

Příprava 6,9-disubstituovaných purinů s adamantanovým skeletem

Bc. David Gergela

Diplomová práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav chemie

akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. David Gergela**
Osobní číslo: **T11154**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie potravin a bioaktivních látek**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Příprava 6,9-disubstituovaných purinů
s adamantanovým skeletem**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Vypracovat literární rešerši na téma možnosti syntézy a biologické účinky 6,9-disubstituovaných purinů.
2. Stručně charakterizovat adamantan a nastínit jeho využití v chemii léčiv.

II. Praktická část

1. Připravit sérii aromatických aminů substituovaných 1-adamantylem.
2. Provést syntézu nové skupiny 6,9-disubstituovaných purinů.
3. Připravené látky plně charakterizovat metodami strukturní analýzy.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] Dle provedení literární rešerše s využitím databází SciFinder a Scopus.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Michal Rouchal, Ph.D.

Ústav chemie

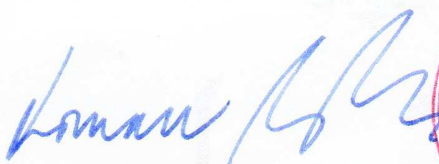
Datum zadání diplomové práce:

8. února 2013

Termín odevzdání diplomové práce:

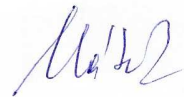
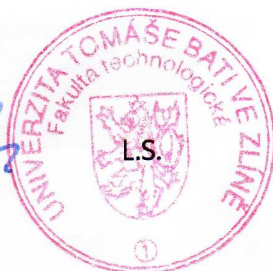
7. května 2013

Ve Zlíně dne 8. února 2013



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.

děkan



prof. Ing. Antonín Klásek, DrSc.

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 ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl jsem seznámen s tím, že na moji diplomovou 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 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ 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 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou 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 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 práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové 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 7.5.2013

.....


¹⁾ 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 nevýdělečně 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.

²⁾ 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).

³⁾ 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 přihlídně k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Purinové sloučeniny vhodně substituované v poloze 6 a 9 mohou vystupovat jako potenciální tuberkulostatika, antifungicidy, antialergika či antimikrobiální látky. Klíčovou roli by v tomto ohledu mohl hrát adamantanový skelet, který je pro modifikaci biologicky aktivních látek velmi často používán. Předložená práce popisuje přípravu série aromatických aminů s adamantanovým skeletem, které byly následně substituovány na C6 purinového kruhu. Následnou reakcí 6-„amino“-9*H*-purinů s 2-jodpropanem byla připravena série 6,9-disubstituovaných purinů s doposud nepopsanou strukturou. Všechny připravené látky byly plně charakterizovány pomocí moderních instrumentálních metod

Klíčová slova: adamantan, 6,9-disubstituované puriny, metody strukturní analýzy, biologická aktivita

ABSTRACT

The purines properly substituted at C6 and N9 centers can display some biological activity. They can act as tuberculostatics, antifungicids, antiallergics or antimicrobial agents. One of the most frequently used substituent for the goal-directed modification of the biologically active compounds represents 1-adamantyl. The presented diploma thesis describes the synthesis of adamantylated aromatic amines that were subsequently introduced at the 6-position of the purine ring. The reactions of 6-“amino”-9*H*-purines with 2-iodopropane provided new series of 6,9-disubstituted. All prepared compounds were fully characterized using spectral methods.

Keywords: adamantane, 6,9-disubstituted purines, methods of structural analysis, biological activity

Poděkování

Na tomto místě bych chtěl poděkovat vedoucímu mé diplomové práce Ing. Michalu Rouchalovi Ph.D. za odborné rady při výzkumu a vyhodnocování výsledků, tvůrčí myšlenky a aktivní přístup k dané problematice.

Velký dík taktéž patří studentkám postgraduálního studia Evě Babjakové a Petře Branné za jejich neustálou ochotu a výpomoc v laboratoři, a celému kolektivu Ústavu chemie za příjemné prostředí během výzkumu.

Děkuji Mgr. Robertu Víchovi, Ph.D. za měření NMR spekter.

Děkuji Ing. Zuzaně Kozubkové za měření elementárních analýz.

Děkuji Peteru Bartošovi z Ústavu chemie Přírodovědecké fakulty Masarykovi univerzity v Brně za změření rentgenové strukturní analýzy.

Závěrem bych rád poděkoval za podporu při studiu své rodině, přítelkyni a přátelům, kteří také přispěli nemalou mírou k dokončení mé závěrečné práce.

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

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 6,9-DISUBSTITUOVANÉ PURINY: SYNTÉZA A BIOLOGICKÉ	
ÚČINKY.....	12
1.1 PŘÍPRAVA 6,9-DISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ.....	12
1.1.1 S _N Ar do polohy 6 purinového kruhu.....	13
1.1.2 Alkylace na N9 purinového kruhu.....	15
1.2 BIOLOGICKÉ ÚČINKY 6,9-DISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ.....	18
2 ADAMANTAN A CHEMIE LÉČIV	24
2.1 CHEMIE LÉČIV	25
II EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	30
3 PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ	31
4 PŘÍPRAVA 1-ADAMANTYLEM SUBSTITUOVANÝCH	
AROMATICKÝCH AMINŮ	32
4.1 REDUKCE NITROKETONŮ NA AMINOKETONY	32
4.2 REDUKCE NITROKETONŮ NA NITROALKOHOLY	33
4.3 REDUKCE NITROALKOHOLŮ NA AMINOALKOHOLY	35
4.4 SYNTÉZA 3-(1-ADAMANTYLMETHYL)ANILINIUM-CHLORIDU.....	36
4.4.1 Reakce sloučeniny 1 s ethan-1,2-dithiolem	36
4.4.2 Redukce nitrodithiolanu 9 na aminodithiolan.....	37
4.4.3 Desulfurizace aminodithiolanu 10	38
5 PŘÍPRAVA 6,9-DISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ	40
5.1 CHLORACE HYPOXANTHINU	40
5.2 ALKYLACE 6-CHLOR-9H-PURINU	41
5.3 REAKCE 6-CHLOR-9-ISOPROPYL-9H-PURINU S BENZYLAMINEM.....	41
5.4 NUKLEOFILNÍ AROMATICKÁ SUBSTITUCE 6-CHLOR-9H-PURINU NA C6.....	42
5.5 REAKCE SLOUČENINY 19 S TETRAHYDRIDOBORITANEM SODNÝM	45
5.6 ALKYLACE 6-„AMINO“-9H-PURINŮ NA N9	46
III VÝSLEDKY A DISKUSE	50
6 PŘÍPRAVA 1-ADAMANTYLEM SUBSTITUOVANÝCH	
AROMATICKÝCH AMINŮ	51
6.1 PŘÍPRAVA (1-ADAMANTYL)(AMINOFENYL)KETONŮ	51
6.2 PŘÍPRAVA (1-ADAMANTYL)(AMINOFENYL)ALKOHOLŮ.....	52
6.3 SYNTÉZA 3-(1-ADAMANTYLMETHYL)ANILINIUM-CHLORIDU.....	52
7 SYNTÉZA NOVÉ SÉRIE 6,9-DISUBSTUTIOVANÝCH PURINŮ.....	56

7.1	CHLORACE HYPOXANTHINU	56
7.2	ALKYLACE 6-CHLOR-9 <i>H</i> -PURINU	57
7.3	NUKLEOFILNÍ AROMATICKÁ SUBSTITUCE 6-CHLOR-9-ISOPROPYL-9 <i>H</i> -PURINU NA C6.....	58
7.4	S _N AR 6-CHLOR-9 <i>H</i> -PURINU NA C6.....	61
7.5	ALKYLACE 6-„AMINO“-9 <i>H</i> -PURINŮ NA N9	65
ZÁVĚR		68
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		70
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		74
SEZNAM OBRÁZKŮ		76
SEZNAM TABULEK.....		78
SEZNAM PŘÍLOH.....		79

ÚVOD

Puriny jsou složkou nukleových kyselin, z toho důvodu jsou mnohé purinové deriváty biologicky aktivní. Zásadní role purinových sloučenin při přenosu genetické informace a řízení živého organismu byla impulsem pro hledání klinicky využitelných léčiv analogických struktur. Od druhé poloviny 20. století bylo nalezeno nespočetné množství terapeuticky využitelných sloučenin odvozených od purinu.

Antivirotika obsahující adamantanový skelet byly po roce 1964 rychle uvedeny do praxe a bylo identifikováno stále více účinků léčiv nesoucích tento symetrický uhlovodík. Sloučeniny odvozené od adamantanu našly široké uplatnění v medicíně a vývoji léčiv. Jinými slovy, žádná jiná singulární uhlovodíková skupina nemá tak vysokou míru úspěšnosti ve zlepšování či poskytování farmakologicky aktivních látek jako adamantan.

Teoretická část uvedené diplomové práce se nejprve ve stručnosti zabývá charakteristikou purinových sloučenin, a dále pak možnostmi syntézy 6,9-disubstituovaných purinů, se zaměřením především na nukleofilní aromatickou substituci a alkylation. Ve druhé kapitole této části jsou popsány biologické účinky vybraných sloučenin s purinovým skeletem substituovaných v polohách 6 a 9. Literární část je zakončena stručným představením historie a vlastností adamantanu s důrazem na uplatnění sloučenin obsahujících adamantanový motiv v klinické praxi.

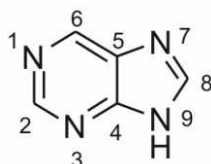
V experimentální části je popsána syntéza a uveden výčet strukturní charakteristiky všech sloučenin, jež byly v rámci diplomové práce připraveny jejím autorem.

Jádro práce pak představuje část poskytující komentář k získaným výsledkům. Její struktura je, z důvodu lepší přehlednosti, pojata stejným způsobem jako v části experimentální. V diskusní části není kladen důraz jen na popis samotných syntéz, které byly v rámci této práce provedeny, ale rovněž na interpretaci dat získaných metodami strukturní analýzy na jejichž základě byla navržena struktura připravených sloučenin.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 6,9-DISUBSTITUOVANÉ PURINY: SYNTÉZA A BIOLOGICKÉ ÚČINKY

Německý vědec Emil Fischer vyslovil název purin již roku 1884. Poprvé však deriváty této sloučeniny syntetizoval až roku 1899.¹ Sloučeniny s purinovým skeletem jsou heterocyklické aromatické dusíkaté látky, tvořené kondenzovaným pyrimidinovým a imidazolovým kruhem. V čistém stavu se jedná o zásadité, krystalické látky. Řada purinových derivátů je významných svou biologickou aktivitou.² Sloučeniny s purinovým skeletem se vyznačují specifickým číslováním (**Obrázek 1**) dle názvoslovných pravidel „Mezinárodní unie pro čistou a užitečnou chemii“ známou pod akronymem IUPAC (z angl. International Union of Pure and Applied Chemistry).³

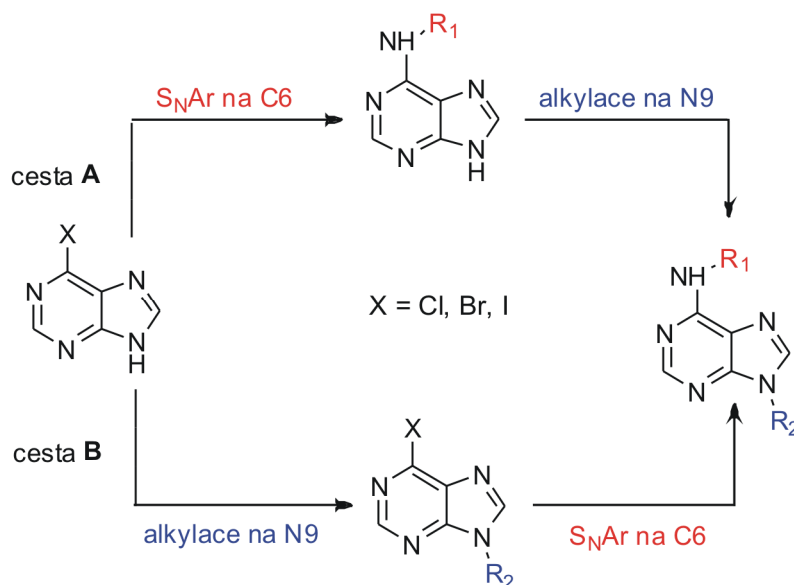


Obrázek 1: Strukturální vzorec purinového kruhu.

1.1 Příprava 6,9-disubstituovaných purinů

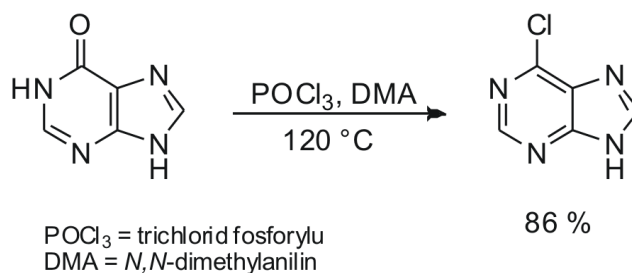
V této době je již známa celá řada možností, kterými lze syntetizovat 6,9-disubstituované puriny. Tato práce se zabývá přípravou a vlastnostmi 6-amino-9*H*-alkylpurinů, proto v dalších částech teoretické části budou popisovány pouze tyto typy sloučenin. Při přípravě 6,9-disubstituovaných purinů se obvykle používají dvě cesty, které znázorňuje **Schéma 1**.

Schéma 1



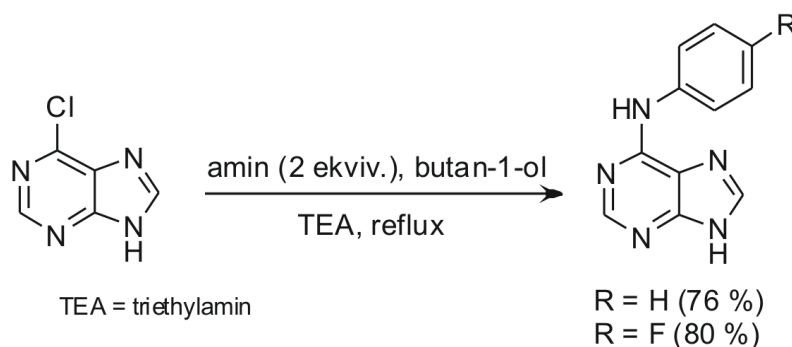
Jednou z možností je podrobení výchozí látky nukleofilní aromatické substituci (S_NAr) na C6, následovanou alkylací na N9 purinového kruhu (cesta **A**). Druhou možností je provedení alkylace na N9 v prvním kroku a S_NAr na C6 v kroku druhém (cesta **B**). Při výběru kterékoliv z těchto cest je produktem 6-amino-9*H*-alkylpurin.⁴ Cesta **A** je v praxi výhodnější v případech, kdy jsou v poloze N9 přítomny odlišné substituenty. Naopak, jsou-li v této poloze substituenty stejné, jeví se jako výhodnější cesta **B**.

Při syntéze 6,9-disubstituovaných purinů bývá jako výchozí sloučenina často používán 6-chlor-9*H*-purin, který je komerčně dostupný za cenu 3 351 Kč v množství 5-ti gramů.⁵ Tuto látku lze ovšem připravit i laboratorně, kdy se ke směsi hypoxanthinu a *N,N*-dimethylanilinu přidá trichlorid fosforu (**Schéma 2**).⁶ Hypoxanthin je taktéž komerčně dostupný. Cena se mírně liší od ceny 6-chlor-9*H*-purinu, kdy 5 gramů stojí 2 583 Kč, ovšem 25 gramů této látky získáme již za 3 885 Kč. Z toho vyplývá, že je ekonomicky výhodnější pořídit jednorázově větší množství této látky.⁷

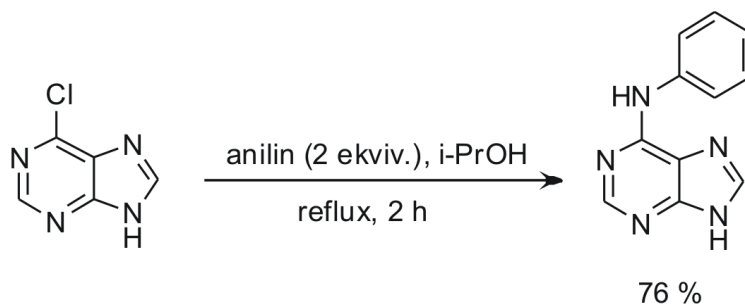
Schéma 2

1.1.1 S_NAr do polohy 6 purinového kruhu

V praxi velmi často používanou metodou pro zavedení různých typů aminů do polohy 6 purinového kruhu představuje nukleofilní aromatická substituce atomu chloru na C6. Za podmínek uvedených na **Schématu 3** byly požadované sloučeniny, vzájemně se lišící pouze typem použitého primárního aromatického aminu (anilin a 4-fluoranilin), získány ve velmi dobrých výtěžcích (cca 80 %).⁸

Schéma 3

Další možnost substituce atomu chloru v poloze 6 popisuje Zhang a kol.⁹ V porovnání s příkladem uvedeným na **Schématu 3** nebyla v tomto případě aplikována žádná báze, přičemž roztok 6-chlor-9*H*-purinu s anilinem byl refluxován po dobu 2 hodin (**Schéma 4**). Požadovaný produkt byl získán krystalizací z ethyl-acetátu ve výtěžku 76 % ve formě bezbarvých krystalů.

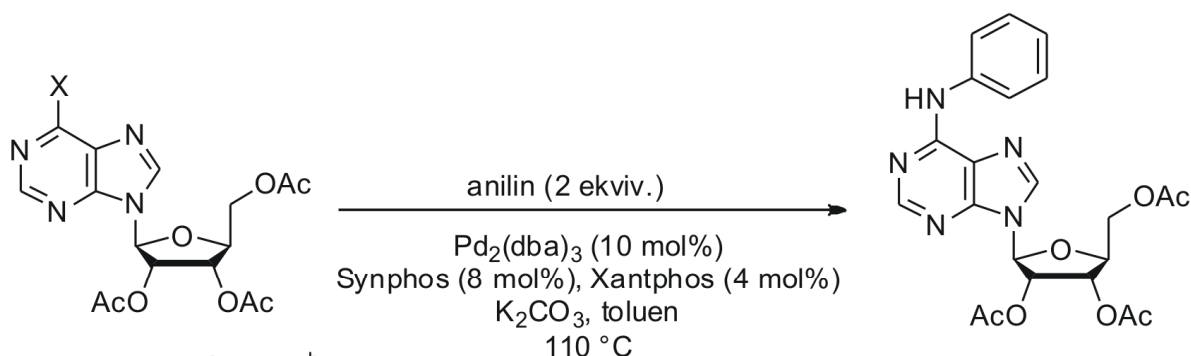
Schéma 4

Předchozí uvedené syntézy se opírají o nukleofilní aromatickou substituci. Jedním z hlavních omezení této metody je nemožnost přístupu k poměrně vysokému počtu sloučenin s možným farmakologickým potenciálem. Pro tyto účely se jako velice výhodné jeví tzv. palladiem katalyzované cross-couplingové reakce, které mohou poskytovat široké spektrum sloučenin obsahujících v poloze 6 purinového kruhu nejen vazbu C–N, ale také C–C nebo C–O.¹⁰

Nejhojněji používaným palladiovým katalyzátorem, který je v krystalickém stavu výrazně stabilní, je tetrakis(trifenylfosfin)palladium [Pd(PPh₃)₄]. Tento katalyzátor lze skladovat pod ochrannou argonovou atmosférou při -20 °C mnoho měsíců. Dalšími v praxi široce používanými katalyzátory jsou bis(dibenzylidenaceton)palladium [Pd(dba)₂], popř. tris(dibenzylidenaceton)dipalladium [Pd₂(dba)₃]. Výhodné je také použití stabilních komplexů Pd(II) jako např. chloridu palladnatého (PdCl₂) nebo octanu palladnatého [Pd(OAc)₂]. Z uvedených komplexů vzniká aktivní komplex Pd(0) redukcí přebytkem organokovu, fosfinu nebo trialkylaminu.¹¹

Příkladem použití palladiem katalyzovaného cross-couplingu v syntéze purinových sloučenin může být práce, v níž se autoři zabývali přípravou série nových purinových ribonukleosidů.¹² Při provádění jednotlivých experimentů, byl zvolený palladiový katalyzátor, a sice tris(dibenzylidenaceton)dipalladium [Pd₂(dba)₃], směs ligandů (Synphos/Xantphos, 2/1, molární poměr) a K₂CO₃ smíseny v toluenu 1 hodinu před samotnou reakcí. Poté byly do směsi přidány zbylé reaktanty (**Schéma 5**). Takto zvolené podmínky poskytovaly příslušné produkty ve výtěžcích 70–90 % a velmi vysoké čistotě.

Schéma 5



X = Cl (70 %^a, 90 %^b)

X = Br (86 %^c)

^a reakční čas = 20 h

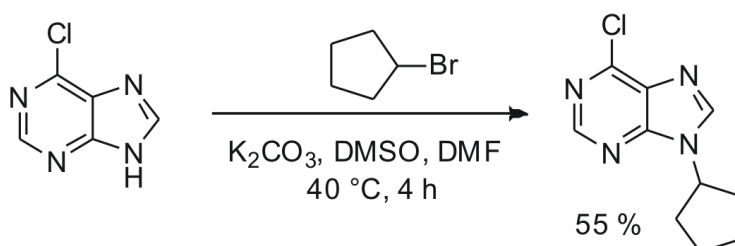
^b reakční čas = 14 h

^c reakční čas = 4 h

1.1.2 Alkylace na N9 purinového kruhu

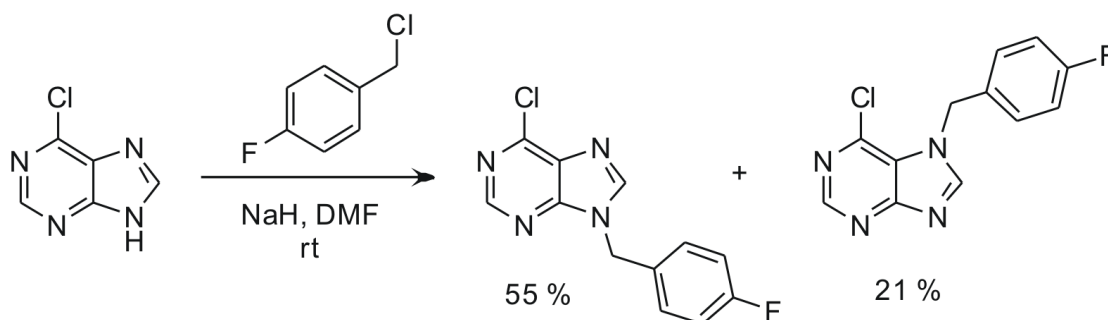
Tunçbilek a kol.¹³ popisuje v nedávno publikované práci reakci 6-chlor-9H-purinu s cyklopentylbromidem, kdy byl jako báze použit uhličitán draselný (**Schéma 6**). Reakce byla prováděna ve směsi rozpouštědel, a to dimethylsulfoxidu, který byl použit pro rozpuštění výchozího 6-chlorpurinu a dimethylformamidu, v němž byl rozpuštěn cyklopentylbromid. Po přidání roztoku cyklopentylbromidu v DMF do roztoku 6-chlor-9H-purinu v DMSO byl do vzniklé směsi přidán uhličitán draselný. Reakční směs byla míchána při 40 °C po dobu 48 hodin. Požadovaný produkt byl získán ve výtěžku 55 %.

Schéma 6



Další příklad alkylace purinového skeletu na N9 je uvedena na **Schématu 7**. Nutno podotknout, že díky nízké regioselektivitě docházelo ke vzniku značného množství vedlejšího produktu, tedy N7 izomeru. Jako báze byl v tomto případě použit hydrid sodný. Reakce byla prováděna v DMF za laboratorní teploty. Autoři uvádějí, že po sloupcové chromatografii získali N9 izomer ve výtěžku 55 % a nežádoucí N7 izomer ve výtěžku 21 %.

Schéma 7

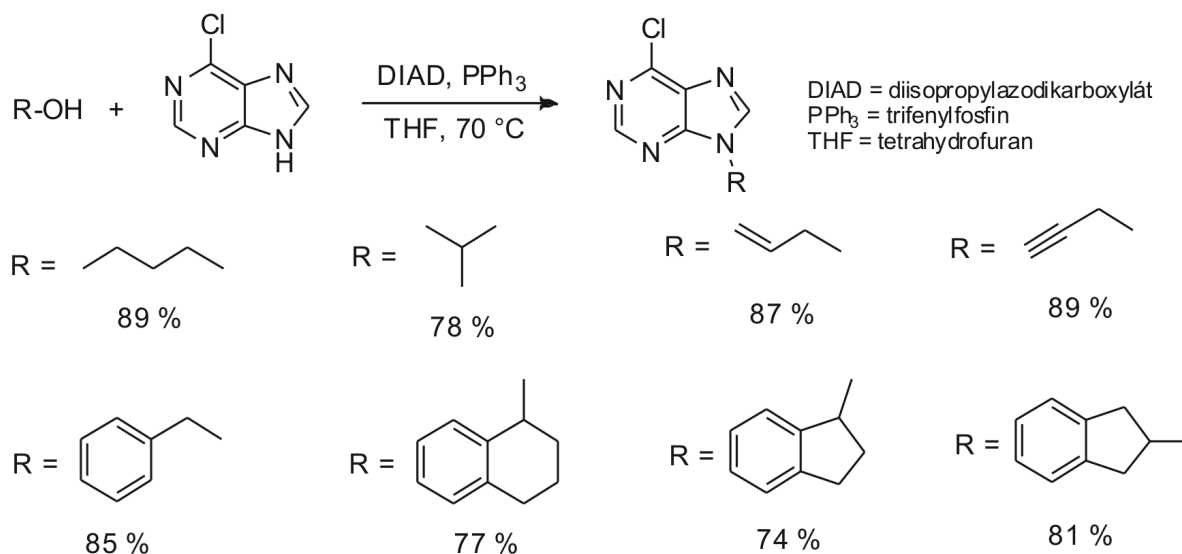


Značnou nevýhodou výše zmíněných reakcí není pouze nutnost surový produkt, obsahující jak N9, tak N7 izomery, čistit opakovanými krystalizacemi nebo sloupcovou chromatografií, ale také relativně nízká výtěžnost očekávaného produktu. Z tohoto důvodu se jako výhodnější jeví použít metodu alkylace dle Mitsunoba, která minimalizuje tvorbu nežádoucího N7 izomeru.^{13,14}

Mitsunobův coupling představuje typ chemické reakce, která převádí alkoholy do různých funkčních skupin pomocí trifenylofosfinu (PPh_3) a azodikarboxylátů, jako jsou diethylazodikarboxylát (DEAD) nebo diisopropylazodikarboxylát (DIAD). Tuto metodu objevil Oyo Mitsunobu.¹⁵

6-Chlor-9H-purin je schopen reagovat s vybranými alkoholy za Mitsunobových podmínek, přičemž jeho relativně snadná rozpustnost v tetrahydrofuranu umožňuje provádět tyto reakce za laboratorní teploty. Nutno podotknout, že za těchto podmínek jsou produkty poskytovány ve výtěžcích nepřesahujících 50 %. Na **Schématu 8** je jako příklad Mitsunobova couplingu uvedena série reakcí 6-chlorpurinu s různými alkoholy. Reakce byly prováděny v THF při teplotě 70 °C. Jak je patrné, výtěžky ve všech případech přesáhly 70 %, což lze považovat za velmi uspokojivé.¹⁶

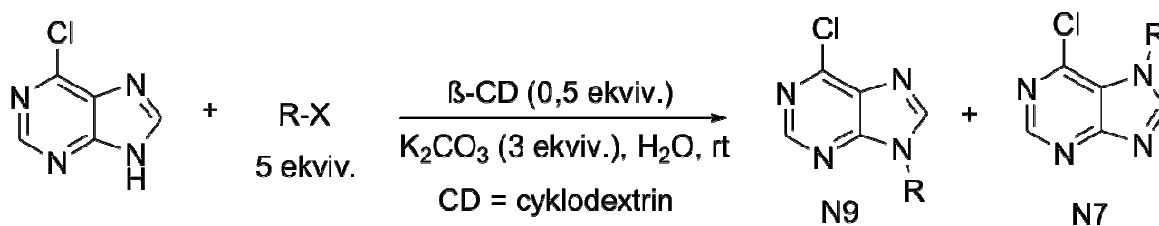
Schéma 8



Méně obvyklou metodou je alkylace asistovaná β -cyklodextrinem (β -CD).¹⁷ Cyklodextriny (CD) jsou po chemické stránce makrocyclické oligosacharidy tvořené D-glukopyranosylovými jednotkami spojenými α -1,4-glykosidovými vazbami. Hlavní členy skupiny cyklodextrinů představují sloučeniny skládající se ze šesti, sedmi resp. osmi glukosových jednotek, označující se jako α -, β - a γ -CD.¹⁸

β -CD byl použit na podporu snadného průběhu N9 alkylačních reakcí na purinový kruh (Schéma 9). Principem reakce byla inkluze substrátu do dutiny β -CD, což zvyšovalo nejen jeho rozpustnost ve vodě, ale především dramaticky snížilo pravděpodobnost alkylace na N7 purinového skeletu. Vodíková vazba mezi hydroxylovou skupinou na okraji β -CD a substrátem také může vést k vyšší reaktivitě substrátu. V důsledku toho může být prováděná reakce dokončena v kratším čase, ve vysokých výtěžcích a s vysokou chemickou selektivitou.¹⁷

Schéma 9



Z výsledků uvedených v **Tabulce 1** je patrné, že se přidáním β -CD do reakční směsi nejen výrazně zvýšil výtěžek požadovaného N9 izomeru, ale především došlo k dramatickému poklesu tvorby nežádoucího N7 izomeru.

Tabulka 1: Alkylace 6-chlor-9H-purinu asistovaná β -CD.

Experiment	R-X	Výtěžek [%]	N9/N7
1	BrCH ₂ COCH ₃	91 ^a (40 ^b)	96:4 ^c (72:28 ^d)
2	BrCH ₂ CN	88 ^a (46 ^b)	94:6 ^c (76:24 ^d)
3	BrCH ₂ COOC ₂ H ₅	90 ^a (38 ^b)	91:9 ^c (76:24 ^d)
4	BrCH ₂ CH ₂ OH	52 ^a (28 ^b)	90:10 ^c (71:29 ^d)
5	BrCH ₂ CH ₃	45 ^a (19 ^b)	91:9 ^c (72:28 ^d)
6	ClCH ₂ COOC ₂ H ₅	35 ^a (11 ^b)	96:4 ^c (74:26 ^d)
7	ClCH ₂ CH ₂ OH	28 ^a (14 ^b)	90:10 ^c (74:26 ^d)

^a výtěžek N9 izomeru po přidavku β -cyklodextrinu do reakční směsi

^b výtěžek N9 izomeru bez přidavku β -cyklodextrinu do reakční směsi

^c poměr N9/N7 po přidavku β -cyklodextrinu do reakční směsi

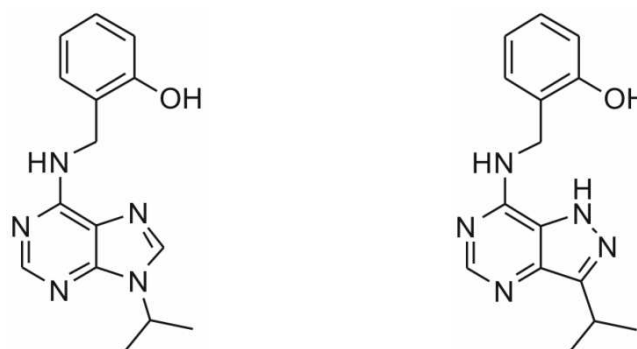
^d poměr N9/N7 bez přidavku β -cyklodextrinu do reakční směsi

1.2 Biologické účinky 6,9-disubstituovaných purinů

Purinové deriváty jsou velmi důležité pro chemický a biologický výzkum, ale také jako látky používané v klinické praxi, jelikož se vyznačují různou biologickou aktivitou.¹⁹ Biologická aktivita derivátů purinu může být značně ovlivněna dvěma skutečnostmi. První z nich je přítomnost odlišných substituentů a jejich možné kombinace v pozicích 2, 6, 9, popřípadě 8 purinového skeletu.²⁰ Druhou skutečností je strukturní příbuznost s purinovými bázemi DNA. Puriny substituované na C6 a N9 vykazují široké spektrum biologických účinků. Vystupují např. jako antituberkulotika, antifungicidy, antialergika, antimikrobiální látky, protinádorové látky nebo antihistamika.¹⁹

Moravcová a kol.²¹ popisuje přípravu několika 6,9-disubstituovaných purinů a srovnání jejich inhibičních vlastností proti cyklin-depentním kinasám (konkrétně heterodimernímu komplexu CDK1/cyklin B) a antiproliferačních účinků proti lidské buněčné linii K-562 (chronická myeloidní leukemie) s odpovídajícími 3,7-disubstituovanými pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidiny. Jako příklad lze uvést 6-(2-hydroxybenzyl)amino-9-isopropylpurin

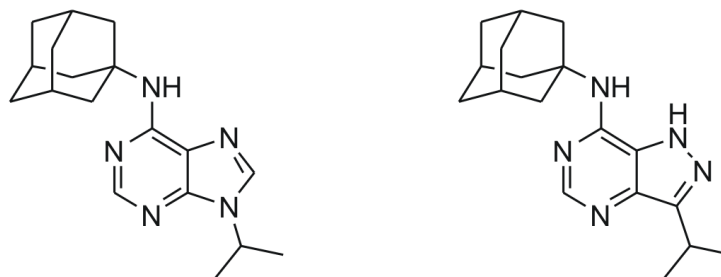
(**Obrázek 2**, vlevo), který inhibuje CDK1 v koncentraci 4,44 μM , což je 10-krát vyšší inhibiční koncentrace než kterou vykazuje 7-(2-hydroxybenzyl)amino-3-isopropylpyrazolo[4,3-*d*]pyrimidin (**Obrázek 2**, vpravo). Vyšší aktivita bioisosteru proti CDK1, v porovnání s purinem, je nejspíše zapříčiněna změnou polohy atomu dusíku, čímž dochází ke změně elektrostatického potenciálu nově vzniklé molekuly. Lze tak uvažovat zejména z toho důvodu, že orientace obou zmiňovaných sloučenin v aktivním místě CDK1 je pravděpodobně velmi podobná.



Typ sloučeniny	IC ₅₀ [μM]	
	CDK1	K-562
Purin	4,44	125
Pyrazolo[4,3- <i>d</i>]pyrimidin	0,44	54

Obrázek 2: Strukturní vzorce 6,9-disubstituovaného purinu a odpovídajícího 3,7-disubstituovaného pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidinu a jejich biologická aktivita.

Podobnou studií se zabýval také Jorda a kol.,²² kdy byly studovány 6,9-disubstituované puriny a korespondující 3,7-disubstituované pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidiny jako možná antileishmanika a inhibitory proteinových kinas CRK6/CYC6, patřících do skupiny CDK. V sérii testovaných purinů pouze sloučenina obsahující ve své molekule adamantanový skelet (**Obrázek 3**, vlevo), a dále pak sloučeniny substituované 3- a 4-fluoranilinem na C6, vykazovaly hodnotu IC₅₀ nižší než 100 μM . Analýza struktury a účinků v sérii pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidinů ukázala, že nejsilněji inhibují CRK3/CYC6 vysoce lipofilní adamantylové deriváty (**Obrázek 3**, vpravo), které rovněž patřily mezi nejaktivnější, pokud jde o inhibici *Leishmania donovani axenic amastigotes*.



Typ sloučeniny	Inhibice <i>Leishmania d. a. a.</i>		Inhibice CRK3/CYC6	
	% ^a	EC ₅₀ [μM]	% ^b	IC ₅₀ ^c [μM]
Purin	72,0 ± 0,2	n.s.	66,1 ± 2,1	12,23
Pyrazolo[4,3-<i>d</i>]pyrimidin	73,2 ± 0,0	1,22	93,8 ± 0,3	1,82

n.s. - nebylo stanoveno

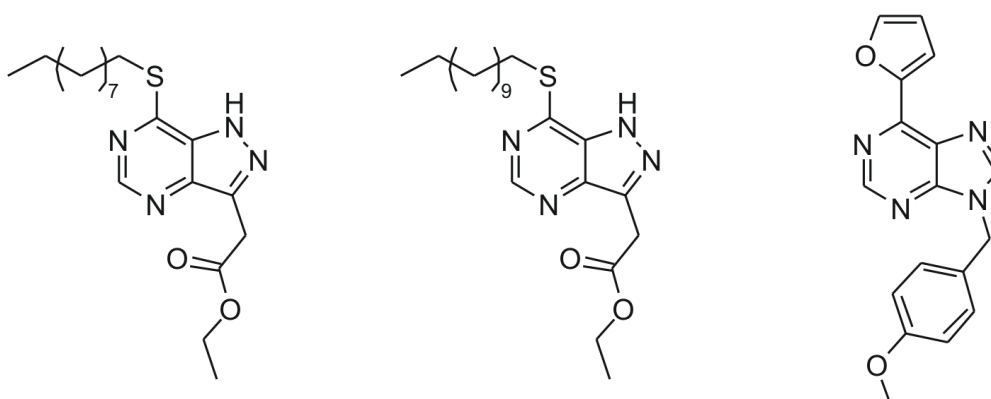
^a v přítomnosti 30 μM sloučeniny

^b v přítomnosti 15 μM ATP s 30 μM sloučeniny

^c v přítomnosti 15 μM ATP

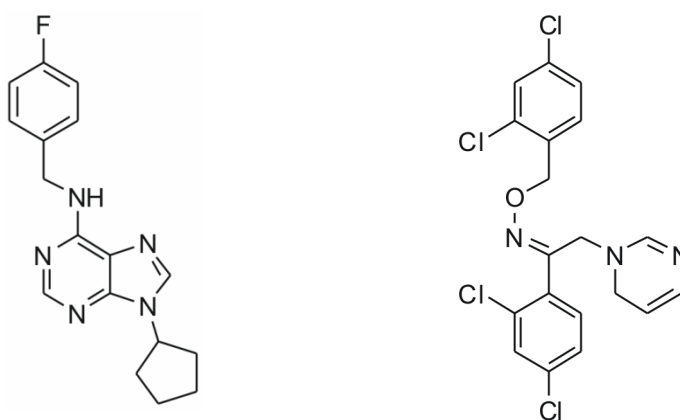
Obrázek 3: Strukturální vzorce 6,9-disubstituovaného purinu s adamantanovým skeletem (vlevo) a odpovídajícího 3,7-disubstituovaného pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidinu (vpravo) a jejich biologická aktivita.

Navzdory dostupnosti velmi účinných antituberkulotik lze tuberkulózu stále považovat za velmi znepokojující onemocnění, a to zejména s ohledem na vývoj forem mikroorganismů vysoce rezistentních vůči léčivým přípravkům používaných proti této chorobě. Nové nadějně látky byly identifikovány v sérii 6-thio-9-disubstituovaných purinů. Zejména sloučeniny znázorněné na **Obrázku 4** (vlevo a uprostřed) vykazovaly minimální inhibiční koncentraci (MIC) 1,56 a 0,78 μg ml⁻¹ proti kmenu *Mtb H₃₇Rv*.²³ Sloučenina na **Obrázku 4** (vpravo)²⁴ byla také shledána velmi aktivní proti *Mycobacterium tuberculosis* (MIC = 1,56 μg ml⁻¹) s nízkou toxicitou vůči savcím buňkám.²³



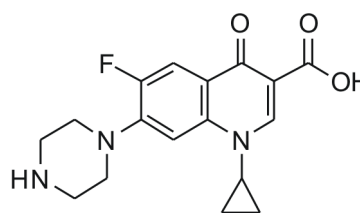
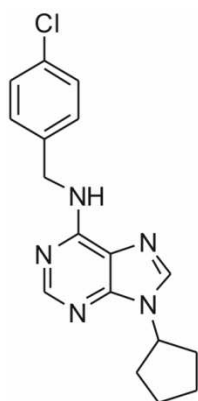
Obrázek 4: Strukturální vzorce 6,9-disubstituovaných purinů s antimikobakteriálními účinky.

Tunçbilek a kol.¹³ na základě předchozích pozorování ve své studii popisuje navržení a syntézu série nových 6,9-disubstituovaných purinů s následným hodnocením jejich antibakteriální a antifungicidní aktivity. U těchto sloučenin byla zkoumána antimikrobiální aktivita proti *Staphylococcus aureus*, methicilin rezistentnímu *Staphylococcus aureus* (MRSA, standart a klinický izolát), *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* a *Candida albicans*. Za zmínku stojí 9-cyklopentyl-6-[(4-fluorbenzyl)amino]-9*H*-purin (**Obrázek 5**, vlevo), který projevila excelentní aktivitu proti *Candida albicans* (MIC = 3,12 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Tato sloučenina prokázala silnější antimykotickou aktivitu než standardně používaný lék oxikonazol (**Obrázek 5**, vpravo, MIC = 6,25 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$).



Obrázek 5: Strukturní vzorce 9-cyklopentyl-6-[(4-fluorbenzyl)amino]-9*H*-purinu (vlevo) a oxikonazolu (vpravo).

Také sloučenina nesoucí 4-chlorbenzylaminovou skupinu v pozici 6 purinového skeletu (**Obrázek 6**, vlevo) projevila srovnatelnou nebo vyšší antibakteriální aktivitu v porovnání s použitým standardem, kterým byl ciprofloxacin (**Obrázek 6**, vpravo), a to proti oběma MRSA bakteriím.¹³

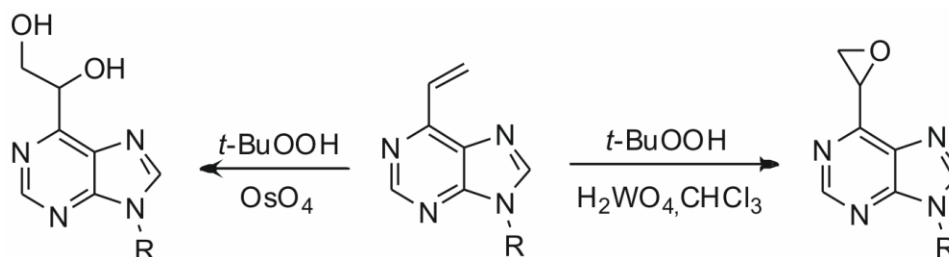


Typ sloučeniny	MIC [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	
	MRSAst	MRSAki
Purin	6,25	6,25
Ciprofloxacin	6,25	12,5

Obrázek 6: Strukturální vzorce 9-cyklopentyl-6-[(4-chlorbenzyl)amino]-9H-purinu (vlevo) a ciprofloxacinu (vpravo) a jejich biologická aktivita.

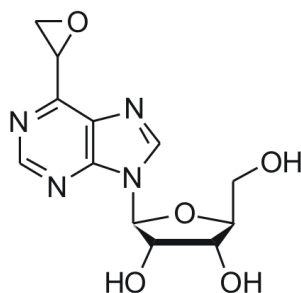
Kuchař a kol.²⁵ se ve své studii zabýval reaktivitou 6-vinylpurinů, kdy dihydroxylací vznikaly 6-(1,2-dihydroxyethyl)puriny a epoxidací 6-(oxiran-2-yl)puriny (**Schéma 10**).

Schéma 10



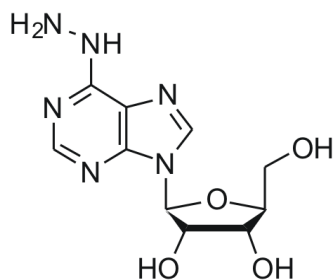
$t\text{-BuOOH}$ = terc-butylohydroperoxid

Po otevření oxiranového kruhu následovaly reakce s různými nukleofily za vzniku 6-(1,2-disubstituovaných ethyl)purinových bází a nukleosidů. Tyto látky byly zkoumány na jejich případnou cytostatickou a antivirovou aktivitu. Žádné významné antivirové nebo cytostatické účinky však nebyly u studovaných purinových bází a nukleosidů pozorovány. Výjimku představovala výchozí epoxidová sloučenina (**Obrázek 7**), která vykazovala mírnou cytostatickou aktivitu ($\text{IC}_{50} = 3,6\text{--}9,0 \mu\text{M}$) proti buněčným liniím CEM (lidská akutní lymfoblastická leukémie), HL-60 (lidská myeloidní leukémie) a HeLa (děložní adenokarcinom).^{25,26}



Obrázek 7: Strukturální vzorec epoxidové sloučeniny vykazující cytostatickou aktivitu.

V nedávné době byla publikována práce zabývající se syntézou série N6-aminopurin-9- β -D-ribonukleosidů. Připravené sloučeniny byly následně testovány proti vybraným typům nádorových buněčných linií. Nejsilnější antiproliferační aktivita, a to v nízké mikromolární i submikromolární koncentraci proti všem testovaným buněčným nádorovým liniím, byla zaznamenána u 6-hydrazino-9- β -D-ribofuranosylpurinu (**Obrázek 8**).²⁷



GI ₅₀ (μ M)				
K-562	HeLa	Caco-2	HT-29	MCF-7
0,61 \pm 0,04	0,52 \pm 0,01	1,03 \pm 0,02	1,44 \pm 0,01	0,35 \pm 0,01

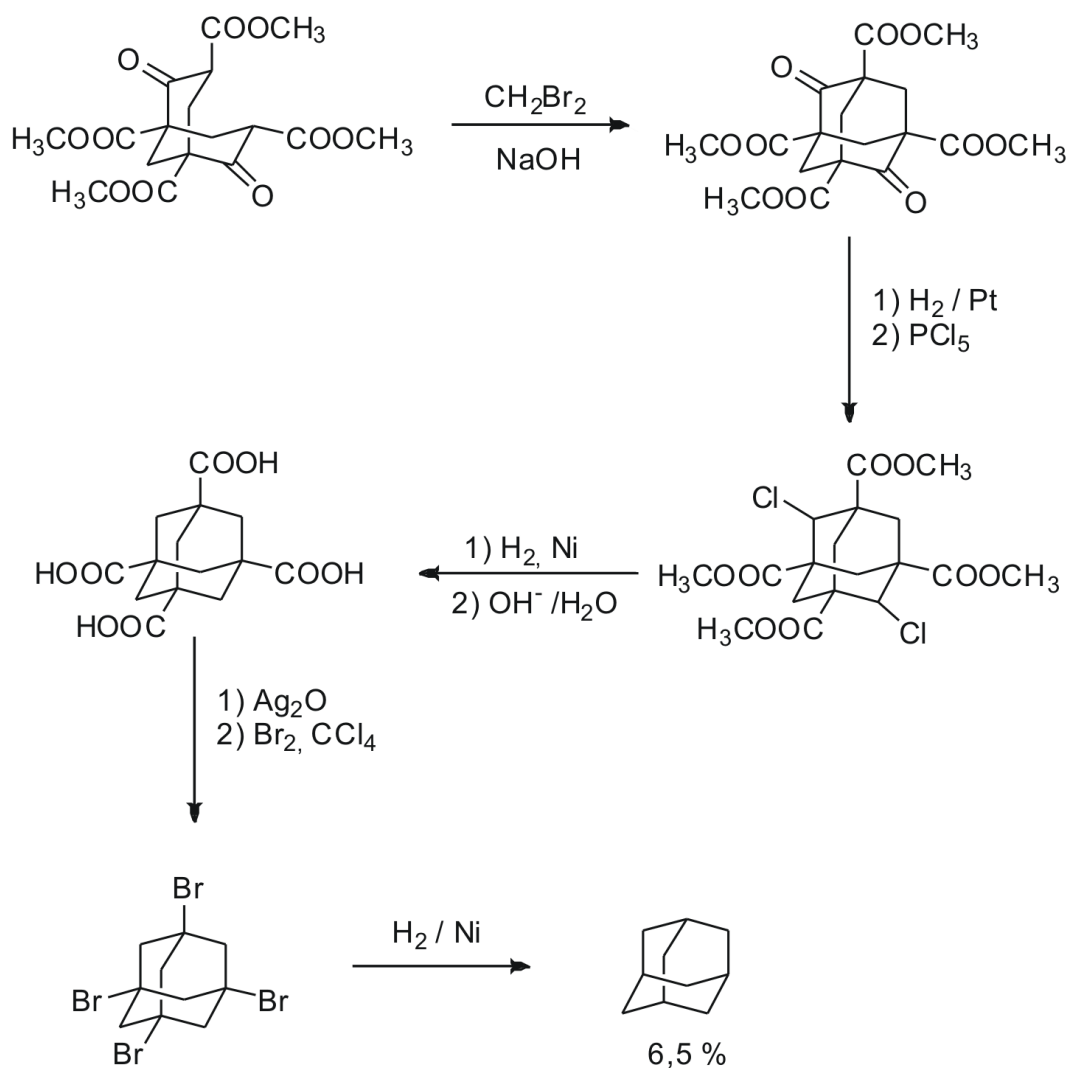
K-562 = chronické myeloidní leukemie
 HeLa = děložní adenokarcinom
 Caco-2 = adenokarcinom tlustého střeva
 HT-29 = karcinom tlustého střeva
 MCF-7 = karcinom prsu

Obrázek 8: Strukturální vzorec 6-hydrazino-9- β -D-ribofuranosylpurinu a jeho biologická aktivita.

2 ADAMANTAN A CHEMIE LÉČIV

V roce 1932 byl poprvé objeven profesorem S. Landou společně s jeho žákem V. Macháčkem při výzkumu hodonínské ropy neznámý uhlovodík, později pojmenovaný jako adamantan.²⁸ O první nezdařilý pokus syntetizovat adamantan se pokusil Meerwein roku 1922. Úspěšným se však stal až Bötger roku 1937, který syntetizoval derivát adamantanu z Meerweinova esteru, což je znázorněno v prvním kroku na **Schématu 11**. Dále bylo vyzkoušeno mnoho metod, jak syntetizovat adamantan, ovšem výtěžky byly zanedbatelné. Nejvhodnějším postupem se nakonec stal sled reakcí uvedených na **Schématu 11**. Bohužel ani v tomto případě nebyl výtěžek adamantanu o mnoho vyšší, činil pouze 6,5 %.²⁹

Schéma 11



Adamantan, systematicky tricyklo[3.3.1.1^{3,7}]dekan, je bezbarvá organická sloučenina se zápachem připomínajícím kafrovou vůni. Se sumárním vzorcem $C_{10}H_{16}$ se jedná o cykloalkan, a také nejjednodušší diamantoid. Molekula adamantanu (**Obrázek 9**, vlevo) se skládá ze tří propojených cyklohexanových kruhů uspořádaných do „židličkové“ konformace, což je jedinečné v tom, že je silně rigidní a prakticky bez pnutí. Adamantan je nejstabilnější ze všech izomerů se vzorcem $C_{10}H_{16}$, mezi něž patří např. také twistan (**Obrázek 9**, vpravo). Prostorové uspořádání atomů uhlíku je v molekule adamantanu stejné jako v krystalu diamantu.³⁰



Obrázek 9: Strukturální vzorce adamantanu (vlevo) a twistanu (vpravo).

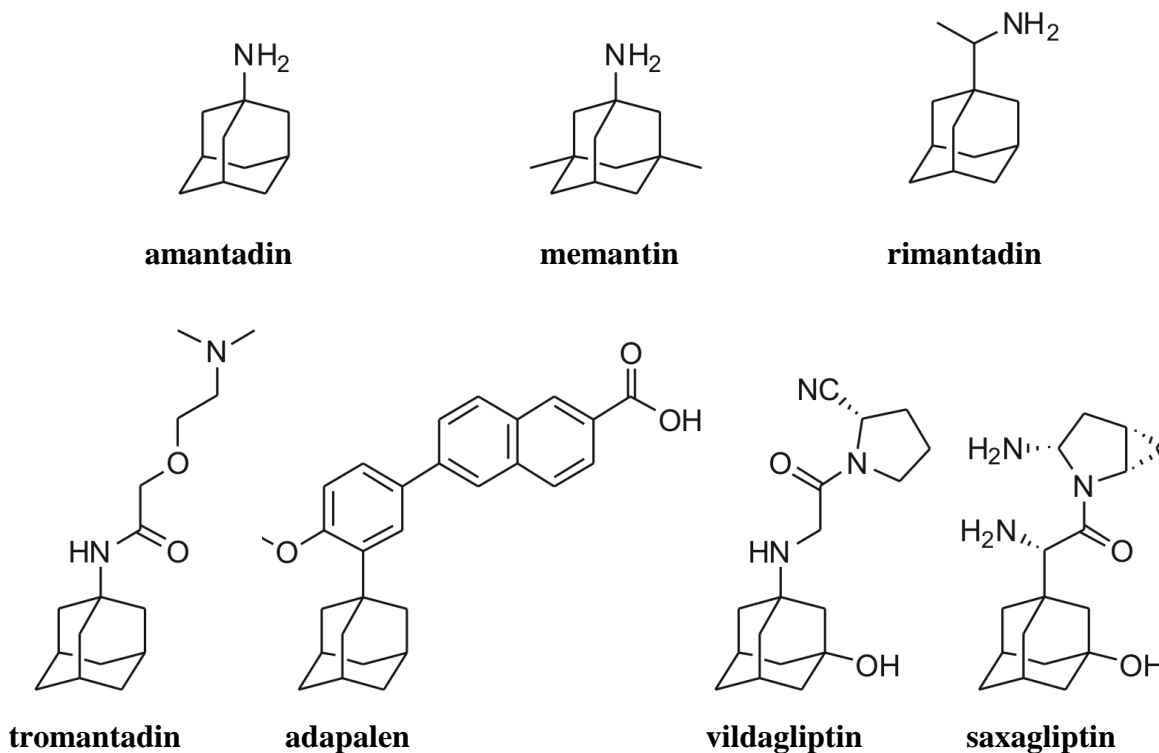
2.1 Chemie léčiv

V současné době se v klinické praxi používá sedm sloučenin obsahujících adamantanový skelet (**Tabulka 2, Obrázek 10**). Tyto sloučeniny se používají k léčbě virových infekcí, neurodegenerativních poruch, proti akné vulgaris a diabetu mellitus 2. typu.³¹

Tabulka 2: Sloučeniny obsahující adamantanový skelet používané v klinické praxi.

Triviální název	Onemocnění	Aplikace
amantadin	antivirotikum, Parkinsonova choroba	orálně
memantin	Alzheimerova choroba	orálně
rimantadin	antivirotikum	orálně
tromantadin	antivirotikum	lokálně
adapalen	akné vulgaris	lokálně
vildagliptin	diabetes mellitus 2	orálně
saxagliptin	diabetes mellitus 2	orálně

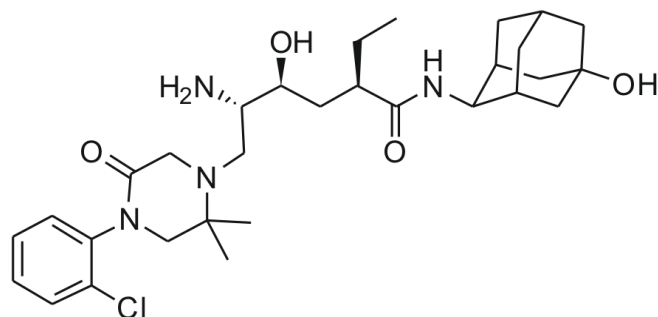
Většina z uvedených sloučenin je podávána enterálně, konkrétně pak aplikací per os, pouze tromantadin a adapalen jsou podávány lokálně. Terapeutika odvozená od adamantanu jsou pacienty obecně dobře snášena a vyznačují se dlouhodobým toxickým profilem.³¹



Obrázek 10: Strukturní vzorce klinicky používaných sloučenin obsahujících adamantanový skelet.

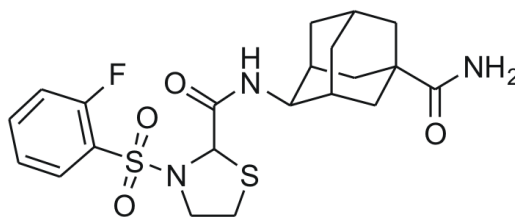
Uplatnění výše uvedených sloučenin v klinické praxi je výsledkem desítky let trvajících úsilí mnoha výzkumných skupin, stejně jako investic v řádech stovek milionů dolarů. V současné době existují stovky dalších sloučenin obsahujících adamantanový skelet, které jsou zkoumány jako potenciální terapeutika, např. při podmínkách přetížení organismu železem nebo při neurologických obtížích, dále jako protirakovinové látky, či sloučeniny s možnou aplikací při léčbě hypertenze, malárie nebo tuberkulózy.³¹ V následující části budou popsány vybrané sloučeniny s adamantanovým skeletem, jejichž biologické účinky se jeví jako velice zajímavé, a to zejména s ohledem na jejich možné studium v rámci klinického testování.

Nakamura a kol.³² popisuje syntézu a farmakologické účinky sloučeniny pojmenované DS-8108b (**Obrázek 11**). Dalšími popisovanými údaji v této práci jsou inhibiční aktivita reninu *in vitro*, tlumivé účinky aktivity reninu v plazmě (PRA) *ex vivo* u Makaka jávského či údaje o farmakokinetice předmětné sloučeniny. DS-8108b prokázala inhibiční aktivitu proti lidskému reninu ($IC_{50} = 0,9 \text{ nM}$), a proti lidské ($IC_{50} = 1,9 \text{ nM}$) a opičí PRA ($IC_{50} = 6,3 \text{ nM}$).



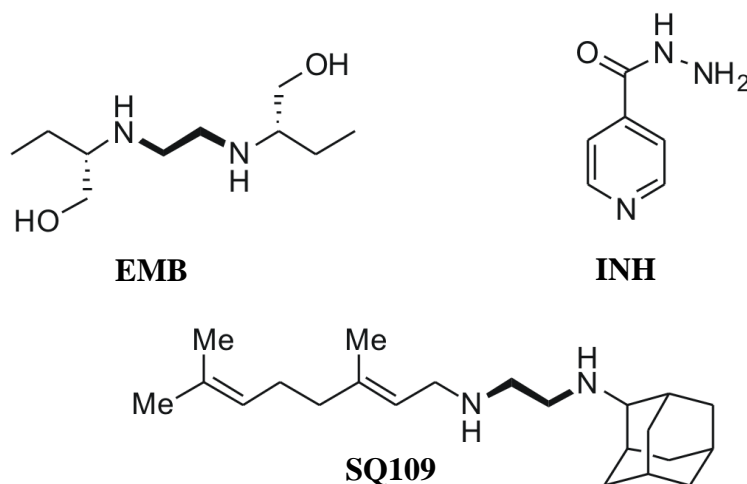
Obrázek 11: Strukturální vzorec DS-8108b.

Deriváty thiazolidinů byly shledány jako účinné inhibitory 11β -HSD1 (11β -hydroxysteroid dehydrogenasa typu 1), a tudíž potenciální terapeutika pro léčbu diabetu. Sloučenina uvedená na **Obrázku 12** je selektivní k lidské 11β -HSD1 více než k 11β -HSD2, je metabolicky stabilní, s nízkou toxicitou a účinná také u potkanů a zkoumaných modelů opic.^{33,34} Rozdíl mezi dvěma uvedenými enzymy spočívá v tom, že 11β -HSD1 převádí v játrech kortizon na kortizol, kdežto 11β -HSD2 transformuje v ledvinách kortizol na kortizon.³⁵



Obrázek 12: Thiazolidinový derivát inhibující 11β -HSD1.

SQ109 (**Obrázek 13**) je [1,2]-diamin odvozený od ethambutolu (EMB),³⁶ což je bakteriostatické antimykobakteriální terapeutikum určené k léčbě tuberkulózy,³⁷ které je obvykle podáváno v kombinaci s jinými léky, jako je např. isoniazid (INH).³⁸ Jia a kol.³⁶ se ve své studii zabývají antimikrobiální aktivitou SQ109, která byla potvrzena *in vitro* (myší makrofágy infikované *Mycobacterium tuberculosis*) a *in vivo* (infekce *Mycobacterium tuberculosis* C57BL/6 myší) ve srovnání s INH a EMB. SQ109 prokázala účinnost a efektivitu v inhibici intracelulární *M. tuberculosis*, která byla podobná jako INH, ale vyšší než u EMB. *In vivo* perorální podání SQ109 ($0,1$ – 25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ den^{-1}) myším po dobu 28 dní v dávce snižující mykobakteriální zátěž v plicích a slezině byla srovnatelná s EMB (100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ den^{-1}), ale méně účinná než u INH (25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ den^{-1}). Získaná data jsou přehledně uvedena v **Tabulce 3**. Za zmínku rovněž stojí, že SQ109 v současné době absolvuje druhou fázi klinického zkoušení, a to pod záštitou společnosti Sequella Inc.



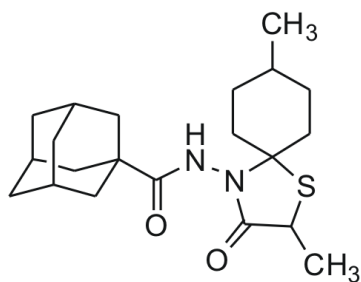
Obrázek 13: Strukturální vzorce EMB, INH a SQ109.

Tabulka 3: Kolonie tvořící jednotky počítané v orgánových homogenátech po 28-denním perorálním podání SQ109, EMB a INH na myši inokulované *M. tuberculosis* H37Rv.

Léčba (denní dávka) ^a	Log ₁₀ CFU/orgán	
	Plíce	Slezina
Neléčeno	7,05±0,13	6,58±0,18
INH (25 mg·kg ⁻¹)	4,24±0,12	4,22±0,05
EMB (100 mg·kg ⁻¹)	5,38±0,19	5,13±0,12
SQ109 (0,1 mg·kg ⁻¹)	6,69±0,13	6,06±0,17
SQ109 (10 mg·kg ⁻¹)	5,45±0,16	5,36±0,20
SQ109 (25 mg·kg ⁻¹)	5,18±0,15	5,14±0,14

^a léčba byla zahájena 20 dní po inokulaci myší

Göktas a kol.³⁹ popisuje syntézu nových *N*-(1-thia-4-azaspiro[4.5]dekan-4-yl)karboxamidů obsahujících 1-adamantyl. Všechny sloučeniny byly testovány proti chřipce typu A a chřipce typu B. Tyto chřipkové viry obsahují na své membráně dva důležité proteiny zvané hemaglutinin (H) a neuraminidáza (N). Dle typu proteinů, které příslušný virus nese, se virové kmeny značí zkratkami H a N a pořadím jednotlivých proteinů, např. H1N1, H3N2 nebo H5N1.⁴⁰ *N*-(2,8-dimethyl-3-oxo-1-thia-4-azaspiro[4.5]dec-4-yl)adamantan-1-karboxamid (**Obrázek 14**) se ukázal jako nejsilnější a nejselektivnější inhibitor viru chřipky A/H3N2 ($EC_{50} = 1,4 \mu\text{M}$) při nízkých hodnotách pH.³⁹



Obrázek 14: Strukturní vzorec *N*-(2,8-dimethyl-3-oxo-1-thia-4-azaspiro[4.5]dec-4-yl)adamantan-1-karboxamidu.

II. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3 PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ

Teploty tání (t_f) byly měřeny na Koflerově bloku nebo na přístroji Büchi Melting Point B-540 a nejsou korigovány. Elementární analýzy (C, H, N) byly prováděny na přístroji Flash EA 1112 Automatic Elemental analyzer (Thermo Fischer Scientific). TLC analýzy byly prováděny na deskách typu TLC Silica gel 60F₂₅₄ firmy Merck KgaA. NMR spektra byla měřena na přístroji Bruker Avance 500 při frekvenci 500,13 MHz (¹H) a 125,77 MHz pro (¹³C). Jako interní standard bylo používáno rozpouštědlo (¹H: δ reziduální CHCl₃) = 7,27 ppm; δ (DMSO-*d*₅) = 2,50 ppm; ¹³C: δ (CDCl₃) = 77,23 ppm; δ (DMSO-*d*₆) = 39,52 ppm. Při interpretaci protonových spekter bylo použito následujících zkratk: s (singlet), d (dublet), t (triplet), m (multiplet). Infračervená spektra byla měřena na přístroji iS 10, Smart omni – Transmission v podobě KBr tablet. Při vypisování spekter byly použity následující zkratky značící intenzitu absorpčního pásu: w (slabá), m (střední), s (silná), případně také jeho šířku: b (široký pás). Kvantitativní analýza reakčních směsí byla měřena na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí Shimadzu GCMS-QP2010 vybaveného kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem. Chromatografická kolona: Supelco SLB-5ms (30 m; 0,25 mm); nosný plyn: helium (konstantní průtok 38 cm·s⁻¹); teplotní program: 100 °C/7 min, 25 °C/min zvýšení na teplotu 250 °C, která byla držena patřičně dlouhou dobu; teplota nástřiku: 250 °C; iontový zdroj: 200 °C, 70 eV. Při vypisování hmotnostních spekter byly brány v úvahu signály s relativním zastoupením alespoň 5 % (neplatí pro molekulové ionty). Charakterizace vybraných fragmentů pozorovaných v hmotnostních spektrech je uváděna v závorce za hodnotou *m/z*. ESI-IT-MS analýzy byly prováděny na hmotnostním spektrometru s iontovou pastí amaZon X (Bruker Daltonics) vybaveném elektrosprejovým ionizačním zdrojem. Veškerá měření byla provedena v pozitivním a negativním módu. Do iontového zdroje byly vzorky přiváděny kovovou kapilárou při konstantním průtoku 4 μ l·min⁻¹. Ostatní parametry byly následující: napětí na kapiláře: \pm 4,2 kV; teplota sušícího plynu (220 °C); průtok sušícího plynu (6 dm³·min⁻¹); 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 příslušného iontu – měřena pomocí kolizí vyvolané disociace (z angl. collision-induced dissociation, CID). Jako kolizní plyn bylo použito helium. Rentgenostrukturní analýza byla prováděna na difraktometru Kuma KM-4-CCD. Příslušná struktura byla řešena a zpřesňována pomocí programu *SHELX97*, pro grafické zpracování byl použit program *ORTEP-3*.

4 PŘÍPRAVA 1-ADAMANTYLEM SUBSTITUOVANÝCH AROMATICKÝCH AMINŮ

4.1 Redukce nitroketonů na aminoketony

Příslušný 1-adamantyl(nitrofenyl)keton byl rozpuštěn v methanolu pomocí horkovzdušné pistole při 90 °C. Po úplném rozpuštění výchozí látky byla do vzniklého roztoku opatrně přidána kyselina chlorovodíková (1/1, v/v, vodný roztok) a poté v jedné porci jemné práškové železo (2,2 ekviv.). Reakční směs byla refluxována pod zpětným chladičem a průběh reakce monitorován pomocí TLC. Po spotřebování veškerého množství železa byla do reakční směsi vždy přidána další porce (2,2 ekviv.), a to do okamžiku, kdy TLC neprokázala naprosté vymizení výchozí látky. Po dokončení reakce byla směs zalkalizována přidáním 5% roztoku hydroxidu sodného a extrahována 8 × 15 cm³ směsí diethylether/hexan (1/1, v/v). Spojené organické podíly byly promyty 4 × 10 cm³ nasyceného roztoku 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 (3)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: (1-adamantyl)(3-nitrofenyl)methanon (300 mg; 1,05 mmol), methanol (29 cm³), kyselina chlorovodíková (6 cm³), železo (130 mg; 2,33 mmol). Do reakční směsi bylo přidáno navíc 300 % železa. Surový produkt (247 mg; 92 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v). Čistý produkt byl získán v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 216 mg (81 %); $t_f = 95\text{--}98$ °C.

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,73 (m, 6H, CH₂(Ad)); 1,95 (m, 6H, CH₂(Ad)); 2,02 (m, 3H, CH(Ad)); 3,77 (bs, 2H, NH₂); 6,70–6,76 (m, 2H, Ph); 6,86 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,12 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 28,2(CH); 36,5(CH₂); 39,0(CH₂); 46,8(C); 113,9(CH); 117,1(CH); 117,5(CH); 129,2(CH); 141,4(C); 146,8(C); 210,5(CO) ppm. IR (KBr): 3473(m), 3383(s), 2902(s), 2848(m), 1660(s), 1622(m), 1591(m), 1494(m), 1445(m), 1320(m), 1295(w), 1221(m), 1180(w), 991(w), 793(w), 731(m), 682(w), 649(w) cm⁻¹. GC-EI-MS ($t_R = 21,3$ min); m/z (%): 41(8), 55(5), 65(14), 67(9), 77(8), 79(22), 81(6), 91(7), 92(18), 93(22), 107(12), 120(M⁺-Ad, 19), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 227(M⁺-CO, 7), 255(M⁺, 26), 256(5).

(C₁₇H₂₁NO) vyp. složení: 79,96 % C; 8,29 % H; 5,49 % N

exp. složení: 79,92 % C; 8,38 % H; 5,32 % N

(1-Adamantyl)(4-aminofenyl)methanon (4)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: (1-adamantyl)(4-nitrofenyl)methanon (500 mg; 1,75 mmol), methanol (49 cm³), kyselina chlorovodíková (10 cm³), železo (217 mg; 3,88 mmol). Do reakční směsi bylo přidáno navíc 225 % železa. Surový produkt (426 mg; 95 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v). Čistý produkt byl získán v podobě červeno-hnědého krystalického prášku ve výtěžku 314 mg (70 %); $t_f = 76-87$ °C.

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,77 (m, 6H, CH₂(Ad)); 2,07 (m, 9H, CH₂(Ad)+CH(Ad)); 4,28 (bs, 2H, NH₂); 6,66 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, Ph); 7,72 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 28,6(CH); 36,9(CH₂); 39,9(CH₂); 46,9(C); 114,1(CH); 128,9(C); 131,0(CH); 148,8(C); 206,3(CO) ppm. IR (KBr): 3469(m), 3348(s), 2898(s), 2846(m), 1630(m), 1587(s), 1558(m), 1516(w), 1442(m), 1321(m), 1271(s), 1242(m), 1173(s), 1113(w), 985(w), 928(w), 841(m), 750(w), 642(w), 613(m), 511(w) cm⁻¹. GC-EI-MS ($t_R = 23,2$ min); m/z (%): 41(5), 65(9), 79(9), 92(10), 93(8), 120(M⁺-Ad, 100), 121(8), 135(Ad, 12), 255(M⁺, 9).

(C₁₇H₂₁NO) vyp. složení: 79,96 % C; 8,29 % H; 5,49 % N

exp. složení: 79,69 % C; 8,28 % H; 5,28 % N

4.2 Redukce nitroketonů na nitroalkoholy

Příslušný 1-adamantyl(nitrofenyl)keton byl rozpuštěn v ethanolu pomocí horkovzdušné pistole při 80–100 °C. Po úplném rozpuštění výchozí látky byl vzniklý roztok zchlazen směsí voda/led na 0 °C, což způsobilo vznik husté bílé sraženiny. Poté byl do vzniklé suspenze přidán tetrahydroboritan sodný (1,24 ekviv.) a reakční směs byla za intenzivního míchání vytemperována na laboratorní teplotu. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC. Po úplném zreagování výchozí látky byla do reakční směsi opatrně po kapkách přidána kyselina chlorovodíková (1M vodný roztok), přičemž byl pozorován vznik mléčné sraženiny. Požadovaný produkt byl získán po opakované extrakci diethyletherem (6 × 15 cm³), promytí spojených organických podílů nasyceným roztokem chloridu sodného (2 × 10 cm³), jejich vysušení nad síranem sodným a odpařením rozpouštědla na RVO.

(1-Adamantyl)(3-nitrofenyl)methanol (5)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: (1-adamantyl)(3-nitrofenyl)methanol (600 mg; 2,10 mmol), ethanol (13 cm³), tetrahydroboritan sodný (98 mg; 2,59 mmol), kyselina chlorovodíková (25 cm³). Surový produkt (568 mg; 94 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 4/1, v/v). Čistý produkt byl získán v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 487 mg (81 %); $t_t = 110\text{--}118\text{ }^\circ\text{C}$.

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,48–1,68 (m, 12H, CH₂(Ad)); 2,00 (m, 4H, CH(Ad)+CHOH); 4,33 (s, 1H, CHOH); 7,49 (m, 1H, Ph); 7,60 (m, 1H, Ph); 8,13 (m, 2H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 28,2(CH); 36,9(CH₂); 37,3(C); 38,0(CH₂); 82,0(CH); 122,3(CH); 122,6(CH); 128,3(CH); 133,8(CH); 143,1(C); 147,7(C) ppm. IR (KBr): 3544(m), 3431(m), 2905(s), 2847(s), 1521(s), 1475(m), 1448(m), 1352(s), 1286(m), 1195(m), 1087(m), 1036(m), 1021(m), 985(w), 929(w), 910(w), 896(w), 811(m), 722(s), 694(s), 661(w) cm⁻¹. GC-EI-MS ($t_R = 25,2$ min); $m/z(\%)$: 41(7), 55(5), 67(8), 77(10), 79(20), 81(5), 91(6), 93(19), 107(11), 135(Ad, 100), 136(AdH, 12), 287(M⁺, <1).

(C₁₇H₂₁NO₃) vyp. složení: 71,06 % C; 7,37 % H; 4,87 % N

exp. složení: 70,87 % C; 7,32 % H; 4,63 % N

(1-Adamantyl)(4-nitrofenyl)methanol (6)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: (1-adamantyl)(4-nitrofenyl)methanon (500 mg; 1,75 mmol), ethanol (10 cm³), tetrahydroboritan sodný (82 mg; 2,17 mmol), kyselina chlorovodíková (21 cm³). Požadovaný produkt byl získán v čistotě nevyžadující žádnou další purifikaci, a to v podobě světle žlutých krystalků ve výtěžku 470 mg (94 %); $t_t = 156\text{--}160\text{ }^\circ\text{C}$.

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,48–1,70 (m, 12H, CH₂(Ad)); 1,99 (m, 4H, CH(Ad)+CHOH); 4,32 (s, 1H, CHOH); 7,44 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, Ph); 8,17 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 28,4(CH); 37,1(CH₂); 37,7(C); 38,2(CH₂); 82,3(CH); 122,8(CH); 128,8(CH); 147,4(C); 148,8(C) ppm. IR (KBr): 3568(m), 2908(s), 2848(s), 1600(m), 1506(s), 1450(w), 1348(s), 1311(m), 1124(w), 1105(m), 1047(m), 939(w), 854(m), 831(w), 800(w), 721(m), 702(w), 638(w), 623(w) cm⁻¹. GC-EI-MS ($t_R = 26,6$ min); $m/z(\%)$: 41(7), 67(6), 77(6), 79(20), 91(8), 93(14), 107(10), 135(Ad, 100), 136(AdH, 12), 180(5), 208(6), 287(M⁺, <1).

(C₁₇H₂₁NO₃) vyp. složení: 71,06 % C; 7,37 % H; 4,87 % N
exp. složení: 71,35 % C; 7,60 % H; 4,52 % N

4.3 Redukce nitroalkoholů na aminoalkoholy

Aminoalkohol **7** byl připraven stejným způsobem jako aminoketony **3** a **4** (kap. 4.1). Aminoalkohol **8** byl připraven způsobem popsaným níže.

(1-Adamantyl)(3-aminofenyl)methanol (**7**)

Titulní látka byla připravena analogickým způsobem jako aminoketony **3** a **4** z výchozích navážek: (1-adamantyl)(3-nitrofenyl)methanol (460 mg; 1,60 mmol), methanol (46 cm³), kyselina chlorovodíková (9 cm³), železo (198 mg; 3,55 mmol). Do reakční směsi bylo přidáno navíc 400 % železa. Požadovaný produkt byl získán v čistotě nevyžadující žádnou další purifikaci, a to v podobě světle žlutých krystalů ve výtěžku 341 mg (83 %); *t*_t = 135–138 °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1,35–1,62 (m, 12H, CH₂(Ad)); 1,90 (m, 3H, CH(Ad)); 3,88 (s, 1H, CHOH); 4,76 (s, 1H, CHOH); 4,86 (s, 2H, NH₂); 6,35–6,40 (m, 2H, Ph); 6,48 (s, 1H, Ph); 6,92 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ph) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 28,3(CH); 29,8(C); 37,1(CH₂); 38,8(CH₂); 83,5(CH); 114,4(CH); 114,6(CH); 118,5(CH); 128,3(CH); 142,5(C); 146,2(C) ppm. IR (KBr): 3395(m), 2900(s), 2844(m), 2360(w), 1606(m), 1458(m), 1301(w), 1036(m), 886(w), 751(m), 729(m), 700(m), 667(w), 585(w) cm⁻¹. GC-EI-MS (*t*_R = 21,2 min); *m/z*(%): 41(10), 55(7), 65(7), 67(12), 77(20), 79(28), 81(7), 91(8), 92(6), 93(31), 94(22), 107(15), 120(6), 121(54), 122(M⁺-Ad, 12), 135(Ad, 100), 136(AdH, 12), 257(M⁺, 18).

(C₁₇H₂₃NO) vyp. složení: 79,33 % C; 9,01 % H; 5,44 % N
exp. složení: 79,55 % C; 9,12 % H; 5,75 % N

(1-Adamantyl)(4-aminofenyl)methanol (**8**)

Nitroalkohol **6** (420 mg; 1,46 mmol) byl rozpuštěn v 9 cm³ dioxanu. Do vzniklého roztoku bylo následně přidáno 9 cm³ hexanu (z důvodu lepší rozpustnosti vodíku v reakční směsi) a Ra-Ni ve značném přebytku. Směs byla intenzivně míchána při laboratorní teplotě pod H₂ atmosférou, dokud nedošlo k úplnému spotřebování výchozího nitroalkoholu (monitorováno pomocí TLC). Po ukončení reakce byla směs zfiltrována, do získaného filtrátu bylo přidáno 15 cm³ H₂O a provedena extrakce Et₂O (3 × 15 cm³). Spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem chloridu sodného (2 × 10 cm³) a

sušeny nad síranem sodným. Odpařením rozpouštědla na RVO byl získán surový produkt, jehož přečištěním pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v) byl vyizolován čistý produkt v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 214 mg (57 %); $t_r = 157\text{--}162\text{ }^\circ\text{C}$.

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,47–1,66 (m, 12H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,96 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 3,64 (bs, 2H, NH_2); 4,11 (s, 1H, CHOH); 6,65 (d, $J = 8,4\text{ Hz}$, 2H, Ph); 7,05 (d, $J = 8,3\text{ Hz}$, 2H, Ph) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 28,6(CH); 37,4(CH_2); 37,5(C); 38,4(CH_2); 83,0(CH); 114,4(CH); 129,0(CH); 131,6(C); 145,7(C) ppm. IR (KBr): 3378(s), 3209(s), 2906(s), 1614(s), 1514(s), 1446(m), 1265(m), 1178(m), 1128(m), 1047(s), 845(s), 812(m), 781(m), 744(m), 573(m), 536(m), 482(w) cm^{-1} . GC-EI-MS ($t_R = 21,6\text{ min}$); $m/z(\%)$: 77(12), 79(9), 93(10), 94(13), 106(6), 120(11), 121(39), 122($\text{M}^+ - \text{Ad}$, 100), 123(8), 135(Ad, 9), 257(M^+ , 5).

($\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}$) vyp. složení: 79,33 % C; 9,01 % H; 5,44 % N

exp. složení: 78,99 % C; 9,13 % H; 5,24 % N

Příprava Ranevova niklu

Ve 100 cm^3 Erlenmayerově baňce bylo, za stálého míchání a chlazení směsí voda/led, rozpuštěno 8 g (200 mmol) hydroxidu sodného ve 30 cm^3 H_2O . Po 45 minutách bylo do vzniklého roztoku opatrně přidáno 6,60 g Ra-Ni v přiměřených dávkách, tak aby docházelo k vytváření H_2 . Po přidavku veškerého Ra-Ni byla směs míchána při laboratorní teplotě po dobu 12 hodin. Zásaditá suspenze byla poté promývána destilovanou vodou do neutrálního pH. Po neutralizaci byla směs promyta 10 \times 10 cm^3 organického rozpouštědla použitého v dané reakci a poté ještě 2-krát příslušným rozpouštědlem zbaveným vody pomocí běžných postupů.

4.4 Syntéza 3-(1-adamantylmethyl)anilinium-chloridu

4.4.1 Reakce sloučeniny 1 s ethan-1,2-dithiolem

Nitroketon **1** (1000 mg; 3,50 mmol) byl navážen do baňky a rozpuštěn v dichlormethanu (5 cm^3). Dále byl ke směsi pomocí mikropipety přidán ethan-1,2-dithiol (517 mg; 5,5 mmol). Poté byla reakční směs intenzivně míchána po dobu 30 minut při teplotě 0–5 $^\circ\text{C}$. Následně byl do směsi po kapkách přidán $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1232 mg; 8,7 mmol.), přičemž přibližně po třech minutách od přidání celého množství katalyzátoru byla pozorována tvorba sraženiny. S cílem rozpustit vzniklou sraženinu bylo do směsi přidáno dalších 6 cm^3 dichlormethanu. Poté byla reakční směs míchána (za stálého chlazení)

dalších 20 minut. Po uplynutí této doby byla směs vytemperována na laboratorní teplotu a průběh reakce monitorován pomocí TLC. Po ukončení reakce bylo ke směsi přidáno 20 cm³ dichlormethanu a směs byla promyta 4 × 15 cm³ hydroxidu sodného (5% vodný roztok). Spojené organické podíly byly dále promyty nasyceným roztokem chloridu sodného (4 × 10 cm³) a sušeny nad síranem sodným. Odpařením rozpouštědla na RVO byl získán surový produkt ve výtěžku 1034 mg (82 %).

2-(1-Adamantyl)-2-(3-nitrofenyl)-1,2-dithiolan (9)

Čistá titulní látka byla získána krystalizací ze směsi dichlormethan/hexan ve formě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 865 mg (68 %); $t_f = 180\text{--}189\text{ }^\circ\text{C}$.

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,57 (m, 6H, CH₂(Ad)); 1,79 (m, 6H, CH₂(Ad)); 1,99 (m, 3H, CH(Ad)); 2,99 (m, 2H, SCH^AH^B); 3,28 (m, 2H, SCH^AH^B); 7,43 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 8,10 (m, 2H, Ph); 8,70 (s, 1H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 28,7(CH); 36,3(CH₂); 38,6(CH₂); 39,6(CH₂); 40,8(C); 86,0(C); 121,7(CH); 125,5(CH); 127,1(CH); 136,7(CH); 146,2(C); 147,0(C) ppm. IR (KBr): 2898(s), 2850(m), 1519(s), 1342(s), 1304(w), 1282(w), 1103(w), 812(w), 729(m), 687(w), 617(w) cm⁻¹. GC-EI-MS ($t_R = 39,3$ min); $m/z(\%)$: 67(7), 79(16), 93(15), 107(8), 135(Ad, 100), 136(AdH, 12), 196(7), 210(23), 226(M⁺-Ad, 5), 361(M⁺, 3).

(C₁₉H₂₃NO₂S₂) vyp. složení: 63,12 % C; 6,41 % H; 3,87 % N; 17,74 % S

exp. složení: 62,86 % C; 6,32 % H; 3,90 % N; 17,62 % S

4.4.2 Redukce nitrodithiolanu 9 na aminodithiolan

Sloučenina 9 (825 mg; 2,28 mmol) byla rozpuštěna za varu v isopropanolu (85 cm³). Po úplném rozpuštění bylo do vzniklého roztoku přidáno 13 cm³ kyseliny chlorovodíkové (1/1, v/v, vodný roztok) a 287 mg práškového železa (5,14 mmol). Reakční směs byla refluxována, přičemž další porce železa byly přidávány vždy po spotřebování porce předešlé. Po úplném spotřebování výchozí látky (monitorováno pomocí TLC) byla reakční směs zalkalizována 80 cm³ NaOH (5% vodný roztok) a poté extrahována 6 × 15 cm³ diethyletheru. Spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem chloridu sodného (4 × 10 cm³) a sušeny nad síranem sodným. Odpařením rozpouštědla na RVO byl získán surový produkt.

2-(1-Adamantyl)-2-(3-aminofenyl)-1,2-dithiolan (10)

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel; chloroform/methanol, 100/2, v/v) ve formě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 718 mg (95 %); $t_f = 212\text{--}220\text{ }^\circ\text{C}$.

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,57 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,83 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,96 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 3,01 (m, 2H, $\text{SCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 3,24 (m, 2H, $\text{SCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 4,07 (bs, 2H, NH_2); 6,61 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H, Ph); 7,05 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,17 (m, 2H, Ph) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 28,9(CH); 36,6(CH_2); 38,3(CH_2); 39,8(CH_2); 41,0(C); 87,2(C); 114,0(CH); 118,5(CH); 122,3(CH); 127,1(CH); 143,6(C); 144,5(C) ppm. IR (KBr): 3442(w), 3357(m), 2903(s), 2846(s), 1616(m), 1596(m), 1485(m), 1443(m), 1357(w), 1342(w), 1306(w), 1277(w), 1104(w), 978(w), 867(w), 779(m), 747(m), 701(m), 466(w) cm^{-1} . GC-EI-MS ($t_R = 48,1$ min); $m/z(\%)$: 41(6), 65(6), 67(6), 79(13), 91(5), 92(9), 93(11), 107(5), 135(Ad, 12), 136(AdH, 20), 196($\text{M}^+ - \text{Ad}$, 100), 197(12), 198(9), 331(M^+ , 8).

($\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{NS}_2$) vyp. složení: 68,83 % C; 7,60 % H; 4,22 % N; 19,34 % S

exp. složení: 68,58 % C; 7,47 % H; 4,58 % N; 19,52 % S

4.4.3 Desulfurizace aminodithiolanu 10

Aminodithiolan **10** (681 mg; 2,05 mmol) byl rozpuštěn ve 250 cm^3 baňce v dioxanu (9 cm^3) pomocí horkovzdušné pistole. Poté byl do vzniklého roztoku přidán Ra-Ni a směs refluxována pod ochrannou argonovou atmosférou. Průběh reakce byl monitorován pomocí GC-MS, přičemž neprokázala-li tato analytická metoda úplné spotřebování výchozí látky, bylo vždy do reakční směsi přidáno další množství Ra-Ni. Po proběhnutí reakce byl Ra-Ni odfiltrován a směs extrahována 3 \times 15 cm^3 diethyletheru. Spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem chloridu sodného (2 \times 10 cm^3) a sušeny nad síranem sodným. Odpařením rozpouštědla na RVO byl získán surový produkt. Surový produkt (300 mg; 61 %) byl převeden na hydrochlorid, a to probubláváním plynného chlorovodíku do roztoku surového produktu v hexanu.

3-(1-Adamantylmethyl)anilinium-chlorid (11)

Titulní látka byla získána v podobě běžového krystalického prášku ve výtěžku 224 mg (39 %); $t_f = 166\text{--}178\text{ }^\circ\text{C}$.

^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$): δ 1,43 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,56 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,90 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 2,38 (s, 2H, AdCH_2Ph); 7,11 (m, 2H, Ph); 7,24 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H, Ph); 7,36 (t,

$J = 8,0$ Hz, 1H, Ph); 10,40 (bs, 3H, NH_3^+) ppm. ^{13}C NMR (DMSO- d_6): δ 27,9(CH); 33,0(C); 36,4(CH_2); 41,6(CH_2); 50,0(CH_2); 120,6(CH); 124,8(CH); 128,7(CH); 129,9(CH); 131,3(C); 139,4(C) ppm. IR (KBr): 3036(m), 2899(s), 2846(s), 2674(m), 2605(s), 2585(s), 1958(w), 1603(m), 1582(m), 1561(m), 1519(w), 1487(m), 1451(m), 1345(w), 1106(w), 950(w), 887(w), 795(m), 693(m) cm^{-1} . GC-EI-MS ($t_R = 17,5$ min); $m/z(\%)$: 41(9), 55(6), 67(9), 77(13), 79(27), 81(6), 91(8), 93(21), 106(15), 107(14), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 241(M^+ , 25), 242(5).

($\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{ClN}$) vyp. složení: 73,49 % C; 8,71 % H; 5,04 % N

exp. složení: 73,65 % C; 8,96 % H; 4,92 % N

5 PŘÍPRAVA 6,9-DISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ

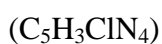
5.1 Chlorace hypoxanthinu

Hypoxanthin (1000 mg; 7,35 mmol) byl navážen do baňky o objemu 100 cm³ a rozpuštěn za stálého míchání v dimethylanilinu (2,6 cm³). Reakční směs byla zchlazena na teplotu 0 °C a poté byl do směsi během 30 minut po kapkách přidán chlorid fosforylu (41 mg; 0,27 mmol). Následně byla směs vytemperována na laboratorní teplotu. Po vytemperování byla reakční směs refluxována při teplotě 120 °C pod ochrannou dusíkovou atmosférou. Barva roztoku se po zahřátí pomalu měnila ze žluté na žlutozelenou, poté do červena. Po necelých 3 hodinách vymizela všechna výchozí látka (monitorováno TLC). Směs byla opět vytemperována na laboratorní teplotu a odpařena na RVO. Vzniklý červenofialový olej byl poté nalit na ledovou tříšť. Po cca 30 minutách byla směs zneutralizována přidáním 12 cm³ vodného amoniaku. Následně byla směs opakovaně promyta diethyletherem (odstranění indikátoru) a hexanem. Spojené organické podíly byly odpařeny za vakua. Po odpaření organických podílů bylo do baňky obsahující surový produkt přidáno 10 cm³ dioxanu, vzniklý roztok byl přiveden k varu pomocí horkovzdušné pistole a odpařen na RVO. Tento postup byl opakován celkem 7-krát.

6-Chlor-9H-purin (13)

Surový produkt byl získán ve výtěžku 768 mg (68 %). Čistý produkt byl získán po čistění sloupcovou chromatografií (silikagel, chloroform/methanol, 5/1, v/v) v podobě žlutého krystalického prášku ve výtěžku 683 mg (60 %); $t_f = > 300$ °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 8,67 (s, 1H, NC²HN); 8,72 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H, NC⁸HN); 13,90 (s, 1H, N⁹H) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 130,5(C); 145,9(CH); 148,6(C); 151,5(CH); 152,9(C) ppm. IR (KBr): 3064(s), 2804(s), 1604(s), 1574(s), 1490(m), 1446(m), 1390(s), 1328(s), 1286(s), 1234(s), 1145(m), 989(s), 926(m), 850(m), 640(s), 604(m) cm⁻¹. GC-EI-MS ($t_R = 13,4$ min); m/z (%): 40(5), 47(6), 51(5), 53(11), 64(10), 65(30), 66(7), 67(9), 73(8), 74(6), 86(8), 92(34), 99(5), 100(10), 119(91), 120(7), 154(M⁺(³⁵Cl), 100), 155(7), 156(M⁺(³⁷Cl), 32).



vyp. složení: 38,86 % C; 1,96 % H; 36,25 % N

exp. složení: 39,07 % C; 2,11 % H; 36,45 % N

5.2 Alkylace 6-chlor-9H-purinu

Purin **13** (200 mg; 1,30 mmol) byl rozpuštěn v 7 cm³ dimethylsulfoxidu. Do vzniklého roztoku byl následně v jedné porci přidán uhličitan draselný (7 mg; 3,93 mmol) a 2-jodpropan (1190 mg; 7,00 mmol). Reakční směs byla míchána při teplotě 15–18 °C a průběh reakce monitorován pomocí TLC (chloroform/methanol, 8/1, v/v). Po ukončení reakce byla směs zředěna destilovanou vodou a extrahována 6 × 15 cm³ ethyl-acetátu. Spojené organické podíly byly promyty 2 × 10 cm³ nasyceného roztoku chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Surový produkt byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, chloroform/methanol, 8/1, v/v).

6-Chlor-9-isopropyl-9H-purin (**14a**)

Titulní látka byla získána v podobě žlutých jehliček ve výtěžku 152 mg (60 %); $t_f = 148\text{--}153$ °C.

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,65 (d, $J = 6,8$ Hz, 6H, CH(CH₃)₂); 4,92 (septet, $J = 6,8$ Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 8,17 (s, 1H, NC⁸HN); 8,72 (s, 1H, NC²HN) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,6(CH₃); 48,4(CH); 132,2(C); 143,1(CH); 148,5(C); 151,1(C); 151,8(CH) ppm. IR (KBr): 3103(s), 3070(s), 2981(s), 1590(s), 1556(s), 1495(m), 1436(m), 1392(s), 1336(s), 1230(s), 1137(m), 1103(w), 941(s), 854(m), 793(w), 636(m), 592(w), 565(w) cm⁻¹. GC-EI-MS ($t_R = 13,3$ min); m/z (%): 41(29), 42(9), 43(20), 65(6), 77(5), 92(9), 119(42), 127(12), 134(11), 74(6), 154(100), 155(16), 156(32), 157(5), 181(12), 196(M⁺(³⁵Cl), 39), 197(5), 198(M⁺(³⁷Cl), 13).

(C₈H₉ClN₄) vyp. složení: 48,86 % C; 4,61 % H; 28,49 % N

exp. složení: 48,85 % C; 4,62 % H; 28,41 % N

5.3 Reakce 6-chlor-9-isopropyl-9H-purinu s benzylaminem

V baňce o objemu 25 cm³ byl rozpuštěn purin **14a** (100 mg; 0,51 mmol) ve 4 cm³ dimethylsulfoxidu. Do vzniklého roztoku byl přidán triethylamin (57 mg; 0,56 mmol) a benzylamin (57 mg; 0,53 mmol) v uvedeném pořadí. Reakční směs byla míchána při teplotě 90 °C. Průběh reakce byl doprovázen zřetelnou změnou barvy reakční směsi, a sice z původní světle žluté na oranžovou, dále na červenou, jež přešla na tmavě hnědou. Po ukončení reakce (monitorováno TLC) byla reakční směs zředěna destilovanou vodou a extrahována 7 × 15 cm³ diethyletheru. Spojené organické podíly byly následně promyty 2 × 10 cm³ nasyceného roztoku chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Surový

produkt (108 mg; 80 %) byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/3, v/v).

***N*-benzyl-9-isopropyl-9*H*-purin-6-amin (15)**

Titulní látka byla získána v podobě světle žlutého krystalického prášku ve výtěžku 66 mg (39 %); $t_f = 115\text{--}118\text{ }^\circ\text{C}$.

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 1,52 (d, $J = 6,7$ Hz, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 4,73 (septet, $J = 6,7$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 7,19 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H, Ph); 7,28 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H, Ph); 7,35 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H, Ph); 8,20 (s, 1H, NC^2HN); 8,23 (s, 1H, NC^8HN) ppm. ^{13}C NMR (DMSO- d_6): δ 22,1(CH_3); 42,8(CH_2); 46,4(CH); 119,4(C); 126,5(CH); 127,1(CH); 128,1(CH); 138,7(CH); 140,2(C); 148,3(C); 152,0(CH); 153,7(C) ppm. IR (KBr): 3265(w), 2980(w), 1716(w), 1627(s), 1570(m), 1455(w), 1352(m), 1312(m), 1292(m), 1254(w), 1230(m), 1202(w), 930(w), 724(w), 660(w) cm^{-1} . GC-EI-MS ($t_R = 13,2$ min); m/z (%): 41(12), 43(10), 65(17), 66(6), 77(7), 79(14), 89(5), 91(43), 92(7), 93(14), 94(7), 106(99), 107(9), 119(14), 120(24), 121(12), 148(8), 162(12), 224(59), 225(20), 266(16), 267(M^+ , 100), 268(18).

($\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_5$) vyp. složení: 67,39 % C; 6,41 % H; 26,20 % N
exp. složení: 67,31 % C; 6,40 % H; 26,10 % N

5.4 Nukleofilní aromatická substituce 6-chlor-9*H*-purinu na C6

Obecný postup přípravy 6-,amino“-9*H*-purinů:

Výchozí purin byl navážen do baňky a rozpuštěn v isopropanolu. Poté byl do vzniklého roztoku v 2,0 molárním přebytku přidán příslušný amin. Reakční směs byla refluxována, přičemž v průběhu cca 30 minut byla pozorována tvorba bezbarvé sraženiny. Po spotřebování výchozího purinu **13** (monitorováno TLC) byla vzniklá sraženina odfiltrována za sníženého tlaku, získaný pevný podíl promyt cca 5 cm^3 ledového isopropanolu a poté důkladně vysušen.

***N*-fenyl-9*H*-purin-6-amin (16)**

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: 6-chlor-9*H*-purin (100 mg; 0,65 mmol), isopropanol (5 cm^3) a anilin (121 mg; 1,29 mmol). Surový produkt (90 mg; 66 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel,

chloroform/methanol, 8/1, v/v). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 82 mg (60 %); $t_r = 229\text{--}235\text{ }^\circ\text{C}$.

^1H NMR (CDCl_3 , $\text{DMSO-}d_6$): δ 6,98 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H, Ph); 7,27 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, Ph); 7,90 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H, Ph); 8,05 (s, 1H, NC^2HN); 8,34 (s, 1H, NC^8HN); 9,48 (s, 1H, C^6NHPh); 13,52 (s, 1H, N^9H) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3 , $\text{DMSO-}d_6$): δ 118,0(C); 120,1(CH); 120,2(CH); 122,1(CH); 139,4(CH); 139,7(C); 151,1(C); 151,2(CH); 151,4(C) ppm. IR (KBr): 3356(m), 1704(w), 1579(s), 1531(s), 1504(s), 1481(s), 1442(s), 1398(m), 1363(s), 1329(m), 1304(s), 1252(s), 1224(m), 1187(w), 1079(w), 931(s), 854(m), 756(s) cm^{-1} . GC-EI-MS ($t_r = 20,9$ min); m/z (%): 51(18), 52(6), 53(5), 65(17), 66(10), 76(6), 77(32), 78(5), 92(18), 93(8), 102(5), 103(9), 104(7), 105(6), 119(6), 129(7), 156(7), 183(5), 210(100), 211(M^+ , 57), 212(7).

($\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_5$) vyp. složení: 62,55 % C; 4,29 % H; 33,16 % N
exp. složení: 62,41 % C; 4,36 % H; 33,09 % N

(1-Adamantyl){3-[(9H-purin-6-yl)amino]fenyl}methanon (17)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: 6-chlor-9H-purin (65 mg; 0,42 mmol), aminoketon **3** (215 mg; 0,84 mmol) a isopropanol (10 cm^3). Surový produkt (128 mg; 81 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, chloroform/methanol, 8/1, v/v). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 120 mg (76 %); $t_r = >300\text{ }^\circ\text{C}$.

^1H NMR (CDCl_3 , $\text{DMSO-}d_6$): δ 1,71 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,99 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 2,03 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 7,18 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H, Ph); 7,39 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, Ph); 8,13 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 8,30 (s, 1H, NC^2HN); 8,38 (s, 1H, Ph); 8,40 (s, 1H, NC^8HN); 9,95 (s, 1H, C^6NHPh); 13,13 (s, 1H, N^9H) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3 , $\text{DMSO-}d_6$): δ 28,1(CH); 36,5(CH_2); 39,0(CH_2); 46,6(C); 119,4(C); 121,6(CH); 122,6(CH); 128,8(CH); 139,2(C); 139,9(CH); 143,2(C); 151,5(C); 152,1(CH); 153,8(C); 208,7(CO) ppm. IR (KBr): 3300(m), 3091(m), 2902(s), 2848(s), 1637(s), 1557(s), 1479(s), 1431(s), 1352(s), 1271(s), 1240(s), 1166(m), 1089(m), 1006(m), 912(m), 795(m), 735(m), 648(m), 615(m) cm^{-1} . ESI-MS (pos.) m/z (%): 747,3 [$2\cdot\text{M}+\text{H}$] $^+$ (2); 396,3 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (2); 374,3 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (100). ESI-MS (neg.) m/z (%): 781,2 [$2\cdot\text{M}+\text{Cl}$] $^-$ (4); 745,3 [$2\cdot\text{M}-\text{H}$] $^-$ (10); 408,2 [$\text{M}+\text{Cl}$] $^-$ (15); 372,2 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ (100).

($\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}$) vyp. složení: 70,76 % C; 6,21 % H; 18,75 % N
exp. složení: 70,69 % C; 6,15 % H; 18,53 % N

(1-Adamantyl){3-[(9H-purin-6-yl)amino]fenyl}methanol (18)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: 6-chlor-9H-purin (102 mg; 0,66 mmol), aminoalkohol **7** (341 mg; 1,32 mmol) a isopropanol (10 cm³). Čistý produkt byl získán bez nutnosti jakékoliv purifikace ve formě světle žlutého krystalického prášku ve výtěžku 145 mg (58 %); $t_t = 236\text{--}242\text{ }^\circ\text{C}$.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1,42–1,52 (m, 6H, CH₂(Ad)); 1,61 (m, 6H, CH₂(Ad)); 1,90 (m, 3H, CH(Ad)); 4,03 (s, 1H, CHOH); 6,99 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, Ph); 7,29 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H, Ph); 7,69 (s, 1H, Ph); 8,55 (s+s (překryty)), 2H, NC²HN+NC⁸HN); 10,66 (s, 1H, C⁶NHPh) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 27,8(CH); 36,8(C); 37,9(CH₂); 39,0(CH₂); 80,8(CH); 115,0(C); 119,4(CH); 120,7(CH); 123,5(CH); 127,1(CH); 137,4(CH); 142,0(C); 143,2(CH); 149,8(C); 150,1(C); 150,3(C) ppm. IR (KBr): 3451(s), 3315(s), 3161(s), 3087(s), 2903(s), 2847(s), 1634(s), 1581(s), 1545(s), 1478(s), 1434(s), 1345(m), 1286(m), 1236(m), 1171(w), 1032(m), 794(m), 729(m), 605(m) cm⁻¹. ESI-MS (pos.) m/z (%): 398,3 [M+Na]⁺ (3); 376,3 [M+H]⁺ (100). ESI-MS (neg.) m/z (%): 785,3 [2·M+Cl]⁻ (10); 749,3 [2·M-H]⁻ (6); 410,2 [M+Cl]⁻ (31); 374,2 [M-H]⁻ (100).

(C₂₂H₂₅N₅O) vyp. složení: 70,38 % C; 6,71 % H; 18,65 % N

exp. složení: 70,05 % C; 6,67 % H; 18,41 % N

(1-Adamantyl){4-[(9H-purin-6-yl)amino]fenyl}methanon (19)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: 6-chlor-9H-purin (100 mg; 0,65 mmol), aminoketon **4** (330 mg; 1,29 mmol) a isopropanol (10 cm³). Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, chloroform/methanol, 8/1, v/v) v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 196 mg (81 %); $t_t = 260\text{--}268\text{ }^\circ\text{C}$.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1,72 (m, 6H, CH₂(Ad)); 1,97 (m, 6H, CH₂(Ad)); 2,02 (m, 3H, CH(Ad)); 7,77 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, Ph); 8,03 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, Ph); 8,77 (s, 1H, NC²HN); 8,88 (s, 1H, NC⁸HN); 11,67 (s, 1H, C⁶NHPh) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 27,6(CH); 35,9(CH₂); 38,6(CH₂); 46,1(C); 113,1(C); 119,8(CH); 128,8(CH); 133,7(CH); 140,3(C); 143,1(CH); 149,0(C); 149,3(C); 149,5(C); 206,7(CO) ppm. IR (KBr): 3118(m), 3091(m), 2906(s), 2848(s), 1660(s), 1595(s), 1556(s), 1485(s), 1431(s), 1385(s), 1272(s), 1232(s), 1173(s), 987(m), 930(m), 847(s), 779(s), 611(s), 509(m) cm⁻¹. ESI-MS (pos.) m/z (%): 747,3 [2·M+H]⁺ (5); 412,3 [M+K]⁺ (3); 396,3 [M+Na]⁺ (4); 374,3 [M+H]⁺ (100). ESI-MS

(neg.) m/z (%): 781,3 [2·M+Cl]⁻ (8); 745,3 [2·M-H]⁻ (3); 408,2 [M+Cl]⁻ (11); 372,2 [M-H]⁻ (100).

(C₂₂H₂₃N₅O) vyp. složení: 70,76 % C; 6,21 % H; 18,75 % N

exp. složení: 70,83 % C; 6,03 % H; 18,66 % N

***N*-{4-[1-adamantyl(propan-2-yloxy)methyl]fenyl}-9*H*-purin-6-amin (20)**

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: 6-chlor-9*H*-purin (61 mg; 0,39 mmol), aminoketon **8** (203 mg; 0,79 mmol) a isopropanol (10 cm³). Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, chloroform/methanol, 8/1, v/v) v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 108 mg (73 %); $t_t = 115\text{--}120$ °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0,99 (d, $J = 6,1$ Hz, 3H, CH(CH₃^A)); 1,05 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H, CH(CH₃^B)); 1,36–1,51 (m, 6H, CH₂(Ad)); 1,60 (m, 6H, CH₂(Ad)); 1,88 (m, 3H, CH(Ad)); 3,30 (m, 1H, CH(CH₃)₂); 3,81 (s, 1H, AdCH₂Ph); 7,14 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H, Ph); 7,88 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H, Ph); 8,25 (s, 1H, NC²HN); 8,36 (s, 1H, NC⁸HN); 9,71 (s, 1H, C⁶NHPh); 13,13 (s, 1H, N⁹H) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 21,4(CH₃); 23,9(CH₃); 28,3(CH); 37,3(C); 38,6(CH₂); 39,5(CH₂); 68,9(CH); 86,8(CH); 119,9(C); 120,0(CH); 128,6(CH); 134,0(CH); 139,0(C); 140,2(CH); 150,8(C); 152,3(C) ppm. IR (KBr): 3402(w), 3198(w), 3105(w), 2969(m), 2904(s), 2847(m), 1623(s), 1595(s), 1482(m), 1416(m), 1296(w), 1239(w), 1124(w), 1063(m), 945(w), 840(w), 795(w), 645(w), 520(w) cm⁻¹. ESI-MS (pos.) m/z (%): 418,3 [M+H]⁺ (100). ESI-MS (neg.) m/z (%): 869,3 [2·M+Cl]⁻ (2); 833,3 [2·M-H]⁻ (4); 452,2 [M+Cl]⁻ (8); 416,3 [M-H]⁻ (100).

(C₂₅H₃₁N₅O) vyp. složení: 71,91 % C; 7,48 % H; 16,77 % N

exp. složení: 71,69 % C; 7,36 % H; 16,62 % N

5.5 Reakce sloučeniny 19 s tetrahydridoboritanem sodným

Sloučenina **21** byla připravena stejným způsobem jako nitroalkoholy **5** a **6** (kap. 4.2).

(1-Adamantyl){4-[(9*H*-purin-6-yl)amino]fenyl}methanol (21)

Titulní látka byla připravena podle postupu uvedeného v kap. 4.1 z výchozích navážek: purin **19** (144 mg; 0,39 mmol), ethanol (2,3 cm³), tetrahydroboritan sodný (18 mg; 0,48 mmol), kyselina chlorovodíková (4,6 cm³). Požadovaný produkt byl získán v čistotě nevyžadující žádnou další purifikaci, a to v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 117 mg (81 %); $t_t = >300$ °C.

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 1,41–1,52 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,59 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,90 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 4,02 (s, 1H, CHOH); 7,20 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, Ph); 7,81 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, Ph); 8,43 (s, 1H, NC^2HN); 8,48 (s, 1H, NC^8HN); 10,26 (s, 1H, C^6NHPh) ppm. ^{13}C NMR (DMSO- d_6): δ 27,8(CH); 36,8(C); 37,9(CH_2); 39,0(CH_2); 80,5(CH); 119,0(C); 119,6(CH); 127,9(CH); 137,4(CH); 137,5(C); 141,2(CH); 150,4(C); 150,6(C); 150,7(C) ppm. IR (KBr): 3323(w), 3226(w), 3108(w), 2903(m), 2847(m), 1630(m), 1584(m), 1511(m), 1483(m), 1418(w), 1360(w), 1232(w), 1174(w), 938(w), 909(w), 843(w), 742(w), 645(w), 554(w) cm^{-1} . ESI-MS (pos.) m/z (%): 414,2 $[\text{M}+\text{K}]^+$ (4); 398,3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (6); 376,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100). ESI-MS (neg.) m/z (%): 785,3 $[\text{2}\cdot\text{M}+\text{Cl}]^-$ (8); 749,3 $[\text{2}\cdot\text{M}-\text{H}]^-$ (6); 410,2 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ (32); 374,3 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (100).

($\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}$) vyp. složení: 70,38 % C; 6,71 % H; 18,65 % N

exp. složení: 70,65 % C; 6,85 % H; 18,39 % N

5.6 Alkylace 6-,amino“-9H-purinů na N9

Obecný postup přípravy 6-,amino“-9-isopropyl-9H-purinů:

Příslušný 6-,amino“-9H-purin byl navážena do baňky, rozpuštěn v dimethylsulfoxidu (v případě neúplného rozpuštění výchozího purinu v DMSO za laboratorní teploty, byla suspenze opatrně zahřívána horkovzdušnou pistolí při teplotě 90 °C). Po úplném rozpuštění výchozí látky byl do vzniklého roztoku přidán uhličitán draselný a 2-jodpropan v uvedeném pořadí. Reakční směs byla míchána při teplotě 15–18 °C, přičemž průběh reakce byl monitorován pomocí TLC. Po spotřebování veškerého množství výchozího purinu byla reakční směs zředěna destilovanou vodou (10–15 cm^3) a extrahována 6 \times 15 cm^3 ethylacetátu. Spojené organické podíly byly následně promyty 2 \times 10 cm^3 nasyceného roztoku chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Surový produkt, získaný odpařením rozpouštědla za vakua, byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie.

N-Fenyl-9-isopropyl-9H-purin-6-amin (22)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: purin **16** (105 mg; 0,50 mmol), dimethylsulfoxid (3 cm^3), uhličitán draselný (207 mg; 1,50 mmol) a 2-jodpropan (455 mg; 2,7 mmol). Čistý produkt byl získán po čišťení sloupcovou chromatografií (silikagel; chloroform/methanol, 8/1) ve formě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 63 mg (50 %); $t_r = 76$ –79 °C.

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,63 (d, $J = 6,7$ Hz, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 4,88 (septet, $J = 6,7$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 7,11 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H, Ph); 7,38 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, Ph); 7,80 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H, Ph); 7,93 (s, 1H, NC^8HN); 8,03 (s, 1H, C^6NHPh); 8,54 (s, 1H, NC^2HN) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 22,6(CH_3); 47,3(CH); 120,5(CH); 123,6(CH); 129,0(CH); 138,0(CH); 138,7(C); 149,2(C); 152,1(C); 152,4(CH) ppm. IR (KBr): 3377(s), 2924(w), 1631(s), 1577(s), 1535(m), 1496(s), 1433(s), 1407(m), 1230(s), 1176(w), 1008(m), 897(m), 794(w), 746(s), 692(m), 557(m) cm^{-1} . GC-EI-MS ($t_R = 20,8$ min); m/z (%): 41(10), 43(7), 51(8), 65(7), 77(22), 92(8), 103(8), 104(8), 119(5), 129(6), 156(6), 210(100), 211(22), 252(50), 253(M^+ , 60), 254(10).

($\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_5$) vyp. složení: 66,38 % C; 5,97 % H; 27,65 % N
exp. složení: 66,22 % C; 5,92 % H; 27,49 % N

(1-Adamantyl){3-[(9-isopropyl-9H-purin-6-yl)amino]fenyl}methanon (23)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: purin **17** (91 mg; 0,24 mmol), dimethylsulfoxid (3 cm^3), uhličitán draselný (102 mg; 0,74 mmol) a 2-jodpropan (221 mg; 1,3 mmol). Čistý produkt byl získán po čišťení sloupcovou chromatografií (silikagel, chloroform/ethyl-acetát, 8/1) ve formě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 68 mg (67 %); $t_i = 60\text{--}67^\circ\text{C}$.

^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$): δ 1,57 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 1,71 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,99 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 2,03 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 4,82 (septet, $J = 6,9$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 7,19 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, Ph); 7,39 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, Ph); 8,14 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, Ph); 8,38 (m, 1H, Ph); 8,41 (s, 1H, NC^2HN); 8,44 (s, 1H, NC^8HN); 10,03 (s, 1H, C^6NHPh) ppm. ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$): δ 22,1(CH_3); 27,6(CH); 35,9(CH_2); 38,5(CH_2); 46,1(CH); 46,8(C); 119,0(C); 120,3(CH); 121,2(CH); 122,3(CH); 128,3(CH); 138,6(CH); 139,3(C); 140,0(CH); 149,3(C); 151,3(C); 151,8(C); 208,2(CO) ppm. IR (KBr): 3396(m), 3327(m), 3214(m), 3133(m), 2904(s), 2850(m), 1665(m), 1623(s), 11574(s), 1473(m), 1365(m), 1326(m), 1273(m), 1224(m), 1019(w), 996(w), 882(w), 796(w), 647(w) cm^{-1} . ESI-MS (pos.) m/z (%): 869,4 [$2\cdot\text{M}+\text{K}$] $^+$ (2); 853,4 [$2\cdot\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (6); 831,3 [$2\cdot\text{M}+\text{H}$] $^+$ (5); 454,3 [$\text{M}+\text{K}$] $^+$ (6); 438,3 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (13); 416,3 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (100). ESI-MS (neg.) m/z (%): 851,4 [$2\cdot\text{M}-2\cdot\text{H}+\text{Na}$] $^-$ (20); 414,3 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ (100).

($\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}$) vyp. složení: 72,26 % C; 7,03 % H; 16,85 % N
exp. složení: 71,96 % C; 7,39 % H; 16,67 % N

(1-Adamantyl){3-[(9-isopropyl-9H-purin-6-yl)amino]fenyl}methanol (24)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: purin **18** (100 mg; 0,27 mmol), dimethylsulfoxid (3 cm³), uhličitán draselný (111 mg; 0,80 mmol) a 2-jodpropan (247 mg; 1,45 mmol). Čistý produkt byl získán po čišťení sloupcovou chromatografií (silikagel; chloroform/methanol; 5/1) ve formě světle žlutého krystalického prášku ve výtěžku 50 mg (45 %); $t_r = 257\text{--}270$ °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1,42–1,53 (m, 6H, CH₂(Ad)); 1,56 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 1,62 (m, 6H, CH₂(Ad)); 1,90 (m, 3H, CH(Ad)); 4,01 (s, 1H, CHOH); 4,80 (septet, $J = 6,7$ Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 4,99 (s, 1H, CHOH); 6,90 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,22 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 7,73 (s, 1H, Ph); 7,84 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H, Ph); 8,35 (s, 1H, NC²HN); 8,39 (s, 1H, NC⁸HN); 9,72 (s, 1H, C⁶NHPh) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 22,1(CH₃); 27,8(CH); 36,8(C); 37,9(CH₂); 39,0(CH₂); 46,7(CH); 81,0(CH); 119,1(C); 120,1(CH); 120,7(CH); 122,3(CH); 126,8(CH); 138,5(CH); 139,6(C); 142,8(CH); 149,1(C); 151,5(C); 152,1(C) ppm. IR (KBr): 3587(w), 3360(w), 3096(w), 2973(w), 2091(m), 2845(m), 1632(s), 1581(s), 1479(s), 1406(w), 1319(w), 1232(w), 1125(w), 1028(w), 979(w), 880(w), 796(w), 757(w), 655(w) cm⁻¹. ESI-MS (pos.) m/z (%): 440,3 [M+Na]⁺ (2); 418,3 [M+H]⁺ (100); 400,4 [M+H-H₂O]⁺ (2). ESI-MS (neg.) m/z (%): 855,4 [2·M-2·H+Na]⁻ (11); 416,3 [M-H]⁻ (100).

(C₂₅H₃₁N₅O) vyp. složení: 71,91 % C; 7,48 % H; 16,77 % N

exp. složení: 71,70 % C; 7,41 % H; 16,52 % N

(1-Adamantyl){4-[(9-isopropyl-9H-purin-6-yl)amino]fenyl}methanon (25)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: purin **19** (150 mg; 0,40 mmol), dimethylsulfoxid (4 cm³), uhličitán draselný (169 mg, 1,22 mmol) a 2-jodpropan (375 mg; 2,2 mmol). Čistý produkt byl získán po čišťení sloupcovou chromatografií (silikagel, chloroform/methanol, 8/1) ve formě světle žlutého krystalického prášku ve výtěžku 119 mg (72 %); $t_r = 113\text{--}120$ °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1,58 (d, $J = 6,7$ Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 1,73 (m, 6H, CH₂(Ad)); 1,99 (m, 6H, CH₂(Ad)); 2,03 (m, 3H, CH(Ad)); 4,83 (septet, $J = 6,7$ Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 7,76 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, Ph); 8,10 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, Ph); 8,31 (s, 1H, NC²HN); 8,46 (s, 1H, NC⁸HN); 10,14 (s, 1H, C⁶NHPh) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 22,0(CH₃); 27,7(CH); 36,0(CH₂); 38,8(CH₂); 46,0(CH); 46,8(C); 119,1(C); 120,5(CH); 128,8(CH); 131,4(C); 140,2(CH); 142,5(C); 149,5(C); 151,3(CH); 151,6(C); 205,9(CO) ppm. IR (KBr):

3278(w), 3187(w), 2904(m), 2848(m), 1654(m), 1629(m), 1574(s), 1506(w), 1467(s), 1363(m), 1238(m), 1174(s), 1010(w), 849(w), 750(w), 648(w) cm^{-1} . ESI-MS (pos.) m/z (%): 454,3 $[\text{M}+\text{K}]^+$ (2); 438,3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (6); 416,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100). ESI-MS (neg.) m/z (%): 851,4 $[\text{2}\cdot\text{M}\cdot\text{2}\cdot\text{H}+\text{Na}]^-$ (6); 414,3 $[\text{M}\cdot\text{H}]^-$ (100).

($\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}$) vyp. složení: 72,26 % C; 7,03 % H; 16,85 % N

exp. složení: 72,07 % C; 6,91 % H; 16,59 % N

(1-Adamantyl){4-[(9-isopropyl-9H-purin-6-yl)amino]fenyl}methanol (26)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: purin **21** (90 mg; 0,24 mmol), dimethylsulfoxid (3 cm^3), uhličitan draselný (100 mg; 0,72 mmol) a 2-jodpropan (221 mg; 1,3 mmol). Čistý produkt byl získán po čišťení sloupcovou chromatografií (silikagel; chloroform/methanol, 5/1) ve formě bílého krystalického prášku ve výtěžku 42 mg (42 %); $t_r = 158\text{--}165$ °C.

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 1,42–1,61 (m, 18H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2+\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,94 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 4,03 (s, 1H, CHOH); 4,83 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 4,94 (s, 1H, CHOH); 7,18 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H, Ph); 7,85 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H, Ph); 8,36–8,42 (s+s (překryty), 2H, $\text{NC}^2\text{HN}+\text{NC}^8\text{HN}$); 9,74 (s, 1H, C^6NHPH) ppm. ^{13}C NMR (DMSO- d_6): δ 22,1(CH_3); 27,8(CH); 37,8(C); 39,0(CH_2); 39,2(CH_2); 46,7(CH); 80,5(CH); 119,5(CH); 120,0(C); 127,6(CH); 136,6(CH); 138,0(C); 139,6(CH); 149,1(C); 151,5(C); 152,0(C) ppm. IR (KBr): 3345(m), 3241(m), 3130(w), 2906(s), 2848(s), 1620(s), 1513(m), 1468(s), 1413(m), 1362(s), 1287(s), 1226(s), 1129(m), 1054(m), 1010(m), 882(w), 852(w), 785(m), 655(m) cm^{-1} . ESI-MS (pos.) m/z (%): 440,3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (5); 418,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100); 400,4 $[\text{M}+\text{H}\cdot\text{H}_2\text{O}]^+$ (3). ESI-MS (neg.) m/z (%): 855,4 $[\text{2}\cdot\text{M}\cdot\text{2}\cdot\text{H}+\text{Na}]^-$ (8); 416,3 $[\text{M}\cdot\text{H}]^-$ (100).

($\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}$) vyp. složení: 71,91 % C; 7,48 % H; 16,77 % N

exp. složení: 71,83 % C; 7,32 % H; 16,56 % N

III. VÝSLEDKY A DISKUSE

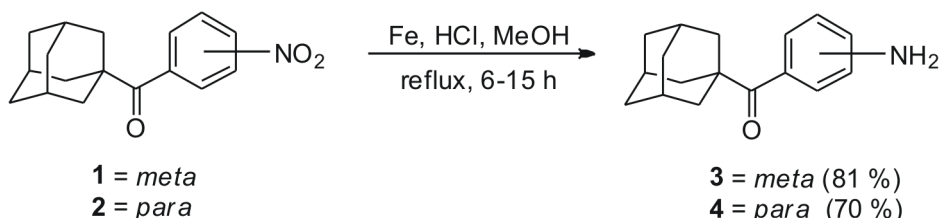
6 PŘÍPRAVA 1-ADAMANTYLEM SUBSTITUOVANÝCH AROMATICKÝCH AMINŮ

V následující kapitole bude stručně popsána příprava aromatických aminů substituovaných adamantanovým skeletem, které byly posléze použity jako klíčové substituenty při přípravě nové série 6,9-disubstituovaných purinů, kdy byly zavedeny do polohy 6 tohoto heterocyklu. Přestože již byla příprava a strukturní charakteristika níže popsaných sloučenin publikována,⁴¹ jeví se jako naprosto nezbytné se alespoň krátce o přípravě těchto látek zmínit. Zejména pak proto, že jejich syntéza představuje nedílnou součást předložené diplomové práce.

6.1 Příprava (1-adamantyl)(aminofenyl)ketonů

Pro získání požadovaných aminoketonů **3** a **4** byla provedena selektivní redukce nitroskupiny výchozích nitroketonů **1** a **2** (Schéma 12), které byly získány z laboratorních zásob. Nutno podotknout, že sloučeniny **1** a **2** nebyly obdrženy v odpovídající čistotě, nýbrž jako směs *meta* a *para* isomerů. Z tohoto důvodu bylo provedeno nesčetné množství sloupcových chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 4/1, v/v) sloužících k separaci sloučenin **1** a **2**. K transformaci nitroskupiny na aminoskupinu bylo jako redukční činidlo použito „pentakarbonylové“ železo v kyselině chlorovodíkové (1/1, v/v). Požadované aminoketony **3** a **4** byly získány, po purifikaci surové směsi sloupcovou chromatografií, v uspokojivých výtěžcích 70 % (sloučenina **3**) a 81 % (sloučenina **4**). Struktura obou sloučenin byla potvrzena běžnými metodami strukturní analýzy, např. infračervené spektroskopie (IR), hmotnostní spektrometrie (MS) či nukleární magnetické rezonance (NMR).

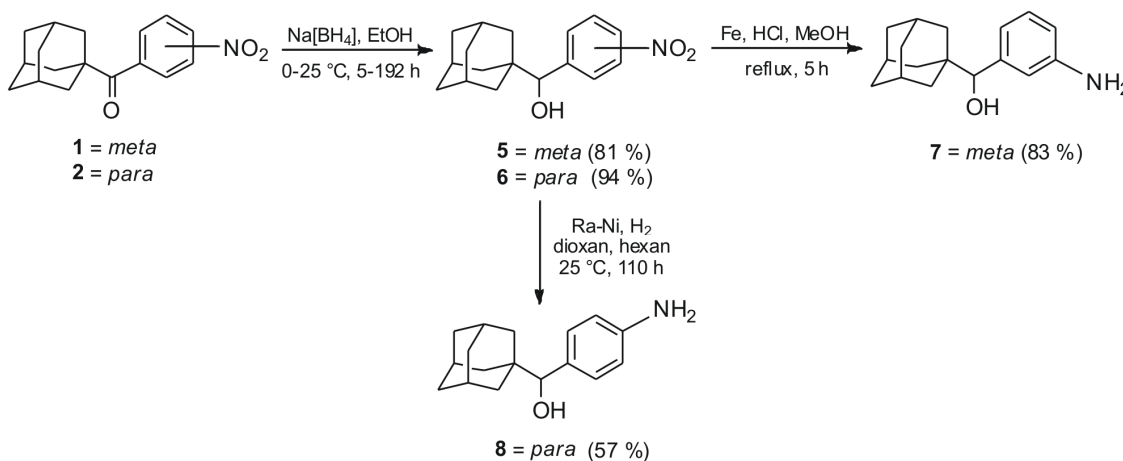
Schéma 12



6.2 Příprava (1-adamantyl)(aminofenyl)alkoholů

Příprava sloučenin **7** a **8** sestávala ze dvou kroků, jak je naznačeno na **Schématu 13**. V prvním kroku byla v obou případech zredukována karbonylová skupina příslušné výchozí látky (**1** a **2**) na skupinu hydroxylovou, a to pomocí tetrahydroboritanu sodného. Reakce se prováděla v ethanolu při teplotě 0–25 °C, přičemž reakční směs byla chlazená během přidávání redukčního činidla. Odpovídající (1-adamantyl)(nitrofenyl)alkoholy **5** a **6** byly získány ve výtěžcích 81, resp. 94 %. Následná redukce nitroskupiny sloučenin získaných v prvním reakčním kroku se pro každou z těchto látek lišila. V případě sloučeniny **5**, obsahující nitroskupinu v poloze *meta*, byla provedena redukce za stejných podmínek jako v případě sloučenin **3** a **4** (**Schéma 12**). Sloučenina **7** byla získána v odpovídající čistotě a výtěžku 83 %. Naproti tomu, při redukci *para* substituovaného nitroalkoholu **6** byl k redukci použit Raneyův nikl (Ra-Ni). Reakce byla prováděna ve směsi rozpouštědel dioxan/hexan (1/1, v/v) za laboratorní teploty. Požadovaný aminoalkohol **8** byl připraven ve vysoké čistotě a průměrném výtěžku 57 %. Struktura sloučenin **5–8** byla opět potvrzena běžnými instrumentálními metodami (IR, MS, NMR).

Schéma 13



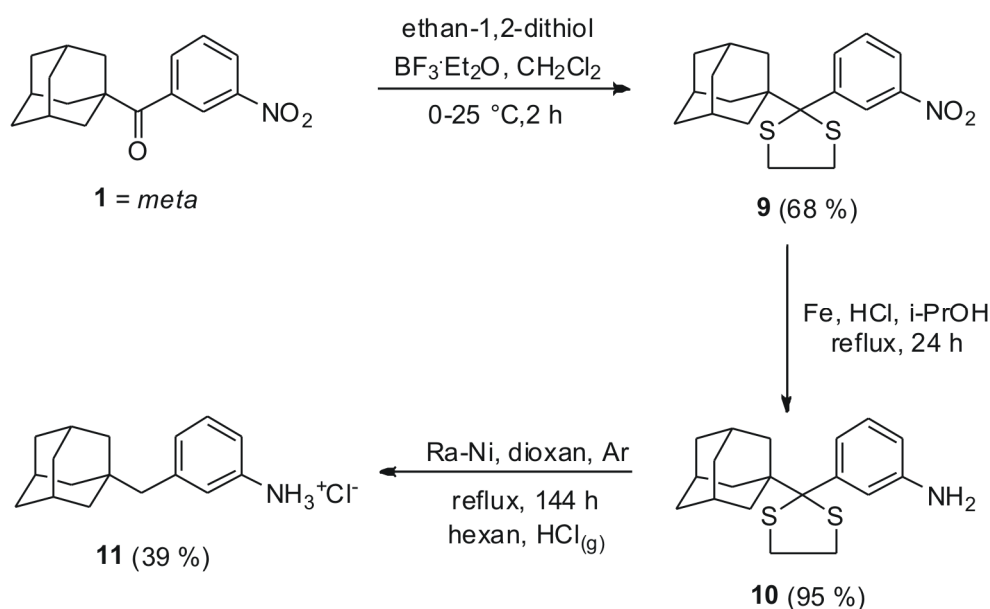
6.3 Syntéza 3-(1-adamantylmethyl)anilinium-chloridu

Sloučenina **11** byla připravena ve třech po sobě jdoucích krocích (**Schéma 14**) zahrnujících: (a) reakci výchozího nitroketonu **1** s ethan-1,2-dithiolem; (b) redukci nitroskupiny sloučeniny **9** na aminoskupinu; (c) odstranění dithiolanového kruhu za vzniku látky **11**.

Reakce sloučeniny **1** s ethan-1,2-dithiolem byla prováděna v dichlormethanu při teplotě 0–25 °C, přičemž reakce byla katalyzována přidáním etherátu fluoridu boritého (BF₃·Et₂O). Požadovaný nitrodithiolan **9** byl získán krystalizací ze směsi dichlormethan/hexan v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 68 %.

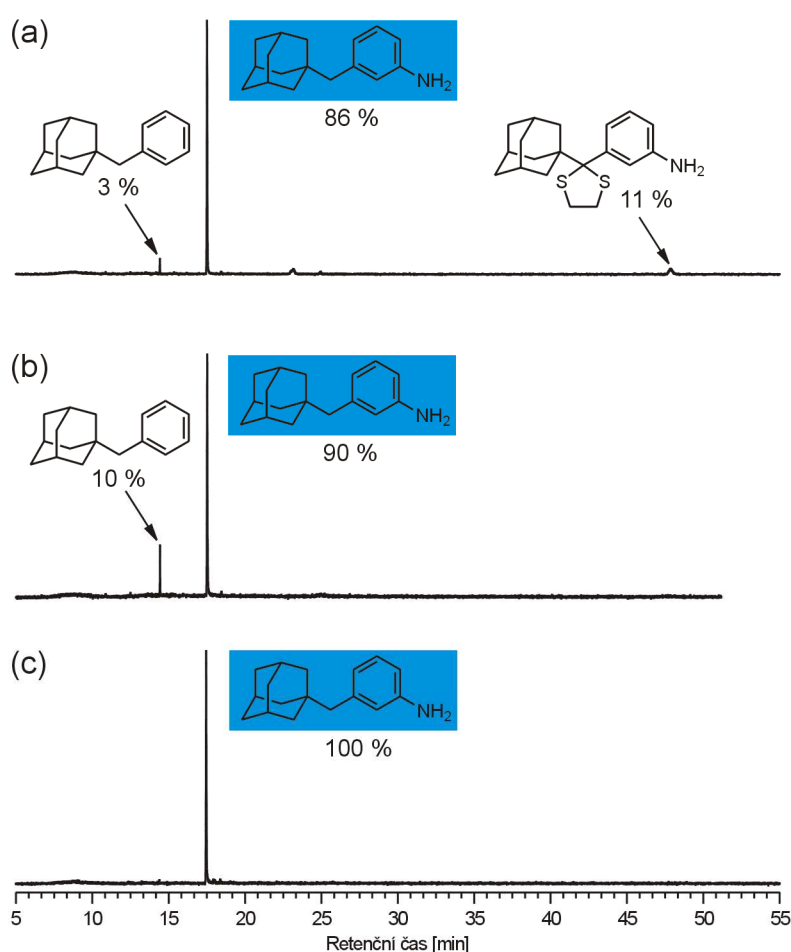
Následně byla sloučenina **9** podrobena reakci, jejímž cílem bylo zredukovat nitroskupinu substituovanou v poloze *meta* benzenového kruhu na aminoskupinu. K tomu účelu bylo opět použito „pentakarbonylového“ železa a kyseliny chlorovodíkové (1/1, v/v), obdobně jako v při syntéze sloučenin **3**, **4** a **7**. Sloučenina **10** byla připravena ve velmi vysokém (takřka kvantitativním) výtěžku 95 %.

Schéma 14



V posledním reakčním kroku vedoucím k syntéze sloučeniny **11**, obsahující mezi adamantanovým skeletem a benzenovým kruhem nepolární alifatický linker, byla provedena Mozingova desulfurizace sloučeniny **10**, jejímž principem je odstranění dithiolanového kruhu z výchozí látky a to za podmínek uvedených na **Schématu 14**. Průběh reakce byl monitorován nejen pomocí tenkovrstvé chromatografie, ale také s využitím instrumentálních metod, konkrétně plynové chromatografie kombinované s hmotnostní spektrometrií (GC-MS). Na **Obrázku 15** (a) je znázorněn výstup z GC-MS získaný po 3 dnech provádění reakce. Z chromatogramu je patrné, že v reakční směsi byly identifikovány celkem tři sloučeniny. Kromě požadovaného aminu, jehož relativní zastoupení v okamžiku provádění analýzy činilo 86 %, byl detekován také výchozí aminodithiolan (11 %) a rovněž 1-benzyladamantan (3 %), který vzniká v důsledku

neočekávané deaminace, jež v malé míře doprovází desulfurizaci sloučeniny **10**. Na **Obrázku 15** (b) je znázorněn chromatogram reakční směsi po 6 dnech provádění reakce, přičemž je zřejmé, že již došlo k úplnému spotřebování veškerého množství výchozího aminodithiolanu **10**. V tomto okamžiku byla reakční směs zpracována. Surový produkt byl získán ve formě oleje, do něhož byl přidán hexan a do vzniklého roztoku zaveden suchý plynný chlorovodík. Požadovaný amin **11** byl izolován jako anilinium-chlorid ve výtěžku 39 %. Chromatogram uvedený na **Obrázku 15** (c) představuje výstup analýzy, která byla prováděna za účelem potvrzení čistoty požadované sloučeniny po jejím převedení na anilinium-chlorid (vzorek byl před samotnou analýzou převeden na volnou bázi).



Obrázek 15: Monitorování průběhu desulfurizace sloučeniny **10** (a, b) a potvrzení čistoty látky **11** (c).

Tvorba anilinium-chloridu byla potvrzena dvěma na sobě nezávislými metodami, a sice elementární analýzou a jednodimenzionální vodíkovou NMR spektroskopií. V **Tabulce 4** je uvedeno teoretické procentuální zastoupení atomů uhlíku, vodíku a dusíku odpovídající

jak volné bázi, tak anilinium-chloridu. Poslední sloupec této tabulky pak obsahuje experimentálně zjištěné hodnoty, které nepochybně odpovídají anilinium-chloridu.

Tabulka 4: Ověření tvorby anilinium-chloridu elementární analýzou.

Prvek	Vypočtené [%]		Experimentální [%]
	NH ₂	NH ₃ ⁺ Cl ⁻	
C	84,59	73,49	73,65
H	9,60	8,71	8,96
N	5,80	5,04	4,92

V ¹H NMR spektru sloučeniny **11** pak byl pozorován široký singlet rezonující v oblasti 10,40 ppm, jehož integrací bylo zjištěno, že odpovídá třem atomům vodíku, a tedy skupině NH₃⁺.

7 SYNTÉZA NOVÉ SÉRIE 6,9-DISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ

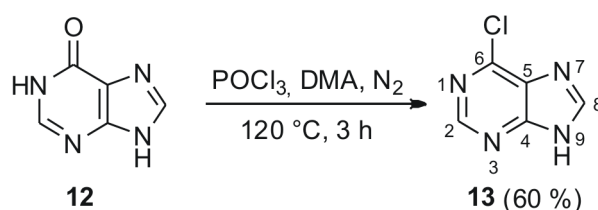
V této části práce budou popisovány reakce vedoucí k přípravě nové série 6,9-disubstituovaných purinů s adamantanovým skeletem. Před přípravou finálních sloučenin byly použity dva modelové substituenty, a sice benzylamin a anilin, se kterými byly všechny uvažované syntetické postupy předem vyzkoušeny a v případě potřeby rovněž optimalizovány.

7.1 Chlorace hypoxanthinu

Jedním z prvních rozhodnutí, které bylo nezbytné učinit ve vztahu k uvažované přípravě série 6,9-disubstituovaných purinů obsahujících v poloze 6 svým způsobem unikátní substituenty s adamantanovým motivem bylo to, zda zakoupit 6-chlor-9*H*-purin, který měl být použit jako výchozí látka z komerčních zdrojů, nebo si jej připravit. Pomyslné misky vah byly nakonec nakloněny směrem k časově delší, nicméně ekonomicky výhodnější cestě, a sice připravit 6-chlor-9*H*-purin z komerčně dostupného hypoxanthinu.

Chlorace hypoxanthinu (**12**) byla provedena podle dříve publikovaného postupu.⁶ Reakce probíhala pod ochrannou dusíkovou atmosférou při teplotě 120 °C, kdy jako zdroj atomu chloru byl použit chlorid fosforylu a jako báze dimethylanilin (**Schéma 15**). Výsledný 6-chlor-9*H*-purin (**13**) byl po přečištění surového produktu sloupcovou chromatografií izolován ve výtěžku 60 %.

Schéma 15



Struktura sloučeniny **13** byla potvrzena běžnými metodami strukturní analýzy, přičemž např. NMR spektra (¹³C i ¹H) mohla být srovnána se spektry literárními. Jak je patrné z **Tabulky 6**, data naměřená pro sloučeninu **13** připravenou výše popisovanou reakcí jsou ve velmi blízké shodě s údaji uvedenými v literatuře. Další metodou, která byla použita pro určení struktury produktu získaného reakcí uvedené na **Schématu 15** byla GC-EI-MS. V hmotnostním spektru byl jako hlavní pík pozorován signál o *m/z* 154 odpovídající molekulovému iontu obsahující izotop ³⁵Cl. Tento signál byl doprovázen iontem o *m/z* 156, který lze přiřadit molekulovému iontu nesoucímu izotop ³⁷Cl. Procentuální zastoupení

signálů o m/z 154 a 156 bylo v poměru 100:32, což přesně odpovídá teoretickému zastoupení obou izotopů atomu chloru ve sloučenině **13**.

Tabulka 5: Literární a experimentální ^1H a ^{13}C NMR sloučeniny **13**.

	Lit. 42 ^a	Lit. 6 ^b	Lit. 43 ^c	Experimentální ^{cd}
H-2	8,73	8,71	8,73	8,72
H-8	8,68	8,67	8,80	8,67
H-9	-	-	-	13,90
C-2	151,4	151,4	-	151,5
C-4	147,7	147,7	-	148,6
C-5	129,4	129,4	-	130,5
C-6	154,3	154,2	-	152,9
C-8	146,4	146,1	-	145,9

^a δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6); δ_{C} (100 MHz, DMSO- d_6)

^b δ_{H} (300 MHz, DMSO- d_6); δ_{C} (75,4 MHz, DMSO- d_6)

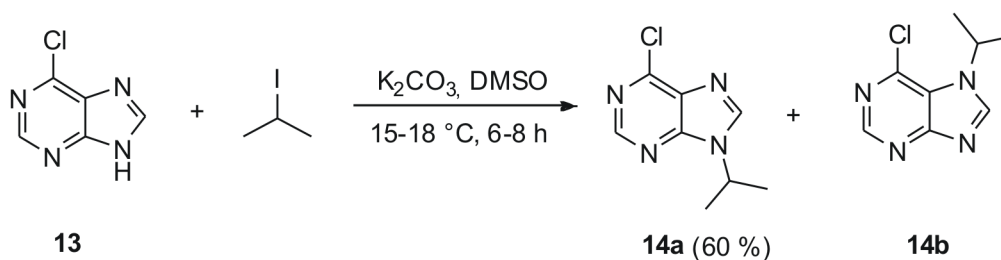
^c δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6); δ_{C} (100 MHz, DMSO- d_6)

^d δ_{H} (500,13 MHz, DMSO- d_6); δ_{C} (125,77 MHz, DMSO- d_6)

7.2 Alkylace 6-chlor-9H-purinu

Po přípravě 6-chlor-9H-purinu (**13**) bylo přistoupeno k alkylnaci této sloučeniny do polohy 9 (**Schéma 16**), a to pomocí 2-jodpropanu. Jako rozpouštědlo byl zvolen dimethylsulfoxid a jako báze uhlíctitan draselný. Reakce se prováděla při teplotě 15–18 °C po dobu 6 až 8 hodin. V reakční směsi docházelo nejen k tvorbě očekávaného produktu **14a**, ale také N7-izomeru **14b**. Analýzou reakční směsi metodou GC-MS bylo zjištěno, že relativní procentuální zastoupení N9- a N7-izomeru bylo 85/15. Oba izomery od sebe byly odděleny pomocí sloupcové chromatografie a případné dočištění bylo provedeno krystalizací ze směsi ethyl-acetát/hexan. Požadovaný 6-chlor-9-isopropyl-9H-purin (**14a**) byl získán ve výtěžku 60 %.

Schéma 16



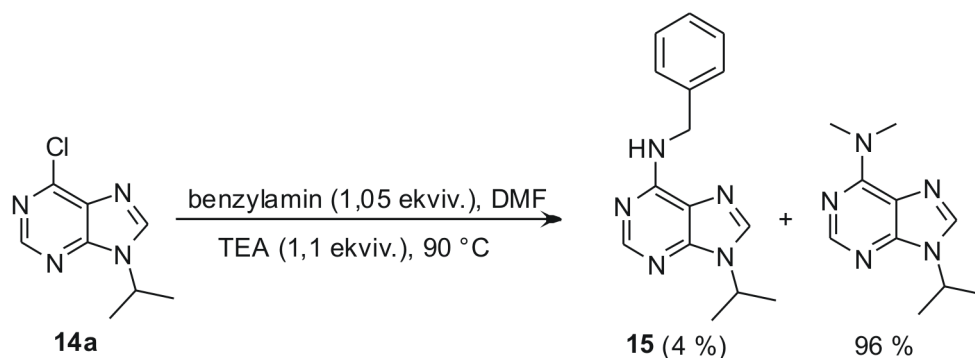
Kromě již zmíněné GC-MS byla struktura požadovaného izomeru **14a** potvrzena také pomocí IR a NMR.

7.3 Nukleofilní aromatická substituce 6-chlor-9-isopropyl-9H-purinu na C6

Po přípravě sloučeniny **14a** byla tato látka ponechána reagovat se dvěma primárními aminy, a sice benzylaminem a poté také s anilinem. Cílem bylo zjistit, zda a za jakých podmínek bude substituce atomu chloru v poloze 6 purinového kruhu úspěšná. V případě kladného výsledku s oběma zmíněnými aminy, by následovala série reakcí s předešle připravenými aromatickými aminy s adamantanovým skeletem.

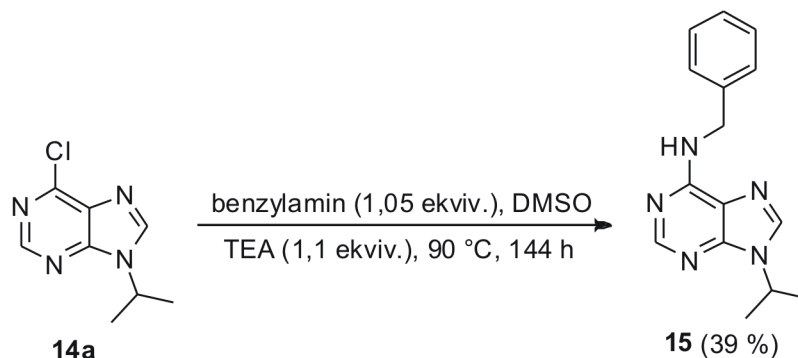
Jako první byla provedena reakce purinu **14a** s benzylaminem za podmínek uvedených na **Schématu 17**. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC, přičemž byl pozorován vznik jednoho majoritního produktu. Analýzou reakční směsi metodou GC-MS bylo zjištěno, že kromě již zmíněného majoritního produktu došlo také k tvorbě jednoho produktu minoritního, jehož relativní zastoupení v reakční směsi činilo 4 %. Nicméně, při detailním studiu získaných hmotnostních spekter bylo zjištěno, že majoritním produktem není očekávaný produkt **15**, ale *N,N*-dimethyl-9-isopropyl-9H-purin-6-amin. Tato sloučenina pravděpodobně vzniká v důsledku použitého typu rozpouštědla, tedy DMF, který může v přítomnosti báze podléhat dekarboxylaci za vzniku oxidu uhelnatého a dimethylaminu,⁴⁴ který pak mohl nahradit atom chloru v poloze 6 purinového kruhu, čímž došlo k tvorbě neočekávaného produktu.

Schéma 17

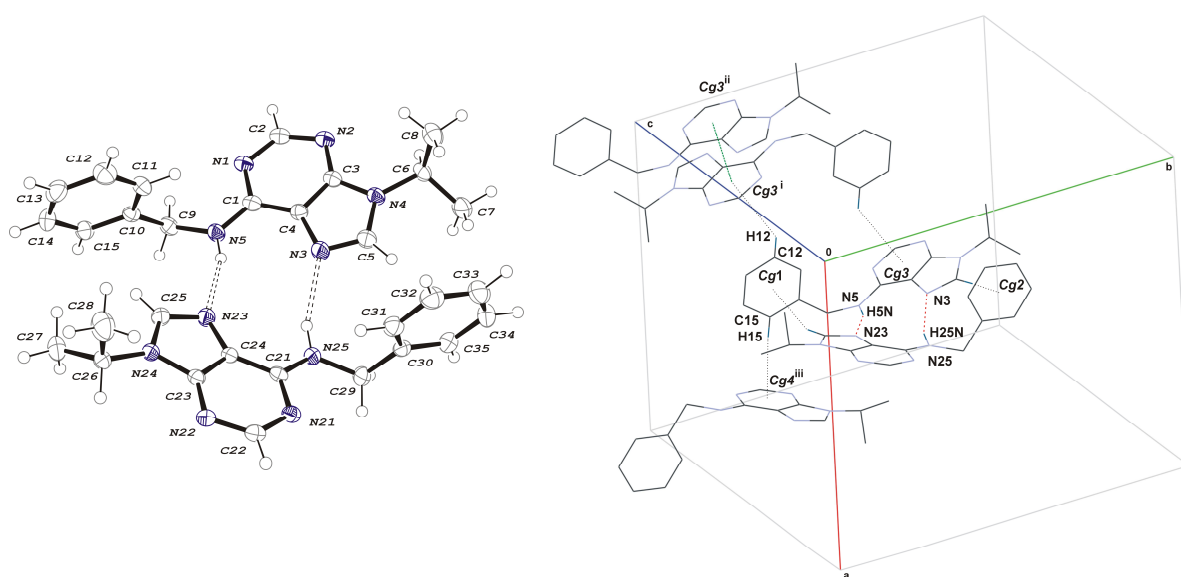


Na základě výsledku výše zmíněné reakce bylo přistoupeno k drobné obměně reakčních podmínek, a sice změně rozpouštědla z DMF na DMSO (**Schéma 18**). V tomto případě již byl žádaný produkt **15** úspěšně připraven a to ve výtěžku 39 %. Struktura sloučeniny **15** byla potvrzena pomocí běžných metod, tedy IR, MS a NMR.

Schéma 18



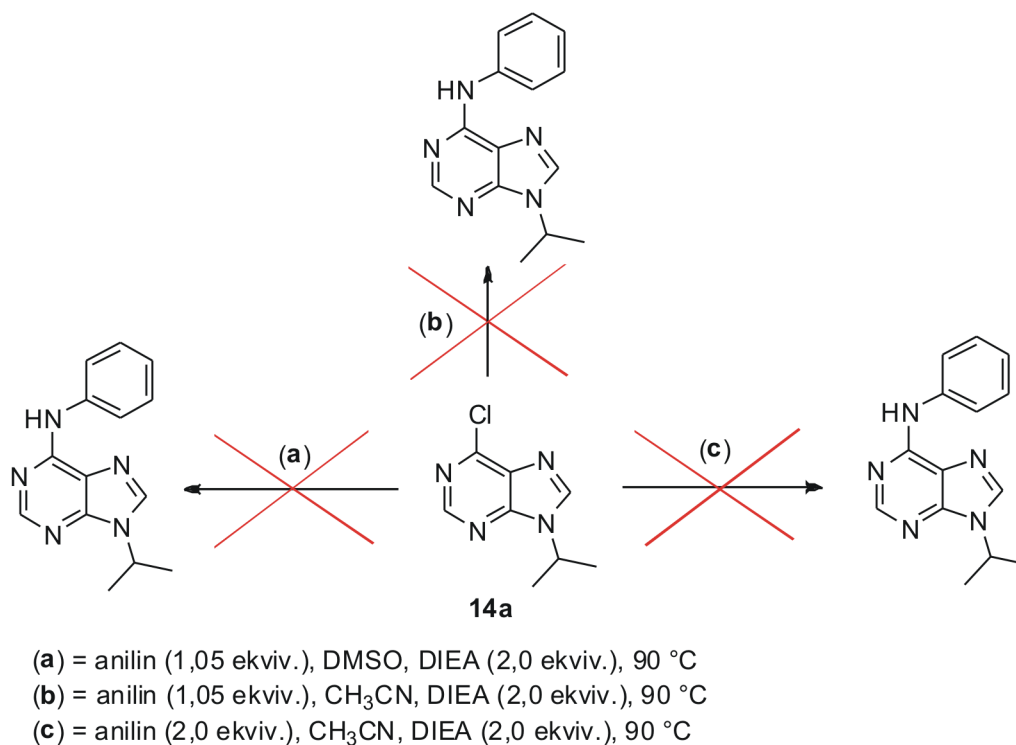
Kromě výše zmíněných metod se u sloučeniny **15** rovněž podařilo vypěstovat monokrystal vhodný pro rentgenovou strukturní analýzu (RTG). Výsledky poskytnuté touto metodou lze, při určování struktury připravených sloučenin, považovat za jednoznačné. Na **Obrázku 16** (vlevo) je uveden *ORTEP* diagram asymetrické jednotky sloučeniny **15** sestávající ze dvou molekul, jejichž geometrické parametry se mírně liší. Jednotlivé molekuly uvnitř asymetrické jednotky jsou spojeny vodíkovými vazbami N5—N5H \cdots N23 a N25—H25N \cdots N3 za vzniku dimerů. Krystalová struktura je dále stabilizována prostřednictvím krátkých intermolekulárních ne vazebných C—H \cdots π kontaktů a π \cdots π interakcí (**Obrázek 16**, vpravo). Pro bližší informace je pro případného čtenáře přiložen na CD nosiči soubor CIF. Vzhledem k tomu, že RTG analýza této sloučeniny doposud nebyla publikována, byl připraven rukopis, který byl zaslán do redakce časopisu *Acta Crystallographica Section E* (**Příloha č. 1**).

Obrázek 16: Výsledek RTG analýzy sloučeniny **15**.

Poté, co byla substituce atomu chloru sloučeniny **14a** úspěšně provedena za vzniku sloučeniny **15**, bylo cílem ověřit, zda bude za těchto podmínek reagovat také jiný primární amin, a sice anilin. Ten se oproti benzylaminu liší zejména nižší nukleofilitou. Vzhledem k tomu, že všechny předešle připravené aromatické aminy s adamantanovým skeletem (sloučeniny **3**, **4**, **7**, **8** a **11**) lze označit také za aminy „anilinového“ typu, představovala úspěšná příprava uvažovaného *N*-fenyl-9-isopropyl-9*H*-purin-6-aminu „klíčový“ krok pro další vývoj této práce.

Jako první byla vyzkoušena reakce purinu **14a** s anilinem a diisopropylethylaminem (DIEA) jako bází a DMSO jakožto rozpouštědlem (**Schéma 19a**). Zcela záměrně (s ohledem na nižší nukleofilitu anilinu) byl jako báze hned v prvním případě použit bazičtější DIEA namísto triethylaminu. Za těchto podmínek však ke vzniku požadovaného produktu nedocházelo.

Schéma 19



V další reakci bylo přistoupeno ke změně rozpouštědla, kdy byl dimethylsulfoxid nahrazen acetonitrilem (**Schéma 19b**).¹⁶ V tomto případě však taktéž nebyl zaznamenán úspěch, kdy ani po 5 dnech nedošlo k tvorbě očekávané sloučeniny.

Při posledním pokusu o přípravu *N*-fenyl-9-isopropyl-9*H*-purin-6-aminu byl zvýšen molární přebytek anilinu z 1,05 ekviv. na 2,0 ekviv. Ostatní podmínky zůstaly stejné jako

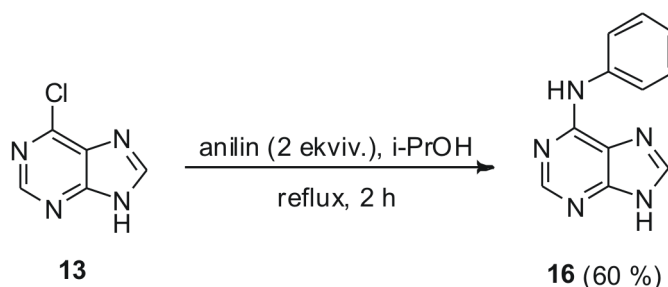
v předchozím případě (**Schéma 19c**). Průběh reakce byl opět monitorován pomocí TLC. Nicméně, ani v tomto případě se nepodařilo požadovaný produkt připravit.

7.4 S_NAr 6-chlor-9H-purinu na C6

Vzhledem k neúspěchům popisovaným na konci minulé kapitoly, bylo nezbytné změnit strategii při přípravě nové série 6,9-disubstituovaných purinů substituovaných 1-adamantylem. Jako jediný smysluplný přístup se jevila výměna reakčních kroků, a sice substituce atomu chloru na C6 v prvním a alkylace na N9 ve druhém reakčním kroku.

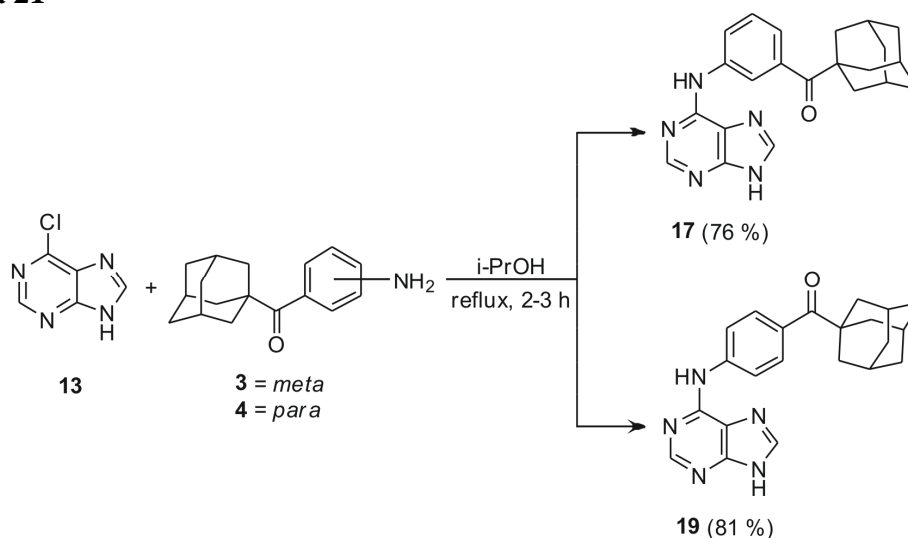
Před zavedením aromatických aminů s adamantanovým skeletem na purinový kruh byly opět nejprve ověřeny reakční podmínky s modelovým reaktantem, kterým byl anilin. Na **Schématu 20** je uvedena reakce, která byla provedena za vyloučení báze a s propan-2-olem jako rozpouštědlem,⁹ přičemž anilin byl do reakční směsi dán ve dvou molárním přebytku. Požadovaný produkt **16** byl získán po odfiltrování sraženiny utvořené během reakce a přečištění pevného podílu pomocí sloupcové chromatografie ve výtěžku 60 %. Struktura sloučeniny **16** byla potvrzena běžnými metodami strukturní analýzy jako jsou IR, MS a NMR.

Schéma 20



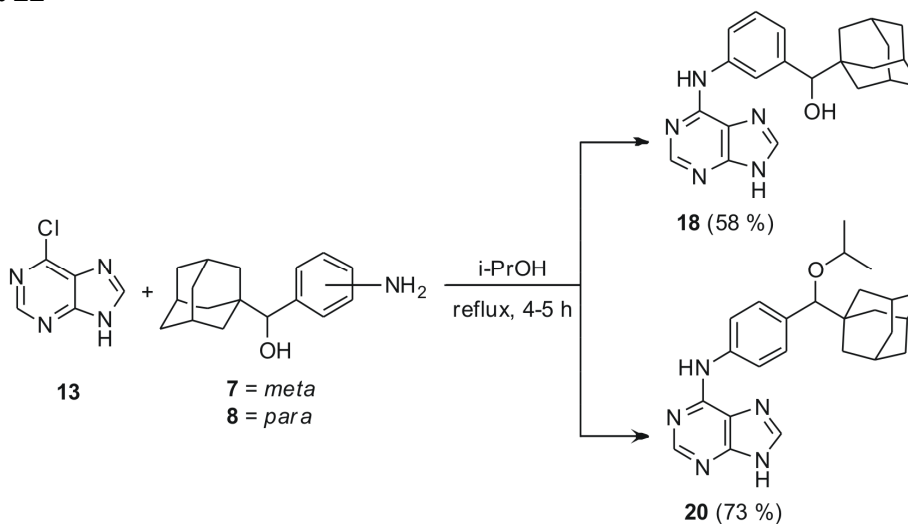
Obecný postup, který znázorňuje **Schéma 20**, se ukázal jako nejvhodnější pro použití v prvním kroku při přípravě 6,9-disubstituovaných purinů a dle tohoto principu byly substituovány aminoketony **3** a **4** do polohy C6 purinového kruhu (**Schéma 21**). U aminoketonů tato reakce probíhala velmi snadno a rychle, kdy se reakční čas pohyboval mezi 2 až 3 hodinami. Sloučeniny **17** a **19** byly získány ve vysoké čistotě po přečištění pomocí sloupcové chromatografie ve výtěžcích 76, resp. 81 %, a struktura těchto látek byla prokázána běžnými instrumentálními metodami (IR, ESI-MS, NMR).

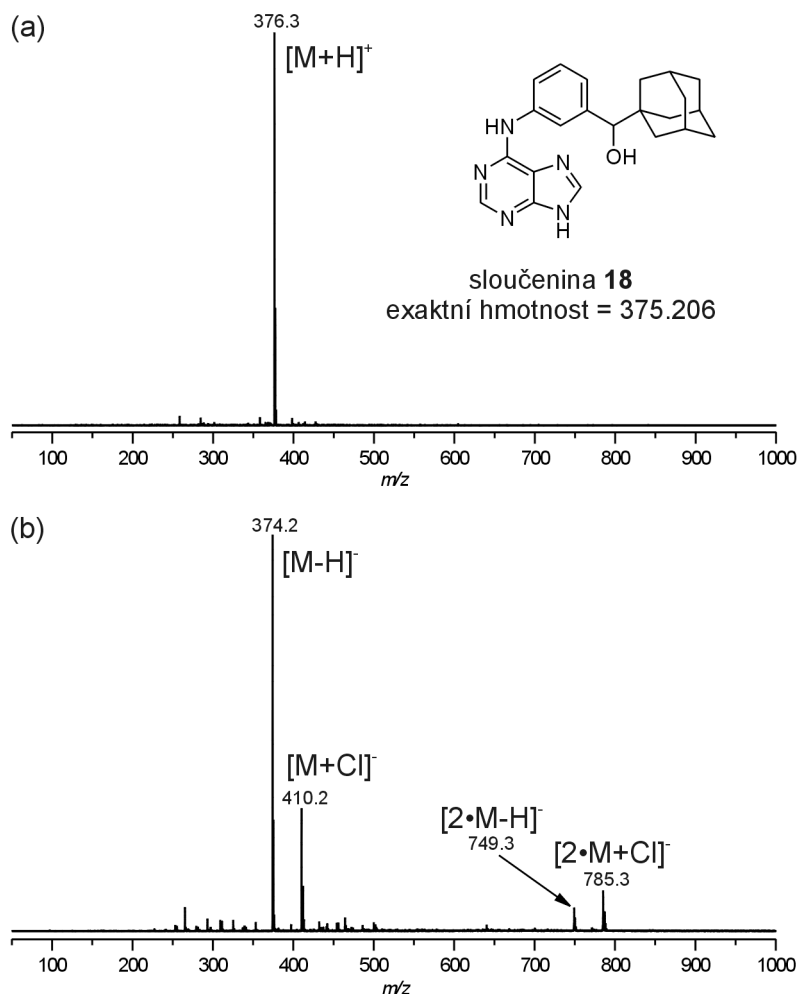
Schéma 21



Stejný postup byl použit také při zavádění aminoalkoholů **7** a **8** na purinový kruh (Schéma 22). U *m*-aminoalkoholu **7** proběhla nukleofilní substituce bez problémů jako v předchozích případech při reakcích aminoketonů **3** a **4**. V ESI-MS spektru prvního řádu sloučeniny **18**, změřeného v pozitivním módu, byl jako jediný pozorován signál o *m/z* 376 odpovídající pseudomolekulárnímu iontu $[M+H]^+$ (Obrázek 17a). Při fragmentaci tohoto signálu, za podmínek kolizí indukované disociace (CID), došlo k neutrální ztrátě jedné molekuly H_2O (18 *m/z*) za vzniku jedenkrát nabitého iontu o *m/z* 358 $[M+H-H_2O]^+$. V -MS spektru prvního řádu purinu **18** byl jako dominantní pozorován jedenkrát nabitý deprotonovaný molekulový ion $[M-H]^-$ (374 *m/z*). Tento signál byl doprovázen chloridovým aduktem molekulového iontu $[M+Cl]^-$. Ve spektru byly také pozorovány další dva signály o dvojnásobné molekulové hmotnosti, konkrétně pak iont $[2\cdot M-H]^-$ o *m/z* 749 a $[2\cdot M+Cl]^-$ o *m/z* 785 (Obrázek 17b).

Schéma 22





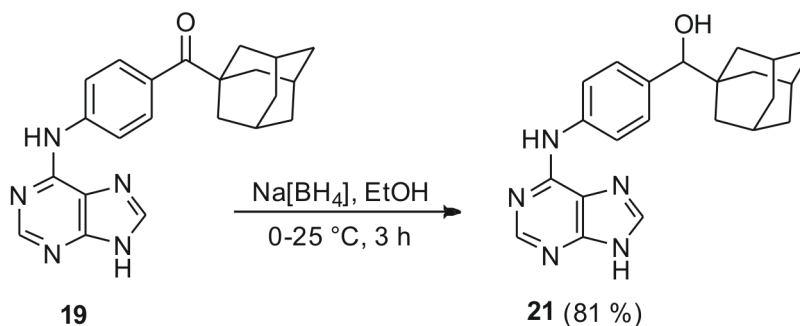
Obrázek 17: ESI-MS spektrum prvního řádu sloučeniny **18** získané v pozitivním (a) a negativním (b) módu.

V případě reakce purinu **14a** s *p*-aminoalkoholem **8** došlo, kromě substituce samotného aminu na purinový kruh, také k nežádoucí reakci, výsledkem které byl vznik „propyloxy“ derivátu **20** vznikajícího jako jediný produkt. První indicie o tvorbě neočekávaného produktu **20** byla získána ESI-MS analýzou, která v případě pozitivní ionizace poskytovala jediný signál o m/z 418 namísto iontu 376 m/z , který by odpovídal protonovanému molekulovému iontu $[M+H]^+$ předpokládaného produktu. Z provedeného ESI-MS experimentu bylo zřejmé, že molekulová hmotnost připravené látky činí 417 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, nikoliv 375 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ a je tedy o 42 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ vyšší. Již při prvním pohledu na reakční podmínky bylo zřejmé, že významnou roli v tomto případě hraje použité rozpouštědlo, tedy propan-2-ol, který může poskytovat „isopropyl“ substituent. Otázkou tak zůstávalo, na jakém místě je isopropyl navázán. Nutno podotknout, že již od počátku jsme uvažovali v podstatě o jediné možnosti, a sice vytvoření později potvrzeného propyloxy

derivátu **20**. Nicméně, tato hypotéza musela být podpořena jednoznačným důkazem. Ten nakonec poskytla NMR spektroskopie. Existovala totiž také druhá možnost, a to alkylace do polohy 9 purinového kruhu, která se nám však za daných podmínek jevila jako nepravděpodobná. Z několikaletých zkušeností s chemií purinových sloučenin víme, že sloučeniny obsahující isopropyl na N9 poskytují ve vodíkovém NMR spektru dva signály, a sice dublet odpovídající atomům vodíku CH_3 z isopropylu $[\text{CH}(\text{CH}_3)_2]$ rezonující v oblasti 1,50–1,60 ppm a septet odpovídající atomu vodíku CH $[\text{CH}(\text{CH}_3)_2]$ v oblasti 4,80–4,90 ppm. V naměřených spektrech byly však pozorovány dublety dva, jeden v oblasti 0,99 ppm a druhý v oblasti 1,05 ppm, přičemž každý z těchto signálů odpovídal třem atomům vodíku. Signál odpovídající atomu vodíku CH z isopropylu pak rezonoval v oblasti 3,30 ppm. Navíc, v protonovém spektru této látky nebyl pozorován signál atomu vodíku pocházející z hydroxylové skupiny. Důvodem tvorby dvou sad signálů methylové skupiny by mohlo být sterické bránění zabraňující volné rotaci tohoto substituentu. Na základě těchto výsledků lze usuzovat, že došlo právě k tvorbě propyloxy derivátu **20**. Na druhou stranu, stále nezodpovězenou otázkou zůstává, zda atom kyslíku nově vzniklé „propyloxy“ skupiny pochází z původní sloučeniny (aminoalkohol **8**) nebo z propan-2-olu.

Z důvodu neočekávaných problémů při zavádění *p*-aminoalkoholu **8** do polohy C6 purinového kruhu bylo nezbytné požadovanou sloučeninu **21** připravit jiným způsobem. Jako vhodná se nakonec ukázala být syntéza z purinu **19**, který byl připraven reakcí aminoketonu **4** s 6-chlor-9*H*-purinem (Schéma 21). Sloučenina **19** poté byla podrobena reakci s $\text{Na}[\text{BH}_4]$, čímž došlo k selektivní redukci karbonylové skupiny na skupinu hydroxylovou, jak je ostatně znázorněno na Schématu 23. Výsledný produkt **21** byl získán v požadované čistotě nevyžadující žádnou purifikaci ve výtěžku 81 %.

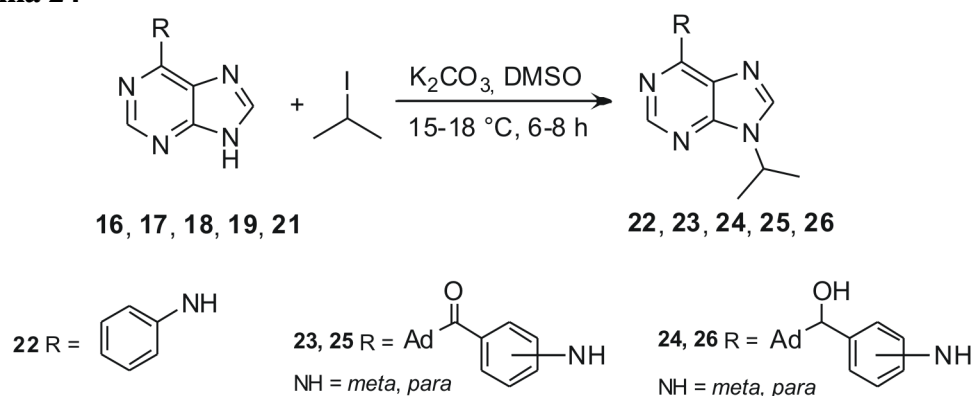
Schéma 23



7.5 Alkylace 6-„amino“-9H-purinů na N9

V posledním kroku vedoucím k přípravě nové série 6,9-disubstituovaných purinů byla sloučeniny připravené substitucí atomu chloru v poloze 6 purinového kruhu (látky **16–19** a **21**) podrobeny reakci s 2-jodpropanem za podmínek uvedených na **Schématu 24**.

Schéma 24



Po spotřebování veškerého výchozího purinu byla reakční směs zpracována a surový produkt přečištěn pomocí sloupcové chromatografie. Požadované sloučeniny **22–26** byly získány ve vysoké čistotě a výtěžcích pohybujících se v rozmezí 45 až 72 % (**Tabulka 6**).

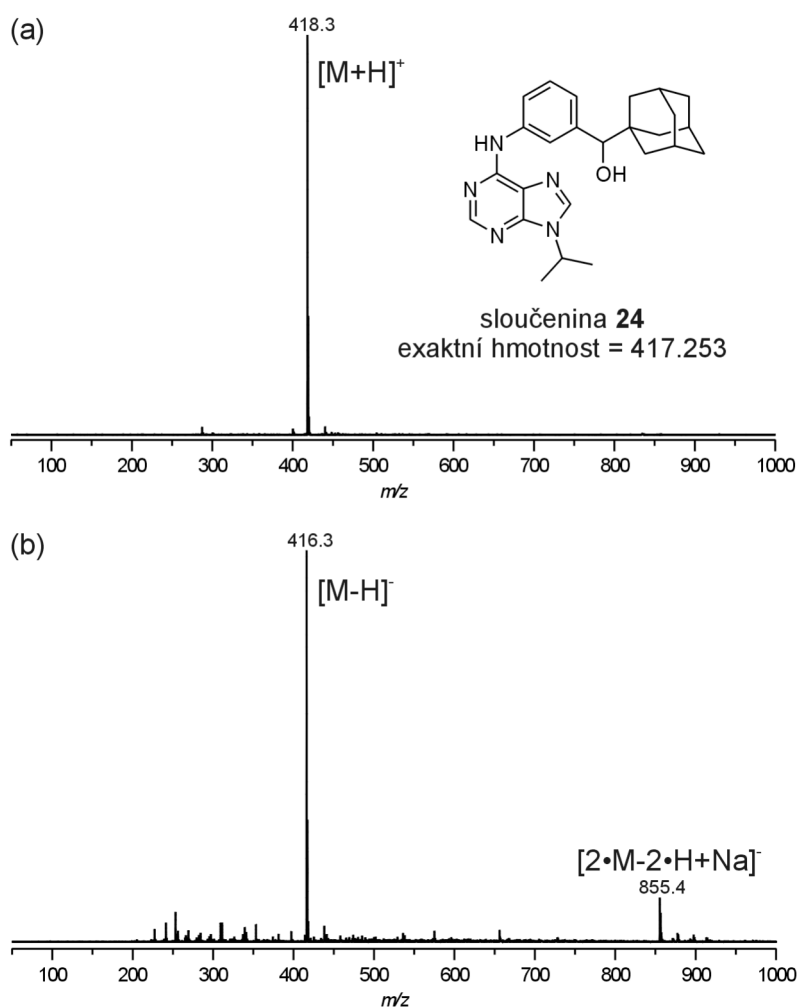
Tabulka 6: Alkylace 6-„amino“-9H-purinů na N9 purinového kruhu (**Schéma 24**).

Experiment	Výchozí látka	R	Produkt	Výtěžek [%] ^a
I	16		22	50
II	17	Ad	23	67
III	18	Ad	24	45
IV	19	Ad	25	72
V	21	Ad	26	42

^a čistý N9 izomer po purifikaci surového produktu sloupcovou chromatografií

Struktura sloučenin **22–26** byla potvrzena pomocí běžně používaných metod strukturní analýzy, jako je infračervená spektroskopie, hmotnostní spektrometrie a nukleární magnetická rezonance.

Hmotnostní spektra všech připravených látek byla změřena jak v pozitivním, tak v negativním módu. Ve spektrech prvního řádu byl jako jediný pozorován signál o m/z odpovídající pseudomolekulárnímu iontu $[M+H]^+$ (**Obrázek 18a**). Dominantním signálem ve spektrech prvního řádu získaných negativní ionizací byl ve všech případech deprotonovaný molekulární iont $[M-H]^-$. Tento signál byl doprovázen jedenkrát záporně nabitým iontem, jehož hodnota m/z byla přibližně dvakrát větší, a sice $[2\cdot M-2\cdot H+Na]^-$, což ostatně dokládá ESI spektrum uvedené na **Obrázku 18b**.



Obrázek 18: ESI-MS spektrum prvního řádu sloučeniny **24** získané v pozitivním (a) a negativním (b) módu.

Relativně zajímavě se jeví srovnání spekter prvního řádu série 6-, „amino“-9*H*-purinů **16–21** a finálních sloučenin **22–26** změřené v negativním módu. V případě obou sérií

vystupoval jako dominantní iont $[M-H]^-$. Ostatní typy signálů se ale pro jednotlivé série purinových derivátů již liší, kdy ve spektrech sloučenin **16–21** byl tento iont doprovázen chloridovými adukty, které se již ve spektrech finálních látek **22–26** nevyskytovaly.

Ve vodíkových spektrech purinů **22–26** byly, oproti látkám **16–21**, pozorovány dva nové signály pocházející z isopropylu navázaného do polohy 9, a to $CH(CH_3)_2$ rezonující v oblasti 1,45–1,63 ppm a $CH(CH_3)_2$ rezonující v oblasti 4,82–4,88 ppm. Zároveň nebyl ve spektrech sloučenin **22–26** pozorován signál atomu vodíku vázaného na atomu dusíku v poloze 9, což potvrzuje jeho substituci isopropylem.

ZÁVĚR

Hlavním cílem předložené diplomové práce byla syntéza doposud nepopsané série 6,9-disubstituovaných purinů a jejich strukturní charakteristika pomocí instrumentálních metod.

Pro syntézu 6,9-disubstituovaných purinů bylo nezbytné nejprve připravit příslušné aromatické aminy substituované 1-adamantylem (sloučeniny **3**, **4**, **7**, **8** a **11**), které později sloužily jako výchozí látky při přípravě 6,9-disubstituovaných purinů (výjimkou je sloučenina **11**, která nebyla z časových důvodů na purinový kruh zavedena). Aminoketony **3** a **4** byly připraveny selektivní redukcí nitroskupiny výchozích nitroketonů **1** a **2**. Příprava aminoalkoholů **7** a **8** sestávala ze dvou reakčních kroků, kdy byla selektivní redukce karbonylové skupiny výchozích nitroketonů **1** a **2** za vzniku nitroalkoholů **5** a **6** následována redukcí nitroskupiny sloučenin **5** a **6** na aminoskupinu. Příprava 3-(1-adamantylmethyl)anilinium-chloridu (**11**) sestávala z následujících kroků: (a) reakce nitroketonu **3** s ethan-1,2-dithiolem, (b) redukce nitroditholanu **9** na aminoditholan **10**, (c) desulfurizace sloučeniny **10** za vzniku aminu **11**.

Další, neméně důležitou, výchozí látku pro tento výzkum představoval 6-chlor-9*H*-purin (**13**), který byl získán chlorací komerčně dostupného hypoxanthinu. Sloučenina **13** byla dále alkylována na atomu dusíku purinového kruhu za vzniku N9- a N7-izomerů **14a** (N9) a **14b** (N7). Nukleofilní aromatickou substitucí atomu chloru v poloze 6 purinového kruhu sloučeniny **14a** benzylaminem byl poté získán první 6,9-disubstituovaný purinový derivát **15**. Následné reakce již touto cestou nebylo možné uskutečnit, proto bylo pro přípravu 6,9-disubstituovaných purinů s adamantanovým skeletem třeba pozměnit strategii. V prvním kroku byla provedena nukleofilní substituce atomu chloru v poloze 6 sloučeniny **13** předešle připravenými adamantylovanými aromatickými aminy **3**, **4**, **7** a **8**, případně anilinem, který sloužil jako modelový substituent. Tímto způsobem byly připraveny nové 6-, „amino“-9*H*-puriny **16–19**. Na druhou stranu, reakce aminoalkoholu **8** s purinem **13** poskytla, namísto očekávané sloučeniny **21**, „propyloxy“ derivát **20**. Purin **21** tak byl připraven jinou cestou, a sice selektivní redukcí karbonylové skupiny purinu **19** pomocí tetrahydridoboritanu sodného za vzniku požadované sloučeniny **21**.

V posledním kroku byla provedena série reakcí sloučenin **16–19** a **21** s 2-jodpropanem. Výsledkem byla příprava nové skupiny 6,9-disubstituovaných purinů **22–26** obsahujících

v poloze 6 unikátní 1-adamantylované aromatické aminy (příp. anilin) a v poloze 9 neobjemný alifatický substituent.

Všechny syntetizované sloučeniny byly charakterizovány běžnými metodami strukturní analýzy (IR, MS, NMR). Struktura sloučeniny **15** byla taktéž potvrzena rentgenovou difrakční analýzou.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ¹ Rosemeyer, H. *Chemistry & Biodiversity* **2004**, *1*, 361.
- ² Murray, R.K.; Granner D.K.; Mayes P.A.; Rodwell V.W. *Harperova biochemie*, 4. vyd.; Praha: H & H, **2002**. ISBN 80-7319-013-3.
- ³ Liška, F. *Konstituce, konformace, konfigurace v názvech organických sloučenin*, 1.vyd.; Praha: VŠCHT, **2008**. ISBN 978-80-7080-640-1.
- ⁴ Rouchal, M. *Cílená modifikace biologicky aktivních látek*. Zlín, **2011**. PhD. Disertační práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav chemie.
- ⁵ SIGMA-ALDRICH: 6-chloropurine [online]. [cit. 2013-02-04]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/161179?lang=en®ion=CZ>
- ⁶ Taddei, D.; Kilian P.; Slawin A.M.Z.; Woollins D.J. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2004**, *2*, 665–670.
- ⁷ SIGMA-ALDRICH: Hypoxanthine [online]. [cit. 2013-02-04]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/h9377?lang=en®ion=CZ>
- ⁸ Laufer S.A.; Domeyer D.M.; Scior T.R.F.; Albrecht W.; Hauser D.R.J. *Journal of Medicinal Chemistry* **2005**, *48*, 710–722.
- ⁹ Zhang C.; Shokat K.M. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 5832–5838.
- ¹⁰ Ding S.; Gray N.S.; Ding Q.; Schultz P.G. *Tetrahedron Letters* **2001**, *42*, 8751–8755.
- ¹¹ Hocek, M. *Chemické Listy*. **2003**, *97*, 1145–1150.
- ¹² Fan Y.; Xia Y.; Tang J.; Ziarelli F.; Qu F.; Rocchi P.; Iovanna J.L.; Peng L. *Chemistry - A European Journal* **2012**, *18*, 2221–2225.
- ¹³ Tunçbilek M.; Ates-Alagöz Z.; Altanlar N.; Karayel A.; Özbey S. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2009**, *17*, 1693–1700.
- ¹⁴ Zatloukal M.; Jorda R.; Gucký T.; Řezníčková E.; Voller J.; Pospíšil T.; Malínková V.; Adamcová H.; Kryštof V.; Strnad M. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, 1–12.
- ¹⁵ Mitsunobu, O.; Yamada, Y. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1967**, *40*(10), 2380–2382.

- ¹⁶ Lu W.; Sengupta S.; Petersen J.L.; Akhmedov N.G.; Shi X. *The Journal of Organic Chemistry* **2007**, *72*, 5012–5015.
- ¹⁷ Zhang Q.; Cheng G.; Huang Y.; Qu G.; Niu H.; Guo H. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 7822–7826.
- ¹⁸ Sallas, F.; Darcy R. *European Journal of Organic Chemistry* **2008**, 957–969.
- ¹⁹ Hu Y.L.; Liu X.; Lu Ming. *Journal of the Mexican Chemical Society* **2010**, *54*(2), 74–78.
- ²⁰ Bartl, T. *Přenos protonu na purinovém a modifikovaném skeletu*. Brno, **2008**. Diplomová práce. Masarykova univerzita v Brně, Fakulta přírodovědecká, Ústav chemie.
- ²¹ Moravcová D.; Kryštof V.; Havlíček L.; Moravec J.; Lenobel R.; Strnad M. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2003**, *13*, 2989–2992.
- ²² Jorda R.; Sacerdoti-Sierra N.; Voller J.; Havlíček L.; Kráčalíková K.; Nowicki M.W.; Nasereddin A.; Kryštof V.; Strnad M.; Walkinshaw M.D.; Jaffe Ch. L. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2011**, *21*, 4233–4237.
- ²³ Legraverend M.; Grierson D.S. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2006**, *14*, 3987–4006.
- ²⁴ Khoje A.; Charnock C.; Wan B.; Franzblau S.; Gundersen L. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2011**, *19*, 3483–3491.
- ²⁵ Kuchař M.; Pohl R.; Klepetářová B.; Hocek M. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 10355–10364.
- ²⁶ Faujan N. H.; Alitheen N.B.; Yeap S.K.; Ali A.M.; Muhajir A.H.; Ahmad F.B.H. *African Journal of Biotechnology*. **2010**, *9*(38), 6387–6396.
- ²⁷ Cappellacci L.; Petrelli R.; Franchetti P.; Vita P.; Kusumanchi P.; Kumar M.; Jayaram H.N.; Zhou B.; Yen Y.; Grifantini M. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *46*, 1499–1504.
- ²⁸ Vícha R.; Potáček M. *Chemické Listy* **2004**, *98*, 68–74.
- ²⁹ Vícha, R. *Syntéza léčivých látek na bázi adamantanu*. Brno, **2008**. PhD. Diplomová práce. Masarykova univerzita v Brně, Fakulta přírodovědecká, Ústav chemie.

- ³⁰ Senning, A. *Elsevier's dictionary of chemoetymology: the whies and whences of chemical nomenclature and terminology*, 1. vyd.; Boston: Elsevier, **2007**. ISBN 978-044-4522-399.
- ³¹ Liu J.; Obando D.; Liao V.; Lifa T.; Codd R. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *46*, 1949-1963.
- ³² Nakamura Y.; Fujimoto T.; Ogawa Y.; Sugita Ch.; Myiazaki S.; Tamaki K.; Takahashi M.; Nagayama T.; Manabe K.; Mizuno M.; Mazabuchi N.; Chiba K.; Nishi T. *ACS Medicinal Chemistry Letters* **2012**, *3*, 754–758.
- ³³ Marson Ch. *Chemical Society Reviews* **2011**, *40*, 5514–5533.
- ³⁴ Kwon S.W.; Kang S.K.; Lee J.H.; Bok J.H.; Kim Ch.H.; Rhee S.D.; Jung W.H.; Kim H.Y.; Bae M.A.; Song J.S.; Ha D.Ch.; Cheon H.G.; Kim K.Y.; Ahn J.H. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2011**, *21*, 435–439.
- ³⁵ Best R.; Walker B.R. *Clinical endocrinology* **1997**, *47*, 231–236.
- ³⁶ Jia L.; Tomaszewski J.E.; Hanrahan C.; Coward L.; Noker P.; Gorman G.; Nikonenko B.; Protopopova M. *British Journal of Pharmacology* **2005**, *144*, 80–87.
- ³⁷ Yendapally R.; Lee R.E. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2008**, *18*, 1607–1611.
- ³⁸ Yue J.; Peng R.; Chen J.; Liu Y.; Dong G. *Pharmacological Research* **2009**, *59*, 112–119.
- ³⁹ Göktas F.; Vanderlinden E.; Naesens L.; Cesur N.; Cesur Z. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2012**, *20*, 7155–7159.
- ⁴⁰ Konvalinka, J.; Machala, L. *Viry pro 21. století*, 1.vyd.; Academia: Praha, **2011**. ISBN 978-80-200-2021-5.
- ⁴¹ Vícha, R.; Rouchal, M.; Kozubková, Z.; Kuřitka, I.; Marek, R.; Branná, P.; Čmelík, R. *Supramolecular Chemistry* **2011**, *23*, 663–677.
- ⁴² Battaglia, U.; Long, J.E.; Searle M.S.; Moody, Ch. J. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2011**, *9*, 2227.
- ⁴³ Díaz-Gavilán, M.; Choquesillo-Lazarte, D.; González-Pérez, J.; Gallo, M.A.; Espinosa, A.; Campos, J. M. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 5274–5286.

- ⁴⁴ Wan, Y.; Alterman, M.; Larhed, M.; Hallberg, A. *The Journal of Organic Chemistry* **2002**, *67*, 6232–6235.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

11 β -HSD1	11 β -hydroxysteroid dehydrogenasa typu 1
Ad	1-adamantyl
AdH	adamantan
β -CD	β -cyklodextrin
Caco-2	adenokarcinom tlustého střeva
CD	cyklodextrin
CDK	cyklin-depentní kinasa
CEM	lidská akutní lymfoblastická leukémie
CFU	kolonie tvořící jednotky
CID	collision-induced dissociation
CRK6	proteinová kinasa
CYC6	proteinová kinasa
DEAD	diethylazodikarboxylát
DIAD	diisopropylazodikarboxylát
DMA	dimethylanilin
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EC ₅₀	koncentrace látky způsobující 50 % efekt na sledovaný mikroorganismus
EMB	ethambutol
ESI-MS	hmotnostní spektrometrie s elektrosprejovou ionizací
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
GI ₅₀	koncentrace látky eliminující 50 % buněk v kultivačním testu
HeLa	děložní adenokarcinom

HL-60	lidská myeloidní leukémie
HT-29	karcinom tlustého střeva
IC ₅₀	koncentrace látky inhibující 50 % enzymu
INH	isoniazid
IR	infračervená spektroskopie
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
K-562	chronická myeloidní leukemie
MCF-7	karcinom prsu
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MRSA	methicilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
NMR	nukleární magnetická rezonance
Ra-Ni	Raneyův nikl
RVO	rotační vakuová odparka
S _N Ar	nukleofilní aromatická substituce
TEA	triethylamin
TLC	chromatografie na tenké vrstvě
THF	tetrahydrofuran
<i>t</i> _t	teplota tání

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Strukturní vzorec purinového kruhu.....	12
Obrázek 2: Strukturní vzorce 6,9-disubstituovaného purinu a odpovídajícího 3,7-disubstituovaného pyrazolo[4,3- <i>d</i>]pyrimidinu a jejich biologická aktivita.....	19
Obrázek 3: Strukturní vzorce 6,9-disubstituovaného purinu s adamantanovým skeletem a odpovídajícího 3,7-disubstituovaného pyrazolo[4,3- <i>d</i>]pyrimidinu a jejich biologická aktivita.....	20
Obrázek 4: Strukturní vzorce 6,9-disubstituovaných purinů s antimikobakteriálními účinky.....	20
Obrázek 5: Strukturní vzorce 9-cyklopentyl-6-[(4-fluorbenzyl)amino]-9 <i>H</i> -purinu a oxikonazolu.....	21
Obrázek 6: Strukturní vzorce 9-cyklopentyl-6-[(4-chlorbenzyl)amino]-9 <i>H</i> -purinu a ciproflaxinu a jejich biologická aktivita.....	22
Obrázek 7: Strukturní vzorec epoxidové sloučeniny vykazující cytostatickou aktivitu....	23
Obrázek 8: Strukturní vzorec 6-hydrazino-9-β-D-ribofuranosylpurinu a jeho biologická aktivita.....	23
Obrázek 9: Strukturní vzorce adamantanu a twistanu.....	25
Obrázek 10: Strukturní vzorce klinicky používaných sloučenin obsahujících adamantanový skelet.....	26
Obrázek 11: Strukturní vzorec DS-8108b.....	27
Obrázek 12: Thiazolidinový derivát inhibující 11β-HSD1.....	27
Obrázek 13: Strukturní vzorce EMB, INH a SQ109.....	28
Obrázek 14: Strukturní vzorec <i>N</i> -(2,8-dimethyl-3-oxo-1-thia-4-azaspiro[4.5]dec-4-yl)adamantan-1-karboxamidu.....	29
Obrázek 15: Monitorování průběhu desulfurizace sloučeniny 10 a potvrzení čistoty látky 11	54
Obrázek 16: Výsledek RTG analýzy sloučeniny 15	59

Obrázek 17: ESI-MS spektrum prvního řádu sloučeniny **18** získané v pozitivním (a)
a negativním (b) módu.....63

Obrázek 18: ESI-MS spektrum prvního řádu sloučeniny **24** získané v pozitivním (a)
a negativním (b) módu.....66

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Alkylace 6-chlor-9 <i>H</i> -purinu asistovaná β -CD.....	18
Tabulka 2: Sloučeniny obsahující adamantanový skelet používané v klinické praxi.....	25
Tabulka 3: Kolonie tvořící jednotky počítané v orgánových homogenátech po 28-denním perorálním podání SQ109, EMB a INH na myši inokulované <i>M. tuberculosis</i> H37Rv.....	28
Tabulka 4: Ověření tvorby anilinium-chloridu elementární analýzou.....	55
Tabulka 5: Literární a experimentální ^1H a ^{13}C NMR sloučeniny 13	57
Tabulka 6: Alkylace 6-„amino“-9 <i>H</i> -purinů na N9 purinového kruhu.....	65

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Rukopis publikace odeslané redakci Acta Crystallographica Section E.....	80
--	----

Příloha 1: Rukopis publikace odeslané redakci Acta Crystallographica Section E

structure report

1 ***N*-Benzyl-9-isopropyl-9*H*-purin-6-amine**2 David Gergela,^a Michal Rouchal,^a Peter Bartoš^{zb} and Robert Vícha^{a*}3 ^aDepartment of Chemistry, Faculty of Technology, Tomas Bata University in Zlín, Nám. T. G. Masaryka 275, Zlín, 762 72, Czech Republic, and4 ^bDepartment of Chemistry, Faculty of Science, Masaryk University, Kamenice 5, Brno-Bohunice, 625 00, Czech Republic

5 Correspondence email: rvicha@ft.utb.cz

6 **Abstract**

7 The asymmetric unit of the title compound, C₁₅H₁₇N₅, consists of two molecules with moderately diverse geometrical
8 parameters. The dihedral angle between the best planes of purine (r.m.s.d.=0.0060 and 0.0190) and benzene
9 (r.m.s.d.=0.0043 and 0.0022) ring for respective conformer is 89.21 (3)° and 82.14 (4)°. The molecules within
10 asymmetric unit are linked into dimers by N—H⋯N hydrogen bonds with respective D⋯A distances of 2.9883 (13) and
11 3.0088 (15) Å. The dihedral angle between the best planes of the two purine rings is of 32.53 (3)°. Moreover, some weak
12 contacts of the C—H⋯π type and π–π interactions connect molecules into three-dimensional framework.

13 **Related literature**

14 The title compound was prepared according to a modified procedure published by Fiorini & Abel (1998). For the
15 biological activity of 6,9-disubstituted purines, see: Cappellacci *et al.* (2011), Jorda *et al.* (2011), Tunçbilek *et al.* (2009).
16 For crystallographic data of related compounds, see: Novotná & Trávníček (2013), Rouchal *et al.* (2009a,b), Trávníček *et al.*
17 *et al.* (2010).

18 **Experimental**19 *Crystal data*

20 C ₁₅ H ₁₇ N ₅	<i>V</i> = 2823.5 (2) Å ³
21 <i>M_r</i> = 267.34	<i>Z</i> = 8
22 Monoclinic, <i>P</i> 2 ₁ / <i>c</i>	Mo <i>K</i> α radiation, λ = 0.71073 Å
23 <i>a</i> = 12.9926 (5) Å	μ = 0.08 mm ⁻¹
24 <i>b</i> = 21.1673 (7) Å	<i>T</i> = 120 K
25 <i>c</i> = 11.2622 (6) Å	0.50 × 0.38 × 0.20 mm
26 β = 114.274 (5)°	

27 *Data collection*

28 Xcalibur, Sapphire2, large Be window diffractometer	21460 measured reflections
29 Absorption correction: Multi-scan <i>CrysAlis RED</i> (Oxford Diffraction Ltd, 2009)	4972 independent reflections
30 <i>T</i> _{min} = 0.942, <i>T</i> _{max} = 1.000	3280 reflections with <i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)
	<i>R</i> _{int} = 0.035

31 *Refinement*

32 <i>R</i> [<i>F</i> ² > 2σ(<i>F</i> ²)] = 0.029	0 restraints
33 <i>wR</i> (<i>F</i> ²) = 0.058	H atoms treated by a mixture of independent and
34 <i>S</i> = 0.83	constrained refinement
35 4972 reflections	Δρ _{max} = 0.13 e Å ⁻³
36 373 parameters	Δρ _{min} = -0.16 e Å ⁻³

37 Data collection: *CrysAlis CCD* (Oxford Diffraction Ltd, 2009); cell refinement: *CrysAlis RED* (Oxford Diffraction Ltd,
38 2009); data reduction: *CrysAlis RED* (Oxford Diffraction Ltd, 2009); program(s) used to solve structure: *SHELXS97*
39 (Sheldrick, 2008); program(s) used to refine structure: *SHELXL97* (Sheldrick, 2008); molecular graphics: *ORTEP-3*

structure report

40 (Farrugia, 1997), Mercury 2.0 (Macrae *et al.*, 2008); software used to prepare material for publication: *SHELXL97*
41 (Sheldrick, 2008).

42 Acknowledgements

43 The financial support of this work by the Internal Founding Agency of Tomas Bata University in Zlin (project No.
44 IGA/FT/2013/008) is gratefully acknowledged.

45 References

- 46 Cappellacci, L., Petrelli, R., Franchetti, P., Vita, P., Kusumanchi, P., Kumar, M., Jayram, H. N., Zhou, B., Yen, Y. &
47 Grifantini, M. (2011). *Eur. J. Med. Chem.* **46**, 1499–1504.
- 48 Farrugia, L. J. (1997). *J. Appl. Cryst.* **30**, 565.
- 49 Fiorini, M. T. & Abel, C. (1998). *Tetrahedron Lett.* **39**, 1827–1830.
- 50 Jorda, R., Sacerdoti-Sierra, N., Volle, J., Havlíček, L., Kráčalíková, K., Nowicki, M. W., Nasereddin, A., Kryštof, V.,
51 Strnad, M., Walkinshaw, M. D. & Jaffe, C. L. (2011). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **21**, 4233–4237.
- 52 Macrae, C. F., Bruno, I. J., Chisholm, J. A., Edgington, P. R., McCabe, P., Pidcock, E., Rodriguez-Monge, L., Taylor, R.,
53 van de Streek, J. & Wood, P. A. (2008). *J. Appl. Cryst.* **41**, 466–470.
- 54 Novotná, R. & Trávníček, J. (2013). *Acta Cryst.* **E69**, o390.
- 55 Oxford Diffraction (2009). *Oxford Diffraction Ltd., Xcalibur CCD system, CrysAlis PRO Software system*, Version
56 1.171.33.
- 57 Rouchal, M., Nečas, M., de Carvalho, F. P. & Vicha, R. (2009a). *Acta Cryst.* **E65**, o298–o299.
- 58 Rouchal, M., Nečas, M. & Vicha, R. (2009b). *Acta Cryst.* **E65**, o1268.
- 59 Sheldrick, G. M. (2008). *Acta Cryst.* **A64**, 112–122.
- 60 Trávníček, Z., Popa, I., Čajan, M., Zbořil, R., Kryštof, V. & Mikulík, J. (2010). *J. Inorg. Biochem.* **104**, 405–417.
- 61 Tunçbilek, M., Ateş-Alagöz, Z., Altanlar, N., Karayel, A. & Özbey, S. (2009). *Bioorg. Med. Chem.* **17**, 1693–1700.

1 supplementary materials

2 *N*-Benzyl-9-isopropyl-9*H*-purin-6-amine

3 David Gergela, Michal Rouchal, Peter Bartoš and Robert Vícha*

4 Comment

5 The synthesis of the purine derivatives bearing various substituents at C6 and N9 centers is closely related with the
6 eventual biological activity of the final molecule. Recently, several 6,9-disubstituted purines were described as anti-
7 bacterial (Tunçbilek *et al.*, 2009), antileishmanial (Jorda *et al.*, 2011) and antitumor (Cappellacci *et al.*, 2011) agents. The
8 title molecule, *N*-benzyl-9-isopropyl-9*H*-purin-6-amine, was prepared as a part of our ongoing research aimed at
9 preparation of new disubstituted purine series. The asymmetric unit of the title compound consists of two purine-based
10 molecules slightly different in their geometries (Fig. 1). The dihedral angles between the best planes of the purine and
11 benzene rings are 89.21 (3)° and 82.14 (4)°, respectively. The torsion angles N1—C1—N5—C9, C1—N5—C9—C10,
12 N5—C9—C10—C11 and C5—N4—C6—C7 indicating the mutual orientation of substituents and purine ring are
13 2.85 (19), -110.7 (14), 33.8 (18) and 31.3 (18)°, respectively. The corresponding values of torsion angles for the second
14 conformer are 0.44 (19), -96.7 (15), 35.5 (17) and 35.9 (18)°, respectively. The molecules within asymmetric unit are
15 linked by N5—N5H \cdots N23 and N25—H25N \cdots N3 hydrogen bonds (Table 1, Fig. 2) to form dimers with dihedral angles
16 between the best planes of the two purines being of 32.53 (3)°. In contrast, the benzene rings are essentially parallel with
17 the dihedral angle of 2.88 (3)°. The crystal packing is further stabilized via short intermolecular non-bonding C—H \cdots π
18 contacts and $\pi\cdots\pi$ interactions (Table 1, Fig. 2). The interplanar distance between the adjacent purine best planes of the
19 $\pi\cdots\pi$ stacked molecules is of 3.2583 Å.

20 Experimental

21 The title compound was prepared according to slightly modified literature procedure (Fiorini & Abel, 1998). 6-Chloro-9-
22 isopropyl-9*H*-purine (100 mg, 0.51 mmol) and benzylamine (58 mg, 0.54 mmol) were dissolved in the mixture of DMSO
23 (4 cm³) and triethylamine (57 mg, 0.56 mmol). The resulting solution was stirred at 90 °C for 2 hours. Subsequently, the
24 mixture was diluted with water and extracted with diethyl ether (7 \times 10 ml). Combined organic layers were washed twice
25 with brine, dried over Na₂SO₄ and evaporated in vacuum. The desired product was obtained after the purification of crude
26 material using column chromatography (silicagel; petroleum ether/ethyl acetate, 1/3, v/v) as colourless crystalline powder
27 (66 mg, 49%, mp 388–391 K). The crystals used for data collection were grown by spontaneous evaporation from
28 deuteriochloroform at room temperature.

29 Refinement

30 All carbon bound H atoms were placed at calculated positions and were refined as riding with their Uiso set to either
31 1.2U_{eq} or 1.5U_{eq} (methyl) of the respective carrier atoms; in addition, the methyl hydrogens were allowed to rotate about
32 the C—C bond.