

# Syntéza a spektrální vlastnosti 2,6,9- trisubstituovaných purinů

Nikola Hloušková

---

Bakalářská práce  
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

**Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně**

**Fakulta technologická**

**Ústav technologie a mikrobiologie potravin**

**akademický rok: 2011/2012**

## **ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

**(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)**

**Jméno a příjmení: Nikola HLOUŠKOVÁ**  
**Osobní číslo: T09009**  
**Studijní program: B 2901 Chemie a technologie potravin**  
**Studijní obor: Chemie a technologie potravin**

**Téma práce: Syntéza a spektrální vlastnosti  
2,6,9-trisubstituovaných purinů**

**Zásady pro vypracování:**

### **I. Teoretická část**

- 1. Obecná charakteristika heterocyklických sloučenin**
- 2. Stručný popis sloučenin s purinovým skeletem**
- 3. Zpracování rešerše na téma syntéza a biologické účinky 2,6,9-trisubstituovaných purinů**

### **II. Praktická část**

- 1. Příprava 2,6-dichlor-9-isopropyl-9H-purinu**
- 2. Zavedení vybraných alifatických aminů do polohy 6 purinového kruhu**
- 3. Provedení série experimentů s cílem nahrazení atomu chloru v poloze 2 purinového kruhu různými aromatickými aminy**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. **LEGRAVEREND, Michel. Recent advances in the synthesis of purine derivatives and their precursors. Tetrahedron 64. 2008, 8585-8603.**
2. **LEGRAVEREND, Michel, GRIERSON, David S. The purines: Potent and versatile small molecule inhibitors and modulators of key biological targets. Bioorg. Med. Chem. 14. 2006, 3987-4006.**
3. **Dle provedení literární rešerše s využitím databáze Scopus.**

Vedoucí bakalářské práce:

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

Ústav chemie

Datum zadání bakalářské práce:

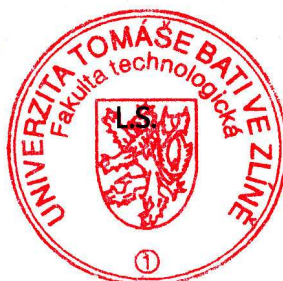
**1. února 2012**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**21. května 2012**

Ve Zlíně dne 10. února 2012

  
doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*



  
doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: ..... HLOUŠKOVÁ' NIKOLA .....

Obor: ..... CHTP .....

## 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 ..... 11.5.2012 .....

..... Hloušková' .....

<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 nevydělčně 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 vzdělávacímu 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 přihlídí k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.*

## **ABSTRAKT**

Hlavním cílem předložené bakalářské práce bylo připravit a charakterizovat různé 2,6,9-trisubstituované puriny. V teoretické části je popsána základní charakteristika heterocyklických sloučenin, se zaměřením na 2,6,9-trisubstituované puriny, zejména jejich biologické účinky a možné způsoby jejich syntézy. Praktická část zahrnuje přípravu nové série 2,6,9-trisubstituovaných purinů, jejichž struktura byla navržena pomocí běžných metod strukturní analýzy, jako jsou infračervená spektroskopie, hmotnostní spektrometrie a nukleární magnetická rezonance.

Klíčová slova: heterocyklické sloučeniny, 2,6,9-trisubstituované puriny, metody strukturní analýzy

## **ABSTRACT**

The essential purpose of presented bachelor thesis was the synthesis and full characterization of several 2,6,9-trisubstituted purines. The basic description of heterocyclic compounds, especially as the biological activity and possible synthetic routes leading to the 2,6,9-trisubstituted purines is described in the theoretical part. The main part of this work deals with the synthesis and structural characterization of novel series of 2,6,9-trisubstituted purines. The structure of prepared compounds was proposed using infrared spectroscopy, mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy, respectively.

Keywords: heterocyclic compounds, 2,6,9-trisubstituted purines, methods of structural analysis

Tímto bych ráda poděkovala Ing. Michalu Rouchalovi, Ph.D. za to s jakou ochotou a radostí se vždy snažil předat co nejvíce svých znalostí a zkušeností. Za jeho cenné rady a nápady a hlavně za jeho trpělivost. Jeho pomocná ruka a zápal do světa bádání organické chemie byly příjemnou motivací.

Dále bych chtěla poděkovat kolektivu laboratoře č. 433 za jejich ochotu, pomoc a vytvoření příjemného prostředí pro práci.

V neposlední řadě mé díky směřuje Rudolfu Daškovi za podporu a povzbuzení i ve chvílích kdy se zrovna nedařilo.

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

# OBSAH

ÚVOD.....	9
<b>I</b> <b>TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>10</b>
<b>1</b> <b>HETEROCYKLICKÉ SLOUČENINY</b> .....	<b>11</b>
<b>2</b> <b>PURIN A JEHO BIOISOSTERY</b> .....	<b>14</b>
2.1    OBEČNÁ CHARAKTERISTIKA PURINOVÝCH SLOUČENIN .....	14
2.2    BIOISOSTERY PURINU .....	15
<b>3</b> <b>2,6,9-TRISUBSTITUOVANÉ PURINY</b> .....	<b>17</b>
3.1    MOŽNOSTI SYNTÉZY 2,6,9-TRISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ .....	17
3.1.1    Klasická metoda .....	17
3.1.2    Metoda pevné fáze .....	18
3.1.3    Mikrovlnami asistované syntézy .....	19
3.2    BIOLOGICKÁ AKTIVITA 2,6,9-TRISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ .....	20
<b>II</b> <b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>23</b>
<b>4</b> <b>PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ A INSTRUMENTÁLNÍ METODY</b> .....	<b>24</b>
4.1    PŘÍPRAVA 2,6,9-TRISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ .....	25
4.1.1    Přímá alkylace 2,6-dichlor-9 <i>H</i> -purinu 2-jodpropanem .....	25
4.1.2    Nukleofilní aromatická substituce 2,6-dichlor-9-isopropyl-9 <i>H</i> -purinu v poloze C6 .....	26
<b>III</b> <b>VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>29</b>
<b>5</b> <b>CHEMICKÉ SYNTÉZY A STRUKTURA PŘIPRAVENÝCH LÁTEK</b> .....	<b>30</b>
5.1    ALKYLACE 2,6-DICHLOR-9 <i>H</i> -PURINU 2-JODPROPANEM .....	30
5.2    NUKLEOFILNÍ AROMATICKÉ SUBSTITUCE SLOUČENINY 2A NA C6 .....	33
5.3    POKUSY O SUBSTITUCI ATOMU CHLORU NA C2 SLOUČENINY 3.....	36
<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>38</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>39</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> .....	<b>42</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....	<b>43</b>
<b>SEZNAM TABULEK</b> .....	<b>44</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH</b> .....	<b>45</b>



## ÚVOD

Puriny tvoří významnou skupinu heterocyklických sloučenin. Jsou součástí nukleových kyselin, koenzymů, podílí se na procesu uchování energie a nacházejí se v biologických systémech. Mnohé deriváty substituovaných purinů byly izolovány z přírodních zdrojů a byly u nich prokázány významné biologické účinky. Tím vzrostla snaha získat syntetické purinové sloučeniny, které by našly uplatnění jako léčiva závažných onemocnění.

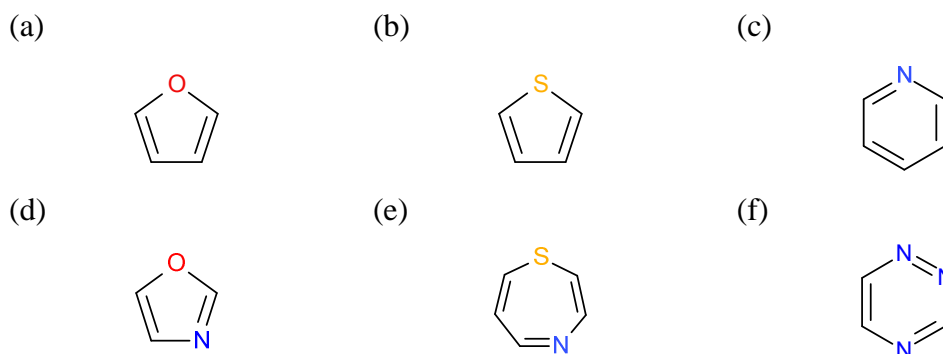
Biologická aktivita je do značné míry ovlivněna substitucí purinového kruhu. Široké uplatnění v oblasti léčiv by mohly najít zejména 2,6,9-trisubstituované puriny, které jsou úspěšně studovány např. jako nízkomolekulární syntetické inhibitory CDK cyklin-dependentních kináz vykazující zajímavé farmakokinetické, farmakodynamické a toxikologické parametry.

Jak už bylo naznačeno, tak biologické a farmakologické účinky jsou vázány na substituenty purinového kruhu. Proto je také důležité usnadnit substituci chloru v poloze C2 purinového skeletu, neboť v této poloze probíhají substituce neochotně na rozdíl od poloh C6 a N9 purinových sloučenin. Schopnost navázat některé substituenty ovšem není jediným problémem. Po úspěšném vyřešení této hádanky týkající se struktury totiž přichází třeba i několikaleté testování, zda by mohla být daná sloučenina využívána jako vhodné léčivo.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 HETEROCYKICKÉ SLOUČENINY

Pro skupinu organických sloučenin označovaných jako heterocyklické je charakteristické, že součástí jejich kruhu je jeden nebo více heteroatomů [1]. Nejčastěji vyskytujícími se heteroatomy jsou kyslík, dusík a síra. Podle toho jaký heteroatom se v cyklu nachází, můžeme tuto skupinu sloučenin dělit na kyslíkaté, sirlé či dusíkaté. Aby mohly být heteroatomy součástí kruhu, musí být alespoň dvojnásobné [2,3]. Dalším kritériem pro dělení heterocyklických sloučenin je počet atomů tvořících heterocyklický systém a počet heteroatomů v molekule. Nejčastěji se vyskytují pěti-, šesti- a vícečlenné heterocykly s jedním nebo více heteroatomy v molekule (Obrázek 1). Další významnou skupinu představují heterocyklické sloučeniny označované jako kondenzované [2,3]. Jedná se o sloučeniny vzniklé vzájemnou kondenzací, tedy spojením cyklů.



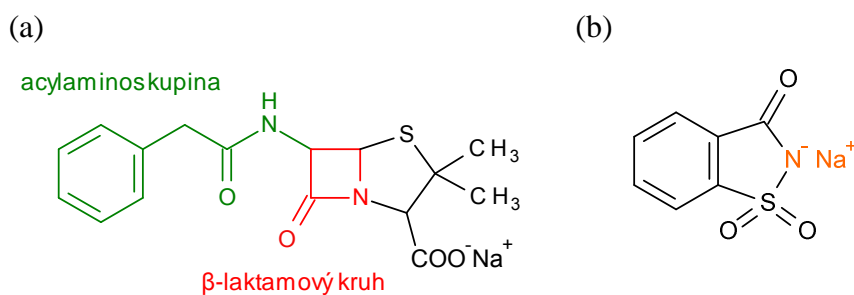
**Obrázek 1.** Strukturální vzorce vybraných heterocyklických sloučenin; (a) furan, (b) thiofen, (c) pyridin, (d) 1,3-oxazol, (e) 1,4-thiazepin, (f) 1,2,4-triazin.

Pro heterocyklické sloučeniny se obecně používá Hantzschův-Widmanův názvoslovný systém, jehož nevýhoda spočívá v tom, že často poskytuje těžkopádné názvy, především u složitějších sloučenin. Cyklus čísujeme tak, aby měl heteroatom číslo jedna, a dále postupujeme v kruhu. Nachází-li se v kruhu větší počet heteroatomů, řídíme se tímto pořadím nadřazenosti:  $O > S > N > P$ . Tento názvoslovný systém spočívá také ve vyjádření přítomnosti heteroatomů pomocí ,a'-předpon (Tabulka 1), případně násobících ,a'-předpon – nachází-li se ve sloučenině více heteroatomů. Velikost kruhu se dále znázorňuje pomocí přípon neboli kmenů [2,3]. Nutno podotknout, že při pojmenovávání heterocyklických sloučenin se velmi často používá triviálního názvosloví. Důvodem je zejména jeho jednoduchost či schopnost usnadnit případnému čtenáři představit si strukturu dané látky (v případě, že není uveden její strukturální vzorec), ale také tolerance tohoto typu nomenklatury ze strany odborné veřejnosti či jiných autorit (např. IUPAC z angl. International Union of Pure and Applied Chemistry).

**Tabulka 1.** Vybrané heteroatomy znázorněné pomocí „a”-předpon [2].

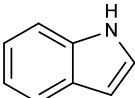
Heteroatom	Předpona	Heteroatom	Předpona
O	oxa	As	arsa
S	thia	Sb	stiba
Se	selena	Bi	bisma
Te	tellura	Si	sil
N	aza	Pb	plumba
P	fosfa	B	bora

Heterocyklické sloučeniny tvoří rozmanitou skupinu organických látek, od kterých byla odvozena řada přírodních, ale i syntetických biologicky aktivních látek, jako jsou léčiva, barviva, alkaloidy, vitaminy a mnohé další [2]. Významným zástupcem je například penicilin G odvozený od thiazolu. Penicilin patří do skupiny  $\beta$ -laktamových antibiotik. Ve struktuře tohoto léčiva se nachází čtyřčlenný cyklický amid v podobě laktamového kruhu kondenzovaného s pětičlenným cyklem obsahujícím atom síry (Obrázek 2a). Účinek penicilinu G je baktericidní a spočívá v inhibici buněčné stěny především grampozitivních bakterií, zejména pak streptokoků, stafylokoků, meningokoků a enterokoků [4,5,6]. Za zmínku stojí i nejstarší nízkokalorické sladidlo sacharin (Obrázek 2b). Z hlediska chemické struktury se jedná o sodnou sůl anhydridu sulfaminbenzoové kyseliny. Tato látka je mnohem sladší než běžné přírodní cukry – v porovnání se sacharózou vykazuje sacharin 200–700krát vyšší sladivost. Vysoká sladivost sacharinu je do značné míry ovlivněna jeho chemickou strukturou. Dojde-li například k otevření heterocyklu, tak se sladkost vytrácí. Ke ztrátě sladké chuti dochází také v případě, kdy je sulfonová skupina nahrazena karboxylovou. Naopak je-li karboxylová skupina zpět nahrazena skupinou sulfonovou, pak se opět objevuje sladká chuť. Sladkou chuť může často doprovázet kovová až hořká příchut', kterou je možné potlačit kombinací s jinými sladidly [1,7,8]. Sacharin je velice stabilní v potravinách, a to i při tepelném zpracování. Můžeme se s ním setkat například v limonádách či mléčných nápojích se sníženým obsahem využitelné energie [1,7].

**Obrázek 2.** Strukturální vzorce penicilinu G (a) a sacharinu (b) [1,7].

Takto by bylo možné dále pokračovat s výčtem heterocyklických sloučenin přírodního nebo syntetického původu, které mají řadu významných rolí a s nimiž se lze běžně setkat. Pro názornost lze uvést ještě několik příkladů v podobě stručné Tabulky 3 [4,9].

**Tabulka 2.** Heterocyklické sloučeniny a jejich významné deriváty [4].

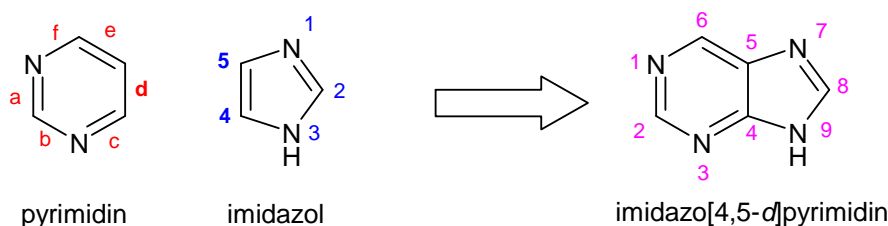
Struktura heterocyklu	Triviální název	Významné deriváty
	pyrrol	porfín (hem, kobalamin) bilirubin (degradační produkt hemu) prolin (kódovaná aminokyselina)
	indol	tryptofan (kódovaná aminokyselina) serotonin (neurotransmitter) LSD (psychedelická droga)
	imidazol	biotin (vitamin H) histidin (kódovaná aminokyselina) histamin (biogenní amin)
	pyrimidin	pyrimidinové báze (U, T, C) fenobarbital (antiepileptikum) thiamin (vitamin B <sub>1</sub> )
	purin	purinové báze (A, G) kofein (alkaloid) kyselina močová (metabolit purinů)

## 2 PURIN A JEHO BIOISOSTERY

### 2.1 Obecná charakteristika purinových sloučenin

Puriny tvoří významnou skupinu heterocyklických sloučenin. Kromě uhlovodíkového řetězce obsahují ve své struktuře i atomy dusíku. Jedná se tedy o dusíkaté heterocyklické sloučeniny. Pojmenování purinů je odvozeno z latiny spojením slov *purum* jako čistý a *acidum uricum* tedy kyselina močová [10]. Tento název vytvořil roku 1898 německý chemik Hermann Emil Fischer, jemuž byla v roce 1902 udělena Nobelova cena za chemii. Tímto oceněním získal Hermann Emil Fischer uznání za mimořádný přínos jeho práce, která byla věnována syntéze cukrů a purinů [11].

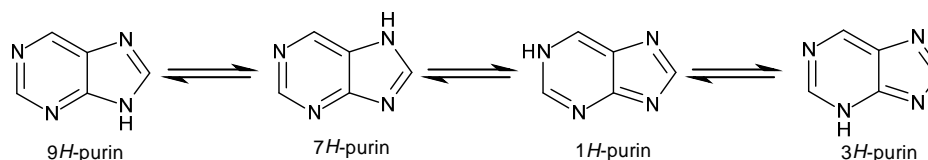
Základem skupiny purinů je sloučenina tvořící bicyklický systém, který vznikl vzájemnou kondenzací imidazolu (pětičlenného heterocyklu se dvěma atomy dusíku) a pyrimidinu (šestičlenného heterocyklu se dvěma atomy dusíku), jak je naznačeno na Obrázku 3 [12,13]. Nejprve je nutné určit, který z těchto dvou cyklů, tvořících kondenzovaný systém, bude představovat základ. V tomto případě má přednost pyrimidin. Preference pyrimidinu vychází z nadřazenosti 6-členného heterocyklu nad 5-členným. Každá vazba základního cyklu má přiřazeno malé písmeno abecedy ve směru číslování. Podle pravidel číslování očíslováme také přikondenzovaný cyklus. Jeho název je zakončen příponou -o-, poté je vložena hranatá závorka obsahující čísla napojeného cyklu a malé písmeno vazby základního cyklu z místa spoje. Systematický název purinového skeletu tedy zní imidazo[4,5-*d*]pyrimidin. Konečný název příslušného kondenzovaného systému má své vlastní číslování, které se řídí obecnými pravidly [14,15].



**Obrázek 3.** Struktura purinového skeletu a tvorba jeho systematického názvu [1].

Důležitou vypovídací schopnost v názvu purinových (ale také ostatních heterocyklických sloučenin) má specifikace polohy atomu vodíku v molekule, např. *7H*-purin nebo *9H*-purin. Tato část názvu dané sloučeniny udává polohu atomu vodíku na jednom ze čtyř atomů dusíku a je úzce spojena s tautomerní formou dané látky [13,14].

Obecně se může purin vyskytovat ve čtyřech tautomerních formách (Obrázek 4). Nejběžnějším a nejstabilnějším tautomerem je již zmiňovaný *9H*-purin, který tvoří ve vodných roztocích téměř ekvimolární směs s formou *7H*-purinu. *1H*-purin a *3H*-purin se dosud nepodařilo objevit [13,14].



**Obrázek 4.** Možné tautomerní formy purinu [1].

Samotný purin se v přírodě prakticky nenachází. Nicméně, tento heterocyklický systém lze nalézt v celé řadě více či méně známých a významných molekul. Mezi ty nejnámější patří bezesporu kofein obsažený v čaji a kávě, nebo theobromin nacházející se v kakaových bobech. Deriváty purinu jsou značně rozšířené nejen v rostlinné, ale také v živočišné říši. Mohou se vyskytovat v podobě dusíkatých bází, které se podílejí na stavbě DNA a RNA. Kyselina močová je pak u člověka konečným produktem metabolismu purinů [9].

Z obrázků uvedených výše je patrné, že se v purinovém skeletu nachází čtyři atomy dusíku. Atomy dusíku, které nemají navázaný atom vodíku, jsou bazické a jejich ne vazebné elektronové páry v orbitalech  $sp^2$  jsou v rovině kruhu. Poslední z purinových atomů dusíku s navázaným kyselým atomem vodíku není bazický, tudíž není přístupný pro kyselinu. Tento dusík má ne vazebný elektronový pár, který je součástí aromatického  $\pi$ -elektronového systému [1]. V polohách 2 a 6 purinového kruhu vzniká, v důsledku elektronegativity dusíkových atomů, elektronový deficit. Poněkud menší deficit může vznikat také v poloze 8. Purinový skelet nemá centra schopna reagovat s elektrofilními činidly [16].

## 2.2 Bioisostery purinu

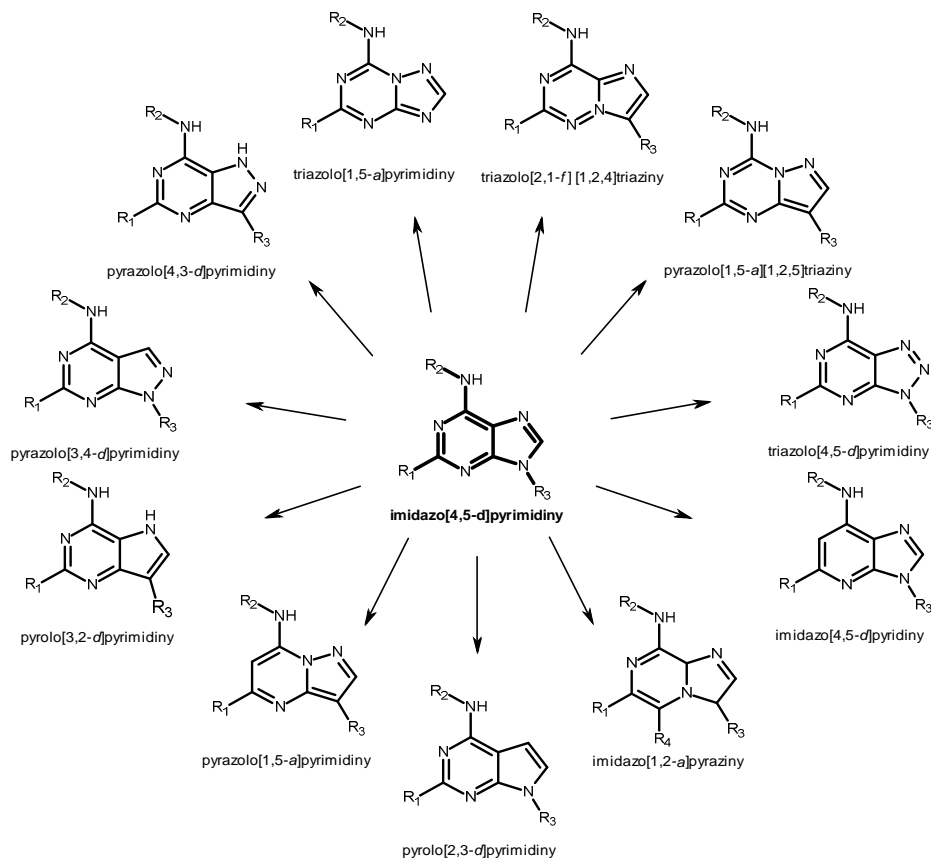
Bioisostery vznikají záměnou funkčních skupin, případně změnou uspořádání atomů. V tomto případě se tedy jedná o sloučeniny, které mají podobnou strukturu jako purin, ale liší se prostorovým uspořádáním, což má vliv na fyzikální a chemické vlastnosti výsledných látek jako je rozpustnost, reaktivita, hydrofobicita, elektrostatický potenciál a další. Zmíněné změny mohou takto modifikované látky přinést řadu zajímavých vlastností (v porovnání s původní

molekulou) jako je vyšší biologická aktivita, lepší farmakokinetický profil, snížení nežádoucích účinků atp. [17].

Přehled vybraných purinových bioisosterů je přehledně znázorněn na Obrázku 5. V tomto případě se jedná o sloučeniny, které byly připravovány s cílem studovat jejich schopnost selektivně inhibovat cyklin-dependentní kinázy (CDK), přesněji různé typy heterodimerních komplexů CDK/cyklin [17]. U většiny uvedených bioisosterů byl zachován počet a umístění substituentů (chápáno ve smyslu původní molekuly) a změna jejich struktury tak byla zapříčiněna jednou z následujících možností:

- presunutí jednoho atomu dusíku v molekule;
- snížení počtu atomů dusíku v molekule na tři;
- zvýšení počtu atomů dusíku v molekule na pět.

Objevují se zde ovšem také sloučeniny, u nichž došlo, vyjma jedné z výše uvedených možností týkajících se atomu dusíku, také ke snížení nebo zvýšení počtu substituentů v molekule. Jedná se např. o disubstituované deriváty triazolo[1,5-*a*]pyrimidinu nebo tetrasubstituované imidazo[1,2-*a*]pyraziny.



**Obrázek 5.** Příklady známých purinových bioisosterů.



### 3 2,6,9-TRISUBSTITUOVANÉ PURINY

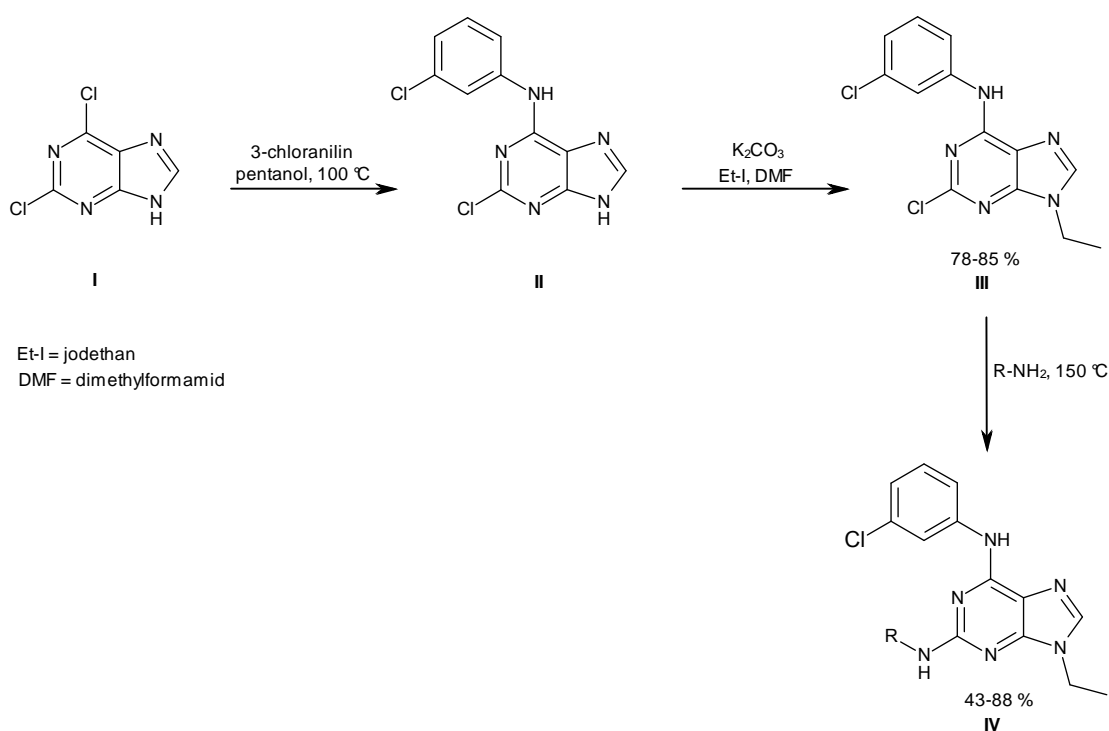
#### 3.1 Možnosti syntézy 2,6,9-trisubstituovaných purinů

V dnešní době existuje mnoho metod, jakými lze připravit 2,6,9-trisubstituované puriny. Ovšem zmínit všechny doposud existující metody přípravy 2,6,9-trisubstituovaných purinů by bylo v rámci této práce nemožné. Proto budou uvedeny tři nejvýznamnější a v praxi nejpoužívanější postupy, a sice klasická metoda, metoda pevné fáze a mikrovlnami asistované syntézy.

##### 3.1.1 Klasická metoda

Pravděpodobně nejznámější a nejpoužívanější metodou přípravy je klasická organická syntéza v roztoku, která nabízí hned několik alternativ jak získat různé série 2,6,9-trisubstituovaných purinů. Výchozí látkou bývá běžně dihalogenpurin, nejčastěji pak komerčně dostupný 2,6-dichlorpurin [18,19]. Volba vhodného postupu je ovlivněna celou řadou faktorů, např. jaké substituenty je třeba navázat, případně jaké podmínky reakce vyžaduje. Ve většině případů se jedná o třístupňovou syntézu, jak je ostatně znázorněno na Schématu 1 [20,21].

#### Schéma 1



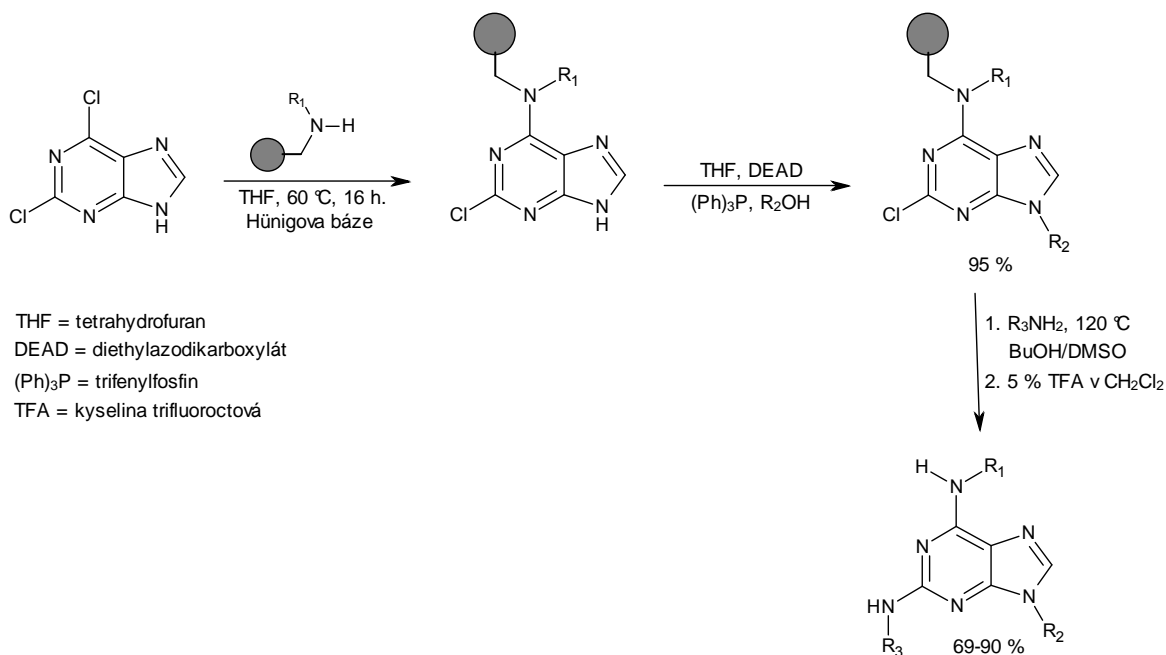
V uvedeném případě dochází v prvním kroku k zavedení 3-chloranilinu do polohy 6 purinového kruhu, a to jeho reakcí s 2,6-dichlor-9*H*-purinem (**I**) v přítomnosti pentanolu. Poté následuje alkylace na N9, kdy sloučenina **II** reaguje s jodethanem v přítomnosti uhličitanu draselného a dimethylformamidu za vzniku derivátu **III**. V tomto případě je možný vznik N7-alkylovaného derivátu potlačen prostorovým bráněním objemného substituentu, který byl v prvním kroku zaveden na C6 purinového skeletu. V posledním kroku je sloučenina **III** podrobena reakci s příslušným primárním aminem. Tato reakce může probíhat jak v přítomnosti rozpouštědla (např. dimethylsulfoxidu) nebo za jeho vyloučení, a to v případě použití velkého přebytku příslušného aminu. Nutno podotknout, že dle autorů celé řady publikovaných studií představuje substituce atomu chloru v poloze 2 nejproblematictější krok při přípravě 2,6,9-trisubstituovaných purinů. Substituce na C2 vyžaduje často kromě značného přebytku příslušného substituentu také relativně vysoké teploty (150 °C a více), případně delší reakční dobu (často i několik dní) [20,22].

### 3.1.2 Metoda pevné fáze

Další cestou k získání 2,6,9-trisubstituovaných purinů může být metoda pevné fáze (z angl. solid phase synthesis). Jednou z hlavních předností metody pevné fáze je bezesporu rychlá syntéza řady sloučenin, které nevyžadují individuální přístup. Pevnou fází se rozumí zakotvení některých reaktantů na částicích vhodného polymeru, který lze po skončení reakce odštěpit. V tomto případě je nosičem polymerní pryskyřice v podobě kuliček, ty se totiž osvědčily jako ideální pevný nosič. Produkty z jedné reakce jsou poté rozděleny a poskytují reakce s dalšími reaktanty v posloupnosti. Stejně jako u klasické syntézy v roztoku, která je popsána výše, se také v tomto případě mnohdy vychází z 2,6-dichlor-9*H*-purinu (Schéma 2). Nejprve dochází k navázání alifatického či aromatického aminu na pryskyřici. Následně reaguje příslušný amin, vázaný na pevný nosič, s výchozím 2,6-dichlor-9*H*-purinem. Tato část reakce probíhala při 60 °C po dobu 16 hodin v přítomnosti Hünigovy báze (*N,N*-diisopropylethylamin) a tetrahydrofuranu (THF), který funguje jako prekurzor polymerní pryskyřice. Ve druhém kroku dochází k zavedení požadovaného substituentu do polohy 9. Z podmínek uvedených na Schématu 2 je patrné, že reaktantem není halogenderivát (jako v případě klasické syntézy uvedené na Schématu 1), ale alkohol (primární či sekundární). Použití odlišného reaktantu samozřejmě vyžaduje odlišné reakční podmínky a použitá činidla. Zmiňované reakce probíhaly v přítomnosti trifenylfosfinu ((Ph)<sub>3</sub>P), diethylazodikarboxylátu (DEAD), jehož protonizace kyselinou potlačuje vznik

nežádoucích vedlejších produktů [22], a THF jako rozpouštědla. Posledním krokem byla také v tomto případě substituce atomu chloru v poloze 2. Jednotlivé reakce byly prováděny ve směsi butanol:dimethylsulfoxid v poměru 4:1 (v:v) při teplotě 100 °C. Pevná fáze se následně účinně oddělí 5 %-ní kyselinou trifluoroctovou (TFA) v dichlormethanu [23].

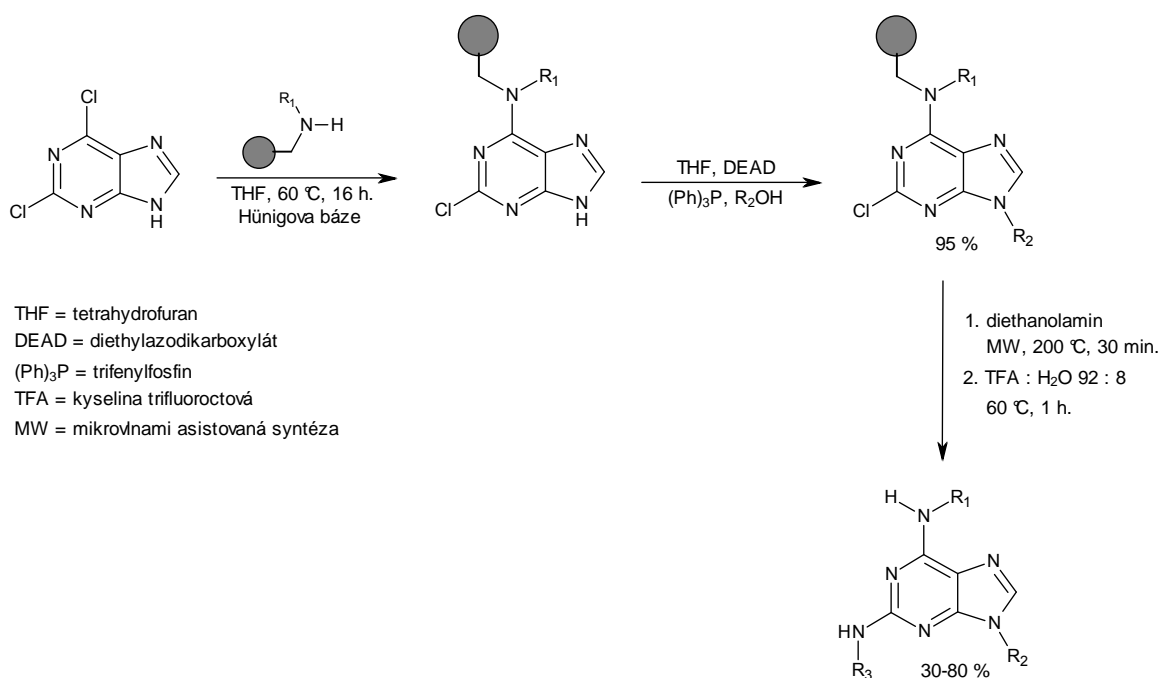
Schéma 2



### 3.1.3 Mikrovlnami asistované syntézy

Metoda mikrovlnného ohřevu může být využita jak v klasické syntéze v roztoku tak i s využitím metody pevné fáze. Co se týká metody pevné fáze s využitím mikrovlnného záření, tak také v tomto případě může být nosičem reaktantu polymerní pryskyřice, která se při tomto typu syntéz osvědčila. Jak již bylo uvedeno výše, substituce halogenu, zejména pak atomu chloru, v poloze 2 je velmi náročná, a to především z časového hlediska. V tomto ohledu přineslo využití mikrovlnného záření značné usnadnění, zvláště pak ve vztahu k ohřevu reakční směsi, čímž se výrazně snížila doba reakce. Použitím mikrovlnného záření došlo dále k výraznému zlepšení výtěžnosti. [24,25]. Na Schématu 3 je jako příklad uvedena příprava 2,6,9-trisubstituovaných purinů pomocí mikrovlnného ohřevu, a to v kombinaci se syntézou na pevné fázi. Jednotlivé kroky jsou v podstatě shodné jako u syntézy uvedené na Schématu 2, s rozdílem posledního kroku, v němž dochází k reakci pryskyřice s dvěma typy alifatických aminů. Reakce byly prováděny při teplotě 200 °C po dobu 30 minut. Požadovaný produkt je poté uvolněn z pryskyřice směsí kyseliny trifluoroctové a vody v poměru 92:8 (v:v) při teplotě 60 °C.

Schéma 3

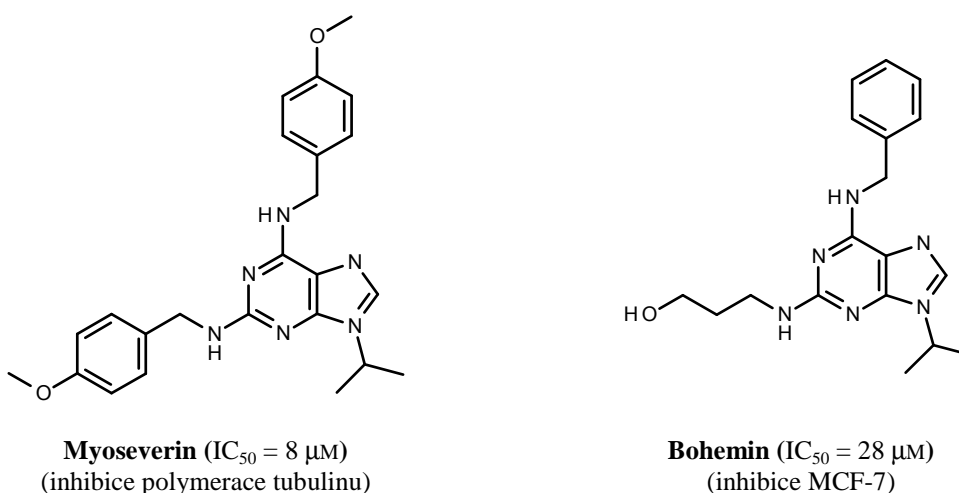


### 3.2 Biologická aktivita 2,6,9-trisubstituovaných purinů

Ze všech doposud testovaných purinových látek, byla největší účinnost pozorována zejména u 2,6,9-trisubstituovaných purinů [21]. Některé z těchto sloučenin mohou vykazovat silné protinádorové účinky, nicméně jejich toxicita je natolik vysoká, že je nelze využít v klinické praxi. Proto je třeba zaměřit se na vývoj nových léčiv s absencí vedlejších účinků. Protinádorová léčba je často zaměřena na inhibici buněčných struktur, v tomto případě zejména mikrotubulů nádorových buněk. V sérii 2,6,9-trisubstituovaných purinů byl testován myoseverin (Obrázek 6), který inhibuje polymerizaci tubulinu, základní složky mikrotubulů, a zasahuje tak do tvorby mitotického aparátu. Na buněčné úrovni tedy způsobuje destrukci mikrotubulární sítě a vykazuje tlumící účinek na růst mnoha buněčných nádorových linií. Průměrný inhibiční účinek myoseverinu vyjádřený hodnotou IC<sub>50</sub> činí 8 μM (IC<sub>50</sub> značí koncentraci inhibitoru potlačující 50 % aktivity testovaného biologického materiálu). Tato hodnota tedy vypovídá o účinnosti myoseverinu při inhibici polymerace tubulinu. Myoseverin se vyznačuje nízkou toxicitou, což naznačuje, že by mohl najít uplatnění v klinické praxi jako cytostatikum. [26,27,28].

Popsány byly rovněž 2,6,9-trisubstituované puriny vykazující protinádorové účinky založené na inhibici cyklin-dependentních kináz (CDK). CDK jsou enzymy patřící mezi serin/threonin proteinkinázy a jsou důležité v regulaci buněčného cyklu. Zvýšením aktivity

nebo poruchou inhibice CDK může pravděpodobně dojít ke vzniku nádorů. CDK totiž reagují s geny, které způsobují nádorové bujení, jedná se o tzv. onkogeny. Naopak přirozené inhibitory CDK brání bujení nádorových buněk. Tento poznatek vedl ke snaze získat nízkomolekulární syntetické inhibitory CDK s vhodnými farmakokinetickými, farmakodynamickými a toxikologickými parametry. Jedním z prvních popsaných syntetických inhibitorů CDK je bohemín (Obrázek 6), který působí na široké spektrum nádorových modelů. Příkladem může být inhibice nádorových buněk MCF-7 (lidský karcinom prsu) s hodnotou  $IC_{50} = 28 \mu\text{M}$ . Toxicita této látky je poměrně malá a na rozdíl od jiných cytostatik se projevuje sedativním účinkem [26].

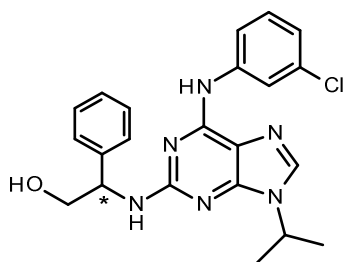


**Obrázek 6.** Strukturní vzorce myoseverinu a bohemínu [26,27].

V Evropě patří nádorová onemocnění mezi nejobávanější choroby, na rozdíl od afrických zemí, kde podobné obavy vyvolává mozková malárie, která velice často končí smrtí. Původcem tohoto onemocnění je parazitický prvok *Plasmodium falciparum*. Aktivita antimalarik odvozených od 2,6,9-trisubstituovaných purinů spočívá převážně v inhibici PfPK5 (z angl. *Plasmodium falciparum* protein kinase 5), což je v podstatě CDK již zmíněného prvoka *Plasmodium falciparum*. Cílem je tedy získat sloučeniny, které budou dostatečně účinné, ale také budou vyhovovat farmakokinetickým, farmakodynamickým a toxikologickým parametrům.

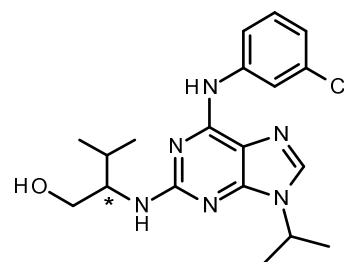
Sloučeniny uvedené na Obrázku 7 (vlevo) jsou enantiomery (sloučeniny mající na všech stereogenních centrech v molekule opačnou konfiguraci), které mají v substituentu hydroxyethylaminu vázaného v poloze C2 navázaný fenyl. Zatímco (*S*)-izomer vykazuje aktivitu proti *Plasmodium falciparum* s průměrnou hodnotou  $IC_{50} = 0,53 \mu\text{M}$ , pak u (*R*)-izomeru nebyla aktivita proti tomuto parazitu pozorována ani v nejvyšší testované

koncentraci (tj. 10  $\mu\text{M}$ ). Vliv absolutní konfigurace na inhibici *Plasmodium falciparum* byl studován také u sloučeniny obecně známé jako purvalanol A (Obrázek 7), která mimo jiné selektivně a také velmi silně inhibuje CDK. V tomto případě bylo zjištěno, že účinnost obou enantiomerů je vůči testovanému cíli velmi podobná, s hodnotami  $\text{IC}_{50} = 0,55 \mu\text{M}$  pro (*R*)-izomer a  $\text{IC}_{50} = 0,42 \mu\text{M}$  pro (*S*)-izomer [29]. Stereogenní centra sloučenin uvedených na Obrázku 7 jsou vyznačena hvězdičkou.



*S*-enantiomer ( $\text{IC}_{50} = 0,53 \mu\text{M}$ )

*R*-enantiomer ( $\text{IC}_{50} = >10 \mu\text{M}$ )



*S*-purvalanol A ( $\text{IC}_{50} = 0,42 \mu\text{M}$ )

*R*-purvalanol A ( $\text{IC}_{50} = 0,55 \mu\text{M}$ )

**Obrázek 7.** Strukturální vzorce a hodnoty  $\text{IC}_{50}$  vybraných purinových sloučenin inhibujících *Plasmodium falciparum* [29] Chirální atom uhlíku je označen hvězdičkou.

## **II. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

## 4 PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ A INSTRUMENTÁLNÍ METODY

Teploty tání ( $t_f$ ) byly měřeny na Koflerově bloku, tyto teploty nejsou korigovány. Elementární analýzy (C, H, N) byly prováděny na přístroji Flash EA 1112 Automatic Elemental analyzer (Thermo Fisher Scientific). Retenční faktory ( $R_f$ ) byly určeny TLC analýzou za použití destiček typu Alugram Sil G/UV firmy Macherey-Nagel. Jako mobilní fáze byla použita směs petrolether/ethyl-acetát v poměrech (1/1, v/v) jako systém a nebo chloroform/methanol (8/1, v/v) jako systém b. NMR spektra byla měřena na přístroji Bruker Avance 300 při frekvenci 300,13 MHz ( $^1\text{H}$ ) a 75,77 MHz ( $^{13}\text{C}$ ). Jako interní standard bylo používáno rozpouštědlo ( $^1\text{H}$ :  $\delta(\text{reziduální CHCl}_3) = 7,27$  ppm;  $^{13}\text{C}$ :  $\delta(\text{reziduální CHCl}_3) = 77,23$  ppm. Při vypisování protonových spekter byly použity následující zkratky: s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kvartet, m = multiplet. Infračervená spektra byla měřena na spektrometru FT-IR Nicolette iS10 (Thermo Scientific) v podobě KBr tablet. Symboly použité při vypisování spekter značí intenzitu daného absorpčního pásu: w = slabá, m = střední, s = silná; případně jeho šířku b = široký pás. Pro kvantitativní analýzu reakčních směsí byl použit plynový chromatograf Shimadzu GC-2010 v kombinaci s hmotnostním spektrometrem Shimadzu GCMS-QP2010 vybaveným kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem (GC-EI-MS) a integrovanou knihovnou spekter NIST 02. Chromatografická kolona: Supelco SLB-5ms (30 m; 0,25 mm). Jako nosný plyn bylo použito helium s konstantním průtokem  $38 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ . Teplotní program:  $100 \text{ }^\circ\text{C}/7 \text{ min}$ ,  $25 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  zvýšení na teplotu  $250 \text{ }^\circ\text{C}$ , jež byla držena patřičně dlouhou dobu. Teplota nástřiku  $250 \text{ }^\circ\text{C}$ . Iontový zdroj:  $200 \text{ }^\circ\text{C}$ , 70 eV. Při vypisování hmotnostních spekter byly brány v úvahu signály s relativním zastoupením alespoň 5 %. Rentgenostrukturní analýza byla provedena na difraktometru Kuma KM-4-CCD. Jednotlivé struktury byly řešeny a zpřesňovány pomocí programu *SHELXS97*, pro grafické zpracování byl použit program *ORTEP-3*.



## 4.1 Příprava 2,6,9-trisubstituovaných purinů

### 4.1.1 Přímá alkylace 2,6-dichlor-9H-purinu 2-jodpropanem

#### 2,6-Dichlor-9-isopropyl-9H-purin (2a)

Titulní látka byla připravena mírně modifikovaným literárním postupem [30]. Do baňky o objemu 250 cm<sup>3</sup> bylo naváženo 4,5 g (23,8 mmol) 2,6-dichlor-9H-purinu (1), který byl následně rozpuštěn přidáním 50 cm<sup>3</sup> dimethylsulfoxidu. Vzniklý nažloutlý roztok byl zchlazen ve vodní lázni na teplotu 15 °C, poté bylo přidáno 9,9 g (71,4 mmol) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 11,9 cm<sup>3</sup> (119 mmol) 2-jodpropanu v uvedeném pořadí. Reakce probíhala 8 hodin (monitorováno pomocí TLC) za nepřetržitého míchání a chlazení malým množstvím ledu na teplotu 15–18 °C. Po ukončení reakce bylo do směsi přidáno 50 cm<sup>3</sup> vody a směs byla extrahována v dělicí nálevce diethyletherem. V horní části baňky došlo k oddělení organického podílu, který byl sbírán do kádinky, zatímco vodný podíl byl vrácen do děličky a promýván dalšími podíly etheru. Tento postup byl opakován osmkrát, kdy každá extrakce byla prováděna 15 cm<sup>3</sup> etheru. Spojené organické podíly byly následně promyty nasyceným roztokem NaCl (2 × 15 cm<sup>3</sup>), sušeny nad síranem sodným a odpařeny na rotační vakuové odparce (RVO). Odpařením byl získán surový produkt v podobě jemně žlutého krystalického prášku, který byl dále dočištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a), čímž došlo k oddělení vznikajících N7 a N9 isomerů. Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 3,93 g (71 %); *t<sub>r</sub>* = 148–150 °C; *R<sub>f</sub>* = 0,56 (systém b).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1,64 (d, *J* = 6,9 Hz, 6H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 4,92 (septet, *J* = 6,9 Hz, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 8,18 (s, 1H, NC<sup>8</sup>HN) ppm. <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 22,8(CH<sub>3</sub>); 48,7(CH); 131,2(C); 143,5(CH); 152,2(C); 152,8(C); 153,7(C) ppm. IR (KBr): 3119(w), 2986(w), 1783(w), 1589(s), 1556(s), 1488(m), 1462(m), 1359(s), 1318(m), 1276(m), 1245(s), 1216(s), 1187(m), 1158(s), 1139(m), 1108(w), 1090(w), 997(m), 959(m), 872(s), 779(m), 682(w), 595(m) cm<sup>-1</sup>. GC-MS *m/z* (%): 234(M<sup>+</sup>(<sup>37</sup>Cl)<sub>2</sub>, 4), 232(M<sup>+</sup>(<sup>35</sup>Cl+<sup>37</sup>Cl), 22), 231(5), 230(M<sup>+</sup>(<sup>35</sup>Cl)<sub>2</sub>, 36), 217(6), 215(9), 197(7), 195(21), 192(11), 191(7), 190(68), 189(14), 188(100), 179(7), 161(6), 155(12), 153(41), 126(6), 118(5), 111(5), 99(5), 92(14), 91(6), 86(8), 85(6), 77(6), 76(7), 73(6), 65(6), 64(7), 47(6), 43(54), 42(15), 41(68), 40(7).

C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>2</sub>N Vyp. složení: 41,58 % C; 3,49 % H; 24,25 % N

Exp. složení: 41,51 % C; 3,51 % H; 24,10 % N

**2,6-Dichlor-7-isopropyl-7H-purin (2b)**

Titulní látka byla připravena analogickým postupem a ze stejných navážek jako předchozí **2a**. Čistý produkt **2b** byl získán v minoritním množství v podobě světle žlutého krystalického prášku bez bližší specifikace výtěžnosti;  $t_f = 151\text{--}154\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0,50$  (systém b).

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,68 (d,  $J = 6,7$  Hz, 6H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 5,23 (septet,  $J = 6,7$  Hz, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 8,40 (s, 1H,  $\text{NC}^8\text{HN}$ ) ppm.  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  23,7( $\text{CH}_3$ ); 50,3( $\text{CH}$ ); 121,6( $\text{C}$ ); 143,8( $\text{CH}$ ); 147,2( $\text{C}$ ); 153,2( $\text{C}$ ); 163,8( $\text{C}$ ) ppm. IR (KBr): 3111(w), 2985(w), 1824(w), 1597(s), 1529(s), 1462(s), 1403(s), 1315(s), 1277(m), 1198(m), 1167(s), 1140(m), 1103(m), 1041(w), 997(s), 916(m), 869 (s), 783(s), 683(w), 663(m), 634(s), 611(m), 590(w)  $\text{cm}^{-1}$ . GC-MS  $m/z$  (%): 234( $\text{M}^+(\text{}^{37}\text{Cl}_2)$ , 8) 233(5), 232( $\text{M}^+(\text{}^{35}\text{Cl}+\text{}^{37}\text{Cl})$ , 42), 231(7), 230( $\text{M}^+(\text{}^{35}\text{Cl}_2)$ , 67), 217(36), 216(6), 215(59), 192(6), 191(12), 190(31), 189(20), 188(49), 181(5), 179(16), 155(24), 154(7), 153(73), 134(6), 127(6), 126(8), 118(7), 101(5), 100(6), 99(7), 92(8), 91(7), 86(5), 85(6), 65(6), 64(8), 53(7), 43(100), 42(15), 41(73), 40(6).

$\text{C}_8\text{H}_8\text{Cl}_2\text{N}$  Vyp. složení: 41,58 % C; 3,49 % H; 24,25 % N

Exp. složení: 41,89 % C; 3,62 % H; 23,90 % N

**4.1.2 Nukleofilní aromatická substituce 2,6-dichlor-9-isopropyl-9H-purinu (2a) v poloze C6**

**Obecný postup přípravy sloučenin 3–5 [19].**

2,6-Dichlor-9-isopropyl-9H-purin (**2a**) byl rozpuštěn ve směsi dimethylformamidu ( $2\text{ cm}^3$  na  $0,43\text{ mmol}$  2,6-dichlor-9-isopropyl-9H-purinu), triethylaminu ( $2,0$  molární přebytek) a příslušného aminu ( $1,05$  molární přebytek). Vzniklý roztok byl míchán při teplotě  $80\text{--}100\text{ }^\circ\text{C}$  pod chlorkalciovým uzávěrem dokud TLC neindikovala spotřebování veškerého výchozího 2,6-dichlor-9-isopropyl-9H-purinu (**2a**). Po ukončení reakce byla směs zředěna vodou (pozorována tvorba jemné sraženiny) a vodná vrstva extrahována diethyletherem ( $4 \times 10\text{ cm}^3$ ). Spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem chloridu sodného ( $2 \times 10\text{ cm}^3$ ) a sušeny nad síranem sodným. Surový produkt získaný odpařením rozpouštědla na rotační vakuové odparce byl přečištěn krystalizací z diethyletheru.

**2-Chlor-9-isopropyl-*N*-methyl-9*H*-purin-6-amin (3)**

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: 800 mg (3,46 mmol) 2,6-dichlor-9-isopropyl-9*H*-purinu (**2a**), 245 mg (3,63 mmol) methylamonium-chloridu, 960  $\mu$ l (6,90 mmol) triethylaminu, 16 cm<sup>3</sup> dimethylformamidu. Čistý produkt byl získán v podobě bezbarvých krystalků ve výtěžku 481 mg (62 %);  $t_f = 165\text{--}170\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0,24$  (systém a).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1,57 (d,  $J = 5,9$  Hz, 6H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3,19 (s, 1H, C<sup>6</sup>NHCH<sub>3</sub>); 4,81 (m, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 6,38 (s, 1H, C<sup>6</sup>NHCH<sub>3</sub>); 7,79 (s, 1H, NC<sup>8</sup>HN) ppm. <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  22,9(CH<sub>3</sub>); 27,9(CH<sub>2</sub>); 47,2(CH); 119,0(C); 137,5(CH); 149,8(C); 154,6(C); 156,2(C) ppm. IR (KBR): 3275(s), 2977(m), 2932(m), 1631(s), 1567(m), 1542(w), 1475(w), 1391(w), 1359(m), 1311(m), 1290(m), 1226(m), 1204(w), 1163(w), 1104(w), 1074(w), 979(w), 930(m), 788(w), 658(w), 638(w) cm<sup>-1</sup>. GC-MS  $m/z$  (%): 227(M<sup>+</sup>(<sup>37</sup>Cl), 31), 226(, 12), 225(M<sup>+</sup>(<sup>35</sup>Cl), 96), 210(8), 197(13), 190(6), 185(30), 184(17), 183(95), 182(30), 161(18), 157(20), 156(34), 155(63), 154(100), 153(7), 148(41), 147(13), 146(22), 133(10), 121(11), 120(13), 119(83), 106(11), 92 (17), 80(9), 79(11), 68(10), 67(17), 66(13), 65(7), 54(10), 53(16), 52(6), 43(31), 42(30), 41(46), 40(8).

C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>2</sub>N Vyp. složení: 47,90 % C; 5,36 % H; 31,03 % N

Exp. složení: 47,88 % C; 5,42 % H; 31,02% N

**2-Chlor-9-isopropyl-*N,N*-dimethyl-9*H*-purin-6-amin (4)**

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: 400 mg (1,73 mmol) 2,6-dichlor-9-isopropyl-9*H*-purinu (**2a**), 148 mg (1,82 mmol) dimethylamonium-chloridu, 500  $\mu$ l (3,64 mmol) triethylaminu, 8 cm<sup>3</sup> dimethylformamidu. Čistý produkt byl získán v podobě bezbarvých krystalků ve výtěžku 328 mg (79 %);  $t_f = 147\text{--}150\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0,39$  (systém a).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1,54 (d,  $J = 6,6$  Hz, 6H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3,50 (bs, 6H, C<sup>6</sup>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 4,82 (septet,  $J = 6,6$  Hz, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 7,74 (s, 1H, NC<sup>8</sup>HN) ppm. <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  22,9(CH<sub>3</sub>); 38,7(CH<sub>3</sub>); 46,8(CH); 119,5(C); 136,1(CH); 151,6(C); 153,8(C); 155,4(C) ppm. IR (KBr): 3102(m), 2974(m), 1725(w), 1604(s), 1560(m), 1481(w), 1404(m), 1361(m), 1310(s), 1227(s), 1188(w), 1140(m), 1146(w), 1088(w), 1033(m), 942(m), 873 (m), 784(m), 677(w), 658(m), 646(m), 609(w), 437 (w) cm<sup>-1</sup>. GC-MS  $m/z$  (%): 241(M<sup>+</sup>(<sup>37</sup>Cl), 20), 240(8), 239(M<sup>+</sup>(<sup>35</sup>Cl), 74), 224 (5), 212(23), 211(7), 210(69), 197(8),

196(8), 184(17), 182(52), 170(32), 169(9), 168(100), 161(11), 160(5), 155(9), 154(10), 153(8), 146(16), 134(6), 133(11), 132(11), 120(8), 119(53), 106(8), 105(5), 93(7), 92 (16), 79(5), 67(15), 66(7), 65(6), 53(6), 52(5), 44(47), 43 (26), 42 (24), 41(28), 40(6).

C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>2</sub>N Vyp. složení: 50,11 % C; 5,89 % H; 29,22 % N

Exp. složení: 50,22 % C; 5,93 % H; 28,97 % N

### 2-Chlor-N-ethyl-9-isopropyl-9H-purin-6-amin (5)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: 100 mg (0,43 mmol) 2,6-dichlor-9-isopropyl-9H-purinu (**2a**), 37 mg (0,45 mmol) ethylamoniumchloridu, 64 µl (0,86 mmol) triethylaminu, 2 cm<sup>3</sup> dimethylformamidu. Čistý produkt byl získán v podobě bezbarvých krystalků ve výtěžku 67 mg (65 %); *t<sub>f</sub>* = 117–120 °C; *R<sub>f</sub>* = 0,39 (systém a).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1,30 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,57 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3,72 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,80 (septet, *J* = 6,9 Hz, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 5,84 (s, 1H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 7,76 (s, 1H, NC<sup>8</sup>HN) ppm. <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 15,1(CH<sub>3</sub>); 23,0(CH<sub>3</sub>); 36,0(CH<sub>2</sub>); 47,1(CH); 119,0(C); 137,6(CH); 154,5(C); 155,5(C) ppm. IR (KBR): 3111(w), 2971(m), 2932(w), 1626(s), 1573(m), 1537(m), 1477(w), 1451(m), 1414(w), 1347(m), 1309(s), 1292(s), 1225(s), 1131(w), 1080(w), 1052(m), 1001(m), 942(m), 890(w), 845(w), 788(m), 643(m), 539(m) cm<sup>-1</sup>. GC-MS *m/z* (%): 241(M<sup>+</sup>(<sup>37</sup>Cl), 30), 240(13), 239(M<sup>+</sup>(<sup>35</sup>Cl), 95), 226(20), 225(7), 224(62), 213(10), 211(32), 199(9), 198(18), 197(27), 196(45), 184(32), 183(9), 182(100), 171(17), 169(54), 161(27), 160(17), 156(6), 155(10), 154(19), 153(8), 146(20), 134(43), 133(22), 120(6), 119(47), 118(5), 108(9), 107(12), 106(7), 93(8), 92(21), 80(7), 68(5), 67(9), 66(11), 65(6), 55(6), 54(12), 53(9), 44(74), 43(34), 42(11), 41(34), 40(6).

C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>2</sub>N Vyp. složení: 50,11 % C; 5,89 % H; 29,22 % N

Exp. složení: 50,15 % C; 5,86 % H; 28,14 % N

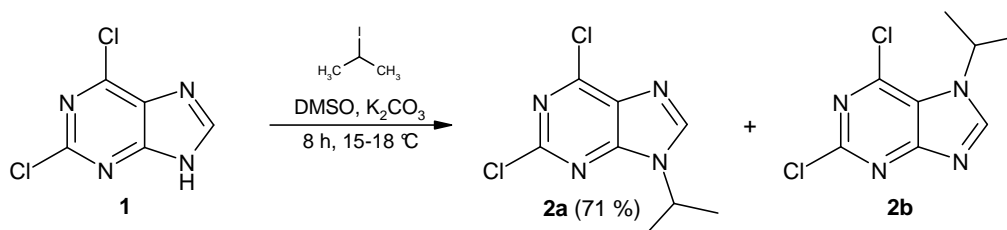
### **III. VÝSLEDKY A DISKUZE**

## 5 CHEMICKÉ SYNTÉZY A STRUKTURA PŘIPRAVENÝCH LÁTEK

### 5.1 Alkylace 2,6-dichlor-9*H*-purinu (**1**) 2-jodpropanem

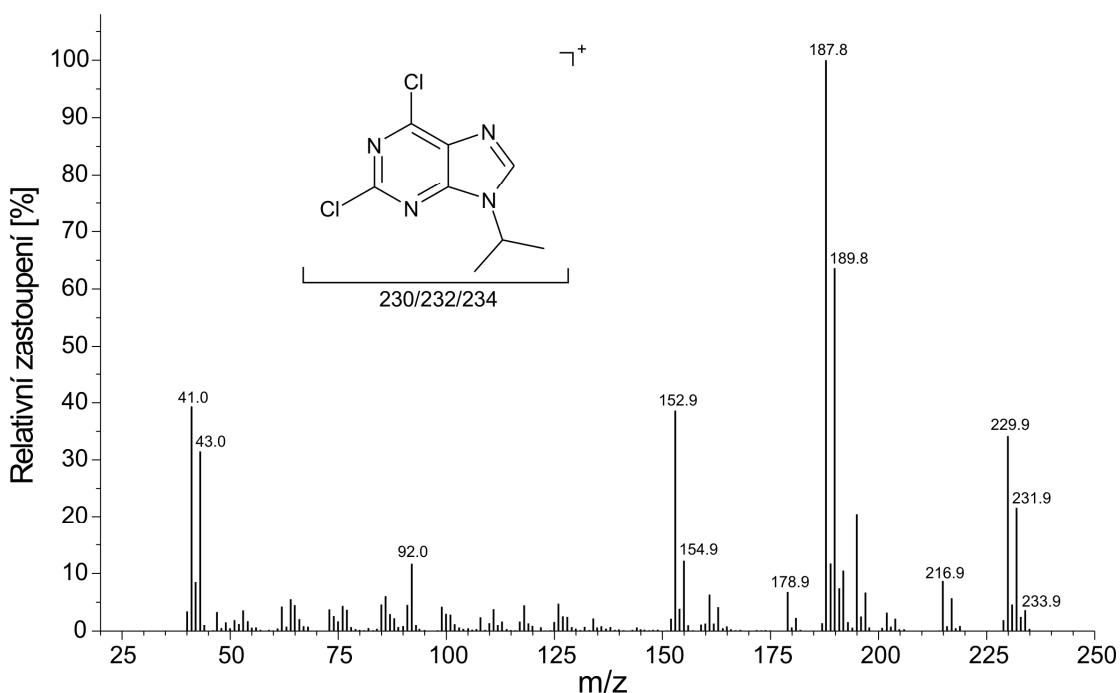
Prvním krokem přípravy uvažované série 2,6,9-trisubstituovaných purinů byla alkylace výchozího 2,6-dichlor-9*H*-purinu (**1**) do polohy N9. Výchozí látka pro tuto reakci, tedy již zmíněný 2,6-dichlor-9*H*-purin (**1**) byl zakoupen z komerčních zdrojů a dále používán bez jakýchkoliv úprav. Sloučenina **1** byla ponechána reagovat s 2-jodpropanem v dimethylsulfoxidu v přítomnosti uhličitanu draselného jako báze. Reakce byla prováděna při teplotě 15–18 °C po dobu 8 hodin. Autoři publikace [30], ze které byl pracovní postup převzat (a dále mírně modifikován) uvádějí, že v důsledku precizního udržování teploty reakční směsi v rozmezí 15–18 °C došlo pouze ke vzniku požadovaného N9-alkylovaného derivátu a tedy selektivní alkylationi do polohy 9 purinového kruhu. V případě této práce, však byl v reakční směsi, kromě majoritně zastoupeného N9 izomeru **2a**, detekován pomocí GC-MS také N7-alkylovaný derivát **2b**, jak je uvedeno na Schématu 4.

Schéma 4



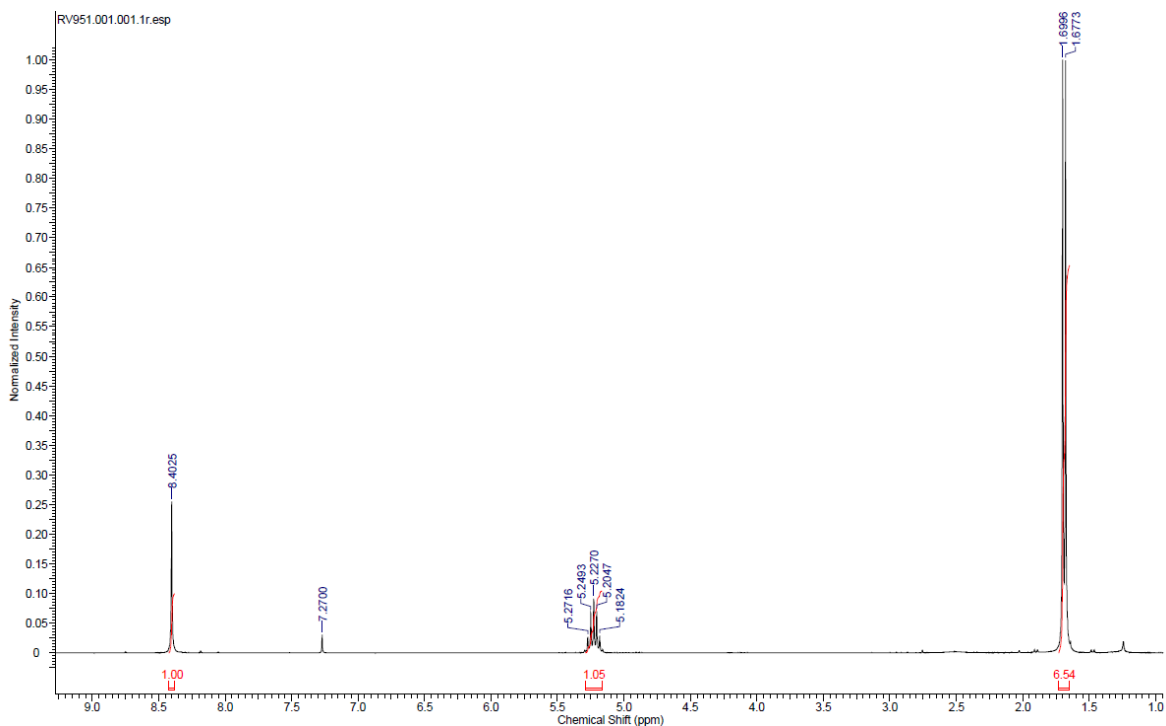
Oba zmiňované izomery byly odděleny krystalizací ze směsi ethyl-acetát/hexan a v případě zbytkového množství sloučeniny **2b** v získaném pevném podílu dále dočištěny pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v). Struktura obou připravených látek byla potvrzena běžně používanými metodami strukturní analýzy, jako jsou infračervená spektroskopie (IR), hmotnostní spektrometrie (MS) nebo nukleární magnetická rezonance (NMR).

Na Obrázku 8 je uvedeno hmotnostní spektrum sloučeniny **2a** získané technikou EI-MS. Ve spektru zcela vpravo je patrný molekulový iont obsahující signály o  $m/z$  230/232/234 v relativním zastoupení 9/6/1, což je pro sloučeniny obsahující dva atomy chloru typické. Základním píkem uvedeného hmotnostního spektra je signál o  $m/z$  188 vznikající neutrální ztrátou C<sub>3</sub>H<sub>6</sub> z původní molekuly (platí pro izotop <sup>35</sup>Cl<sub>2</sub>).



Obrázek 8. Hmotnostní spektrum sloučeniny **2a** získané technikou EI-MS.

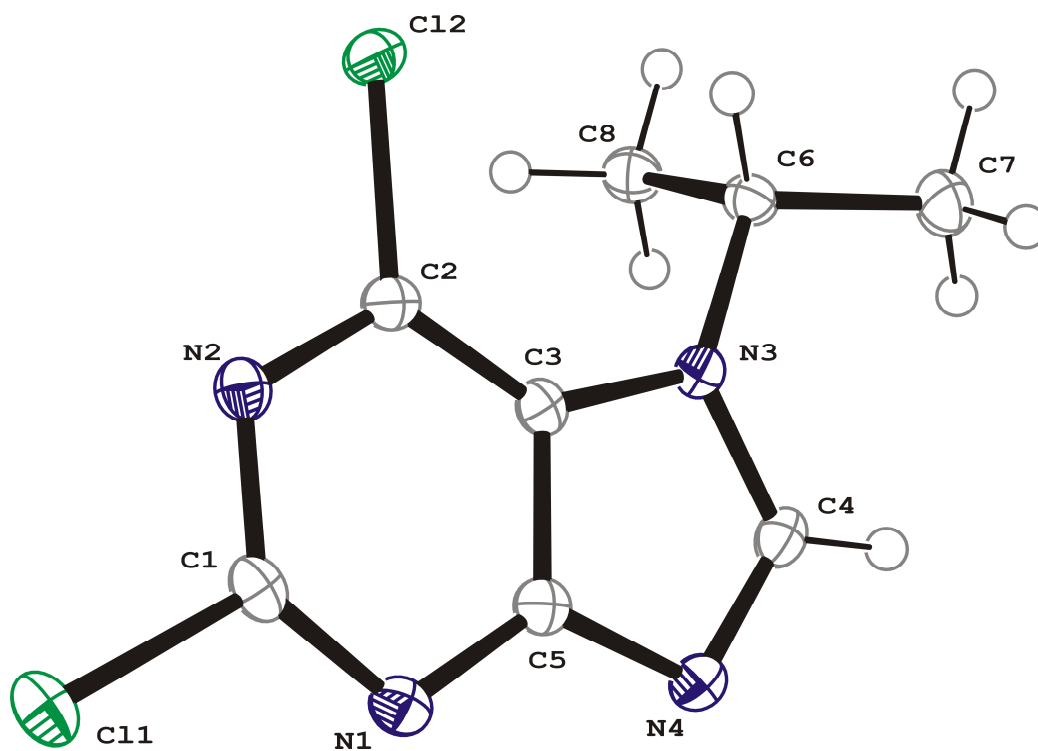
Zatímco struktura sloučeniny **2a** je známá relativně dlouhou dobu, pak struktura látky **2b** byla, překvapivě, popsána teprve nedávno [32] a to pomocí NMR ( $^1\text{H}$ - a  $^{13}\text{C}$ -), IR a MS s vysokým rozlišením. Na Obrázku 9 je znázorněno jednodimenzionální protonové spektrum sloučeniny **2b**, které mohlo být porovnáno se spektrem literárním.



Obrázek 9.  $^1\text{H}$ -NMR spektrum sloučeniny **2b**. Měření bylo provedeno v  $\text{CDCl}_3$  při teplotě 303 K.

V protonovém NMR spektru uvedeném na Obrázku 9 lze pozorovat tři signály pocházející ze sloučeniny a čtvrtý (7,27 ppm) pocházející z rozpouštědla, které bylo použito jako vnitřní standard. Signály odpovídající atomům vodíku z methylových skupin isopropylu vázaného v poloze 9 purinového kruhu mají ve spektru podobu dubletu s chemickým posunem 1,68 ppm. Signál atomu vodíku  $N^9CH(CH_3)_2$  rezonoval v oblasti 5,23 ppm. Posledním signálem je signál atomu vodíku pocházejícího z purinového skeletu. Jelikož se jedná o atom vodíku vázaný na atomu uhlíku, který sousedí se dvěma elektronegativními atomy dusíku, není překvapivé, že rezonuje ve slabším magnetickém poli s chemickým posunem 8,40 ppm. Literární hodnoty [31] všech výše zmíněných atomů vodíku jsou následující:  $N^9CH(CH_3)_2 = 1,66$  ppm,  $N^9CH(CH_3)_2 = 5,19$  ppm a  $NC^8HN = 8,40$  ppm. Z uvedeného vyplývá, že mezi experimentálním a literárním spektrem panuje téměř naprostá shoda.

V případě sloučeniny **2b** se rovněž podařilo vypěstovat monokrystal vhodný pro rentgenovou difrakční analýzu (RTG), čímž se potvrdila struktura této látky také v pevné fázi. Vzhledem k tomu, že krystalová struktura této sloučeniny nebyla doposud popsána, byly výsledky získané pomocí RTG analýzy publikovány v impaktovaném časopise *Acta Crystallographica E* [32] (úvodní strana této publikace je uvedena v Příloze 1). Na Obrázku 10 je znázorněn *ORTEP* diagram sloučeniny **2b**.



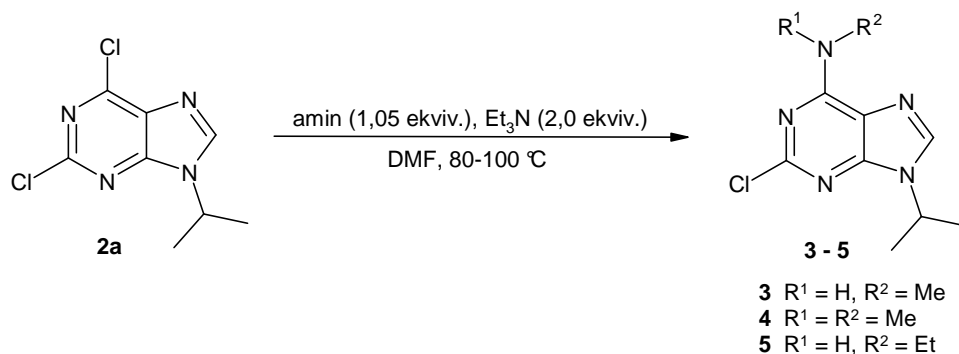
Obrázek 10. *ORTEP* diagram sloučeniny **2b**.



## 5.2 Nukleofilní aromatické substituce sloučeniny **2a** na C6

V dalším kroku byla provedena série nukleofilních aromatických substitucí atomu chloru v poloze C6 purinu **2a** (Schéma 5). Protože atom chloru na C2 vykazuje, ve srovnání s atomem chloru na C6 purinového skeletu, nižší reaktivitu, je tento typ reakcí selektivně orientován do polohy C6.

Schéma 5



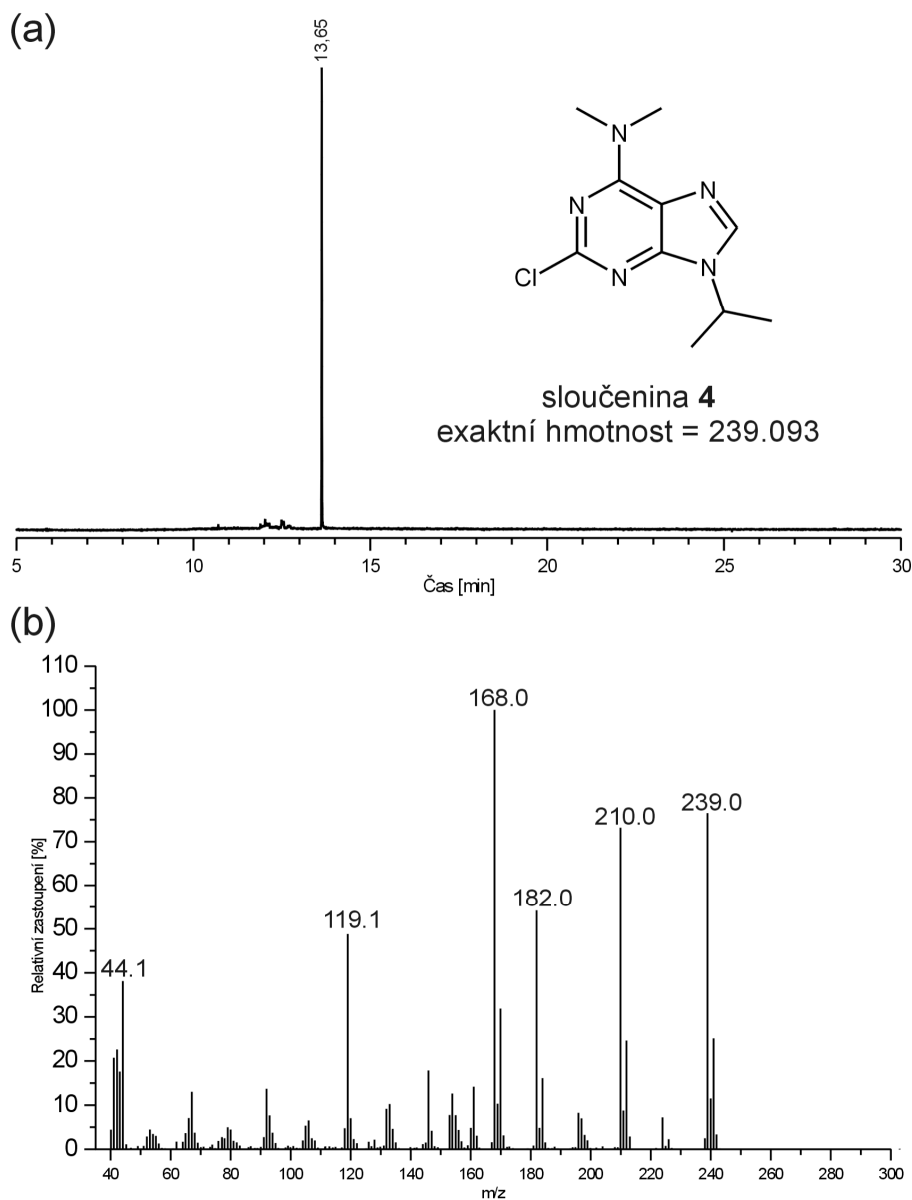
Jako nukleofilní činidla byly použity stericky neobjemné alifatické aminy – methylamin, dimethylamin a ethylamin (všechny v podobě hydrochloridů), které byly použity v 1,05 molárním přebytku vůči výchozímu purinu **2a**. Jednotlivé reakce se uskutečňovaly v přítomnosti triethylaminu (2,0 molární přebytek) s použitím dimethylformamidu jako rozpouštědla při teplotě 80–100 °C pod chlorkalciovým uzávěrem. Průběh reakcí byl monitorován pomocí TLC (petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v), přičemž daná reakce byla ukončena v okamžiku spotřebování veškerého výchozího purinu **2a**. Surový produkt získaný odpařením rozpouštědla ve vakuu byl následně překrytalizován z diethyletheru, přičemž požadované sloučeniny **3–5** byly získány v podobě bezbarvých krystalků ve výtěžcích 62–79 % (Tabulka 3).

Tabulka 3. S<sub>N</sub>Ar na C6 sloučeniny **2a** (Schéma 5).

Exp.	Amin	Reakční doba [h]	Produkt		Výtěžek [%] <sup>a</sup>
			R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	
1	methylamonium-chlorid	3,5	H	Me	62
2	dimethylamonium-chlorid	5	Me	Me	79
3	ethylamonium-chlorid	3	H	Et	65

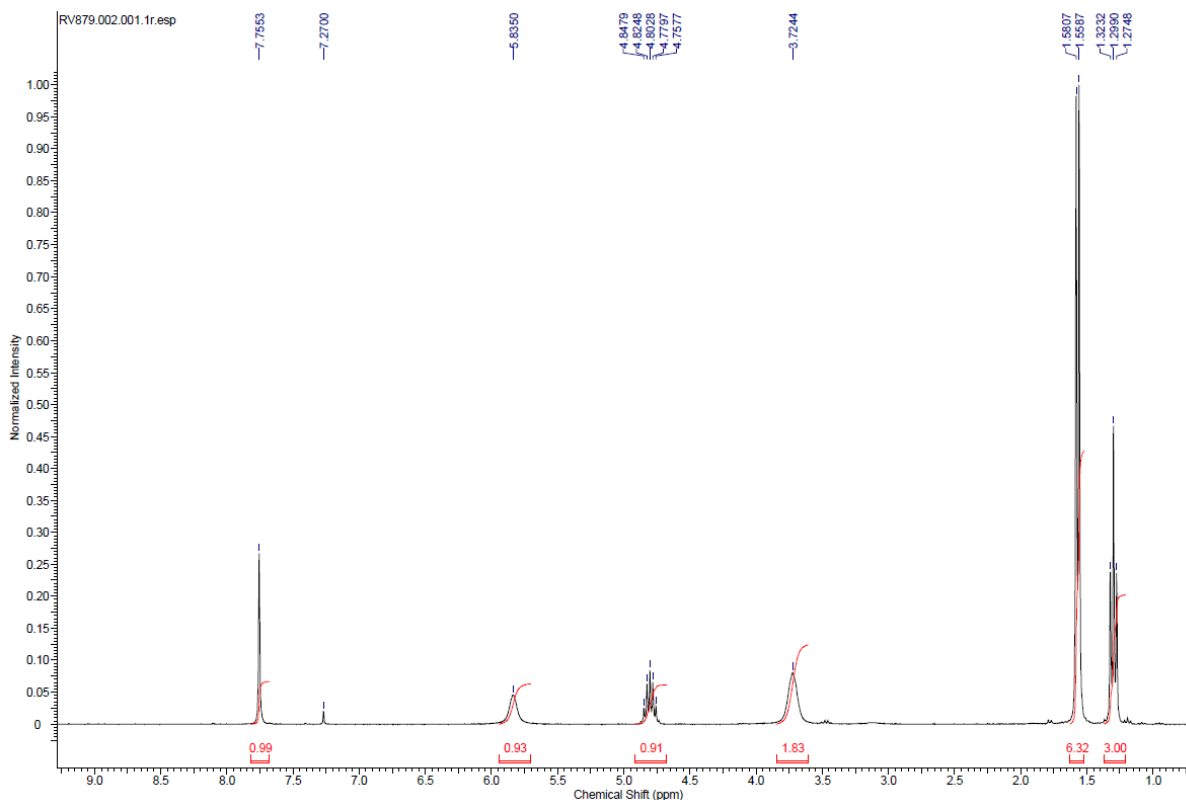
<sup>a</sup> Výtěžek po krystalizaci z diethyletheru.

Na Obrázku 10 je graficky znázorněn chromatogram získaný analýzou GC-MS sloučeniny **4** po krystalizaci z diethyletheru (Obrázek 10a) a hmotnostní spektrum téže látky změřené metodou EI-MS. Z chromatogramu je patrné, že retenční čas sloučeniny **4** byl za daných podmínek 13,65 minuty. Dále lze z výsledku této analýzy poukázat na čistotu připravené sloučeniny, tedy alespoň s ohledem na citlivost dané metody. V hmotnostním spektru (Obrázek 10b) je jasně patrný molekulový iont (239 a 241  $m/z$ ), z jehož charakteru lze usuzovat, že ve sloučenině **4** je přítomný pouze jeden atom chloru. Základním píkem hmotnostního spektra této látky je signál o  $m/z$  168. Další signály vyskytující se ve spektru dané látky vznikly fragmentací molekulového píku vlivem ionizačního procesu.



**Obrázek 11.** Výsledek analýzy GC-MS sloučeniny **4**. (a) část chromatogramu sloučeniny **4**, (b) hmotnostní spektrum získané metodou EI-MS.

Na Obrázku 12 je znázorněno protonové NMR spektrum sloučeniny **5**, pomocí něhož nebyla potvrzena pouze struktura této látky, ale také její čistota. V alifatické oblasti se nacházejí dva signály. Prvním je triplet značící přítomnost atomů vodíku  $\text{CH}_3$  pocházejících z ethylaminového substituentu vázaného na C6 purinového skeletu. Dublet nacházející se v oblasti 1,56 ppm pak náleží atomům vodíku  $\text{N}^9\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ . Dále se ve spektru nachází signál atomů vodíku  $\text{CH}_2$  pocházejících z ethylaminového substituentu vázaného na C6 purinového kruhu. V oblasti 4,76–4,85 ppm rezonuje atom vodíku CH pocházející z isopropylu vázaného v poloze 9 purinového kruhu. Jako široký singlet se ve spektru vyskytuje signál atomu vodíku z atomu dusíku vázaného na atom uhlíku C6 purinového skeletu. Posledním signálem sloučeniny **5** je pak atom vodíku  $\text{NC}^8\text{HN}$ , který rezonuje ve slabém magnetickém poli v oblasti 7,56 ppm.



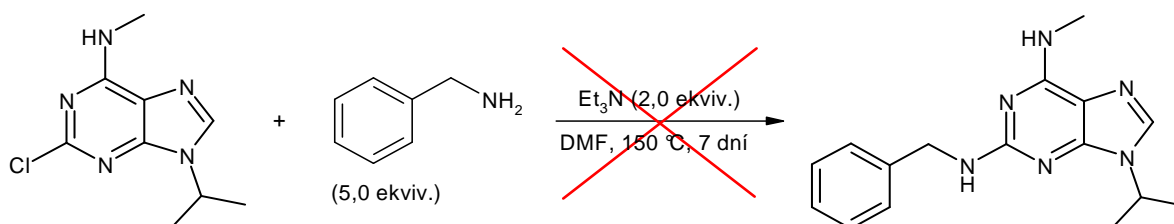
**Obrázek 12.**  $^1\text{H}$ -NMR spektrum sloučeniny **5**. Měření bylo provedeno v  $\text{CDCl}_3$  při teplotě 303 K.

### 5.3 Pokusy o substituci atomu chloru na C2 sloučeniny 3

Poslední série experimentů provedených v rámci předložené bakalářské práce byla zaměřena na pokusy o substituci atomu chloru v poloze 2 purinového kruhu sloučeniny **3**. Cílem bylo připravit sloučeninu obsahující v poloze 2 sekundární aminoskupinu, a to buď přímo spojenou s aromatickým jádrem (vznikající reakcí sloučeniny **3** s anilinem), nebo spojenou s aromatickým kruhem přes methylenový můstek (reakce sloučeniny **3** s benzylaminem).

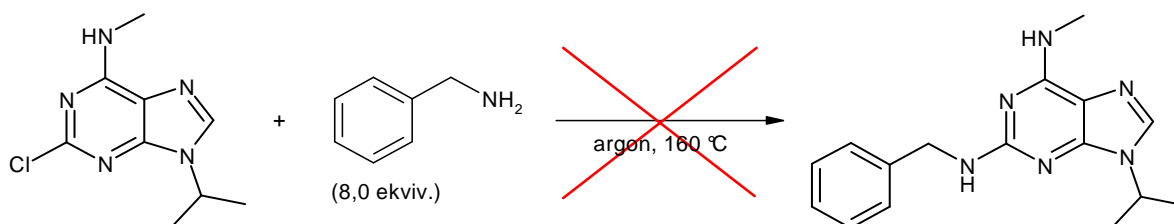
V prvním experimentu byla sloučenina **3** ponechána reagovat s benzylaminem, který byl do reakční směsi přidán v 5,0 molárním přebytku (Schéma 6). Jako báze byl použit triethylamin (2,0 ekviv.) a jako rozpouštědlo dimethylformamid. Reakce byla prováděna při teplotě 150 °C pod chlorkalciovým uzávěrem. Nicméně, ani po 7 dnech provádění reakce nebyl zaznamenán vznik jakéhokoliv produktu v reakční směsi (monitorováno pomocí TLC).

Schéma 6



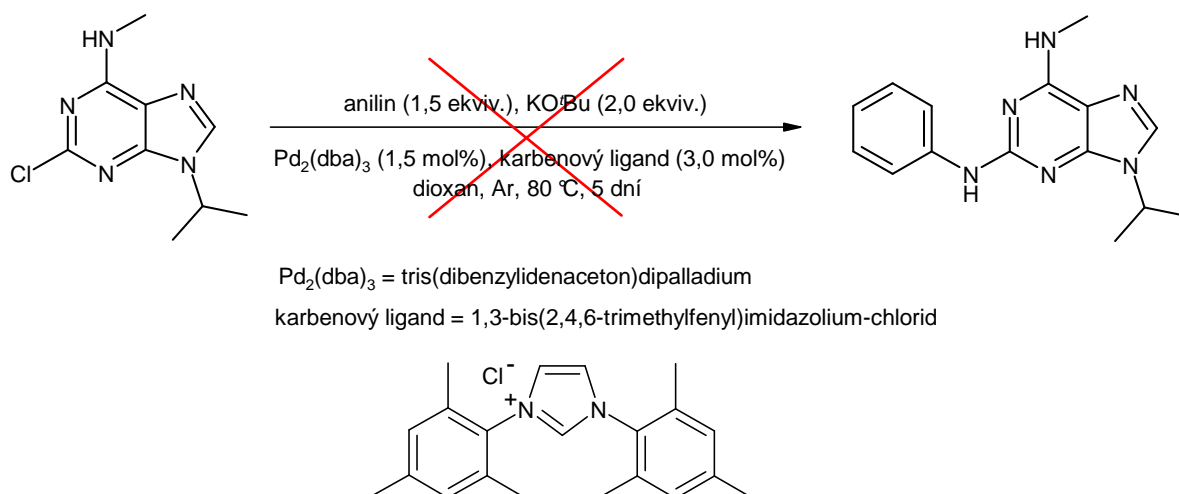
Následně byla provedena reakce sloučeniny **3** s benzylaminem (8,0 molární přebytek) za úplného vyloučení rozpouštědla z reakční směsi (Schéma 7). Reakce byla prováděna při teplotě 160 °C pod ochrannou argonovou atmosférou [33]. V tomto případě docházelo ke vzniku relativně komplikované reakční směsi, ze které nebylo možné jednotlivé vznikající sloučeniny oddělit ani pomocí opakované sloupcové chromatografie, ani za použití krystalizace.

Schéma 7



Jako poslední byly v rámci této bakalářské práce vyzkoušeny palladiem katalyzované cross-couplingové reakce za přítomnosti *N*-heterocyklického karbenového ligandu [34]. Jako nukleofilní činidlo byl tentokrát použit anilin, který reagoval se sloučeninou **3** za podmínek uvedených na Schématu 8. Při obou provedených reakcích, lišících se tím, že v jednom případě byla reakce prováděna za atmosférického tlaku, zatímco ve druhém ve vakuu, byl jako palladiový katalyzátor použit tris(dibenzylidenaceton)dipalladium [ $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ ]. Jako karbenový ligand byl použit 1,3-bis(2,4,6-trimethylfenyl)imidazolium-chlorid a jako báze *tert*-butoxid draselný. Reakce byly prováděny v bezvodém dioxanu (vysušený nad sodíkem) pod ochrannou argonovou atmosférou při teplotě 80 °C. Vzhledem k tomu, že obě reakce byly prováděny v co možná nejsušším prostředí, byla reakční směs monitorována pouze každých cca 12 hodin. Nicméně, ani po 5 dnech nebyl u žádné z provedených reakcí pozorován vznik požadovaného produktu.

Schéma 7



Vzhledem k tomu, že nás tento typ purinových sloučenin velmi zajímá, budou v budoucnu podmínky pro substituci atomu chloru v poloze 2 dále studovány, s tím, že cílem je navázání aromatických aminů obsahujících adamantanový skelet. V blízké budoucnosti tak budou provedeny experimenty se speciálním laboratorním sklem určeným pro tento typ reakcí, a sice Schlenkovou baňkou.

## ZÁVĚR

V rámci předložené bakalářské práce jsou popsány výsledky téměř dvouleté práce spojené se syntézou nové série 2,6,9-trisubstituovaných purinů a s určováním struktury připravených látek.

Samotná příprava 2,6,9-trisubstituovaných purinů byla rozdělena do třech základních kroků. Prvním krokem byla alkylace výchozího 2,6-dichlor-9*H*-purinu (**1**) do polohy N9 2-jodpropanem za vzniku bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 71 % (sloučenina **2a**). Jako vedlejší produkt této reakce byl získán N7-alkylovaný derivát **2b** v podobě světle žlutého krystalického prášku v minoritním množství. V případě sloučeniny **2b** se podařilo vypěstovat monokrystal vhodný pro rentgenovou difrakční analýzu, čímž se potvrdila struktura této látky také v pevné fázi.

V další části byla provedena série nukleofilních aromatických substitucí atomu chloru v poloze 6 purinu **2a**. Jako nukleofilní činidla byly použity methylamin, dimethylamin a ethylamin, čímž byly získány sloučeniny **3–5** v podobě bezbarvých krystalků s výtěžky od 62 % do 79 %.

Získané sloučeniny byly podrobeny metodám strukturní analýzy, jako jsou IR, EI-MS a NMR. Těmito metodami nebyla ověřena pouze struktura sloučenin **3–5**, ale také jejich čistota.

Poslední série experimentů byla zaměřena na pokusy o substituci atomu chloru v poloze 2 purinového kruhu sloučeniny **3**. Faktem je, že reakce byla provedena celkem třikrát pokaždé s mírně modifikovanými podmínkami. Avšak ani v jednom případě nebylo dosaženo požadovaných výsledků s tím, že buďto nedocházelo ke vzniku žádného produktu, nebo naopak vznikaly velice komplikované reakční směsi.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] MCMURRY, John. Organická chemie. Vyd. 1. Brno: VUTIUM, **2007**. 1176 s. ISBN 978-80-214-3291-8.
- [2] JANEČKOVÁ, Anna. Organická chemie: studijní text pro SPŠCH. Vyd. 2. Ostrava: Pavel Klouda, **2001**. 160 s. ISBN 80-863-6904-8.
- [3] FIKR, Jaroslav a Jaroslav KAHOVEC. Názvosloví organické chemie. Vyd. 3. Olomouc: Rubico, **2008**. 243 s. ISBN 978-80-7346-088-4.
- [4] LÜLLMANN, Heinz. Farmakologie a toxikologie. Vyd. 2. Praha: Grada, **2004**. 725 s. ISBN 80-247-0836-1.
- [5] KATZUNG, Bertram G. Základní a klinická farmakologie. Jinočany: H & H, **2006**. 1106 s. ISBN 80-7319-056-7.
- [6] HAMPL, František, Stanislav RÁDL a Jaroslav PALEČEK. Farmakochemie. Vyd. 2. uprav. Praha: Vydavatelství VŠCHT, **2007**. 448 s. ISBN 978-80-7080-639-5.
- [7] VELÍŠEK, Jan. Chemie potravin 3. Vyd. 2. uprav. Tábor: OSSIS, **2002**. 343 s. ISBN 80-866-5902-X.
- [8] DAVÍDEK, Jiří, Gustav JANÍČEK a Jan POKORNÝ. Chemie potravin. Vyd. 1. Praha: SNTL, **1983**. 629 s. ISBN 04-815-83.
- [9] MURRAY, Robert K. Harperova biochemie. Jinočany: H & H, **2001**. 872 s. ISBN 80-7319-013-3.
- [10] BROWN, Eric G. Ring nitrogen and key biomolecules: the biochemistry of N-heterocycles. Boston: Springer, **1998**. 242 s. ISBN 04-128-3570-3
- [11] JAMES, Laylin K. Nobel laureates in chemistry, 1901-1992. Washington, D.C.: Chemical Heritage Foundation, **1993**. 798 s. ISBN 08-412-2459-5.
- [12] SINGH, Rajbir. Synthetic drugs. 1st edition. New Delhi, India: Mittal Publications, **2002**. ISBN 81-7099-831X.
- [13] DEWICK, Paul M. Essentials of organic chemistry: for students of pharmacy, medicinal chemistry and biological chemistry. England: John Wiley & Sons, **2006**. ISBN 04-700-1665-5.

- [14] LISTER, John H. Fused pyrimidines: purines part II. London: John Wiley & Sons, **1971**. 655 s. ISBN 04-713-8205-1.
- [15] LIŠKA, František. Konstituce, konformace, konfigurace v názvech organických sloučenin. Vyd. 1. Praha: Vydavatelství VŠCHT, **2008**. 247 s. ISBN 978-80-7080-640-1.
- [16] KRATOCHVÍL, Milan, Milan POTÁČEK a Jiří ŠIBOR. Principy a modely organické chemie. Vyd. 1. Brno: Masarykova univerzita, **2004**. 1079 s. ISBN 80-210-3512-9.
- [17] ŘEZNÍČKOVÁ, Eva. Pyrazolopyrimidinové inhibitory CDK: antiproliferační a proapoptotické vlastnosti. Olomouc, **2010**. Diplomová práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Katedra buněčné biologie a genetiky. Vedoucí diplomové práce Radek Jorda
- [18] SCHOW, Steven R., Richard L. MACKMAN, Cheri L. BLUM, Eric BROOKS, Alison JOLY, et al. Synthesis and activity of 2,6,9-trisubstituted purines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **1997**, 7, 2697–2702.
- [19] FIORINI, Maria T. a Chris ABELL. Solution-phase synthesis of 2,6,9-trisubstituted purines. *Tetrahedron Letters*. **1998**, 39, 1827–1830.
- [20] IMBACH, Patricia, Hans-Georg CAPRARO, Pascal FURET, et al. 2,6,9-trisubstituted purines: Optimization towards highly potent and selective CDK1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **1999**, 9, 91–96.
- [21] HAVLÍČEK, Libor. Syntetické inhibitory cyklin-dependentních kináz. Olomouc, **2004**. Habilitační práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta.
- [22] FLETCHER, Steven, Vijay M. SHAHANI a Patrick T. GUNNING. Facile and efficient access to 2,6,9-tri-substituted purines through sequential N9, N2 Mitsunobu reactions. *Tetrahedron Letters*. **2009**, 50, 4258–4261.
- [23] DORFF, Peter H. a Ravi S. GARIGIPATI. Novel solid-phase preparation of 2,6,9-trisubstituted purines for combinatorial library generation. *Tetrahedron Letters*. **2001**, 42, 2771–2773.
- [24] AUSTIN, Richard E., Christian WALDRAFF a Fahad AL-OBEIDI. Microwave assisted solid-phase synthesis of trisubstituted 2-(2,6-purin-9-yl)acetamides. *Tetrahedron Letters*. **2005**, 46, 2873–2875.



- [25] AUSTIN, Richard E., John F. OKONYA, Daniel R.S. BOND a Fahad AL-OBEIDI. Microwave-assisted solid-phase synthesis (MASS) of 2,6,9-trisubstituted purines. *Tetrahedron Letters*. **2002**, 43, 6169–6171.
- [26] LEGRAVEREND, Michel a David S. GRIERSON. The purines: Potent and versatile small molecule inhibitors and modulators of key biological targets. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **2006**, 14, 3987–4006.
- [27] KRYŠTOF, Vladimír, Daniela MORAVCOVÁ, Martina PAPRSKÁŘOVÁ, et al. Synthesis and biological activity of 8-azapurine and pyrazolo[4,3-d]pyrimidine analogues of myoseverin. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, 41, 1405–1411.
- [28] PARK Hyo-Eun, Sang H. BAEK, et al. Myoseverin is a potential angiogenesis inhibitor by inhibiting endothelial cell function and endothelial progenitor cell differentiation. *DNA and cell biology*. **2006**, 25, 514–522.
- [29] HARMSE, Leonie, Robyn VAN ZYL, Nathanael GRAY, et al. Structure-activity relationships and inhibitory effects of various purine derivatives on the in vitro growth of *Plasmodium falciparum*. *Biochemical Pharmacology*. **2001**, 62, 341–348.
- [30] OUMATA, Nassima, Karima BETTAYEB, Yoan FERANDIN, et al. Roscovitine-derived, dual-specificity inhibitors of cyclin-dependent kinases and casein kinases 1. *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 5229–5242.
- [31] KOTEK, Vladislav, Naděžda CHUDÍKOVÁ, Tomáš TOBRMAN a Dalimil DVOŘÁK. Selective synthesis of 7-substituted purines via 7,8-dihydropurines. *Org. Lett.* **2010**, 12, 5724–5727.
- [32] HLOUŠKOVÁ, Nikola, Michal ROUCHAL, Marek NEČAS a Robert VÍCHA. 2,6-Dichloro-7-isopropyl-7H-purine. *Acta Cryst.* **2012**, E68, o1585.
- [33] OUMATA, Nassima, Yoan FERANDIN, Laurent MEIJER a Hervé GALONS. Practical synthesis of Roscovitine and CR8. *Org. Process Res. Dev.* **2009**, 13, 641–644.
- [34] DING, Sheng, Nathaneal S. GRAY, Qiang DING a Peter G. SCHULTZ. Expanding the diversity of purine libraries. *Tetrahedron Letters*. **2001**, 42, 8751–8755.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

DNA	deoxyribonukleová kyselina
RNA	ribonukleová kyselina
CDK	cyklin-dependentní kináza
THF	tetrahydrofuran
(Ph) <sub>3</sub> P	trifenylfosfin
TFA	kyselina trifluoroctová
DEAD	diethylazodikarboxylát
IC <sub>50</sub>	koncentrace inhibitoru potlačující 50 % aktivity testovaného biologického materiálu
PfPK5	<i>plasmodium falciparum</i> protein kináza 5
TLC	chromatografie na tenké vrstvě
NMR	nukleární magnetická rezonance
GC	plynová chromatografie
MS	hmotnostní spektrometrie
IR	infračervená spektroskopie
NaCl	chlorid sodný
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	uhličitan draselný
RTG	rentgenová difrakční analýza

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

<b>Obrázek 1.</b> Strukturní vzorce vybraných heterocyklických sloučenin.....	11
<b>Obrázek 2.</b> Strukturní vzorce penicilinu G a sacharinu.....	12
<b>Obrázek 3.</b> Struktura purinového skeletu a tvorba jeho systematického názvu.....	14
<b>Obrázek 4.</b> Možné tautomerní formy purinu.....	15
<b>Obrázek 5.</b> Příklady známých purinových bioisosterů.....	16
<b>Obrázek 6.</b> Strukturní vzorce myoseverinu a boheminu.....	21
<b>Obrázek 7.</b> Strukturní vzorce a hodnoty $IC_{50}$ vybraných purinových sloučenin inhibujících <i>Plasmodium falciparum</i> .....	22
<b>Obrázek 8.</b> Hmotnostní spektrum sloučeniny <b>2a</b> získané technikou EI-MS.....	31
<b>Obrázek 9.</b> $^1H$ -NMR spektrum sloučeniny <b>2b</b> .....	31
<b>Obrázek 10.</b> ORTEP diagram sloučeniny <b>2b</b> .....	32
<b>Obrázek 11.</b> Výsledek analýzy GC-MS sloučeniny <b>4</b> .....	34
<b>Obrázek 12.</b> $^1H$ -NMR spektrum sloučeniny <b>5</b> .....	35

**SEZNAM TABULEK**

<b>Tabulka 1.</b> Vybrané heteroatomy znázorněné pomocí ,a'-předpon .....	12
<b>Tabulka 2.</b> Heterocyklické sloučeniny a jejich významné deriváty.....	13
<b>Tabulka 3.</b> S <sub>N</sub> Ar na C6 sloučeniny <b>2a</b> .....	33

## SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA 1. ČLÁNEK V ACTA CRYTALLOGRAPHICA E.....	46
--	----

# PŘÍLOHA 1. ČLÁNEK V ACTA CRYTALLOGRAPHICA E

electronic reprint

Acta Crystallographica Section E

Structure Reports

Online

ISSN 1600-5368

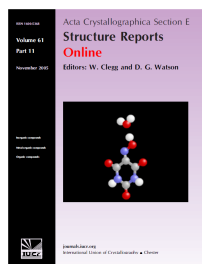
Editors: W. T. A. Harrison, H. Stoeckli-Evans,  
E. R. T. Tiekink and M. Weil

## 2,6-Dichloro-7-isopropyl-7H-purine

Nikola Hloušková, Michal Rouchal, Marek Nečas and Robert Vícha

*Acta Cryst.* (2012). E68, o1585

This open-access article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Licence <http://creativecommons.org/licenses/by/2.0/uk/legalcode>, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original authors and source are cited.



*Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online* is the IUCr's highly popular open-access structural journal. It provides a simple and easily accessible publication mechanism for the growing number of inorganic, metal-organic and organic crystal structure determinations. The electronic submission, validation, refereeing and publication facilities of the journal ensure very rapid and high-quality publication, whilst key indicators and validation reports provide measures of structural reliability. The journal publishes over 4000 structures per year. The average publication time is less than one month.

Crystallography Journals **Online** is available from [journals.iucr.org](http://journals.iucr.org)

*Acta Cryst.* (2012). E68, o1585

Hloušková *et al.* · C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>