

# Syntéza pyrollo[2,3-*d*]pyrimidinů s adamantanovým skeletem

Bc. Filip Zatloukal

---

Diplomová práce  
2017



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav chemie

akademický rok: 2016/2017

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Filip Zatloukal**  
Osobní číslo: **T15318**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Chemie potravin a bioaktivních látek**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Syntéza pyrrolo[2,3-d]pyrimidinových sloučenin s adamantanovým skeletem**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část:

1. Stručná charakteristika adamantanu.
2. Možnosti přípravy sloučenin s pyrrolo[2,3-d]pyrimidinovým kruhem.
3. Biologická aktivita pyrrolo[2,3-d]pyrimidinových sloučenin.

### II. Praktická část:

1. Připravit aromatické aminy s adamantanovým skeletem.
2. Provést optimalizaci reakčních podmínek pro syntézu uvažovaných sloučenin.
3. Syntetizovat sérii pyrrolo[2,3-d]pyrimidinových sloučenin substituovaných 1-adamantylem.
4. Provést plnou strukturní charakterizaci všech připravených látek.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] HOLÝ, A.: **Principy bioorganické chemie ve vývoji antivirotik a cytostatik. PřF UP v Olomouci, 2004, 414 s. ISBN: 80-244-0855-4.**

[2] Dle provedení literární rešerše s využitím databází SciFider a Reaxys.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Michal Rouchal, Ph.D.**

Ústav chemie

Datum zadání diplomové práce:

**31. ledna 2017**

Termín odevzdání diplomové práce:

**12. května 2017**

Ve Zlíně dne 6. února 2017



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.

*děkan*



Ing. Michal Rouchal, Ph.D.

*ředitel ústavu*

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 14.5.2017



<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## ABSTRAKT

Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidiny jsou v posledních letech intenzivně studovány, a to zejména s ohledem k jejich možné biologické aktivitě. Po zavedení vhodných substituentů na pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinový kruh lze získat unikátní sloučeniny, které vystupují například jako kompetitivní inhibitory transferázových enzymů. Adamantanový skelet je stále častěji využívanou strukturou při modifikaci látek s farmakologickým potenciálem a jeho přítomnost, jako substituentu navázaného na pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinový kruh, může hrát zásadní roli při prostupu finální molekuly biologickými membránami a/nebo při efektivnějším doručení léčiva za použití odpovídajících supramolekulárních komplexů. Předložená práce popisuje přípravu série 4,7-disubstituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů, látek s doposud nepopsanou strukturou, do jejichž molekuly byly, pomocí nukleofilní aromatické substituce, zavedeny aromatické aminy s adamantanovým skeletem. Všechny připravené sloučeniny byly plně charakterizovány pomocí moderních metod strukturní analýzy.

**Klíčová slova:** adamantan, pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin, organická syntéza, strukturní analýza, biologická aktivita

## ABSTRACT

Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines has been widely researched in recent years because of their potential biological activities. Appropriate substitution of pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine scaffold leads to unique compounds which are possible competitive inhibitors of transferase enzymes. Adamantane scaffold is increasingly used for modification of compounds with pharmacological potential. The presence of adamantane as substituent of pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines can dramatically affect permeation of final structures through biological membranes and/or effective drug delivery using appropriate supramolecular complexes. This theses describes preparation of novel series of 4,7-disubstituted pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines which were substituted by aromatic amines whith adamantane scaffold. All of new structures were fully characterized by modern methods of structure analysis.

**Keywords:** adamantane, pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine, organic synthesis, structural analysis, biological activity

## **Poděkování**

Tímto bych rád poděkoval vedoucímu mé diplomové práce Ing. Michalu Rouchalovi, Ph.D. za velmi cenné rady, výpomoc při interpretaci strukturních charakteristik a především za velmi pozitivní přístup a obrovskou trpělivost napříč celým svým studiem.

Rovněž děkuji Mgr. Robertu Víchovi, Ph.D. za měření NMR spekter a za neustálý přísun zajímavých informací a poznatků, nejen z oblasti chemie.

Děkuji Ing. Davidu Gergelovi za praktické rady a výpomoc v laboratoři.

Děkuji Ing. Lence Trhlíkové za měření GC-MS a EA.

Závěrem bych rád poděkoval za neuvěřitelnou podporu mé úžasné rodině a přítelkyni, kteří přispěli nemalou mírou k dokončení mé závěrečné práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

# OBSAH

ÚVOD.....	10
<b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>12</b>
<b>1 ADAMANTAN .....</b>	<b>13</b>
1.1 STRUČNÁ HISTORIE A CHARAKTERISTIKA ADAMANTANU.....	13
1.2 DERIVÁTY ADAMANTANU V CHEMII LÉČIV .....	15
1.2.1 Jednoduché deriváty adamantanu.....	15
1.2.2 Biologicky aktivní látky na bázi adamantanu – současný stav.....	16
<b>2 MOŽNOSTI PŘÍPRAVY PYRROLO[2,3-<i>D</i>]PYRIMIDINOVÝCH SLOUČENIN .....</b>	<b>21</b>
2.1 SYNTÉZA DERIVÁTŮ PYRROLO[2,3- <i>D</i> ]PYRIMIDINU.....	22
2.1.1 Příprava nesubsituovaného pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu .....	22
2.1.2 Příprava substituovaných analog pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu .....	24
<b>3 BIOLOGICKÁ AKTIVITA PYRROLO[2,3-<i>D</i>]PYRIMIDINOVÝCH SLOUČENIN .....</b>	<b>31</b>
<b>II EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>	<b>36</b>
<b>4 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ .....</b>	<b>37</b>
<b>5 PŘÍPRAVA (1-ADAMANTYL)(AMINOFENYL)KETONŮ .....</b>	<b>39</b>
5.1 NITRACE 1-ADAMANTYL(FENYL)METANONU.....	39
5.2 REDUKCE NITROKETONŮ NA AMINOKETONY.....	40
<b>6 PŘÍPRAVA DERIVÁTŮ PYRROLO[2,3-<i>D</i>]PYRIMIDINU .....</b>	<b>43</b>
6.1 NUKLEOFILNÍ AROMATICKÁ SUBSTITUCE 4-CHLOR-7 <i>H</i> -PYRROLO[2,3- <i>D</i> ]PYRIMIDINU .....	43
6.2 ALKYLACE <i>N</i> -FENYL-7 <i>H</i> -PYRROLO[2,3- <i>D</i> ]PYRIMIDIN-4-AMINU .....	43
6.3 ALKYLACE 4-CHLOR-7 <i>H</i> -PYRROLO[2,3- <i>D</i> ]PYRIMIDINU.....	44
6.4 NUKLEOFILNÍ AROMATICKÁ SUBSTITUCE 4-CHLOR-7-ISOPROPYL-7 <i>H</i> -PYRROLO[2,3- <i>D</i> ]PYRIMIDINU .....	45
6.5 REDUKCE SLOUČENIN 11 A 12 NA ODPOVÍDAJÍCÍ ALKOHOLY.....	47
<b>III VÝSLEDKY A DISKUSE .....</b>	<b>49</b>
<b>7 PRAKTICKÁ ČÁST V KONTEXTU S PŘEDEŠLÝM VÝZKUMEM .....</b>	<b>50</b>
<b>8 SYNTÉZA AROMATICKÝCH AMINŮ S ADAMANTANOVÝM MOTIVEM.....</b>	<b>51</b>
8.1 NITRACE (1-ADAMANTYL)(FENYL)KETONU .....	51
8.2 PŘÍPRAVA (1-ADAMANTYL)(AMINOFENYL)KETONŮ.....	52
<b>9 SYNTÉZA SKUPINY NOVÝCH 4,7-DISUBSTITUOVANÝCH PYRROLO[2,3-<i>D</i>]PYRIMIDINŮ .....</b>	<b>55</b>



9.1	OVĚŘENÍ REAKČNÍCH PODMÍNEK VEDOUCÍCH K SYNTÉZE UVAŽOVANÝCH SLOUČENIN .....	55
9.2	SYNTÉZA PYRROLO[2,3- <i>D</i> ]PYRIMIDINŮ S ADAMANTANOVÝM SKELETEM.....	64
<b>ZÁVĚR .....</b>		<b>70</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>		<b>71</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>		<b>75</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>		<b>78</b>

## ÚVOD

Adamantanový skelet je poměrně dobře prostudovanou strukturou, která je v medicíně využívána již od 60. let 20. století. V klinické praxi se nyní nachází sedm více či méně složitých sloučenin, do jejichž struktury je adamantan zakomponován. Přítomnost tohoto symetrického uhlovodíkového motivu v cíleně modifikovaných biologicky aktivních sloučeninách má vliv na celkový farmakologický profil těchto potenciálních léčiv. Důležitou vlastností adamantanu, která má relativně velký potenciál mimo jiné také v chemii léčiv, je schopnost tvorby relativně stabilních inkluzních komplexů s řadou hostitelských molekul. Tato vlastnost se v řadě případů ukázala být zásadní při efektivním doručení léčiva k biologickému cíli.

Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidiny (7-deazapuriny) jsou bioisostery purinu, a zejména v posledních letech jsou, díky své významné biologické aktivitě, předmětem studia v oblasti chemie léčiv. 7-Deazapuriny vystupují především jako inhibitory transferázových enzymů kináz. Vhodnou substitucí tohoto kruhu pak lze, vzhledem k poměrně dobře popsaným aktivním místům široké škály enzymů, navrhnout struktury vystupující jako jejich potenciální kompetitivní inhibitory. V současnosti se v klinické praxi nachází několik látek odvozených od této struktury využívaných jako terapeutik proti nádorovým onemocněním a poměrně velké množství nových sloučenin je neustále podrobováno biologickému testování.

Teoretická část této diplomové práce se ve své první kapitole zabývá stručnou charakteristikou adamantanu a jeho stávajícím i možným využitím v medicíně. Ve druhé kapitole jsou popsány možnosti syntézy pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového kruhu a možnosti zavedení různých substituentů do jeho struktury, se zaměřením na alkylyaci a nukleofilní aromatickou substituci. Poslední kapitola je pak věnována biologické aktivitě vybraných sloučenin odvozených od pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů. Napříč celou teoretickou částí jsou diskutovány především nejnovější poznatky týkající se obou, pro tuto práci klíčových, sloučenin.

V experimentální části jsou uvedeny veškeré syntetické postupy a výčty strukturních charakteristik všech sloučenin, které byly v rámci této diplomové práce připraveny.

Poslední část práce obsahuje diskuzi jednotlivých reakčních kroků, jejich průběhu a výsledků. Neméně důležitý je také komentář jejich případných nedostatků či pozitiv.

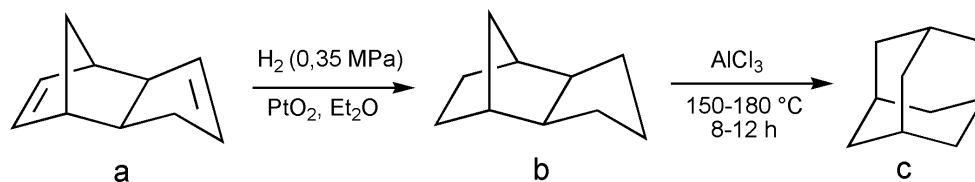
Důraz je samozřejmě kladen také na interpretaci dat získaných pomocí dostupných metod strukturní analýzy, které jsou nezbytným podkladem pro potvrzení struktury připravených sloučenin. Tato část práce je, z důvodu lepší přehlednosti pro případného čtenáře, členěna stejně jako je tomu v části experimentální.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 ADAMANTAN

### 1.1 Stručná historie a charakteristika adamantanu

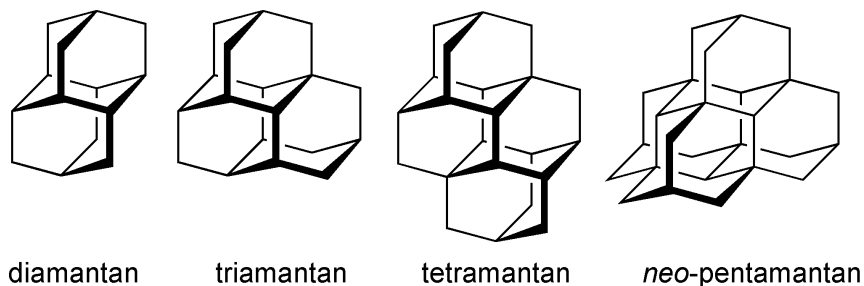
Struktura adamantanu, sloučeniny s poněkud méně využívaným systematickým názvem tricyklo[3.3.1.1<sup>3,7</sup>]dekan, byla poprvé veřejnosti prezentována profesorem Stanislavem Landou, kterému se jako prvnímu povedlo izolovat tento uhlovodík z hodonínské ropy ve třicátých letech minulého století.<sup>1</sup> Nicméně, výtěžnost procesu frakční destilace ropných podílů vodní parou a později extrakční krystalizací s thiomocovinou se pohybovala v rozmezí 0,02–0,03 %, bylo tedy nasnadě vyvinout efektivnější syntetickou cestu vedoucí k získání tohoto zajímavého polycyklického uhlovodíku. První pokus o syntézu adamantanu se objevil již v roce 1922 (tedy před Landovým objevem), kdy se Meerwein neúspěšně pokusil o přípravu adamantanu. První opravdu úspěšná syntéza nesubstituovaného adamantanu byla publikována až roku 1941 Prelogem a Seiwerthem, s nepříliš vysokým výtěžkem 0,3 %.<sup>2</sup> V současné době představuje nejefektivnější metodu syntézy adamantanu postup, který byl původně využíván ke studiu izomerace *endo*-tetrahydrodicyklopentadienu na jeho *exo*formu. Při této reakci byl adamantan roku 1957 Schleyerem izolován jako vedlejší produkt. Po čase byl tento postup zdokonalen a nyní lze pozorovat nárůst výtěžků z původních 13 % až na 40 %.<sup>1,3,4</sup> Schleyerova syntéza (**Obrázek 1**) spočívá v hydrogenaci dicyklopentadienu (**Obrázek 1a**) na tetrahydrodicyklopentadien (**Obrázek 1b**), ze kterého lze pomocí přesmyku účinkem  $\text{AlCl}_3$  a teplot okolo 150–180 °C získat právě adamantan (**Obrázek 1c**).<sup>1,3</sup>



**Obrázek 1:** Schleyerova syntéza adamantanu.

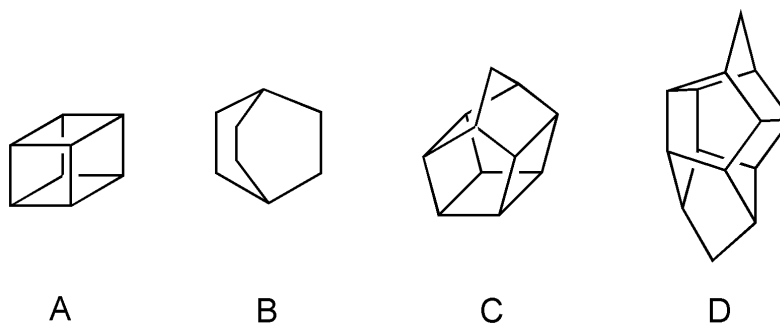
Adamantan ( $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$ ) je nejmenším a nejjednodušším ze skupiny tzv. diamantoidů (**Obrázek 2**), jejichž přítomnost byla rovněž prokázána v ropě. Adamantan tvoří krystalovou mřížku velmi podobnou mřížce diamantu. Jedná se o bezbarvou, krystalickou a vysoce symetrickou molekulu s vůní kafru, sestávající ze tří cyklohexanových kruhů

zaujímajících židličkovou konformaci.<sup>5</sup> Tento fakt má zásadní vliv na silnou rigiditu systému a téměř nulové pnutí, což vede k vysoké termické stabilitě a odolnosti vůči působení řady oxidačních činidel, např.  $\text{KMnO}_4$  či  $\text{HNO}_3$ .<sup>6</sup>



**Obrázek 2:** Struktura vybraných diamantoidů.

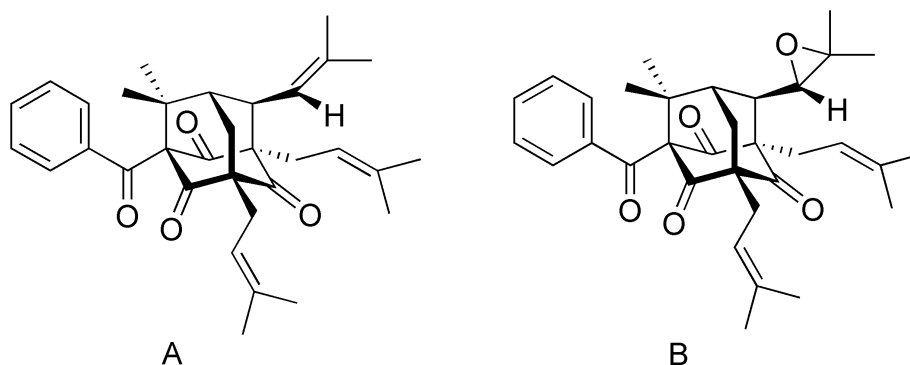
Významný je také lipofilní charakter adamantanu. Díky této vlastnosti je adamantan nerozpustný ve vodě, ale dobře rozpustný v nepolárních organických rozpouštědlech. Značná lipofilita adamantanu skýtá řadu výhod a uplatnění. Využití v oblasti zejména medicíně, bude v následující podkapitole dále diskutováno.<sup>7</sup> Je na místě také zmínit, že se adamantan spolu např. s kubanem (**Obrázek 2A**), bicyklo[2.2.2]oktanem (**Obrázek 2B**), pentacykloundekánem (**Obrázek 2C**) heptacyklotetradekánem (**Obrázek 2D**) řadí do skupiny tzv. klecových uhlovodíků.<sup>8</sup>



**Obrázek 3:** Struktura vybraných klecových uhlovodíků.

Adamantan se na Zemi nevyskytuje pouze v podobě ropného izolátu či v syntetické formě, ale také je možné nalézt řadu sekundárních metabolitů, ve kterých je jeho skelet zakomponován. I přes skutečnost, že není toto zastoupení v živé přírodě velké, řada z těchto sloučenin vykazuje zajímavé biologické účinky. Pokud nebudou brány v úvahu substituované heteroadamantany, pak první sloučeninu izolovanou z přírodních zdrojů obsahující výhradně substituovaný adamantanový derivát představuje plukenetion A

(**Obrázek 4A**), který byl izolován roku 1996 z rostliny *Clusia plukenetti* z čeledi perezovitých.<sup>9</sup> Epoxidová forma plukenetionu A (**Obrázek 4B**) byla izolována z ovoce *Clusia havetiodes* var. *Stenocarpa*.



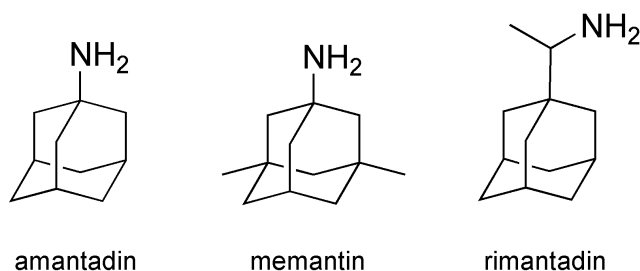
**Obrázek 4:** Strukturní vzorce plukenetionu A a jeho epoxidové formy.

## 1.2 Deriváty adamantanu v chemii léčiv

### 1.2.1 Jednoduché deriváty adamantanu

V současnosti jsou diskutovány dva přístupy k otázce výskytu adamantanového skeletu v léčivých přípravcích. První skupinou látek jsou chemoterapeutika přímo odvozená od základní struktury adamantanu. Za druhou skupinu látek pak lze považovat látky původně využívané v klinické praxi, do jejichž základní struktury byl vhodnou modifikací inkorporován adamantanový motiv za účelem vylepšení původního farmakologického profilu.<sup>7</sup>

První léčivý přípravek na bázi adamantanu byl popsán roku 1964, kdy Davies a kol. uskutečnili syntézu 1-adamantylaminu. Při bližším zkoumání biologické aktivity amantadinu, jak tuto sloučeninu triviálně nazvali, objevili významné antivirotické účinky.<sup>10</sup> Po dlouhých letech usilovného výzkumu lze nyní nalézt řadu bioaktivních látek, jejichž důležitou součástí je adamantanový motiv. Jedná se o skupinu látek s rozsahem využití od terapeutik pro chřipku typu A, Herpes Simplex, Acne Vulgaris až po léčbu Parkinsonovi či Alzheimerovy choroby.<sup>11,12</sup> Strukturní vzorce tří významných derivátů adamantanu s terapeutickým využitím jsou znázorněny na **Obrázku 5**.



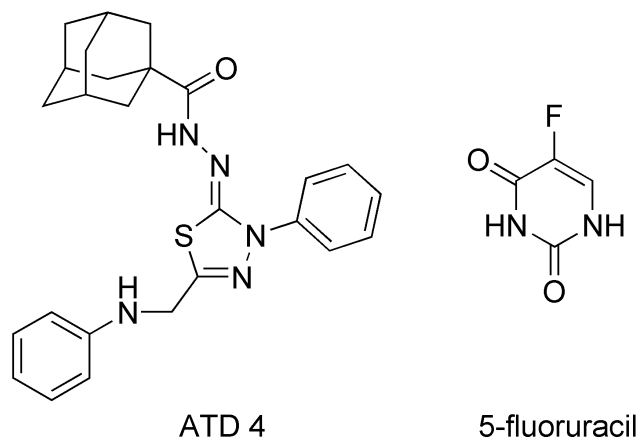
**Obrázek 5:** Vybrané deriváty adamantanu využívané v chemii léčiv.

Nejrozšířenější je nyní přístup cílené modifikace biologicky aktivních látek. Jak již bylo zmíněno výše, zásadní úlohu zde hraje lipofilita adamantanového skeletu. Tato skutečnost má významný vliv na celkový farmakologický profil léčiva.<sup>7</sup>

### 1.2.2 Biologicky aktivní látky na bázi adamantanu – současný stav

Aktuální výzkum látek obsahujících ve své struktuře adamantanový motiv je směřován hned do několika oblastí. Ayat a kol.<sup>13</sup> popisují syntézu skupiny jimi navržených adamantanthiazolových derivátů (ATD) a jejich antiproliferačních účinků vůči vybraným nádorovým buněčným liniím. Navrhli a optimalizovali syntézu celkem čtyř látek s cílem získat externí vektor apoptózy výlučně prekarcinogenních a/nebo karcinogenních buněk maligního typu. Nejvyšší aktivitu vykazovala látka pojmenovaná ATD 4. Tato sloučenina prokázala inhibiční aktivitu proti kaspáze-3 různých nádorových buněk. Hodnoty IC<sub>50</sub> (inhibiční koncentrace způsobující úhyn 50 % buněk) ATD 4 a 5-fluoruracilu, jenž byl v této studii použit jako standard pro srovnání aktivity stávajících terapeutik, a jejich strukturální vzorce jsou uvedeny na **Obrázku 6**.





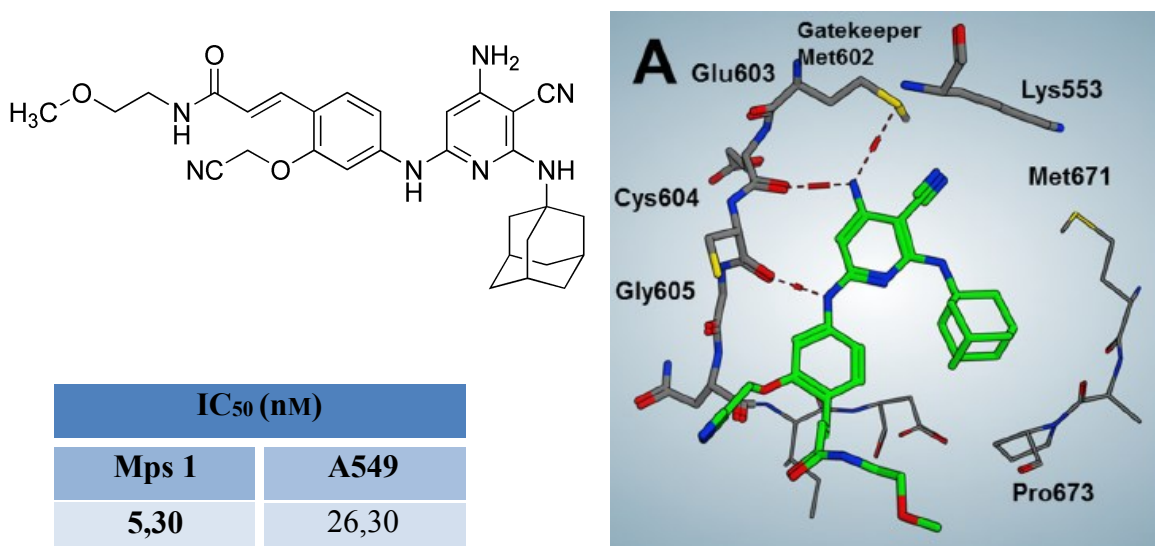
Sloučenina	IC <sub>50</sub> (mM)			
	PC-3	HCT-116	A 549	HFB4
ATD 4	0,163	0,168	0,087	0,218
5-fluoruracil	1,2	2,0	2,9	>5

PC-3 = karcinom prostaty; HCT-116 = kolorektální karcinom; A 549 = karcinom plic;  
HFB4 = normální lidské melanocyty

**Obrázek 6:** Strukturální vzorce a hodnoty IC<sub>50</sub> ATD 4 a 5-fluoruracilu.

Kusakabe a kol.<sup>14</sup> popisuje atraktivní strategii ve vývoji protirakovinových terapeutik spočívající v inhibici Mps 1 (z angl. Monomolar Spindle), tedy duálně specifických kináz. Zvýšené hladiny Mps 1 jsou pozorovány u lidských nádorových buněk a korelují se stupněm diferencovanosti (vyzrálosti) nádoru. Snížení koncentrace Mps 1 vede k poklesu počtu přeživších nádorových buněk a k jejich následné apoptóze.<sup>15</sup> Kusakabeho výzkumná skupina publikovala syntézu kyanopyridinového derivátu s adamantanovým skeletem (**Obrázek 7**). Tato sloučenina vykazuje vysoce selektivní vazbu na Mps 1, a tím poskytuje relativně zajímavé hodnoty IC<sub>50</sub>. Mps 1 inhibuje již v nanomolární koncentraci (IC<sub>50</sub> = 5,30 nM), stejně tak pozoruhodná je inhibiční koncentrace vůči buněčné linii karcinomu plic A 549 (IC<sub>50</sub> = 26,30 nM). Z rentgenové difrakční analýzy komplexu kyanopyridinového derivátu s adamantanovým skeletem s aktivním místem Mps 1 je patrná interakce primární aminoskupiny na pyridinovém kruhu s methioninem (Met602) a cysteinem (Cys604) Mps 1. Rovněž lze pozorovat vodíkovou vazbu mezi oxoskupinou glycinu (Gly605) a sekundární aminoskupinou spojující dva aromatické motivy ve výše zmíněné sloučenině. Bohužel při testování *in vivo* (krysa obecná) byl zjištěn velký pokles

aktivity této látky, který si autoři vysvětlují neefektivním doručením léčiva na místo určení, způsobeným nízkou metabolickou stabilitou.

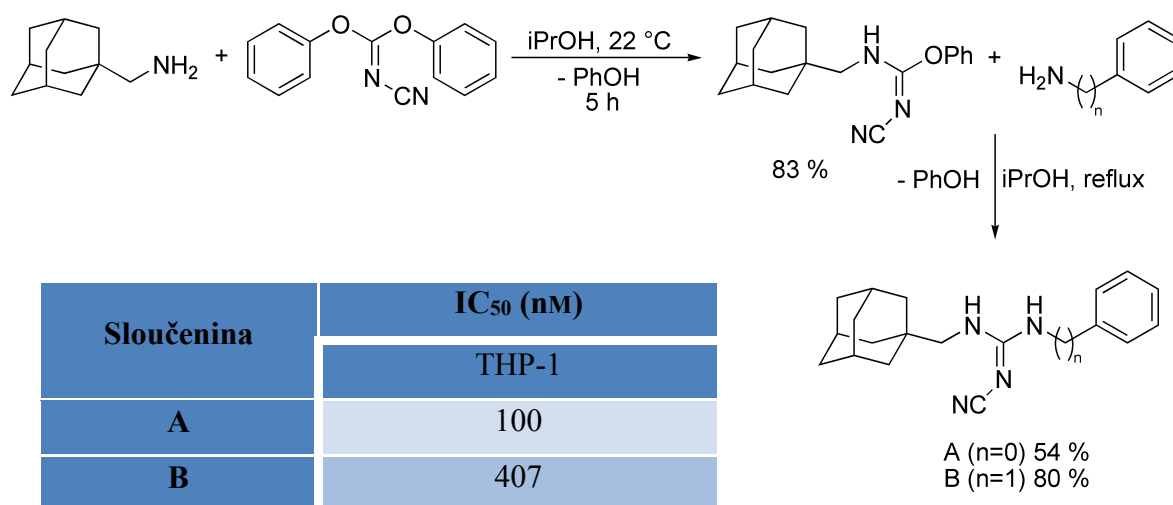


**Obrázek 7:** Struktura, vazba na Mps 1 a hodnoty IC<sub>50</sub> sloučeniny s adamantanovým skeletem odvozené od kyanopyridinu.<sup>14</sup>

Zajímavý příklad představuje práce zabývající se přípravou a studiem farmakologického profilu nové série adamantylkyanoguaninů jako potenciálních antagonistů purinergních receptorů P2X<sub>7</sub> (P2X<sub>7</sub>R), kterou publikoval O'Brien-Brown a kol.<sup>16</sup> P2X<sub>7</sub>R ovlivňuje tvorbu a sekreci interleukinu-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) a IL-18 v imunitních buňkách, rezistentních makrofázích a mikroglíích (malé buňky nacházející se v nervové tkáni), což má zásadní význam a spojitost s neurodegenerativními poruchami jako je například roztroušená skleróza, Parkinsonova choroba, Alzheimerova choroba či Huntingtonova porucha.<sup>17</sup> Autoři navrhli syntézu celkem 26 sloučenin lišících se délkou řetězce spojujícího adamantanový skelet s různými arylovými motivy. Příprava dvou, z hlediska biologické aktivity nejúspěšnějších molekul, tedy 1-(adamantan-1-ylmethyl)-2-kyano-3-fenylguanidinu (sloučenina A) a 1-(adamantan-1-ylmethyl)-3-benzyl-2-kyanoguanidinu (sloučenina B) je znázorněna na **Obrázku 8**. Po rozpuštění adamantan-1-methylaminu v propan-2-olu byl do reakční směsi přidán difenyl-*N*-karbonimid. Reakce byla po pěti hodinách za pokojové teploty ukončena a požadovaný produkt byl získán

ve výtěžku 83 %. Druhý krok syntézy představuje reakce vzniklého intermediátu s příslušným aminem v propan-2-olu. Výsledné látky byly získány ve výtěžcích 54 %

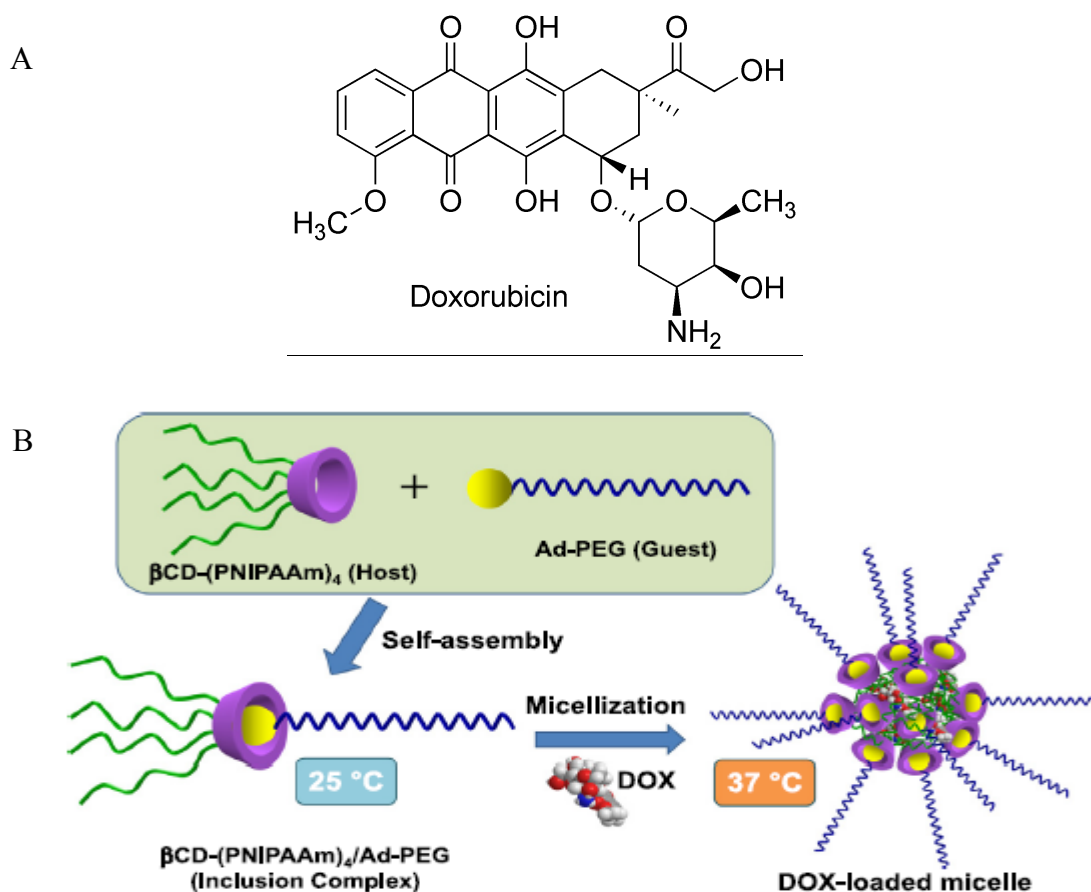
(sloučenina A), respektive 80 % (sloučenina B). Hodnoty  $IC_{50}$  *in vivo* (krysa obecná) vůči P2X<sub>7</sub> v lidských buňkách THP-1 (linie lidských monocytárních buněk) jsou pro sloučeninu A  $IC_{50} = 100$  nM, pro sloučeninu B  $IC_{50} = 407$  nM. Z uvedených výsledků vyplývá určitý potenciál využití adamantanových derivátů v oblasti vývoje nových přípravků potlačujících příznaky neurodegenerativních onemocnění.<sup>16</sup>



**Obrázek 8:** Schéma syntézy a hodnoty  $IC_{50}$  vybraných adamantylguanoguaninů.

Výzkum adamantanu v chemii léčiv nespočívá pouze v zakomponování tohoto skeletu do struktur potenciálních účinných látek. Důležitou vlastností této sloučeniny je také schopnost tvorby supramolekulárních komplexů typu „hostitel-host“. V supramolekulární chemii, tedy chemii nadmolekulárních útvarů založené na nekovalentních interakcích, vystupuje adamantan, vzhledem ke své velikosti, jako host, schopný inkluze do kavity hostitelské molekuly. Jedny z běžných hostitelských molekul schopných vytvářet relativně stabilní inkluzní komplexy s hosty na bázi adamantanu představují cyklodextriny (CD), což jsou makrocyclické oligosacharidy tvořené různým počtem D-glukopyranosových jednotek.<sup>18</sup> Tento fakt má za následek možné využití adamantanu při efektivním doručování již zavedených léčiv na místo určení. Publikace Songa a kol.<sup>19</sup> pojednává o termoresponzivním supramolekulárním micelárním doručení léčiv, založeným na tvorbě inkluzního komplexu  $\beta$ -cyklodextrin-poly(*N*-isopropylakrylamidu) ( $\beta$ CD(PNIPAAm)<sub>4</sub>) a adamantyl-poly(ethylenglykolu) (Ad-PEG)

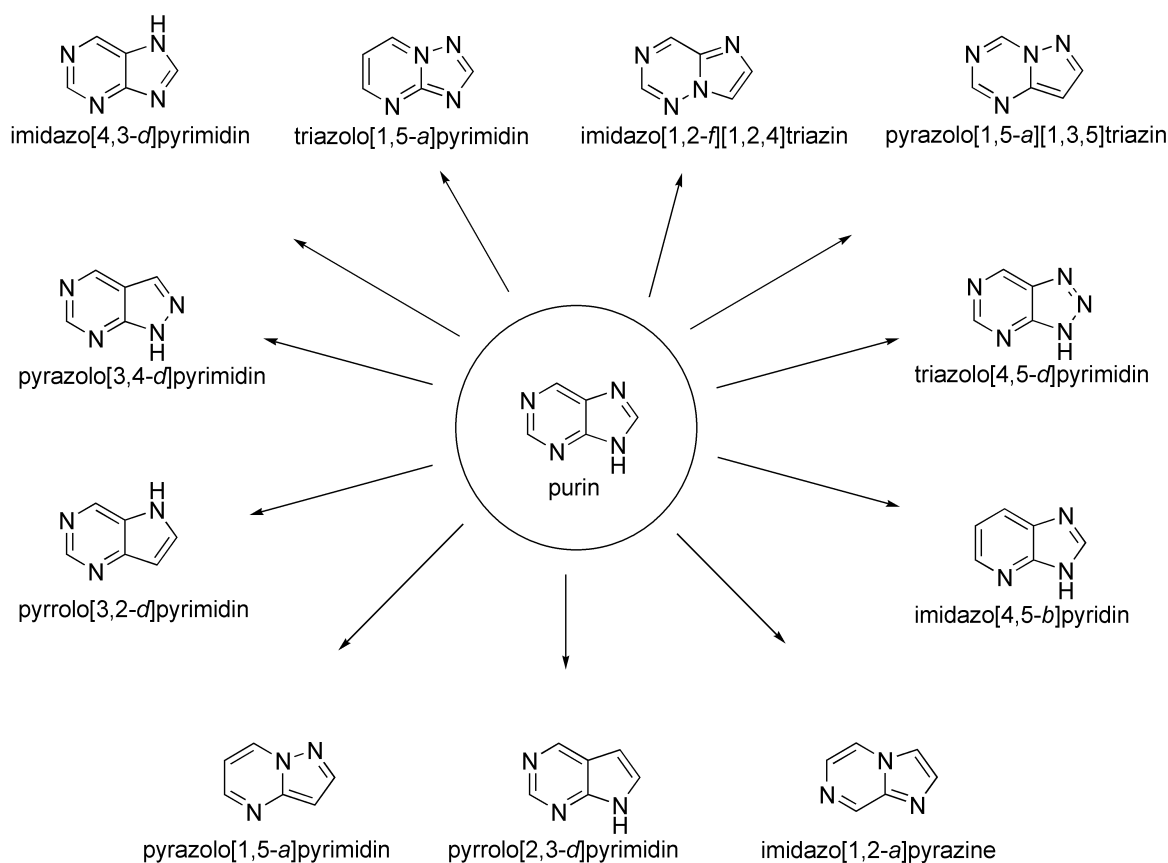
(**Obrázek 9B**). Tento systém tvoří micely formované teplotou prostředí. Do středu takto formovaných micel lze vhodným postupem zavést například doxorubicin (DOX, **Obrázek 9A**), látku využívanou v terapii nádorových onemocnění. Takto lze částečně odstranit dlouho diskutovaný problém špatné rozpustnosti protirakovinových léčiv ve vodě. Při následném biologickém testování *in vitro* DOX enkapsulovaném ve výše zmíněném komplexu na buněčných liniích AT3B-1-N a AT3B-1 (nádorové buňky využívané při studiu chemoterapeutické rezistence rakoviny prostaty) byla zjištěna daleko vyšší cytotoxicita a biologická dostupnost, než v případě samotného DOX, což poukazuje na zvýšený terapeutický efekt u obou buněčných linií.



**Obrázek 9:** Strukturní vzorec DOX (A) a tvorba inkluzního komplexu  $\beta$ CD(PNIPAAm)<sub>4</sub> s Ad-PEG a následné zakomponování DOX do micel (B).<sup>19</sup>

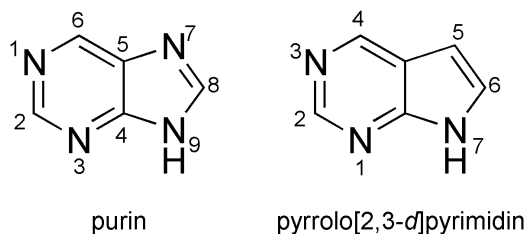
## 2 MOŽNOSTI PŘÍPRAVY PYRROLO[2,3-*D*]PYRIMIDINOVÝCH SLOUČENIN

7-Deazapurin ( $C_8H_{11}N_3$ ), systematicky pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin, je bezbarvá krystalická látka, která patří do skupiny purinových sloučenin. Jedná se o bioisoster purinu, tedy látku strukturně podobnou, lišící se rozložením atomů ve svém skeletu. V tomto konkrétním případě se jedná o absenci atomu dusíku v poloze 7 purinového kruhu.<sup>20</sup> Do této doby bylo popsáno celkem 11 typů bioisosterů purinu (**Obrázek 10**). Prostorové odlišnosti v jejich struktuře mají za následek rozdílné fyzikální a chemické vlastnosti (např. rozpustnost, reaktivita kruhu, hydrofobicita, elektrostatický potenciál).<sup>21</sup>



**Obrázek 10:** Strukturní motivy purinových bioisosterů.

Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin je pojmenován dle Hanzchova-Widmanova názvoslovného systému a číslování poloh atomů v jeho kruhu je rozdílné od purinu. Jedná se o dva kondenzované heterocykly, tedy pyrrol (pětičlenný s jedním atomem dusíku) a pyrimidin (šestičlenný se dvěma atomy dusíku). Pro porovnání jsou purin a pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin s jejich specifickým číslováním znázorněny na **Obrázku 11**.<sup>20</sup>



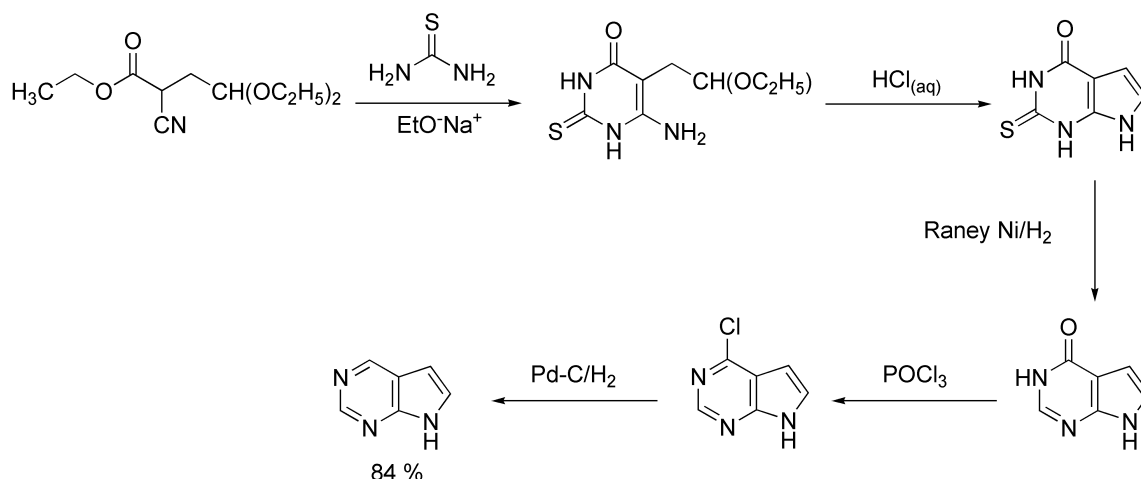
**Obrázek 11:** Strukturní vzorce a číslování purinu a pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu.

## 2.1 Syntéza derivátů pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu

V současnosti je známa řada postupů přípravy pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového kruhu. Ovšem syntetických cest, které poskytují nesubstituovaný 7-deazapurin není mnoho, daleko rozšířenější je příprava tohoto kruhu se dvěma a více substituenty. Příprava více substituovaných analog je v současné době popisována ve stále narůstajícím počtu odborných publikací, zabývajících se zejména biologickou aktivitou těchto látek.

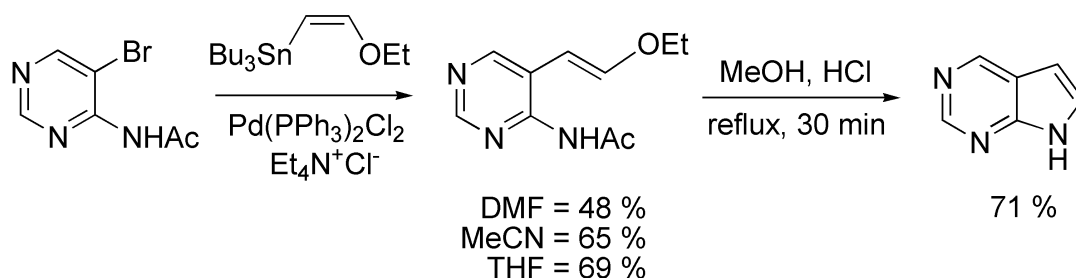
### 2.1.1 Příprava nesubstituovaného pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu

Jako příklad syntézy nesubstituovaného pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu lze uvést postup popsáný Reiganem a kol., kteří ve své práci popisují metodu (**Obrázek 12**) začínající cyklokondenzací ethyl 2-kyano-4,4-diethoxybutyrátu s thiomocovinou, následovanou kysele katalyzovanou hydrolyzou acetalu s cyklizací kruhu. Následně byl atom síry na C2 odstraněn desulfurací pomocí Raneyova niklu a poté oxoskupina na C4 nahrazena atomem chloru reakcí s  $\text{POCl}_3$ . Takto připravený chlor derivát lze buďto využít pro další syntézu, nebo je možné halogen z kruhu odstranit katalytickou hydrogenolýzou za přítomnosti Pd/C. Výtěžek této reakce činí až 84 %.<sup>22</sup>



**Obrázek 12:** Schéma přípravy pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu z ethyl 2-kyano-4,4-diethoxybutyrátu.

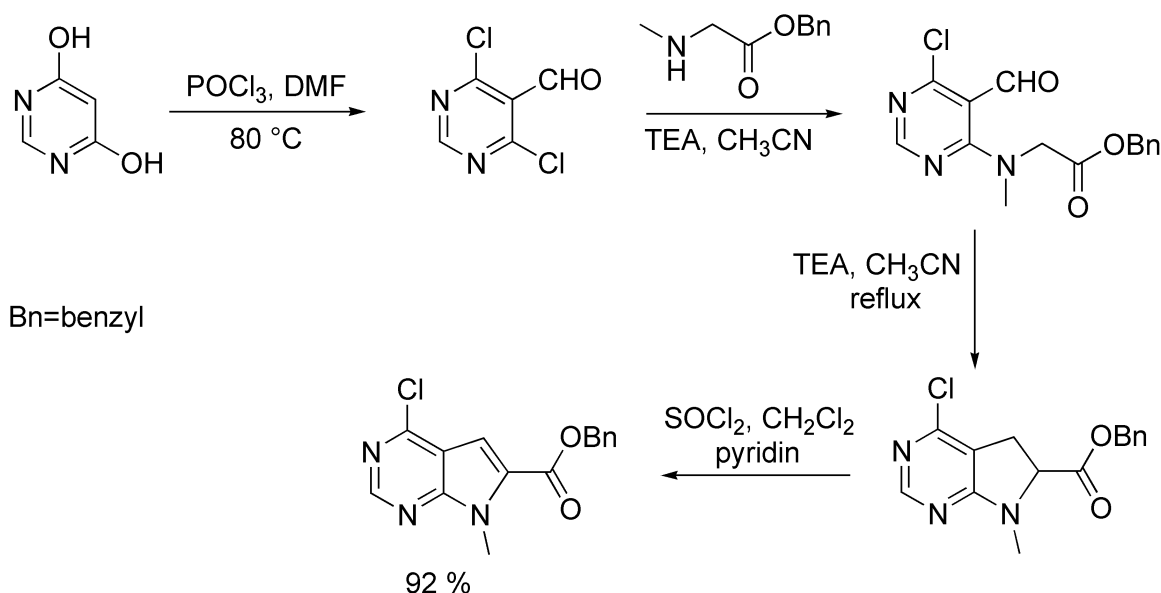
Dalším příkladem přípravy tohoto kruhu je reakce 4-acetylamín-5-brompyrimidinu s (*Z*)-1-ethoxy-2-(tributylstannyl)ethenem katalyzovaná palladiem ve formě bis(trifenylfosfin)palladium-dichloridu, za přítomnosti tetraethylamonium-chloridu. První syntetický krok byl, za účelem optimalizace výtěžku, proveden ve třech různých polárních organických rozpouštědlech, a sice dimethylformamidu (DMF), acetonitrilu (MeCN) a tetrahydrofuranu (THF). Druhý krok této syntézy představuje cyklizace a kyselé katalyzovaná hydrolýza acetalu kyselinou chlorovodíkovou v methanolu. Po odpaření rozpouštědla na rotační vakuové odparce (RVO) bylo reziduální množství kyseliny zalkalizováno vodným roztokem  $K_2CO_3$  a surový produkt byl extrahován pomocí ethyl-acetátu. Požadovaný produkt byl získán rekrytalizací z ethyl-acetátu ve výtěžku 71 % (**Obrázek 13**).<sup>23</sup>



**Obrázek 13:** Schéma syntézy pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu z 4-acetylamín-5-brompyrimidinu.

### 2.1.2 Příprava substituovaných analog pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu

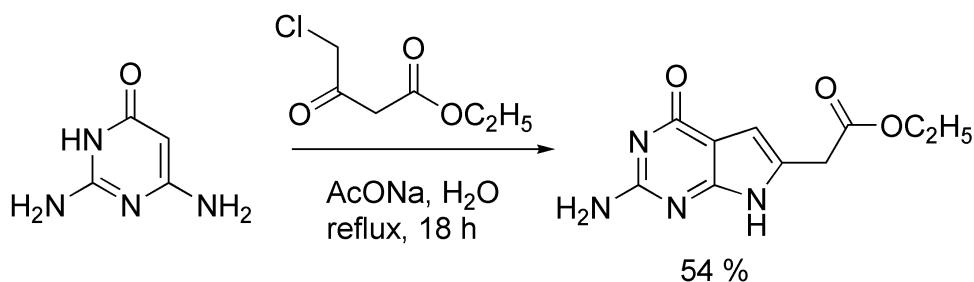
Přípravu trisubstituovaného derivátu pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu za účelem zisku biologicky aktivních látek vystupujících jako inhibitory Janus kináz 2. typu ve své nedávné publikaci popisují Wang a kol. (**Obrázek 14**).<sup>24</sup> 4,6-Dichlorpyrimidin-5-karbaldehyd, jako výchozí sloučenina pro následnou nukleofilní aromatickou substituci, byl připraven z 4,6-dihydroxypyrimidinu reakcí s čerstvě připraveným Vilsmeierovým-Haackovým činidlem ( $\text{POCl}_3 + \text{DMF}$ ), za použití triethylaminu (TEA) jako báze. Následně byla provedena nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze 4 benzylesterem sarkosinu. Vzniklý meziprodukt byl poté podroben cyklizaci reakcí s TEA v acetonitrilu. Finální produkt byl získán dehydrogenací thionylchloridem v prostředí pyridinu a dichlormethanu ve výtěžku 92 %.



**Obrázek 14:** Schéma přípravy trisubstituovaného 4-chloropyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu.

Liu a kol.<sup>25</sup> ve své práci zaměřené na syntézu 6-substituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů, jako potenciálních neklasických antifolátů (analogů kyseliny listové) s protinádorovou aktivitou, uvádí přípravu těchto látek vycházející z komerčně dostupného 2,4-diamino-6-oxypyrimidinu a ethyl-4-chloracetátu. Tyto dvě sloučeniny reagují ve vodném roztoku  $\text{AcONa}$  za vzniku klíčového 6-substituovaného intermediátu. Ten byl získán po 18 hodinách refluxu a následném promytí acetonem v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 54 %.

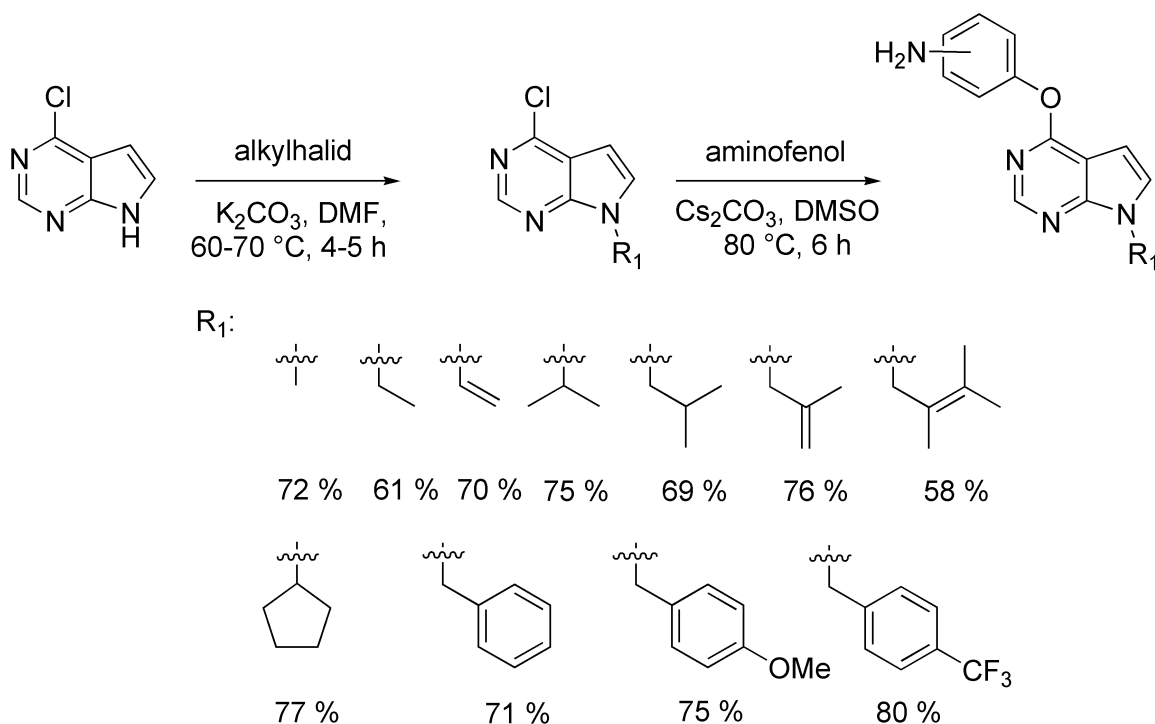




**Obrázek 15:** Schéma přípravy intermediátu pro syntézu nových 6-substituovaných antifolátů.

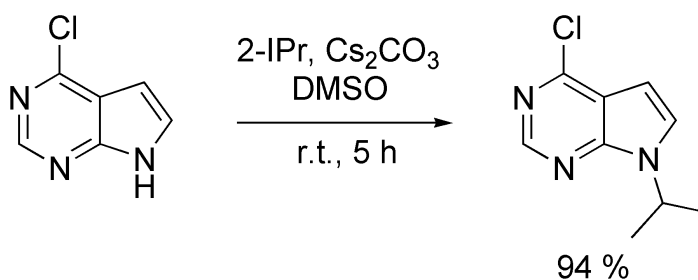
Vzhledem k tomu, že z hlediska principu jsou metody syntézy pyrolo[2,3-*d*]pyrimidinového kruhu velmi podobné a liší se pouze rozložením substituentů ve výchozích strukturách, bude v další části této kapitoly pojednáno o metodách cílené modifikace již syntetizovaných kruhů. Jedná se zejména o alkylation a nukleofilní aromatickou substituci (S<sub>N</sub>Ar) atomu halogenu (nejčastěji chloru a bromu).

Liu a kol.<sup>26</sup> popisují přípravu nových inhibitorů enzymu luciferázy odvozených od pyrolo[2,3-*d*]pyrimidinu s různými substituenty na atomu dusíku v poloze 7 (**Obrázek 16**). Autoři využili jako výchozí látku pro tuto reakci komerčně dostupný 4-chlor-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin. V prvním kroku syntézy dochází k zavedení příslušného alkyly na N7 za přítomnosti báze (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) v DMF za zvýšené teploty (60–70 °C). Ve druhém reakčním kroku byla provedena nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze 4 aminofenolem za přítomnosti Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jako báze v dimethylsulfoxidu (DMSO) při 80 °C. Finální produkty byly, po purifikaci pomocí preparativní vysokoúčinné kapalinové chromatografie, získány ve výtěžcích 58–80 %. Autoři v této práci uvádí pouze výtěžky finálních molekul, vzhledem k tomu, že surové produkty alkylovaných intermediátů byly použity pro další reakční krok bez jejich izolace a jakékoliv strukturní charakteristiky.



**Obrázek 16:** Příklad alkylace derivátu pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu I.

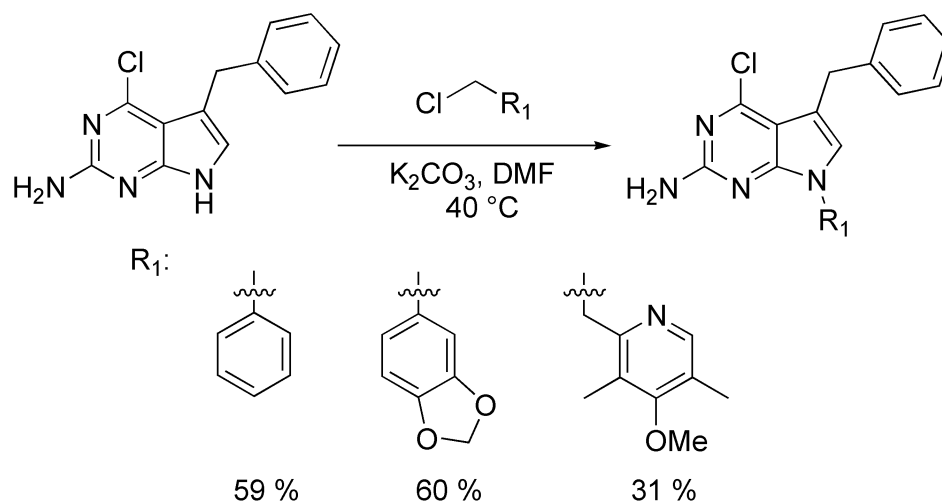
Alkylaci do polohy 7 pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového kruhu lze rovněž provést za přítomnosti Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jako báze v DMF. Arcari a kol.<sup>27,28</sup> popisují zavedení propan-2-ylu do polohy 7 pomocí 2-jodpropanu (2-IPr). Po 5-ti hodinách za laboratorní teploty (r.t.) uvádí u této reakce (**Obrázek 17**) výborný výtěžek 94 %.



**Obrázek 17:** Příklad alkylace derivátu pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu II.

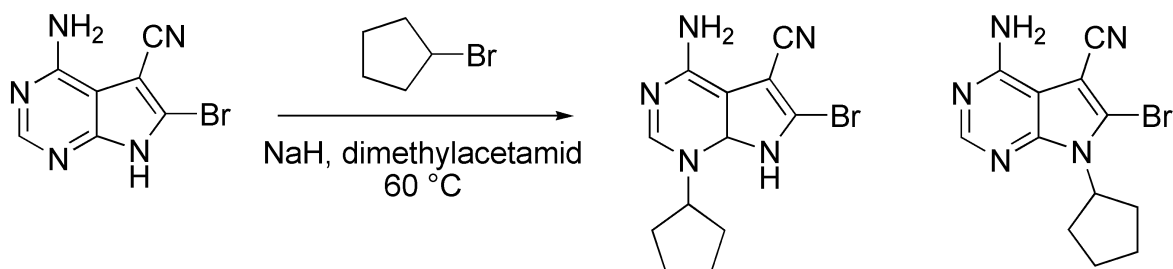
Stejný produkt lze získat reakcí 4-chlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu s 2-jodpropanem v přítomnosti NaH při 0 °C ve výtěžku 71 % po třech hodinách.<sup>29</sup>

Jako další příklad zavedení substituentů do polohy 7 pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového motivu lze uvést postup, který publikoval Lee a kol.<sup>30</sup> ve své práci zabývající se studiem antiproliferační aktivity těchto sloučenin (**Obrázek 18**). Jedná se o alkylation různými alkyl halidy za přítomnosti K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> v DMF při 40 °C.



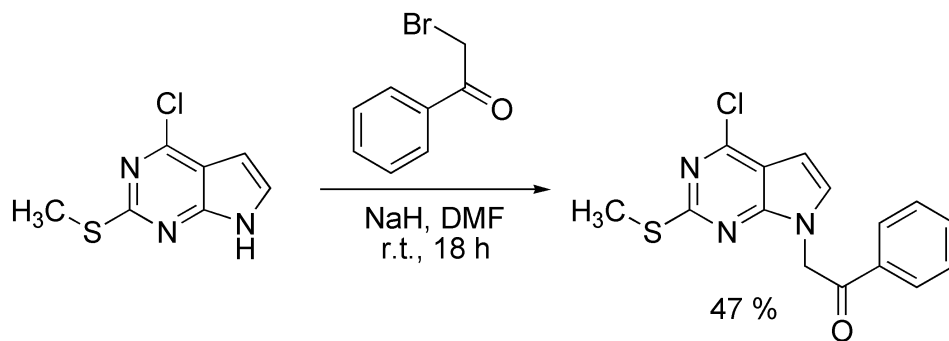
**Obrázek 18:** Příklad alkylace derivátu pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu III.

Zajímavý je také poznatek z práce Suh a kol., kteří interpretují alkylylaci bromcyklopentanem v dimethylacetamidu za přítomnosti NaH jako báze. Tato reakce vedla k tvorbě dvou regioizomerů (**Obrázek 19**), přičemž došlo k navázání cyklopentylu do polohy 1 a 7 pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu.<sup>31</sup>



**Obrázek 19:** Příklad alkylace derivátu pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu IV.

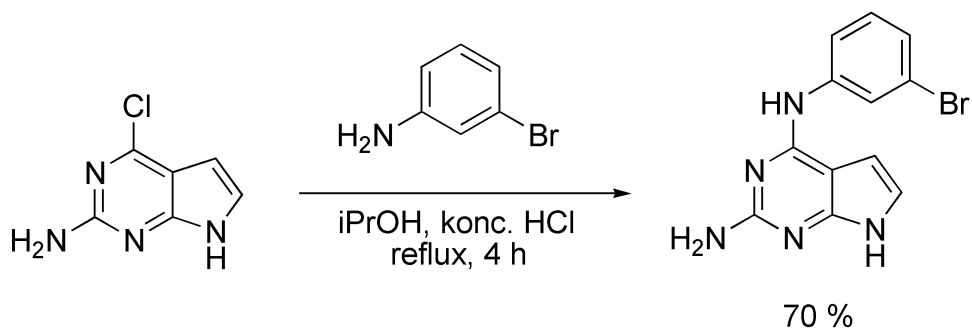
Dalším příkladem využití NaH jako báze při alkylylaci struktury odvozené od pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu lze uvést reakci 4-chlor-2-(methylthio)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu s 2-brom-1-fenylethan-1-onem v DMF za laboratorní teploty (**Obrázek 20**). Po 18 hodinách lze tímto postupem získat N7 alkylovaný intermediát ve výtěžku 47 %.<sup>32</sup>



**Obrázek 20:** Příklad alkylace derivátu pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu V.

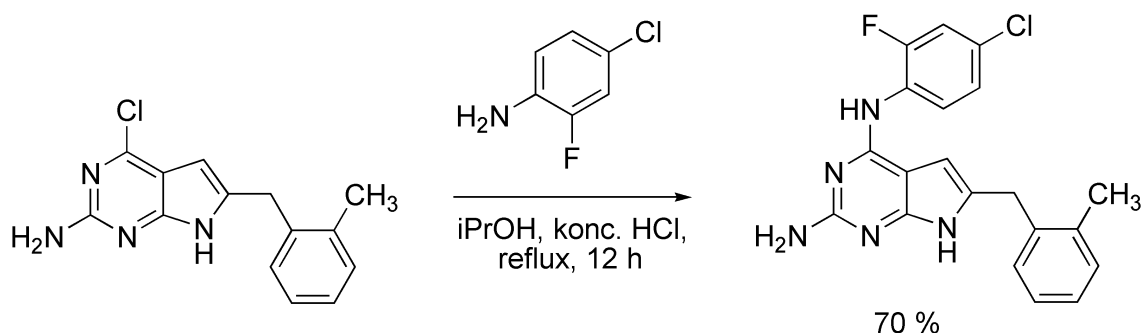
Poměrně často využívaným postupem používaným k zakomponování různých typů aminů do polohy 4 pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového kruhu je nukleofilní aromtická substituce atomu chloru na C4. U tohoto typu reakce lze nahradit atom chloru příslušným aminem buď za přítomnosti nebo s vyloučením báze. Ve druhém případě je využito schopnosti aminů, které mohou v reakci vystupovat zároveň jako reaktanty i jako báze.<sup>32,33,34</sup>

Jako příklad  $S_NAr$ , v níž amin vystupuje jako báze sám o sobě lze uvést reakci publikovanou Gangjeem a kol. (**Obrázek 21**).<sup>35</sup> V práci je popsána příprava *N*<sup>4</sup>-(3-bromfenyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-2,4-diaminu z 4-chlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-2-aminu a 3-bromanilinu, který byl v reakční směsi přítomen ve dvoumolárním přebytku, tak aby mohl působit i jako báze. Reakce proběhla v propan-2-olu s přidávkem několika kapek koncentrované kyseliny chlorovodíkové za refluxu po dobu 4 hodin. Požadovaný produkt byl získán ve výtěžku 70 %.



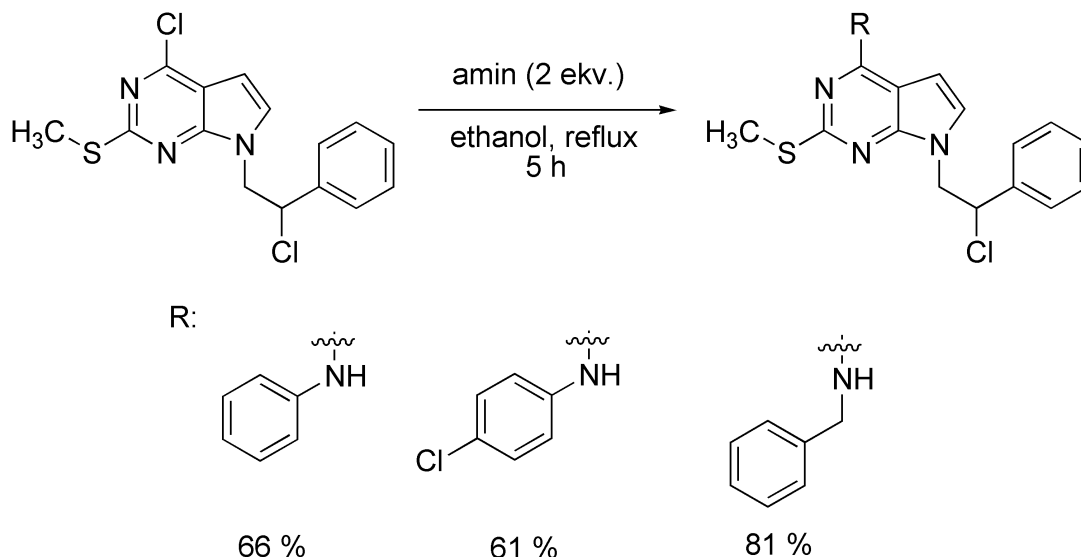
**Obrázek 21:** Příklad  $S_NAr$  derivátu pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu I.

Naprosto shodný výtěžek poskytovala také  $S_NAr$  atomu chloru na 2,8-disubstituovaném pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu (**Obrázek 22**).<sup>34</sup>



**Obrázek 22:** Příklad  $S_NAr$  derivátu pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu II.

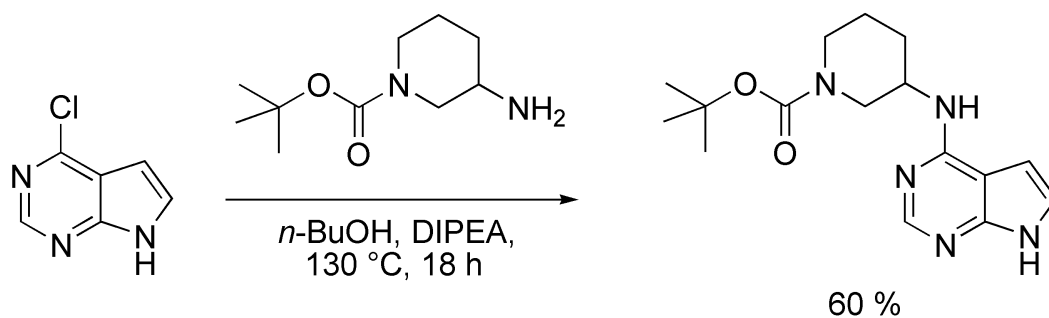
$S_NAr$  atomu chloru na C4 N7-substituovaného pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu různými typy aminů popisují ve své práci Musumeci a kol. (**Obrázek 23**).<sup>32</sup> Příslušný amin byl do reakční směsi přidán ve dvoumolárním přebytku. Po pěti hodinách refluxu byla reakční směs ochlazena na laboratorní teplotu a vzniklá sraženina odfiltrována. Výsledné produkty byly získány krystalizací z ethanolu. Výtěžky jednotlivých substitucí se pohybovaly v rozmezí 61–81 %.



**Obrázek 23:** Příklad  $S_NAr$  derivátu pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu III.

Strukturu pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu lze rovněž modifikovat pomocí substituce atomu chloru na C4 aminy, které nejsou aromatické. Dostatečně silnou bází pro tento typ reakce je např. diisopropylethylamin (DIEA).<sup>36</sup> Thorarensen a kol.<sup>37</sup> popisují syntézu skupiny 4-substituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinových sloučenin.  $S_NAr$  atomu chloru na C4

(Obrázek 24) byla uskutečněna v butan-1-olu (BuOH) za přítomnosti DIEA (5 ekv.) jako báze a *tert*-butyl 3-aminopiperidin-1-karboxylátu. Reakční směs byla zahřívána na 130 °C po dobu osmnácti hodin. Po odpaření rozpouštědla na RVO a purifikaci pomocí sloupcové chromatografie za použití mobilní fáze petrolether/ethylacetát (3/2, v/v) byl výsledný produkt získán ve výtěžku 60 %.

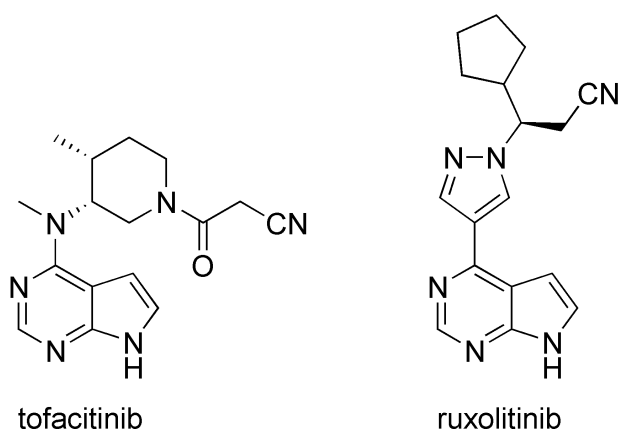


Obrázek 24: Příklad  $S_NAr$  derivátu pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu IV.

### 3 BIOLOGICKÁ AKTIVITA PYRROLO[2,3-*D*]PYRIMIDINOVÝCH SLOUČENIN

Sloučeniny obsahující pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinový skelet jsou v posledních letech intenzivně zkoumány díky prokazatelně významné biologické aktivitě. Vzhledem k velkému počtu publikací, zabývajících se biologickou aktivitou těchto látek, budou v následující kapitole detailněji diskutovány pouze nejnovější poznatky z oblasti výzkumu cíleně modifikovaných sloučenin obsahujících tento motiv.

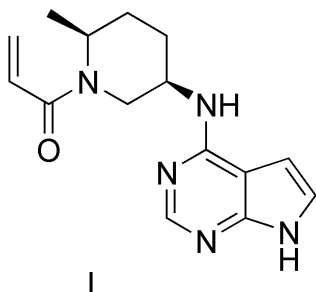
Deriváty pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu jsou aktuálně předmětem studia v oblasti kinázových inhibitorů. Janus kinázy (JAK) jsou nереceptorní tyrosin kinázy potřebné pro správnou signalizaci cytokinových receptorů 1. a 2. typu. Cytokiny jsou menší signální proteiny, produkované buňkami imunitního systému.<sup>38</sup> JAK lze dělit celkem do čtyř skupin: JAK1, JAK2, JAK3 a TYK2. Zatím co JAK1, JAK2 a TYK2 jsou exprimovány téměř ve všech lidských buňkách a hrají roli například při hematopoéze, růstu a správné funkci neuronů, exprese JAK3 je soustředěna zejména v leukocytech. Nyní jsou Státním ústavem pro kontrolu léčiv (SÚKL) schváleny dva léčebné přípravky (**Obrázek 25**) využívané v klinické praxi k terapii některých nádorových onemocnění, jako například myeloproliferačního syndromu (nádorové onemocnění krvetvorné tkáně v myeloidní části), které mají ve své struktuře zakomponovaný 7-deazapurinový kruh.<sup>39</sup>



**Obrázek 25:** Struktura tofacitinibu a ruxolitinibu.

Nicméně tofacitinib a ruxolitinib i přes skutečnost, že se jedná o používaná terapeutika, nevykazují vysokou selektivitu vůči jednotlivým skupinám JAK. Vývoj a preklinické testování z hlediska selektivity úspěšnějších látek popisuje Thorarensen a kol.<sup>37</sup> Ve snaze získat co nejselektivnější, ale zároveň účinný inhibitor JAK3 provedli syntézu celkem 20 molekul odvozených od 7-deazapurinu. Poměrně vysokou selektivitu ovšem vykazovala pouze sloučenina I (**Obrázek 26**), která inhibovala JAK3 v koncentraci  $IC_{50} = 33 \text{ nM}$ , zatímco JAK1, JAK2 a TYK2 inhibovala až v koncentracích vyšších, než  $IC_{50} = >10000 \text{ nM}$ . Tyto hodnoty jsou pro srovnání s inhibičními koncentracemi tofacitinibu a ruxolitinibu uvedeny v tabulce na **Obrázku 26**.

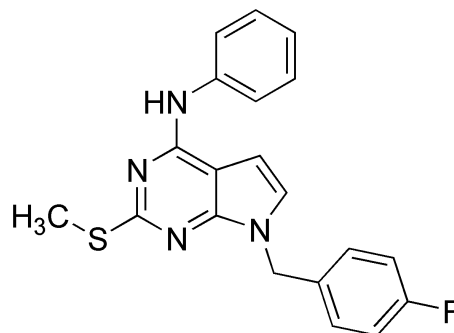
Sloučenina	$IC_{50} \text{ (nM)}$			
	JAK3	JAK1	JAK2	TYK2
<b>I</b>	33,0	>10000	>10000	>10000
<b>tofacitinib</b>	15,1	77,4	55,0	489,0
<b>ruxolitinib</b>	6,4	8,8	487,0	30,1



**Obrázek 26:** Struktura sloučeniny I, hodnoty  $IC_{50}$  vůči jednotlivým skupinám JAK pro sloučeniny I, tofacitinib a ruxolitinib.

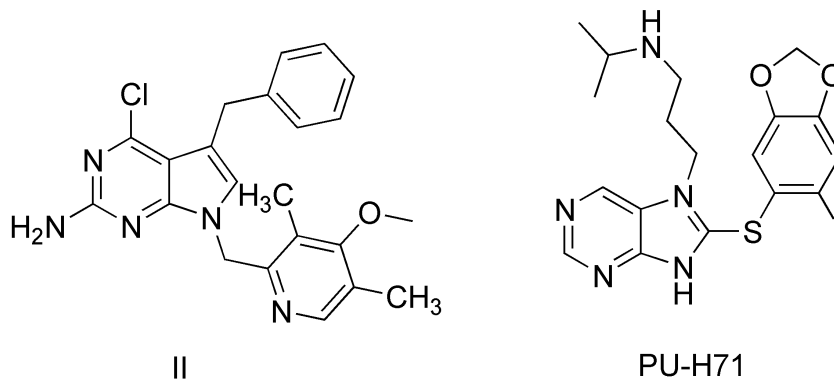
Musumeci a kol.<sup>32</sup> ve své studii popisují přípravu a inhibiční účinky nové série 2,4,7-trisubstituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinových analog. Cílem této publikace bylo syntetizovat skupinu molekul účinných vůči glioblastomu multiforme (GBM). GBM je jedním z nejčastějších a nej malignějších gliomů (nitrolebních nádorů), lokalizovaný zpravidla v mozkových hemisférách. Zvýšená exprese a hyperaktivita Src kináz (nereceptorní tyrosinkinázy) je zaznamenána právě v nádorových buněčných liniích U87 GM (buněčná linie lidského maligního gliomu). Jedná se tedy o možnou cestu k zajištění kontrolovatelnosti proliferace a angiogeneze těchto patologických buněk.<sup>32,40</sup> Testy *in vitro* prokázaly významnější biologickou aktivitu pouze u jedné z celkem sedmi finálních látek. Tato sloučenina inhibovala Src s hodnotou  $IC_{50} = 0,5 \mu\text{M}$  a buněčnou linii U87 GM pak při koncentraci  $IC_{50} = 7,1 \mu\text{M}$ . Struktura této sloučeniny je znázorněna na **Obrázku 27**.<sup>32</sup>





**Obrázek 27:** Struktura nového Src inhibitoru.

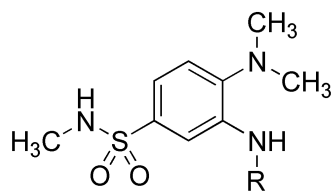
Protein Hsp90 (z angl. Heat shock protein 90) je exprimován v cytoplazmě normálních buněk tak, aby byla zajištěna homeostáza. Jedná se o adenosintrifosfát (ATP) dependentní chaperon, jenž hraje klíčovou roli při skládání a stabilizaci exprimovaných proteinů, které se podílí na růstu buněk a buněčné diferenciaci. Jeho vysoká exprese je pozorována ve většině nádorových buněčných linií, kde se zásadně podílí na proliferaci, maligní transformaci a progresi nádorových buněk. Mezi proteiny, jejichž expresi zásadně ovlivňuje patří onkoproteiny, mezi které náleží například receptorní tyrosin kinázy, regulátory buněčného cyklu, nebo růstové a transkripční faktory.<sup>41</sup> Lee a kol.<sup>30</sup> popisují přípravu a inhibiční účinky série sloučenin obsahujících tetrasubstituovaný 7-deazapurin. Jako nejúčinnější kompetitivní inhibitor, který má schopnost vázat se na místo původně určené pro ATP, byla vybrána sloučenina II (**Obrázek 28**), která byla testována na celkem 60 nádorových buněčných liniích pocházejících z 10 typů nádorových onemocnění. Jako referenční sloučenina byla zvolena látka odvozená od purinu s označením PU-H71 (**Obrázek 28**), která je účinná proti Hsp90 a nyní je v klinickém testování. Sloučenina II vykazovala antiproliferační aktivitu (více než 90% inhibice) při koncentraci 10  $\mu\text{M}$ , vůči šesti nádorovým buněčným liniím. V tabulce na **Obrázku 28** jsou uvedeny hodnoty  $\text{GI}_{50}$ , které označují koncentraci látky potřebné k inhibici 50 % buněčné populace. Při srovnání hodnot  $\text{GI}_{50}$  je patrné, že sloučenina II vykazovala přibližně o jeden řád nižší antiproliferační aktivitu než látka PU-H71.



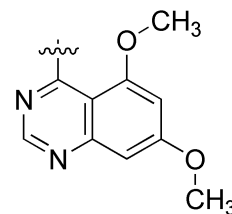
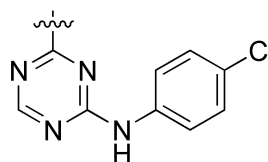
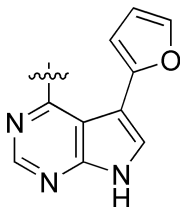
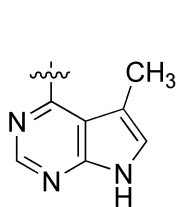
Typ rakoviny	Buněčná linie	Sloučenina II		PU-H71
		Růst (%)	GI <sub>50</sub> (μM)	GI <sub>50</sub> (μM)
Leukemie	HL-60(TB)	9,64	0,39	0,063
Rakovina plic	HOP-92	4,32	1,10	0,288
Rakovina tlustého střeva	HT29	5,27	0,30	0,038
Rakovina tlustého střeva	KM12	9,30	0,29	0,059
Melanom	LOX IMVI	0,99	0,32	0,079
Melanom	UACC-62	1,02	0,39	0,372

**Obrázek 28:** Struktura sloučeniny II, PU-H71 a hodnoty GI<sub>50</sub> vůči vybraným nádorovým buněčným liniím.

Jedním z nejnovějších přístupů při vývoji nových léčivých látek v posledních letech je prvotní teoretický screening, jehož výsledkem je predikce biologické aktivity vybraných buněčných cílů vycházející z výsledků metod molekulového modelování (*in silico*), a až poté jsou neaktivnější molekuly syntetizovány. Jako příklad tohoto postupu lze uvést práci Lawhorna a kol.<sup>42</sup>, kteří publikovali sérii nových TNNI3K inhibitorů odvozených od 7-deazapurinů, chinazolinů a 4,6-diaminopyrimidinů, které obsahují stejný 3-*N*-methylsulfonamidový motiv. TNNI3K jsou troponinové proteinkinázy, jejichž exprese je soustředěna pouze v kardiomyocytech, kde hrají zásadní roli při srdečních onemocněních, jako je například dilatační kardiomyopatie, nebo při akutním infarktu myokardu.<sup>43</sup> Z celkového počtu 63 sloučenin vykazovaly nejvýznamnější biologickou aktivitu *in silico* vůči TNNI3K čtyři sloučeniny s hodnotami IC<sub>50</sub> menšími než 10 nM, z toho dvě odvozené od 7-deazapurinu (**Obrázek 29**).



R:

**Obrázek 29:** Skupina nových inhibitorů TINN3K.

## **II. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

## 4 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ

Teploty tání ( $t_f$ ) uvedené v diplomové práci byly měřeny na Koflerově bloku a nejsou korigovány. Tenkovrstvá chromatografie (TLC) využívaná pro monitorování reakcí byla prováděna na deskách typu Alugram Sil G/UV<sub>254</sub> firmy Macherey-Nagel. Jako stacionární fáze pro sloupcovou chromatografii byl použit silikagel od firmy Macherey-Nagel. Kvalitativní analýza reakčních směsí a finálních látek byla provedena pomocí plynového chromatografu tandemově spojeného s kvadrupólovým hmotnostním detektorem Shimadzu GC-MS QP2010 s kolonou EQUITY 1 (30 m × 0,32 mm × 1,0 μm). Pro analýzy byl zvolen teplotní program: 100 °C/7 min; 30 °C/min s teplotou nástřiku 250 °C. Nosný plyn: He, iontový zdroj: 200 °C, 70 eV. Všechny GC-MS analýzy byly provedeny za lineární konstantní rychlosti 52 cm/s. Ve výpisech signálů z hmotnostních spekter jsou uvedeny hodnoty signálů s relativním zastoupením nejméně 5 %, vyjma molekulových iontů. Hodnoty intenzit vybraných fragmentů jsou uvedeny v závorce za hodnotou  $m/z$ . ESI-IT-MS analýzy byly provedeny na hmotnostním spektrometru s iontovou pastí amaZon X (Bruker Daltonics) vybaveném elektrosprejovým iontovým zdrojem. Veškerá měření byla provedena v pozitivním i negativním módu. Do iontového zdroje byly vzorky přiváděny kovovou kapilárou při konstantním průtoku 3 μl·min<sup>-1</sup>. Ostatní parametry měření byly: napětí na kapiláře ±4,2 kV; teplota sušícího plynu (220 °C); průtok sušícího plynu (6 dm<sup>3</sup>·min<sup>-1</sup>); tlak rozprašovacího plynu (55,16 kPa). Jako sušící a rozprašovací plyn byl použit dusík. Případné další parametry byly optimalizovány během jednotlivých experimentů. Tandemová hmotnostní spektra byla, po izolaci vybraného iontu, měřena pomocí kolizí indukované disociace (CID). Jako kolizní plyn bylo použito hélium. Infačervená spektra (IR) byla měřena na přístroji Spektrometr FTIR ALPHA – T, Bruker v podobě KBr tablet. Při výpisu spekter z IR byly využity následující zkratky charakterizující intenzitu absorpčních pásů: s (silná), m (střední), w (slabá), případně také šířku pásu: b (široký pás). Vodíková spektra z nukleární magnetické rezonance (<sup>1</sup>H NMR) byla měřena na přístroji BRUKER ASCEND 500 s pracovní frekvencí 500,11 MHz. Inertními standardy byly rozpouštědla <sup>1</sup>H: δ(reziduální CHCl<sub>3</sub>) = 7,27 ppm; δ(DMSO-*d*<sub>5</sub>) = 2,50 ppm. Pro účel interpretace vodíkových spekter byly použity následující zkratky: s (singlet), d (dublet), t (triplet), m (multiplet). U sloučenin **9**, **11** a **12** jsou majoritního signály označeny jako „MA“ a signály minoritní jako „MI“. Elementární analýzy (C, H, N) byly měřeny na přístroji Flash EA 1112 Automatic elementar analyzer

(Termo Fischer Scientific). Výchozí látka 4-chlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin, reakční činidla a rozpouštědla pro syntézy byly získány z komerčních zdrojů a použity bez dalších úprav. Výchozí látka pro 1-adamantyl(aminofenyl)ketony byla získána z laboratorních zásob a použita bez nutnosti dalších úprav či purifikace.

## 5 PŘÍPRAVA (1-ADAMANTYL)(AMINOFENYL)KETONŮ

### 5.1 Nitrace 1-adamantyl(fenyl)metanonu

Acetylnitrát byl připraven velmi opatrným přidáváním nitrační směsi, v podobě kyseliny dusičné (6,2 cm<sup>3</sup>) a kyseliny sírové (0,3 cm<sup>3</sup>), do 15 cm<sup>3</sup> acetanhydridu při teplotě -15 °C. Nitrace, vzhledem k tendenci acetanhydridu a kyseliny dusičné tvořit explozivní směs, byla provedena ve dvouplášťovém reaktoru o objemu 50 cm<sup>3</sup>, který díky propojení s externím chladícím zařízením zajišťoval přijatelné rozmezí teplot po celou dobu reakce. Přidávání směsi příslušných kyselin bylo provedeno tak, aby teplota v reaktoru nepřesáhla 10 °C. Poté byl do takto vzniklého acetylnitrátu přidáván 1-adamantyl(fenyl)keton (1500 mg; 6,2 mmol) rozpuštěný v acetanhydridu (9 cm<sup>3</sup>). Po přidání veškerého roztoku 1-adamantyl(fenyl)ketonu (15 minut) byla reakce monitorována pomocí TLC. Po ukončení reakce (1 hodina) byla reakční směs přemístěna do 100 cm<sup>3</sup> kádinky s ledovou tříští. Po rozpuštění ledové tříště byla vodná fáze extrahována 6 × 20 cm<sup>3</sup> diethyletheru a takto vzniklé organické podíly byly opakovaně promyty 1,16 M uhličitánem draselným. Po vysušení nad síranem sodným byl surový produkt získán odpařením rozpouštědla na RVO.

#### (1-Adamantyl)(2-nitrofenyl)methanon (2)

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 4/1, v/v) v podobě nažloutlého krystalického prášku ve výtěžku 1491 mg (84 %);  $t_t = 115\text{--}120$  °C.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  1,62–1,70 (m, 6H, CH<sub>2</sub>(Ad)); 1,85 (m, 6H, CH<sub>2</sub>(Ad)); 1,99 (s, 3H, CH(Ad)); 7,49 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, Ph); 7,74 (t,  $J = 7,5$  Hz, 1H, Ph); 7,89 (t,  $J = 7,5$  Hz, 1H, Ph); 8,26 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, Ph) ppm. IR (KBr): 3120(w), 2921(bs), 2853(s), 1697(s), 1572(w), 1524(s), 1450(m), 1344(s), 1273(w), 1228(m), 1125(w), 988(w), 858(m), 794(m), 759(m), 710(m), 638(m) cm<sup>-1</sup>. GC-EI-MS ( $t_R = 21,4$  min);  $m/z$ (%): 136(AdH, 11), 135(Ad, 100), 107(11,52), 93(21), 91(7), 81(6), 79(23), 77(9), 67(9), 41(7).

(C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>) vyp. složení: 71,56 % C; 6,71 % H; 4,91 % N

exp. složení: 71,28 % C; 7,11 % H; 5,08 % N

**(1-Adamantyl)(3-nitrofenyl)methanon (3)**

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 4/1, v/v) v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 1482 mg (84 %);  $t_r = 78\text{--}80\text{ }^\circ\text{C}$ .

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  1,68–1,74 (m, 6H,  $\text{CH}_2(\text{Ad})$ ); 1,94 (m, 6H,  $\text{CH}_2(\text{Ad})$ ); 2,04 (s, 3H,  $\text{CH}(\text{Ad})$ ); 7,76 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H, Ph); 8,02 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, Ph); 8,25 (s, 1H, Ph); 8,26 (m, 1H, Ph) ppm. IR (KBr): 3125(w), 2913(bs), 1666(s), 1611(m), 1527(s), 1452(m), 1347(s), 1230(m), 1084(w), 1000(m), 804(w), 711(s), 673(m)  $\text{cm}^{-1}$ . GC-EI-MS ( $t_r = 21,9$  min);  $m/z(\%)$ : 136(AdH, 11), 135(Ad, 100), 107(10), 93(18), 91(6), 79(20), 77(7), 67(8), 55(5), 41(7).

( $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_3$ ) vyp. složení: 71,56 % C; 6,71 % H; 4,91 % N

exp. složení: 71,54 % C; 6,47 % H; 4,88 % N

**(1-Adamantyl)(4-nitrofenyl)methanon (4)**

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 4/1, v/v) v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 1536 mg (86 %);  $t_r = 123\text{--}127\text{ }^\circ\text{C}$ .

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  1,66–1,73 (m, 6H,  $\text{CH}_2(\text{Ad})$ ); 1,90 (m, 6H,  $\text{CH}_2(\text{Ad})$ ); 2,03 (s, 3H,  $\text{CH}(\text{Ad})$ ); 7,49 (d,  $J = 9,0$  Hz, 2H, Ph); 8,27 (d,  $J = 9,0$  Hz, 2H, Ph) ppm. IR (KBr): 3109(w), 2906(bs), 1689(s), 1600(m), 1515(s), 1454(m), 1347(s), 1273(m), 1242(m), 1104(w), 990(m), 932(w), 856(s), 829(m), 713(m)  $\text{cm}^{-1}$ . GC-EI-MS ( $t_r = 22,8$  min);  $m/z(\%)$ : 136(AdH, 11), 135(Ad, 100), 120(6), 107(11), 93(20), 91(6), 81(5), 79(21), 77(8), 67(9), 55(5), 41(8).

( $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_3$ ) vyp. složení: 71,56 % C; 6,71 % H; 4,91 % N

exp. složení: 71,59 % C; 6,48 % H; 4,79 % N

**5.2 Redukce nitroketonů na aminoketony**

Příslušný 1-adamantyl(nitrofenyl)keton (500 mg; 1,752 mmol) byl pomocí horkovzdušné pistole rozpuštěn v 50  $\text{cm}^3$  methanolu. Do takto připraveného roztoku bylo opatrně přidáno 10  $\text{cm}^3$  kyseliny chlorovodíkové (1/1, v/v, vodný roztok) a následně



215 mg (3,50 mmol) práškového železa v jedné porci. Reakční směs byla refluxována pod zpětným chladičem a průběh reakce byl monitorován pomocí TLC. Do okamžiku úplného vymizení výchozí látky na TLC byla vždy po spotřebování předchozí dávky železa přidána dávka další. Po ukončení reakce byla směs zalkalizována 5% roztokem hydroxidu sodného a extrahována  $8 \times 15 \text{ cm}^3$  směsí diethylether/hexan (1/1, v/v). Spojené organické podíly byly promyty  $4 \times 10 \text{ cm}^3$  nasyceným roztokem chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Odpařením rozpouštědla na RVO byl získán surový produkt, který byl dále purifikován sloupcovou chromatografií.

#### **(1-Adamantyl)(3-aminofenyl)methanon (5)**

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v) v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 437 mg (97 %);  $t_f = 95\text{--}98 \text{ }^\circ\text{C}$ .

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,71–1,77 (m, 6H,  $\text{CH}_2(\text{Ad})$ ); 1,98 (m, 6H,  $\text{CH}_2(\text{Ad})$ ); 2,06 (s, 3H,  $\text{CH}(\text{Ad})$ ); 3,75 (bs, 2H,  $\text{NH}_2$ ); 7,03 (d,  $J = 8,0 \text{ Hz}$ , 1H, Ph); 7,01–7,13 (m, 2H, Ph); 7,25 (t,  $J = 8,0 \text{ Hz}$ , 1H, Ph) ppm. IR (KBr): 3469(s), 3381(s), 3208(w), 3098(w), 3047(w), 2955(m), 2899(s), 2850(s), 2653(w), 1662(s), 1623(s), 1593(s), 1493(m), 1446(s), 1446(m), 1321(s), 1295(m), 1218(s), 1178(m) 991(m)  $\text{cm}^{-1}$ . GC-EI-MS ( $t_R = 21,1 \text{ min}$ );  $m/z(\%)$ : 256(5), 255( $\text{M}^+$ , 25), 227( $\text{M}^+ - \text{CO}$ , 6), 136(AdH, 11), 135(Ad, 100), 120( $\text{M}^+ - \text{Ad}$ , 19), 107(12), 93(22), 92(17), 91(7), 81(5), 79(22), 77(8), 67(8), 65(13), 55(5), 41(8).

( $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}$ ) vyp. složení: 79,96 % C; 8,29 % H; 5,49 % N

exp. složení: 79,66 % C; 8,30 % H; 5,50 % N

#### **(1-Adamantyl)(4-aminofenyl)methanon (6)**

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v) v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 424 mg (94 %);  $t_f = 77\text{--}83 \text{ }^\circ\text{C}$ .

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,72–1,79 (m, 6H,  $\text{CH}_2(\text{Ad})$ ); 2,01 (m, 6H,  $\text{CH}_2(\text{Ad})$ ); 2,08 (s, 3H,  $\text{CH}(\text{Ad})$ ); 7,14 (d,  $J = 8,5 \text{ Hz}$ , 2H, Ph); 7,64 (d,  $J = 8,5 \text{ Hz}$ , 2H, Ph) ppm. IR (KBr): 3469(m), 3394(m), 3359(bm), 3215(w), 2901(bs), 2850(s), 2656(w), 1646(s), 1628(s), 1614(s), 1592(s), 1512(w), 1452(m), 1322(m), 1271(s), 1242(m), 1172(s), 1112(m),

837(m), 610(m)  $\text{cm}^{-1}$ . GC-EI-MS ( $t_R = 22,9$  min);  $m/z(\%)$ : 255( $M^+$ , 8), 135(Ad, 12), 121(8), 120( $M^+$ -Ad, 100), 93(8), 92(10), 79(9), 65(8).

( $C_{17}H_{21}NO$ ) vyp. složení: 79,96 % C; 8,29 % H; 5,49 % N

exp. složení: 79,72 % C; 8,26 % H; 5,51 % N

## 6 PŘÍPRAVA DERIVÁTŮ PYRROLO[2,3-*D*]PYRIMIDINU

### 6.1 Nukleofilní aromatická substituce 4-chlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu

Výchozí 4-chlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (100 mg; 0,65 mmol) byl rozpuštěn v 5 cm<sup>3</sup> propan-2-olu ve 25 cm<sup>3</sup> baňce. Následně byl do vzniklého roztoku přidán anilin ve dvoumolárním přebytku a reakční směs byla refluxována při 90 °C pod zpětným chladičem. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC. Po 20 hodinách a ochlazení reakce na laboratorní teplotu byla pozorována tvorba bezbarvé sraženiny. Sraženina byla odfiltrována za sníženého tlaku a získané pevné podíly promyty propan-2-olem. Filtrát i pevné podíly byly následně purifikovány pomocí sloupcové chromatografie.

#### *N*-Fenyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-amin (**8**)

Čistý produkt byl získán purifikací pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v) v podobě světle šedého krystalického prášku ve výtěžku 105 mg (80 %);  $t_f = 240\text{--}243$  °C.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  6,78 (m, 1H, C<sup>5</sup>H); 7,02 (t,  $J = 7,0$  Hz, 1H, Ph); 7,23 (m, 1H, C<sup>6</sup>H); 7,34 (t,  $J = 8,5$  Hz, 2H, Ph); 7,88 (d,  $J = 7,5$  Hz, 2H, Ph); 8,27 (s, 1H, NC<sup>2</sup>HN); 9,30 (s, 1H, C<sup>4</sup>NHPh); 11,74 (s, 1H, N<sup>7</sup>H) ppm. IR (KBr): 1614(s), 1545(bs), 1495(s), 1452(s), 1427(s), 1350(s), 1308(s), 1247(s), 1149(m), 1101(m), 1074(m), 1059(m), 1025(w), 901(s), 731(bs), 712(s), 675(m), 605(m) cm<sup>-1</sup>. GC-EI-MS ( $t_R = 18,9$  min);  $m/z$ (%): 211(6), 210(54), 209(100), 155(5), 118(6), 105(14), 104(6), 92(16), 91(7), 78(8), 77(30), 65(10), 64(13), 52(8), 50(16). ESI-MS (pos.)  $m/z$  (%): 233,0 [M+Na]<sup>+</sup> (7); 211,1 [M+H]<sup>+</sup> (100).

(C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>)      vyp. složení: 68,56 % C; 4,79 % H; 26,65 % N

exp. složení: 68,36 % C; 5,18 % H; 26,42 % N

### 6.2 Alkylace *N*-fenyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-aminu

Sloučenina **8** (100 mg; 0,48 mmol) byla navážena do 25 cm<sup>3</sup> baňky a rozpuštěna v 5 cm<sup>3</sup> dimethylsulfoxidu. Do tohoto roztoku byl přidán 2-jodpropan (434 mg; 2,55 mmol) a v jedné porci uhličitan draselný (197 mg; 1,42 mmol). Reakční směs byla

ponechána při laboratorní teplotě a průběh reakce byl monitorován pomocí TLC (chloroform/methanol, 8/1, v/v). Reakce byla ukončena po 120 hodinách a reakční směs byla naředěna destilovanou vodou a následně extrahována  $6 \times 15 \text{ cm}^3$  ethyl-acetátu. Spojené organické podíly byly promyty  $2 \times 15 \text{ cm}^3$  nasyceného roztoku chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Po odpaření rozpouštědla na RVO byl surový produkt purifikován sloupcovou chromatografií.

### ***N*-Fenyl-7-isopropyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-amin (9)**

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, chloroform/methanol, 8/1, v/v) ve výtěžku 77 mg (65 %) v podobě nažloutlého krystalického prášku;  $t_f = 131\text{--}133 \text{ }^\circ\text{C}$ .

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,50  $^{\text{MA}}$ (d,  $J = 6,5 \text{ Hz}$ , 6H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 1,55  $^{\text{MI}}$ (d,  $J = 6,7 \text{ Hz}$ , 0,8H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 5,06–5,12 (m, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 5,94  $^{\text{MA}}$ (d,  $J = 3,5 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{C}^5\text{H}$ ); 6,48  $^{\text{MI}}$ (d,  $J = 3,5 \text{ Hz}$ , 0,1H,  $\text{C}^5\text{H}$ ); 7,02 (m, 1H,  $\text{C}^6\text{H}$ ); 7,24 (t,  $J = 7,5 \text{ Hz}$ , 1H, Ph); 7,41 (m, 3H, Ph+ $\text{C}^4\text{NHPH}$ ); 7,54 (t,  $J = 7,5 \text{ Hz}$ , 2H, Ph); 8,38  $^{\text{MA}}$ (s, 1H,  $\text{NC}^2\text{HN}$ ); 8,75  $^{\text{MI}}$ (s, 1H,  $\text{NC}^2\text{HN}$ ) ppm. IR (KBr): 3475(bw), 3272(m), 3191(m), 3129(m), 3029(m), 2973(m), 1888(w), 1629(s), 1561(s), 1530(m), 1498(s), 1410(s), 1306(s), 1236(s)  $\text{cm}^{-1}$ . GC-EI-MS ( $t_R = 19,4 \text{ min}$ );  $m/z$ (%): 252( $\text{M}^+$ , 100), 251(82), 237( $\text{M}^+ - \text{CH}_3$ , 14), 211(7), 210(51), 209( $\text{M}^+ - \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ , 91), 208(7), 183(12), 182(6), 155(10), 128(5), 118(8), 106(7), 105(10), 104(7), 92(14), 78(8), 77(39), 65(8), 64(8), 53(5), 52(6), 51(13), 43(7), 41(12). ESI-MS (pos.)  $m/z$  (%): 527,2 [ $2\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  (6); 275,1 [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  (9); 253,1 [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$  (100). ESI-MS (neg.)  $m/z$  (%): 250,9 [ $\text{M} - \text{H}$ ] $^-$  (100).

( $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_4$ ) vyp. složení: 71,40 % C; 6,39 % H; 22,21 % N

exp. složení: 71,27 % C; 6,82 % H; 21,91 % N

## **6.3 Alkylace 4-Chlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu**

Výchozí 4-chlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (1,0 g; 6,51 mmol) byl navážen do  $100 \text{ cm}^3$  baňky a rozpuštěn v  $50 \text{ cm}^3$  dimethylsulfoxidu. Do tohoto roztoku byl přidán 2-jodpropan (2,77 g; 16,27 mmol) a v jedné porci uhličitan draselný (1,35 g; 9,76 mmol). Reakční směs byla ponechána při laboratorní teplotě a průběh reakce byl monitorován pomocí TLC (chloroform/methanol, 8/1, v/v). Po ukončení reakce byla reakční směs

naředěna destilovanou vodou a následně extrahována  $6 \times 20 \text{ cm}^3$  ethyl-acetátu. Spojené organické podíly byly promyty  $2 \times 20 \text{ cm}^3$  nasyceného roztoku chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Po odpaření rozpouštědla na RVO byl surový produkt purifikován sloupcovou chromatografií.

#### 4-Chlor-7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (10)

Čistý produkt byl získán po čišťení sloupcovou chromatografií (silikagel, chloroform/methanol, 8/1, v/v) v podobě nažloutlého krystalického prášku ve výtěžku 1,08 g (85 %);  $t_f = 51\text{--}53 \text{ }^\circ\text{C}$ .

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  1,56 (d,  $J = 7,0 \text{ Hz}$ , 6H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 5,12–5,19 (sep, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 6,67 (d,  $J = 3,5 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{C}^5\text{H}$ ); 7,40 (d,  $J = 3,5 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{C}^6\text{H}$ ); 7,67 (s, 1H,  $\text{NC}^2\text{HN}$ ) ppm. IR (KBr): 3109(w), 2982(w), 1832(m), 1772(m), 1588(s), 1543(s), 1505(m), 1455(m), 1417(m), 1354(s), 1276(m), 1231(m), 926(m), 721(s)  $\text{cm}^{-1}$ . GC-EI-MS ( $t_R = 12,5 \text{ min}$ );  $m/z(\%)$ : 197( $^{37}\text{Cl}$ ) $\text{M}^+$ , 13), 196(5), 195( $^{35}\text{Cl}$ ) $\text{M}^+$ , 39), 182( $^{37}\text{Cl}$ ) $\text{M}^+$ - $\text{CH}_3$ , 8), 180( $^{35}\text{Cl}$ ) $\text{M}^+$ - $\text{CH}_3$ , 25), 154( $^{37}\text{Cl}$ ) $\text{M}^+$ - $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ , 33), 153(9), 152( $^{35}\text{Cl}$ ) $\text{M}^+$ - $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ , 100), 119(7), 118(73), 117(7), 91(8), 76(5), 73(5), 64(13), 63(6), 43(11), 42(6), 41(24).

( $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{ClN}_4$ ) vyp. složení: 55,25 % C; 5,15 % H; 21,48 % N

exp. složení: 55,41 % C; 5,59 % H; 20,96 % N

### 6.4 Nukleofilní aromatická substituce 4-chlor-7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidinu

K 4-chlor-7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidinu (10) bylo přidáno vypočítané množství propan-2-olu, přičemž vzniklá suspenze byla rozpuštěna pomocí horkovzdušné pistole. Následně byl do vzniklého roztoku přidán příslušný amin ve dvoumolárním přebytku. Reakční směs byla refluxována při  $90 \text{ }^\circ\text{C}$  a průběh reakce byl monitorován pomocí TLC (petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v). Po ukončení reakce byla reakční směs naředěna destilovanou vodou a extrahována  $6 \times 15 \text{ cm}^3$  ethyl-acetátu. Spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Po odpaření rozpouštědla na RVO byl surový produkt přečištěn sloupcovou chromatografií.

***N*-Fenyl-7-isopropyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-amin (9)**

Titulní látka byla připravena dle obecného postupu z výchozích navážek: 4-chlor-7-isopropyl-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (**10**) (100 mg; 0,51 mmol), anilin (95 mg; 1,02 mmol), propan-2-ol (5 cm<sup>3</sup>). Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v) ve výtěžku 120 mg (93 %) v podobě nažloutlého krystalického prášku;  $t_r = 131\text{--}133\text{ }^\circ\text{C}$ .

Spektrální charakteristiky v souladu se sloučeninou **9** (str. 44).

**(1-Adamantyl){3-[(7-isopropyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl)amino]fenyl}methanon (11)**

Titulní látka byla připravena dle obecného postupu z výchozích navážek: 4-chlor-7-isopropyl-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (**10**) (150 mg; 0,77 mmol), aminoketon **5** (393 mg; 1,54 mmol), propan-2-ol (10 cm<sup>3</sup>). Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v) ve výtěžku 278 mg (87 %) v podobě bezbarvého krystalického prášku;  $t_r = 161\text{--}165\text{ }^\circ\text{C}$ .

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1,50 <sup>MA</sup>(d,  $J = 6,5$  Hz, 6H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 1,55 <sup>MI</sup>(d,  $J = 6,5$  Hz, 1,2 H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 1,72–1,76 <sup>MA</sup>(m, 6H, CH<sub>2</sub>(Ad)) + <sup>MI</sup>(m, 1,2H, CH<sub>2</sub>(Ad)); 1,96 <sup>MI</sup>(m, 1,2H, CH<sub>2</sub>(Ad)); 1,99 <sup>MA</sup>(m, 6H, CH<sub>2</sub>(Ad)); 2,08–2,12 <sup>MA</sup>(s, 3H, CH(Ad)) + <sup>MI</sup>(s, 0,6H, CH(Ad)); 5,06–5,11 (m, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 5,72 <sup>MA</sup>(d,  $J = 3,5$  Hz 1H, C<sup>5</sup>H); 6,48 <sup>MI</sup>(d,  $J = 3,5$  Hz, 0,2H, C<sup>5</sup>H); 7,04 (d,  $J = 3,5$  Hz, 1H, C<sup>6</sup>H); 7,25 <sup>MI</sup>(d,  $J = 3,5$  Hz, 0,2H, C<sup>6</sup>H); 7,48–7,52 (m, 3H, Ph); 7,55 (s, 1H, Ph); 8,31 <sup>MA</sup>(s, 1H, NC<sup>2</sup>HN); 8,74 <sup>MI</sup>(s, 0,2H, NC<sup>2</sup>HN) ppm. IR (KBr): 3257(w), 3184(w), 3112(w), 2904(s), 2848(m), 1664(s), 1619(s), 1598(m), 1466(m), 1356(m), 1303(m), 1237(m), 1009(m) cm<sup>-1</sup>. ESI-MS (pos.)  $m/z$ (%): 851,4 [2·M+Na]<sup>+</sup> (9); 829,4 [2·M+H]<sup>+</sup> (7); 641,3 [3·M+H+K]<sup>2+</sup> (5); 437,2 [M+Na]<sup>+</sup> (17); 343,2 [2·M+H+K]<sup>2+</sup> (9); 415,2 [M+H]<sup>+</sup> (100). ESI-MS (neg.)  $m/z$  (%): 449,0 [M+Cl]<sup>-</sup> (9); 413,1 [M-H]<sup>-</sup> (100).

(C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O) vyp. složení: 75,33 % C; 7,29 % H; 13,52 % N

exp. složení: 75,05 % C; 7,66 % H; 13,21 % N

**(1-Adamantyl){4-[(7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)amino]fenyl}methanon (12)**

Titulní látka byla připravena dle obecného postupu z výchozích navážek: 4-chlor-7-isopropyl-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (**10**) (150 mg; 0,77 mmol), aminoketon **6** (393 mg; 1,54 mmol), propan-2-ol (10 cm<sup>3</sup>). Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v) ve výtěžku 249 mg (78 %) v podobě bezbarvého krystalického prášku;  $t_f = 237\text{--}242$  °C.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1,52 <sup>MA</sup>(d,  $J = 6,5$  Hz, 6H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 1,56 <sup>MI</sup>(d,  $J = 6,5$  Hz, 1,2H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 1,75–1,82 <sup>MA</sup>(m, 6H, CH<sub>2</sub>(Ad)) + <sup>MI</sup>(m, 1,2H, CH<sub>2</sub>(Ad)); 2,00 <sup>MI</sup>(m, 1,2H, CH<sub>2</sub>(Ad)); 2,05 <sup>MA</sup>(m, 6H, CH<sub>2</sub>(Ad)); 2,08–2,11 <sup>MA</sup>(s, 3H, CH(Ad)) + <sup>MI</sup>(s, 0,6H, CH(Ad)); 5,08–5,13 (m, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 5,97 <sup>MA</sup>(d,  $J = 3,5$  Hz, 1H, C<sup>5</sup>H); 6,48 <sup>MI</sup>(d,  $J = 3,5$  Hz, 0,2H, C<sup>5</sup>H); 7,01 <sup>MA</sup>(d,  $J = 4,0$  Hz, 1H, C<sup>6</sup>H); 7,39 <sup>MI</sup>(d,  $J = 3,5$  Hz, 0,2H, C<sup>6</sup>H); 7,45 <sup>MI</sup>(d,  $J = 8,5$  Hz, 0,4H, Ph); 7,56 <sup>MA</sup>(d,  $J = 8,5$  Hz, 2H, Ph); 7,61 <sup>MI</sup>(d,  $J = 6,5$  Hz, 0,4H, Ph); 7,71 <sup>MA</sup>(d,  $J = 8,5$  Hz, 2H, Ph); 8,36 <sup>MA</sup>(s, 1H, NC<sup>2</sup>HN); 8,76 <sup>MI</sup>(s, 0,2H, NC<sup>2</sup>HN) ppm. IR (KBr): 3316(s), 3203(w), 2977(w), 2905(s), 2850(m), 1666(s), 1604(s), 1555(s), 1519(m), 1461(s), 1425(m), 1359(m), 1307(m), 1241(s) cm<sup>-1</sup>. ESI-MS (pos.)  $m/z$  (%): 437,2 [M+Na]<sup>+</sup> (10); 415,2 [M+H]<sup>+</sup> (100). ESI-MS (neg.)  $m/z$  (%): 449,1 [M+Cl]<sup>-</sup> (7); 413,1 [M+H]<sup>-</sup> (100).

(C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O) vvp. složení: 75,33 % C; 7,29 % H; 13,52 % N

exp. složení: 75,48 % C; 7,75 % H; 13,40 % N

## 6.5 Redukce sloučenin 11 a 12 na odpovídající alkoholy

Příslušný keton (100 mg; 0,24 mmol) byl navážen do 50 cm<sup>3</sup> baňky a rozpuštěn pomocí horkovzdušné pistole při 100°C v ethanolu (20 cm<sup>3</sup>). Takto vzniklý roztok byl ochlazen pomocí směsi ledové tříště a vody na 0 °C a následně byl v jedné porci přidán tetrahydridoboritan sodný (11 mg; 0,29 mmol), což mělo za následek vznik bílé sraženiny. Poté byla lázeň s ledem odstavena a reakční směs byla ponechána za intenzivního míchání při laboratorní teplotě. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC (petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v). Po ukončení reakce byla do suspenze po kapkách dávkována 1M kyselina chlorovodíková, přičemž při pH~7 došlo k rozpuštění sraženiny a při dalším okyselení k jejímu opětovnému vzniku. Dále byla směs naředěna destilovanou vodou a extrahována

$7 \times 10 \text{ cm}^3$  diethyletheru. Spojené organické podíly byly promyty  $2 \times 20 \text{ cm}^3$  nasyceným roztokem chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Po odpaření rozpouštědla na RVO byl surový produkt přečištěn pomocí sloupcové chromatografie.

**(1-Adamantyl){3-[(7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)amino]fenyl}methanol (13)**

Titulní látka byla získána čištění pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, chloroform/methanol, 8/1, v/v) ve výtěžku 76 mg (76 %) v podobě bezbarvého krystalického prášku;  $t_t = 254\text{--}259 \text{ }^\circ\text{C}$ .

$^1\text{H}$  NMR: výsledky nebyly v době finalizace rukopisu k dispozici. IR (KBr): 3265(bw), 2975(m), 2903(s), 2846(m), 1616(s), 1585(m), 1559(s), 1467(s), 1412(m), 1360(m), 1306(m), 1238(m)  $\text{cm}^{-1}$ . ESI-MS (pos.)  $m/z$  (%): 439,3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (7); 417,3  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (100). ESI-MS (neg.)  $m/z$  (%): 415,1  $[\text{M}-\text{H}]^-$  (100).

( $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}$ ) vyp. složení: 74,97 % C; 7,74 % H; 13,45 % N

exp. složení: 74,76 % C; 7,61 % H; 13,79 % N

**(1-Adamantyl){4-[(7-isopropyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)amino]fenyl}methanol (14)**

Titulní látka byla získána čištění pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, chloroform/methanol, 8/1, v/v) ve výtěžku 50 mg (50 %) v podobě bezbarvého krystalického prášku;  $t_t = 208\text{--}211 \text{ }^\circ\text{C}$ .

$^1\text{H}$  NMR: výsledky nebyly v době finalizace rukopisu k dispozici. IR (KBr): 3373–3275(bm), 2975(m), 2903(s), 2846(s), 1617(s), 1581(m), 1558(m), 1510(m), 1411(m), 1239(m)  $\text{cm}^{-1}$ . ESI-MS (pos.)  $m/z$  (%): 417,3  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (100). ESI-MS (neg.)  $m/z$  (%): 415,1  $[\text{M}-\text{H}]^-$  (100).

( $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}$ ) vyp. složení: 74,97 % C; 7,74 % H; 13,45 % N

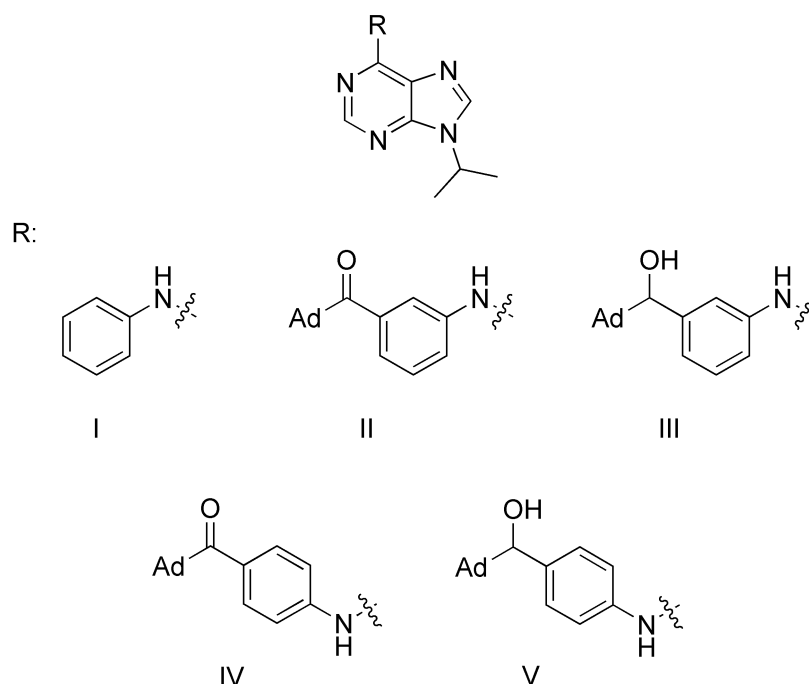
exp. složení: 74,62 % C; 8,00 % H; 13,64 % N



### **III. VÝSLEDKY A DISKUSE**

## 7 PRAKTICKÁ ČÁST V KONTEXTU S PŘEDEŠLÝM VÝZKUMEM

Hlavní úlohou této kapitoly je nastínit souvislosti vzniku předložené práce a částečně uvést její význam. Tato diplomová práce plynule navazuje na diplomovou práci s názvem „Příprava 6,9-disubstituovaných purinů s adamantanovým skeletem“, která byla úspěšně obhájena roku 2013 Ing. Davidem Gergelou.<sup>44</sup> Cílem této práce bylo syntetickými postupy připravit skupinu do té doby nepopsané série 6,9-disubstituovaných purinů a provést jejich úplnou strukturní charakterizaci pomocí instrumentálních metod. Ve výsledku bylo předloženo celkem pět sloučenin obsahujících 6,9-disubstituovaný purinový kruh (**Obrázek 30**). Výsledky této práce vedly k myšlence syntetizovat sérii strukturně podobných látek, odvozených od 7-deazapurinu (pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu) za účelem prostudovat vliv absence atomu dusíku v poloze C7 purinového kruhu na zavádění stejných substituentů do této struktury. Rovněž by při úspěšné přípravě těchto sloučenin bylo posléze možné studovat vliv přítomnosti/absence atomu dusíku na biologickou aktivitu předmětných sloučenin.



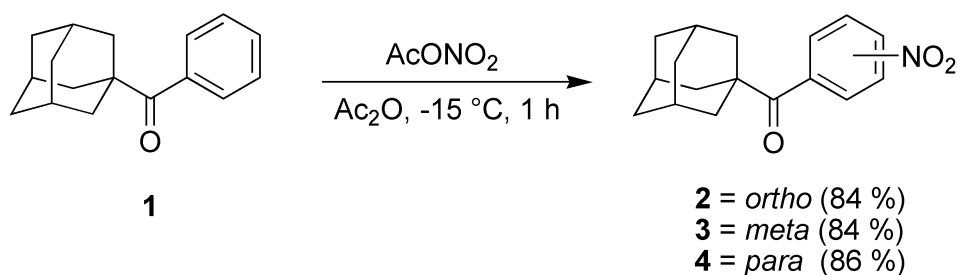
**Obrázek 30:** Série dříve připravených 6,9-disubstituovaných purinů.

## 8 SYNTÉZA AROMATICKÝCH AMINŮ S ADAMANTANOVÝM MOTIVEM

V následující části práce bude stručně diskutována syntéza aromatických aminů obsahujících adamantanový skelet, které byly připraveny po sobě jdoucí nitrací (1-adamantyl)(fenyl)ketonu a následnou redukcí nitroskupiny na primární aminoskupinu. Takto získané (1-adamantyl)(aminofenyl)ketony byly v další části práce, pomocí nukleofilní aromatické substituce, zavedeny do polohy 4 pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového skeletu.

### 8.1 Nitrace (1-adamantyl)(fenyl)ketonu

Prvním krokem vedoucím k požadovaným aminoketonům **5** a **6** byla elektrofilní aromatická nitrace (1-adamantyl)(fenyl)ketonu (**Obrázek 31**), který byl získán z laboratorních zásob. Nitrace byla provedena pomocí kyseliny dusičné v acetanhydridu při teplotě  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$  ve dvouplášťovém externě chlazeném reaktoru, přičemž výchozí acetylnitrát byl připraven smícháním kyseliny dusičné s acetanhydridem a katalytickým množstvím kyseliny sírové. Během reakce byla pomocí TLC (petrolether/ethyl-acetát, 4/1, v/v) zaznamenána tvorba všech regioizomerů (*ortho/meta/para*), které byly vzájemně odděleny a ze surové směsi izolovány nesčítaným množstvím sloupcových chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 4/1, v/v). Požadované nitroketony (*meta* a *para*) byly po purifikaci získány v uspokojivých výtěžcích 84 % (sloučenina **3**) a 86 % (sloučenina **4**). *Ortho* derivát (sloučenina **2**) byl získán ve výtěžku 84 %, nicméně nebyl, vzhledem ke svému předpokládanému prostorovému uspořádání, použit pro další syntézu, tedy k redukcí nitroskupiny na aminoskupinu a následnou nukleofilní aromatickou substituci atomu chloru na C4 pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového kruhu tímto aminem.

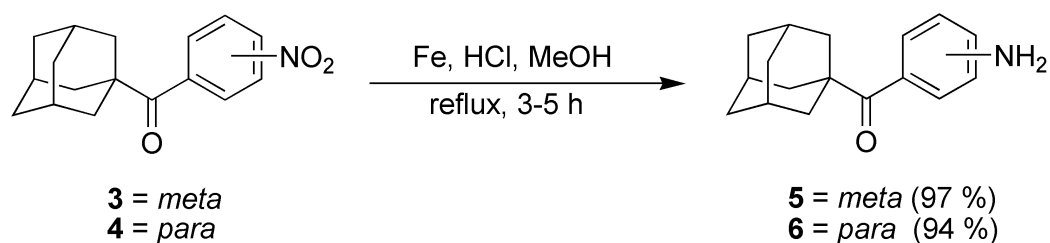


**Obrázek 31:** Příprava (1-adamantyl)(nitrofenyl)ketonů.

Struktura a čistota sloučenin **2–4** byla potvrzena pomocí běžných spektrálních metod jako je IR, GC-MS a NMR. Přítomnost nitroskupiny ve sloučeninách **2–4** a z toho plynoucí informace o úspěšně provedené syntéze, byla získána již pomocí infračervené spektrometrie. Ve spektrech předmětných sloučenin byla pozorována dvojice silných pásů s rozsahem vlnočtů typických pro tuto funkční skupinu, a sice  $1524$  a  $1344\text{ cm}^{-1}$  (**2**),  $1527$  a  $1347\text{ cm}^{-1}$  (**3**), resp.  $1515$  a  $1347\text{ cm}^{-1}$  (**4**). Struktura, stejně jako čistota sloučenin **2–4** byla rovněž potvrzena pomocí plynové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí. Po purifikaci surového produktu pomocí sloupcové chromatografie a izolaci jednotlivých regioizomerů byly tyto látky analyzovány právě pomocí GC-MS. Za podmínek použitých při samotné analýze byly retenční časy jednotlivých izomerů  $21,45$  minuty (**2**),  $21,98$  minuty (**3**) a  $22,87$  minuty (**4**), přičemž v žádném ze získaných chromatogramů nebyla pozorována přítomnost jiného, než izolovaného a tedy očekávaného izomeru. V  $^1\text{H}$  NMR spektrech sloučenin **2–4** byly pozorovány dva typy signálů pocházející buďto z adamantanového skeletu ( $1,62\text{--}2,04$  ppm), nebo z aromatického kruhu ( $7,49\text{--}8,26$  ppm).

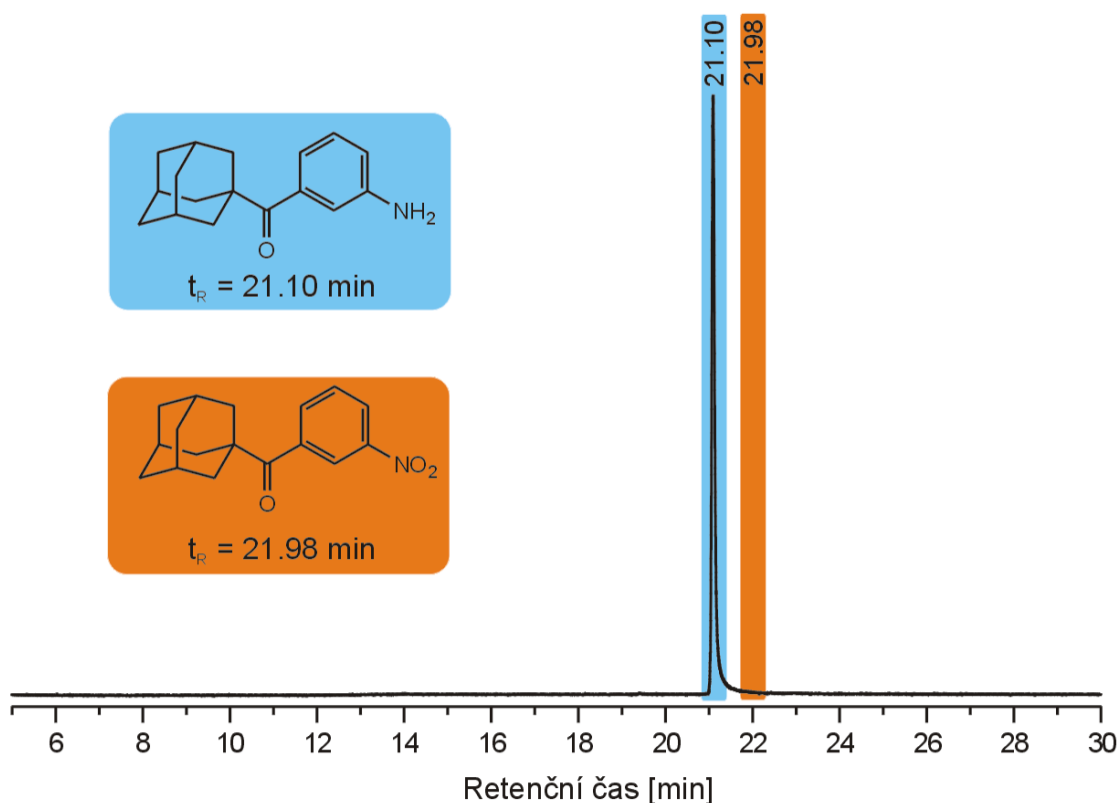
## 8.2 Příprava (1-adamantyl)(aminofenyl)ketonů

Pomocí selektivní redukce v předchozím kroku získaných nitroketonů **3** a **4**, byly získány požadované aminoderiváty **5** (*meta*) a **6** (*para*), jak je naznačeno na **Obrázku 32**. Redukce nitroskupiny na aminoskupinu byla zprostředkována pomocí vodíku generovaného *in situ* reakcí pentakarbonylového železa s vodným roztokem kyseliny chlorovodíkové (1/1, v/v) v methanolu. Vzhledem k přítomnosti výchozí látky v surovém produktu detekované pomocí GC-MS (z primárně provedených TLC analýz nebyla přítomnost výchozí látky patrná), bylo nezbytně nutné provést několikanásobnou purifikaci pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v). Výsledné sloučeniny byly získány ve výtěžcích 97 % (sloučenina **5**) a 94 % (sloučenina **6**).



**Obrázek 32:** Příprava (1-adamantyl)(aminofenyl)ketonů.

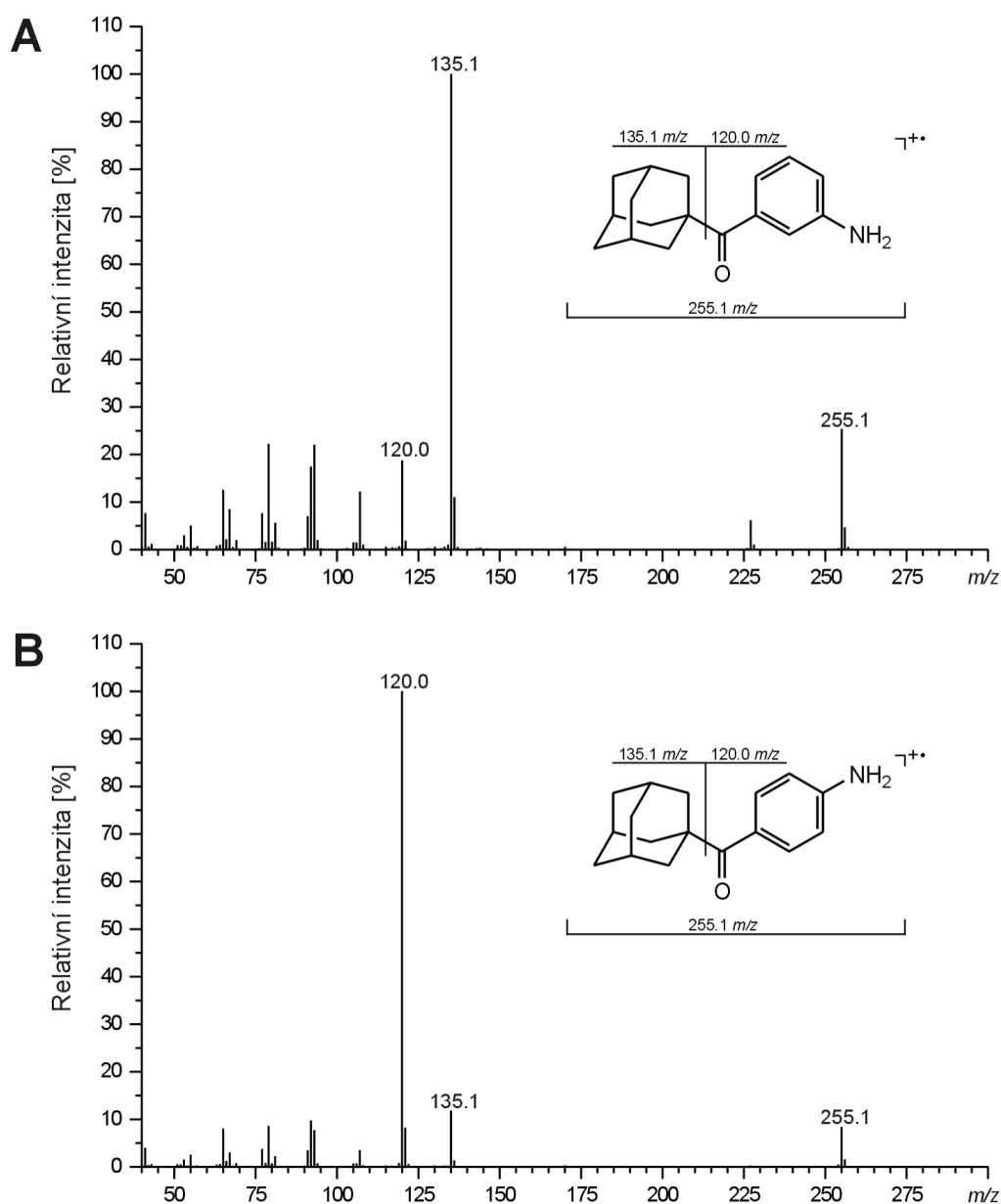
Pomocí běžných metod strukturní analýzy (IR, MS, NMR) byla prokázána přítomnost aminoskupiny ve výsledných produktech poukazující na zdárně provedenou redukci. První indicii poskytly již výsledky IR analýz, kdy ve spektrech nebyly pozorovány pásy typické pro nitroskupinu, naopak v oblasti  $3000\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$  se v případě obou připravených sloučenin vyskytovaly zdvojené pásy odpovídající primární aminoskupině. Pomocí GC-MS byla potvrzena jak čistota, tak také struktura sloučenin **5** a **6**. Chromatogram aminoketonu **5** je pro ilustraci uveden na Obrázku **33**, z něhož jednoznačně vyplývá, že se v něm nachází jediný pík s retenčním časem 21,10 minuty, lišícím se od retenčního času píku původního nitroketonu **3** o 0,88 minut. Vzhledem k absenci tohoto píku v chromatogramu, lze usuzovat na čistotu sloučeniny **5**. Stejného výsledku bylo dosaženo také v případě aminoketonu **6**.



**Obrázek 33:** Chromatogram sloučeniny **5** získaný metodou GC-MS.

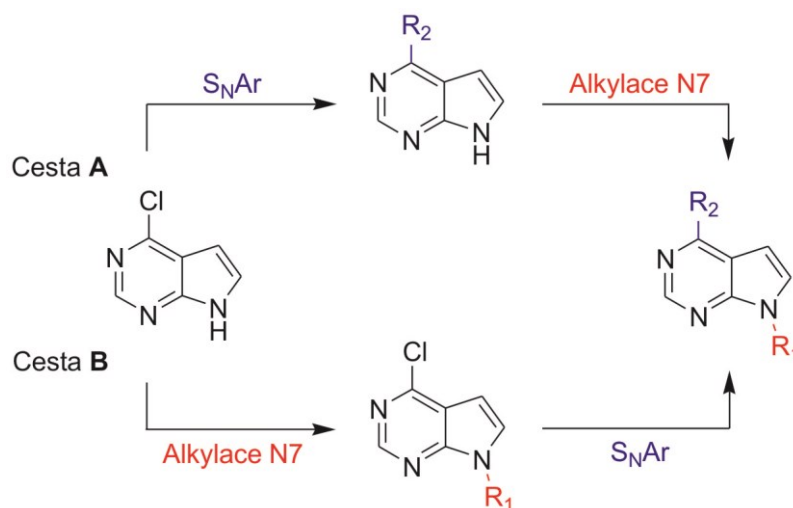
Jak je uvedeno výše, pomocí metody GC-MS nebyly získány informace poukazující pouze na čistotu, ale rovněž na strukturu připravených sloučenin, a to prostřednictvím hmotnostních spekter. V EI-MS spektrech obou sloučenin (**Obrázek 34**) se nacházel molekulový ion (v podobě kation radikálu) o  $m/z$  255. Fragmentace, k níž dochází při

použití této techniky již v průběhu ionizace, poskytovala v případě obou látek ionty o  $m/z$  135 ( $\text{Ad}^+$ ) a 120 ( $\text{M-Ad}^+$ ). Zatímco ve spektru sloučeniny **5** představoval ion o  $m/z$  135 základní (a tedy nejstabilnější) pík (**Obrázek 34A**), v případě *para* derivátu **6** byl základní pík reprezentován iontem o  $m/z$  120 (**Obrázek 34B**). Z uvedeného vyplývá, že fragmentace obou sloučenin je značně ovlivňována polohou primární aminoskupiny na aromatickém kruhu. V neposlední řadě byly v EI-MS spektrech sloučenin **5** a **6** pozorovány ionty vznikající skeletální fragmentací adamantanu (107, 93, 79 a 65  $m/z$ ).



## 9 SYNTÉZA SKUPINY NOVÝCH 4,7-DISUBSTITUOVANÝCH PYRROLO[2,3-*D*]PYRIMIDINŮ

Tato kapitola bude věnována detailnímu popisu syntéz, pomocí nichž byla připravena série 4,7-disubstituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů s doposud nepopsanou strukturou. Příprava uvažovaných sloučenin se mohla ubírat dvěma možnými syntetickými cestami, které jsou pro ilustraci znázorněny na **Obrázku 35**. Před samotným navázáním aromatických aminů obsahujících adamantanový skelet bylo, vzhledem k poměrně malému množství těchto stále ještě unikátních sloučenin, nutné provést sérii optimalizačních reakcí. Optimalizována byla jak alkylace, tedy zavedení propan-2-ylu do polohy N7 pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového kruhu, tak nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze C4, a to anilinem, který byl použit jako modelový substituent.

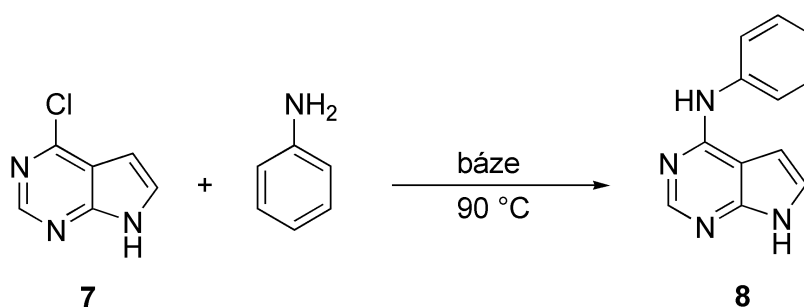


**Obrázek 35:** Možnosti přípravy disubstituovaných 7-deazapurinů.

### 9.1 Ověření reakčních podmínek vedoucích k syntéze uvažovaných sloučenin

Jako první byla testována syntetická **cesta A**, jejímž prvním krokem byla nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze C4 aromatickým aminem a následné zavedení propan-2-ylu na N7 pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového kruhu. Tato strategie byla zvolena s ohledem na předešlé výsledky a zkušenosti získané při syntéze 6,9-disubstituovaných purinů. Pokus o substituci atomu chloru sloučeniny **7** anilinem byl realizován pomocí čtyř reakcí provedených za různých podmínek (**Obrázek 36**), přičemž pouze v jednom případě (**reakce i**) byl získán požadovaný produkt, a to v uspokojivém výtěžku 80 %. Při tomto

experimentu byl anilin použit ve dvoumolárním přebytku bez přítomnosti báze, za použití propan-2-olu jako rozpouštědla. V dalších reakcích byl jako rozpouštědlo použit dimethylsulfoxid (DMSO) nebo propan-2-ol, přičemž anilin zde byl aplikován v 1,1 molárním přebytku oproti sloučenině **7**. V obou případech byla použita báze, kterou byl buďto triethylamin (TEA, **reakce ii a iii**) nebo diisopropylethylamin (DIEA, **reakce iii**). Nicméně, za těchto podmínek nebyl v reakční směsi pozorován vznik požadovaného produktu ani po 48 hodinách (monitorováno pomocí TLC a GC-MS).



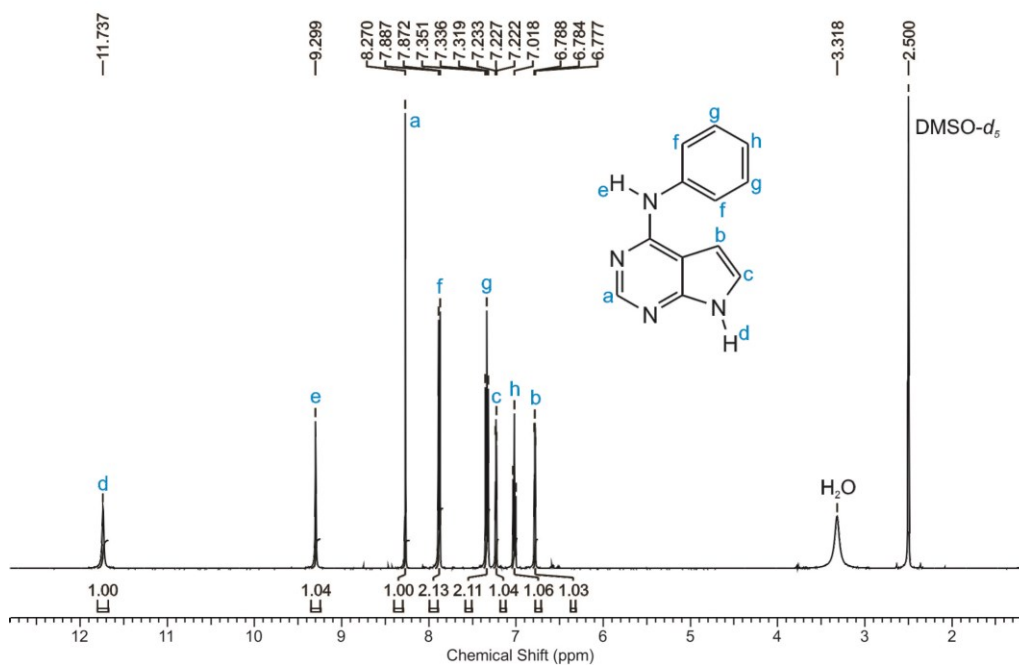
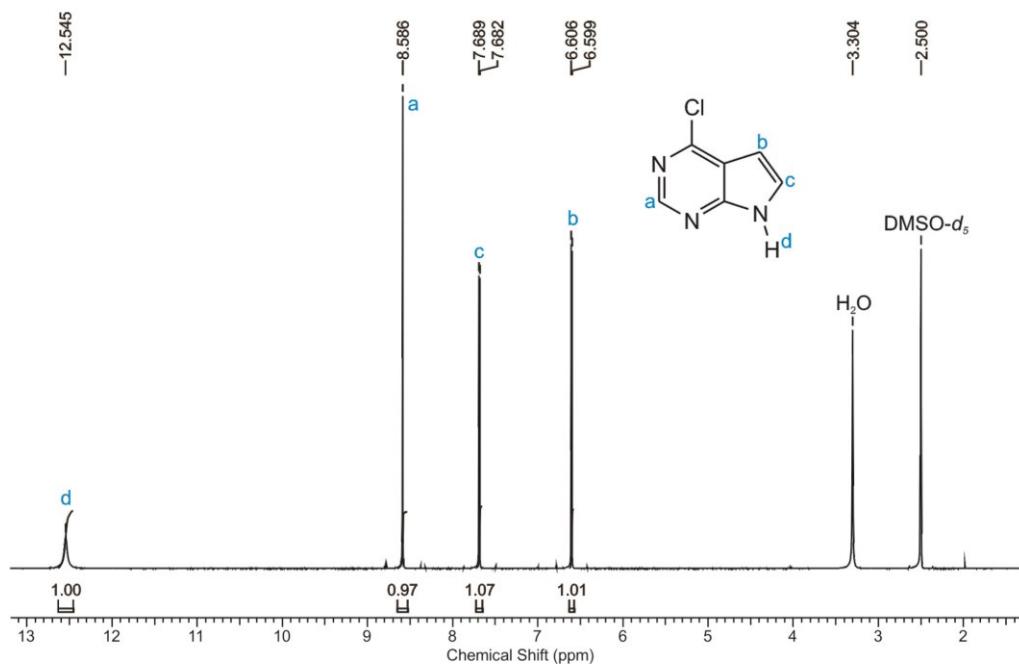
Reakce	Rozpouštědlo	Anilin (ekviv.)	Báze (ekviv.)	Čas (h)	Výtěžek (%)
<b>i</b>	iPrOH	2,0	-	20	80
<b>ii</b>	iPrOH	1,1	TEA (1,1)	48	-
<b>iii</b>	DMSO	1,1	TEA (1,1)	48	-
<b>iv</b>	DMSO	1,1	DIEA (1,1)	48	-

**Obrázek 36:**  $S_NAr$  4-chlor-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidinu (**7**).

Struktura sloučeniny **8** byla navržena na základě výsledků získaných pomocí běžně dostupných spektrálních metod. Na základě provedené analýzy GC-MS lze usuzovat na chromatografickou čistotu sloučeniny **8**, jejíž retenční čas (za zvolených podmínek) činil 18,91 minuty, zatímco retenční čas výchozí sloučeniny **7** činil 13,21 minuty. Nutno podotknout, že v získaném chromatogramu nebyl, vyjma píku odpovídajícímu sloučenině **8**, pozorován žádný další, ani reziduální, pik. Další důkaz o struktuře produktu získaného reakcí uvedenou na **Obrázku 36 (reakce i)** poskytlo srovnání  $^1H$  NMR spekter sloučenin **7** a **8**. Zatímco ve spektru výchozí látky **7** byly pozorovány pouze čtyři signály (**Obrázek 37** nahoře), které byly přiřazeny atomům vodíku nacházejících se v polohách C2 (8,59 ppm), C5 (6,61 ppm), C6 (7,68 ppm) a N7 (12,54 ppm), tak v  $^1H$  NMR spektru



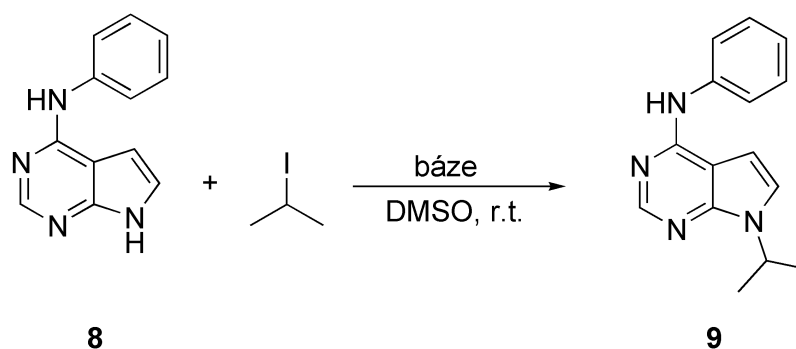
sloučeniny **8** (Obrázek 37 dole) byly, vyjma výše uvedených, pozorovány také signály v oblasti 7,02–7,33 ppm odpovídající atomům vodíku z benzenového kruhu a dále singlet s chemickým posunem 9,30 ppm, o němž se lze domnívat, že náleží atomu vodíku z atomu dusíku spojujícího 7-deazapurinový a benzenový kruh.



Obrázek 37: <sup>1</sup>H NMR spektra sloučenin **7** (nahore) a **8** (dole).

V ESI-MS spektru prvního řádu sloučeniny **8**, získaného v pozitivním skenovacím módu, byly pozorovány dva jedenkrát nabitě signály odpovídající protonované molekule ( $211\ m/z$ ) a sodnému aduktu sloučeniny **8** ( $233\ m/z$ ).

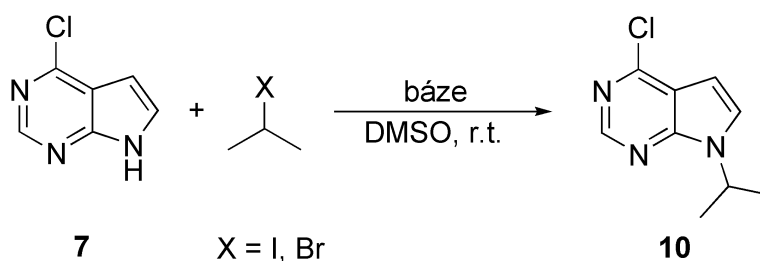
Druhým krokem vedoucím k získání uvažovaného *N*-fenyl-7-isopropyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-aminu (**9**) byla reakce sloučeniny **8** s 2-jodpropanem, jakožto alkylačním činidlem, za přítomnosti báze v DMSO (**Obrázek 38**). Předmětná reakce byla provedena za různých podmínek vzájemně se lišících typem a množstvím použité báze, případně molárním poměrem alkylačního činidla (**Obrázek 38**). Jako nejvýhodnější se jevil postup, kdy alkylace probíhala za přítomnosti uhličitanu draselného jako báze, a výsledný produkt (sloučenina **9**) byl izolován ve výtěžku 65 % (**reakce i**). Při snížení množství báze z 3 ekvivalentů na 1,5 byl pozorován pokles výtěžku na 35 %. Reakce v přítomnosti uhličitanu cesného (3,0 ekviv.), proběhla, dle TLC, již po jedné hodině, nicméně poskytovala nedělitelnou směs produktů. Z toho důvodu se tato báze jevila jako velmi obtížně použitelná. Značnou nevýhodou reakcí prováděných v přítomnosti uhličitanu draselného pak byla příliš dlouhá reakční doba, přičemž reakce byla ukončena po 120 hodinách. Vhodné je také zmínit, že sloučenina **9** představuje molekulu s dosud nepopsanou strukturou (její strukturní charakterizace bude blíže diskutována níže).



Reakce	2-Jodpropan (ekviv.)	Báze (ekviv.)	Čas (h)	Výtěžek (%)
<b>i</b>	5,0	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (3,0)	120	65
<b>ii</b>	5,0	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (3,0)	1	Směs produktů
<b>iii</b>	2,5	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1,5)	120	35

**Obrázek 38:** Alkylace sloučeniny **8**.

Syntetická **cesta B** je v podstatě obrácený postup **cesty A**, kdy dochází v prvním kroku k alkylnaci na N7 a až poté k  $S_NAr$  atomu chloru na C4. Možnou výhodou této strategie, oproti předešlé metodě, je značná časová úspora díky přípravě jednoho prekursoru pro veškeré další substituce. Opět byla provedena série optimalizačních reakcí, které se lišily typem použité báze, rozpouštědla a alkylačního činidla. Rovněž byly vyzkoušeny různé ekvimolární množství reaktantů. Složení jednotlivých reakčních směsí shrnuje tabulka na **Obrázku 39**. V této tabulce jsou také uvedeny výtěžky jednotlivých reakcí. Vzhledem k výtěžku a ke krátké reakční době se jevila jako nejvýhodnější alkylnace 2-jodpropanem (5,0 ekviv.) za přítomnosti uhličitanu cesného jako báze (3,0 ekviv.), pomocí níž byl očekávaný produkt izolován ve velmi dobrém výtěžku 88 % (**reakce iii**).



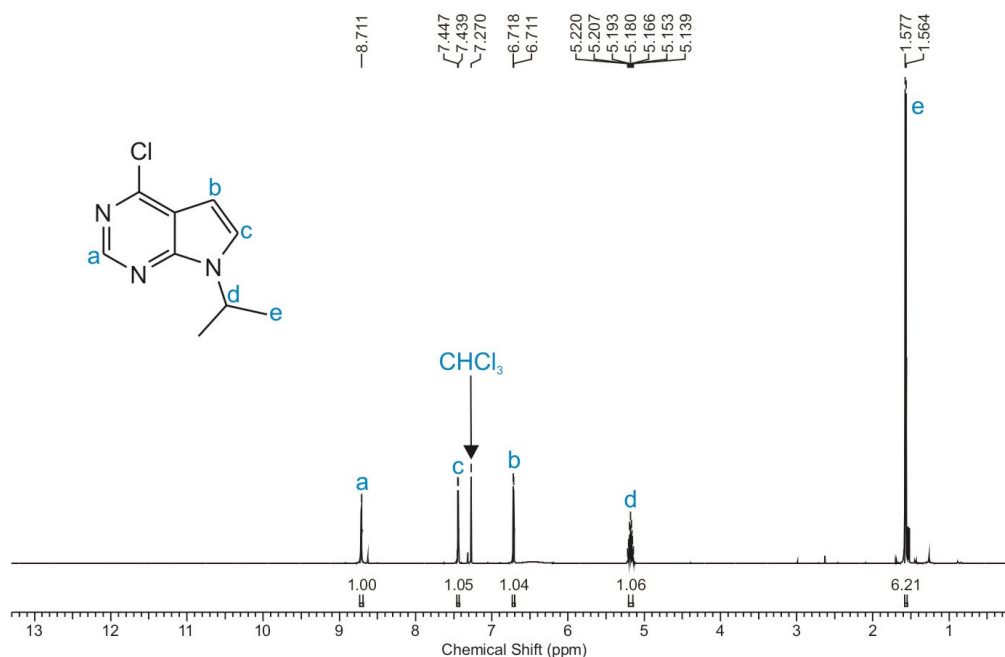
Reakce	Alkylační činidlo (ekviv.)	Báze (ekviv.)	Čas (h)	Výtěžek (%)
<b>i</b>	2-jodpropan (5,0)	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (3,0)	4	68
<b>ii</b>	2-brompropan (5,0)	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (3,0)	20	50
<b>iii</b>	2-jodpropan (5,0)	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (3,0)	1	88
<b>iv</b>	2-jodpropan (2,5)	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1,5)	4,5	85
<b>v</b>	2-jodpropan (2,5)	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1,5)	2	65
<b>vi</b>	2-jodpropan (1,6)	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1,2)	121	88

**Obrázek 39:** Alkylace sloučeniny 7.

Nicméně, při snížení látkového množství, v němž byly výše zmíněné reaktanty použity (a při zachování jejich vzájemného poměru), došlo ke snížení výtěžku, v němž byla získána sloučenina **10**, a to na 65 % (**reakce v**). Opačného efektu bylo dosaženo v případech, kdy byl jako báze použit uhličitan draselný, přičemž výtěžek vzrostl

z původních 65 % (**reakce i**) na 85 % (**reakce v**). Podmínky aplikované v této reakci tak byly vyhodnoceny jako nejlepší ze všech provedených experimentů. Proti použití uhličitanu cesného jako báze navíc hraje fakt, že se jedná o relativně ekonomicky nákladnou chemikálii (ve srovnání s uhličitanem draselným).

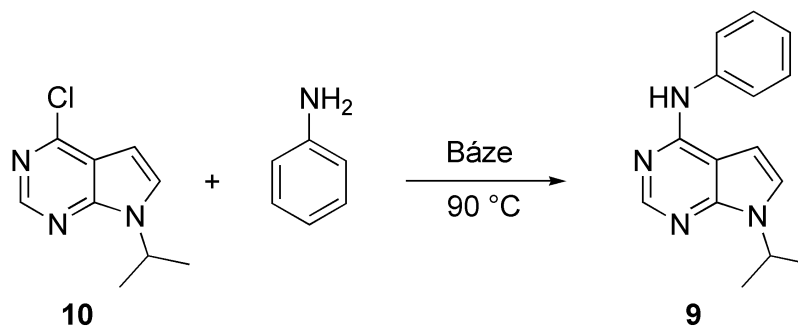
Struktura sloučeniny **10** byla navržena na základě výsledků získaných pomocí běžně dostupných spektrálních metod, např. IR, GC-EI-MS a NMR. V  $^1\text{H}$  NMR spektru bylo pozorováno celkem pět signálů (**Obrázek 40**). Ve srovnání s  $^1\text{H}$  NMR spektrem výchozí sloučeniny **7** (**Obrázek 37** nahoře) nebyl ve spektru sloučeniny **10** pozorován signál atomu vodíku z atomu dusíku N7 (12,54 ppm), naproti tomu byl ve spektru pozorován dublet v alifatické oblasti náležící atomům vodíku označených písmenem „e“ a septet s chemickým posunem 5,18 ppm určený jako atom vodíku „d“, oba pocházející z propan-2-ylového substituentu navázaného do polohy N7.



**Obrázek 40:**  $^1\text{H}$  NMR spektrum sloučeniny **10**.

Druhým reakčním krokem v syntetické **cestě B** je substituce  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  atomu chloru v poloze C4 sloučeniny **10**. V tomto kroku byl vyzkoušen vliv různých bází a rozpouštědel na průběh reakce (**Obrázek 41**). Za přítomnosti triethylaminu či diisopropylethylaminu reakce neproběhla ani při změně rozpouštědla či zvýšení množství této báze a to ani po 40 hodinách. Reakce proběhla pouze za použití anilinu ve dvoumolárním přebytku, tak aby mohl vystupovat nejen v roli substituentu nahrazujícího atom chloru, ale také jako báze. Po

purifikaci pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v) byl čistý produkt získán ve výborném výtěžku 90 %. Vzhledem k velmi dobrým výtěžkům a výhodě tohoto postupu spočívajícího v přípravě jednoho prekursoru (sloučenina **10**) pro další substituce, byla **cesta B** vybrána jako nejvýhodnější.



Reakce	Anilin (ekviv.)	Báze (ekviv.)	Rozpouštědlo	Čas (h)	Výtěžek (%)
<b>i</b>	2,0	-	iPrOH	9,5	90
<b>ii</b>	1,1	TEA (1,1)	iPrOH	40	-
<b>iii</b>	1,1	TEA (1,1)	DMSO	40	-
<b>iv</b>	1,1	TEA (2,0)	DMSO	40	-
<b>v</b>	1,1	DIEA (1,1)	DMSO	35	-
<b>vi</b>	1,1	DIEA (2,0)	DMSO	45	-

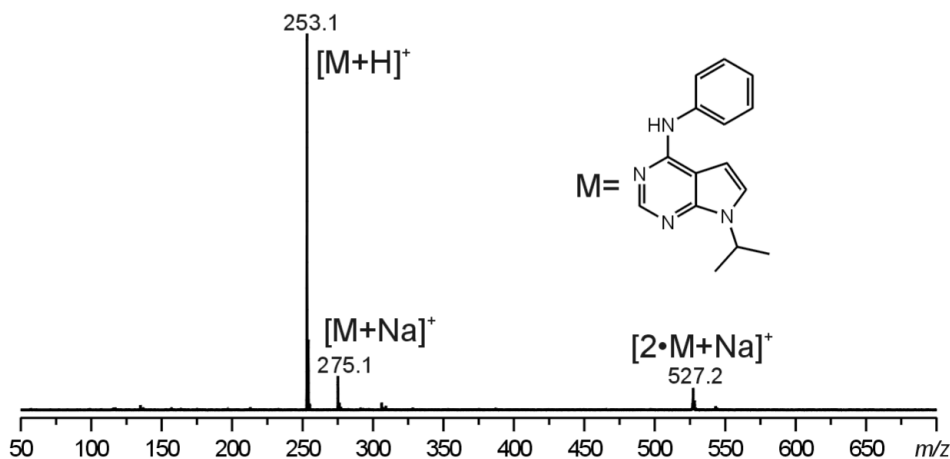
**Obrázek 41:** S<sub>N</sub>Ar sloučeniny **10** anilinem.

S ohledem na skutečnost, že struktura sloučeniny **9** nebyla doposud popsána v literatuře, bylo na místě provést její úplnou strukturní charakterizaci.

Nejprve bylo přistoupeno k ověření její chromatografické čistoty, a to pomocí GC-MS. V získaném chromatogramu byl pozorován pouze jediný pík, jehož hmotnostní spektrum, resp. hodnoty *m/z* v něm pozorované, odpovídaly těm, které by měly být v případě sloučeniny **9** ve spektru přítomny. To se týká především hodnoty molekulového iontu, která činila 252 *m/z*. Relativně zajímavé byl také nepříliš často pozorovaný fakt, že molekulový ion sloučeniny **9**, byl v EI-MS spektru zároveň píkem základním (relativní intenzita tohoto iontu činila 100 %).

K navržení struktury sloučeniny **9** přispěla rovněž analýza uskutečněná na hmotnostním spektrometru s iontovou pastí. Ve spektru prvního řádu získaného

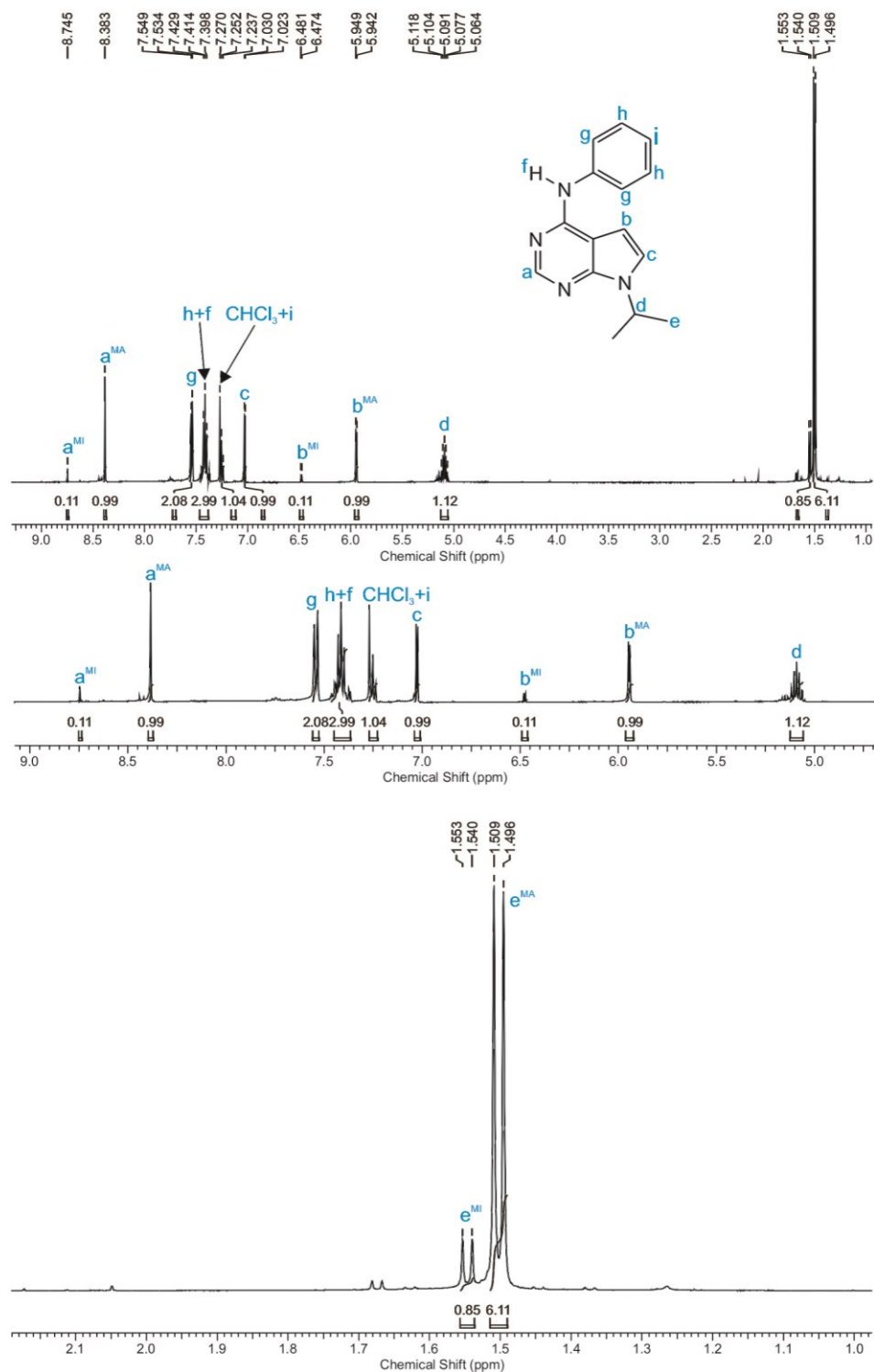
v pozitivním skenovacím módu (**Obrázek 42**) byl jako dominantní pozorován ion o  $m/z$  253 odpovídající protonované sloučenině **9**  $[M+H]^+$ , který byl doprovázen jedenkrát nabitým iontem větším o 22  $m/z$ . Tento signál, s hodnotou 275  $m/z$ , tak byl určen jako sodný akdukt sloučeniny **9**  $[M+Na]^+$ . V neposlední řadě byl v +MS spektru této látky přítomen jedenkrát nabitý signál o  $m/z$  527, kdy tato hodnota odpovídá sodnému aduktu dimeru látky **9**  $[2\cdot M+Na]^+$ .



**Obrázek 42:** ESI-MS sloučeniny **9**.

V neposlední řadě byla struktura sloučeniny **9** navržena na základě výsledků získaných z  $^1\text{H}$  NMR analýzy. V předmětném spektru byly pro některé atomy vodíku pozorovány dvě sady signálů, což bylo zpočátku vnímáno tak, že tato látka, ačkoliv byla čištěna pomocí sloupcové chromatografie, obsahuje drobné nečistoty. Proto bylo přistoupeno k opětovné (několikanásobné) purifikaci a následně k přeměření takto získaného vzorku na NMR. Poněkud překvapující byla skutečnost, že výsledky byly naprosto totožné jako v prvním případě a již zmíněné dvě sady signálů byly i tentokrát ve spektru přítomny (**Obrázek 43**). Konkrétně se jednalo o signály pocházející z atomu vodíků propan-2-ylového substituentu označené písmenem „e“ ( $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ). Dále pak o signály atomu vodíku  $\text{C}^2\text{H}$  (písmeno „a“) a  $\text{C}^5\text{H}$  (písmeno „b“) z pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového kruhu. V případě všech pozorovaných dvojic signálů byl jejich vzájemný poměr, vypočtený na základě provedené integrace, 9:1 (MA:MI), kdy „MA“ značí signál majoritní a „MI“ signál minoritní. V současné chvíli se lze domnívat, že pozorované sady signálů odpovídají dvěma typům isomerů, které mohou vznikat v důsledku rotace aromatického kruhu navázaného přes sekundární aminoskupinu k pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidovanému skeletu ( $\text{C}^6\text{NHPH}$ ), kdy tato rotace je v kontextu NMR analýzy pomalá, v důsledku čehož je tento

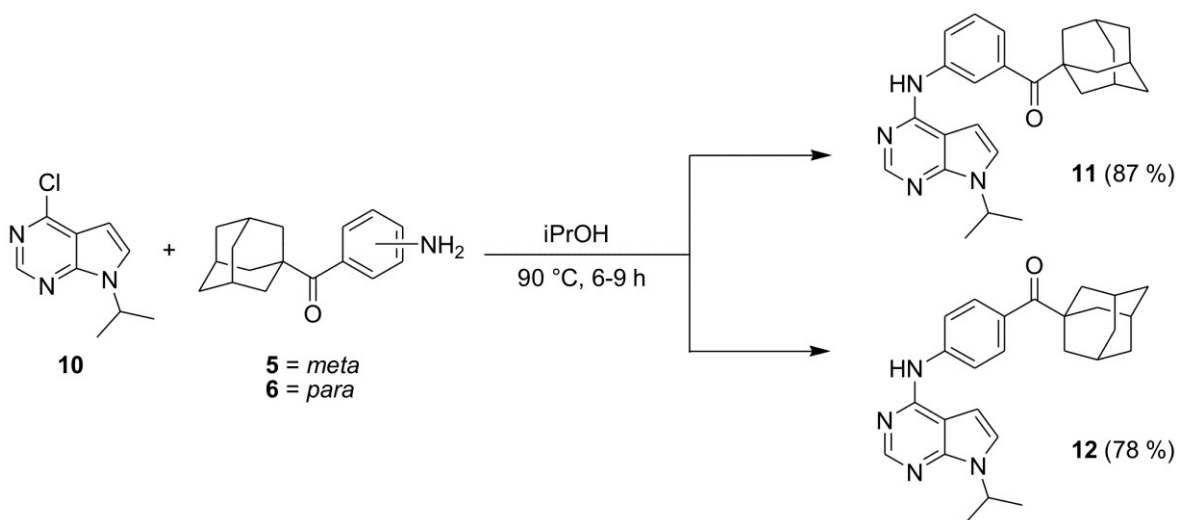
efekt ve spektru pozorován. Pro potvrzení či vyvrácení této hypotézy budou v blízké budoucnosti provedeny dodatečné NMR analýzy, a to jak  $^1\text{H}$  NMR provedené za vyšší teploty, při níž by se měly stát signály (jedná-li se o isomery) nerozlišitelnými, tak také 2D NMR experimenty, kdy by v získaných spektrech měly být pozorovány odpovídající kros píky.



Obrázek 43:  $^1\text{H}$  NMR spektrum sloučeniny 9.

## 9.2 Syntéza pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů s adamantanovým skeletem

Po výběru nejvýhodnější strategie pro syntézu 4,7-disubstituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů a úspěšné přípravě modelového derivátu **9**, jehož struktura však doposud v literatuře nebyla popsána, bylo přistoupeno k syntéze látek obsahujících ve své struktuře adamantanový motiv. Výchozím prekurzorem pro tyto látky byl 4-chlor-7-isopropyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (**10**), do jehož struktury byl pomocí nukleofilní aromatické substituce zaveden příslušný amin v prostředí propan-2-olu při 90 °C (**Obrázek 44**). Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC (petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v), která indikovala úplné vymizení výchozí sloučeniny **10** po 6–9 hodinách. Vzhledem k tomu, že příslušný amin byl vždy v reakční směsi přítomen ve dvoumolárním nadbytku, bylo nezbytné provést několikanásobnou sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v) tak, aby byly, vyjma požadovaných látek **11** a **12**, izolovány také nezreagované podíly výchozích aminoketonů **5** a **6**. Sloučeniny **11** a **12** byly získány ve výtěžcích 87 % (**11**) a 78 % (**12**).

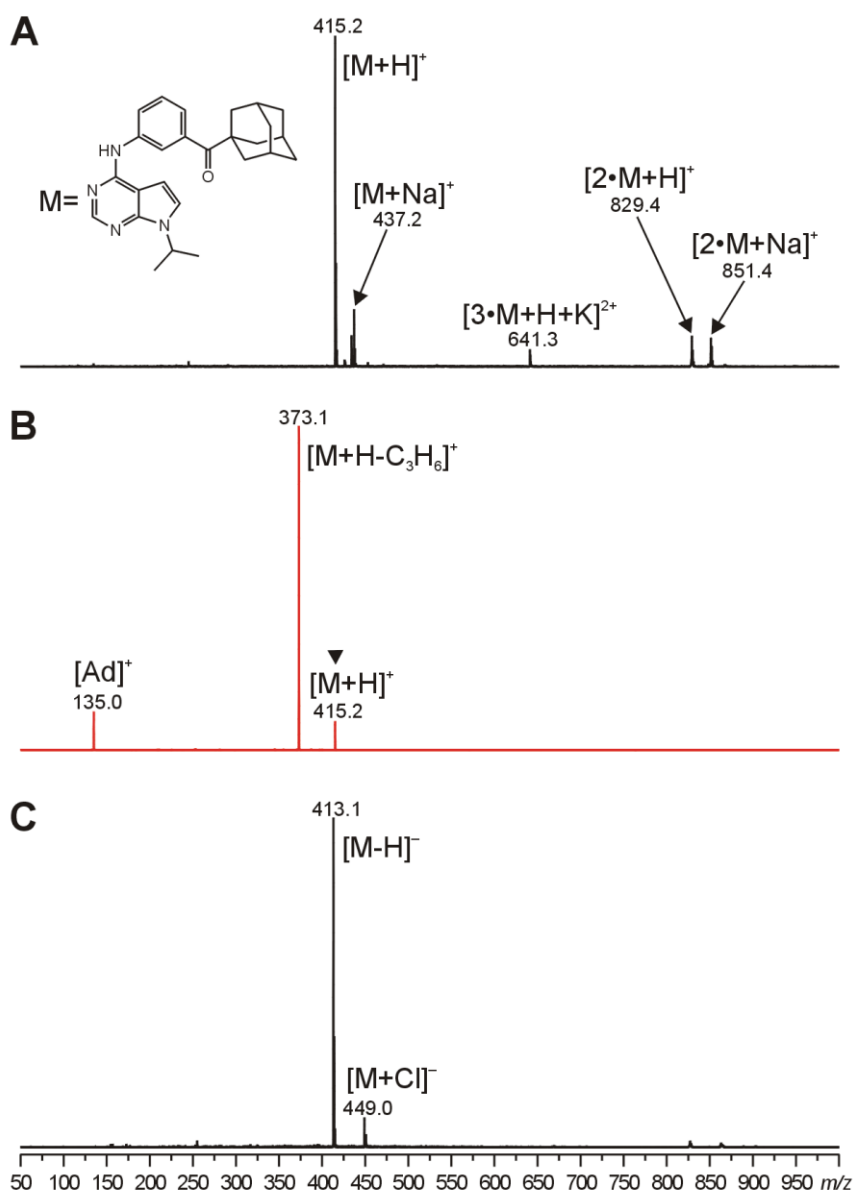


**Obrázek 44:** Syntéza sloučenin **11** a **12**.

Struktura sloučenin **11** a **12** byla, jako ve všech přechozích případech, navržena na základě výsledků získaných metodami strukturní analýzy. V <sup>1</sup>H NMR spektrech látek **11** a **12** byly opět pozorovány dvě sady signálů odpovídající dvěma isomerům vznikajících v důsledku pomalé rotace během NMR experimentu, tentokrát však ve vzájemném poměru 5:1 (MA:MI). Oproti sloučenině **9** byly ve spektru pozorovány dvě sady signálů atomů vodíku pocházejících z adamantanového skeletu a „benzenového kruhu“ (dobře rozlišitelné pouze v případě sloučeniny **12**).



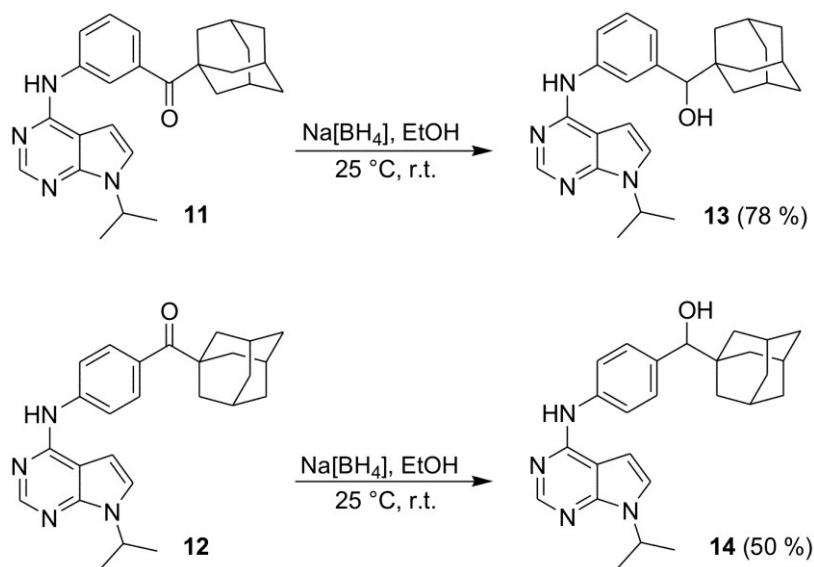
Další technikou, pomocí níž byla navrhována struktura sloučenin **11** a **12**, bylo ESI-MS. Ve spektrech první řádu obou sloučenin, která byla změřena v pozitivním skenovacím módu, bylo pozorováno celkem pět signálů. Dominantní ion o  $m/z$  415 odpovídající protonované molekule  $[M+H]^+$  byl doprovázen sodným aduktem  $[M+Na]^+$  (437  $m/z$ ). Dále byly ve spektru prvního řádu pozorovány dva jedenkrát nabitě signály s hodnotou  $m/z$  přibližně dvakrát vyšší, než u výše zmíněných iontů. Jednalo se tedy o příslušné dimery, a sice  $[2\cdot M+H]^+$  (829  $m/z$ ) respektive  $[2\cdot M+Na]^+$  (851  $m/z$ ). V neposlední řadě byl v +MS detekován dvakrát nabitý ion, jehož hodnota  $m/z$  odpovídala struktuře  $[3\cdot M+H+K]^{2+}$ . +MS spektrum sloučeniny **11** je uvedeno na **Obrázku 45A**.



**Obrázek 45:** ESI-MS spektra sloučeniny **11**; (a) +MS, (b) +MS/MS (415  $m/z$ ), (c) -MS.

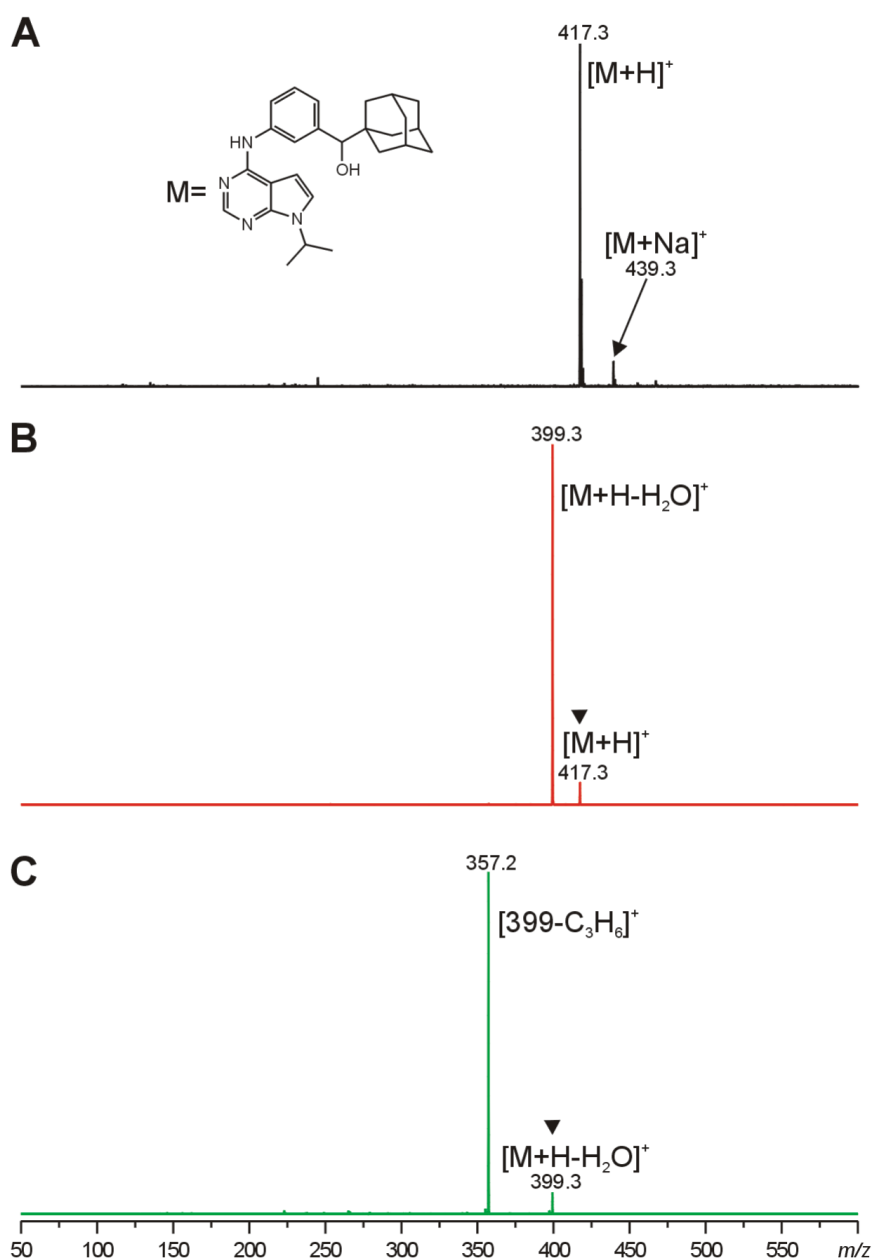
Izolací a následnou fragmentací iontu  $[M+H]^+$  (415  $m/z$ ) bylo získáno +MS/MS spektrum (**Obrázek 45B**), v němž byly pozorovány dva produktové ionty o  $m/z$  373  $[M+H-C_3H_6]^+$  a 135  $[Ad]^+$ . Na tomto místě se jako vhodné jeví zdůraznit, že výsledky získané při fragmentaci iontu  $[M+H]^+$  sloučenin **11** a **12** bylo totožné, z čehož vyplývá, že chování obou iontů v plynné fázi za podmínek kolizí indukované disociace (CID) bylo naprosto stejné. Ve spektru prvního řádu získaného v negativním skenovacím módu pak byly pozorovány dva signály odpovídající deprotonované molekule  $[M-H]^-$  (413  $m/z$ ) a chloridovému aduktu příslušné sloučeniny  $[M+Cl]^-$  (449  $m/z$ ). –MS spektrum látky **11** je uvedeno na **Obrázku 45C**.

Finálním krokem vedoucím k získání ucelené série bioisosterů 6,9-disubstituovaných purinů byla redukce oxoskupiny přítomné ve sloučeninách **11** a **12** na skupinu hydroxylovou. Redukce byla provedena pomocí komplexního hydridu, a sice tetrahydridoboritanu sodného v prostředí ethanolu za laboratorní teploty (**Obrázek 46**). Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC (petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v), přičemž byl sledován úbytek výchozího ketonu. Po 20 hodinách byl pozorován vznik husté bílé sraženiny a po 25 hodinách byla reakce ukončena i přes to, že se v reakční směsi (dle TLC) nacházelo reziduální množství výchozí sloučeniny. Z toho důvodu byla po získání surového produktu nezbytná purifikace pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, chloroform/methanol, 8/1, v/v). Výsledné alkoholy byly získány ve výtěžcích 76 % (sloučenina **13**) a 50 % (sloučenina **14**).



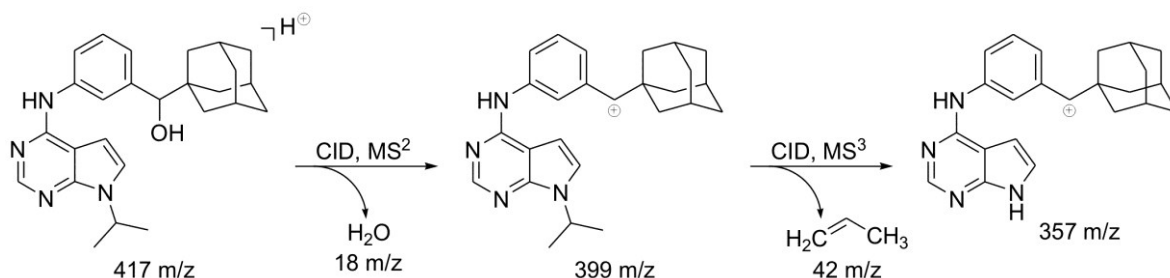
**Obrázek 46:** Redukce sloučenin **11** a **12**.

Struktura sloučenin **11** a **12** byla, vyjma infračervené spektroskopie, potvrzena pomocí ESI-MS experimentů (výsledky NMR analýz nebyly v okamžiku finalizace rukopisu k dispozici). Ve spektrech prvního řádu sloučeniny **11** (Obrázek 47A) a sloučeniny **12** (Obrázek 49A) získaných v pozitivním skenovacím módu byly pozorovány dva signály, jejichž hodnoty  $m/z$  odpovídaly protonované molekule  $[M+H]^+$  (417  $m/z$ ) a sodnému akduktu příslušné molekuly  $[M+Na]^+$  (439  $m/z$ ), přičemž jednoznačně dominantním byl v obou případech ion  $[M+H]^+$ .



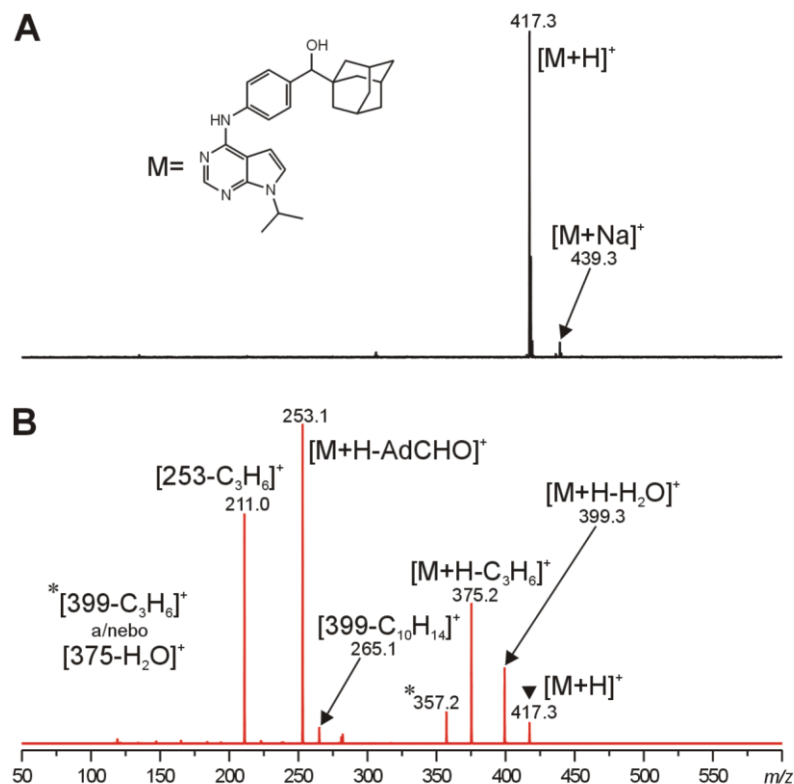
**Obrázek 47:** ESI-MS spektra sloučeniny **13**; (a) +MS, (b) +MS/MS (417  $m/z$ ), (c) +MS<sup>3</sup> (399  $m/z$ ).

Následnou izolací a fragmentací iontu  $[M+H]^+$  (+MS/MS) a z něj vznikajících produktových iontů ( $+MS^n$ ) bylo přistoupeno k detailnímu studiu fragmentace sloučenin **13** a **14** (resp. jim odpovídajících protonovaných molekul) za podmínek CID. Ve srovnání s výsledky získanými u sloučenin **11** a **12**, u nichž byly pozorovány naprosto shodné fragmentační dráhy, byly u sloučenin **13** a **14** dosaženy zcela odlišné výsledky.



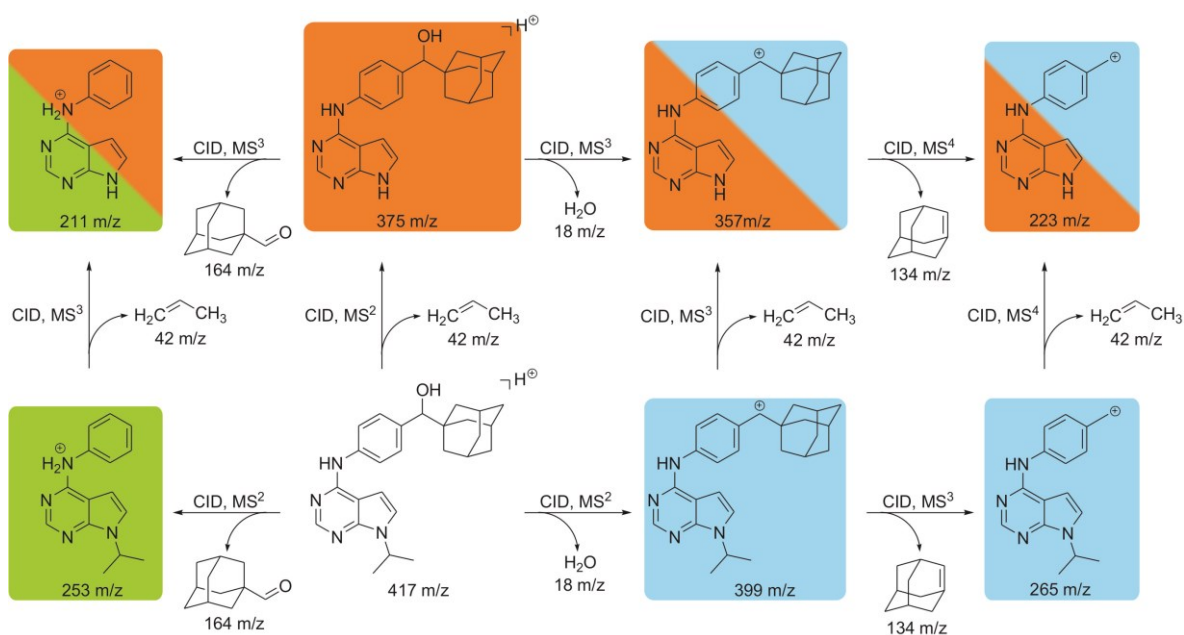
**Obrázek 48:** Návrh fragmentace iontu  $[M+H]^+$  sloučeniny **13**.

V případě fragmentace iontu  $[M+H]^+$  sloučeniny **13** byl v +MS/MS spektru pozorován vznik jediného produktového iontu o  $m/z$  399 vznikajícího neutrální ztrátou molekuly vody (**Obrázek 47B**). Následnou izolací a fragmentací tohoto iontu došlo k další neutrální ztrátě, tentokrát  $C_3H_6$ , za vzniku produktového iontu o  $m/z$  357 (**Obrázek 47C**). Návrh fragmentace iontu  $[M+H]^+$  sloučeniny **13** je uveden na **Obrázku 48**.



**Obrázek 49:** ESI-MS spektra sloučeniny **14**; (a) +MS, (b) +MS/MS (417  $m/z$ ).

Naprosto odlišný průběh fragmentace byl však pozorován v případě iontu  $[M+H]^+$  sloučeniny **14**. V  $+MS/MS$  spektru (**Obrázek 49B**) bylo pozorováno celkem šest produktových iontů, jejichž struktura a způsob (cesta) vzniku byly navrženy na základě následně provedených  $+MS^3$  a  $+MS^4$  experimentů. Bylo usouzeno, že v  $+MS/MS$  spektru byly pozorovány celkem tři fragmentační dráhy. V první „modré“ fragmentační dráze nejprve docházelo k neutrální ztrátě molekuly vody za vzniku iontu  $399\ m/z$ , z něhož v dalším kroku ( $+MS^3$ ) vznikl ion o  $m/z\ 357$  (neutrální ztrátou  $C_3H_6$ ) a ion o  $m/z\ 265$  (neutrální ztrátou  $C_{10}H_{14}$ ). Následnou fragmentací ( $+MS^4$ ) iontů  $265$  a  $357\ m/z$  vznikl ion o  $m/z\ 223$ , a to neutrální ztrátou  $C_3H_6$ , respektive  $C_{10}H_{14}$ .



**Obrázek 50:** Návrh fragmentace iontu  $[M+H]^+$  sloučeniny **14**.

Druhá „oranžová“ fragmentační dráha byla zahájena neutrální ztrátou  $C_3H_6$  za vzniku iontu o  $m/z\ 375$ . Z toho při další fragmentaci ( $+MS^3$ ) vznikl ion  $357\ m/z$  (neutrální ztrátou molekuly vody) a ion  $211\ m/z$  (neutrální ztrátou adamantan-1-karbaldehydu). Následnou izolací a fragmentací iontu o  $m/z\ 357$  vznikl ion o  $m/z\ 223$ , a to neutrální ztrátou  $C_{10}H_{14}$  (adamanten).

Ve třetí „zelené“ fragmentační dráze došlo nejprve k neutrální ztrátě adamantan-1-karbaldehydu ( $164\ m/z$ ) za vzniku iontu o  $m/z\ 253$ , při jehož následné izolaci a fragmentaci ( $+MS^3$ ) byla pozorována tvorba iontu o  $m/z\ 211$  v důsledku neutrální ztráty  $C_3H_6$ .

Výše popsaný návrh fragmentačních drah je pro větší přehlednost ilustrován na **Obrázku 50**.

## ZÁVĚR

Hlavním cílem této diplomové práce bylo připravit sérii doposud nepopsaných 4,7-disubstituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinových sloučenin obsahujících ve své struktuře aromatické aminy s adamantanovým skeletem a provést jejich úplnou strukturní charakterizaci pomocí moderních instrumentálních metod (IR, EI/ESI-MS, NMR).

Důležitou součástí práce, nezbytnou pro získání uvažovaných sloučenin, byla příprava aromatických aminů substituovaných 1-adamantylem (sloučeniny **5** a **6**), které byly dále použity při syntéze finálních látek. Nitroketony **2**, **3** a **4** byly připraveny zavedením nitroskupiny do 1-adamantyl(fenyl)ketonu a následnou selektivní redukcí sloučenin **3** a **4** byly získány aminoketony **5** a **6**.

Důležitou fází při přípravě nových pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů byla série optimalizačních reakcí, provedených s modelovým aminem, díky kterým bylo možné vybrat nejvhodnější reakční podmínky pro přípravu sloučenin **11** a **12**. Jako nejvýhodnější syntetická cesta byla vybrána alkylace komerčně dostupné sloučeniny **7** do polohy N7 reakcí s 2-jodpropanem a následná nukleofilní aromatická substituce atomu chloru na C4 příslušným aminem použitým ve dvoumolárním přebytku. Tato strategie byla vybrána především díky zkrácení doby celkového postupu a velmi dobrým výtěžkům těchto reakcí, oproti postupu obrácenému. V této fázi byly získány a strukturně charakterizovány celkem tři doposud nepopsané sloučeniny **9**, **11** a **12**.

V posledním reakčním kroku bylo nutné provést redukcí oxoskupiny ve struktuře sloučenin **11** a **12** na hydroxylovou skupinu, čehož bylo dosaženo reakcí s tetrahydridboritanem sodným v ethanolu. Tato poslední část syntézy vedla ke vzniku sloučenin **13** a **14**.

Závěrem lze konstatovat, že byla provedena úspěšná příprava celkem pěti nových 4,7-disubstituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů, jejichž struktura nebyla dříve popsána a které vhodně doplňují sérii dříve připravených 6,9-disubstituovaných purinů.<sup>44</sup>

V blízké budoucnosti bude nezbytné jednak objasnit původ dvojice signálů pozorovaných v <sup>1</sup>H NMR spektrech sloučenin **9**, **11** a **12** a dále pak zajistit testování biologické aktivity kompletní série 6,9-disubstituovaných purinů a 4,7-disubstituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Vícha, R.; Potáček, M.: *Chem. Listy*, **2004**, 98, 68-74
- [2] Prelog, V.; Seiwerth, R.: *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1941**, 74, 1644
- [3] Schleyer, P. von R.: *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, 79, 3292
- [4] Navrátilová, M.; Sporka, K.: *Chem. Listy*, **1998**, 92, 998-1005
- [5] Oliveira, F. S.; Freire, M. G.; Pratas, M. J.; Pauli, J.; Daridon, J. L.; Marrucho, I. M.; Coutinho, J. A. P.: *J. Chem. Eng. Data*, **2010**, 55, 662-665
- [6] Senning A.: *Elseviers dictionary of chemoethymology: the whys and whences of chemical nomenclature and terminology*, 1. vyd., Boston: Elsevier, **2007**, ISBN 978-044-4522-399
- [7] Wanka, L.; Iqbal, K.; Schreiner, P. R.: *Chem. Rev.*, **2013**, 113, 3516-3604
- [8] Garcia, J. C.; Justo, J. F.; Machado, W. V. M.; Assali, L. V. C.: *J. Phys. Chem.*, **2010**, 114, 11977-11938
- [9] Henry, G. E.; Jacobs, H.; Carrington, C. M. S.; McLean, S.; Reynolds, W. F.; **1996**, *Tetrahedron Lett.*, 37, 8663
- [10] Davies, W. L.; Grunert, R. T.; Haff, R. F.; McGahen, J. W.; Neumayer, E. M.; Paulshock, M.; Wats, J. C.; Wood, R. T.; Hoffmann, E. C.: **1964**, *Science*, 144, 862-863
- [11] Liu, J.; Obando, D.; Liao, V.; Lifa, T.; Codd, R., **2011**, *Eur. J. Med. Chem.*, 46, 1949-1963
- [12] Walgren, J.; Wikingsson, S.; Johansson, A.; Josefsson, M.; Greek, H.; Dahlén, J.; Wu, X.; Konradsson, P.; **2017**, *Tetrahedron Lett.*, 58, 1456-1458
- [13] Ayat, A. G.; Magda, M. F.; Abdou, A. O.; Mervat, M. S.: *Bioorg. Med. Chem.*, **2017**, 25, 241-253
- [14] Kusakabe, K.; Ide, N.; Daigo, Y.; Itoh, T.; Yamamoto, T.; Kojima, E.; Mitsuoka, Y.; Tadano, G.; Tagashira, S.; Higashino, K.; Okano, Y.; Sato, Y.; Inoue, M.; Iguchi, M.; Kanazawa, T.; Ishioka, Y.; Dohi, K.; Kido, Y.; Sakamoto, S.; Ando,

- S.; Maeda, M.; Higaki, M.; Yoshizawa, H.; Murai, H.; Nakamura, Y.: **2017**, *Bioorg. Med. Chem.*, *23*, 2247-2260
- [15] Daniel, J.; Coulter, J.; Woo, J. H.; Wilsbach, K.; Gabrielson, E.; **2011**, *Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, *108*, 5384
- [16] O'Brien-Brown, J.; Jackson, A.; Reekie, T. A.; Barron, M. L.; Werry, E. L.; Schiavini, P.; McDonnel, M.; Munoz, L.; Wilkinson, S.; Noll, B.; Wang, S.; Kassiou, M.: **2017**, *Eur. J. Med. Chem.*, *130*, 433-439
- [17] Parvathenani, L. K.; Tertyshnikova, S.; Greco, C. R.; Roberts, S. B.; Robertson, B.; Posmantur, R.: **2003**, *J. Biol. Chem.*, *278*, 13309-13317
- [18] Horský, J.; Jindřich, J.: **2013**, *Chem. Listy*, *107*, 769-776
- [19] Song, X.; Zhu, J.; Wen, X.; Zhao, F.; Zhang, Z. X.; Li, J.: **2017**, *J. Colloid Interface Sci.*, *490*, 372-379
- [20] Kashi, M.; Beyramabadi, S. A.; Davoodnia, A.; Ettehadi, Z.: **2017**, *J. Mol. Struct.*, *1134*, 789-796
- [21] Lima, L. M.; Barreiro, E. J.: **2005**, *Curr. Med. Chem.*, *12*, 23-49
- [22] Reigan, P.; Gbaj, A.; Chinje, E.; Stratford, I. J.; Douglas, K. T.; Freeman, S.: **2004**, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *14*, 5247-5250
- [23] Sakamoto, T.; Satoh, C.; Kondo, Y.; Yamanaka, H.: **1993**, *Chem. Pharm. Bull.*, *41*, 81-86
- [24] Wang, T.; Liu, X.; Hao, M.; Qiao, J.; Ju, C.; Xue, L.; Zhang, C.: **2016**, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *26*, 2936-2941
- [25] Liu, Y.; Zhang, C.; Zhang, H.; Li, M.; Yuan, J.; Zhang, Y.; Zhou, J.; Guo, H.; Zhao, L.; Du, Y.; Wang, L.; Ren, L.: **2015**, *Eur. J. Med. Chem.*, *93*, 142-155
- [26] Y. Liu, J. Fang, H. Cai, F. Xiao, K. Ding, Y. Hu: **2012**, *Bioorg. Med. Chem.*, *20*, 5473-5482
- [27] Arcari, J. T.; Beebe, J. S.; Berliner, M. A.; Bernardo, V.; Boehm, M.; Borzillo, G. V.; Clark, T.; Cohen, B. D.; Connel, R. D.; Frost, H. N.; Gordon, D. A.; Hungerford, W. M.; Kakar, S. M.; Kanter, A.; Keene, N. F.; Knauth, E. A.; LaGreca, S. D.; Lu, Y.; Martinez-Alsina, L.; Marx, M. A.; Morris, J.; Patel, N. C.;



- Savage, D.; Soderstorm, C. I.; Thompson, C.; Tkalcevic, G.; Tom, N. J.; Vajdos, F. F.; Valntine, J. J.; Vincent, P. W.; Wessel, M. D.; Chen, J. M.: **2013**, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *23*, 3059-3063
- [28] Marx, M. A.; La, G. S. D.; Chen, J.; Wessel, M. D.; Arcari, J. T.: **2005**, *US patent*: WO 2005/116035
- [29] Raul, J.; Jeffrey, M.: **2015**, *US patent*: WO 2015/136463
- [30] Lee, J. H.; Shin, S. C.; Seo, S. H.; Seo, Y. H.; Jeong, N.; Kim, C. W.; Kim, E. E.; Keum, G.: **2017**, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *27*, 237-241
- [31] Suh, H.; Choi, K.; Lee, J.; Ryou, C.; Rhee, H.; Lee, C. H.: **2016**, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *26*, 1130-1135
- [32] Musumeci, F.; Fallacara, A. L.; Brullo, C.; Grossi, G.; Botta, L.; Calandro, P.; Chiriello, M.; Kissova, M.; Grespan, E.; Maga, G.; Schenone, S.: **2017**, *Eur. J. Med. Chem.*, *127*, 369-378
- [33] Gangjee, A.; Namjoshi, O. A.; Yu, J.; Ihnat, M. A.; Thrope, J. E.; Bailey-Downs, L. C.: **2013**, *Bioorg. Med. Chem.*, *21*, 1312-1323
- [34] Gangjee, A.; Kurup, S.; Ihnat, M. A.; Thorpe, J. E.; Disch, B.: **2012**, *Bioorg. Med. Chem.*, *20*, 910-914
- [35] Gangjee, A.; Zaware, N.; Raghavan, S.; Yang, J.; Thorpe, J. E.; Ihnat, M. A.: **2012**, *Bioorg. Med. Chem.*, *20*, 2444-2454
- [36] Tan, L.; Akahane, K.; McNally, R.; Reyskens, K. M.; Ficarro, S. B.; Liu, S.; Herter-Sprue, G. S.; Koyama, S.; Pattison, M. J.; Labella, K. M.; Johannessen, L.; Akbay, E. A.; Wong, K. K.; Frank, D. A.; Marto, J. A.; Look, A. T.; Artur, S.; Eck, M. J.; Gray, N. S.: **2015**, *J. Med. Chem.*, *58*, 6589-6606
- [37] Thorarensen, A.; Dowty, M. E.; Banker, M. E.; Juba, B.; Jussif, J.; Lin, T.; Vincent, F.; Czerwinski, R. M.; Casimiro-Garcia, A.; Unwalla, R.; Trujillo, J. I.; Liang, S.; Balbo, P.; Che, Y.; Gilbert, A. M.; Brown, M. F.; Hayward, M.; Montgomery, J.; Leung, L.; Yang, X.; Soucy, S.; Hegen, M.; Coe, J.; Langille, J.; Vajdos, F.; Chrencik, J.; Telliez, J. B.: **2017**, *J. Med. Chem.*, *60*, 1971-1993

- [38] Laurence, A.; Pesu, M.; Silvennoinen, O.; O'Shea, J.: **2012**, *Open Rheumatol. J.*, *6*, 232-244
- [39] Clark, J. D.; Flanagan, M. E.; Telliez, J. B.: **2014**, *J. Med. Chem.*, *57*, 5023-5038
- [40] Radi, M.; Brullo, C.; Crespan, E.; Tintori, C.; Musumeci, F.; Biava, M.; Schenone, S.; Dreassi, E.; Zamperini, C.; Maga, G.; Pagano, D.; Angelucci, A.; Bologna, M.; Botta, M.: **2011**, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *21*, 5928-5933
- [41] Garcia-Carbonero, R.; Carnero, A.; Paz-Ares, L.: **2013**, *Lancet Oncol.*, *14*, 358-369
- [42] Lawhorn, B. G.; Philip, J.; Graves, A. P.; Holt, D. A.; Gatto, G. J.; Kallander, L. S.: **2016**, *J. Med. Chem.*, *59*, 10629-10641
- [43] Abraham, D. M.; Marchuk, D. A.: **2014**, *Circ. Res.*, *114*, 938-940
- [44] Gergela, D.: *Příprava 6,9-disubstituovaných purinů s adamantanovým skeletem*. Zlín, **2013**. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická. Ústav chemie.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

2-Ipr	2-jodpropan
A 549	karcinom plic
Ad	1-adamantyl
AdH	adamantan
Ad-PEG	adamantyl-poly(ethylenglykol)
AT3B-1	buněčná linie rakoviny prostaty
AT3B-1-N	buněčná linie rakoviny prostaty
ATD	adamantathiazolový derivát
ATP	adenosintrifosfát
$\beta$ CD(PNIPAAm) <sub>4</sub>	$\beta$ -cyklodextrin-poly(N-isopropylakrylamid)
BuOH	butan-1-ol
CD	cyklodextrin
CID	kolizní indukovaná disociace
DIEA	diisopropylethylamin
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DOX	doxorubicin
ET <sub>4</sub> N <sup>+</sup> CL <sup>-</sup>	tetraethylamonium chlorid
EtO <sup>-</sup> Na <sup>+</sup>	ethoxid sodný
GBM	glioblastom multiforme
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
GI <sub>50</sub>	koncentrace látky eliminující 50 % buňek v kultivačním testu
HCT-116	kolorektální karcinom

---

HFB4	normální lidské melanocyty
Hsp90	protein tepelného šoku 90
IC50	koncentrace látky inhibující 50 % enzymu
IL-18	interleukin typu 18
IL-1 $\beta$	interleukin typu 1 $\beta$
iPrOH	propan-2-ol
IR	infračervená spektroskopie
JAK 1-3	janus kináza typu 1-3
MeCN	acetonitril
MeOH	methanol
MPS 1	duálně specifická kináza
NMR	nukleární magnetická rezonance
P2X7R	purinergní receptor
PC-3	karcinom prostaty
r.t.	laboratorní teplota
RVO	rotační vakuová odparka
S <sub>N</sub> Ar	nukleofilní aromatická substituce
SÚKL	státní ústav pro kontrolu léčiv
TEA	triethylamin
THF	tetrahydrofuran
THP-1	lidské monocytární buňky
TLC	tenkovrstvá chromatografie
TNNI3K	troponinová proteinkináza
$t_t$	teplota tání

TYK 2                    janus kináza typu 4

U87 GM                buněčná linie lidského maligního gliomu

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<b>Obrázek 1:</b> Schleyerova syntéza adamantanu.....	13
<b>Obrázek 2:</b> Struktura vybraných diamantoidů.....	14
<b>Obrázek 3:</b> Struktura vybraných klecových uhlovodíků.....	14
<b>Obrázek 4:</b> Strukturní vzorce plukenetionu A a jeho epoxidové formy.....	15
<b>Obrázek 5:</b> Vybrané deriváty adamantanu využívané v chemii léčiv.....	16
<b>Obrázek 6:</b> Strukturní vzorce a hodnoty IC <sub>50</sub> ATD 4 a 5-fluoruracilu.....	17
<b>Obrázek 7:</b> Struktura, vazba na Mps 1 a hodnoty IC <sub>50</sub> sloučeniny s adamantanovým skeletem odvozené od kyanopyridinu.....	18
<b>Obrázek 8:</b> Schéma syntézy a hodnoty IC <sub>50</sub> vybraných adamantylkyanoguaninů.....	19
<b>Obrázek 9:</b> Strukturní vzorec DOX (A) a tvorba inkluzního komplexu βCD(PNIPAAm) <sub>4</sub> s Ad-PEG a následné zakomponování DOX do micel (B).....	20
<b>Obrázek 10:</b> Strukturní motivy purinových bioisosterů.....	21
<b>Obrázek 11:</b> Strukturní vzorce a číslování purinu a pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu.....	22
<b>Obrázek 12:</b> Schéma přípravy pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu z ethyl 2-kyano-4,4-diethoxybutyrátu.....	23
<b>Obrázek 13:</b> Schéma syntézy pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu z 4-acetylamino-5-brompyrimidinu.....	23
<b>Obrázek 14:</b> Schéma přípravy trisubstituovaného 4-chlorpyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu.....	24
<b>Obrázek 15:</b> Schéma přípravy intermediátu pro syntézu nových 6-substituovaných antifolátů.....	25
<b>Obrázek 16:</b> Příklad alkylace derivátu pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu I.....	26
<b>Obrázek 17:</b> Příklad alkylace derivátu pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu II.....	26
<b>Obrázek 18:</b> Příklad alkylace derivátu pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu III.....	27
<b>Obrázek 19:</b> Příklad alkylace derivátu pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu IV.....	27
<b>Obrázek 20:</b> Příklad alkylace derivátu pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu V.....	28
<b>Obrázek 21:</b> Příklad S <sub>N</sub> Ar derivátu pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu I.....	28
<b>Obrázek 22:</b> Příklad S <sub>N</sub> Ar derivátu pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu II.....	29
<b>Obrázek 23:</b> Příklad S <sub>N</sub> Ar derivátu pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu III.....	29
<b>Obrázek 24:</b> Příklad S <sub>N</sub> Ar derivátu pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu IV.....	30
<b>Obrázek 25:</b> Struktura tofacitinibu a ruxolitinibu.....	31

<b>Obrázek 26:</b> Struktura sloučeniny I, hodnoty IC <sub>50</sub> vůči jednotlivým skupinám JAK pro sloučeniny I, tofacitinib a ruxolitinib. ....	32
<b>Obrázek 27:</b> Struktura nového Src inhibitoru. ....	33
<b>Obrázek 28:</b> Struktura sloučeniny II, PU-H71 a hodnoty GI <sub>50</sub> vůči vybraným nádorovým buněčným liniím. ....	34
<b>Obrázek 29:</b> Skupina nových inhibitorů TINN3K. ....	35
<b>Obrázek 30:</b> Série dříve připravených 6,9-disubstitovaných purinů. ....	50
<b>Obrázek 31:</b> Příprava (1-adamantyl)(nitrofenyl)ketonů. ....	51
<b>Obrázek 32:</b> Příprava (1-adamantyl)(aminofenyl)ketonů. ....	52
<b>Obrázek 33:</b> Chromatogram sloučeniny <b>5</b> získaný metodou GC-MS. ....	53
<b>Obrázek 34:</b> EI-MS spektra sloučeniny <b>5</b> (A) a <b>6</b> (B). ....	54
<b>Obrázek 35:</b> Možnosti přípravy disubstituovaných 7-deazapurinů. ....	55
<b>Obrázek 36:</b> S <sub>N</sub> Ar 4-chlor-7 <i>H</i> -pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu ( <b>7</b> ). ....	56
<b>Obrázek 37:</b> <sup>1</sup> H NMR spektra sloučenin <b>7</b> (nahore) a <b>8</b> (dole). ....	57
<b>Obrázek 38:</b> Alkylace sloučeniny <b>8</b> . ....	58
<b>Obrázek 39:</b> Alkylace sloučeniny <b>7</b> . ....	59
<b>Obrázek 40:</b> <sup>1</sup> H NMR spektrum sloučeniny <b>10</b> . ....	60
<b>Obrázek 41:</b> S <sub>N</sub> Ar sloučeniny <b>10</b> anilinem. ....	61
<b>Obrázek 42:</b> ESI-MS sloučeniny <b>9</b> . ....	62
<b>Obrázek 43:</b> <sup>1</sup> H NMR spektrum sloučeniny <b>9</b> . ....	63
<b>Obrázek 44:</b> Syntéza sloučenin <b>11</b> a <b>12</b> . ....	64
<b>Obrázek 45:</b> ESI-MS spektra sloučeniny <b>11</b> ; (a) +MS, (b) +MS/MS (415 <i>m/z</i> ), (c) – MS. ....	65
<b>Obrázek 46:</b> Redukce sloučenin <b>11</b> a <b>12</b> . ....	66
<b>Obrázek 47:</b> ESI-MS spektra sloučeniny <b>13</b> ; (a) +MS, (b) +MS/MS (417 <i>m/z</i> ), (c) +MS <sup>3</sup> (399 <i>m/z</i> ). ....	67
<b>Obrázek 48:</b> Návrh fragmentace iontu [M+H] <sup>+</sup> sloučeniny <b>13</b> . ....	68
<b>Obrázek 49:</b> ESI-MS spektra sloučeniny <b>14</b> ; (a) +MS, (b) +MS/MS (417 <i>m/z</i> ). ....	68
<b>Obrázek 50:</b> Návrh fragmentace iontu [M+H] <sup>+</sup> sloučeniny <b>14</b> . ....	69