимум энергии для непротонированной формы достигается при значениях двугранного угла $\varphi = 180^\circ$, при котором реализуется максимальное удаление метокси группы от атома азота. В отличие от гидрокильной группы метокси группа не стабилизирует непротонированную форму путем образования внутримолекулярной водородной связи.

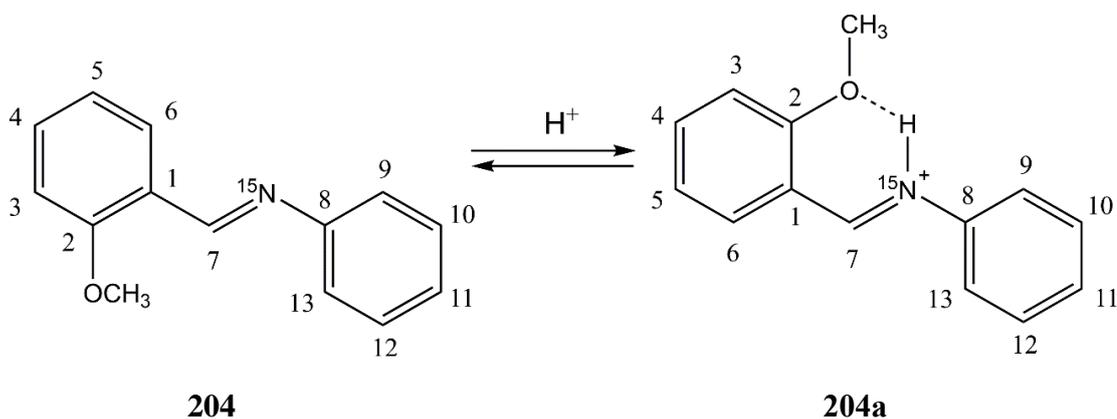


Рисунок 48. Конформационный переход соединения 5 при протонировании.

При протонировании *орто*-метокси бензилиденанилина глобальный минимум проявляется при значениях двугранного угла 0° , поскольку MeO- группа участвует в образовании внутримолекулярной водородной связи. Таким образом, метокси группа проявляет свойства молекулярного переключателя, поскольку стабилизирует протонированную форму за счет образования внутримолекулярной водородной связи.

Проведена экспериментальная и теоретическая характеристика процессов, вызванных протонированием атома азота основания Шиффа. Они охарактеризованы значительной конформационной энергией: достигает 6-7 ккал/моль для заместителей F, OH и OCH₃ в орто-положении бензольного гольца. Эти процессы сопровождаются значительной перестройкой геометрии молекулы – поворотом на 180° вокруг связи C₁-C₇. Этот поворот следует рассматривать как пример нового типа рН-индуцированного молекулярного переключения [290, 292, 295, 296, 297] и при соответствующем дизайне может быть использован при конструировании соответствующих механизмов.

В производных бензиланилина атом азота находится в состоянии sp^3 -гибридизации, в связи с чем соединения **205-209** характеризуются большим набором конформационных состояний. Нежесткий каркас, соединяющий два бензольных кольца, позволяет свободно и независимо вращаться этим структурным фрагментам. В отличие от производных бензилиденанилина, для конформации с плоским расположением скелетных атомов наблюдается максимум потенциалов. Это соответствует тому, что в бензиланилинах нет сопряжения, стабилизирующего плоскую форму, и конформация молекулы определяется факторами стерического отталкивания. Потенциалы вращения **205-209** по двугранному углу $\varphi(C_2-C_1-C_{H_2}-N)$ имеют очень сложную форму для непротонированных форм соединений **205-209** из-за инверсии азота. Протонирование данных соединений не приводит к драматическому изменению скелета молекулы из-за наличия гораздо большего числа степеней свободы и того факта, что в непротонированной форме содержится атом водорода аминогруппы.

В качестве примера приведены потенциалы внутреннего вращения 2-фторбензиланилина и его протонированной формы (Рисунок 53).

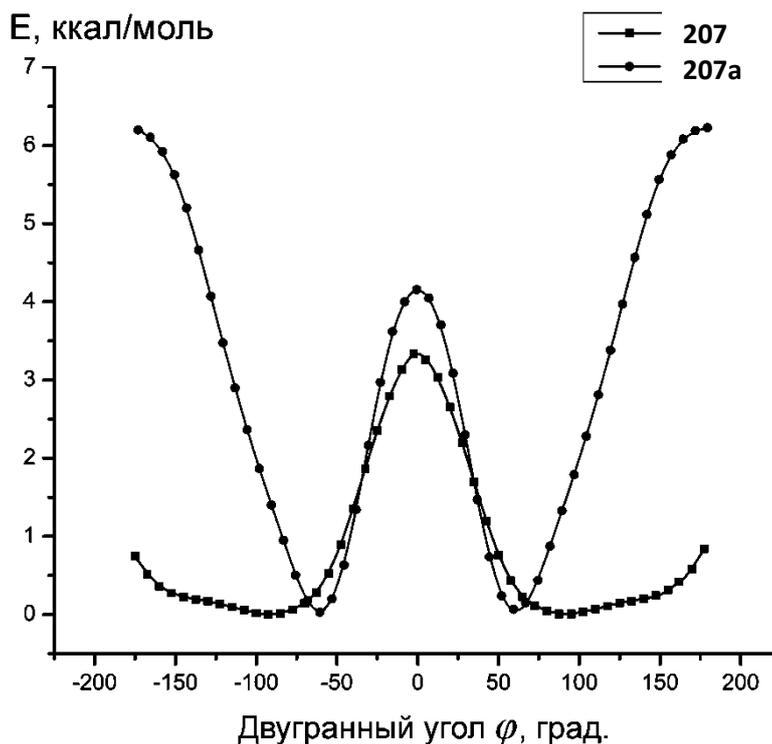


Рисунок 49. Потенциал процесса внутреннего вращения замещенного (орто-F) бензиланилина **207** и его протонированной формы **207a** как функция двугранного угла.

В отличие от производных бензилиденанилина для конформации с плоским расположением скелетных атомов наблюдается максимум потенциалов. Это соответствует тому, что в отличие от бензилиденанилинов нет сопряжения, стабилизирующего плоскую форму, и конформация молекулы определяется факторами стерического отталкивания. Можно отметить, что для нейтральной молекулы наблюдается относительно невысокий барьер (~3.3 ккал/моль) для той конфигурации, при которой сближены атомы фтора и азота. Для протонированной формы главный барьер наблюдается для конформации с максимально разнесенными в пространстве атомами фтора и азота, и он значительно выше, чем для нейтрального соединения (~ 6.2 ккал/моль). Интересно отметить, что плоская форма со сближенным расположением этих атомов имеет относительно низкую энергию (~ 3.1 ккал/моль). На графике наблюдается два симметричных минимума, соответствующих скошенным конформациям скелета молекулы. В этих конформациях атомы азота и фтора образуют сильную внутримолекулярную водородную связь ($R_{N-F} = 1.86 \text{ \AA}$).

Потенциалы вращения вокруг связи C_1-C_{H2} для соединений **208** и **209** гораздо более сложные, потому что требует учета вращения заместителей $HO-$ и CH_3O- вокруг простых связей C_2-OH и C_2-OCH_3 . Соответствующие функции оказываются несимметричными. Для

соединений **208** и **209** минимумы наблюдаются в скошенных состояний с углами поворота вокруг связи C_H-C_1 около $130-135^\circ$.

3.5.4. Расчет констант спин-спинового взаимодействия

В настоящей работе нами были определены константы ${}^nJ_{CN}$ для производных бензилиденанилинов **200-209** и их протонированных форм **200а-209а**. Проведены квантово-химические расчеты КССВ ${}^nJ_{CN}$ в точках глобального минимума для анализируемых объектов. Важнейшим моментом этой работы является определение знаков КССВ ${}^nJ_{CN}$. Поскольку атом азота ${}^{15}N$ имеет отрицательное гироманнитное отношение [134, 208], можно ожидать, что подавляющее большинство полученных в данной работе КССВ ${}^nJ_{CN}$ отрицательны. Модуль константы ${}^nJ_{CN}$ может быть определен экспериментально как расщепление дублета из обычного спектра ЯМР ${}^{13}C$. Напротив, экспериментальное определение знака константы требует специальных ЯМР-экспериментов, таких как, например, тройной селективный эксперимент ${}^{13}C\{^1H, {}^{15}N\}$, *soft*-COSY, COSY-45 или HMBC или HSQC высокого разрешения [78, 128]. В работе нами было показано использование квантово-химических расчетов для определения знаков КССВ. Данный подход был применен для определения знаков констант в серии бензилиденанилинов **200-209** и их протонированных форм **200а-209а**.

Как видно из представленных значений КССВ ${}^nJ_{CN}$ (Таблица 25), наблюдается хорошая корреляция между экспериментальными и расчетными значениями констант в серии бензилиденанилинов **200-204** и их протонированных форм **200а-202а**. Из приведенных данных особое внимание следует обратить на КССВ, которые значительным образом зависят от протонирования атома азота. Так значения ${}^1J_{C8N}$ принимает значения в диапазоне от -3.34 - -1.17 Гц для нейтральных молекул **200-204**, при протонировании значения КССВ ${}^1J_{C8N}$ значительным образом увеличивается (по модулю) и находится в диапазоне -12.8 – -12.6 Гц. Такое значительное изменение КССВ хорошо отражается на графике, приведенном на рисунке 50. Кластерный анализ величин КССВ, демонстрирует, что значения 12.8 Гц являются характерными только для протонированных форм **200а-202а**. В нейтральных молекулах таких значений КССВ в серии бензилиденанилинов зарегистрировано не было.

Похожая тенденция наблюдается для прямой КССВ ${}^1J_{C7N}$, значения которой для непротонированных производных **200-204** составляет значения от -7.51 Гц до -6.51 Гц. При протонировании значения КССВ в соединениях увеличивается по модулю до -18.06 Гц, что значительно выделяется на фоне других КССВ.

Также значительным образом меняется значение КССВ ${}^2J_{CIN}$ в непротонированных соединениях **200-204** значение константы находится в диапазоне от -7.17 Гц до -3.27 Гц. В протонированных формах **200а-202а** данная КССВ не проявляется в спектрах ЯМР ${}^{13}C$, а расчетные значения константы находятся в диапазоне от 0.4 - 0.9 Гц.

Дальние КССВ принимают близкие значения КССВ и находятся в хорошем соответствии с расчетными значениями.

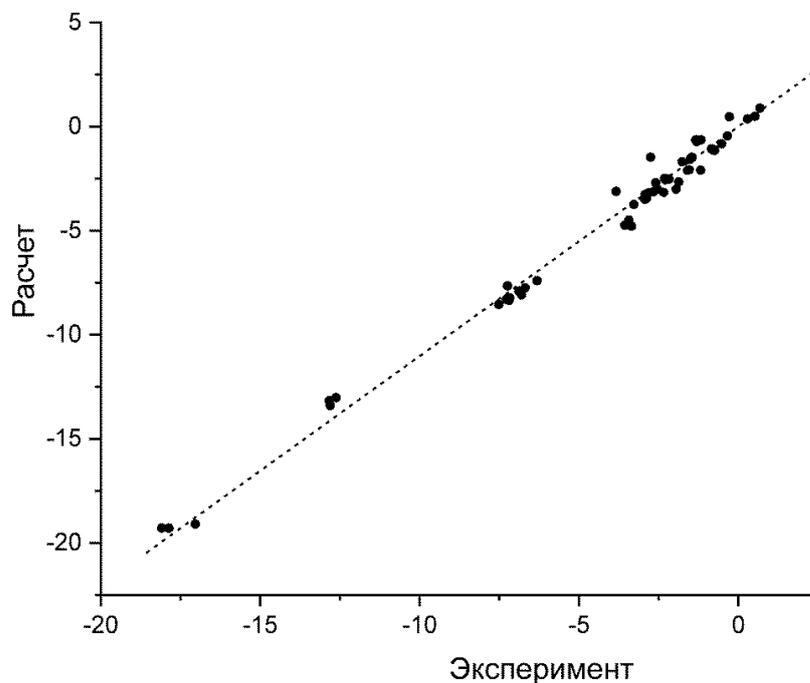


Рисунок 50. Сопоставление экспериментальных и расчетных КССВ ${}^nJ_{CN}$, где $n = 1-5$ в серии изученных соединений **200-204** и **200а-202а**.

Корреляция между экспериментальными и расчетными значениями всего набора исследованных в данной работе констант спин-спинового взаимодействия показана на рисунке 50. Для статистической обработки экспериментальных и рассчитанных констант связи была использована двухпараметровая модель линейной регрессии.

$$J_{\text{расч}} = \alpha J_{\text{эксп}} + \beta. \quad (16)$$

Для уравнения **16** в серии исследованных соединений (59 констант) коэффициент корреляции равен 0.988 при значении коэффициента наклона, незначительно отличающемся от единицы ($\alpha = 1.077 \pm 0.015$), и практически незначимым свободном члене ($\beta = -0.13 \pm 0.09$). Среднеквадратичное отклонение экспериментальных и расчетных КССВ составляет 0.27 Гц, что сопоставимо с точностью проведенных нами экспериментальных измерений и всей совокупности квантово-химических расчетов. Совокупность данных по 59 константам демонстрирует высокую сходимость вычисленных значений и возможность использования полученных данных для прогнозирования значений новых КССВ.

Анализ двумерных карт, построенных на основе сходства DFT-расчетов и экспериментальных КССВ ^{13}C - ^{15}N для серии производных бензилиденанилинов **200-204** и их протонированных форм **200a-202a**, подтверждает, что квантово-химический расчет значений КССВ вместе с анализом их экспериментальных значений может быть мощным инструментом для решения структурных задач. Рассчитанные с помощью DFT константы спин-спинового взаимодействия ^{13}C - ^{15}N находятся в хорошем согласии с экспериментом при статистически высоком и отличном уровне достоверности. Данный подход может дать важную структурную информацию для отнесения пиков ^{13}C новых азотсодержащих органических соединений, а также для установления неизвестных знаков спин-спиновых связей ^{13}C - ^{15}N в серии бензилиденанилинов. Высокое соответствие расчетных и экспериментальных значений КССВ наблюдается также и для протонированных форм, что позволяет использовать данный инструмент для описания конформационной динамики при изменении кислотности среды.

4. Экспериментальная часть

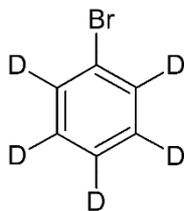
4.1. Синтез соединений

Реактивы: хлористый бензоил (х. ч.), *орто*-фторбензальдегид (х. ч.), анилин (х. ч.), бензальдегид (х. ч.), *орто*-метилбензальдегид (х. ч.), *орто*-гидроксибензальдегид (х. ч.), *орто*-метоксибензальдегид (х. ч.), хлораль гидрат (х. ч.), гидроксилламин гидрохлорид (х. ч.), эфират трехфтористого бора (х. ч.), боргидрид натрия (х. ч.), *пара*-толуолсульфокислота (х. ч.), аммиак р-р (конц., х. ч.), бром (х. ч.), хлористый тионил (х. ч.), серная кислота (конц., х. ч.), уксусная кислота (конц., х. ч.), соляная кислота (конц., х. ч.), гидрокарбонат натрия (ч. д. а.), хлорид аммония (ч. д. а.), гидроксид натрия (техн.), сульфат магния (ч. д. а., прокаленный), хлорид кальция (ч. д. а., прокаленный), железные опилки (техн.), магний (ч. д. а., для проведения реакции Гриньяра), 1,2-дибромэтан (х. ч.).

Растворители: бензол (х. ч.), метиловый спирт (абсолютный, х. ч.), этиловый спирт (абсолютный, х. ч.), хлористый метилен (перегнанный, х. ч.), хлороформ (х. ч.), тетрагидрофуран (перегнанный, х. ч.), этилацетат (ч. д. а.), диэтиловый эфир (х. ч.), гексан (ч. д. а.), пентан (ч. д. а.).

В работе использовали реагенты и дейтерированные растворители фирм: «Aldrich», «Deutero GmbH» и «Merck». Дейтерированные растворители: хлороформ- D_1 (степень изотопного обогащения 99.8%), ацетонитрил- D_3 (степень изотопного обогащения 99.8%), метанол- D_4 (степень изотопного обогащения 99.8%), диметилсульфоксид- D_6 (степень изотопного обогащения 99.8%), бензол- D_6 (степень изотопного обогащения 99.5%).

4.1.1. Синтез [D₅]бромбензола

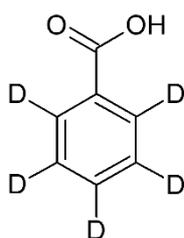


Синтез проводили в двугорлой колбе объемом 100 мл, снабженной капельной воронкой, холодильником и магнитной мешалкой. В 30 мл четыреххлористого углерода растворяли 9.52 г (113 ммоль) дейтеробензола. К раствору добавляли 0.30 г (5.3 ммоль) тщательно измельченные железные опилки. Бром 18.38 г (115 ммоль) вносили по каплям при перемешивании с такой скоростью, чтобы температура реакционной смеси не поднималась выше 30°C. После добавления всего брома, реакционную смесь осторожно нагревали на водяной бане. После начала реакции, нагревание прекращали и перемешивали раствор при комнатной температуре в течение 12 ч. Затем смесь отфильтровывали и большую часть органического растворителя отгоняли на приборе с высоким дефлегматором с головкой обратного отбора при умеренном кипячении. Оставшийся растворитель отгоняли на роторном испарителе. Продукт сначала промывали 3 раза 10% раствором гидроксида натрия, затем 2 раза водой. Сушили над прокаленным MgSO₄ в течение 12 ч. В результате был получен продукт в виде бесцветной жидкости с характерным запахом. Выход 10.66 г (58%).

Спектр ЯМР ¹H (600 МГц, CDCl₃, 303 К), δ, м. д. (J, Гц): не содержит сигналов кроме остаточного сигнала растворителя.

Спектр ЯМР ¹³C (150 МГц, CDCl₃, 303 К), δ, м. д. (J, Гц): 122.28 (квинтет, ²J_{CD} = 1.77, C-1); 126.35 (триплет квинтетов, ¹J_{CD} = 24.63, ²J_{CD} = 1.17, C-4); 129.50 (2C, т т, ¹J_{CD} = 24.67, ²J_{CD} = 1.30, C-2, C-6); 131.12 (2C, т, ¹J_{CD} = 25.46, C-3, C-5).

4.1.2. Синтез [D₅]бензойной кислоты



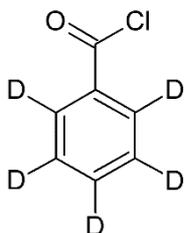
Синтез проводили в трехгорлой колбе объемом 100 мл снабженной обратным холодильником, капельной воронкой, магнитной мешалкой и хлоркальциевой трубкой. В колбу помещали 0.81 г стружек магния и 4 мл абсолютного диэтилового эфира. Для активации магния добавляли несколько капель 1,2-дибромэтана, после чего осторожно нагревали смесь. После того, как раствор слегка помутнел, по каплям при перемешивании вносили 6.25 г [D₅]бромбензола растворенного в 10 мл абсолютного диэтилового эфира, с такой скоростью, чтобы реакционная смесь умеренно кипела. Смесь кипятили на водяной бане в течение 1 ч. Затем реакционную смесь охлаждали до -5°C и через образовавшийся раствор, содержащий реактив Гриньяра, пропускали ток сухого углекислого газа, с такой скоростью, чтобы температура раствора не поднималась выше 0°C. Ток углекислого газа пропускали в течение 1 ч, после чего охлажденную реакционную смесь гидролизовали соляной кислотой, с добавлением льда до полного растворения осадка. Органический слой отделяли, а водный

экстрагировали диэтиловым эфиром три раза по 5 мл. Объединенные эфирные вытяжки промывали 2 раза водой, после чего сушили над прокаленным CaCl_2 . Растворитель отгоняли на роторном испарителе. В результате был получен продукт в виде белого кристаллического вещества. Выход 4.16 г (85%).

Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, CDCl_3 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 11.45 (1H, уш. с, COOH).

Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, CDCl_3 , 303 К) δ , м. д. (J , Гц): 127.57 (2C, т, $^1J_{\text{CD}} = 24.62$, C-3, C-5); 128.82 (C-1); 129.43 (2C, т, $^1J_{\text{CD}} = 24.88$, C-2, C-6); 132.89 (т, $^1J_{\text{CD}} = 24.26$, C-4); 172.07 (COOH).

4.1.3. Синтез $[\text{D}_5]$ бензоилхлорида

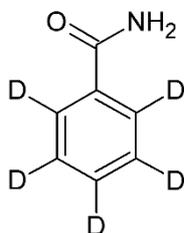


Синтез проводили в колбе объемом 25 мл снабженной магнитной мешалкой и обратным холодильником. В колбе растворяли 4.45 г (35 ммоль) $[\text{D}_5]$ бензойной кислоты в хлористом тиониле 2.8 мл (38.6 ммоль). Образовавшийся раствор кипятили в течение 2 ч, после чего к реакционной смеси добавляли 0.5 мл бензола и при нагревании отгоняли остатки хлористого тионила в вакууме. Полученный $[\text{D}_5]$ бензоилхлорид перегоняли в вакууме в атмосфере аргона т. кип. 91-92°C (20 мм рт. ст.). В результате был получен продукт в виде бесцветной жидкости с резким неприятным запахом. Выход 4.53 г (89%).

Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, CDCl_3 , 303 К) δ , м. д. (J , Гц): не содержит сигналов кроме остаточного сигнала растворителя.

Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, CDCl_3 , 303 К) δ , м. д. (J , Гц): 128.45 (2C, т, $^1J_{\text{CD}} = 24.95$, C-3, C-5), 131.01 (2C, т, $^1J_{\text{CD}} = 25.09$, C-2, C-6), 133.17 (C-1), 134.79 (т, $^1J_{\text{CD}} = 24.62$, C-4), 168.35 (COCl).

4.1.4. Синтез $[\text{D}_5]$ бензамида



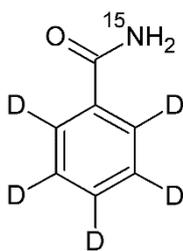
Синтез проводили в трехгорлой колбе объемом 500 мл снабженной капельной воронкой и магнитной мешалкой. В колбе растворяли 4.53 г (31.11 ммоль) $[\text{D}_5]$ бензоилхлорида в 175 мл бензола, затем к раствору по каплям добавляли избыток концентрированного раствора аммиака 12 мл. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1.5 ч. Затем раствор охлаждали до 0°C и из него выпал белый осадок $[\text{D}_5]$ бензамида. Осадок отфильтровывали на стеклянном пористом фильтре, собирая фильтрат 1. Осадок промывали 4 раза порциями холодной воды по 30-40 мл, собирая промывные жидкости 2 отдельно. Осадок $[\text{D}_5]$ бензамида промывали 4 раза гексаном по 25-35 мл, собирая промывные жидкости 3 отдельно. Осадок сушили в вакуумном эксикаторе над P_2O_5 в

течение суток, после чего [D₅]бензамид перекристаллизовывали из абсолютного этанола. Дополнительные порции вещества выделяли из ранее собранных вытяжек по следующей процедуре. В фильтрате 1 отделяли бензольный слой, после чего отгоняли растворитель в приборе с высоким дефлегматором с головкой обратного отбора при умеренном кипячении. Остаток от отгонки сушили в вакууме водоструйного насоса, затем масляного насоса. Промывные жидкости 2 упаривали на роторном испарителе до объема 20-25 мл, затем экстрагировали хлористым метиленом 4 раза по 15 мл. Органические вытяжки упаривали на роторном испарителе. Промывные жидкости 3, содержащие гексан упаривали и полученные три порции [D₅]бензамида объединяли между собой и перекристаллизовывали из абсолютного этанола отдельно от основной порции продукта. Продукт представляет собой белые кристаллы. Выход 3.93 г (91%).

Спектр ЯМР ¹H (600 МГц, CDCl₃, 303 К), δ, м. д. (*J*, Гц): 6.32 (2H, уш. с, NH₂).

Спектр ЯМР ¹³C (150 МГц, CDCl₃, 303 К) δ, м. д. (*J*, Гц): 126.68 (2C, т, ¹*J*_{CD} = 24.47, C-2, C-6); 127.80 (2C, т, ¹*J*_{CD} = 24.58, C-3, C-5); 131.16 (т, ¹*J*_{CD} = 24.46, C-4); 133.01 (C-1); 169.53 (CONH₂).

4.1.5. Синтез [²H₅, ¹⁵N]бензамида



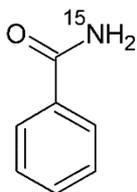
Синтез проводили в трехгорлой колбе объемом 250 мл снабженной капельной воронкой и магнитной мешалкой. В колбу помещали раствор 1.41 г (10.51 ммоль) (¹⁵NH₄)₂SO₄ в 20 мл воды, затем добавляли 5 мл бензола, чтобы весь поверхностный слой воды был покрыт тонким слоем бензола и охлаждали раствор на бане со льдом. При 0-5°C к раствору по каплям добавляли сначала охлажденный до 0°C раствор 2.14 г (53.5 ммоль) NaOH в 15 мл воды, затем раствор 3.31 г (22.76 ммоль) свежеперегнанного [D₅]бензоилхлорида в 60 мл бензола. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1.5 ч. Затем раствор охлаждали до 0°C и из него выпал белый объемный осадок бензамида. Осадок отфильтровывали на стеклянном пористом фильтре, собирая фильтрат 1. Осадок промывали 4 раза порциями холодной воды по 12-15 мл, собирая промывные жидкости 2 отдельно. Осадок бензамида промывали 4 раза гексаном по 10-12 мл, собирая промывные жидкости 3 отдельно. Осадок сушили в вакуумном эксикаторе над P₂O₅ в течение суток, после чего бензамид перекристаллизовывали из абсолютного этанола. Дополнительные порции вещества выделяли из ранее собранных вытяжек по следующей процедуре. В фильтрате 1 отделяли бензольный слой, после чего отгоняли растворитель в приборе с высоким дефлегматором с головкой обратного отбора при умеренном кипячении. Остаток от отгонки сушили в вакууме водоструйного насоса, затем масляного насоса. Промывные

жидкости 2 упаривали на роторном испарителе до объема 10-15 мл, затем экстрагировали хлористым метиленом 4 раза по 5 мл. Органические вытяжки упаривали на роторном испарителе. Промывные жидкости 3, содержащие гексан упаривали и полученные три порции бензамида объединяли между собой и перекристаллизовывали из абсолютного этанола отдельно от основной порции продукта. В результате был получен продукт в виде белых кристаллов с т. плавления 128-130°C (EtOH). Выход 1.21 г (91%).

Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, DMSO-D_6 , 303 К) δ , м. д. (J , Гц): 7.32 (1H, дд, $^1J_{\text{HN}} = 87.67$, $^2J_{\text{HH}} = -1.23$, Hcis), 7.94 (1H, дд, $^1J_{\text{HN}} = 88.51$, $^2J_{\text{HH}} = -1.23$, Htrans).

Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, DMSO-D_6 , 303 К) δ , м. д. (J , Гц): 127.09 (2C, т, $^1J_{\text{CD}} = 24.47$, C-2, C-6), 127.73 (2C, т, $^1J_{\text{CD}} = 24.61$, C-3, C-5), 130.73 (т, $^1J_{\text{CD}} = 24.12$, C-4), 134.16 (д, $^1J_{\text{CN}} = 8.08$, C-1), 169.94 (д, $^1J_{\text{CN}} = 15.98$, CONH_2).

4.1.6. Синтез [^{15}N]бензамида



Синтез проводили в трехгорлой колбе объемом 500 мл снабженной капельной воронкой и магнитной мешалкой. В колбу помещали раствор 5.00 г (37.28 ммоль) $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в 57.5 мл воды, затем добавляли 15 мл бензола, чтобы весь поверхностный слой воды был покрыт тонким слоем бензола и охлаждали раствор на бане со льдом. При 0-5°C к раствору по каплям добавляли сначала охлажденный до 0°C раствор 7.57 г (189 ммоль) NaOH в 50 мл воды, затем раствор 11.34 г (80.7 ммоль) свежеперегнанного бензоилхлорида в 200 мл бензола. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1.5 ч. Затем раствор охлаждали до 0°C и из него выпал белый объемный осадок бензамида. Осадок отфильтровывали на стеклянном пористом фильтре, собирая фильтрат 1. Осадок промывали 4 раза порциями холодной воды по 40-50 мл, собирая промывные жидкости 2 отдельно. Осадок бензамида промывали 4 раза гексаном по 30-40 мл, собирая промывные жидкости 3 отдельно. Осадок сушили в вакуумном эксикаторе над P_2O_5 в течение суток, после чего бензамид перекристаллизовывали из абсолютного этанола. Дополнительные порции вещества выделяли из ранее собранных вытяжек по следующей процедуре. В фильтрате 1 отделяли бензольный слой, после чего отгоняли растворитель в приборе с высоким дефлегматором с головкой обратного отбора при умеренном кипячении. Остаток от отгонки сушили в вакууме водоструйного насоса, затем масляного насоса. Промывные жидкости 2 упаривали на роторном испарителе до объема 20-25 мл, затем экстрагировали хлористым метиленом 4 раза по 15 мл. Органические вытяжки упаривали на роторном испарителе. Промывные жидкости 3, содержащие гексан упаривали и полученные три порции бензамида объединяли между собой и перекристаллизовывали из абсолютного этанола отдельно от

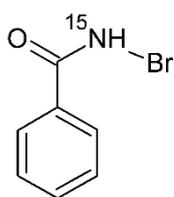
основной порции продукта. В результате был получен продукт в виде белых кристаллов с *t* плавления 127-130°C (EtOH). Выход 8.28 г (91%).

Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, CDCl_3 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 6.29 (2H, д, $^1J_{\text{NH}} = 88.77$, NH_2); 7.42-7.47 (2H, м, H-3, H-5); 7.51-7.55 (1H, м, H-4); 7.81-7.84 (2H, м, H-2, H-6).

Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, CDCl_3 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 127.30 (2C, C-2, C-6); 128.58 (2C, C-3, C-5); 131.95 (C-4); 133.35 (д, $^2J_{\text{CN}} = 8.14$, C-1); 169.6 (д, $^1J_{\text{CN}} = 15.54$, CONH_2).

Найдено, m/z : 123.0572 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_7\text{H}_7^{15}\text{NO}$. Вычислено, m/z : 123.0571.

4.1.7. Синтез ^{15}N]-N-бромбензамида



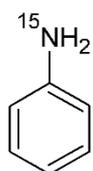
Синтез проводили в трехгорлой колбе объемом 250 мл снабженной каплевой воронкой и магнитной мешалкой. В колбу добавляли раствор 5.194 г (130 ммоль) NaOH в 88 мл воды и охлаждали до 0°C. Затем, по каплям добавляли 8.233 г (50 ммоль) брома, с такой скоростью, чтобы температура реакционной смеси не поднималась. Образовавшийся желтый раствор перемешивали в течение 10 мин, после чего небольшими порциями добавляли 5.06 г (41.4 ммоль) тщательно измельченного ^{15}N]-бензамида. Образовавшийся раствор желтой окраски перемешивали в течение 30 мин на ледяной бане. Затем, реакционную смесь выливали в смесь 14 мл ледяной уксусной кислоты и льда, при этом выпадал осадок красно-оранжевого цвета, а фильтрат окрасился с желтого цвета на оранжевый цвет. Полноту осаждения проверяли добавлением ледяной уксусной кислоты к маточному раствору. Осадок отфильтровывали на стеклянном пористом фильтре и промывали холодной водой до бесцветной окраски промывных вод. Полученный ^{15}N]-N-бромбензамид без дополнительной очистки использовали в следующей стадии синтеза.

Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, CDCl_3 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 6.65 (1H, д, $^1J_{\text{HN}} = 87.78$, NH); 7.41-7.45 (2H, м, H-3, H-5); 7.49-7.53 (1H, м, H-4); 7.88-7.92 (2H, м, H-2, H-6).

Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, CDCl_3 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 127.58 (2C, C-2, C-6); 128.32 (2C, C-3, C-5); 131.32 (C-4); 134.42 (д, $^2J_{\text{CN}} = 7.97$, C-1); 168.01 (д, $^1J_{\text{CN}} = 15.93$, CO).

Найдено, m/z : 200.9677 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_7\text{H}_7\text{Br}^{15}\text{NO}$. Вычислено, m/z : 200.9676.

4.1.8. Синтез ^{15}N]-анилина



Синтез проводили в трехгорлой колбе объемом 1000 мл снабженной каплевой воронкой, обратным холодильником и мешалкой. К раствору 32.0 г (0.8 моль) NaOH в 550 мл воды при интенсивном перемешивании добавляли свежеприготовленный ^{15}N]-N-бромбензамид. Образовавшийся раствор

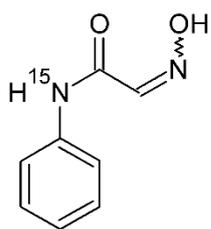
оранжевого цвета нагревали до 30°C и перемешивали при этой температуре в течение 2 ч. По истечении 2 ч к раствору при перемешивании добавляли 40 мл концентрированной HCl до pH = 1-2. Реакционная смесь светло-зеленого цвета кипятили с обратным холодильником в течение 1.5 ч. Образовавшийся раствор светло-розового цвета охлаждали до комнатной температуры, после чего экстрагировали эфиром 3 раза по 25 мл. Эфирный экстракт представлял собой раствор темно-коричневого цвета. Водный раствор солянокислого [¹⁵N]анилина доводили до pH = 10-11 добавлением концентрированного раствора NaOH. Щелочной раствор светло-коричневого цвета экстрагировали 5 порциями эфира по 25 мл. Эфирный раствор [¹⁵N]анилина пропускали через флеш-колонку с Al₂O₃. Эфирный раствор [¹⁵N]анилина сушили над безводным MgSO₄ в течение суток. Эфир медленно отгоняли на приборе с высоким дефлегматором и головкой обратного отбора, после чего следы эфира отгоняли на роторном испарителе. Дополнительную очистку проводили с помощью вакуумной перегонки в атмосфере аргона т. кип. 86-87°C (26 мм рт. ст.). В результате был получен продукт в виде бесцветной маслянистой жидкости с характерным запахом. Выход 2.191 г (56%).

Спектр ЯМР ¹H (600 МГц, CDCl₃, 303 К), δ, м. д. (J, Гц): 3.50 (2H, уш. с, NH₂); 6.67-6.70 (2H, м, H-2, H-6); 6.74-6.77 (1H, м, H-4); 7.13-7.17 (2H, м, H-3, H-5).

Спектр ЯМР ¹³C (150 МГц, CDCl₃, 303 К), δ, м. д. (J, Гц): 115.14 (2C, д, ²J_{CN} = 2.73, C-2, C-6); 118.61 (C-4); 129.26 (2C, д, ³J_{CN} = 1.27, C-3, C-5); 146.22 (д, ¹J_{CN} = 10.84, C-1).

Найдено, m/z: 95.0623 [M+H]⁺. C₆H₈¹⁵N. Вычислено, m/z: 95.0622.

4.1.9. Синтез [¹⁵N]2-(Гидроксиимино)-N-фенилацетамида



Синтез проводили в двугорлой колбе объемом 50 мл снабженной обратным холодильником, магнитной мешалкой и капельной воронкой. К раствору 0.500 г (5.3 ммоль) [¹⁵N]анилина в 5 мл воды последовательно при перемешивании добавляли 0.5 мл концентрированной соляной кислоты, раствор 0.990 г (5.98 ммоль) хлоральгидрата в 15 мл воды и 7.5 г (52.8 ммоль) сульфата натрия. Образовавшийся мутный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин. Затем к реакционной смеси добавляли раствор 3.50 г (50.6 ммоль) хлорида гидросиламиния в 5 мл воды и образовавшийся раствор кипятили с обратным холодильником в течение 1 ч. Затем, реакционную смесь светло-оранжевого цвета охлаждали до комнатной температуры и помещали в баню со льдом, [¹⁵N]2-(гидроксиимино)-N-фенилацетамид выпадал в виде осадка светло-розового цвета. Осадок отфильтровывали на стеклянном пористом фильтре и промывали холодной водой 2

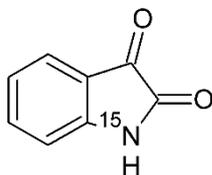
раза, затем сушили в вакуумном эксикаторе над P₂O₅ в течение суток. В результате был получен продукт в виде порошка телесного цвета. Выход 0.672 г (77%).

Спектр ЯМР ¹H (600 МГц, CDCl₃, 303 К), δ, м. д. (*J*, Гц): 7.06 (1H, т, ³*J*_{HH} = 7.38, H-4); 7.33 (2H, т, ³*J*_{HH} = 7.84, H-3, H-5); 7.66 (1H, с, CH=N); 7.68 (2H, д, ³*J*_{HH} = 8.28, H-2, H-6); 10.17 (1H, д, ¹*J*_{HN} = 90.57, NH); 12.17 (1H, с, OH).

Спектр ЯМР ¹³C (150 МГц, CDCl₃, 303 К), δ, м. д. (*J*, Гц): 120.02 (2C, д, ²*J*_{CN} = 1.30, C-2, C-6); 124.04 (C-4); 128.93 (2C, д, ³*J*_{CN} = 1.70, C-3, C-5); 138.60 (д, ¹*J*_{CN} = 14.64, C-1); 144.26 (д, ²*J*_{CN} = 9.68, CH=N); 160.39 (д, ¹*J*_{CN} = 16.09, CO).

Найдено, m/z: 166.0631 [M+H]⁺. C₈H₉¹⁵NNO₂. Вычислено, m/z: 166.0629.

4.1.10. Синтез [¹⁵N]индол-2,3-диона



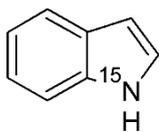
Синтез проводили в колбе объемом 25 мл снабженной магнитной мешалкой и обратным холодильником. К 5 мл концентрированной серной кислоты нагретой до 40°C медленно небольшими порциями добавляли 0.642 г (3.89 ммоль) тщательно высушенного [¹⁵N]2-(гидроксиимино)-N-фенилацетамида. Реакционную смесь нагревали до 65-70°C, при этом окраска реакционной смеси становилась темно-красной. Смесь перемешивали при данной температуре в течение 1 ч. Затем, реакционную смесь выливали в стакан содержащий мелко измельченный лед, окраска раствора постепенно становилась оранжевой, и из раствора при умеренном перемешивании выделялся красно-оранжевый осадок [¹⁵N]изатина. Охлажденную смесь [¹⁵N]изатина и льда помещали на стеклянный пористый фильтр и отфильтровывали осадок. Осадок промывали малыми порциями холодной воды до нейтральной реакции среды промывных вод, после чего сушили в вакуумном эксикаторе над P₂O₅ в течение суток. В результате был получен продукт в виде красно-оранжевых кристаллов. Выход 0.392 г (68%).

Спектр ЯМР ¹H (600 МГц, CDCl₃, 303 К), δ, м. д. (*J*, Гц): 6.91 (1H, д, ³*J*_{HH} = 7.84, H-7); 7.07 (1H, т, ³*J*_{HH} = 7.52, H-5); 7.50 (1H, д, ³*J*_{HH} = 7.40, H-4); 7.59 (1H, т, ³*J*_{HH} = 7.70, H-6); 11.04 (1H, ¹*J*_{HN} = 95.91, NH).

Спектр ЯМР ¹³C (150 МГц, CDCl₃, 303 К), δ, м. д. (*J*, Гц): 112.38 (C-7); 118.02 (C-3a); 122.95 (C-5); 124.89 (C-4); 138.56 (C-6); 150.89 (д, ¹*J*_{CN} = 13.77, C-7a); 159.55 (д, ¹*J*_{CN} = 14.54, C-2); 184.59 (д, ²*J*_{CN} = 11.40, C-3).

Найдено, m/z: 171.0185 [M+Na]⁺. C₈H₅¹⁵NNaO₂. Вычислено, m/z: 171.0183.

4.1.11. Синтез [¹⁵N]индола



Синтез проводили в трехгорлой колбе объемом 100 мл снабженной магнитной мешалкой, постоянным током аргона, капельной воронкой и хлоркальциевой трубкой. К раствору 0.470 г (3.17 ммоль) изатина в 3 мл абсолютного ТГФ, охлажденному на спиртовой бане до -50°C , медленно по каплям добавляли охлажденный до 0°C раствор диборана в ТГФ 35 мл 0.6 М (21.0 ммоль). Во время добавления следили за тем, чтобы температура медленно повышалась до -37°C . Раствор диборана в ТГФ получали непосредственно перед синтезом путем добавления по каплям эфирата трехфтористого бора к охлажденному до -20°C раствору боргидрида натрия в ТГФ. После добавления всего раствора диборана раствор перемешивали при -37°C в течение 30 минут. Затем реакционную смесь перемешивали ещё 2 ч при температуре -20°C , после чего оставляли на 24 ч при 0°C . За это время реакционная смесь изменила свою окраску с оранжевой на светло-желтую. Затем, реакционную смесь разбавляли 175 мл воды, сначала по каплям для гашения избытка восстановителя, затем добавляли оставшийся объём воды. Раствор изменил свою окраску с бледно-желтой до зеленоватой. Раствор экстрагировали эфиром 7 раз по 5 мл. Синтез был проведен два раза, после чего объединённые эфирные вытяжки пурпурного цвета сушили над безводным MgSO_4 в течение суток. Эфирный раствор пропускали через колонку с SiO_2 , после чего большую часть эфира отгоняли на приборе с большим дефлегматором и головкой обратного отбора. Оставшийся эфир упаривали на ротаторном испарителе. Полученный таким образом продукт растворяли в минимальном количестве хлористого метилена и вновь пропускали через колонку с SiO_2 . Окончательную очистку проводили перекристаллизацией из пентана. В результате был получен продукт в виде белых игольчатых кристаллов. Выход 0.118 г (16%).

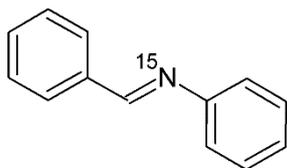
Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, CD_3CN , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 6.45-6.47 (1H, м, H-3); 7.02-7.05 (1H, м, H-5); 7.11-7.14 (1H, м, H-6); 7.23-7.25 (1H, м, H-2); 7.42-7.44 (1H, м, H-7); 7.56-7.58 (1H, м, H-4); 9.17-9.35 (1H, м, H-1).

Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, CD_3CN , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 102.32 (д, $^2J_{\text{CN}} = 2.55$, C-3); 112.13 (д, $^2J_{\text{CN}} = 1.63$, C-7), 120.14 (д, $^4J_{\text{CN}} = 0.14$, C-5); 121.11 (д, $^3J_{\text{CN}} = 1.18$, C-4); 122.28 (д, $^3J_{\text{CN}} = 2.02$, C-6); 125.68 (д, $^1J_{\text{CN}} = 13.08$, C-2); 128.93 (д, $^2J_{\text{CN}} = 4.80$, C-3a); 136.96 (д, $^1J_{\text{CN}} = 15.37$, C-7a).

Спектр ЯМР ^{15}N (60.67 МГц, CD_3CN , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 128.95 (д т д д д д, $J_{\text{HN}} = 98.19$, $J_{\text{HN}} = 4.74$, $J_{\text{HN}} = 1.21$, $J_{\text{HN}} = 0.69$, $J_{\text{HN}} = 0.29$, $J_{\text{HN}} = 0.10$, N-1).

Найдено, m/z : 119.0623 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_8\text{H}_8^{15}\text{N}$. Вычислено, m/z : 119.0622.

4.1.12. Синтез [¹⁵N]N-бензилиденанилина

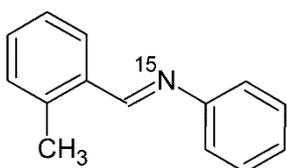


Синтез проводили в двугорлой колбе объемом 25 мл, снабженной обратным холодильником, магнитной мешалкой и постоянным током аргона. К раствору 0.116 г (1.09 ммоль) бензальдегида в 3 мл абсолютного этилового спирта добавляли 0.101 г (1.07 ммоль) [¹⁵N]анилина. Реакционную смесь бледно-желтой окраски кипятили с обратным холодильником 3 ч, после чего при комнатной температуре перемешивали в течение ещё 6 ч. После завершения реакции раствор приобрел желтую окраску. Затем образовавшийся раствор переносили в колбу на 10 мл и отгоняли растворитель на роторном испарителе при комнатной температуре. Вещество представляло собой желто-оранжевые кристаллы. Дальнейшую очистку проводили перекристаллизацией из гексана при -20°C, после чего переносили кристаллы в колбу и сушили в вакууме масляного насоса. В результате был получен продукт в виде белых кристаллов. Выход 0.175 г (90%).

Спектр ЯМР ¹H (600 МГц, CDCl₃, 303 К), δ, м. д. (*J*, Гц): 7.21-7.23 (3H, м, Но, Нр); 7.38-7.40 (2H, м, Нм); 7.47-7.49 (3H, м, Н-5, Н-4, Н-3); 7.90-7.92 (2H, м, Н-2, Н-6); 8.45-8.47 (1H, д, ²*J*_{HN} = 3.80, СН).

Спектр ЯМР ¹³C (150 МГц, CDCl₃, 303 К), δ, м. д. (*J*, Гц): 102.32 (д, ²*J*_{CN} = 2.55, С-3); 120.36 (д, ²*J*_{CN} = 2.90, Со); 125.42 (Ср); 128.26 (2С, С-3, С-5); 128.31 (2С, д, ³*J*_{CN} = 2.94, С-2, С-6); 128.64 (д, ³*J*_{CN} = 1.48, См); 130.86 (д, ⁵*J*_{CN} = 0.74, С-4); 135.79 (д, ²*J*_{CN} = 6.69, С-1); 151.64 (д, ¹*J*_{CN} = 1.30, Сi); 159.83 (д, ¹*J*_{CN} = 7.28, СН).

4.1.13. Синтез [¹⁵N]N-(орто-метилбензилиден)анилина



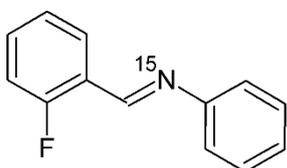
Синтез проводили в двугорлой колбе объемом 25 мл, снабженной обратным холодильником, магнитной мешалкой и постоянным током аргона. К раствору 0.130 г (1.08 ммоль) орто-метилбензальдегида в 3 мл абсолютного этилового спирта добавляли 0.100 г (1.06 ммоль) [¹⁵N]анилина. Реакционную смесь желтой окраски кипятили с обратным холодильником в течение 6.5 ч. После завершения реакции раствор темно-желтой окраски переносили в колбу на 10 мл и отгоняли растворитель на роторном испарителе при 50°C. Вещество представляло собой коричневую вязкую жидкость. Дальнейшую очистку проводили перекристаллизацией из гексана при -20°C, после чего переносили кристаллы в колбу. Кристаллы плавилась при комнатной температуре, образуя темно-коричневую вязкую жидкость, которую сушили в вакууме масляного насоса. Процедуру перекристаллизации при пониженной температуре повторяли 2 раза. В

результате был получен продукт в виде темно-коричневой вязкой жидкости с неприятным запахом. Выход 0.137 г (66%).

Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, CDCl_3 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 2.59 (3H, CH_3); 7.19-7.21 (2H, м, Ho); 7.22-7.24 (2H, м, Hp, H-3); 7.29-7.31 (1H, м, H-5); 7.36 (1H, т д, $^3J_{\text{HH}} = 7.39$, $^4J_{\text{HH}} = 1.47$, H-4); 7.39-7.41 (2H, м, Hm); 8.07 (1H, дд, $^3J_{\text{HH}} = 7.75$, $^4J_{\text{HH}} = 1.34$, H-6); 8.75 (1H, д, $^2J_{\text{HN}} = 3.79$, CH).

Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, CDCl_3 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 19.39 (CH_3); 120.88 (2C, д, $^2J_{\text{CN}} = 2.88$, Co); 125.77 (Cp); 126.33 (C-5); 127.91 (д, $^3J_{\text{CN}} = 3.35$, C-6); 129.12 (2C, д, $^3J_{\text{CN}} = 1.45$, Cm); 130.98 (C-3); 130.99 (C-4); 134.15 (д, $^2J_{\text{CN}} = 6.31$, C-1); 138.58 (д, $^3J_{\text{CN}} = 2.34$, C-2); 152.72 (д, $^1J_{\text{CN}} = 1.17$, Ci); 159.06 (д, $^1J_{\text{CN}} = 6.80$, CH).

4.1.14. Синтез [^{15}N]орто-фторбензилиденанилина



Синтез проводили в круглодонной колбе объемом 10 мл снабженной обратным холодильником и магнитной мешалкой. К раствору 0.330 г (2.66 ммоль) орто-фторбензальдегида в 6 мл абсолютного этилового спирта добавляли 0.250 г (2.66 ммоль) [^{15}N]анилина растворенного в 1 мл абсолютного этилового спирта и каталитическое количество пара-толуолсульфокислоты. Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 2 часов. После завершения реакции раствор приобрел желтую окраску. Смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли 6 мл гексана, после чего пропускали через флеш-колонку с оксидом алюминия (высотой 2 см) для очистки от пара-толуолсульфокислоты, в качестве элюента использовали хлороформ. Раствор упаривали на ротаторном испарителе. Дальнейшую очистку проводили перекристаллизацией из гексана при -20°C , после чего переносили кристаллы в колбу. Кристаллы плавилась при комнатной температуре, образуя желтую вязкую жидкость, которую сушили в вакууме масляного насоса. Процедуру перекристаллизации при пониженной температуре повторяли 2 раза. В результате был получен продукт в виде желтой маслянистой жидкости с неприятным запахом. Выход 0.473 г (89%).

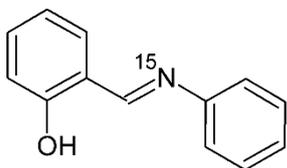
Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, CDCl_3 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 7.15-7.11 (1H, м, H-3); 7.26-7.22 (4H, м, H-5, Ho, Hp); 7.42-7.38 (2H, м, Hm); 7.47-7.43 (1H, м, H-4); 8.20-8.17 (1H, м, H-6); 8.78 (1H, д, $^3J_{\text{HN}} = 3.77$, CH).

Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, CDCl_3 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 115.86 (д, $^2J_{\text{CF}} = 21.17$, C-3); 120.97 (2C, д, $^2J_{\text{CN}} = 2.96$, Co); 124.02 (дд, $^2J_{\text{CF}} = 9.13$, $^2J_{\text{CN}} = 7.15$, C-1); 124.48 (д, $^4J_{\text{CF}} = 3.59$, C-5); 126.27 (д, $^4J_{\text{CN}} = 0.35$, Cp); 127.91 (дд, $^3J_{\text{CF}} = 2.59$, $^3J_{\text{CN}} = 3.42$, C-6); 129.16 (2C, д,

$^3J_{CN} = 1.49$, Cm); 132.91 (дд, $^3J_{CF} = 8.67$, $^5J_{CN} = 0.77$, C-4); 151.99 (д, $^1J_{CN} = 1.37$, Ci); 153.44 (дд, $^1J_{CN} = 7.46$, $^3J_{CF} = 5.11$, CH); 162.89 (дд, $^1J_{CF} = 253.02$, $^3J_{CN} = 2.67$, C-2).

4.1.15. Синтез [^{15}N]орто-гидроксibenзилиденанилина

Синтез проводили в двугорлой колбе объемом 25 мл, снабженной обратным холодильником, магнитной мешалкой и постоянным током аргона. К раствору 0.130 г (1.06 ммоль) салицилового альдегида в 8 мл абсолютного этилового спирта добавляли 0.100 г (1.06 ммоль) [^{15}N]анилина. Реакционную смесь бледно-желтой окраски кипятили с обратным холодильником в течение 4 ч. После завершения реакции раствор ярко-желтой окраски перенесли в колбу на 50 мл и отгоняли растворитель при 70°C. Вещество представляло собой желтую жидкость, закристаллизовавшуюся при охлаждении до комнатной температуры. Дальнейшую очистку проводили перекристаллизацией из гексана при -20°C. Процедуру перекристаллизации при пониженной температуре повторяли 2 раза, после чего переносили кристаллы в колбу и сушили в вакууме масляного насоса. В результате был получен продукт в виде желтых игольчатых кристаллов. Выход 0.181 г (86%).

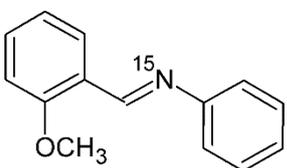


Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, CDCl_3 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 6.98 (2H, м, H-3, H-5); 7.32 (1H, м, H_p); 7.38 (2H, м, H_o); 7.41 (1H, м, H-4); 7.46 (2H, м, H_m); 7.53 (1H, д д, $^3J_{HH} = 7.57$, $^4J_{HH} = 1.72$, H-6); 8.80 (1H, д, $^2J_{HN} = 3.44$, CH); 13.21 (1H, д, $^5J_{HN} = 1.71$).

Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, CDCl_3 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 116.46 (C-3); 118.88 (C-5); 119.05 (д, $^2J_{CN} = 3.27$, C-1); 121.00 (2C, д, $^2J_{CN} = 2.80$, C_o); 126.71 (д, $^4J_{CN} = 0.52$, C_p), 129.18 (2C, д, $^3J_{CN} = 1.76$, Cm), 132.52 (д, $^3J_{CN} = 2.59$, C-6), 132.91 (д, $^5J_{CN} = 0.84$, C-4), 148.14 (д, $^1J_{CN} = 3.83$, Ci), 160.73 (д, $^3J_{CN} = 0.52$, C-2); 163.45 (д, $^1J_{CN} = 7.24$, CH).

4.1.16. Синтез [^{15}N]орто-метоксибензилиденанилина

Синтез проводили в двугорлой колбе объемом 25 мл снабженной обратным холодильником, магнитной мешалкой и постоянным током аргона. К раствору 0.145 г (1.07 ммоль) орто-метоксибензальдегида в 18 мл абсолютного этилового спирта добавляли 0.100 г (1.06 ммоль) [^{15}N]анилина. Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 3 ч. После завершения реакции раствор приобрел ярко-желтую окраску. Затем образовавшийся раствор переносили в колбу на 100 мл и отгоняли растворитель на роторном испарителе. Вещество представляло собой белый осадок. Дальнейшую очистку проводили перекристаллизацией из гексана при -20°C. Процедуру

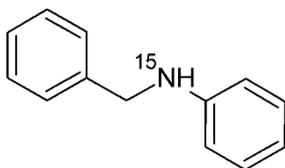


перекристаллизации при пониженной температуре повторяли 2 раза, после чего переносили кристаллы в колбу и сушили в вакууме масляного насоса. В результате был получен продукт в виде белых игольчатых кристаллов. Выход 0.187 г (83%).

Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, CDCl_3 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 3.90 (3H, OCH_3); 6.95 (1H, д д, $^3J_{\text{HH}} = 8.40$, $^4J_{\text{HH}} = 0.92$, H-3); 7.04 (1H, т т, $^3J_{\text{HH}} = 7.56$, $^4J_{\text{HH}} = 0.92$, H-5); 7.19-7.23 (3H, м, Но, Нр); 7.36-7.39 (2H, м, Нм); 7.44 (1H, д д д, $^3J_{\text{HH}} = 8.40$, $^3J_{\text{HH}} = 7.32$, $^4J_{\text{HH}} = 1.82$, H-4); 8.15 (1H, д д, $^3J_{\text{HH}} = 7.71$, $^4J_{\text{HH}} = 1.91$, H-6); 8.92 (1H, д, $^2J_{\text{HN}} = 3.78$, СН).

Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, CDCl_3 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 55.58 (OCH_3); 111.14 (С-3); 120.90 (С-5); 121.07 (2С, д, $^2J_{\text{CN}} = 2.93$, Со); 124.84 (д, $^2J_{\text{CN}} = 6.88$, С-1); 125.62 (Ср); 127.58 (д, $^3J_{\text{CN}} = 3.56$, С-6); 129.02 (2С, д, $^3J_{\text{CN}} = 1.45$, См); 132.65 (д, $^5J_{\text{CN}} = 0.73$, С-4); 152.84 (д, $^1J_{\text{CN}} = 1.32$, Сi); 156.45 (д, $^1J_{\text{CN}} = 7.19$, СН); 159.55 (д, $^3J_{\text{CN}} = 2.54$, С-2).

4.1.17. Синтез [^{15}N]N-безиланилина



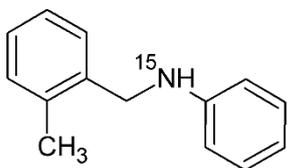
Синтез проводили в двугорлой колбе объемом 25 мл снабженной обратным холодильником, магнитной мешалкой и постоянным током аргона. К раствору 0.098 г (0.53 ммоль) [^{15}N]N-бензилиденанилина в 3 мл абсолютного метанола при интенсивном перемешивании, порционно вносили 0.030 г (0.79 ммоль) боргидрида натрия, после чего кипятили раствор 30 минут. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли 4 мл воды для разложения непрореагировавшего боргидрида натрия. К перемешивающейся гетерогенной смеси добавляли гранулированный гидроксид натрия до образования гомогенного раствора. Амин экстрагировали эфиром 4 раза по 7 мл. Объединенные эфирные вытяжки сушили над прокаленным MgSO_4 в течение суток, после чего отгоняли растворитель на роторном испарителе. Маслянистый остаток желтого цвета сушили в вакууме масляного насоса. Дальнейшую очистку проводили перекристаллизацией из гексана при -20°C , после чего переносили кристаллы в колбу и сушили в вакууме масляного насоса. В результате был получен продукт в виде белых игольчатых кристаллов. Выход 0.091 г (91 %).

Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, CDCl_3 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 4.00 (1H, т д, $^1J_{\text{HN}} = 85.47$, $^3J_{\text{HH}} = 4.72$, NH); 4.32 (2H, д, $^2J_{\text{HN}} = 4.72$, CH_2); 6.62-6.65 (2H, м, Но); 6.71 (1H, т т, $^3J_{\text{HH}} = 7.32$, $^4J_{\text{HH}} = 1.08$, Нр); 7.15-7.18 (2H, м, Нм); 7.25-7.28 (1H, м, H-4); 7.31-7.35 (2H, м, H-3, H-5); 7.36-7.38 (2H, м, H-2, H-6).

Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, CDCl_3 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 148.15 (д, $^1J_{\text{CN}} = 12.88$, Сi), 139.44 (д, $^1J_{\text{CN}} = 0.57$, С-1), 129.25 (2С, д, $^3J_{\text{CN}} = 1.29$, См), 128.62 (2С, С-3, С-5), 127.49

(2C, д, $^3J_{CN} = 1.39$, C-2, C-6), 127.21 (C-4), 117.56 (Cp), 112.84 (2C, д, $^2J_{CN} = 2.43$, Co); 48.32 (д, $^1J_{CN} = 9.66$, CH₂).

4.1.18. Синтез [¹⁵N]орто-метилбензиланилина

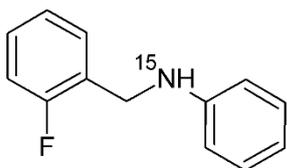


Синтез проводили в двугорлой колбе объемом 50 мл снабженной обратным холодильником, магнитной мешалкой и постоянным током аргона. К раствору 0.092 г (0.47 ммоль) [¹⁵N]орто-метилбензилиденанилина в 8 мл абсолютного метанола при интенсивном перемешивании, порционно вносили 0.040 г (1.06 ммоль) боргидрида натрия, после чего кипятили раствор 30 минут. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли 10 мл воды для разложения непрореагировавшего боргидрида натрия. К перемешивающейся гетерогенной смеси добавляли гранулированный гидроксид натрия до образования гомогенного раствора. Амин экстрагировали эфиром 4 раза по 7 мл. Объединенные эфирные вытяжки сушили над прокаленным MgSO₄ в течение суток, после чего отгоняли растворитель на роторном испарителе. Маслянистый остаток темно-желтого цвета сушили в вакууме масляного насоса. Дальнейшую очистку проводили перекристаллизацией из гексана при -20°C, после чего переносили кристаллы в колбу и сушили в вакууме масляного насоса. В результате был получен продукт в виде белого твердого вещества. Выход 0.084 г (90%).

Спектр ЯМР ¹H (600 МГц, CDCl₃, 303 К), δ, м. д. (*J*, Гц): 2.37 (3H, CH₃); 3.81 (1H, д т, $^1J_{HN} = 85.49$, $^3J_{HH} = 5.42$, NH); 4.28 (2H, д, $^2J_{HN} = 5.42$, CH₂); 6.64 (2H, м, Ho); 6.72 (1H, т т, $^3J_{HH} = 7.33$, $^4J_{HH} = 1.05$, Hp); 7.16-7.21 (5H, м, H-3, H-4, H-5, Hm); 7.33 (1H, д, $^3J_{HH} = 7.20$, H-6).

Спектр ЯМР ¹³C (150 МГц, CDCl₃, 303 К), δ, м. д. (*J*, Гц): 18.90 (CH₃); 46.38 (д, $^1J_{CN} = 9.60$, CH₂); 112.68 (2C, д, $^2J_{CN} = 2.42$, Co), 117.46 (Cp), 126.15 (C-5), 127.41 (C-4); 128.26 (д, $^3J_{CN} = 1.35$, C-6), 129.27 (2C, д, $^3J_{CN} = 1.28$, Cm); 130.41 (C-3), 136.33 (д, $^3J_{CN} = 1.06$, C-2), 137.01 (д, $^2J_{CN} = 0.47$, C-1); 148.30 (д, $^1J_{CN} = 12.75$, Ci).

4.1.19. Синтез [¹⁵N]орто-фторбензиланилина



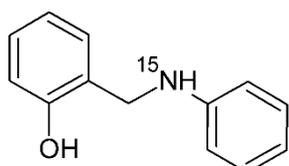
Синтез проводили в двугорлой колбе объемом 25 мл снабженной обратным холодильником, магнитной мешалкой и постоянным током аргона. К раствору 0.305 г (1.52 ммоль) [¹⁵N]орто-фторбензилиденанилина в 5 мл абсолютного метанола при интенсивном перемешивании, порционно вносили 0.081 г (2.14 ммоль) боргидрида натрия, после чего кипятили раствор 20 минут. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли 8 мл воды для разложения непрореагировавшего

боргидрида натрия. К перемешивающейся гетерогенной смеси добавляли гранулированный гидроксид натрия до образования гомогенного раствора. Амин экстрагировали эфиром 4 раза по 5 мл. Объединенные эфирные вытяжки сушили над прокаленным $MgSO_4$ в течение суток, после чего отгоняли растворитель на роторном испарителе. Маслянистый остаток желтого цвета сушили в вакууме масляного насоса. Дальнейшую очистку проводили перекристаллизацией из гексана при $-20^\circ C$. Кристаллы плавилась при комнатной температуре, образуя желтую вязкую жидкость, которую сушили в вакууме масляного насоса. Процедуру перекристаллизации при пониженной температуре повторяли 2 раза. В результате был получен продукт в виде желтой маслянистой жидкости с неприятным запахом. Выход 0.288 г (94%).

Спектр ЯМР 1H (600 МГц, $CDCl_3$, 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 4.03 (1H, д т, $^1J_{HN} = 85.20$, $^3J_{HH} = 5.97$, NH). 4.39 (2H, д, $^2J_{HN} = 5.62$, CH_2), 6.62-6.65 (1H, м, Ho), 6.71 (1H, т т, $^3J_{HH} = 7.33$, $^4J_{HH} = 1.04$, Hp), 7.02-7.10 (2H, м, H-5, H-3), 7.14-7.18 (2H, м, Hm), 7.21-7.25 (1H, м, H-4), 7.35-7.39 (1H, м, H-6).

Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, $CDCl_3$, 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 41.86 (д д, $^1J_{CN} = 9.87$, $^3J_{CF} = 4.26$, CH_2). 112.94 (2C, д, $^2J_{CN} = 2.45$, Co); 115.31 (д, $^2J_{CF} = 21.49$, C-3), 117.76 (Cp), 124.16 (д, $^4J_{CF} = 3.58$, C-5); 126.34 (д д, $^2J_{CF} = 14.52$, $^2J_{CN} = 0.65$, C-1), 128.76 (д, $^3J_{CF} = 8.14$, C-4), 129.25 (2C, д, $^3J_{CN} = 1.34$, Cm); 129.43 (д д, $^3J_{CF} = 4.53$, $^3J_{CN} = 1.29$, C-6), 147.82 (д, $^1J_{CN} = 12.76$, Ci); 160.90 (д д, $^1J_{CF} = 245.66$, $^3J_{CN} = 1.18$, C-2).

4.1.20. Синтез [^{15}N]орто-гидроксibenзиланилина



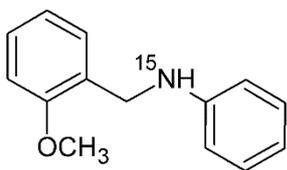
Синтез проводили в двугорлой колбе объемом 50 мл снабженной обратным холодильником, магнитной мешалкой и постоянным током аргона. К раствору 0.143 г (0.72 ммоль) [^{15}N]орто-гидроксibenзилиденанилина в 10 мл абсолютного метанола при интенсивном перемешивании, порционно вносили 0.040 г (1.06 ммоль) боргидрида натрия, при этом наблюдалось обесцвечивание раствора ярко-желтой окраски. Раствор кипятили в течении 40 минут. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли 10 мл воды для разложения непрореагировавшего боргидрида натрия. К перемешивающейся гетерогенной смеси добавляли гранулированный гидроксид натрия до образования гомогенного раствора. Дополнительно в раствор вносили 2 г хлорида натрия, после чего экстрагировали амин эфиром 5 раза по 7 мл. Объединенные эфирные вытяжки сушили над прокаленным $MgSO_4$ в течение суток, после чего отгоняли растворитель на роторном испарителе. Твердый остаток белого цвета сушили в вакууме масляного насоса. Дальнейшую очистку проводили промыванием сухим гексаном.

Процедуру проводили три раза, после чего переносили кристаллы в колбу и сушили в вакууме масляного насоса. В результате был получен продукт в виде белого твердого вещества. Выход 0.127 г (88%).

Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, ДМСО- D_6 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 3.45 (1H, уш. с, OH); 4.16 (2H, уш. с, CH_2); 5.91 (1H, уш. с, NH); 6.45-6.48 (1H, м, H ρ); 6.53-6.56 (2H, м, H σ); 6.66 (1H, т, $^3J_{\text{HH}} = 7.39$, H-5); 6.79 (1H, д, $^3J_{\text{HH}} = 8.01$, H-3); 6.98-7.01 (2H, м, H-4, H m); 7.14 (1H, д, $^3J_{\text{HH}} = 7.57$, H-6).

Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, ДМСО- D_6 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 41.50 (д, $^1J_{\text{CN}} = 10.08$, CH_2); 112.21 (2C, д, $^2J_{\text{CN}} = 2.34$, C σ); 115.04 (C-3); 115.58 (C ρ); 118.31 (C-5); 125.86 (уш. с, C-1); 127.43 (C-4); 128.18 (д, $^3J_{\text{CN}} = 1.20$, C-6); 128.81 (2C, д, $^3J_{\text{CN}} = 1.20$, C m); 148.94 (д, $^1J_{\text{CN}} = 13.34$, C i); 155.65 (уш. с, C-2).

4.1.21. Синтез [^{15}N]орто-метоксибензилаанилина



Синтез проводили в двугорлой колбе объемом 50 мл снабженной обратным холодильником, магнитной мешалкой и постоянным током аргона. К раствору 0.100 г (0.47 ммоль) [^{15}N]орто-метоксибензилиденанилина в 17 мл абсолютного метанола при интенсивном перемешивании, порционно вносили 0.045 г (1.19 ммоль) боргидрида натрия, после чего кипятили раствор 30 минут. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли 10 мл воды для разложения непрореагировавшего боргидрида натрия. К перемешивающейся гетерогенной смеси добавляли гранулированный гидроксид натрия, однако полного растворения осадка не наблюдалось. Для гомогенизации смеси вносили ещё 7 мл диэтилового эфира и перемешивали до полного растворения белого осадка в течение 10 минут. Амин экстрагировали эфиром 5 раз по 8 мл, предварительно добавив к экстрагируемому раствору 1 г хлорида натрия. Объединенные эфирные вытяжки сушили над прокаленным MgSO_4 в течение суток, после чего отгоняли растворитель на роторе. Твердый остаток белого цвета сушили в вакууме масляного насоса. Дальнейшую очистку проводили промыванием сухим гексаном. Процедуру проводили три раза, после чего переносили кристаллы в колбу и сушили в вакууме масляного насоса. В результате был получен продукт в виде белого твердого вещества. Выход 0.091 г (90%).

Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, ДМСО- D_6 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 3.83 (OCH_3); 4.21 (2H, д, $^3J_{\text{HH}} = 6.02$, CH_2); 5.98 (1H, д т, $^1J_{\text{HN}} = 88.64$, $^3J_{\text{HH}} = 6.12$, NH), 6.48-6.50 (1H, м, H ρ), 6.53-6.55 (2H, м, H σ), 6.86 (1H, т д, $^3J_{\text{HH}} = 7.45$, $^4J_{\text{HH}} = 1.03$, H-5), 6.98-7.01 (1H, м, H-3), 7.01-7.04 (2H, м, H m), 7.19-7.22 (1H, м, H-4), 7.23-7.26 (1H, м, H-6).

Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, ДМСО- D_6 , 303 К), δ , м. д. (J , Гц): 42.21 (д, $^1J_{\text{CN}} = 10.44$, CH_2); 55.37 (OCH_3); 110.56 (С-3); 112.13 (2С, д, $^2J_{\text{CN}} = 2.39$, Со); 115.65 (Ср); 120.14 (С-5); 127.48 (д, $^2J_{\text{CN}} = 0.46$, С-1); 127.81 (С-4); 127.82 (д, $^3J_{\text{CN}} = 1.30$, С-6), 128.86 (2С, д, $^3J_{\text{CN}} = 1.26$, См), 148.81 (д, $^1J_{\text{CN}} = 13.48$, Сi); 156.94 (д, $^3J_{\text{CN}} = 1.09$, С-2).

4.2. Регистрация спектров ЯМР

Спектры ЯМР ^1H , ^{13}C регистрировали на спектрометре “Bruker AV-600” с напряженностью магнитного поля 14.09 Тл с рабочими частотами для ядер ^1H и ^{13}C 600 МГц и 150.92 МГц соответственно. Регистрацию спектров ЯМР ^1H и ^{13}C проводили в импульсном режиме. Все спектры регистрировали при температуре 303 К.

Подтверждение структуры соединений и отнесение сигналов проводили с использованием данных двумерных экспериментов ЯМР COSY и HSQC. Двумерные корреляционные спектры ЯМР COSY и HSQC зарегистрированы на оптимальных полосах частот с объемами выбранных данных 4К*1К (COSY) и 8К * 1К (HSQC) с релаксационными задержками от 1.5 до 2 с. на “инверсном” широкополосном датчике PAXI, оснащенной системой управления импульсными градиентами поля. Эксперименты HSQC проводили с параметром BIRD-фильтра 140-160 Гц. В случае экспериментов COSY использовали двумерное Фурье-преобразование (4К*4К точек) в режиме магнитудного представления данных после предварительной обработки цифровыми фильтрами QSIM по каждой координате. Обработку экспериментов HSQC проводили в фазочувствительном режиме для массивов данных 8К * 1К с использованием лоренцевого фильтра (с параметром уширения 1 Гц для координаты протонов и 20-30 Гц для углеродной координаты).

Для получения ЯМР спектров высокого разрешения для образца [^{15}N]индола была проведена дегазация раствора. Примесь парамагнитного кислорода удаляли из раствора по следующей процедуре. Припаянную к шлифу 5 мм ампулу с раствором [^{15}N]индола в ацетонитриле помещали на вакуумную установку. Раствор замораживали жидким азотом, затем газовую фазу откачивали на диффузионном вакуумном насосе, после чего раствор размораживали. Данную процедуру повторяли не менее 3 раз. Критерием окончания процесса служило прекращение изменения давления в системе при размораживании. Образец после дегазации отпаивался.

Оценку времени релаксации дейтерия проводили при температуре 303 К с использованием метода инверсия-восстановление [201]. Регистрация экспериментов ЯМР ^2H проводилась, с равномерно распределенной в логарифмической шкале варьируемой задержкой D2 в диапазоне от 0.01 с до 0.5с.

Динамические ^1H эксперименты проводили на образце обогащенного бензамида с концентрацией 57 ммоль/л в растворе DMCO-D_6 в диапазоне температур 305 – 372 К с шагом в 5-7 К и в растворе CDCl_3 в диапазоне температур 274 – 324 К с шагом в 5-7 К

Перед измерением спектров ЯМР термостатирование образцов проводили не менее 45 минут. Температура откалибрована согласно калибровочным кривым, полученным по сигналу 100% этиленгликоля согласно [128]. Обработку массива спектров ЯМР ^1H проводили с помощью программы DNMRD5 [298, 299].

4.3. Регистрация масс-спектров

Масс-спектры регистрировали на времяпролетном масс-спектрометре LECO Pegasus 4D TOF с газовым хроматографом Agilent.

Масс-спектры высокого разрешения регистрировали на спектрометре Sciex TripleTOF 5600+.

4.4. Проведение квантово-химических расчетов параметров спектров ЯМР

Все квантово-химические расчеты в настоящей работе были выполнены с использованием программного пакета Gaussian [155]. Структура исследуемых объектов была оптимизирована в приближении изолированной молекулы методом функционала электронной плотности (DFT) с использованием гибридного функционала плотности (B3LYP) с базисными функциями 6-311++G(2df,2p). Мы выбрали метод DFT, так как он является более удовлетворительным по таким параметрам, как время расчета и сходимость процедуры самосогласования (SCF). Для подготовки данных и визуального контроля хода расчета использовался специализированный программный пакет GaussView 5.0.

Проведенные нами квантовомеханический расчет основного состояния бензамида в приближении MP2 с базисными функциями aug-cc-pVTZ [155, 159]. Проведена серия расчетов (в приближении MP2 с базисными функциями aug-cc-pVTZ) с полной оптимизацией энергии молекулы со сканированием двугранного угла ϕ с шагом 6° при фиксации плоской геометрии аминогруппы.

КССВ $^nJ_{\text{CN}}$ рассчитывались методом FPT-DFT и PBE в приближении B3LYP с набором базисных функций: 6-311+G(2df,2p), 6-311++G(2df,2p) и 6-311++G(3df,2pd). Для получения значений КССВ был проведен расчет всех четырех составляющих членов: ферми-контактный, спин-дипольный, орбитально-парамагнитный и орбитально-диамагнитный.

Расчеты проводились в режиме "mixed", который позволяет существенно снизить уровень вычислительных ресурсов [229]. Характерной особенностью этого режима является разделение расчета на два этапа. На первом этапе вычисляется ферми-контактный

член с использованием базисного набора, содержащего большое количество поляризационных компонент. На втором этапе рассчитываются оставшиеся три компоненты с более простыми базисными функциями, что сокращает время расчета в два-три раза без ощутимой потери точности. КССВ были рассчитаны для оптимизированной геометрии молекулы.

Расчеты проводились на персональных компьютерах в операционной среде Windows (64 bit). Для этого использовались стационарные компьютеры на базе процессора Intel(R) Core i7 2600K с 4 Гб, 16 Гб, 512 Гб оперативной памяти. Расчеты проводились в многопроцессорном режиме (от 2 до 16 потоков) с записью промежуточных результатов на магнитный диск в файл для временного хранения.

5. Заключение

Полученные в работе результаты позволяют подвести итоги выполненного исследования:

1. Проанализированы литературные данные по методам синтеза изотопнообогатенных по азоту органических соединений и на основе полученных данных используя небогатенные соединения была отработана методика введения изотопной метки ^{15}N , исходя из сульфата $[^{15}\text{N}]$ аммония. Данная методика применена для получения $[^{15}\text{N}]$ бензамида и дважды обогатенного $[^2\text{H}_5, ^{15}\text{N}]$ бензамида. Отработан двухстадийный синтез $[^{15}\text{N}]$ анилина из $[^{15}\text{N}]$ бензамида, позволивший получить продукт с высокой химической и изотопной чистотой. Разработан метод синтеза селективно меченого $[^{15}\text{N}]$ индола, исходя из $[^{15}\text{N}]$ анилина. Проведен синтез серии $[^{15}\text{N}]$ обогатенных производных бензилиденанилина и бензиланилина, с заместителями Н-, CH_3 -, F-, NO -, CH_3O - в *орто*- положении удаленного от азота кольца. Все целевые продукты имеют химическую чистоту выше 95%, а изотопная чистота всех полученных $[^{15}\text{N}]$ обогатенных соединений соответствует изотопной чистоте источника изотопной метки.

2. По данным спектров ЯМР было проведено отнесение сигналов амидных протонов бензамида в растворах CDCl_3 , DMCO-D_6 . Подбор оптимальных условий регистрации спектров ЯМР ^1H позволил обнаружить геминальную КССВ $^2J_{\text{HH}}$ амидных протонов в растворах CDCl_3 $^2J_{\text{HH}} = -2.39$ Гц, DMCO-D_6 $^2J_{\text{HH}} = -1.23$ Гц. Расшифрованы спектры ЯМР ^{13}C изотопологов бензамида, определены КССВ с участием ядра ^{15}N и определены изотопные химические сдвиги.

3. Проведен квантово-химический расчет 193 КССС $^nJ_{\text{CN}}$ конформационно жестких и структурно фиксированных азотсодержащих соединений. Кластерный анализ корреляционных зависимостей экспериментальных и расчетных значений констант $^nJ_{\text{CN}}$,

показал, что квантово-химические DFT-расчеты значений КССВ вместе с анализом их экспериментальных значений могут дать важную информацию для решения структурных задач. Практически полезным оказался параллельный анализ зависимости расчетных и экспериментальных значений КССВ от структурных особенностей внутри групп родственных соединений. Разработан подход определения знаков КССВ с использованием статистической обработки полученных корреляционных зависимостей.

4. Проведено кислотно-основное ЯМР-титрование производных [^{15}N]обогащенных бензилиденанилина и бензиланилина соединений. Для каждого соединения были подобраны оптимальные условия (растворитель и титрант), использовались растворы CDCl_3 , DMCO-D_6 , CD_3CN , титранты: трифторуксусная и трифторметансульфоновая кислоты. С использованием двумерной спектроскопии произведено отнесение сигналов протонированных форм соединений, и измерены значения КССВ ^{13}C - ^{15}N . Охарактеризованы наиболее стабильные конформеры, для которых проведены расчеты КССВ. Показано, что экспериментальные и расчетные значения дальних КССВ хорошо соответствуют между собой. $R = 0.982$.

Полученные в работе результаты позволяют сделать следующие выводы:

1. [^{15}N]бензамид, [$^2\text{H}_5$, ^{15}N]бензамид, [^{15}N]анилин, [^{15}N]индол, серия производных [^{15}N]бензилиденанилина и [^{15}N]бензиланилина с заместителями Н-, CH_3 -, F-, HO -, CH_3O - в *орто*- положении удаленного от азота кольца получены с высоким выходом из обогащенного сульфата аммония в качестве источника изотопной метки ^{15}N .

2. В ходе детального анализа спектров ЯМР изученных в настоящей работе соединений получен ряд неизвестных ранее параметров спектров ЯМР: КССВ ^1H - ^{15}N и изотопных эффектов замены ядра $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ на химические сдвиги ^{13}C . Эти параметры могут быть использованы в качестве опорных для установления структуры новых соединений, в частности, полиядерных азотсодержащих гетероциклов.

3. Исследована динамическая структура бензамида методами динамического ЯМР и квантовой химии. Показано, что динамика внутреннего вращения протонов амидной группы относительно бензольного кольца в растворе ДМСО описывается тремя факторами: заторможенным внутренним вращением NH_2 -группы вокруг связи $\text{C}(\text{O})\text{-N}$; карбамидной группы в целом относительно бензольного кольца и изменяющейся гибридизацией атома азота в области переходного состояния.

4. Расшифрована тонкая мультиплетная структура спектра ЯМР ^1H и протонно-связанного спектра ЯМР [^{15}N]индола. Впервые с высокой точностью получен полный набор КССВ ^1H - ^1H и ^1H - ^{15}N для [^{15}N]индола. Проведенные неэмпирические квантово-механические расчеты КССВ в рамках метода DFT/B3LYP показали высокий уровень

соответствия расчета с экспериментом. Это свидетельствует о больших возможностях использования этого подхода для характеристики продуктов новых азотсодержащих соединений, в частности, при изучении новых лекарственных препаратов и т.д.

5. Показано, что кластерный анализ представительного массива экспериментальных и расчетных КССВ ^{13}C - ^{15}N в форме двумерного кросс-корреляционного отображения может служить новым инструментом при установлении структуры азотсодержащих соединений.

6. Показано, что найденные в настоящей работе факторы конформационного равновесия в производных ^{15}N бензилиденанилина и ^{15}N бензиланилина могут быть полезными для конструирования молекулярных переключателей нового типа на основе бензилиденанилина и бензиланилина.

Рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы диссертации состоят в следующем:

1. Предложенный метод введения изотопной метки ^{15}N может быть использован для получения других азотсодержащих соединений, в частности, в синтезе азотсодержащих гетероциклов: хинолин и изохинолин.

2. Полученные в настоящей работе данные по изотопным химическим сдвигам, могут служить в качестве опорных значений при сравнении экспериментальных и рассчитанных значений.

3. Исследовать динамическую структуру бензамида в растворе хлороформа методами динамического ЯМР и квантовой химии.

4. Провести квантово-химический расчет КССС $^nJ_{\text{CN}}$ конформационно нежестких азотсодержащих соединений и провести анализ полученных значений.

6. Список литературы

1. Hanson J.R. *The Organic Chemistry of Isotopic Labelling* // Cambridge: RSCPublishing. 2011.
2. Allen C.F.H., Wilson C.V. The Use of N-15 as a tracer element in chemical reactions. The mechanism of the Fischer indole synthesis // *J. Am. Chem. Soc.* 1943. – Т. 65. – № 4. – С. 611–612.
3. Buchanan G. Applications of nitrogen-15 NMR spectroscopy to the study of molecular structure, stereochemistry and binding phenomena // *Tetrahedron*. 1989. – Т. 45. – № 3 – С. 581–604.
4. Lagoja I.M., Herdewijn P. Chemical synthesis of ^{13}C and ^{15}N Labelled nucleosides // *Synthesis*. 2002. – № 3. – С. 301–314.
5. Tang G., Tang X., Wang S., Jiang G., Wu S. Synthesis of DL- α - ^{15}N -tryptophan from 1 - ^{15}N -hydantoin // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1999. – Т. 42. – № 2. – С. 199–201.
6. Johnston J.F., Ridd J.H., Sandall J.P.B. ^{15}N nuclear polarisation in nitration and related reactions. Part 5. The borderline between the classical and the electron transfer mechanisms in nitration by the nitronium ion // *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1991. – Т. 2. – № 5. – С. 623–628.
7. HøG J.H. Synthesis of o-, m- and p-Deuterio-, [^{15}N]-and mono[^{18}O]Nitrobenzene // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1971. – Т. 7. – № 2. – С. 179–181.
8. Van den Berg E.M.M., Baldew A.U., de Goede A.T.J.W., Raap J., Lugtenburg J. Synthesis of three isotopomers of L-tryptophan via a combination of organic synthesis and biotechnology // *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*. 2010. – Т. 107. – № 2. – С. 73–81.
9. Axenrod T., Watnick C.M., Wieder M.J., Duangthai S., Webb G.A., Yeh H.J.C., King M.M. Substituent effects on one-bond ^{15}N - ^{13}C couplings in N,N-dimethylanilines and nitrobenzenes. Effect of steric inhibition of conjugation // *Org. Magn. Res.* 1982. – Т. 20. – № 1. – С. 11–15.
10. Shine H.J., Subotkowski W., Gruszecka E. The photo-Wallach rearrangement. Heavy-atom kinetic isotope effects and mechanism // *Can. J. Chem.* 1986. – Т. 64. – № 6. – С. 1108-1115.
11. Konior R. J., Yang L., Walter R. I. High-yield nitration of benzene in the synthesis of ^{15}N -labelled nitrobenzene, acetanilide, and diphenylamine // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1990. – Т. 28. – № 11. – С. 1243–1245.
12. Sethi S., Gupta S.P., Jenkins E.E., Whitehead C.W., Townsend L.B., McCloskey J.A. Mass spectrometry of nucleic acid constituents. Electron ionization spectra of selectively labeled adenines // *J. Am. Chem. Soc.* 1982. – Т. 104. – № 12. – С. 3349–3353.
13. Rees G.J., Pitak M.B., Lari A., Day S.P., Yates J.R., Giirth P., Wallis J.D. Mapping of N–C Bond Formation from a Series of Crystalline Peri-Substituted Naphthalenes by Charge Density

and Solid-State NMR Methodologies // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2021. – T. 60. – № 44. – C. 23878–23884.

14. Bulusu S., Axenrod T., Liang B., Yuan L. An NMR study of the hydroxylamine-induced denitration of nitrocellulose, nitroamylose and some model monosaccharide nitrate esters // *Magn. Reson. Chem.* 1991. – T. 29. – № 2. – C. 168–177.

15. Gaffney B.L., Kung P.P., Jones R.A. Nitrogen-15-labeled deoxynucleosides. Synthesis of 7-¹⁵N-labeled deoxyadenosine, deoxyguanosine, and related deoxynucleosides. // *J. Am. Chem. Soc.* 1990. – T. 112. – № 18. – C. 6748–6749.

16. Neti S.S., Poulter C.D. Site-Selective Synthesis of ¹⁵N- and ¹³C-Enriched Flavin Mononucleotide Coenzyme Isotopologues // *J. Org. Chem.* – T. 81. – № 12. – C. 5087–5092.

17. Kostyanovskii R.G., Mishchenko A.I., Prosyaniuk A.V., Zaichenko N.L. Asymmetric nonbridge nitrogen // *Bull. Acad. Sci. USSR, div. Chem. Sci.* 1983. – T. 32. – C. 1421–1427.

18. Vaughan W.R., Cane D.E., Sloan G.B. The Rowe Rearrangement // *J. Am. Chem. Soc.* 1951. – T. 73. – № 5. – C. 2298–2301.

19. Pellegrin V., Fruchier A., Elguero J. Synthèse de l'indazole-1-¹⁵N, de l'indazole-2-¹⁵N et de leurs dérivés n-méthyles // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1981. – T. 18. – № 7. – C. 999–1008.

20. Lash T.D., Chen S. Syntheses of per-¹⁵N labeled etioporphyrins I–IV and a related tetrahydrobenzoporphyrin for applications in organic geochemistry and vibrational spectroscopy // *Tetrahedron.* 2001. – T. 61. – № 49. – C. 11577–11600.

21. Baxter R.L., Hanley A.B., Chan H.W.-S. Identification of L-nitrosuccinate as an intermediate in the fungal biosynthesis of 3-nitropropanoic acid // *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 1988. – № 12. – C. 757–758.

22. Li G., Qin Z., Radosevich A.T. P(III)/P(V)-Catalyzed Methylamination of Arylboronic Acids and Esters: Reductive C–N Coupling with Nitromethane as a Methylamine Surrogate // *J. Am. Chem. Soc.* 2020. – T. 142. – № 38. – C. 16205–16210.

23. Strelenko Y., Torocheshnikov V., Sergeyev N. Isotope effects in the nmr spectra of nitromethane // *J. Magn. Res.* 1990. – T. 89. – № 1. – C. 123–128.

24. Chen C.-Y., Bocian D.F., Lindsey J.S. Synthesis of 24 Bacteriochlorin Isotopologues, Each Containing a Symmetrical Pair of ¹³C or ¹⁵N Atoms in the Inner Core of the Macrocyclic // *J. Org. Chem.* 2014. – T. 79. – № 3. – C. 1001–1016.

25. Burton A.J., Wadsworth A.H. Stable isotopic labelling of heterocyclic compounds // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2007. – T. 50. – № 5–6. – C. 273–276.

26. Johnson P.L., Pearson N.R., Schuster B., Cobb J. Synthesis of stable isotopes of auxinic herbicides 4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid and 4-amino-3,6-dichloropicolinic acid // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2009. – T. 52. – № 9. – C. 382–386.

-
27. Vörös A., Mucsi Z., Baán Z., Timári G., Hermeicz I., Mizsey P., Finta Z. An experimental and theoretical study of reaction mechanisms between nitriles and hydroxylamine // *Org. Biomol. Chem.* 2014. – T. 12. – № 40. – C. 8036–8047.
28. Rykowski A., Wolinska E., Van Der Plas H.C. A new route to functionalized 3-aminopyridazines by ANRORC type ring transformation of 1,2,4-triazines with carbon nucleophiles // *J. Heterocycl. Chem.* 2000. – T. 37. – № 4. – C. 879–883.
29. Levic J., Micura R. Syntheses of ^{15}N -labeled pre-queuosine nucleobase derivatives // *Beilstein J. Org. Chem.* 2014. – T. 10. – C. 1914–1918.
30. Leete E., McDonell J.A. The incorporation of $[1-^{13}\text{C},^{14}\text{C},\text{methylamino-}^{15}\text{N}]$ -N-methylputrescine into nicotine and scopolamine established by means of carbon-13 nuclear magnetic resonance // *J. Am. Chem. Soc.* 1981. – T. 103. – № 3. – C. 103(3), 658–662.
31. Siebum A.G., Tsang R.F., Steen R., Raap J., Lugtenburg J. Synthesis of (ξ - ^{13}C -, ξ - ^{15}N)-Enriched L-Lysine. Establishing Schemes for the Preparation of All Possible ^{13}C and ^{15}N Isotopomers of L-Lysine, L-Ornithine, and L-Proline // *Eur. J. Org. Chem.* 2004. – T. 21. – C. 4391–4396.
32. Weiner S.J., Holl S.M., Covey D.F. Synthesis of ^{13}C , ^{15}N -enriched α -dicarbonyl model adducts to determine the utility of ^{13}C and ^{15}N NMR for studying mechanism-based inactivation of cytochromes P-450 by substituted dichloroacetamides // *Magn. Res. Chem.* 1994. – T. 32. – № 2. – C. 122–127.
33. Ouwerkerk N., Steenweg M., de Ruijter M., Brouwer J., van Boom J.H., Lugtenburg J., Raap J. One-Pot Two-Step Enzymatic Coupling of Pyrimidine Bases to 2-Deoxy-d-ribose-5-phosphate. A New Strategy in the Synthesis of Stable Isotope Labeled Deoxynucleosides // *J. Org. Chem.* 2002. – T. 67. – № 5. – C. 1480–1489.
34. Thakore R.R., Takale B.S., Singhanian V., Gallou F., Bruce H. Lipshutz Late-stage Pd-catalyzed cyanations of aryl/heteroaryl halides in aqueous micellar media // *ChemCatChem.* 2021. – T. 13. – № 1. – C. 212–216.
35. Akporji N., Thakore R.R., Cortes-Clerget M., Anderson J., Landstrom E., Aue D.H., Gallou F., Lipshutz B.H. N_2Phos – an easily made, highly effective ligand designed for ppm level Pd-catalyzed Suzuki–Miyaura cross couplings in water // *Chem. Sci.* 2020. – T. 11. – № 20. – C. 5205–5212.
36. Schellekens R.C., Stellaard F., Woerdenbag H.J., Frijlink H.W., Kosterink J.G. Applications of stable isotopes in clinical pharmacology // *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2011. – T. 72. – № 6. – C. 879–897.

-
37. Lin R., Weaner L.E., Hoerr D.C., Salter R., Gong Y. Expedient syntheses of stable and radioactive isotope-labeled anticonvulsant agent, JNJ-26990990, and its metabolites // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2013. – T. 51. – № 1. – C. 22–26.
38. Höfer D., Galanski M., Keppler B.K. Synthesis, Characterization, and Time-Dependent NMR Spectroscopy Studies of (SP -4-2)-[(trans -1R ,2R /1S ,2S -15 N2)-Cyclohexane-1,2-diamine][(¹³C2)oxalato]platinum(II) // *Eur. J. Inorg. Chem.* 2017. – T. 17. – C. 2347–2354.
39. Battersby A.R., Fookes C.J.R., Matcham G.W.J., McDonald E., Hollenstein R. Biosynthesis of porphyrins and related macrocycles. Part 20. Purification of deaminase and studies on its mode of action // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1.* 1983. – C. 3031–3040.
40. Glans J.H., Hatfield G.R. Synthesis of ¹⁵N labelled nylon 6 // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1989. – T. 27. – № 11. – C. 1341–1343.
41. Gazzola C., Kenyon G.L. A two-step synthesis of benzylamine-¹⁵N from ammonia-¹⁵N // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1978. – T. 15. – № S1. – C. 181–184.
42. Leete E., Isaacson H.V., Durst H.D. Synthesis of ¹⁵N labeled alkaloids: Coniine-¹⁵N and nicotine-1'-¹⁵N // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1971. – T. 7. – № 3. – C. 313–317.
43. Vo-Thanh G., Felpin F.-X., Nourrisson G., Trierweiler M., Robins R.J., Lebreton J. Synthesis of ¹⁵N-labelled normicotine and ¹⁵N-labelled nicotine // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2001. – T. 44. – № 13. – C. 881–888.
44. Zhou Y., Jermaks J., Keresztes I., MacMillan S.N., Collum D.B. Pseudophedrine-Derived Myers Enolates: Structures and Influence of Lithium Chloride on Reactivity and Mechanism // *J. Am. Chem. Soc.* 2019. – T. 141. – № 13. – C. 5444–5460.
45. Whaley T.W., Ott D.G. Syntheses with stable isotopes: Pyridine-¹⁵N // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1974. – T. 10. – № 2. – C. 283–286.
46. Xu K., Ho D.M., Pascal R.A. Molecular Association Mediated by Nitrogen-Chlorine Donor-Acceptor Interactions // *J. Org. Chem.* 1995. – T. 60. – № 22. – C. 7186–7191.
47. Shchepin R.V., Barskiy D.A., Mikhaylov D.M., Chekmenev E.Y. Efficient Synthesis of Nicotinamide-1-¹⁵N for Ultrafast NMR Hyperpolarization Using Parahydrogen // *Bioconjugate Chem.* 2016. – T. 27. – № 4. – C. 878–882.
48. Chukanov N.V., Shchepin R.V., Joshi S.M., Kabir M.S.H., Salnikov O.G., Svyatova A., Chekmenev E.Y. Synthetic Approaches for ¹⁵N-Labeled Hyperpolarized Heterocyclic Molecular Imaging Agents for ¹⁵N NMR Signal Amplification by Reversible Exchange in Microtesla Magnetic Fields // *Chem. Eur. J.* 2021. – T. 27. – № 38. – C. 9727–9736.
49. Birchall J.R., Kabir M.S.H., Salnikov O.G., Chukanov N.V., Svyatova A., Kovtunov K.V., Chekmenev E.Y. Quantifying the effects of quadrupolar sinks via ¹⁵N relaxation dynamics in

metronidazoles hyperpolarized via SABRE-SHEATH // *Chem. Comm.* 2020. – T. 56. – C. 9098–9101.

50. Chukanov N.V., Salnikov O.G., Trofimov I.A., Kabir M.S.H., Kovtunov K.V., Koptyug I.V., Chekmenev E.Y. Synthesis and ^{15}N NMR Signal Amplification by Reversible Exchange of [^{15}N]Dalfampridine at Microtesla Magnetic Fields // *ChemPhysChem*. 2021. – T. 22. – № 10. – C. 960–967.

51. Gruszecka E., Shine H.J. The preparation of [^{15}N]- and [$1\text{-}^{13}\text{C}$]-2-naphthylamine and their conversions into [^{15}N , $^{15}\text{N}'$]- and [$1,1'\text{-}^{13}\text{C}_2$]-2,2'-azonaphthalene // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1983. – T. 20. – № 11. – C. 1257–1264.

52. Laxer A., Fischer B. A facile synthesis of ($^{15}\text{N}_2$) malononitrile // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2000. – T. 43. – № 1. – C. 47–53.

53. Yu X., Chen K., Yang F., Zha S., Zhu J. Oxadiazolone-Enabled Synthesis of Primary Azaaromatic Amines // *Org. Lett.* 2016. – T. 18. – № 20. – C. 5412–5415.

54. Baker B.F., Dervan P.B. Sequence-specific cleavage of DNA by N-bromoacetyldistamycin. Product and kinetic analyses // *J. Am. Chem. Soc.* 1989. – T. 111. – № 7. – C. 2700–2712.

55. Berger G., Gelbcke M., Cauët E., Luhmer M., Nève J., Dufrasne F. Synthesis of ^{15}N -labeled vicinal diamines through N-activated chiral aziridines: tools for the NMR study of platinum-based anticancer compounds // *Tetrahedron Lett.* 2013. – T. 54. – № 6. – C. 545–548.

56. Reich H.J., Goldenberg W.S., Gudmundsson B.Ö., Sanders A.W., Kulicke K.J., Simon K., Guzei I.A. Amine-Chelated Aryllithium Reagents Structure and Dynamics // *J. Am. Chem. Soc.* 2001. – T. 123. – № 33. – C. 8067–8079.

57. Yamamoto Y., Nasu H., Tomioka K. NMR studies on the structure of a lithium amide–chiral diether complex for an asymmetric reaction // *Tetrahedron*. 2013. – T. 69. – № 19. – C. 3836–3840.

58. Belov V., Käfferlein H.U. Total synthesis of $^{13}\text{C}_2$, ^{15}N -imidacloprid with three stable isotopes in the pyridine ring // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2019. – T. 62. – № 3. – C. 126–131.

59. Corruble A., Davoust D., Desjardins S., Fressigné C., Giessner-Prettre C., Harrison-Marchand A., Valnot J.-Y. A NMR and Theoretical Study of the Aggregates between Alkylolithium and Chiral Lithium Amides: Control of the Topology through a Single Asymmetric Center // *J. Am. Chem. Soc.* 2002. – T. 124. – № 51. – C. 15267–15279.

60. Zakharov D.O., Chernichenko K., Sorochkina K., Yang S., Telkki V.-V., Repo T., Zhivonitko V.V. Parahydrogen-Induced Polarization in Hydrogenation Reactions Mediated by a Metal-Free Catalyst // *Chem. Eur. J.* 2022. – T. 28. – C. e202103501.

-
61. Shine H.J., Rhee E.S. The preparation of [^{15}N , $^{15}\text{N}'$]- and [4,4'- ^{13}C]-4,4'-dichloroazobenzene and [^{15}N , $^{15}\text{N}'$]-4-chloroazobenzene // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1984. – T. 21. – № 6. – C. 569–573.
62. Sakharov S.G., Kovalev V.V., Gorbunova Y.E., Tokmakov G.P., Skabitskii I.V., Kokunov Y.V. Structures of silver nitrate complexes with quinolines according to NMR data // *Russ. J. Coord. Chem.* 2017. – T. 43. – № 2. – C. 75–81.
63. Zhang Y., Lin C., Li Z., Qin L., Wen H. Synthesis of [^{15}N]t-butylamine hydrochloride // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2010. – T. 53. – № 4. – C. 183–185.
64. Pavlik J.W., Changtong C., Tsefrikas V.M. Photochemistry of Phenyl-Substituted 1,2,4-Thiadiazoles. ^{15}N -Labeling Studies. *J. Org. Chem.* 2003. – T. 68. – № 12. – C. 4855–4861.
65. Schiesser S., Hackner B., Pfaffeneder T., Müller M., Hagemeyer C., Truss M., Carell T. Mechanism and Stem-Cell Activity of 5-Carboxycytosine Decarboxylation Determined by Isotope Tracing // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2012. – T. 51. – № 26. – C. 6516–6520.
66. Hatano A., Shimazaki K., Otsu M., Kawai G. Parallel motif triplex formation via a new, bi-directional hydrogen bonding pattern incorporating a synthetic cyanuryl nucleoside into the sense chain // *RSC Adv.* 2020. – T. 10. – № 38. – C. 22766–22774.
67. Coursindel T., Farran D., Martinez J., Dewynter G. [^{15}N]-Isotopic labeling: a suitable tool to study the reactivity of bis lactams. *Tetrahedron Lett.* 2008. – T. 49. – № 5. – C. 906–909.
68. He J., Zhang X., He Q., Guo H., Fan R. Synthesis of ^{15}N -labeled heterocycles via the cleavage of C–N bonds of anilines and glycine- ^{15}N // *Chem. Commun.* 2021. – T. 57. – № 44. – C. 5442–5445.
69. Mendelson W.L., Weaner L.E., Petka L.A., Blackburn D.W. The preparation of ^{15}N -phenoxybenzamine // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1975. – T. 11. – № 3. – C. 349–353.
70. Philippossian G., Welti D.H., Fumeaux R., Richli U., Anantharaman K. Synthesis and NMR characterization of (^{15}N)taurine [2-(^{15}N)aminoethanesulfonic acid] // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 1989. – T. 27. – № 11. – C. 1267–1273.
71. Szeto J., Lemoine R., Nguyen R., Olson L.L., Tanga M.J. Synthesis of [^{15}N]-cholamine bromide hydrobromide // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2018. – T. 61. – № 4. – C. 391–394.
72. Reuther J.F., Novak B.M. Evidence of Entropy-Driven Bistability through ^{15}N NMR Analysis of a Temperature- and Solvent-Induced, Chiroptical Switching Polycarbodiimide // *J. Am. Chem. Soc.* 2013. – T. 135. – № 51. – C. 19292–19303.
73. Ernst R.R. Bodenhausen G. Wokaun A. Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions, Clarendon: Oxford, Physics Today. 1989. – T. 42. – № 7. – C. 75–76.
74. Kessler H., Gehrke M., Griesinger C. Two-Dimensional NMR Spectroscopy: Background and Overview of the Experiments // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1988. – T. 27. – № 4. – C. 490–536.

-
75. Morris G.A., Freeman R. Enhancement of nuclear magnetic resonance signals by polarization transfer // *J. Am. Chem. Soc.* 1979. – T. 101. – № 3. – C. 760–762.
76. Doddrell D.M., Pegg D.T., Bendall M.R. Distortion less Enhancement of NMR Signals by Polarization Transfer // *J. Magn. Reson.* 1982. – T. 48. – № 2. – C. 323–327.
77. Hull W., Croasmun W.R., Carlson R.M.K. In *Two-Dimensional NMR Spectroscopy. Applications for Chemists and Biochemists. Second Edition*, VCH Publishers: New York, 1994; Chapter 2.
78. S. Berger, S. Braun, *200 and More NMR Experiments: A Practical Course*, Oxford: Weinheim: Wiley-VCH, (2004)
79. Parella T. Pulsed field gradients: a new tool for routine NU // *Magn. Reson. Chem.* 1998. – T. 36. – № 7. – C. 467–495.
80. Bodenhausen G., Ruben D. Natural abundance nitrogen-15 NMR by enhanced heteronuclear spectroscopy // *J. Chem. Phys. Lett.* 1980. – T. 69. – № 1. – C. 185–189.
81. Davis A.L., Keeler J., Laue E.D., Moskau D. Experiments for recording pure-absorption heteronuclear correlation spectra using pulsed field gradients // *J. Magn. Reson.* 1992. – T. 98. – № 1. – C. 207–216.
82. Kay L.E., Keifer P., Saarinen T. Pure absorption gradient enhanced heteronuclear single quantum correlation spectroscopy with improved sensitivity // *J. Am. Chem. Soc.* 1992. – T. 114. – № 26. – C. 10663–10665.
83. Parella T., Belloc J., Sánchez-Ferrando F., Virgili A. A general building block to introduce carbon multiplicity information into multi-dimensional HSQC-type experiments // *Magn. Reson. Chem.* 1998. – T. 36. – № 10. – C. 715–719.
84. Williamson R.T., Márquez B., Gerwick W.H. Use of ^1H - ^{15}N PEP-HSQC-TOCSY at natural abundance to facilitate the structure elucidation of naturally occurring peptides // *Tetrahedron.* 1999. – T. 55. – № 10. – C. 2881–2888.
85. Bax A., Summers M.F. Proton and carbon-13 assignments from sensitivity-enhanced detection of heteronuclear multiple-bond connectivity by 2D multiple quantum NMR // *J. Am. Chem. Soc.* 1986. – T. 108. – № 8. – C. 2093–2094.
86. Hurd R.E., John B. K. Gradient-Enhanced Proton-Detected Heteronuclear Multiple-Quantum Coherence Spectroscopy // *J. Magn. Reson.* 1991. – T. 91. – № 3. – C. 648–653.
87. Marek R., Humpa O., Dostál J., Slavík J., Sklená V. SN NMR study of isoquinoline alkaloids // *Magn. Reson. Chem.* 1999. – T. 37. – № 3. – C. 195–202.
88. Burger R., Schorn C., Bigler P. BIRD-HMBC: improved detection of heteronuclear long-range couplings // *Magn. Reson. Chem.* 2000. – T. 38. – № 11. – C. 963–969.

-
89. Martin G.E., Crouch R.C., Sharaf M.H.M., Schiff P.L.Jr. Long-Range ^1H - ^{15}N Heteronuclear Shift Correlation at Natural Abundance Using Gradient-Enhanced HMQC // *J. Nat. Prod.* 1996. – T. 59. – № 1. – C. 2–4.
90. Farley K.A., Walker G.S., Martin G.E. Long-Range Two-Dimensional ^1H - ^{15}N Heteronuclear Shift Correlation at Natural Abundance Using GHNMQC. A Study of the Reverse Transcriptase Inhibitor Delavirdine // *Magn. Reson. Chem.* 1997. – T. 35. – № 10. – C. 671–679.
91. Kolehmainen E., Gawinecki R., Osmialowski B. In *The Chemistry of Anilines*; in 2 v. / ed. by Rappoport Z. - Chichester: Wiley, 2007. – C. 347-371.
92. Binsch G., Lambert J.B., Roberts B.W., Roberts J.D. Nitrogen-15 Magnetic resonance spectroscopy. II. Coupling constants // *J. Am. Chem. Soc.* 1964. – T. 86. – № 24. – C. 5564–5570.
93. Harris R.K., Becker E.D., Cabral de Menezes S.M., Goodfellow R., Granger P. NMR nomenclature. Nuclear spin properties and conventions for chemical shifts (IUPAC Recommendations 2001) // *Pure Appl. Chem.* 2001. – T. 73. – № 11. – C. 1795–1818.
94. Markley J.L., Bax A., Arata Y., Hilbers C., Kaptein R., Sykes B.D., Wüthrich K. Recommendations for the presentation of NMR structures of proteins and nucleic acids // *J. Mol. Biol.* 1998. – T. 280. – № 5. – C. 933–952.
95. Harris R.K., Becker E.D., Cabral de Menezes S.M., Granger P., Hoffman R.E., Zilm K.W. Further conventions for NMR shielding and chemical shifts (IUPAC Recommendations 2008). *Pure Appl. Chem.* 2008. – T. 80. – № 1. – C. 59–84.
96. Wishart D., Bigam C., Yao J., Abildgaard F., Dyson H.J., Oldfield E., Sykes B. ^1H , ^{13}C and ^{15}N chemical shift referencing in biomolecular NMR // *J. Biomol. NMR.* 1995. – T. 6. – № 2. – C. 135–140.
97. Marek R., Lycka A. ^{15}N NMR spectroscopy in structural analysis // *Curr. Org. Chem.* 2002. – T. 6. – № 1. – C. 35–66.
98. Live D.H., Davis D.G., Agosta W.C., Cowburn D. Long Range Hydrogen Bond Mediated Effects in Peptides: ^{15}N NMR Study of Gramicidin S in Water and Organic Solvents // *J. Am. Chem. Soc.* 1984. – T. 106. – № 7. – C. 1939–1943.
99. Edison A.S., Abildgaard E, Westler W.M., Mooberry E.S. Markley J.L. Practical introduction to theory and implementation of multinuclear, multidimensional nuclear magnetic resonance experiments // *Methods Enzymol.* 1994. – T. 239. – C. 3-91.
100. Parella T., Belloc. Modern proton-detected 1D ^1H - ^{15}N NMR experiments. Application to the measurement of ^1H , ^{15}N coupling constants at natural abundance // *J. Magn. Reson. Chem.* 2002. – T. 40. – № 2. – C. 133-138.

-
101. Klásek A., Lycka A., Holcapek M., Hoza I. Reaction of 3-aminoquinoline-2,4-diones with nitrourea. Synthetic route to novel 3-ureidoquinoline-2,4-diones and imidazo[4,5-c]quinoline-2,4-diones // *Tetrahedron*. 2004. – T. 60. – № 44. – C. 9953-9961.
102. Martin G.E., Williams. Long-Range ^1H - ^{15}N Heteronuclear Shift Correlation // *A. J. Annu. Rep. NMR Spectrosc.* 2005. – T. 55. – C. 1-119.
103. Schilf W. Intramolecular hydrogen bond investigations in some Schiff bases using C–C and N–C coupling constants // *J. Mol. Struct.* 2004. – T. 689. – № 3. – C. 245-249.
104. Schilling S., Rinner U., Chan C., Ghiviriga I., Hudlicky T. Structure assignment of aminoconduritols by ^{15}N NMR correlation spectroscopy; synthesis of a positional isomer of 7-deoxypancratistatin // *Can. J. Chem.* 2001. – T. 79. – C. 1659-1667.
105. Cmoch P. Identification of 2-chloropyrazine oxidation products and several derivatives by multinuclear magnetic resonance // *Magn. Reson. Chem.* 2003. – T. 41. – № 9. – C. 693-698.
106. Marek R., Brus J., Toucek J., Kovács L., Hocková D. N7- and N9-substituted purine derivatives: a ^{15}N NMR study // *Magn. Reson. Chem.* 2002. – T. 40. – № 5. – C. 353-360.
107. Sedlák M., Simunek P., Antonietti M. Synthesis and ^{15}N NMR characterization of 4-vinylbenzyl substituted bases of nucleic acids // *J. Heterocycl. Chem.* 2003. – T. 41. – № 4. – C. 671-675.
108. de Morais L.P.F., Hallwass F., Malvestiti I., Srivastava R.M. Benzamidoximes. II. A ^{15}N NMR study // *J. Mol. Struct.* 2006. – T. 782. – № 2-3. – C. 200-203.
109. Dziembowska T., Rozwadowski Z., Filarowski A., Hansen P.E. NMR study of proton transfer equilibrium in Schiff bases derived from 2-hydroxy-1-naphthaldehyde and 1-hydroxy-2-acetonaphthone. Deuterium isotope effects on ^{13}C and ^{15}N chemical shifts // *Magn. Reson. Chem.* 2001. – T. 39. – № S1. – C. S67-S80.
110. Schilf W., Kamiński B., Szady-Chelmieniecka A., Grech E. The ^{15}N and ^{13}C solid state NMR study of intramolecular hydrogen bond in some Schiff bases // *J. Mol. Struct.* 2004. – T. 700. – № 1-3. – C. 105-108.
111. Rozwadowski Z., Schilf W., Kamiński B. Solid-state NMR study of Schiff base derivatives of 2-hydroxynaphthaldehyde. Deuterium isotope effects on ^{15}N chemical shifts in the solid state // *Magn. Reson. Chem.* 2005. – T. 43. – № 7. – C. 573-577.
112. Schilf W., Kamiński B., Dziembowska T., Rozwadowski Z., Szady-Chelmieniecka A. ^{15}N NMR study of the intramolecular hydrogen bond in N-salicylidene-alkylamines // *J. Mol. Struct.* 2000. – T. 552. – № 1-3. – C. 33-37.
113. Malon M., Trávníček Z., Marek R., Strnad M. Synthesis, spectral study and cytotoxicity of platinum(II) complexes with 2,9-disubstituted-6-benzylaminopurines // *J. Inorg. Biochem.* 2005. – T. 99. – № 11. – C. 2127-2138.

-
114. Cronje S., Raubenheimer H.G., Spies H.S.C., Esterhuysen C., Schmidbaur H., Schier A., Kruger G. Synthesis and characterisation of N-coordinated pentafluorophenyl gold(i) thiazole-derived complexes and an unusual self-assembly to form a tetrameric gold(i) complex // *J. Dalton Trans.* 2003. – T. 14. – C. 2859-2866.
115. Szlyk E., Pazderski L., Lakomska I., Kozerski L., Sitkowski. $^1\text{H}\{^{15}\text{N}\}$ GHMQC study of 5,7-diphenyl-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine and ^1H , ^{13}C and ^{15}N NMR coordination shifts in Au(III) chloride complexes of 1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidines // *J. Magn. Reson. Chem.* 2002. – T. 40. – № 8. – C. 529-532.
116. Szlyk E., Lakomska I., Kobe J., Surdykowski A., Glowiak T., Sitkowski J. The bonding of ribavirin to platinum(II) ion. The X-ray and spectroscopy of Pt(II) complexes with 1- β -D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide and dimethylsulfoxide // *Polyhedron*. 2002. – T. 21. – № 20. – C. 2001-2007.
117. Lakomska I., Szlyk E., Sitkowski J., Kozerski L., Wietrzyk J., Pelczynska M., Nasulewicz A., Opolski A. Multinuclear NMR spectroscopy and antitumor activity of novel platinum(II) complexes with 5,7-disubstituted-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidines // *J. Inorg. Biochem.* 2004. – T. 98. – № 1. – C. 167-172.
118. Birkett H.E., Cherryman J.C., Chippendale A.M., Evans J.S.O., Harris R.K., James M., King I.J., McPherson G. Structural investigations of three triazines: solution-state NMR studies of internal rotation and structural information from solid-state NMR, plus a full structure determination from powder x-ray diffraction in one case // *J. Magn. Reson. Chem.* 2003. – T. 41. – № 5. – C. 324-336.
119. Tlahuextl M., Aguilar-Castro L., Camacho-Camacho C., Contreras R.A., Tapia-Benavides A.R. Synthesis and structural studies of N-(p-toluenesulfonyl)-amino acid 3,5-di-tert-butyl-2-phenolamides // *Heteroatom Chem.* 2004. – T. 15. – № 2. – C. 114-120.
120. Tormena C.F., Rittner R., Abraham R.J., Basso E.A., Fiorin B.C. Conformational analysis of fluoroacetoxime and of its O-methyl ether by ^1H , ^{13}C and ^{15}N NMR and theoretical calculations // *J. Phys. Org. Chem.* 2004. – T. 17. – № 1. – C. 42-48.
121. Simon A., Toth G., Librera C.P., Adam W. ^1H , ^{13}C and ^{15}N NMR investigation of a new, condensed hexahydro-1,3,5-triazine // *Magn. Reson. Chem.* 2003. – T. 41. – № 7. – C. 541-544.
122. Klásek A., Koristek K., Lycka A., Holcapek M. Unprecedented reactivity of 3-amino-1H,3H-quinoline-2,4-diones with urea: an efficient synthesis of 2,6-dihydro-imidazo[1,5-c]quinazoline-3,5-diones // *Tetrahedron*. 2003. – T. 59. – № 8. – C. 1283-1288.
123. Klásek A., Koristek K., Lycka A., Holcapek M. Reaction of 1-alkyl/aryl-3-amino-1H,3H-quinoline-2,4-diones with urea. Synthetic route to novel 3-(3-acylureido)-2,3-dihydro-1H-indol-

-
- 2-ones, 4-alkylidene-1'H-spiro[imidazolidine-5,3'-indole]-2,2'-diones, and 3,3a-dihydro-5H-imidazo[4,5-c]quinoline-2,4-diones // *Tetrahedron*. 2003. – T. 59. – № 28. – C. 5279-5288.
124. Laihia K., Valkonen A., Kolehmainen E., Antonov A., Zhukov D., Fedosov I., Nikiforov V. ¹H, ¹³C, ¹⁵N NMR, ESI mass spectral and single crystal X-ray structural characterization of three spiro[pyrrolidine-2,3'-oxindoles] // *J. Mol. Struct.* 2006. – T. 800. – № 1-3. – C. 100-105.
125. Karplus M. Contact electron-spin coupling of nuclear magnetic moments // *J. Chem. Phys.* 1959. – T. 30. – № 1. – C. 11-15.
126. Marek R., Seckárová P., Hulová D., Marek J., Dostál J., Sklenář V. Palmatine and Berberine Isolation Artifacts // *J. Nat. Prod.* 2003. – T. 66. – № 4. – C. 481-486.
127. Chudík S., Marek R., Seckárová P., Necas M., Dostál J., Slavík J. Revision of the Structure of Escholidine // *J. Nat. Prod.* 2006. – T. 69. – № 6. – C. 954-956.
128. T.D.W. Claridge. *High-resolution NMR techniques in organic chemistry*. 3rd ed. Oxford: Elsevier Science, 2016.
129. Cheshkov D.A., Synitsyn D.O., Sheberstov K.F., Chertkov V.A. Total lineshape analysis of high-resolution NMR spectra powered by simulated annealing // *J. Magn. Reson.* 2016. – T. 272. – C. 10-19.
130. Chertkov V.A., Cheshkov D.A., Sinitsyn D.O. Total lineshape analysis of high-resolution NMR spectra by simulated annealing // *eMagRes.* 2017. – T. 6. – № 3. – C. 359-368.
131. Krivdin L.B., Contreras R.H. Recent Advances in Theoretical Calculations of Indirect Spin-Spin Coupling Constants // *Annu. Rep. NMR Spectrosc.* 2007. – T. 61. – C. 133-245.
132. Hansen P.E. Carbon-hydrogen spin-spin coupling constants // *Progress in NMR Spectroscopy*. 1981. – T. 14. – № 4. – C. 175-295.
133. Helgaker T., Jaszunski M., Ruud K. Ab Initio Methods for the Calculation of NMR Shielding and Indirect Spin-Spin Coupling Constants // *Chemical Reviews*. 1999. – T. 99. – № 1. – C. 293–352.
134. Kaupp M., Bühl M., Malkin V.G. *Calculation of NMR and EPR parameters. Theory and Applications*. Wiley-VCH:Weinheim, 2004.
135. Facelli J.C. Concepts Calculations of chemical shieldings: Theory and applications // *Magn. Reson. A*. 2004. – T. 20A. – № 1. – C. 42-69.
136. Chesnut D.B. In *Rewievs in Computational Chemistry*. Lipkowitz K.B., Boyd D.B. VCH: New York, 1996; Vol. 8; pp. 245.
137. Antušek A., Jaszunsky M., Accurate non-relativistic calculations of NMR shielding constants, in: K. Jackowski, M. Jaszunski (Eds.), *Gas Phase NMR*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2016.

-
138. Duthaler R.O., Roberts J.D. Steric and electronic effects on nitrogen-15 chemical shifts of saturated aliphatic amines and their hydrochlorides // *J. Am. Chem. Soc.* 1978. – T. 100. – № 12. – C. 3889-3895.
139. Alkorta I., Elguero J. GIAO calculations of chemical shifts in heterocyclic compounds // *Struct. Chem.* 2003. – T. 14. – № 4. – C. 377–389.
140. T. Kupka, B. Ruscic, R.E. Botto, Toward Hartree-Fock- and density functional complete basis-set-predicted NMR parameters // *J. Phys. Chem. A.* 2002. – T. 106. – № 31. – C. 10396–10407.
141. Kupka T., Lim C. Polarization-consistent versus correlation-consistent basis sets in predicting molecular and spectroscopic properties // *J. Phys. Chem. A.* 2007. – T. 111. – № 10. – C. 1927–1932.
142. T. Kupka. From correlation-consistent to polarization-consistent basis sets estimation of NMR spin–spin coupling constant in the B3LYP Kohn-Sham basis set limit // *Chem. Phys. Lett.* 2008. – T. 461. – № 1. – C. 33–37.
143. Samultsev D.O., Semenov V.A., Krivdin L.B. On the accuracy of the GIAO-DFT calculation of ^{15}N NMR chemical shifts of the nitrogen-containing heterocycles - a gateway to better agreement with experiment at lower computational cost // *Magn. Reson. Chem.* 2014. – T. 52. – № 3. – C. 222–230.
144. Keal T.W., Tozer D.J. The exchange-correlation potential in Kohn-Sham nuclear magnetic resonance shielding calculations // *J. Chem. Phys.* 2003. – T. 119. – № 6. – C. 3015–3024.
145. Keal T.W., Tozer D.J. A semiempirical generalized gradient approximation exchange-correlation functional // *J. Chem. Phys.* 2004. – T. 121. – № 12. – C. 5654–5660.
146. Jensen F. Basis set convergence of nuclear magnetic shielding constants calculated by density functional methods // *J. Chem. Theory Comput.* 2008. – T. 4. – № 5. – C. 719–727.
147. Shao L., Crockford C., Geen H., Grasso G., Titman J.J. Chemical shift anisotropy amplification // *J. Magn. Reson.* 2004. – T. 167. – № 1. – C. 75-86.
148. Orr R.M., Duer M.J., Ashbrook S.E. Correlating fast and slow chemical shift spinning sideband patterns in solid-state NMR // *J. Magn. Reson.* 2005. – T. 174. – № 1. – C. 301-309.
149. Zhao X., Sudmeier J.L., Bachovchin W.W., Levitt M.H. Measurement of NH Bond Lengths by Fast Magic-Angle Spinning Solid-State NMR Spectroscopy: A New Method for the Quantification of Hydrogen Bonds // *J. Am. Chem. Soc.* 2001. – T. 123. – № 44. – C. 11097-11098.
150. Case D.A. Calculations of NMR dipolar coupling strengths in model peptides // *Journal of biomolecular NMR.* 1999. – T. 15. – C. 95-102.

-
151. Schnell I., Langer B., Sontjens S.H.M., van Genderen M.H.P., Sijbesma R.P., Spiess H.W. Inverse Detection and Heteronuclear Editing in ^1H - ^{15}N Correlation and ^1H - ^1H Double-Quantum NMR Spectroscopy in the Solid State under Fast MAS // *J. Magn. Reson.* 2001. – T. 150. – № 1. – C. 57-70.
152. Schnell I., Saalwaechter K. ^{15}N - ^1H Bond Length Determination in Natural Abundance by Inverse Detection in Fast-MAS Solid-State NMR Spectroscopy // *J. Am. Chem. Soc.* 2002. – T. 124. – № 37. – C. 10938-10939.
153. Vaara J., Jokisaari J., Wasylishen R.E., Bryce D.L. Spin-spin coupling tensors as determined by experiment and computational chemistry // *Progress in NMR Spectroscopy.* 2002. – T. 41. – № 3-4. – C. 233-304.
154. Watson M.A., Salek P., Macak P., Jaszunski M., Helgaker T. The calculation of indirect nuclear spin-spin coupling constants in large molecules // *Chem. Eur. J.* 2004. – T. 10. – № 18. – C. 4627-4639.
155. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B., Scuseria G.E., Robb M.A., Cheeseman J.R., Scalmani G., Barone V., Mennucci B., Petersson G.A., Nakatsuji H., Caricato M., Li X., Hratchian H.P., Izmaylov A.F., Bloino J., Zheng G., Sonnenberg J.L., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Montgomery J.A., Jr., Peralta J.E., Ogliaro F., Bearpark M., Heyd J.J., Brothers E., Kudin K.N., Staroverov V.N., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A., Burant J.C., Iyengar S.S., Tomasi J., Cossi M., Rega N., Millam J.M., Klene M., Knox J.E., Cross J.B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R.E., Yazyev O., Austin A.J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J.W., Martin R.L., Morokuma K., Zakrzewski V.G., Voth G.A., Salvador P., Dannenberg J.J., Dapprich S., Daniels A.D., Farkas O., Foresman J.B., Ortiz J.V., Cioslowski J., Fox D.J. Gaussian 09W, Revision A.02. Gaussian, Inc. Wallingford. 2009.
156. Malkin V.G., Malkina O.L., Salahub D.R. Calculation of spin-spin coupling constants using density functional theory // *Chem. Phys. Lett.* 1994. – T. 221. – № 1-2. – C. 91-99.
157. Malkina O.L., Salahub D.R., Malkin V.G. Nuclear magnetic resonance spin-spin coupling constants from density functional theory: Problems and results // *J. Chem. Phys.* 1996. – T. 105. – № 19. – C. 8793-8800.
158. Sychrovsky V., Graetenstein J., Cremer D. Nuclear magnetic resonance spin-spin coupling constants from coupled perturbed density functional theory // *J. Chem. Phys.* 2000. – T. 113. – № 9. – C. 3530-5347.
159. Foresman J.B., Frisch A. Exploring chemistry with electronic structure methods (Gaussian Inc., Wallingford, 2015).

-
160. Purvis G.D., Bartlett R.G. A full coupled-cluster singles and doubles model: The inclusion of disconnected triples // *J. Chem. Phys.* 1982. – T. 76. – № 4. – C. 1910-1918.
161. Jensen, F. Introduction to computational chemistry. (2nd Ed.) // Wiley, New York, 2007.
162. Davidson E.R., Feller D. Basis set selection for molecular calculations // *Chem. Rev.* 1986. – T. 86. – № 4. – C. 681-696.
163. Onak T., Jaballas J., Barfield M. Density functional theory/Finite perturbation theory calculation of spin-spin coupling constants for polyhedral carboranes and boron hydrides // *J. Am. Chem. Soc.* 1999. – T. 121. – № 12. – C. 2850-2856.
164. Provasi P.F., Aucar G.A., Sauer S.P.A. The effect of lone pairs and electronegativity on the indirect nuclear spin-spin coupling constants in CH_2X ($\text{X}=\text{CH}_2, \text{NH}, \text{O}, \text{S}$): Ab initio calculations using optimized contracted basis sets // *J. Chem. Phys.* 2000. – T. 112. – № 14. – C. 6201-6208.
165. Dunning T.H. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen // *J. Chem. Phys.* 1989. – T.90. – № 2. – C. 1007-1023.
166. Enevoldsen T., Oddershede J., Sauer S.P.A. Correlated calculations of indirect nuclear spin-spin coupling constants using second-order polarization propagator approximations: SOPPA and SOPPA (CCSD) // *Theor. Chem. Acc.* 1998. – T. 100. – № 5-6. – C. 275-284.
167. Ruden T.A., Lutn ns O.B., Helgaker T., Ruud K. Vibrational corrections to indirect nuclear spin-spin coupling constants calculated by density-functional theory // *J. Chem. Phys.* 2003. – T. 118. – № 21. – C. 9572-9581.
168. Jordan M.J.T., Toh J.S.-S., Del Bene J.E. Vibrational averaging of NMR properties for an N-H-N hydrogen bond // *Chem. Phys. Lett.* 2001. – T. 346. – № 3-4. – C. 288-292.
169. Tomasi J., Persico M. Molecular Interactions in Solution: An Overview of Methods Based on Continuous Distributions of the Solvent // *Chem. Rev.* 1994. – T. 94. – № 7. – C. 2027-2094.
170. Cramer C.J., Truhlar D.G. Implicit Solvation Models: Equilibria, Structure, Spectra, and Dynamics // *Chem. Rev.* 1999. – T. 99. – № 8. – C. 2161-2200.
171. Tomasi J., Mennucci B., Cammi R. Quantum Mechanical Continuum Solvation Models // *Chem. Rev.* 2005. – T. 105. – № 8. – C. 2999-3094.
172. Barone V., Cossi M., Tomasi J. A new definition of cavities for the computation of solvation free energies by the polarizable continuum model // *J. Chem. Phys.* 1997. – T. 107. – № 8. – C. 3210-3221.
173. Cossi M., Rega N., Scalmani G., Barone V. Energies, structures, and electronic properties of molecules in solution with the C-PCM solvation model // *J. Comput. Chem.* 2003. – T. 24. – № 6. – C. 669-681.

-
174. Jaszunski M., Mikkelsen K.V., Rizzo A., Witanowski M.J. A Study of the Nitrogen NMR Spectra of Azoles and their Solvent Dependence // *Phys. Chem. A*. 2000. – T. 104. – № 7. – C. 1466-1473.
175. Manalo M.N., de Dios A.C., Cammi R. Solvent Effects on ^{15}N NMR Shielding of 1,2,4,5-Tetrazine and Isomeric Tetrazoles: Continuous Set Gauge Transformation Calculation Using the Polarizable Continuum Model // *J. Phys. Chem. A*. 2000. – T. 104. – № 42. – C. 9600-9604.
176. Martins T.L.C., Ramalho T.C., Figueroa-Villar J.D., Flores A.F.C., Pereira C.M.P. Theoretical and experimental ^{13}C and ^{15}N NMR investigation of guanylhydrazones in solution // *Magn. Reson. Chem.* 2003. – T. 41. – № 12. – C. 983-988.
177. Koch A., Kleinpeter E. Study of Tautomerism by Experimentally and Theoretically Estimated ^{13}C and ^{15}N Chemical Shifts // *J. Mol. Model.* 1997. – T. 3. – C. 375-381.
178. Kleinpeter E., Koch A., Fischer G., Askolin C.P. ^{13}C NMR, ^{15}N NMR and quantum chemical study of the tautomerism of 2- substituted 5-Me-7-OH-1,2,4-triazolo[1,5a]pyrimidines // *J. Mol. Struct.* 1997. – T. 435. – C. 65-76.
179. Schraml J., Tkadlecová M., Pataridis S., Soukupová L., Blechta V., Roithová J., Exner O. Ring-substituted benzohydroxamic acids: ^1H , ^{13}C and ^{15}N NMR spectra and NH-OH proton exchange // *Magn. Reson. Chem.* 2005. – T. 43. – № 7. – C. 535-542.
180. Cmoch P., Kamiński B., Kamińska-Trela K., Stefaniak L., Webb, G.A. Furoxan rearrangement of some pyridofuroxan derivatives studied by ^1H , ^{13}C , ^{14}N , ^{15}N and ^{17}O NMR spectroscopy // *J. Phys. Org. Chem.* 2000. – T. 13. – № 8. – C. 480-488.
181. Alkorta I., Elguero J. A GIAO/DFT study of ^1H , ^{13}C and ^{15}N shieldings in amines and its relevance in conformational analysis // *Magn. Reson. Chem.* 2004. – T. 42. – № 11. – C. 955-961.
182. Cammi R., Tomasi J. Remarks on the use of the apparent surface charges (ASC) methods in solvation problems: iterative versus matrix-inversion procedures and the renormalization of the apparent charges // *J. Comput. Chem.* 1995. – T. 16. – № 12. – C. 1449-1458.
183. Johnston M.D., Barfield M. Theoretical studies of solvent effects on nuclear spin-spin coupling constants. the reaction field model // *J. Chem. Phys.* 1971. – T. 54. – № 7. – C. 3083-3098.
184. Pecul M., Ruud K. Solvent effects on the spin-spin coupling constants of acetylene revisited: supermolecular and polarizable continuum model calculations // *Magn. Reson. Chem.* 42, S128, 2004.
185. Pecul M., Sadlej J., Solvent. effects on NMR spectrum of acetylene calculated by ab initio methods // *J. Chem. Phys.* 1998. – T. 234. – № 1-3. – C. 111-119.

-
186. Jackowski K., Wilczek M., Pecul M. Nuclear magnetic shielding and spin–spin coupling of 1,2-¹³C-enriched acetylene in gaseous mixtures with xenon and carbon dioxide // *J. Phys. Chem. A*. 2000. – T. 104. – № 1-3. – C. 5955.
187. Zaccari D., Barone V., Peralta J.E., Contreras R.H. Solvent effects on nuclear magnetic resonance ²J(C,H) and ¹J(C,H) spin–spin coupling constants in acetaldehyde // *Int. J. Mol. Sci.* 2003. – T. 4. – № 3. – C. 93-106.
188. Lambert J.B., Stec D. Effect of molecular motion and solvent interactions on Nitrogen-15 relaxation in anilines // *Org. Magn. Reson.* 1984. – T. 22. – № 5. – C. 301-306.
189. Hauser C.R., Renfrow W.B. The removal of HX from organic compounds by means of bases. III. The rates of removal of hydrogen bromide from substituted N-bromobenzamides and their relative ease of rearrangement in the presence of alkali. The Hofmann rearrangement // *J. Am. Chem. Soc.* 1937. – T. 59. – № 1. – C. 121-125.
190. Leete E., Wemple J.N. Biosynthesis of the Cinchona Alkaloids. II. The incorporation of tryptophan-1-¹⁵N,2-¹⁴C and geraniol-3-¹⁴C into quinine // *J. Am. Chem. Soc.* 1969. – T. 91. – № 10. – C. 2698-2701.
191. Osborne A., Teng Q., Miles E.W., Phillips R.S. Detection of open and closed conformation of Tryptophan Synthase by ¹⁵N-Heteronuclear Single-Quantum Coherence Nuclear Magnetic Resonance of bound 1-¹⁵N-L-Tryptophan // *J. Biol. Chem.* 2003. – T. 278. – № 45. – C. 44083-44090.
192. Giovannini E., Lorenz T. Reduktionen mit LiAlH₄ in der Isatin-Reihe. 2. Mitteilung. Einwirkung von LiAlH₄ auf Indol-und Isatin-Derivate // *Helvetica Chimica Acta*. – 1957. – T. 40. – №. 7. – C. 2287-2291.
193. Sirowej H., Khan S.A., Plieninger H. Herstellung von substituierten Indolen durch Reduction von Isatin- und Oxindol-Derivaten mit Diboran/Tetrahydrofuran // *Synthesis*. 1972. – №. 2. – C. 84-84.
194. Ni X., Liang Z., Ling J., Li X., Shen Z. Controlled ring-opening polymerization of ε-caprolactone initiated by in situ formed yttrium trisalicylaldimine complexes, and their study by density functional theory // *Polym. Int.* 2011. – T. 60. – №. 12. – C. 1745–1752.
195. Billman J., Diesign A. Reduction of Schiff Bases with Sodium Borohydride // *J. Org. Chem.* 1957. – T. 22. – №. 9. – C. 1068-1070.
196. L. Pauling, *Nature of the Chemical Bond*, 3rd edn, Cornell Univ. Press, Ithaca, NY, 1960.
197. Stewart, W. E., Siddall T. H. Nuclear magnetic resonance studies of amides. *Chemical Reviews*. 1970. – T. 70. – №. 5. – C. 517–551.

-
198. LaPlanche L.A., Rogers M.T. The Proton Magnetic Resonance Spectra and Structures of Ethylenediaminetetraacetic Acid, Methyliminodiacetic Acid, and Nitrilotriacetic Acid Chelates of Molybdenum (VI) // *J. Am. Chem. Soc.* 1964. – T. 86. – №. 3. – C. 337-379.
199. Leshcheva I.F., Torocheshnikov V.N., Sergeyev N.M., Chertkov V.A., Khlopkov V.N. Iterative lineshape analysis of ^{13}C - ^2D multiplets. I. benzaldehyde- d_1 // *J. Magn. Reson.* 1991. – T. 94. – №. 1. – C. 1–8.
200. Levitt M.H. *Spin dynamics*, Wiley (2005). ISBN: 0-471-48922-0
201. Berger S. *NMR Basic Principles and Progress*. 1990. – T. 22. – C. 1–29.
202. Leshcheva I.F., Torocheshnikov V.N., Sergeyev N.M., Chertkov V.A., Khlopkov V.N. Iterative lineshape analysis of the ^{13}C - ^2D multiplets. II. toluene- CH_2D and toluene- CD_3 // *J. Magn. Reson.* 1991. – T. 94. – №. 1. – C. 9–19.
203. Prabagar B., Yang Y., Shi Z. Site-selective C–H functionalization to access the arene backbone of indoles and quinolines // *Chem. Soc. Rev.* 2021. – T. 50. – №. 20. – C. 11249-11269.
204. Mermer A., Keles T., Sirin Y. Recent studies of nitrogen containing heterocyclic compounds as novel antiviral agents: A review // *Bioorg. Chem.* 2021. – T. 114. – C. 105076.
205. Efremov A.M., Babkov D.A., Beznos O.V., Sokolova E.V., Spasov A.A., Ivanov V.N., Kurkin A.V., Chesnokova N.B., Lozinskaya N.A. Microwave-assisted synthesis of 5-aryl-3-hydroxy-2-oxindole derivatives and evaluation of their antiglaucomatic activity // *Mendeleev Commun.* 2023. – T. 33. – №. 4. – C. 550-552.
206. Yurovskaya M.A., Afanasyev A.Z., Maximova F.V., Bundel Y.G. Scheme of transformation of 3-nitropyridinium salts into indoles // *Tetrahedron.* 1993. – T. 49. – №. 22. – C. 4945-4954.
207. Chertkov V.A., Yurovskaya M.A. Nuclear magnetic resonance spectra of polyalkylindoles obtained by transformations of 3-nitropyridinium salts // *Chem. Heterocycl. Compd.* 1993. – T. 29. – №. 7. – C. 762-769.
208. Gunther, H. *NMR Spectroscopy: basic principles, concepts and applications in chemistry*. 3rd ed. Weinheim: Wiley, 2013.
209. Gridnev I.D., Leshcheva I.F., Sergeyev N.M., Chertkov V.A. Structural elucidation of disubstituted nortricyclenes through vicinal ^{13}C , ^1H coupling constants // *Magn. Reson. Chem.* 1992. – T. 30. – №. 9. – C. 817-822.
210. Guzzo T., Aramini A., Lillini S., Nepravishita R., Paci M., Topai A. The ^{15}N induced isotope shift as an effective tool for the structure elucidation of 2,4 and 2,5 di-substituted thiazoles. *Tetrahedron Lett.* 2015. – T. 56. – №. 30. – C. 4455–4458.
211. Muzalevskiy V.M., Mamedzade M.N., Chertkov V.A., Bakulev V.A., Nenajdenko V.G. Reaction of CF 3-ynones with azides. An efficient regioselective and metal-free route to 4-trifluoroacetyl-1,2,3-triazoles // *Mendeleev Commun.* 2018. – T. 28. – №. 1. – C. 17-19.

-
212. Muzalevskiy, V.M., Sizova Z.A., Panyushkin V.V., Chertkov V.A., Khrustalev V.N., Nenajdenko V.G. α,β -Disubstituted CF₃-Enones as a Trifluoromethyl Building Block: Regioselective Preparation of Totally Substituted 3-CF₃-Pyrazoles // *J. Org. Chem.* 2021. – Т. 86. – №. 3. – С. 2385-2405.
213. Chertkov, V.A., Shestakova A.K., Davydov D.V. Regioselective N-arylation of nitroazoles. Determination of the structure of N-arylnitro-azoles on the basis of NMR spectroscopic data and quantum-chemical calculations // *Chem. Heterocycl. Compd.* 2011. – Т. 47. – №. 1. – С. 45-54.
214. Levy G.C., Nelson G.L. Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance for organic chemists; Wiley, 1972.
215. AIST, Spectral Database for Organic Compounds, http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct_frame_top.cgi.
216. Сергеев, Н. М.; Чертков, В. А. ДАН. 1986, 286, 1186.
217. Abraham R.J., Mobli M. Modelling ¹H NMR spectra of organic compounds theory, applications and NMR prediction software (Wiley, Chichester, 2008).
218. Van Eikema Hommes N.J.R., Clark T. Regression formulae for ab initio and density functional calculated chemical shifts // *J. Mol. Model.* 2005. – Т. 11. – №. 3. – С. 175–185.
219. Weinhold, F.; Landis, C. R. Discovering Chemistry with Natural Bond Orbitals, Wiley, 2012.
220. Ernst L., Wray V., Chertkov V.A., Sergeyev N.M. High-resolution proton-coupled ¹³C NMR spectra of monosubstituted benzenes. Theoretical and empirical correlations of J_{CH} // *J. Magn. Reson.* 1977. – Т. 25. – №. 1. – С. 123-139.
221. Шеннон, К. Работы по теории информации и кибернетике. Москва: Изд. иностр. лит., 2002.
222. Chertkov V.A., Sergeyev N.M. ¹³C isotope effects on the parameters of proton magnetic resonance spectra of benzene // *J. Magn. Reson.* 1983. – Т. 52. – №. 3. – С. 400–406.
223. Roznyatovsky V.A., Sergeyev N.M., Chertkov V.A. ¹³C-¹³C coupling constants of isotopically perturbed molecular systems: Cyclohexane, benzene // *Magn. Reson. Chem.* 1991. – Т. 29. – №. 4. – С. 304-307.
224. Chertkov A.V., Shestakova A.K., Chertkov V.A. Synthesis and NMR spectra of tetrahydrofuran-2-¹³C // *Chem. Heterocycl. Compd.* 2012. – Т. 48. – №. 3. – С. 412-421.
225. Hansen, P. E. Isotope effects on chemical shifts in the study of hydrogen bonded biological systems // *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 2020. – Т. 120. – С. 109-117.
226. Wigglesworth R.D., Raynes W.T., Kirpekar S., Oddershede J., Sauer S.P.A. Nuclear magnetic shielding in the acetylene isotopomers calculated from correlated shielding surfaces // *J. Chem. Phys.* 2000. – Т. 112. – №. 2. – С. 736–746.

-
227. Ganina T.A., Cheshkov D.A., Chertkov V.A. Dynamic Structure of Organic Compounds in Solution According to NMR Data and Quantum Chemical Calculations: II. Styrene // *Rus. J. Org. Chem.* 2017. – T. 53. – №. 1. – C. 12-23.
228. Ganina T.A., Chertkov V.A. Dynamic Structure of Organic Compounds in Solution According to NMR Data and Quantum Chemical Calculations: III. Noradrenaline // *Rus. J. Org. Chem.* 2019. – T. 55. – №. 3. – C. 354-361.
229. Deng W., Cheeseman J.R., Frisch M.J. Calculation of Nuclear Spin–Spin Coupling Constants of Molecules with First and Second Row Atoms in Study of Basis Set Dependence // *J. Chem. Theor. Comput.* 2006. – T. 2. – №. 4. – C. 1028–1037.
230. Ganina T.A., Chertkov V.A. Dynamic Structure of Organic Compounds in Solution According to NMR Data and Quantum Mechanical Calculations: I. Soman // *Russ. J. Org. Chem.* 2016. – T. 52. – №. 4. – C. 489-498.
231. Shchepin R.V., Birchall J.R., Chukanov N.V., Kovtunov K.V., Koptyug I.V., Theis T., Warren W.S., Gelovani J.G., Goodson B.M., Shokouhi S., Rosen M.S., Yen Y-F., Pham W., Chekmenev E.Y. Hyperpolarizing Concentrated Metronidazole ^{15}NO Group over Six Chemical Bonds with More than 15 % Polarization and a 20 Minute Lifetime // *Chem. Eur. J.* 2019. – T. 25. – №. 37. – C. 8829-8837.
232. Rusakov Y.Y., Krivdin L.B., Istomina N.V., Schmidt E.Y., Mikhaleva A.I. Conformational analysis of N-vinyl-2-phenylpyrrole // *Chem. Heterocycl. Compd.* 2009. – T. 45. – №. 1. – C. 28-34.
233. Berry D., Loy A. Stable-Isotope Probing of Human and Animal Microbiome Function // *Trends Microbiol.* 2018. – T. 26. – №. 12. – C. 999-1007.
234. Yang J., Zhang G., Wang Z., Xiao Z., Wen H. Synthesis of [$^{13}\text{C}_2$, ^{15}N]-1,3- ^2H -1-benzyl-(Z)-3-(benzylidene)indolin-2-one // *J. Label. Compd. Radiopharm.* 2019. – T. 62. – №. 14. – C. 920-924.
235. Huang V., Drouin N., Causon J., Wegrzyn A., Castro-Perez J., Fleming R., Harms A., Hankemeier. Reconstruction of Glutathione Metabolism in the Neuronal Model of Rotenone-Induced Neurodegeneration Using Mass Isotopologue Analysis with Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography-Zeno High-Resolution Multiple Reaction Monitoring // *T. J. Anal. Chem.* 2023. – T. 95. – №. 6. – C. 3255-3266.
236. Makarkina A.V., Golotvin S.S., Chertkov V.A. Chem. Orientation of benzofuran by magnetic field in isotropic liquid phase // *Heterocycl. Compd.* 1995. – №. 9. – C. 1214-1219.
237. Makarkina A.V., Zubkov S.V., Chertkov V.A.. Orientation of benzothiophene by magnetic field in isotropic liquid phase // *Chem. Heterocycl. Compd.* 1997. №. 3. – C. 318-323.

-
238. Malkin V.G., Malkina O.L., Salahub D.R. Calculation of spin—spin coupling constants using density functional theory // *Chem. Phys. Lett.* 1994. – T. 221(1-2). – C. 91- 99.
239. Stanishevskiy V.V., Shestakova A.K., Chertkov V.A., Dynamic structure of organic compounds in solution by dynamic NMR measurements and quantum molecular dynamics calculations: IV. Benzamide // *Rus. J. Org. Chem.* 2023. – T. 59(8). – C. 1–11.
240. Berry D., Loy A. Stable-isotope probing of human and animal microbiome function // *Trends Microbiol.* 2018. – T. 26. – C. 999-1007.
241. Bagchi B., Jana B. Solvation dynamics in dipolar liquids // *Chem. Soc. Rev.* 2010. – T. 39. – №. 6. – C. 1936-1954.
242. López J.C., Alonso J.L., Peña I., Vaquero V. Hydrogen bonding and structure of uracil–water and thymine–water complexes // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2010. – T. 12. – №. 42. – C. 14128-14134.
243. Kubica D., Molchanov S., Gryff-Keller A. Solvation of Uracil and Its Derivatives by DMSO: A DFT-Supported ¹H NMR and ¹³C NMR Study // *J. Phys. Chem. A.* 2017. – T. 121. – №. 8. – C. 1841–1848.
244. Perrin C.L., Nielson J.B. Strong. Hydrogen bonds in chemistry and biology // *Annu. Rev. Phys. Chem.* 1997. – T. 48. – №. 1. – C. 511–544.
245. Kamorin D.M., Rumyantsev M., Kazantsev O.A., Sivokhin A.P., Kamorina S.I. Influences of monomer self-association on the radical solution homopolymerization of N-[3-(dimethylamino)propyl](meth)acrylamide // *J. Appl. Polym. Sci.* 2016. – T. 134. – №. 4. – C. 44412-44422.
246. Aitken R.A., Smith M.H., Wilson H.S. Variable temperature ¹H and ¹³C NMR study of restricted rotation in N,N-bis(2-hydroxyethyl)acetamide // *J. Mol. Struct.* 2016.– T. 1113. – C. 171–173.
247. Sandström J., *Dynamic NMR Spectroscopy*, Academic Press, 1982. ISBN 3-527-31067-3
248. Loening N.M., Keeler J., Morris G.A. One-Dimensional DOSY. *J. Mag. Reson.* 2001. – T. 153. – №. 1. – C. 103–112.
249. Evans R., Hernandez-Cid A., Dal Poggetto G., Vesty A., Haiber, S., Morris, G. A., Nilsson, M. Matrix-assisted diffusion-ordered NMR spectroscopy with an invisible matrix: a vanishing surfactant. *RSC Advances.* 2017. – T. 7. – №. 1. – C. 449–452.
250. Szymański, S., & Bernatowicz, P. *Classical and Quantum Molecular Dynamics in NMR Spectra.* 2018.
251. Taha A.N., True, N.S. Experimental ¹H NMR and Computational Studies of Internal Rotation of Solvated Formamide. *J. Phys. Chem. A.* 2000. – T. 104. – №. 13. – C. 2985–2993.

-
252. Gamov G.A., Aleksandriiskii V.V., Sharnin V.A. Inhibited rotation of amide group around C-N bond of nicotinamide in different solvents by ^1H NMR data // *J. Mol. Liq.* 2017. – T. 231. – C. 238–241.
253. Olsen R.A., Liu L., Ghaderi N., Johns A., Hatcher M.E., Mueller L.J. The Amide Rotational Barriers in Picolinamide and Nicotinamide: NMR and ab Initio Studies // *J. Am. Chem. Soc.* 2003. – T. 125. – №. 33. – C. 10125–10132.
254. Godunov I.A., Bataev V.A., Abramnikov A.V., Pupyshev V.I. The Barriers to Internal Rotation of Benzaldehyde and Benzoyl Fluoride: “Reconciliation” Between Theory and Experiment // *J. Phys. Chem. A.* 2014. – T. 118. – №. 44. – C. 10159–10165.
255. Krivdin L.B. Computational ^1H and ^{13}C NMR in structural and stereochemical studies // *Magn. Reson. Chem.* 2022. – T. 60. – №. 8. – C. 733-828.
256. Kamińska-Trela K., Wójcik J. Applications of spin-spin couplings // *Nuclear Magnetic Resonance. – The Royal Society of Chemistry.* 2013. – C. 181-229.
257. Paolillo L., Becker E. D. The relative signs of the spin-spin coupling constants in $\text{CH}_3^{15}\text{NH}_2$ // *J. Magn. Reson.* 1970. – T. 3. – №. 2. – C. 200-203.
258. Berger S., Roberts J.D. Nuclear magnetic resonance spectroscopy. Carbon-13-nitrogen-15 coupling constants as a conformational probe // *J. Am. Chem. Soc.* 1974. – T. 96. – №. 21. – C. 6757-6759.
259. Nalimov V.V. *The Theory of the Experiment.* Moscow: Nauka. 1977.
260. Diehl P., Jokisaari J., Amrein J., Väänänen, T., Pyykkö P. Determination of the ^{13}C - ^{13}C and ^{13}C - ^{15}N coupling constant anisotropies of acetonitrile partially oriented by nematic liquid crystals // *J. Magn. Reson.* 1982. – T. 48. – №. 3. – C. 495-502.
261. Sørensen O.W., Bildsøe H., Jakobsen H.J. Natural-abundance proton-coupled satellite spectra in ^{13}C NMR from double selective population transfer. The flip angle effect // *J. Magn. Reson.* 1981. – T. 45. – №. 2. – C. 325-336.
262. Figueroa J.S., Piro N.A., Clough C.R., Cummins C.C. A Nitridoniobium(V) Reagent That Effects Acid Chloride to Organic Nitrile Conversion: Synthesis via Heterodinuclear (Nb/Mo) Dinitrogen Cleavage, Mechanistic Insights, and Recycling // *J. Am. Chem. Soc.* 2006. – T. 128. – №. 3. – C. 940-950.
263. McFarlane W. NMR studies of isotopically substituted molecules: The sign of the $\text{C}\equiv\text{N}$ coupling constant // *Mol. Phys.* 1966. – T. 10. – №. 6. – C. 603-604.
264. Halter R.J., Fimmen R.L., McMahon R.J., Peebles S.A., Kuczkowski R.L., Stanton J.F. Microwave Spectra and Molecular Structures of (Z)-Pent-2-en-4-ynenitrile and Maleonitrile // *J. Am. Chem. Soc.* 2001. – T. 123. – №. 49. – C. 12353-12363.

-
265. Guru M.M., Shima T., Hou Z. Conversion of dinitrogen to nitriles at a multinuclear titanium framework // *Angew. Chem.* 2016. – T. 128. – №. 40. – C. 12504-12508.
266. Deev S.L., Khalymbadza I.A., Shestakova T.S., Charushin V.N., Chupakhin O.N. ^{15}N labeling and analysis of ^{13}C - ^{15}N and ^1H - ^{15}N couplings in studies of the structures and chemical transformations of nitrogen heterocycles // *RSC Adv.* 2019. – T. 9. – №. 46. – C. 26856-26879.
267. Zhang G., Ren X., Chen J., Hu M., Cheng, J. Copper-mediated cyanation of aryl halide with the combined cyanide source // *Org. Lett.* 2011. – T. 13. – №. 19. – C. 5004-5007.
268. Creary X., Sky A.F., Phillips G. S_{RN} reactions of arylhalodiazirines with azide ion // *J. Org. Chem.* 1990. – T. 55. – №. 7. – C. 2005-2011.
269. Khin T., Webb G.A. Some self-consistent perturbation calculations of ^{15}N - ^{13}C coupling constants // *Org. Magn. Reson.* 1978. – T. 11. – №. 10. – C. 487-492.
270. Stephany R.W., De Bie M.J.A., Drenth W.A. ^{13}C -NMR and IR study of isocyanides and some of their complexes // *Org. Magn. Reson.* 1974. – T. 6. – №. 1. – C. 45-47.
271. W. McFarlane. Heteronuclear magnetic double resonance: spin-spin couplings involving nitrogen-14 // *J. Chem. Soc.* 1967. – C. 1660-1662.
272. Koole N.J., Knol D., De Bie M.J.A. Sign determination of the nitrogen-carbon coupling constant in isocyanides (RNC) by means of selective population transfer // *J. Magn. Reson.* 1976. – T. 21. – №. 3. – C. 499-502.
273. I. Morishima, A. Mizumo, T. Yonezawa, K. Goto. ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Studies. ^{13}C - ^{15}N Spin Coupling Constants in Isocyanides // *J. Chem. Soc. D.* 1970. – №. 3. – C. 1321-1322.
274. García de la Vega J.M., San Fabián J. (). Analysis of Contributions to Spin-Spin Coupling Constants by the Natural J-Coupling Method // *High Resolution NMR Spectroscopy - Understanding Molecules and Their Electronic Structures.* 2013. Chapter 6. 161–207.
275. Ernst L., Lustig E., Wray V. A ^1H , ^{13}C , and ^{15}N NMR spectral analysis of ^{15}N -nitrobenzene // *J. Magn. Reson.* 1976. – T. 22. – №. 3. – C. 459-466.
276. Christl M. Carbon-13 chemical shifts and ^{13}C - ^{15}N coupling constants of 3, 4-dihydroisoquinoline- ^{15}N , its ^{15}N -oxide and their conjugate acids // *Org. Magn. Reson.* 1975. – T. 7. – №. 7. – C. 349-350.
277. Lichter R.T., Roberts J.D. Nitrogen-15 nuclear magnetic resonance spectroscopy. XIII. Pyridine- ^{15}N // *J. Am. Chem. Soc.* 1971. – T. 93. – №. 20. – C. 5218-5224.
278. Puszko A., Laihia K., Kolehmainen E., Talik Z. A multinuclear ^1H , ^{13}C , and ^{15}N magnetic resonance study of ten 4-nitropyridine N-oxides // *J. Struct. Chem.* 2013. – T. 54. – №. 1. – C. 259–263.
279. M. Fruchier, V. Pellegrin, R. Schimpf, J. Elguero NMR Studies in the Heterocyclic Series.

-
- XXIV-¹H, ¹³C and ¹⁵N Study of ¹⁵N Labelled Indazoles // *Org. Magn. Reson.* 1982. – T. 18. – №. 1. – C. 10-13.
280. Axenrod T., Wieder M.J., Khin T., Webb G.A., Yeh H.J.C, Bulusu S. ¹³CNMR: Substituent effects on one-bond ¹⁵N-¹³C coupling constants in anilines and anilinium ions. // *Org. Magn. Reson.* 1979. – T. 12. – №. 1. – C. 1-4.
281. Berg A., Hansen P.E, Jacobsen H.J. C-13-F-19 Sixteen ¹³C-¹⁹F Spin-Spin Coupling Constants in the ¹³C NMR Spectrum of 1-Fluoropyrene (C₁₆H₉F) // *Acta Chem. Scand.* 1972. – T. 26. – №. 5. – C. 2159-2161.
282. Louillat M.-L., Biafora A., Legros F., Patureau F.W. Ruthenium-Catalyzed Cross-Dehydrogenative ortho-N-Carbazolation of Diarylamines: Versatile Access to Unsymmetrical Diamines // *Angew. Chem.* 2014. – T. 53. – №. 13. – C. 3505-3509.
283. Hendrickson J.B. Molecular geometry. VII. Models of interconversion in the medium rings. // *J. Am. Chem. Soc.* 1967. – T. 89. – №. 26. – C. 7047-7061.
284. Kilpatrick J.E., Pitzer, K., Spitzer R. The Thermodynamics and Molecular Structure of Cyclopentane // *J. Am. Chem. Soc.* 1947. – T. 69. – №. 10. – C. 2483-2488.
285. Steinfeld J.I., Francisco J.S., Hase W.L. Chemical kinetics and dynamics. Prentice-Hall. 1989. P. 548.
286. Höfner D., Lesko S., Binsch G. Dynamic Proton Magnetic Resonance Studies on Complex Spin Systems // *Org. Magn. Reson.* 1978. – T. 11. – №. 4. – C. 179-196.
- 287 Shahinpoor M., Schneider H.-J. Editors, *Intelligent Materials*. Cambridge: RSC Publishing, 2008.
288. Schneider H.-J., Yatsimirsky A., *Principles and Methods in Supramolecular Chemistry*. Chichester, New York: Wiley, 2000.
289. Merino E., Ribagorda M. Control over molecular motion using the cis–trans photoisomerization of the azo group // *Beilstein J. Org. Chem.* 2012. – T. 8. – C. 1071–1090.
290. Schneider H.-J., Distinction and Quantification of Noncovalent Dispersive and Hydrophobic Effects // *Molecules*. 2024. – T. 29. C. 1591- 1603.
291. Muzalevskiy V.M., Sizova Z.A., Panyushkin V.V., Chertkov V.A., Khrustalev V.N., Nenajdenko V.G. α,β-Disubstituted CF₃-Enones as a Trifluoromethyl Building Block: Regioselective Preparation of Totally Substituted 3-CF₃-Pyrazoles // *J. Org. Chem.* 2021. – T. 86. – C. 2385–2405.
292. Schneider H.-J. *Mechanisms of Molecular Recognition: Investigations of Organic Host–Guest Complexes* // *Angew. Chem. Int. Ed., Engl.* 1991. – T. 30. – C. 1417–1436.
293. Martin G.E., Williams A.J. Utilizing Long-Range ¹H-¹⁵N 2-D NMR Spectroscopy for Chemical Structure Elucidation and Confirmation // *eMagRes.* 2010. – C. 1-42.

-
294. Stanishevskiy V.V., Shestakova A.K., Chertkov V.A. Analysis of 2D Maps Based on Similarity in DFT-Calculated vs Experimental ^{13}C - ^{15}N Spin Couplings for a Representative Sample of Conformationally Rigid and Structurally Fixed Nitrogen-Containing Organic Compounds // *Appl. Magn. Reson.* 2022. – T. 53. - № 12. – C. 1693-1713.
295. Samoshin V.V., Chertkov V.A., Gremyachinskiy D.E., Dobretsova E.K., Shestakova A.K., Vatlina L.P. Trans-2-Aminocyclohexanols as pH-triggers for conformationally controlled crowns and podands // *Tetrahedron Lett.* 2004. – T. 45. – №. 42. – C. 7823–7826.
296. Samoshin A.V., Veselov I.S., Huynh L., Shestakova A.K., Chertkov V.A., Grishina G.V., Samoshin V.V. Trans-3,4-diacetoxypiperidine as a model for novel pH-triggered conformational switches. *Tetrahedron Lett.* 2011. – T. 52. – №. 41. – C. 5375–5378.
297. Wang Z., Islam M.J., Vukotic V.N., Revington M.J. Conformational Study of N,N'-Diacyl Bispidines and Dioxo Bis-bispidines: Planar Chirality and Molecular Switching // *J. Org. Chem.* 2016. – T. 81. – №. 7. – C. 2981-2986.
298. Palyulin V.A., Emets S.V., Chertkov V.A., Kasper C., Schneider H-Y. Conformational Switching of 3,7-Diacyl-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonanes by Metal Binding and by Solvent Changes // *Eur. J. Org. Chem.* 1999. – T. 1999. – №. 12. – C. 3479–3482.
299. Reutov O.A., Barinov I.V., Chertkov V.A., Sokolov V.I. Stabilization of a carbocation by a tetrahedral molybdenum-carbon cluster // *J. Organomet. Chem.* 1985. – T. 297. – №. 3. – C. 25–29.