

Studium přípravy purinových sloučenin substituovaných 1-adamantylem

Bc. Kateřina Kočvarová

Diplomová práce
2015

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav chemie
akademický rok: 2014/2015

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Kateřina Kočvarová**
Osobní číslo: **T12424**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie potravin a bioaktivních látek**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Studium přípravy purinových sloučenin
substituovaných 1-adamantylem**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Stručně pojednat o možnostech syntézy 6,9-disubstituovaných a 2,6,9-trisubstituovaných purinů.
2. Vypracovat literární rešerši na téma biologické účinky purinových sloučenin.
3. Nastínit možnosti využití adamantanu v chemii léčiv se zaměřením na sloučeniny již aplikované v klinické praxi.

II. Praktická část

1. Provést sérii experimentů s cílem připravit sérii di-, případně trisubstituovaných purinových sloučenin s doposud nepopsanou strukturou.
2. Všechny syntetizované látky plně charakterizovat pomocí metod strukturní analýzy.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: *tištěná/elektronická*

Seznam odborné literatury:

[1] SMITH, P. J., YUE, E. W.: Inhibitors of Cyclin-dependent Kinases as Anti-tumor Agents. CRC Press, 2007, 448 s. ISBN: 0-8493-3774-7

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

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

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Michal Rouchal, Ph.D.

Ústav chemie

Datum zadání diplomové práce:

16. ledna 2015

Termín odevzdání diplomové práce:

4. května 2015

Ve Zlíně dne 16. ledna 2015


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. Stanislav Kafka, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Kočvarová Kateřina

Obor: Chemie potravin a bioaktivních látek

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 obhajoby¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ 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 § 60³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji 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, dne 11. 5. 2015



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:

²⁾ Vysoká škola nevdělečně 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.

... licenční, 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.

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

(6) 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).

(4) 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). Odporů-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 jim 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 přiměřeně k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Tato diplomová práce je zaměřena na studium přípravy purinových sloučenin, jak 2,6-disubstituovaných, tak 2,6,9-trisubstituovaných. Cílem bylo vytvořit sérii sloučenin, obsahujících v poloze C6 nebo N9 adamantanový motiv. V první části jsou stručně popsány možnosti přípravy a využití purinových sloučenin a derivátů adamantanu. Poté následuje praktická část této práce zaměřující se na různé způsoby syntézy purinových sloučenin. Nejdříve je v poloze 6 purinového kruhu atom chloru nahrazen příslušnými aminy s následnou alkylací jednoduchého substituentu do polohy N9. Další část této práce poté tvoří snaha o přípravu purinových sloučenin, které jsou v poloze N9 substituovány 1-adamantylem. Struktury připravených látek byly charakterizovány pomocí metod strukturní analýzy.

Klíčová slova: 2,6,9-trisubstituovaný purin, 6,9-disubstituovaný purin, adamantan, aromtická nukleofilní substituce, alkylace, Mitsunobův coupling

ABSTRACT

The presented diploma thesis deals with the study of preparation of 2,6-disubstituted or 2,6,9-trisubstituted purines. The main aim of these thesis was to prepare the series of compounds with adamantane moiety in C6 or N9 position. The theoretical part contains information how to prepare and to use purines and adamantane derivatives. The experimental part describes many different ways about substitution of purine derivatives. These methods includes alkylation or Mitsunobu coupling. The structure of synthesized compounds was confirmed using common methods of structural analysis.

Keywords: 2,6,9- trisubstituted purine, 6,9-disubstituted purine, adamantane, aromatic nucleophilic substitution, alkylation, Mitsunobu coupling

Na tomto místě bych ráda poděkovala především Ing. Michalu Rouchalovi, Ph. D. za cenné rady, trpělivost, odhodlání a optimismus při vedení mé diplomové práce.

Dále bych ráda poděkovala kolektivu laboratoří 408, 409 a 411, kteří přispěli k mé diplomové práci nejen svými znalostmi ale i přátelským přístupem a podporou.

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

A největší díky patří bezpochyby mé rodině za finanční i psychickou podporu při studiu.

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

OBSAH

ÚVOD	10
TEORETICKÁ ČÁST	11
1 CHARAKTERISTIKA PURINOVÝCH SLOUČENIN A MOŽNOSTI JEJICH SYNTÉZY	12
1.1 SYNTÉZA PURINOVÝCH SLOUČENIN.....	12
1.1.1 Mitsunobův coupling	13
1.1.2 Mikrovlnami asistované reakce.....	14
1.1.3 Aluminou katalyzovaná reakce	15
1.2 BIOLOGICKÉ ÚČINKY SLOUČENIN S PURINOVÝM SKELETEM	16
2 ADAMANTAN A JEHO VYUŽITÍ	21
2.1 ADAMANTAN V CHEMII LÉČIV	22
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	27
3 PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ	28
4 PŘÍPRAVA 6,9-DISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ	29
4.1 CHLORACE HYPOXANTHINU	29
4.2 PŘÍPRAVA (1-ADAMANTYL)[4-(AMINOMETHYL)FENYL]METHANONU	30
4.3 NUKLEOFILNÍ AROMATICKÁ SUBSTITUCE 6-CHLOR-9 <i>H</i> -PURINU NA C6.....	30
4.4 ALKYLACE 6-, „AMINO“-9 <i>H</i> -PURINŮ NA N9	33
5 SUBSTITUCE PURINOVÝCH SLOUČENIN V POLOZE 9	35
5.1 PŘÍPRAVA DERIVÁTŮ ADAMANTANU	35
5.1.1 Syntéza 1-adamantylmethanolu (12).....	35
5.1.2 Syntéza 1-(jodmethyl)adamantanu (13).....	35
5.2 PŘÍPRAVA DERIVÁTŮ 2,6-DICHLOR-9 <i>H</i> -PURINU	36
5.2.1 Reakce 2,6-dichlor-9 <i>H</i> -purinu s 2-jodpropanem	36
5.2.2 Reakce 2,6-dichlor-9 <i>H</i> -purinu s propan-2-olem	36
5.2.3 Reakce 2,6-dichlor-9 <i>H</i> -purinu s 1-adamantylmethanolem	37
5.3 PŘÍPRAVA DERIVÁTŮ 6-CHLOR-9 <i>H</i> -PURINU.....	37
5.3.1 Reakce 6-chlor-9 <i>H</i> -purinu s 2-jodpropanem	37
5.3.2 Reakce 6-chlor-9 <i>H</i> -purinu s propan-2-olem	38
VÝSLEDKY A DISKUZE	39
6 ÚVOD DO DISKUZE	40
7 PŘÍPRAVA 6,9-DISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ	41
7.1 CHLORACE HYPOXANTHINU	41
7.2 PŘÍPRAVA (1-ADAMANTYL)[4-(AMINOMETHYL)FENYL]METHANONU	42
7.3 NUKLEOFILNÍ AROMATICKÁ SUBSTITUCE 6-CHLOR-9 <i>H</i> -PURINU NA C6.....	43
7.4 ALKYLACE 6-, „AMINO“-9 <i>H</i> -PURINŮ NA N9	45
8 SUBSTITUCE PURINOVÝCH SLOUČENIN V POLOZE N9	47
8.1 PŘÍPRAVA JEDNODUCHÝCH DERIVÁTŮ ADAMANTANU	47
8.2 REAKCE VEDOUcí K PŘÍPRAVĚ 2,6,9-TRISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ	48
8.3 PŘÍPRAVA 6,9-DISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ	54
ZÁVĚR	58

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	60
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	60
SEZNAM OBRÁZKŮ	66
SEZNAM TABULEK.....	67

ÚVOD

Purinové sloučeniny jsou nejen součástí každodenního života, ale také našeho organismu, jakožto základní stavební kámen našich buněk, v podobě bází DNA a RNA. Proto není divu, že se těmito látkami zabývá celá řada výzkumných skupin, které studují možnosti syntézy nových purinových derivátů a jejich možného využití v podobě léčiv, využívajících se například jako antivirotika nebo jako látky působící v různých fázích buněčného cyklu.

Syntéza purinových sloučenin vychází z komerčně dostupných 6-chlor-9*H*-purinů pro 6,9-disubstituované puriny a z 2,6-dichlor-9*H*-purinů, při syntéze 2,6,9-trisubstituovaných. Na tyto lze následně různými metodami chemické syntézy navázat další substituenty.

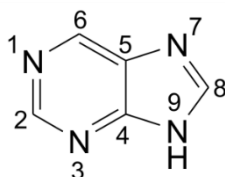
V této práci jsou popsány nejen purinové sloučeniny, ale také další farmaceuticky významná látka, známá pod triviálním názvem adamantan. Výzkumy se při uplatňování adamantanového skeletu rozdělují do dvou základních větví. První cestou je vytvoření jednoduchých sloučenin adamantanu a tou druhou je navázání adamantanu na již známá léčiva, s cílem zlepšit jejich celkový farmakologický profil. Pokud tedy purin i adamantan má prokazatelný pozitivní vliv na lidský organismus, je snahou o reakce těchto dvou sloučenin a vytvoření nových, účinných látek.

V experimentální části je proto pojednáno o syntézách purinových sloučenin a snaze o navázání adamantanového skeletu do jejich struktury. Nezbytnou součástí je také komentář k jednotlivým výsledkům a provedeným reakcím.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERISTIKA PURINOVÝCH SLOUČENIN A MOŽNOSTI JEJICH SYNTÉZY

Syntéza a pojmenování purinu bylo poprvé provedeno v roce 1899, německým chemikem Emilem Hermanem Fischerem. Struktura purinu je tvořena kondenzovaným bicyklickým systémem pyrimidinu a imidazolu se čtyřmi atomy uhlíku, která vykazuje široké spektrum významných biologických účinků. Na **Obrázku 1** lze vidět strukturní vzorec *9H*-purinu spolu s jeho specifickým číslováním.¹



Obrázek 1: Strukturní vzorec *9H*-purinu a způsob jeho číslování.

1.1 Syntéza purinových sloučenin

V této kapitole bude pojednáno o syntéze vybraných 6,9-disubstituovaných a 2,6,9-trisubstituovaných purinů, kterými se dále tato práce v experimentální části zabývá. Cest pro přípravu 6,9-disubstituovaných a 2,6,9-trisubstituovaných purinů je v literatuře popsána celá řada a několik z nich bude blíže komentováno níže.

U disubstituovaných purinů se jako výchozí sloučenina pro syntézy obvykle využívá 6-chlor-*9H*-purin. Ten lze připravit z komerčně dostupného hypoxanthinu, kdy je k reakční směsi spolu s *N,N*-dimethylaminem přidán trichlorid fosforu. Výtěžek této reakce se pohybuje kolem 86 % (**Schéma 1**). Pro přípravu trisubstituovaných purinů se relativně často jako výchozí látka využívá 2,6-dichlor-*9H*-purin, který je komerčně dostupný. Tuto látku lze připravit i laboratorní cestou, a sice chlorací xanthinu s přidáním trichloridu fosforu a vhodné báze (**Schéma 2**).^{2,3}

Schéma 1

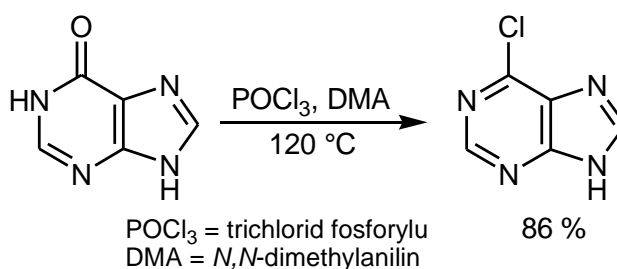
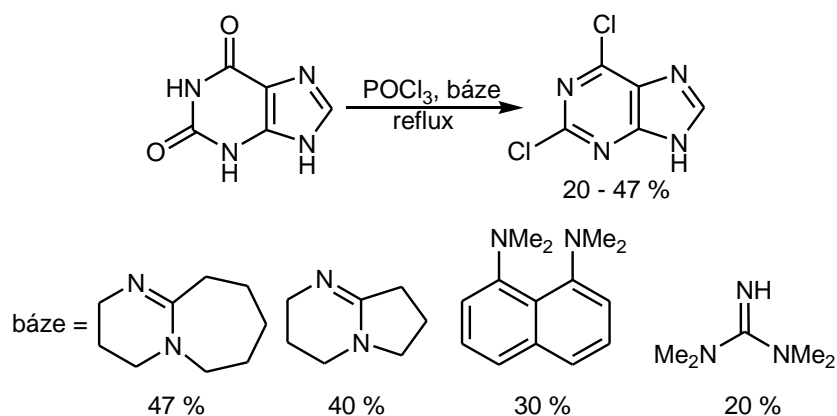


Schéma 2

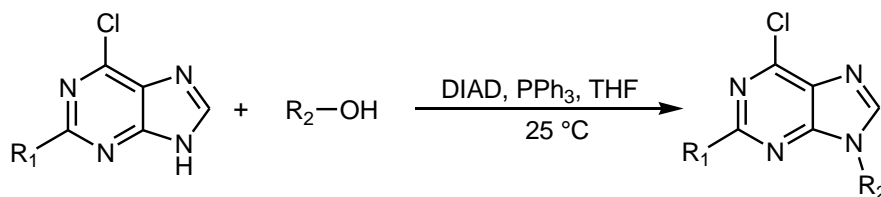


1.1.1 Mitsunobův coupling

Syntéza purinových derivátů může probíhat za použití Mitsunobovy reakce, pojmenované dle Oyo Mitsunoba, který tento typ reakce poprvé představil v roce 1980. Jako příklad využití Mitsunobovy reakce lze uvést zavádění různých substituentů do polohy 9 purinového kruhu. Výchozí sloučeninou pro tuto reakci je substituovaný alkohol a purin, které reagují v přítomnosti bezvodého tetrahydrofuranu (THF), trifenylofosfinu (PPh_3) a diisopropylazodikarboxylátu (DIAD), což ukazuje **Schéma 3**. Nespornou výhodou této reakce je její vysoká regioselektivita, což znamená, že je potlačen vznik nežádoucího N7 isomeru. Je-li jako výchozí látka použit 6-chlor-9H-purin, vzniká téměř výhradně N9 izomer. Naopak u 2,6-dichlor-9H-purinu může docházet ke vzniku obou izomerů, i když N7 v minoritním množství, což lze přičíst nízké elektronové hustotě disubstituovaného purinu. Substituované puriny jsou v THF velmi dobře rozpustné, proto tyto reakce probíhají již za laboratorní teploty. Nevýhodou tohoto typu reakcí jsou však malé celkové výtěžky, pohybující se kolem 20–50 %, což je přisuzováno nízké nukleofilitě purinu, možným nežádoucím reakcím v průběhu syntézy a také postavení alkoholu na benzylové či allylové skupině.^{4,5}

Sloučeniny, jejichž syntéza je znázorněna na **Schématu 3** by bylo možné připravit i jinými cestami. Jednou z nejpoužívanějších metod je zavádění organických halogenidů, jakožto alkylačních činidel, do polohy 9 purinového kruhu. Tento typ reakce v sobě skýtá, v porovnání s Mitsunobovou reakcí, dvě základní nevýhody: a) dochází ke vzniku N7 a N9 izomerů, kdy zastoupení N7 izomeru může činit až 30 %; b) některé typy sloučenin používané v tomto typu reakce jsou toxické či karcinogenní (např. 2-jodpropan).⁶

Schéma 3



R ₁	R ₂	Y [%] ^a	R ₂	Y [%] ^a	R ₂	Y [%] ^a
H		89		78		74
Cl		90		88		76
H		87		85		81
Cl		88		96		88
H		89		77		
Cl		86		75		

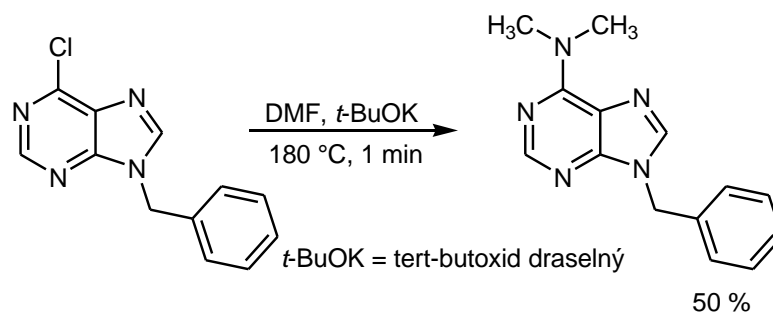
^a výtěžek N9 izomeru

1.1.2 Mikrovlnami asistované reakce

Reakce tohoto typu jsou využívány v širokém měřítku a uplatňovány jak u disubstituovaných, tak trisubstituovaných purinů. Využívají se například u aromatických nukleofilních substitucí, cykloadičních reakcí nebo reakcí s organokovy. Výhody využití mikrovlnného záření lze spatřovat např. v úspoře reakčního času, ale také v poskytování relativně vysokých výtěžků z prováděných reakcí.⁷

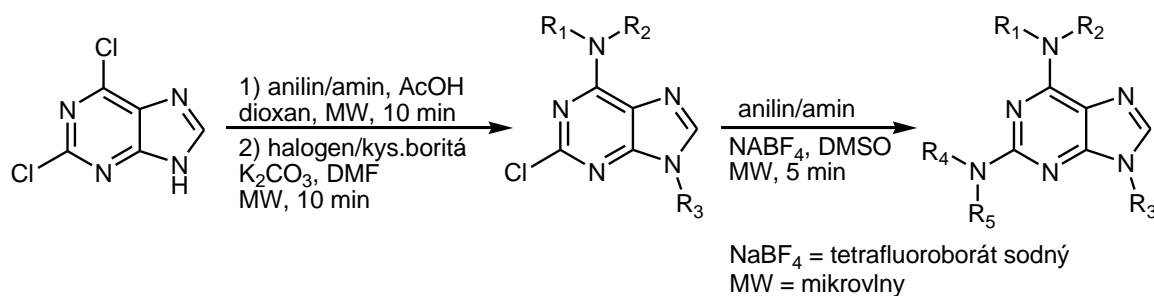
Čechová L. a kol.⁸ popisuje mikrovlnami asistovanou substituci atomu chloru v poloze 6 purinového skeletu, za využití *N,N*-dimethylformamidu (DMF), který se v reakcích tohoto typu používá spíše jako rozpouštědlo. Možné využití této reakce spatřuje v aminaci heterocyklických sloučenin. Rozklad DMF při reakci byl studován v utěsněné nádobě a monitorován automaticky nárůstem tlaku. Při využití alternativních či dražších formamidů, mohou být reakce prováděny ve vhodných rozpouštědlech, kdy byl například pozorován nárůst rozkladu DMF v toluenu, tetrahydrofuranu a kyselině octové, naopak rozpouštědla jako ethanol, methanol a voda rozklad DMF neusnadňují. **Schéma 4** ukazuje provedení a podmínky reakce.

Schéma 4



Možná příprava trisubstituovaných purinů pomocí mikrovln je popsána také v práci, kterou publikoval Huang H. a kol.⁹, která je jedinečná ve svém postupu a přináší ve velmi krátkém čase vysoké výtěžky (v průměru 85 %) a čistotu produktů. Pomocí dvoustupňové syntézy v jedné reakční baňce a asistenci mikrovln dojde k nasubstituování komerčně dostupného 2,6-dichlor-9*H*-purinu, což znázorňuje **Schéma 5**. Reakce probíhá mechanismem nukleofilní aromatické substituce, v přítomnosti alifatických či aromatických aminů a následné alkylace nebo arylace organickými halogeny a kyselinou boritou. Ve druhém kroku pak podporuje přítomnost tetrafluorborátu sodného substituci na C2 purinového skeletu.

Schéma 5



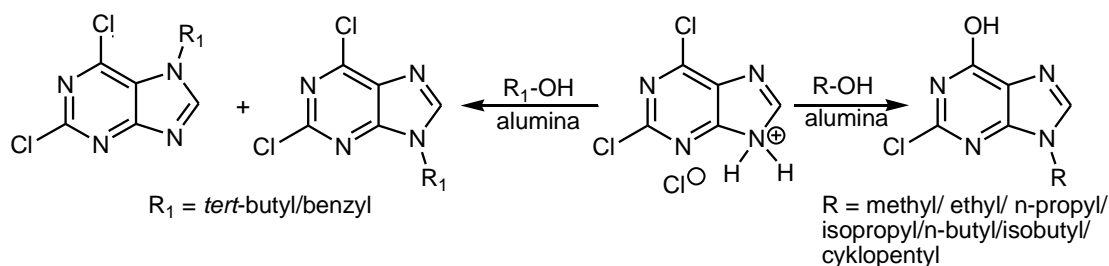
1.1.3 Aluminou katalyzovaná reakce

Tato metoda je dobře použitelná pro syntézu alkylovaných purinů. Považuje se za jednoduchou, efektivní a šetrnou k životnímu prostředí. Alumina, neboli oxid hlinitý katalyzuje reakci mezi alkoholem a chlorovodíkem v přítomnosti tetrachlormethanu, za vzniku alkyl halogenidu.¹⁰

2,6-Dichlor-9*H*-purin hydrochlorid může být efektivně převeden na *N*-alkylované puriny s různými druhy alkoholů přes katalýzu aluminou. Elektrofílní substituce probíhají na 2,6-dichlor-9*H*-purinu do polohy N7 a/nebo do polohy N9. Regioselektivita elektrofílní substituce purinu závisí na stabilitě alkylových karbokationtů. Méně stabilní karbokationt

alkoholu, jako např. methanol, ethanol či isopropylalkohol poskytuje především N9-alkylovaný-2-chlor-6-hydroxy-9*H*-purin. Stablnější *tert*-butylové a benzylové karbokationty poskytují N9 a N7 purinové deriváty, což ukazuje **Schéma 6**. Hydrochlorid purinu byl připraven z 2,6-dichlor-9*H*-purinu rozpuštěného v acetonu působením suchého plynného chlorovodíku.¹⁰

Schéma 6



1.2 Biologické účinky sloučenin s purinovým skeletem

Purinové deriváty lze díky jejich struktuře využít pro farmaceutické účely. Neustále dochází k vývoji látek k léčbě rakoviny, leukemie, virové infekce jako Herpes, orgánového odmítnutí nebo potlačení projevů AIDS.

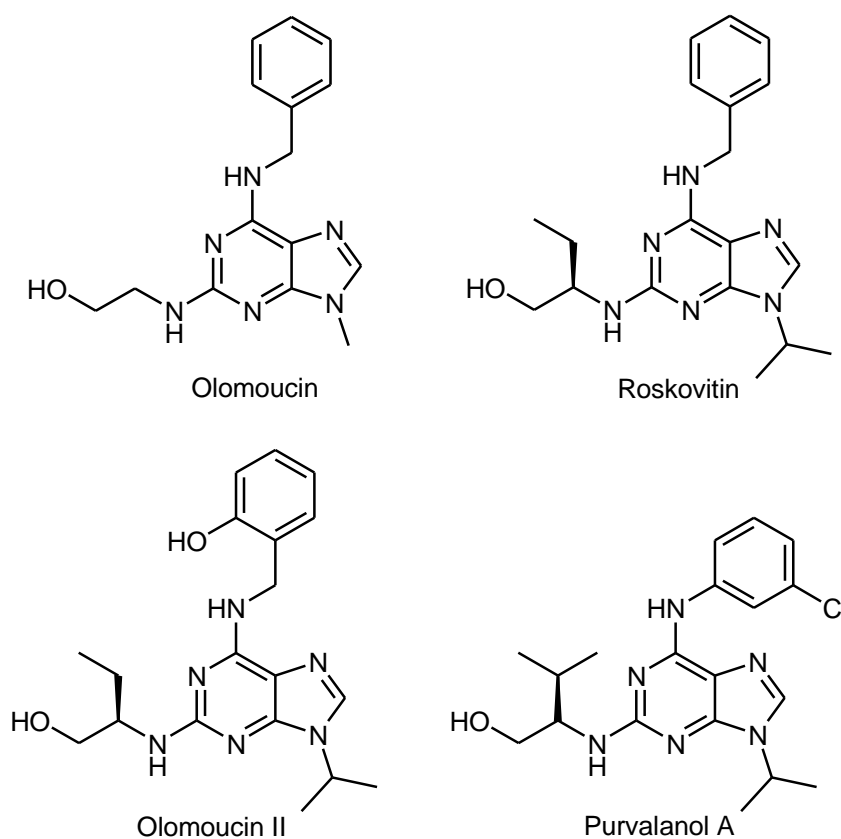
Z biologického hlediska byl zájem o puriny posílen také analýzou lidského genomu a jeho fungování při replikaci v buněčném cyklu. Protože jsou puriny také součástí purinových nukleotidů a jejich kofaktorů, tvoří je to sloučeninami využitelnými v terapeutické praxi. Syntetické purinové deriváty mohou mít velký potenciál v interferenci s důležitými funkcemi buňky.¹¹

Zajímavými farmakologickými účinky purinových derivátů a jejich analogů je transport těchto molekul přes biologické membrány pomocí nukleobází, aktivním nebo pasivním transportním systémem, které mohou být charakterizovány v mnoha druzích savčích buněk.

Puriny jsou všudypřítomné molekuly, které existují v poměrně velké (milimolární) koncentraci v živých organismech. Jsou základní stavební součástí adeninu a guaninu, jakožto komponent nukleových kyselin. Protože jsou puriny tak důležitou součástí živých organismů, představuje syntéza nových purinových derivátů a studium jejich biologické aktivity logické vyústění snahy mnoha výzkumných týmů po celém světě.¹²

Díky svým specifickým vlastnostem se puriny velmi často testují a popřípadě i využívají v klinické praxi jako inhibitory cyklin-dependentních kináz (CDK). Cyklin-dependentní kinázy jsou serin/threonin kinázy, které hrají ve spojení s příslušným cyklinem klíčovou roli jako regulátory různých fází buněčného cyklu. Buněčná aktivita CDK je regulována řadou mechanismů zahrnujících fosforylaci jinými kinázami, defosforylaci fosfatázami a vazbou na inhibiční peptidy. Tyto přírodní peptidové inhibitory jsou často mutovány nebo odstraněny v nádorech. Bylo tedy zjištěno, že je možné inhibovat CDK malými molekulami a tím účinně bránit rakovinnému bujení.¹³

Purinové deriváty se řadí k nejstarším inhibitorům CDK. Jako první, v roce 1994, byl syntetizován olomoucín, který byl zanedlouho doplněn účinnějšími inhibitory, jakými jsou roskovitin, purvalanol A a následně syntetizovaný olomoucín II. Strukturální vzorce vybraných sloučenin jsou znázorněny na **Obrázku 2**.^{11,12,14-17}

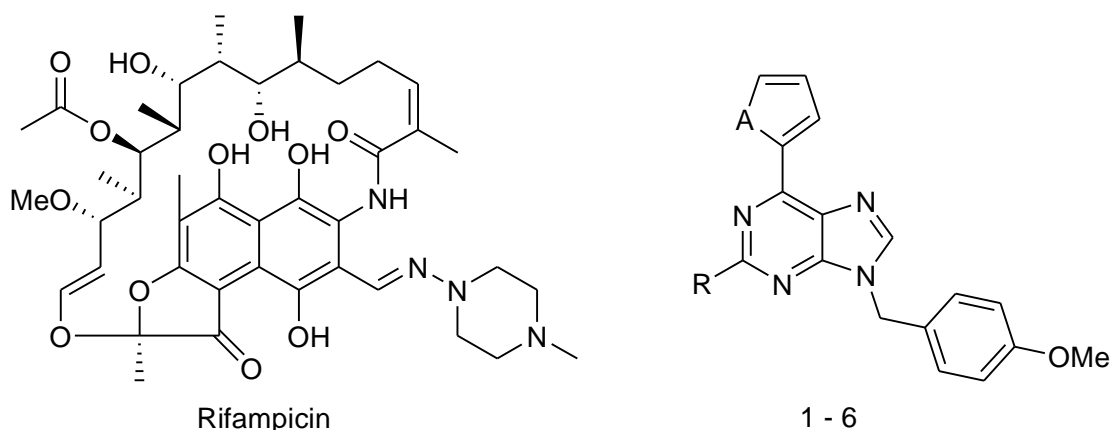


Obrázek 2: Strukturální vzorce vybraných purinových inhibitorů CDK.

Účinky roskovitinu jsou v buněčném cyklu velmi rozsáhlé. Vykazuje antimitotický efekt v mnoha fázích. Inhibuje CDK3 – konec fáze G₀, CDK2 – inhibice přechodu G₁/S a také průběh S fáze či CDK1 – inhibice G₂ fáze. Purvalanol A zastavuje mitózu v lidských

fibroblastech při přechodu G₁/S a v G₂/M fázi a inhibuje tak CDK1 a CDK2. Olomoucín inhibuje CDK4 a CDK5 (přechod G₁/S) a olomoucín II inhibuje CDK1, stejně jako roskovitin.¹²

Substituované deriváty purinu je možné, pro jejich antibakteriální účinky, použít např. k inhibici *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), při léčbě tuberkulózy. Na tuberkulózu ročně zahyne přes 2 miliony lidí a rostoucí rezistence k dostupným lékům představuje závažný problém. Proto je snaha vytvořit a uplatnit účinné látky na bázi purinů, které vykazují vysokou selektivitu vůči *Mtb* ve srovnání s jinými mikroorganismy, jsou aktivní proti několika rezistentním kmenům *Mtb* a pro savčí buňky málo toxické. Strukturu série těchto látek a biologickou aktivitu ve srovnání s Rifampicinem, klinicky používaným lékem proti tuberkulóze, ukazuje **Obrázek 3**. Jak lze vidět, nejnižší biologickou aktivitu 1,65 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ vykazuje látka a), obsahující v poloze 2 původního kruhu atom H, zatímco nejvyšší, 0,2 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, látka e) s navázanou methylovou skupinou na C2. Inhibiční aktivita této sloučeniny je dokonce vyšší než u samotného Rifampicinu.¹⁸



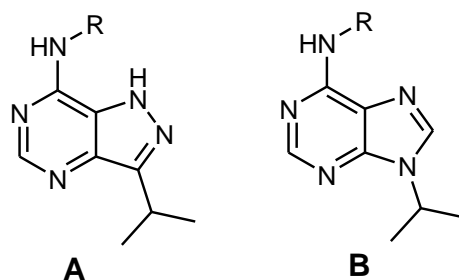
Sloučenina	1	2	3	4	5	6	Rifampicin
A	O	O	S	O	O	O	
R	H	Cl	Cl	F	Me	MeO	
MIC <i>Mtb</i> [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	1,65	0,39	0,78	0,39	0,20	0,78	0,25

Obrázek 3: Struktura připravených látek a srovnání jejich biologické aktivity s Rifampicinem.

Leishmanióza představuje souhrn onemocnění způsobené parazitickými prvky, kteří náleží do rodu *Leishmania*. Toto onemocnění zahrnuje: a) kožní leishmaniózu – onemocnění kůže zanechávající jizvy, b) mukokutanní leishmaniózu – chronické onemocnění nosohltanu a slizniční tkáně, c) viscerální leishmaniózu – fatální onemocnění

jater, sleziny a kostní dřeně. Větší zájem o léčbu tohoto onemocnění způsobuje jeho rozšíření i do oblastí, kde se dříve nevyskytovalo a také vůči němu vznikající rezistence. Mechanismus účinku spočívá v inhibici aktivity proteinové kinázy CRK3.¹⁹

V recentní literatuře je popsáno srovnání antiprotozoální aktivity pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidinových a purinových derivátů. Struktura sloučenin obsahujících pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidinový (A) a 6,9-disubstituovaný purinový skelet (B) a jejich antiprotozoální aktivita je znázorněna na **Obrázku 4**. Obecně lze říci, že silnějšími potencionálními inhibitory CRK3/CYC6 jsou pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidiny, zatímco u purinových sloučenin (až na jednu výjimku) nebyla pozorována žádná aktivita. Je na místě zdůraznit výraznou aktivitu sloučenin 5A a 5B, jejichž společným znakem je přítomnost adamantanového skeletu v molekule. Nelze ani opomenout skutečnost, že aktivita sloučeniny 5B je vyšší nebo srovnatelná s aktivitou sloučenin 1A – 4A. Jednoznačně nejsilněji inhibovala příslušný buněčný cíl sloučenina 5A, jež byla přibližně 10krát účinnější než druhý nejsilnější inhibitor (látka 2A).¹⁹

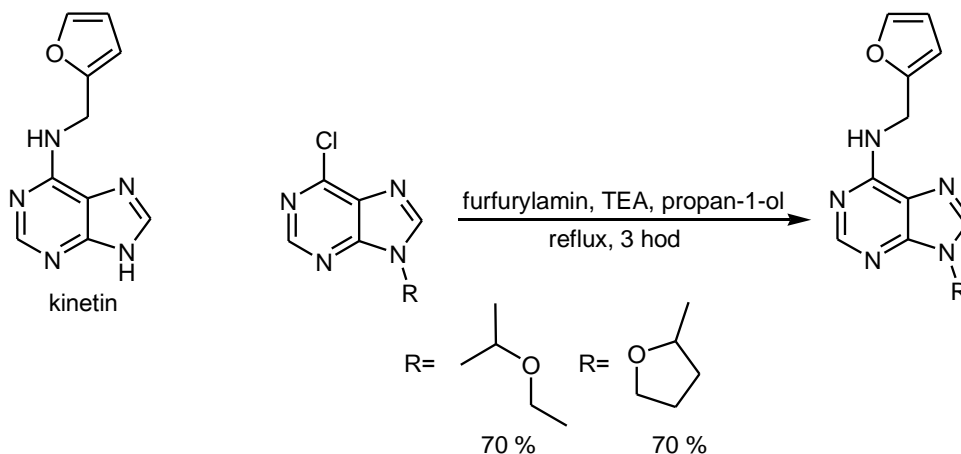


Sloučenina	R	IC ₅₀ [μM] ^a
1A	benzyl	54,16
1B		>100
2A	2-hydroxybenzyl	11,91
2B		>100
3A	3-hydroxybenzyl	83,16
3B		>100
4A	2-aminobenzyl	58,64
4B		>100
5A	1-adamantyl	1,82
5B		12,23

^a v přítomnosti 15 μM ATP

Obrázek 4: Struktura a antiprotozoální aktivita nové série pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidinů a 6,9-disubstituovaných purinů.

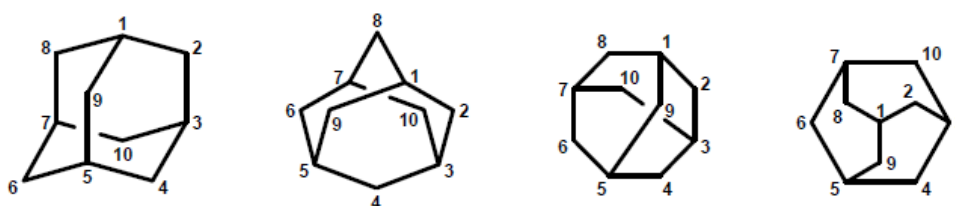
Purinové deriváty nemusí být využity pouze v souvislosti léčby onemocnění člověka, ale mohou být nápomocné i v oblasti fytochemie (nauka o vzniku, chemickém složení a reakcích látek obsažených v rostlinách). Výzkumná skupina Václava Míka²⁰ se zabývá působením 6,9-disubstituovaných purinových derivátů na senescenci (stárnutí) rostlin. Důležitou součástí rostlin jsou cytokininy, patřící mezi regulátory růstu. Prvním izolovaným cytokininem je 6-furfurylaminopurin, tzv. kinetin. Tyto látky se podílí na celé řadě vývojových procesů jako je buněčné dělení, vývoj chloroplastů, biosyntéza chlorofylu, rozlišení vodivých pletiv a také mají roli ve vývoji květů a plodů. Rostlinné buňky v době stárnutí, podobně jako lidský organismus, prochází velmi koordinovanými změnami v jejich struktuře, genové expresi a metabolismu. Proto byla připravena série látek na bázi kinetinu, u kterých byla zkoumána a následně i prokázána antisenescenční aktivita. Tato vlastnost, oddalující stárnutí rostlin, by mohla dále nalézt své uplatnění v biotechnologii či zemědělství. Strukturální vzorec kinetinu a syntézu dvou vybraných sloučenin, které vykazují za světla vyšší účinnost než samotný kinetin ukazuje **Obrázek 5**. V procentuálním vyjádření, má kinetin při optimální koncentraci relativní aktivitu 100 %, nově vytvořené sloučeniny vykazují aktivitu 116 % a 125 %.



Obrázek 5: Strukturální vzorec kinetinu a syntéza modelových látek.

2 ADAMANTAN A JEHO VYUŽITÍ

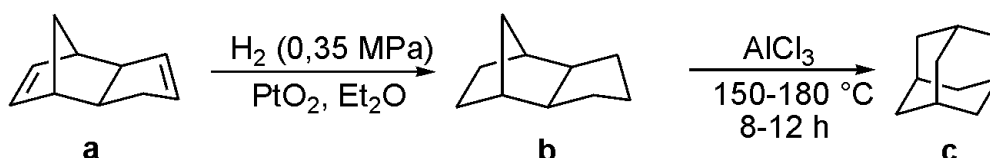
Polycyklický uhlovodík popsaný v roce 1932 prof. Stanislavem Landou a izolovaný z hodonínské ropy, dostal pojmenování adamantan, systematicky tricyklo[3.3.1.1^{3,7}]dekan. Tato relativně jednoduchá a symetrická molekula tvořená třemi cyklohexanovými kruhy v židličkové konformaci vzbuzuje velký zájem z důvodu jejího možného využití, a to jak ve farmacii, tak v elektrotechnickém průmyslu. I když byl adamantan izolován z ropy, dále se těchto postupů k jeho získávání nepoužívá, z důvodu velmi malé výtěžnosti nepřesahující 0,03 %. Možné vyjádření struktury adamantanu ukazuje **Obrázek 6**.^{21,22}



Obrázek 6: Příklady vyjádření struktury adamantanu.

V průmyslu se adamantan nejčastěji připravuje pomocí přesmyku dicyklopentadienu, jako výchozí látky. Po následné hydrogenaci dochází ke vzniku tetrahydrodicyklopentadienu a v přítomnosti AlCl_3 při teplotě 150–180 °C po dobu 8–12 hodin dojde ke vzniku adamantanu ve výtěžku 15–20 % (**Schéma 7**).²²

Schéma 7

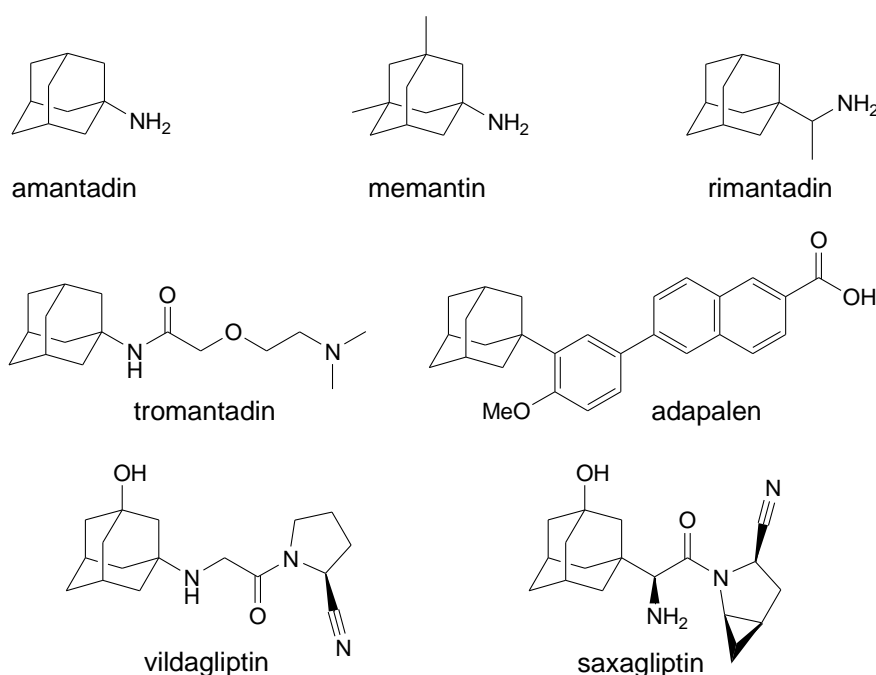


Zajímavou studií se zabývali Mitsukara K. a kol.²³, kteří zkoumali pomocí sekvenční analýzy 16S ribozomální DNA, hydroxylační aktivitu adamantan-1-olu půdních aktinomycet (SA8). Nejvyšší hydroxylační aktivitu prokazoval kmen *Streptomyces* sp. SA8, který má schopnost přeměňovat výchozí adamantan-1-ol na adamantan-1,3-diol. *Streptomyces* produkuje 5,9 g·l⁻¹ adamantan-1,3-diolu z 6,2 g·l⁻¹ adamantan-1-olu. Nejdříve bylo připraveno živné médium, do kterého byl přidán adamantan-1-ol, následovalo zaočkování požadovaným mikrobiálním kmenem a probíhala kultivace po dobu 120 hodin při 28 °C. Vzniklý supernatant byl odpařen a výsledný podíl byl rozpuštěn v methanolu pro odebrání vzorku k analýze.

2.1 Adamantan v chemii léčiv

Použití adamantanu ve farmacii lze rozdělit do dvou větví. První skupinu tvoří jednoduché deriváty adamantanu, s navázanými jednoduchými funkčními skupinami, kam lze zařadit amantadin, dále memantin nebo rimantadin. Amantadin a rimantadin se používají k léčbě chřipky typu A. Nutno říci, že tato léčiva virus přímo nezabíjejí, ale inhibují virovou replikaci. Možné využití mají obě látky také v léčbě spavé nemoci. Amantadin se v současné době používá spíše jako antiparkinsonikum, protože se ukázalo, že je poměrně neurotoxický a byl nahrazen rimantadinem. Memantin se využívá k léčbě a potlačení příznaků Alzheimerovy choroby.^{21,24}

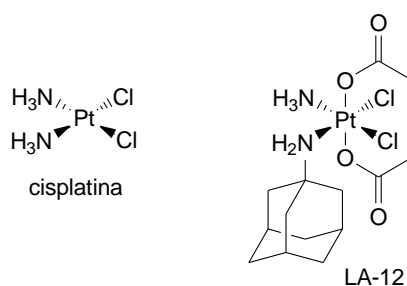
Druhou skupinu zahrnují deriváty adamantanu, u kterých došlo k obohacení struktur s již popsanými biologickými účinky tak, aby nebyla dotčena jejich aktivní místa. Takové obměny jsou pro své účinky značně výhodné. Lipofilní charakter adamantanu umožní snadnější dostupnost léčivé látky v místě působení, což má za následek rychlejší transport léčiva v organismu nebo snížení jeho dávky. Do této skupiny biologicky aktivních látek patří například vildagliptin, saxagliptin nebo sitagliptin, které se uplatňují v léčbě diabetu 2. typu. Jejich účinek spočívá v inhibici dipeptidyl peptidázy-4 (DPP-4). DPP-4 inhibuje zvyšování sekrece inzulínu a zabráněním inaktivace GLP-1 peptidu redukuje sekreci glukagonu, čímž snižuje hladinu glukózy.²⁴⁻²⁶



Obrázek 7: Strukturální vzorce sedmi sloučenin s adamantanovým skeletem využívaných v klinické praxi.

V klinické praxi se v současné době používá sedm sloučenin obsahujících adamantanový skelet a mnoho dalších je ve fázi klinického testování. Patří sem již zmíněný amantadin, memantin, rimantadin, tromantadin, adapelen, vildagliptin a saxagliptin. Tromantadin je účinným antivirotikem používajícím se k léčbě herpes viru a adapelen se používá k léčbě acne vulgaris. Tyto látky jsou pacienty velmi dobře snášeny a mají dobrý dlouhodobý toxikologický profil.²⁷ Strukturu těchto látek ukazuje **Obrázek 7**.

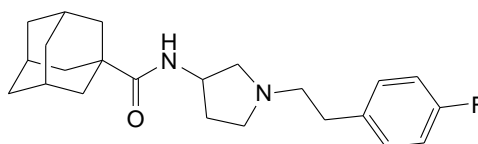
S výjimkou výše uvedených existuje celá řada sloučenin s adamantanovým skeletem, vykazujících rozdílnou škálu biologických účinků, z nichž některé budou krátce zmíněny. Příkladem je LA-12, sloučenina na bázi cisplatiny, která je ve fázi klinického testování a využití by mohla najít v boji s rakovinnými buňkami. Její strukturu tvoří oktahedrální komplex platiny, který obsahuje objemný hydrofobní ligand 1-adamantylamin. Využití samotné cisplatiny v léčbě rakoviny má dvě významná omezení. Prvním jsou nežádoucí účinky jako nefrotoxicita, neurotoxicita a těžká nevolnost. Druhým omezením je rezistence, kterou projevuje řada tumorů zejména zpočátku terapie nebo se jedná o rezistenci získanou během léčby. LA-12 vykazuje vysoký cytotoxický efekt bez vzniku rezistence k cisplatině. Mechanismus účinku této látky spočívá v indukci apoptózy (programovaná buněčná smrt) a to i buněk k cisplatině rezistentních a také u buněk, které neobsahují aktivovaný p53 protein, jehož funkcí je zastavení buněčného cyklu po poškození DNA, iniciace opravy poškozené DNA nebo spuštění apoptózy a proliferace poškozených buněk.^{28,29} Strukturní vzorce cisplatiny a LA-12 jsou znázorněny na **Obrázku 8**.



Obrázek 8: Strukturní vzorec cisplatiny a LA-12.

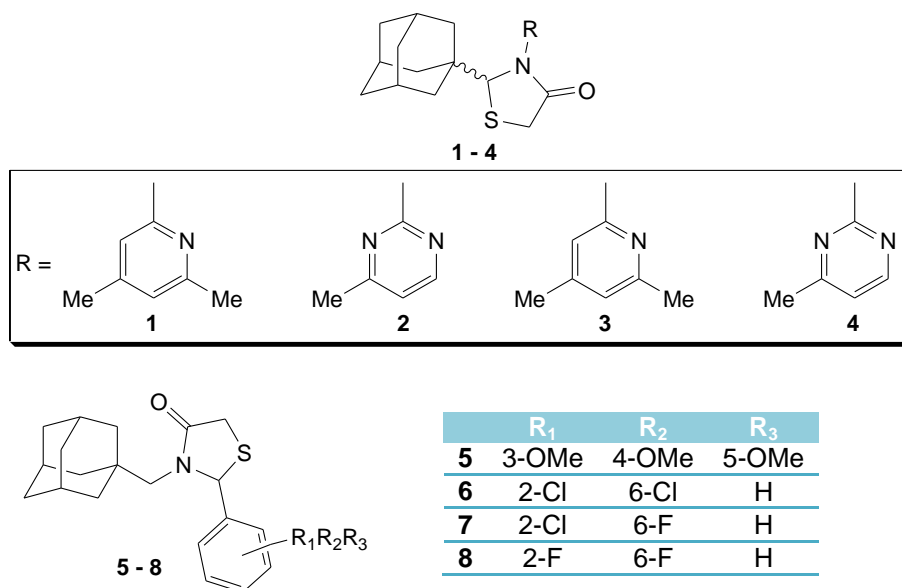
Počátkem tohoto století byla syntetizována série 1-adamanantankarboxylamidů, které byly zkoumány pro svou účinnost jako selektivní inhibitory 5-HT₂ antagonistů receptoru. 5-HT je používanou zkratkou pro serotonin, který nejen, že vyvolává silné vasokonstrikce (stažení cév) a má vliv na srážení krve, ale také jako synergista zesiluje efekt vasoaktivních látek a/nebo látek podílejících se na srážení krve, jako noradrenalin, angiotensin II,

adenosindifosfát (ADP) a kolagen. Bylo prokázáno, že jsou tyto děje zprostředkovány 5-HT receptory v krevních destičkách a cévní tkáni. Očekává se tedy, že antagonisté receptoru 5-HT budou užitečné při léčbě kardiovaskulárních onemocnění. Pro další testování byla vybrána látka s označením Y-39241, jejíž struktura je znázorněna **Obrázku 9**. V první fázi byl zkoumán inhibiční efekt plicní tromboembolické smrti umyšlí, indukované kolagenem a 5-HT. Látka Y-39241 výrazně snížila úmrtnost, kdy ED_{50} (efektivní dávka) pro tuto látku je $0,04 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, ve srovnání se sarpogrelátem (antagonista 5-HT receptorů), který má $ED_{50} 2,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Sarpogrelát se v klinické praxi se používá k léčbě periferní arteriální okluzivní choroby, ale jeho afinita k 5-HT receptoru je nízká, proto je snaha vytvořit jeho silnější a účinnější inhibitory. Bylo tedy zjištěno, že látka s označením Y-39241 je efektivní v prevenci 5-HT a také v kolagenem indukovaném srážení, zkoumané *in vitro* a *in vivo*, což vede k myšlenkám dalšího biochemického a farmakologického zkoumání.³⁰



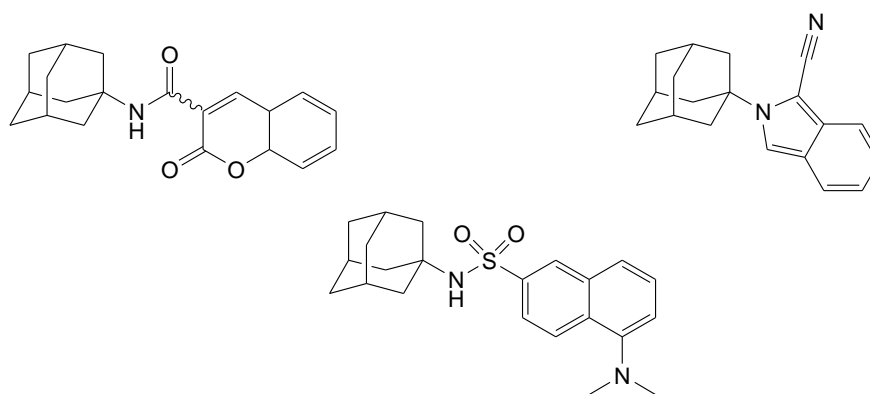
Obrázek 9: Strukturní vzorec sloučeniny Y-39241

Jak již bylo zmíněno, deriváty adamantanu mohou vykazovat také antivirotické účinky. Dalšími látkami na této bázi mohou být deriváty thiazolidinu, které obsahují lipofilní adamantylový motiv v poloze 2 nebo v poloze 3. Několik v nedávné době syntetizovaných sloučenin vykazuje anti-HIV 1 aktivitu (látky 1–4, **Obrázek 10**). Adamantylová část pravděpodobně hraje důležitou roli v potenciální antivirotické aktivitě těchto látek, které vystupují jako nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy. U této sloučeniny byla provedena separace enantiomerů přes diastereomerovou sůl. Bylo prokázáno, že izomer (+) je za anti-HIV 1 aktivitu více zodpovědný než izomer opačný, u něhož je aktivita až 60krát nižší. Sloučeniny 5–8 (**Obrázek 10**) s adamantanovým skeletem v poloze 3 vykazují mírnější anti-HIV 1 aktivitu, ale naopak výraznou aktivitu cytostatickou. Studie provedené rentgenovou difrakční analýzou a kvantově chemické výpočty ukázaly, že aktivita vůči HIV dané látky je silně závislá na jejím dipólovém momentu a konformaci thiazolidinonů.^{31,32}



Obrázek 10: Strukturální vzorce vybraných sloučenin substitovaných 1-adamantylem.

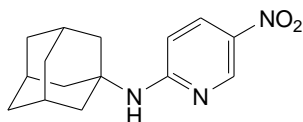
Joubert J. a kol.³³ popisuje syntézu série fluorescenčních heterocyklických adamantanových aminů s cílem vyvinout nové fluorescenční ligandy pro neurologické testování. Tyto deriváty ukazují na multifunkční neuroprotektivní aktivitu v inhibici *N*-methyl-D-aspartátových receptorů, transportu vápenatých iontů a vykazují také vysoký potenciál v antioxidační aktivitě. Na **Obrázku 11** lze vidět vybrané sloučeniny, které vykazují vysoký stupeň multifunkcionalitu s příznivými fyzikálně-chemickými vlastnostmi pro biologickou dostupnost a permeabilitu přes mozkovou bariéru.



Obrázek 11: Vzorce vybraných heterocyklických aminů s adamantanovým motivem vykazujících multifunkcionalitu.

Adamantanové sloučeniny lze uplatnit nejen ve farmacii, ale mohou být využity například jako organické krystaly pro Ramanovu spektroskopii. Materiálem pro mnoho nových aplikací v moderní kvantové elektronice je 5-nitro-*N*-(1-adamantyl)pyridin-2-amin (AANP), jehož vzorec ukazuje **Obrázek 12**. Tato látka ve formě krystalu, připraveného

horizontální Bragg-Stricklandovou metodou, vykazuje značnou optickou linearitu a může se využívat jako konvertor Ramanova laseru ve viditelné a blízké oblasti IR (infračervená spektroskopie). Další využití tohoto krystalu může být pro vysokorychlostní optické komunikační systémy, kde může fungovat jako spínací zařízení, díky použití fázového posunu. Je to proto, že tento typ krystalu má určité fáze, odpovídající svým rozsahem telekomunikační vlnové délce.^{34,35}



Obrázek 12: Strukturní vzorec 5-nitro-*N*-(1-adamantyl)pyridin-2-aminu (AANP).

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. Použité mobilní fáze CHCl₃:MeOH (8:1, v:v), PE:EA (1:1, v:v), PE:EA (8:1, v:v). 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 absorbního 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 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$. Ostatní parametry byly následující: napětí na kapiláře: -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 indukované disociace (z angl. collision-induced dissociation, CID). Jako kolizní plyn bylo použito helium.

4 PŘÍPRAVA 6,9-DISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ

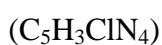
4.1 Chlorace hypoxanthinu

6-Chlor-9*H*-purin byl připraven dle literárního postupu.³⁶ Do baňky byl navážen hypoxanthin (2,0 g; 14,7 mmol), ke kterému byl za stálého míchání přidán dimethylanilin (5 cm³). Následně došlo ke zchlazení reakční směsi ledovou tříští na cca 0 °C a pomocí přikapávací nálevky byl opatrně přidáván chlorid fosforylu (82 mg; 0,54 mmol). Po vytemperování reakční směsi na laboratorní teplotu, byla tato refluxována při 120 °C pod ochrannou dusíkovou atmosférou. Po 3 hodinách došlo ke spotřebování veškeré výchozí látky (monitorováno pomocí TLC). Následně bylo na RVO odpařeno veškeré rozpouštědlo, čímž byl získán olej, který byl podíl nalit na ledovou tříšť a ponechán rozpustit, přičemž byla pozorována změna barvy z hnědé na zelenou. Poté byla reakční směs zneutralizována cca 20 cm³ vodného amoniaku. Reakční směs byla poté extrahována chloroformem (5 × 10 cm³), do kterého přešlo vzniklé barvivo a spojené organické podíly byly sušeny nad Na₂SO₄ a vodná fáze byla odpařena na RVO. Po odpaření vodné fáze byl reakční produkt zpracován s acetonitrilem. Do reakční baňky bylo přidáno 15 cm³ acetonitrilu a zahříváno pomocí horkovzdušné pistole. Roztok byl zfiltrován a filtrát ihned odpařen na RVO. Tento postup byl několikrát opakován.

6-Chlor-9*H*-purin (2)

Surový produkt byl následně překrystalován za horka v methanolu. Čistý produkt byl získán ve formě žlutého krystalického prášku v množství 1,6 g (70 %); $t_f = > 300$ °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 8,67 (s, 1H, NC²HN); 8,72 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H, NC⁸HN); 13,85 (s, 1H, N⁹H) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 130,4(C); 145,7(CH); 148,5(C); 151,3(CH); 152,7(C) ppm. IR (KBr): 3062(s), 2802(s), 1606(s), 1577(s), 1492(m), 1448(m), 1391(s), 1327(s), 1285(s), 1233(s), 1147(m), 988(s), 924(m), 852(m), 643(s), 602(m) cm⁻¹. GC-EI-MS ($t_R = 13,4$ min); m/z (%): 40(7), 47(4), 51(3), 53(13), 64(12), 65(32), 66(8), 67(8), 73(9), 74(5), 86(7), 92(33), 99(4), 100(11), 119(92), 120(9), 154(M⁺(³⁵Cl), 100), 155(8), 156(M⁺(³⁷Cl), 33).



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

exp. složení: 39,08 % C; 2,12 % H; 36,46 % N

4.2 Příprava (1-adamantyl)[4-(aminomethyl)fenyl]methanonu

(1-Adamantyl)[4-(azidomethyl)fenyl]methanon (200 mg; 0,677 mmol) byl rozpuštěn v předem připravené methanické HCl (8 cm³). Do nažloutlého roztoku bylo přidáváno železo (73 mg; 1,31 mmol) a směs byla ponechána míchat za laboratorní teploty, pod chlorkalciovým uzávěrem. Jednotlivé porce železa byly přidávány, dokud nedošlo ke spotřebování veškerého výchozího azidoketonu (monitorováno TLC). Po ukončení reakce byla směs zalkalizována přidáním 7% roztoku hydroxidu sodného a extrahována 4 × 10 cm³ diethyletheru, spojené organické podíly byly poté promyty 3 × 10 cm³ nasyceného roztoku chloridu sodného. Organický podíl byl vysušen nad Na₂SO₄ a odpařen na RVO.

(1-Adamantyl)[4-(aminomethyl)fenyl]methanon hydrochlorid (4)

Titulní látka byla připravena ve formě hydrochloridu, čehož bylo docíleno zavedením suchého plynného chlorovodíku do „volné báze“. Čistý produkt byl získán ve formě bezbarvého krystalického prášku 200 mg (48 %); *t*_f = 204 – 208 °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1,69(m, 6H, CH₂(Ad)); 1,91(m, 6H, CH₂(Ad)); 2,02(m, 3H, CH(Ad)); 4,07(s, 2H, CH₂NH₃); 7,59(m, 4H, Ph); 8,50(s, 3H, NH₃) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆; 39,5 ppm): δ 27,3(CH); 35,9(CH₂); 38,3(CH₂); 41,8(CH₂); 45,7(C); 126,9(CH); 128,5(CH); 135,9(C); 138,9(C); 208,3(CO) ppm. IR (KBr): 3036(w), 2908(s), 2847(w), 1732(w), 1693(s), 1614(w), 1598(w), 1495(m), 1451(m), 1383(w), 1344(w), 1274(w), 1241(m), 1179(w), 1104(w), 1071(w), 988(m), 933(w), 847(m), 634(m) cm⁻¹. GC-MS (volná báze) (EI, 70 eV); *m/z*(%): 79(16), 81(4), 89(8), 91(7), 93(17), 105(7), 106(8), 107(12), 134(22), 135(Ad, 100), 136(AdH, 12), 252(11), 269(M⁺, 2).

(C₁₈H₂₄ClNO) vyp. složení: 70,69 % C; 7,91 % H; 4,58 % N
exp. složení: 70,55 % C; 7,76 % H; 4,40 % N

4.3 Nukleofilní aromatická substituce 6-chlor-9H-purinu na C6

Obecný postup přípravy 6-„amino“-9H-purinů

Do roztoku 6-chlor-9H-purinu (**2**) v isopropanolu byl přidán příslušný amin (2 ekviv). Reakční směs byla refluxována a po 60 až 90 minutách byl pozorován vznik sraženiny. Po spotřebování výchozího purinu **2**, což bylo monitorováno TLC, byla vzniklá sraženina zfiltrována, promyta cca 5 cm³ ledového isopropanolu a důkladně vysušena na RVO. V případě nečistot byl produkt reakce přečištěn sloupcovou chromatografií.

***N*-fenyl-9*H*-purin-6-amin (5)**

K přípravě titulní látky bylo použito obecného postupu z navážek: 6-chlor-9*H*-purin (200 mg; 1,29 mmol), isopropanol 10 cm³ a anilin (242 mg; 2,58 mmol). Titulní látka byla získána v podobě nažloutlého prášku v množství 100 mg (37 %), $t_f = 275 - 279$ °C

¹H NMR (CDCl₃, DMSO-*d*₆): δ 6,97 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H, Ph); 7,26 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, Ph); 7,88 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H, Ph); 8,03 (s, 1H, NC²HN); 8,32 (s, 1H, NC⁸HN); 9,49 (s, 1H, C⁶NHPh); 13,49 (s, 1H, N⁹H) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, DMSO-*d*₆): δ 118,0(C); 120,0(CH); 120,0(CH); 122,3(CH); 139,7(CH); 139,9(C); 151,3(C); 151,4(CH); 151,6(C) ppm. IR (KBr): 3354(m), 1702(w), 1577(s), 1529(s), 1502(s), 1479(s), 1440(s), 1397(m), 1362(s), 1327(m), 1306(s), 1254(s), 1226(m), 1189(w), 1077(w), 933(s), 856(m), 758(s) cm⁻¹. GC-EI-MS ($t_R = 20,9$ min); m/z (%): 51(19), 52(8), 53(8), 65(19), 66(11), 76(8), 77(34), 78(7), 92(16), 93(6), 102(4), 103(8), 104(5), 105(5), 119(5), 129(5), 156(5), 183(6), 210(100), 211(M⁺, 56), 212(9).

(C₁₁H₉N₅) vyp. složení: 62,55 % C; 4,29 % H; 33,16 % N

exp. složení: 62,45 % C; 4,34 % H; 33,10 % N

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

K přípravě titulní látky bylo použito obecného postupu z navážek: 6-chlor-9*H*-purin (200 mg; 1,29 mmol), isopropanol 10 cm³ a benzylamin (278 mg; 2,58 mmol). Titulní látka byla získána v podobě nažloutlého krystalického prášku v množství 183 mg (63 %), $t_f = 229 - 234$ °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 4,94 (s, 2H, C⁶NHCH₂Ph); 7,14–7,37 (m, 5H, Ph); 7,49 (s, 1H, C⁶NHPh); 8,12 (s, 1H, NC²HN); 8,28 (s, 1H, NC⁸HN); 12,90 (s, 1H, N⁹H) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, DMSO-*d*₆): δ 42,4 (CH₂); 120,4(C); 123,9(CH); 124,4(CH); 125,3(CH); 138,8(CH); 139,1(C); 149,3(C); 150,2(CH); 151,9(C) ppm. IR (KBr): 3044(s), 1656(m), 1537(s), 1477(s), 1402(m), 1365(s), 1224(m), 1194(m), 1086(w), 957(w), 949(w), 924(w), 756(s), 699(s) cm⁻¹. GC-EI-MS ($t_R = 22,1$ min); m/z (%): 51(8), 52(6), 53(7), 65(20), 66(10), 77(11), 79(14), 89(7), 91(41), 92(10), 93(16), 94(8), 104(5), 106(82), 107(9), 119(16), 120(19), 121(11), 148(10), 209(6), 224(44), 225(M⁺, 100), 226(17).

(C₁₂H₁₁N₅) vyp. složení: 63,99 % C; 4,92 % H; 31,09 % N

exp. složení: 63,86 % C; 5,04 % H; 31,18 % N

2-(1-Adamantyl)-1-{3-[(9H-purin-6-yl)amino]fenyl}ethan-1-on (7)

K přípravě titulní látky bylo použito obecného postupu z navážek: 6-chlor-9H-purin (57 mg; 0,37 mmol), isopropanol 10 cm³ a 2-(1-adamantyl)-1-(3-aminofenyl)ethan-1-on (200 mg; 0,70 mmol). Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií v systému PE:EA (1:1, v:v). Titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 30 mg (20 %), $t_t = 201 - 205$ °C.

¹H NMR (CDCl₃, DMSO-*d*₆): δ 1,71 (m, 6H, CH₂(Ad)); 1,99 (m, 6H, CH₂(Ad)); 2,03 (m, 3H, CH(Ad)); 2,54 (s, 2H, PhCOCH₂Ad); 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, NC²HN); 8,38 (s, 1H, Ph); 8,40 (s, 1H, NC⁸HN); 9,95 (s, 1H, C⁶NHPh); 13,13 (s, 1H, N⁹H) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, DMSO-*d*₆): δ 28,1(CH); 36,5(CH₂); 39,0(CH₂); 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 (%): 388,3 [M+H]⁺ (100); 410,3 [M+Na]⁺ (36); 797,3 [2·M+Na]⁺ (9).

(C₂₃H₂₅N₅O) vyp. složení: 71,29 % C; 6,50 % H; 18,07 % N

exp. složení: 71,42 % C; 6,45 % H; 18,03 % N

(1-Adamantyl){3-[(9H-purin-6-yl)aminomethyl]fenyl}methanon (8)

K přípravě titulní látky bylo použito obecného postupu z navážek: 6-chlor-9H-purin (54 mg; 0,35 mmol), isopropanol 2,7 cm³ a aminoketon (198 mg; 0,74 mmol). Surový produkt byl získán v podobě hnědočerveného oleje v množství 43 mg (32 %). Surový produkt byl následně přečištěn sloupcovou chromatografií v systému CHCl₃:MeOH (5:1, v:v). Titulní látka byla získána v podobě nažloutlého krystalického prášku ve výtěžku 30 mg (22 %) $t_t = 178 - 183$ °C.

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,65–2,04 (m, 15H, CH₂(Ad)+CH(Ad)); 4,76 (s, 2H, C⁶NHCH₂Ph); 6,49 (bs, 1H, C⁶NHCH₂Ph); 7,22–7,57 (m, 4H, Ph); 8,09 (s, 1H, NC²HN); 8,26 (s, 1H, NC⁸HN); 12,87 (s, 1H, N⁹H) ppm. IR (KBr): 3293(m), 3098(m), 2910(s), 2855(s), 1649(s), 1564(s), 1422(s), 1359(s), 1266(m), 1231(m), 1161(m), 1096(m), 1017(m), 910(m), 719(m), 638(w), 611(w) cm⁻¹. ESI-MS (pos.) m/z (%): 388,3 [M+H]⁺ (100); 410,3 [M+Na]⁺ (21); 775,4 [2·M+H]⁺ (6).

(C₂₃H₂₅N₅O) vyp. složení: 71,29 % C; 6,50 % H; 18,07 % N
exp. složení: 71,20 % C; 6,53 % H; 17,96 % N

4.4 Alkylace 6-,,amino“-9*H*-purinů na N9

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

Do baňky bylo naváženo vypočítané množství 6-,,amino“-9*H*-purinu a rozpuštěno v dimethylsulfoxidu (DMSO). Po úplném rozpuštění látky byl do roztoku přidán uhličitan draselný a 2-jodpropan. Reakční směs byla míchána při teplotě 15–18 °C. Reakce probíhala až do spotřebování výchozího 6-,,amino“-9*H*-purinu, což bylo sledováno pomocí TLC. Následně byla reakční směs zředěna 10–15 cm³ destilované vody, extrahována 6 × 10 cm³ ethylacetátu. Spojené organické podíly promyty 2 × 10 cm³ nasyceného roztoku chloridu sodného. Organická fáze byla sušena nad Na₂SO₄, odpařena na RVO a následně přečištěna sloupcovou chromatografií.

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

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: purin (5) (100 mg; 0,44 mmol), dimethylsulfoxid (2,9 cm³), uhličitan draselný (184 mg; 1,33 mmol) a 2-jodpropan (408 mg; 2,4 mmol). Čistý produkt byl získán po přečištění sloupcovou chromatografií v systému CHCl₃:MeOH (8:1, v:v) v podobě bezbarvého krystalického prášku v množství 49 mg (44 %); *t*_f = 75–78°C.

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,64 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H, CH(CH₃)₂); 4,87 (septet, *J* = 6,7 Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 7,15 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H, Ph); 7,37 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, Ph); 7,78 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H, Ph); 7,90 (s, 1H, NC⁸HN); 8,05 (s, 1H, C⁶NHPh); 8,56 (s, 1H, NC²HN) ppm.
¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,6(CH₃); 47,5(CH); 120,3(CH); 123,4(CH); 129,2(CH); 138,3(CH); 138,5(C); 149,1(C); 152,0(C); 152,5(CH) ppm. IR (KBr): 3378(s), 2926(w), 1629(s), 1575(s), 1533(m), 1498(s), 1436(s), 1405(m), 1228(s), 1175(w), 1007(m), 899(m), 796(w), 747(s), 694(m), 554(m) cm⁻¹. GC-EI-MS (*t*_R = 20,8 min); *m/z*(%): 41(11), 43(9), 51(6), 65(5), 77(24), 92(9), 103(9), 104(7), 119(4), 129(8), 156(7), 210(100), 211(23), 252(49), 253(M⁺, 61), 254(11).

(C₁₄H₁₅N₅) vyp. složení: 66,38 % C; 5,97 % H; 27,65 % N
exp. složení: 66,23 % C; 5,90 % H; 27,57 % N

***N*-benzyl-9-isopropyl-9*H*-purin-6-amin (10)**

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: purin (6) (90 mg; 0,43 mmol), dimethylsulfoxid (2,6 cm³), uhličitán draselný (178 mg; 1,29 mmol) a 2-jodpropan (394 mg; 2,32 mmol). Čistý produkt byl získán po přečištění sloupcovou chromatografií v systému CHCl₃:MeOH (8:1, v:v) v podobě žlutého krystalického prášku v množství 64 mg (56 %); *t*_i = 116–118 °C.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1,53 (d, *J* = 6,7 Hz, 6H, CH(CH₃)₂); 4,74 (septet, *J* = 6,7 Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 7,20 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H, Ph); 7,26 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H, Ph); 7,33 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H, Ph); 8,22 (s, 1H, NC²HN); 8,25 (s, 1H, NC⁸HN) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 22,2(CH₃); 42,6(CH₂); 46,7(CH); 119,2(C); 126,3(CH); 127,4(CH); 128,2(CH); 138,9(CH); 140,4(C); 148,5(C); 152,1(CH); 153,9(C) ppm. IR (KBr): 3264(w), 2982(w), 1718(w), 1625(s), 1568(m), 1458(w), 1350(m), 1315(m), 1294(m), 1256(w), 1228(m), 1204(w), 933(w), 722(w), 658(w) cm⁻¹. GC-EI-MS (*t*_R = 13,2 min); *m/z*(%): 41(10), 43(8), 65(15), 66(8), 77(9), 79(12), 89(7), 91(41), 92(5), 93(12), 94(6), 106(97), 107(6), 119(15), 120(25), 121(14), 148(7), 162(11), 224(60), 225(21), 266(18), 267(M⁺, 100), 268(19).

(C₁₅H₁₇N₅) vyp. složení: 67,39 % C; 6,41 % H; 26,20 % N

exp. složení: 67,29 % C; 6,46 % H; 26,11 % N

5 SUBSTITUCE PURINOVÝCH SLOUČENIN V POLOZE 9

5.1 Příprava derivátů adamantanu

5.1.1 Syntéza 1-adamantylmethanolu (12)

Trojhrdlá baňka o objemu 500 cm³ byla naplněna 100 cm³ suchého diethyletheru. Do toho bylo opatrně po dávkách přidáno redukční činidlo (Li[AlH₄]) v množství 6,4 g (169 mmol). Reakční směs byla chlazená ledem z důvodu uvolňování vodíku. Následně bylo opět po dávkách přidáváno 10,8 g (59 mmol) adamantan-1-karboxylové kyseliny. Reakční směs byla poté refluxována po dobu 10 hodin. Průběh reakce byl monitorován GC-MS do spotřebování veškeré výchozí látky. Zpracování proběhlo přidáním 8 cm³ H₂O, 8 cm³ 15% roztoku hydroxidu sodného a poté opět H₂O v množství 23 cm³. Vzniklá bezbarvá směs byla přefiltrována, filtrát promyt 5 × 20 cm³ 1,15M roztokem K₂CO₃ a sušena nad Na₂SO₄. Odpařením na RVO byl získán bezbarvý krystalický prášek, který byl následně přečištěn krystalizací z hexanu, za vzniku bezbarvých jehliček v množství 7,3 g (80 %); *t*_f = 117–119 °C.

GC-EI-MS *m/z*(%): 166(M⁺, 4), 136(AdH, 11), 135(Ad, 100), 107(8), 93(19), 91(5), 79(16), 77(4), 67(7), 41(7).

5.1.2 Syntéza 1-(jodmethyl)adamantanu (13)

Do baňky o objemu 100 cm³ bylo přidáno 7,7 g (54 mmol) P₂O₅ a poté 14,1 cm³ (252,6 mmol) H₃PO₄. Tato suspenze byla ponechána míchat za zvýšené teploty. Po rozpuštění veškerého P₂O₅ bylo do vzniklého roztoku přidáno 5,4 g (36,1 mmol) jodidu sodného, reakční směs se z bezbarvé v tomto okamžiku změnila na žlutou. Nakonec byly přidány 3 g (18 mmol) 1-adamantylmethanolu (**12**). Reakční směs byla zahřívána při teplotě 115 °C v olejové lázni pod ochrannou argonovou atmosférou. Po spotřebování veškerého výchozího alkoholu **12** došlo k ukončení a zpracování reakce. Reakční směs byla zředěna 25 cm³ H₂O a extrahována 5 × 15 cm³ diethyletheru. Spojené organické podíly byly promyty 5% vodným roztokem Na₂S₂O₃ v množství 2 × 5 cm³ Na₂S₂O₃, vysušeny nad Na₂SO₄ a odpařeny na RVO. Čistý produkt byl získán v podobě nažloutlých krystalků ve výtěžku 4,4 g (80 %) krystalizací z hexanu; *t*_f = 44–48 °C.

IR (KBr): 2912 (s), 2897 (s), 2926 (s), 2848 (s), 2670 (w), 2667 (w), 1455 (w), 1414 (w), 1365 (w), 1317 (w), 1280 (w), 1263 (w), 1192 (m), 581 (m) cm⁻¹. GC-EI-MS (*m/z*,

%) : 276 (M^+ , 1), 150 (13), 149 ($AdCH_2$, 100), 107 (15), 93 (29), 92 (8), 91 (11), 81 (13), 79 (20), 77 (11), 69 (7), 67 (14), 55 (8), 41 (15).

5.2 Příprava derivátů 2,6-dichlor-9H-purinu

5.2.1 Reakce 2,6-dichlor-9H-purinu s 2-jodpropanem

2,6-Dichlor-9H-purin (100 mg; 0,53 mmol) byl navážen do baňky o objemu 50 cm³ a rozpuštěn v 3 cm³ DMSO. Následně byl přidán 2-jodpropan (486 mg; 2,86 mmol) a K₂CO₃ (219 mg, 1,59 mmol). Reakční teplota byla udržována přidáváním ledu v rozmezí 15–18 °C. Průběh reakce byl monitorován TLC. Po 8 hodinách byla reakční směs zpracována. Reakční směs byla zředěna vodou a následně promyta 6 × 15 cm³ ethylacetátu. Organická fáze byla promyta 3 × 10 cm³ nasyceného roztoku chloridu sodného a spojené organické podíly vysušeny nad Na₂SO₄. Po přečištění sloupcovou chromatografií (CHCl₃:MeOH, 8:1, v:v) byl získán čistý produkt v podobě bezbarvého prášku v množství 62 mg (51 %), $t_r = 149\text{--}151$ °C.

2,6-Dichlor-9-isopropyl-9H-purin (15)

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1,56 (d, $J = 6,7$ Hz, 6H, CH(CH₃)₂); 4,72 (septet, $J = 6,9$ Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 8,28 (s, 1H, NC⁸HN) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 22,5(CH₃); 48,8(CH); 131,1(C); 144,1(CH); 151,6(C); 152,5(C); 153,5(C) ppm. IR (KBr): 3121(w), 2989(w), 1789(w), 1590(s), 1561(s), 1483(m), 1465(m), 1354(s), 1322(m), 1275(m), 1248(s), 1214(s), 1187(m), 1163(s), 1141(m), 963(w), 879(s), 686(w), 645(w) cm⁻¹. GC-EI-MS ($t_R = 12,8$ min); m/z (%): 41(40), 42(9), 43(29), 64(5), 92(15), 106(97), 107(6), 119(15), 120(25), 121(14), 148(7), 153(41), 155(15), 188(100), 189(11), 190(65), 191(7), 192(10), 195(19), 197(6), 215(10), 217(5), 230(M_A⁺(³⁵Cl₂), 33), 231(14), 232(M_B⁺(³⁵Cl+³⁷Cl), 22), 233(8), 234(M_C⁺(³⁷Cl₂)⁺, 4). ESI-MS (pos.) m/z (%): 231,0 [M_A(³⁵Cl₂)+H]⁺ (100); 233,0 [M_B(³⁵Cl+³⁷Cl)+H]⁺ (65); 235,0 [M_C(³⁷Cl₂)+H]⁺ (10); 252,9 [M_A(³⁵Cl₂)+Na]⁺ (23); 254,9 [M_B(³⁵Cl+³⁷Cl)+Na]⁺ (15); 257,0 [M_C(³⁷Cl₂)+Na]⁺ (2).

(C₈H₈Cl₂N) vyp. složení: 41,58 % C; 3,49 % H; 24,25 % N

exp. složení: 41,76 % C; 3,41 % H; 24,11 % N

5.2.2 Reakce 2,6-dichlor-9H-purinu s propan-2-olem

Do baňky o objemu 50 cm³ byl navážen výchozí purin v množství 100 mg (0,53 mmol) a rozpuštěn v 5 cm³ THF. Následně byl přidán isopropanol (127 mg; 2,12 mmol),

trifenylfosfin (278 mg; 1,1 mmol), další množství THF (5 cm³) a pomalu přikapáván diisopropylazodikarboxylát DIAD (215 mg; 1,1 mmol). Průběh reakce byl monitorován TLC a po 24 hodinách byla reakce ukončena a zpracována nalitím reakční směsi na led. Až se vše dobře rozpustilo, vodná fáze byla promyta 5 × 15 cm³ ethylacetátu a spojené organické podíly vysušeny nad Na₂SO₄. Po přečištění sloupcovou chromatografií (PE:EA, 1:1, v:v) a odpaření na RVO, byl získán produkt ve formě bezbarvého krystalického prášku v množství 80 mg (65 %), *t*_t = 148–151 °C.

2,6-Dichlor-9-isopropyl-9H-purin (15)

Spektrální data se shodují s daty uvedenými v kapitole 5.2.1.

5.2.3 Reakce 2,6-dichlor-9H-purinu s 1-adamantylmethanolem

Reakční podmínky byly stejné jako u reakce 2,6-dichlor-9H-purinu s propan-2-olem s následujícími navážkami: 2,6-dichlor-9H-purin (100 mg; 0,53 mmol), 1-adamantylmethanol (**12**) (351,8 mg; 2,1 mmol), PPh₃ (278 mg; 1,1 mmol); DIAD (215 mg; 1,1 mmol) a THF 10 cm³. Po zpracování byl surový produkt přečištěn sloupcovou chromatografií (PE:EA, 1:1, v:v) jako žlutý prášek v množství 89 mg (50 %), *t*_t = 211–215 °C.

2,6-Dichlor-9-(1-adamantylmethyl)-9H-purin (16)

Výsledky ¹H a ¹³C NMR analýz nebyly v okamžiku finalizace rukopisu k dispozici. IR (KBr): 3318(w), 2918(s), 2856(w), 1784(w), 1586(s), 1557(s), 1490(m), 1471(m), 1351(s), 1270(m), 1235(m), 1204(m), 1168(s), 1149(m), 965(w), 872(s), 682(w), 647(w) cm⁻¹. ESI-MS (pos.) *m/z* (%): 337,2 [M_A(³⁵Cl₂)+H]⁺ (100); 339,2 [M_B(³⁵Cl+³⁷Cl)+H]⁺ (64); 341,2 [M_C(³⁷Cl₂)+H]⁺ (17).

(C₁₆H₁₈Cl₂N₄) vyp. složení: 56,98 % C; 5,38 % H; 16,61 % N

exp. složení: 57,13 % C; 5,26 % H; 16,49 % N

5.3 Příprava derivátů 6-chlor-9H-purinu

5.3.1 Reakce 6-chlor-9H-purinu s 2-jodpropanem

Do baňky o objemu 50 cm³ bylo naváženo 100 mg (0,65 mmol) výchozího purinu a přidány 3 cm³ DMSO. Vše bylo dobře rozpuštěno. Následovalo přidání isopropyljodidu (594 mg; 3,5 mmol) a K₂CO₃ v množství 268 mg (1,9 mmol). Reakční směs žluto-zelené barvy byla udržována přidáváním ledu při teplotě 15–18 °C. Průběh reakce byl

monitorován pomocí TLC až do spotřebování veškerého výchozího purinu, což trvalo 8 hodin. Následně byla reakční směs zředěna 15 cm³ destilované vody a promyta 6 × 15 cm³ ethylacetátu. Spojené organické podíly byly dále promyty 3 × 10 cm³ nasyceného roztoku NaCl a vysušeny nad Na₂SO₄. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií s mobilní fází CHCl₃:MeOH (8:1, v:v) a získán ve formě žlutých krystalků v množství 54 mg (42 %), *t*_f = 145–150 °C.

6-Chlor-9-isopropyl-9*H*-purin (17)

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,62 (d, *J* = 6,9 Hz, 6H, CH(CH₃)₂); 4,94 (septet, *J* = 6,9 Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 8,14 (s, 1H, NC⁸HN); 8,76 (s, 1H, NC²HN) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,8(CH₃); 48,2(CH); 132,0(C); 143,3(CH); 148,6(C); 151,1(C); 151,7(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 = 13,5 min); *m/z*(%): 41(31), 42(10), 43(21), 77(6), 92(8), 119(40), 127(10), 134(10), 154(100), 155(17), 156(33), 181(10), 196(M_A⁺(³⁵Cl), 41), 197(5), 198(M_B⁺(³⁷Cl), 12). ESI-MS (pos.) *m/z* (%): 197,0 [M_A(³⁵Cl)+H]⁺ (100); 199,0 [M_B(³⁷Cl)+H]⁺ (33); 219,0 [M_A(³⁵Cl)+Na]⁺ (34); 221,0 [M_B(³⁷Cl)+Na]⁺ (11).

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

exp. složení: 48,90 % C; 4,55 % H; 28,43 % N

5.3.2 Reakce 6-chlor-9*H*-purinu s propan-2-olem

V baňce o objemu 50 cm³ bylo rozpuštěno 100 mg 6-chlor-9*H*-purinu (0,65 mmol) v 5 cm³ THF. Do vzniklého roztoku byl přidán isopropanol (156 mg; 2,59 mmol), trifenyfosfin (339 mg; 1,29 mmol), další množství THF (5 cm³) a pomalu přikapáván diisopropylazodikarboxylát DIAD (262 mg; 1,29 mmol). Reakce probíhala 24 hodin za laboratorní teploty, přičemž její průběh monitorován pomocí TLC. Reakční směs byla nalita na led. Po rozpuštění byla vodná fáze promyta 5 × 15 cm³ ethylacetátu a spojené organické podíly vysušeny nad Na₂SO₄. Po přečištění sloupcovou chromatografií (PE:EA, 1:1, v:v) a odpaření na RVO, byl získán produkt ve formě bezbarvého krystalického prášku v množství 81 mg (63 %), *t*_f = 147–150 °C.

6-Chlor-9-isopropyl-9*H*-purin (17)

Spektrální data se shodují s daty uvedenými v kapitole 5.3.1.

III. VÝSLEDKY A DISKUZE

6 ÚVOD DO DISKUZE

V rámci předložené diplomové práce bylo primárním cílem připravit 2,6-disubstituované purinové sloučeniny, které by svojí strukturou zapadaly do postupně tvořící se série 6,9-disubstituovaných purinů obsahujících v poloze 6 adamantanový motiv, a to díky zavedení řady unikátních a strukturně příbuzných aromatických aminů s adamantanovým skeletem. Syntetické postupy a získané výsledky úzce související s přípravou této skupiny požadovaných sloučenin budou dále diskutovány v kapitole 7.

Vzhledem k částečným komplikacím, k nimž došlo v průběhu syntézy 6,9-disubstituovaných purinů s adamantanovým skeletem (kapitola 7), byla v rámci této diplomové práce, poněkud nečekaně, rozpracována zcela nová tematika, taktéž se dotýkající přípravy purinových sloučenin. Konkrétně se jednalo o ověření možnosti zavést adamantanový motiv do polohy 9 purinového skeletu. Série provedených syntéz týkající se této tematiky bude podrobněji komentována v kapitole 8 tohoto rukopisu.

7 PŘÍPRAVA 6,9-DISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ

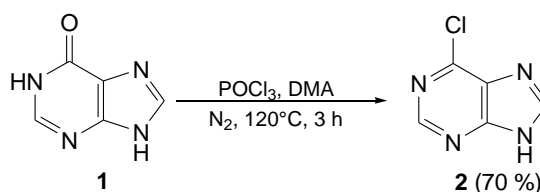
V této kapitole budou diskutovány syntézy, jejichž cílem bylo připravit purinové sloučeniny substituované v poloze 6 a 9. Jedná se tedy o 6,9-disubstituované puriny, které představují relativně zajímavou alternativu k purinům tri- či tetrasubstituovaným. Nejprve byly provedeny reakce s modelovými substituenty, kterými byly benzylamin a anilin. Až poté, co byly tyto syntézy provedeny a optimalizovány, bylo přistoupeno k reakcím, jejichž cílem bylo zavedení aminů s adamantanovým skeletem do polohy 6 purinového kruhu.

7.1 Chlorace hypoxanthinu

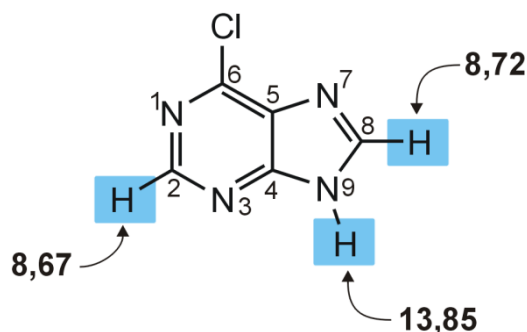
Vzhledem k širokému spektru organických sloučenin, které jsou v současné době komerčně dostupné, není žádným překvapením, že ani 6-chlor-9*H*-purin, který představoval pro tuto práci jednu z klíčových sloučenin, není v tomto ohledu výjimkou. Nicméně, vzhledem k ekonomickým důvodům bylo učiněno rozhodnutí, připravit si požadovaný 6-chlor-9*H*-purin z dostupného prekursoru, kterým byl hypoxanthin.

Chlorace hypoxanthinu (**1**) byla provedena postupem, který byl dříve publikován.² Reakční směs, v níž byl jako zdroj atomu chloru použit chlorid fosforylu a jako báze dimethylanilin, byla míchána pod ochrannou dusíkovou atmosférou při teplotě 120 °C (**Schéma 8**). Surový produkt, získaný po zpracování reakční směsi, byl překrystalizován z methanolu. Požadovaný 6-chlor-9*H*-purin (**2**) byl připraven ve výtěžku 70 %.

Schéma 8



Struktura sloučeniny **2** byla potvrzena pomocí běžných metod strukturní analýzy (NMR, MS a IR). V ¹H-NMR spektru sloučeniny **2** byly pozorovány tři signály, které rezonovaly v oblasti 8,67, 8,72 a 13,85 ppm. Přiřazení pozorovaných signálů jednotlivým atomům vodíku purinu **2**, je znázorněno na **Obrázku 13**. V hmotnostním spektru prvního řádu, které bylo získáno metodou EI-MS, byl jako základní pík pozorován molekulový iont o *m/z* 154 [M_A(³⁵Cl)]⁺, který byl doprovázen iontem o *m/z* 156 [M_B(³⁷Cl)]⁺. Podle očekávání byly tyto ionty v přibližném vzájemném poměru 3:1 typickém pro molekuly obsahující ve své struktuře jeden atom chloru.

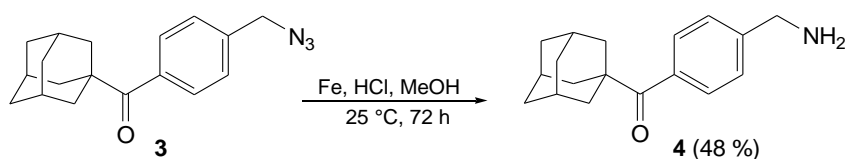


Obrázek 13: Přiřazení $^1\text{H-NMR}$ signálů protonům purinu **2**. (hodnoty jsou uvedeny v ppm)

7.2 Příprava (1-adamantyl)[4-(aminomethyl)fenyl]methanonu

Pro potřeby této práce byly vybrány dva aromatické aminy s adamantanovým skeletem, které měly být zavedeny na C6 purinového kruhu sloučeniny **2**. Vzhledem k provázanosti naší výzkumné skupiny, jejíž někteří členové se zabývají podobnou problematikou, která je předmětem této práce, bylo možné použít pro přípravu aminoketonu **4** jako výchozí sloučeninu azidoketon **3**, který byl v době přípravy této látky dostupný z laboratorních zásob. Tím bylo uspořeno relativně dost času, protože mohla být vynechána radikálová bromace a následná nukleofilní azidace výchozího ketonu, tedy dva syntetické kroky, kterými lze výchozí azidoketon **3** připravit. Redukce azidoskupiny látky **3** na primární aminoskupinu byla provedena pomocí „pentakarbonylového“ železa v 1–2M methanolicke HCl připravené bezprostředně před prováděním samotného experimentu (**Schéma 9**). Reakce byla prováděna za laboratorní teploty, kdy jednotlivé porce železa byly do reakční směsi přidávány do té doby, než TLC indikovala úplné spotřebování výchozího azidoketonu **3**. Požadovaný aminoketon **4** byl, s ohledem na předchozí zkušenosti s tímto typem sloučenin, okamžitě po jeho izolaci ve formě volné báze, převeden na hydrochlorid. Toho bylo docíleno zaváděním suchého plynného chlorovodíku do roztoku sloučeniny **4** (ve formě volné báze) v methanolu. Struktura aminoketonu **4** byla potvrzena metodami strukturní analýzy, jako např. NMR, IR a MS.

Schéma 9

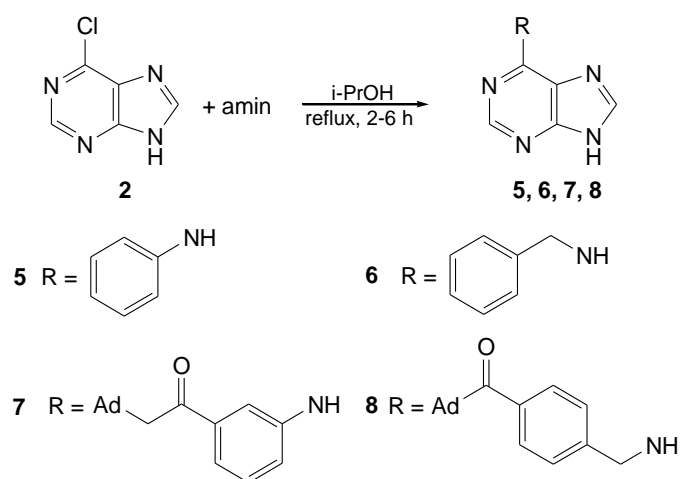


7.3 Nukleofilní aromatická substituce 6-chlor-9H-purinu na C6

Při substitucích výchozí purinu **2** byl, na základě předchozích zkušeností, zvolen postup, v němž je nejprve provedena nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze 6 purinového kruhu a poté je zaveden příslušný substituent (zpravidla shodný pro celou sérii uvažovaných sloučenin) do polohy 9.

Cílem tohoto kroku bylo tedy navázat příslušné aromatické aminy do polohy 6 purinového skeletu. Nejdříve byly provedeny reakce sloučeniny **2** s benzylaminem a anilinem, jakožto modelovými substituenty. Důvodem pro použití těchto dvou modelových substituentů byla skutečnost, že v rámci této práce byly dále použity jak „anilinové“ tak „benzylaminové“ aminy s adamantanovým skeletem. Bylo tedy vhodné ověřit reaktivitu obou skupin aromatických aminů vzájemně se lišících svoji nukleofilitou (benzylamin je nukleofilnější než anilin). Jednotlivé reakce byly prováděny v prostředí propan-2-olu, kdy jednotlivé aminy byly používány ve dvoumolárním přebytku (vůči výchozímu purinu **2**). Průběh reakcí byl monitorován pomocí chromatografie na tenké vrstvě. Sérii provedených reakcí ukazuje **Schéma 10**.

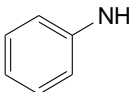
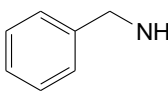
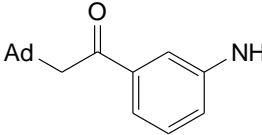
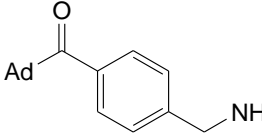
Schéma 10



Po ukončení reakce, jejím zpracování a purifikaci surového produktu byly získány požadované sloučeniny **5–8**. Zatímco výtěžek sloučeniny **6** byl velmi dobrý, u ostatních látek, a zejména pak u purinů obsahujících na C6 aromatické aminy s adamantanovým skeletem, byly výtěžky velmi nízké (20 % pro purin **7** a 22 % pro purin **8**). Přehled provedených reakcí, jejich celkové délky a výtěžky, v nichž byly jednotlivé látky získány,

je znázorněn v **Tabulce 1**. Struktura sloučenin **5–8** byla potvrzena pomocí metod strukturní analýzy (NMR, IR, MS).

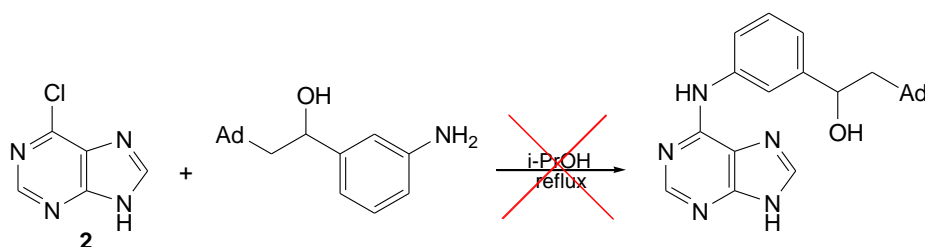
Tabulka 1: Nukleofilní aromatická substituce na C6 purinu **2** (Schéma 10).

Experiment	R	Čas [h]	Produkt	Výtěžek [%]
I		5	5	37
II		2	6	63
III		6	7	20
IV		3	8	22

V protonových spektrech sloučenin **5–8** byly, v porovnání s výchozím purinem **2**, pozorovány „nové“ signály indikující změnu struktury sloučeniny **2**. V případě všech připravených sloučenin (**5–8**) byly pozorovány signály rezonující v „aromatické“ oblasti 6,97–8,13 ppm a které tak byly přiřazeny atomům vodíku z fenylového kruhu. V protonových spektrech sloučenin **7** a **8** pak byly pozorovány signály v oblasti 1,65–2,03 ppm, jejichž integrací bylo zjištěno, že obsahují 15 atomů vodíku. Z našich zkušeností byly tyto signály přiřazeny atomům vodíku CH₂ a CH pocházejících z adamantanového skeletu. K potvrzení struktury sloučenin **7** a **8** napomohly také provedené ESI-MS analýzy. Ve spektrech prvního řádu získaných v pozitivním skenovacím módu byly u obou zmíněných sloučenin pozorovány signály o *m/z* 388 a 410 odpovídající protonované molekule [M+H]⁺, respektive sodnému aduktu [M+Na]⁺ sloučenin **7** a **8**.

Proveden byl rovněž pokus o zavedení 2-(1-adamantyl)-1-(3-aminofenyl)ethan-1-olu do polohy 6 purinu **2** (**Schéma 11**). Výchozí aminoalkohol byl získán z laboratorních zásob. Ačkoliv byl podle TLC spotřebován veškerý výchozí aminoalkohol, tak namísto požadované sloučeniny byla získána velmi komplikovaná směs látek, jejíž rozdělení nebylo ani při použití opakované sloupcové chromatografie úspěšné.

Schéma 11

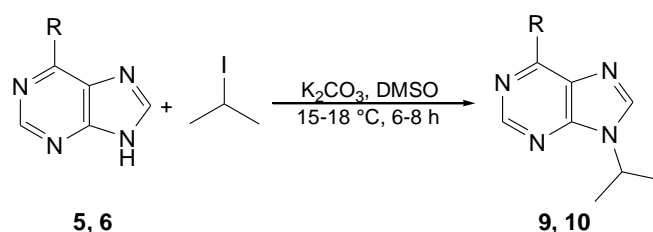


7.4 Alkylace 6-,,amino“-9H-purinů na N9

Poté co byla úspěšně připravena série purinových sloučenin substituovaných v poloze C6 bylo přistoupeno k dalšímu kroku, a to k navázání nepolárního alifatického substituentu (isopropylu) do polohy N9. Vzhledem ke skutečnosti, že sloučeniny **7** a **8** byly v prvním syntetickém kroku získány ve velmi malých množstvích a prekuzory nezbytné pro přípravu odpovídajících aromatických aminů s adamantanovým skeletem nebyly dostupné, byly provedeny další reakce pouze s puriny **5** a **6**.

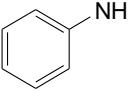
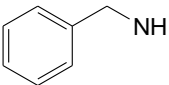
Jako zdroj isopropylového substituentu byl použit odpovídající alkyl halogenid, a sice 2-jodpropan. Reakce, jejichž průběh je ilustrován na **Schématu 12**, probíhaly v prostředí dimethylsulfoxidu a K_2CO_3 jako báze.

Schéma 12



Poté, co analýza TLC indikovala spotřebování veškerého výchozí purinu, byla reakční směs zpracována a získaný surový produkt přečištěn pomocí sloupcové chromatografie ($CHCl_3$:MeOH, 8:1, v:v). Požadované sloučeniny byly získány ve velmi vysoké čistotě a uspokojivých výtěžcích. Délku obou provedených reakcí a výtěžky, v nichž byly požadované sloučeniny získány, shrnuje **Tabulka 2**.

Tabulka 2: Alkylace „6-amino-9*H*-purinů na N9 (Schéma 11).

Experiment	Výchozí látka	R	Čas [h]	Produkt	Výtěžek [%]
I	5		8	9	44
II	6		6	10	56

Tak jako u všech předchozích sloučenin, tak také v případě purinů **9** a **10** byla struktura těchto látek potvrzena pomocí běžně používaných metod strukturní analýzy (NMR, IR a GC-MS). V ¹H-NMR spektrech sloučenin **9** a **10** byly pozorovány dvě sady signálů, které prokazovaly navázání isopropylového substituentu do struktury výchozích purinů **5** a **6**. Zatímco signály odpovídající atomům vodíku CH(CH₃)₂ rezonovaly v oblasti 1,64 ppm (purin **9**) a 1,53 ppm (purin **10**), tak signály pocházející z atomu vodíku CH(CH₃)₂ rezonovaly v oblasti 4,87 (purin **9**) a 4,74 (purin **10**). V případě GC-MS analýzy byly v hmotnostních spektrech prvního řádu pozorovány kationradikálové ionty ([M]⁺), jejichž hodnoty *m/z* odpovídaly hodnotám molekulových hmotností sloučeniny **9** (253 *m/z*) a sloučeniny **10** (267 *m/z*).

8 SUBSTITUCE PURINOVÝCH SLOUČENIN V POLOZE N9

Vzhledem ke skutečnosti, že reakce komentované v předchozí kapitole byly doprovázeny určitými komplikacemi, zejména pak v případě syntéz vedoucích k přípravě sloučenin obsahujících ve své molekule adamantanový motiv, bylo učiněno rozhodnutí pokusit se o přípravu purinových sloučenin obsahujících adamantanový skelet v poloze 9, namísto polohy 6.

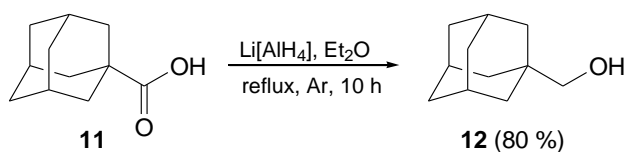
Ve své první části je tato kapitola zaměřena na přípravu výchozích látek, a to derivátů adamantanu, použitých k následným reakcím, za účelem jejich zavedení do polohy 9 purinového kruhu. Následně budou komentovány reakce, jejichž cílem bylo připravit 6,9-disubstituované a 2,6,9-trisubstituované puriny na bázi adamantanu.

8.1 Příprava jednoduchých derivátů adamantanu

Od počátku bylo uvažováno o tom, že bude do polohy 9 purinového kruhu zaváděn vysoce nepolární adamantanový substituent, a sice 1-adamantylmethyl. Stejně jako v případě alkylací 6-, „amino“-9H-purinů (látky **5** a **6**) popisovaných v předchozí části této práce, kdy byl jako zdroj nepolárního alifatického substituentu na N9 použit odpovídající alkyl halogenid, bylo rozhodnuto o stejném postupu i při přípravě purinů obsahujících 1-adamantyl v poloze 9 purinového kruhu.

Požadovaný 1-(jodmethyl)adamantan (**13**) byl připraven pomocí dvoustupňové syntézy vycházející z komerčně dostupné adamantan-1-karboxylové kyseliny (**11**). Ta byla v první kroku zredukována pomocí silného redukčního činidla ($\text{Li}[\text{AlH}_4]$) na 1-adamantylmethanol (**12**). Reakce probíhala v prostředí bezvodého diethyletheru, vysušeného bezprostředně před samotnou reakcí (**Schéma 13**). Doba reakce činila 10 hodin a její průběh byl monitorován odebráním vzorků a jejich postupným analyzováním metodou GC-MS. Surový produkt byl přečištěn krystalizací z hexanu, čímž byla získána požadovaná látka **12** ve vysoké čistotě a výtěžku 80 %.

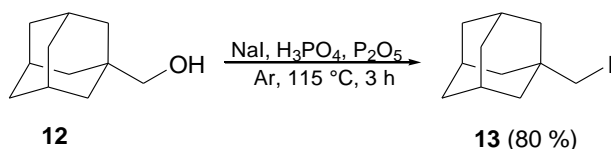
Schéma 13



Příprava 1-(jodmethyl)adamantanu (**13**) vycházela z předešle připraveného 1-adamantylmethanolu (**12**). Reakce probíhala v kyselém prostředí pod ochrannou argonovou atmosférou při teplotě 115 °C, přičemž zdrojem halogenidu byl jodid sodný (Schéma 14). Požadovaný jod derivát **13** byl získán v 80% výtěžku, kdy surový produkt byl překrystalizován z hexanu. Průběh reakce byl, stejně jako v případě přípravy alkoholu **12**, monitorován metodou GC-MS.

Vzhledem k tomu, že sloučeniny **12** a **13** patří mezi látky, které jsou v naší výzkumné skupině připravovány relativně často, k potvrzení jejich struktury byla dostačujícím důkazem naměřená hmotnostní spektra, jež byla porovnána s databází hmotnostních spekter NIST 02.

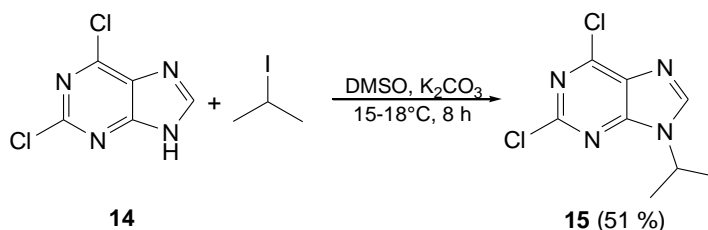
Schéma 14



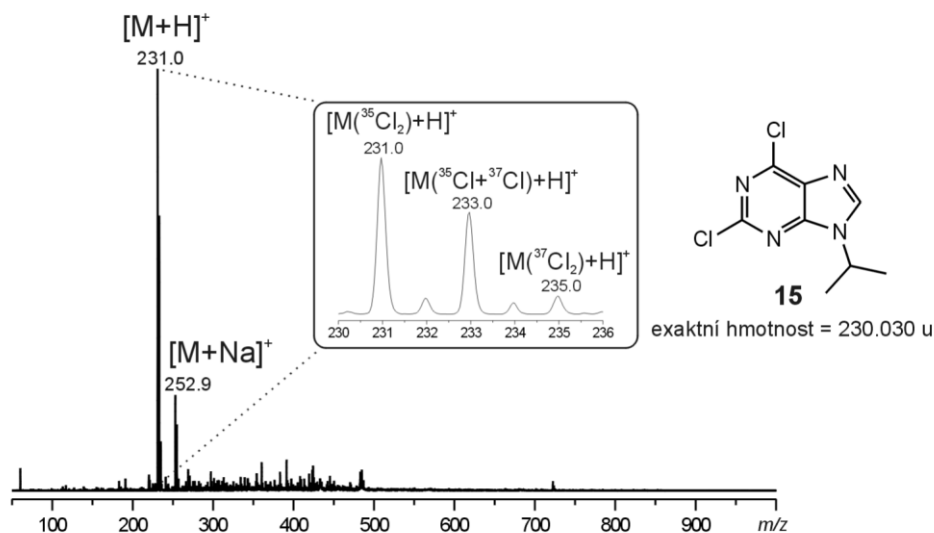
8.2 Reakce vedoucí k přípravě 2,6,9-trisubstituovaných purinů

Výchozí látkou pro tyto reakce byl komerčně dostupný 2,6-dichlor-9H-purin (**14**). Jak je uvedeno výše, byla nejprve vyzkoušena alkylace alkyl halogenidu na N9 purinového kruhu. Přesto, že se jedná o relativně jednoduchou reakci, kterou autorka této práce již několikrát dělala s 6-, „amino“-9H-puriny **5** a **6**, bylo rozhodnuto provést nejprve modelovou reakci se substituentem, který neobsahuje adamantanový skelet. Jako modelová látka byl vybrán již ověřený 2-jodpropan. Reakce probíhala za stejných podmínek jako v předchozích případech, tedy v dimethylsulfoxidu jako rozpouštědla a uhličitanu draselného jako báze. Poté, co byl spotřebován veškerý výchozí purin **14**, byla reakční směs zpracována a surový produkt přečištěn pomocí sloupcové chromatografie. Požadovaný produkt **15** byl získán ve výtěžku 51 %.

Schéma 15



Struktura purinu **15** byla potvrzena pomocí běžně používaných metod strukturní analýzy (NMR, IR, MS). Na tomto místě, a v průběhu celé této kapitoly, budou blíže komentovány výsledky získané pomocí ESI-MS analýz.

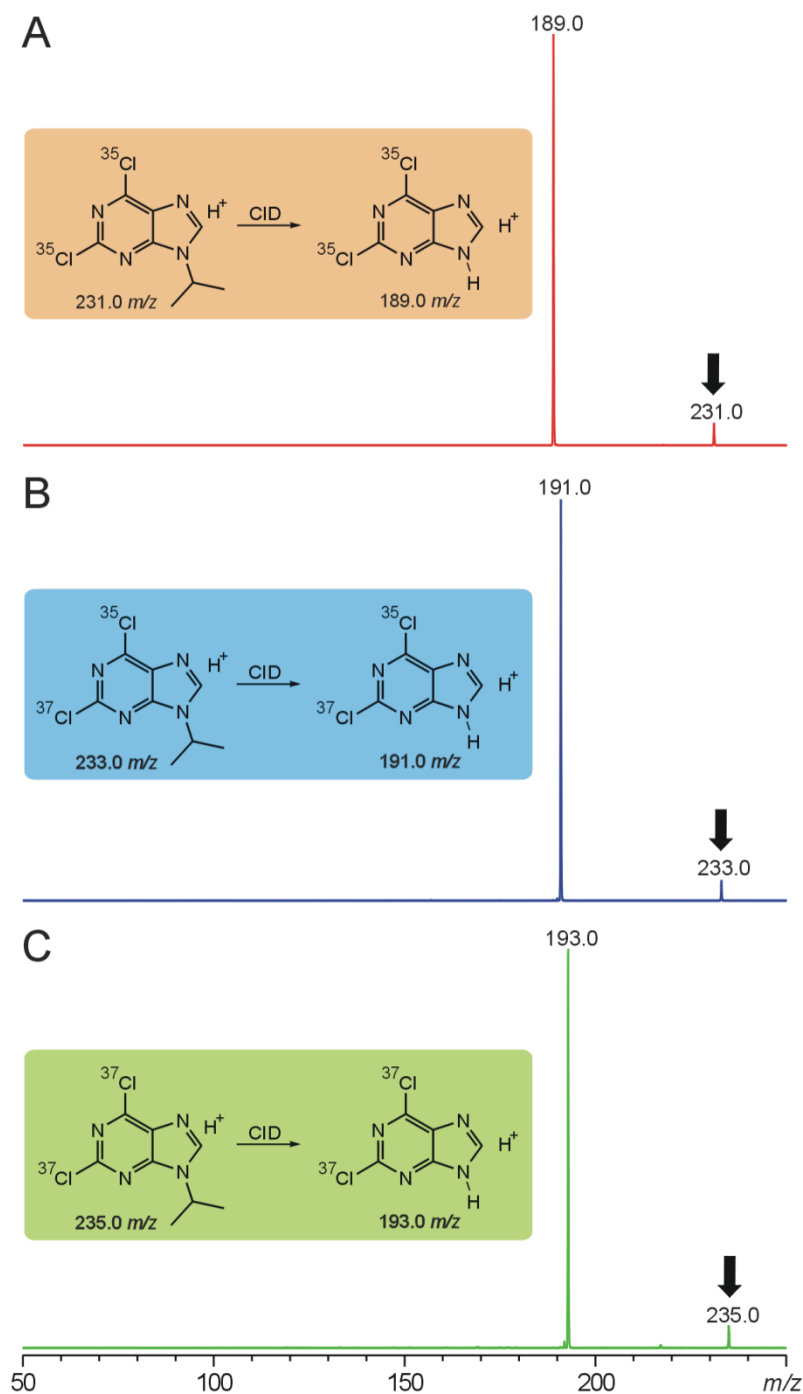


Obrázek 14: ESI-MS spektrum sloučeniny **15**.

Na **Obrázku 14** je znázorněno hmotnostní spektrum prvního řádu purinu **15** získané metodou ESI-MS. Ve spektru byl jako dominantní pozorován jedenkrát nabitý signál o m/z 231 odpovídající protonované molekule $[M+H]^+$. Tento iont byl doprovázen signálem větším o 22 m/z , který byl určen jako sodný adukt látky **15** $[M+Na]^+$. Na tomto obrázku je rovněž zobrazen detail molekulového klastru iontu $[M+H]^+$ sestávající ze tří významných maxim s hodnotami m/z 231 $[M_A(^{35}\text{Cl}_2)+H]^+$, m/z 233 $[M_B(^{35}\text{Cl}+^{37}\text{Cl})+H]^+$ a m/z 235 $[M_C(^{37}\text{Cl}_2)+H]^+$. Nejen rozdíl hodnot m/z mezi jednotlivými signály nacházejícími se v tomto molekulovém klastru, ale také jejich vzájemný poměr (9:6:1), jsou dostatečným důkazem pro to, že se ve struktuře sloučeniny **15** nachází dva atomy chloru. Pro potvrzení struktury sloučeniny **15**, ale také s ohledem na studium jejího chování v plynné fázi, byla dále provedena izolace iontu $[M+H]^+$ a jeho následná fragmentace za podmínek kolizí indukované disociace (CID; z angl. collision-induced dissociation). ESI-MS/MS spektra získaná fragmentací iontů o m/z 231, 233 a 235 jsou uvedena na **Obrázku 15**.

Jak je z jednotlivých ESI-MS/MS spekter patrné, všechny tři fragmentované ionty se chovaly naprosto stejně, přičemž v průběhu jejich fragmentace došlo k neutrální ztrátě částice C_3H_6 (m/z 42) za vzniku protonovaného 2,6-dichlorpurinu s izotopovým zastoupením atomů chloru odpovídajícímu nekurzorovému iontu. To znamená, že v případě iontu o m/z 231 došlo neutrální ztrátou C_3H_6 ke vzniku jedenkrát nabitého iontu

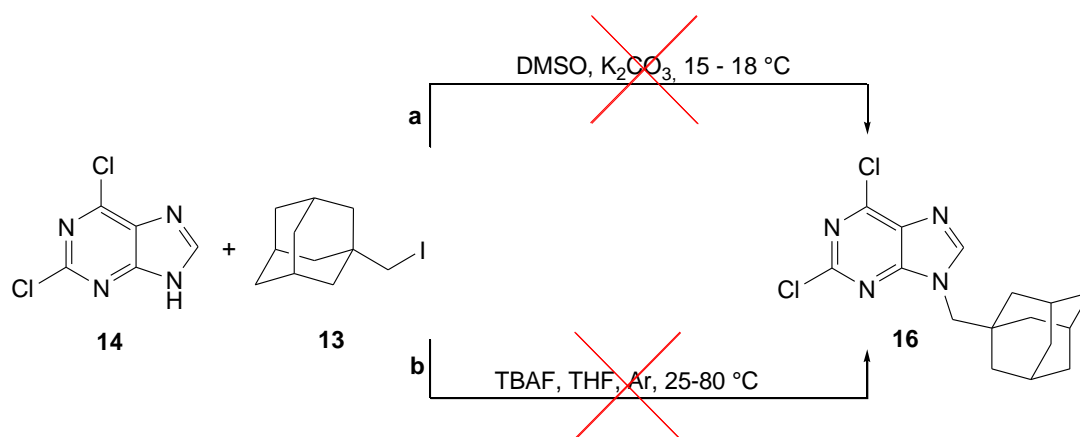
o m/z 189 (Obrázek 15A). Fragmentace iontů o m/z 233 (Obrázek 15B) a o m/z 235 (Obrázek 15C) probíhala analogicky.



Obrázek 15: ESI-MS/MS spektra iontu $[\text{M}+\text{H}]^+$ sloučeniny 15.

Po potvrzení úspěšné přípravy purinu 15 bylo přistoupeno k pokusu o syntézu purinového derivátu za použití 1-(jodmethyl)adamantanu (13). Nejprve byla provedena reakce za stejných podmínek jako v případě přípravy látky 15. Nicméně, ani po

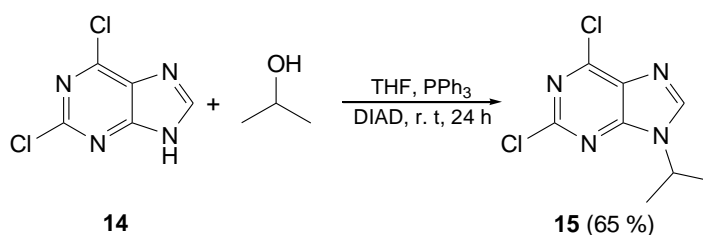
24 hodinách nebyl v reakční směsi pozorován vznik žádné látky, přičemž TLC analýza naznačovala, že se v reakční směsi nachází pouze nezreagovaný výchozí purin **14**. Ten byl také jako jediná látka z reakční směsi později izolován. Z tohoto důvodu bylo přistoupeno ke druhé reakci, kde byl jako katalyzátor fázového přenosu použit tetrabutylamonium-fluorid (TBAF). Bohužel, ani tomto případě nebyl zaznamenán žádný posun směrem k požadovanému produktu, tedy sloučenině **16**. Obě provedené syntézy jsou znázorněny na **Schématu 16**.

Schéma 16

Vzhledem k výše uvedenému byla vyzkoušena další metoda vedoucí k přípravě požadované látky, a to za pomoci Mitsunobova couplingu,⁵ v němž je jako reaktant, namísto alkyl halogenidu, používán alkohol. Pro ověření a optimalizaci reakčních podmínek byl nejprve, jako modelový substituent, použit propan-2-ol.

Reakce uvedená na **Schématu 17** ukazuje, že byla prováděna za laboratorní teploty v přítomnosti trifenylofosfinu (2 ekviv.) a diisopropylazodicarboxylátu (DIAD, 2 ekviv.) v prostředí bezvodého tetrahydrofuranu (THF), přičemž propan-2-ol byl použit ve 4 molárním přebytku vůči výchozímu purinu. Po 24 hodinách byla reakce ukončena (monitorováno pomocí TLC) a reakční směs zpracována. Po přečištění surového produktu pomocí sloupcové chromatografie byl požadovaný produkt získán ve formě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 65 %. Spektrální data produktu získaného pomocí Mitsunobova couplingu odpovídala požadované sloučenině **15**.

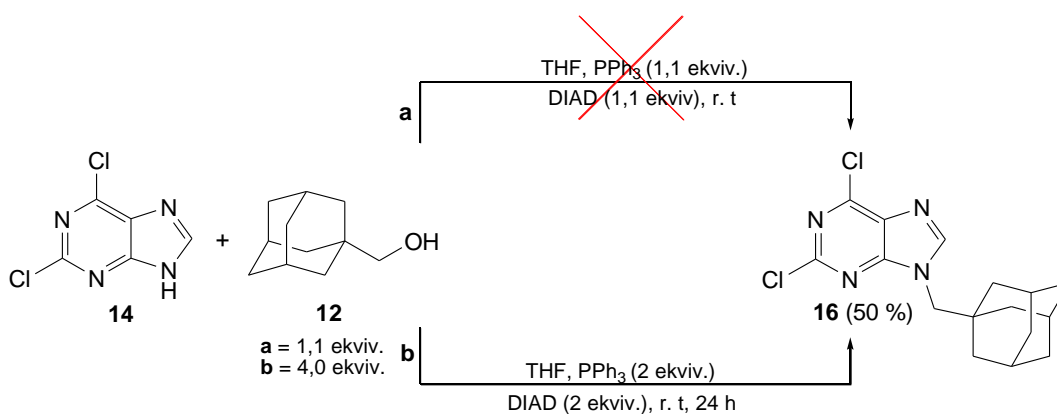
Schéma 17

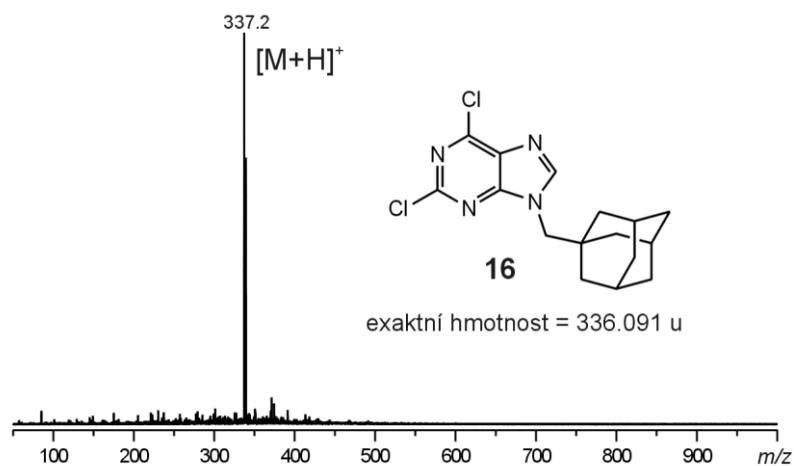


S ohledem na výsledek výše komentované modelové reakce, byl proveden pokus o přípravu sloučeniny **16** za stejných či obdobných podmínek. Vzhledem k tomu, že se v této reakci používá alkohol v 4 molárním přebytku vůči výchozímu purinu **14**, bylo nejprve vyzkoušeno (s ohledem na ekonomické důvody a cenu 1-adamantylmethanolu), zda je možné tuto reakci uskutečnit také s menším přebytkem 1-adamantylmethanolu (**Schéma 18a**). Bohužel, tento předpoklad se nepotvrdil a tak bylo přistoupeno k provedení reakce za analogických podmínek, jako jsou uvedeny na **Schématu 17**.

Reakce tedy opět probíhala v prostředí bezvodého tetrahydrofuranu, vysušeného bezprostředně před začátkem reakce, trifenylofosfinu a diisopropylazodicarboxylátu, který bylo nutné do reakce přidávat pomalu a po kapkách. Reakce uvedená na **Schématu 18b** probíhala za laboratorní teploty po dobu 24 hodin a po přečištění sloupcovou chromatografií byl získán produkt v uspokojivém výtěžku 50 %. Struktura této látky byla v okamžiku finalizace tohoto rukopisu potvrzena především díky výsledkům získaných z ESI-MS analýzy.

Schéma 18

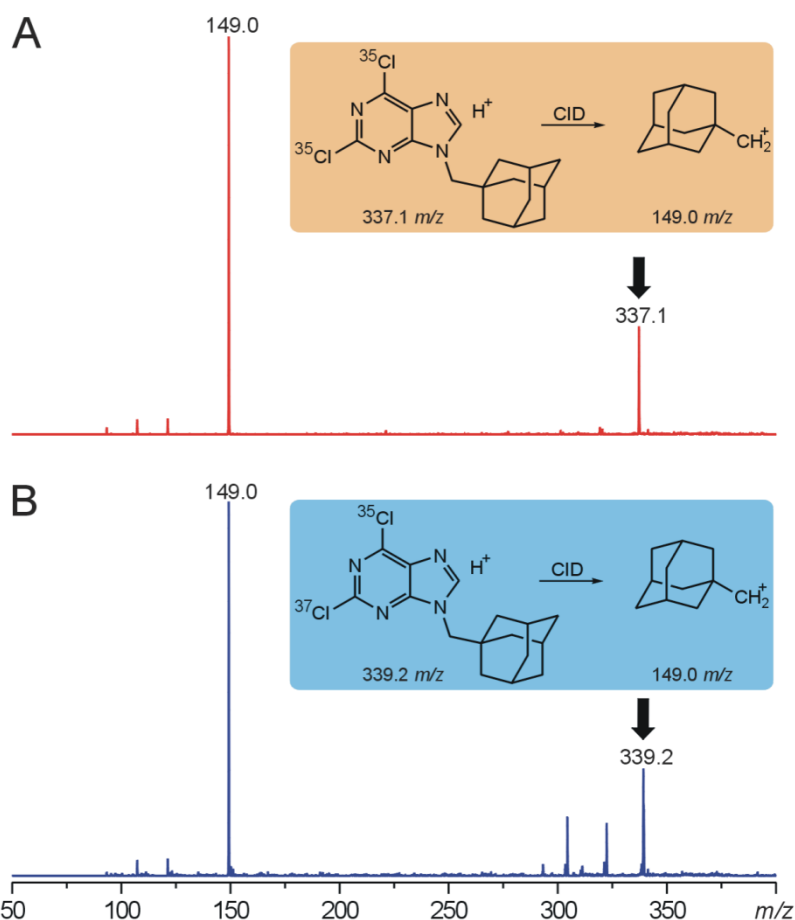




Obrázek 16: ESI-MS spektrum sloučeniny **16**.

Z **Obrázku 16** je patrné, že jediným pozorovaným signálem ve spektru prvního řádu purinu **16** byl iont o m/z 337 odpovídající protonované molekule této sloučeniny. Skutečnost, že tento iont není doprovázen žádnými aduktovými ionty (Na^+ , K^+) lze vysvětlit tak, že do vzorku bylo před samotným měřením přidáno 5 μl kyseliny mravenčí. Důvodem byla skutečnost, že bez přidání kyseliny mravenčí byl signál o m/z 337 ve spektru prvního řádu sice pozorován, ale v relativně nízké intenzitě. Přidání kyseliny mravenčí do analyzovaného vzorku mělo za cíl zvýšit v systému počet atomů vodíku, s nimiž by mohla analyzovaná molekula interagovat. Zároveň tím byl potlačen vznik aduktových iontů. Molekulový klastř sestával, stejně jako v případě sloučeniny **15**, ze tří iontů vzájemně se lišících o 2 m/z a v poměru indikujícím přítomnost dvou atomů chloru v molekule. Jednalo se o signály o m/z 337 [$\text{M}_A(^{35}\text{Cl}_2)+\text{H}$] $^+$, m/z 339 [$\text{M}_B(^{35}\text{Cl}+^{37}\text{Cl})+\text{H}$] $^+$ a m/z 341 [$\text{M}_C(^{37}\text{Cl}_2)+\text{H}$] $^+$. Struktura sloučeniny **16** byla potvrzena pomocí následně provedených ESI-MS/MS experimentů (**Obrázek 17**). Zatímco izolace a následná fragmentace iontů o m/z 337 a 339 byla úspěšná, pak v případě iontu o m/z 441 se tento nepodařilo, pravděpodobně z důvodu jeho nízké intenzity, vyizolovat.

Z **Obrázku 17** je opět patrné, že oba fragmentované signály, tedy 337 a 339 m/z , se chovaly naprosto totožně. Zajímavější ovšem je skutečnost, že na rozdíl od fragmentace iontu [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ purinu **15**, kdy docházelo k neutrální ztrátě částice C_3H_6 (**Obrázek 15**), byla v případě fragmentace iontu [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ purinu **16** pozorována naprosto odlišná fragmentační dráha. Docházelo sice k destrukci kovalentní vazby na stejném místě, tedy mezi atomem dusíku N9 purinového kruhu a atomem uhlíku na něj navázaného substituentu, ale s poněkud odlišným typem vznikajícího iontu. Tím byl v tomto případě jedenkrát nabitý iont o m/z 149, který byl určen jako adamantylmethyl.



Obrázek 17: ESI-MS/MS spektra iontu $[M+H]^+$ sloučeniny **16**.

Závěrem této kapitoly je na místě uvést, že úspěšná příprava sloučeniny **16** otevírá možnosti další syntézy v polohách 2 a 6 purinového kruhu, kde mohou být navázány stericky méně objemné substituenty. Zároveň pak tato látka představuje zajímavou alternativu k látkám podobného typu, obsahujícím na N9 isopropyl, které byly doposud v naší výzkumné skupině syntetizovány.

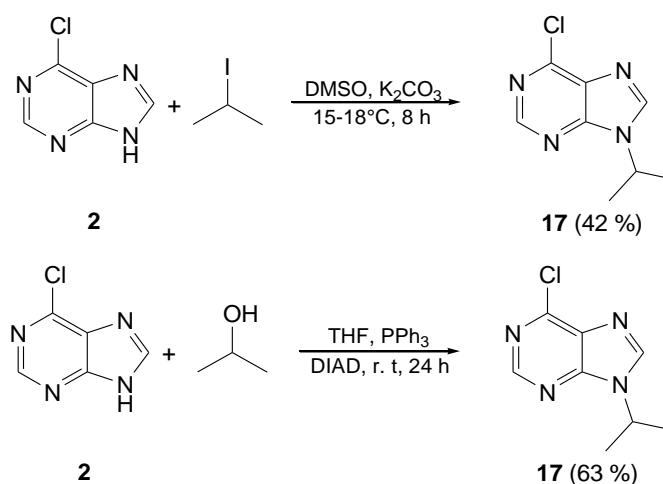
8.3 Příprava 6,9-disubstituovaných purinů

Z důvodu potvrzení fungování reakcí, provedených v předchozí kapitole, bylo přistoupeno k rozšíření série vzniklých látek o 6,9-disubstituované. V následně komentovaných reakcích se vycházelo z dříve připraveného 6-chlor-9H-purinu (**2**).

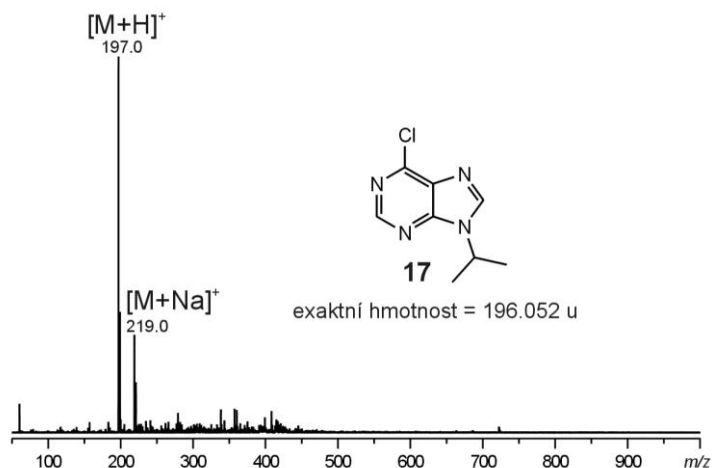
V prvním kroku bylo tedy nejdříve potřeba si ověřit, zda postupy vyzkoušené na 2,6-dichlor-9H-purinu, bude možné aplikovat i u 6-chlor-9H-purinu. Proto byly nejprve opět prováděny opět modelové reakce, s použitím 2-jodpropanu a propan-2-olu jakožto reaktantů. Jak je patrné ze **Schématu 19**, tak obě použité metody, tedy jak alkylace 2-

jodpropanu, tak Mitsunobův coupling propan-2-olu, byly úspěšné. Zatímco sloučenina **17** připravená pomocí alkylace byla získána ve výtěžku 42 %, tak tatáž látka připravená Mitsunobovým couplingem byla vyizolována ve výtěžku 63 %. Získané výsledky jsou ve vzájemné shodě s výsledky získanými při syntézách, v nichž jako výchozí látka vystupoval 2,6-dichlor-9*H*-purin. Struktura sloučeniny **17** byla opět potvrzena pomocí běžně používaných metod strukturní analýzy, přičemž níže budou opět komentována naměřená ESI-MS spektra.

Schéma 19

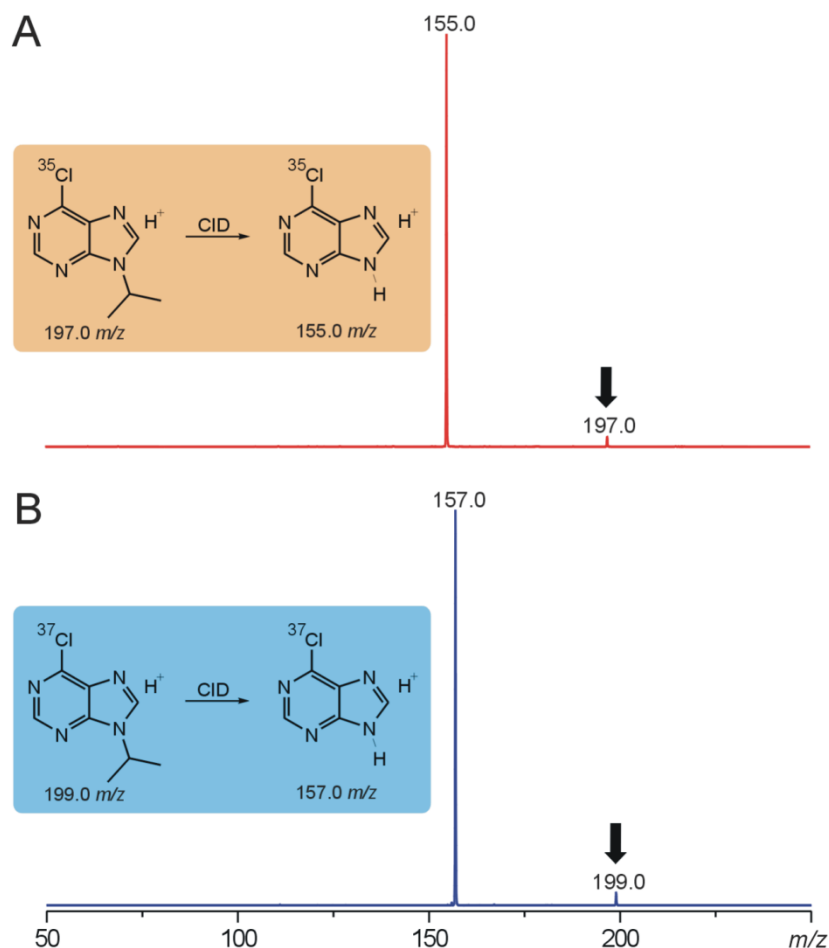


Stejně jako v případě doposud komentovaných ESI-MS spekter připravených sloučenin, byl také ve spektru prvního řádu purinu **17** (Obrázek 18) pozorován jako dominantní signál o m/z odpovídající protonované molekule $[\text{M}+\text{H}]^+$. Tento signál byl doprovázen sodným aduktem $[\text{M}+\text{Na}]^+$ o hodnotě m/z 219. V případě obou pozorovaných iontů byl molekulový klastř tvořen dvěma signály lišícími se o 2 m/z , kdy jejich vzájemný poměr byl v přibližném poměru 3:1, což je typické pro molekuly obsahující jeden atom chloru.



Obrázek 18: ESI-MS spektrum sloučeniny **17**.

Fragmentační cesta pozorovaná u iontu $[M+H]^+$ sloučeniny **17** se shoduje s fragmentací iontu $[M+H]^+$ pozorovanou u sloučeniny **15**. Je zde tedy patrný vliv substituentu vázaného na N9 purinového skeletu na typ ionty produkovaných během ESI-MS/MS analýz připravených látek. Fragmentace iontů o m/z 197 a 199 je uvedena na **Obrázku 19**.

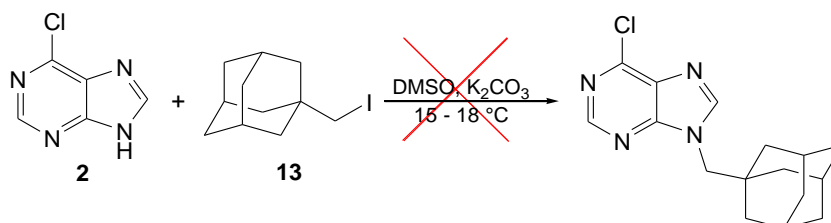


Obrázek 19: ESI-MS/MS spektra iontu $[M+H]^+$ sloučeniny **17**.

V návaznosti na úspěšně provedené reakce 6-chlor-9H-purinu (**2**) s modelovými reaktanty byly uskutečněny reakce purinu **2** s 1-(jodmethyl)adamantylem (**13**) a 1-adamantylmethanolem (**12**).

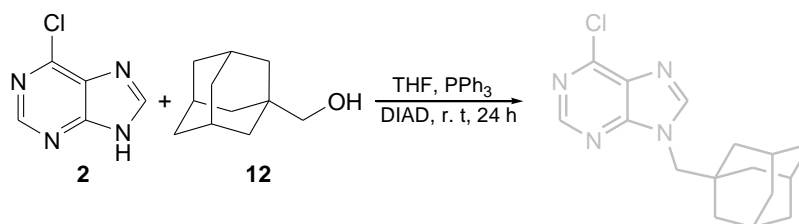
Alkylace jod derivátu **13** do polohy 6 sloučeniny **2**, která je znázorněna na **Schématu 20**, byla, stejně jako v předchozím případě, neúspěšná, přičemž z reakční směsi byl také v tomto případě vyizolován pouze výchozí purin.

Schéma 20



Posledním experimentem, který byl v rámci této diplomové práce uskutečněn, byla reakce purinu **2** s 1-adamantylmethanolem (**12**), jak ukazuje **Schéma 20**. Reakce opět probíhala v prostředí bezvodého tetrahydrofuranu, s použitím trifenylofosfinu a diisopropylazodikarboxylátu za laboratorní teploty. Ačkoliv podle TLC analýzy došlo ke spotřebování výchozího purinu **2**, nelze, s ohledem na skutečnost, že v současné době nejsou k dispozici žádná spektrální data (produkt prozatím nebyl přečištěn), s jistotou říci, zda byl požadovaný produkt připraven, či nikoliv.

Schéma 20



ZÁVĚR

Hlavním cílem předložené diplomové práce bylo provést sérii experimentů s cílem připravit 2,6-disubstituované a/nebo 2,6,9-trisubstituované puriny s využitím struktury adamantanu a jeho navázáním do polohy 6 nebo 9 purinového skeletu. Veškeré sloučeniny byly charakterizovány běžnými metodami strukturní analýzy jako je spektroskopie nukleární magnetické rezonance, hmotnostní či infračervená spektrometrie.

Nejdříve bylo nutné připravit výchozí 6-chlor-9*H*-purin (**2**) pro následné reakce, jehož syntéza vychází z komerčně dostupného hypoxanthinu (**1**). Atom chloru v poloze 6 purinového skeletu byl následně nahrazen příslušnými aminy, za vzniku látek **5–8**. Látky **5** a **6** byly dále použity k reakci s 2-jodpropanem, prováděné v prostředí dimethylsulfoxidu a uhličitanu draselného jako báze při teplotě 15–18 °C, za vzniku látek **9** a **10**. Vzhledem k tomu, že zavádění vybraných aromatických aminů s adamantanovým skeletem do polohy 6 purinového kruhu se ukázalo jako problematické, bylo od tohoto typu reakcí ustoupeno a pozornost byla soustředěna na možné zavádění 1-adamantylu do polohy N9 purinového skeletu.

V první řadě byl připraven 1-adamantylmethanol (**12**) redukcí adamantan-1-karboxylové kyseliny (**11**). Z 1-adamantylmethanolu (**12**) byl následně připraven 1-(jodmethyl)adamantan (**13**).

Následovala série reakcí, jejichž cílem bylo zavedení substituentů do polohy N9 purinového kruhu 2,6-dichlor-9*H*-purinu (**14**). Nejdříve byla vhodnost zvoleného postupu ověřena při reakci purinu **14** s 2-jodpropanem za vzniku sloučeniny **15**. Poté již bylo přistoupeno k reakci sloučeniny **14** s 1-(jodmethyl)adamantanem (**13**). Provedené reakce nevedly k požadovanému cíli, přestože byly vyzkoušeny různé reakční podmínky – v prostředí dimethylsulfoxidu a uhličitanu draselného při teplotách 15–18 °C a nebo v prostředí bezvodého tetrahydrofuranu a tetrabutylamonium-fluoridu při různém teplotním gradientu (laboratorní teplota až záhřev při 80 °C pod ochrannou argonovou atmosférou). Proto bylo přistoupeno k dalšímu typu reakce, kterým je možné uvažované sloučeniny připravit, a sice k Mitsunobovu couplingu. Nejprve byla tato reakce vyzkoušena s propan-2-olem, přičemž požadovaná látka byla získána ve výtěžku 65 %. Vzhledem k tomu bylo přistoupeno k reakci purinu **14** s 1-adamantylmethanolem (**12**), přičemž požadovaná sloučenina **16** byla získána ve výtěžku 50 %.

Stejný typ reakcí byl prováděn také za použití 6-chlor-9*H*-purinu (**2**) jako výchozí látky. Úspěšné byly reakce, ve kterých purin **2** reagoval s 2-jodpropanem nebo propan-2-olem, za vzniku 6-chlor-9-isopropyl-9*H*-purinu (**17**). Reakce purinu **2** se sloučeninou **13** požadovaný produkt neposkytovaly. Jako poslední byla provedena reakce purinu **2** se sloučeninou **12**, přičemž TLC analýza poukazovala na spotřebování výchozí sloučeniny. Nicméně doposud nebyla provedena purifikace surového produktu pomocí sloupcové chromatografie a nejsou tak dispozici spektrální data na základě nichž, by bylo možné konstatovat, zda byla požadovaná látka připravena či nikoliv.

Při tvorbě této diplomové práce byla vyzkoušena řada postupů a jejich obměn, které mnohdy nepřinesly kýžené výsledky, ale daly nám nahlédnout, kterými cestami se dále ubírat a kterými nikoliv. Za nejvýznamnější výsledek, v pozitivním slova smyslu, lze považovat syntézu sloučeniny **16** obsahující adamantanový skelet v poloze 9 purinového kruhu. Tato látka bude zcela určitě předmětem budoucího výzkumu, kdy budou na C6 a C2 purinového kruhu zaváděny předem pečlivě zvolené substituenty. Lze tedy říci, že purin **16** v sobě skýtá nejen potenciál při tvorbě další série nových purinových sloučenin s adamantanovým motivem, u nichž by mohly být v budoucnu studovány jejich biologické účinky. Stejně tak bude nezbytné v blízké budoucnosti určit strukturu sloučeniny, která vznikla reakcí 6-chlor-9*H*-purinu (**2**) s 1-adamantylmethanolem (**12**). Pokud se bude jednat o požadovanou látku, pak i tato bude podrobena sérii aromatických nukleofilních substitucí, s cílem připravit novou sérii 6,9-disubstituovaných purinů. Pokud se o předmětnou sloučeninu jednat nebude, bude vyvinuto maximální úsilí vedoucí k nalezení reakčních podmínek, za nichž bude tuto látku možné získat. Důvodem je naše přesvědčení, že purinové deriváty substituované v poloze 9 1-adamantylem představují velice zajímavou skupinu látek ve vztahu k jejich možným biologickým účinkům.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ¹ Rosemeyer, H. The chemodiversity of purine as a constituent of natural products. *Chemistry and Biodiversity*. 2004, Vol. 1.
- ² Taddei D., Kilian P., Slawin A. M. Z., Woollins D. J. Synthesis and full characterisation of 6-chloro-2-iodopurine, a template for the functionalisation of purines. *Organic and Biomolecular Chemistry* 2004, 2, 665-670
- ³ Zeng Q., Huang B., Danielsen K., Shukla R., Nagy T. Facile and practical synthesis of 2, 6 – dichloropurine. *Organic Process Research and Development*, 2004, 8(6), 962 – 963.
- ⁴ Sorrell, Thomas N.; *Organic Chemistry*. 2. vydání. University Science Books: Sausalito, California, 2006. ISBN 1-891389-38-6.
- ⁵ Weibling Lu, Sujata Sengupta, Jeffrey L. Petersen, Novruz G. Akhmedov, Xiaodong Shi. Mitsunobu Coupling of Nucleobases and Alcohols: An Efficient, Practical Synthesis for Novel Nonsugar Carbon Nucleosides. *J. Org. Chem.* 2007, 72, 5012-5015.
- ⁶ M. Zatloukal et al. Synthesis and in vitro biological evaluation of 2,6,9-trisubstituted purines targeting multiple cyclin-dependent kinases. *European Journal of Med. Chem.* 2013, 61, 61 – 72.
- ⁷ Takvorian Amy G., Combs Andrew P. Microwave – assisted organic synthesis using minivials to optimize and expedite the synthesis of diverse purine libraries. *J. Comb. Chem.* 2004, 6, 171-174.
- ⁸ Čechová L., Jansa P. The optimized microwave – assisted decomposition of formamides and its synthetic utility in the amination reactions of purines. *Tetrahedron*. 2011, 67, 866-871.
- ⁹ Huang H., Hong Liu. Microwave-Assisted Rapid Synthesis of 2,6,9-substituted purines. *J. Comb. Chem.* 2007, 9, 197 – 199.
- ¹⁰ Tumma Harikrishna, Nagaraju N. N – alkylation of 2,6-dichloropurine hydrochloride with variety of alcohols over alumina catalyst. *Synthetic Communications*. 2010, 40, 1856-1866.

- ¹¹ Holý, A. *Principy bioorganické chemie ve vývoji antivirotik a cytostatik*. Vydání 1. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Olomouc, 2004. ISBN 80-244-0855-4.
- ¹² Smith Paul J., Yue Eddy W. *Inhibitors of Cyclin – dependent Kinases as Anti – tumor Agents*. CRC Press, 2007. ISBN 0-8493-3774-7.
- ¹³ Legraverend M., Grierson David. The Purines: Potent and versatile small molecule inhibitors and modulators of key biological targets. *Bioorg. Med. Chem.* 2006, 14, 3987-4006.
- ¹⁴ Veselý J., Havlíček L., Strnad M., Blow J. J., Donella-Deana A., Pinna L., Letham David S., Kato J., Detivaud L., Leclerc S., Meijer L. Inhibition of cyclin-dependent kinases by purine analogues. *Eur. J.of Biochem.* 1994, 224, 771-786.
- ¹⁵ Kryštof V., Lenobel R., Havlíček L., Kuzma M., Strnad M. Synthesis and Biological Activity of Olomoucine II. *Bioorg. and Med. Chem. Let.* 2002, 12, 3283-3286.
- ¹⁶ Havlíček L., Hanuš J., Veselý J., Leclers S., Meijer L., Shaw G., Strnad M. Cytokinin-Derived Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors: Synthesis and cdc2 Inhibitory Activity of Olomoucine and Related Compounds. *J. Med. Chem.* 1997, 40 (4), 408-412.
- ¹⁷ Chang Y., Gray Nathanael S., Rosania Gustavo R., Sutherlin Daniel P., Kwon S., Norman Thea C., Sarohia R., Leost M., Meijer L., Schultz Peter G. Synthesis and application of functionally diverse 2,6,9-trisubstituted purine libraries as CDK inhibitors. *Chemistry and Biology.* 1999, 6 (6), 361-375.
- ¹⁸ Khoje, Kulendrn, Charnock. Synthesis of non-purine analogs of 6-aryl-9-benzylpurines, and their antimyobacterial activities. Compounds modified in the imidazole ring. *Bioorg. Med. Chem.* 2010, 18, 7274-7282.
- ¹⁹ Jorda R., Voler Jiří. Anti-leishmanial activity of disubstituted purines and relates pyrazolo (4,3-d)pyrimidines. *Bioorganic and Med. Chemistry Letters.* 2011, 21, 4233-4237.
- ²⁰ Mik V., Szüčová L. N9-substituted derivatives of kinetin: Effective anti-senescence agents. *Phytochemistry.* 2011, 72, 821-831.
- ²¹ Lamoureux G., Artavia G. Use of the adamantane structure in medicinal chemistry. *Current Med. Chem.* 2010, 17, 2967-2978.
- ²² Vícha R., Potáček M. Kde roste Adamantan. *Chem. Listy* 2004, 98, 68-74.

- ²³ Mitsukara K., Sakamoto H., Kubo H., Yoshida T. Bioconversion of 1-adamantol to 1,3-adamantanediol using *Streptomyces* sp. SA8 oxidation system. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2010, Vol. 109, No. 6, 550-553.
- ²⁴ Vícha R. *Syntéza léčivých látek na bázi adamantanu*. Disertační práce, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity v Brně, 2005.
- ²⁵ Ahrén Bo. Clinical results of treating type 2 diabetic patients with sitagliptin, vildagliptin or saxagliptin – diabetes control and potential adverse events. *Best practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2009, 23, 487-498.
- ²⁶ Deacon Carolyn F., Holst Jens J. Saxagliptin: A New dipeptidyl peptidase-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *Advances in Therapy*. 2009, 26(5), 488-499.
- ²⁷ Liu J., Obando D., Liao V., Lifa T., Codd R. The many faces of the adamantyl group in drug design. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2011, 46, 1949-1963.
- ²⁸ Roubalová E., Kvardová V., Hrstka R. The effect of cellular environment and p53 status on the mode of action of the platinum derivative LA-12. *Invest New Drugs*. 2010, 28, 445-453.
- ²⁹ Kvardova V., Hrstka R., Walerych D., Muller P., Matoulkova E. The new Platinum (IV) derivative LA-12 shows stronger inhibitory effect on Hsp90 function compared to cisplatin. *Molecular cancer*. 2010, 9, 147.
- ³⁰ Fujio M., Kuroita T., Sakai Y. N-[1-(2-phenylethyl)pyrrolidin-3-yl]-1-adamantanecarboxamides as Novel 5-HT₂ Receptor Antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Letters*. 2000, 10, 2457-2461.
- ³¹ Balzarini J., Maurin Jan K., Orzeszko A. Synthesis and anti-HIV studies of 2- And 3-adamantyl substituted thiazolidin-4-ones. *Eur. J. of Med. Chem.* January 2009, Vol. 44, Issue 1., 303-311.
- ³² Tripathi Avinash C., Gupta Shiv Ji, Fatima Gul Naz, Sonar Pankaj Kumar. 4-Thiazolidinones: The advances continue. *Eur. J. of Med. Chem.* 2014, 72, 52-77.
- ³³ Joubert J., Dyk Sandra van, Green Ivan R. Synthesis and evaluation of fluorescent heterocyclic aminoadamantanes as multifunctional neuroprotective agents. *Bioorg. Med. Chem.* 2011, 19, 3935-3944.
- ³⁴ Lorenc J., Hanuza J., Maczka M., Kucharska E. Vibration spektra and chemical quantum calculations for 2-adamantylamino-5-nitropyridine crystals – a novel material

for laser Raman converters. *Spectrochimica Acta part A: Molecular and Biomolecular spectroscopy*. 2005, 61 (4), 685-695.

- ³⁵ Taima T., Komatsu K., Kaino. Third-order nonlinear optical Properties of 2-adamantylamino-5-nitropyridine caused by cascaded second-order nonlinearity. *Optical Materials*. January 2003, 21 (1-3), 83-86.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AcOH	kyselina octová
ADP	adenosindifosfát
AlCl ₃	chlorid hlinitý
ATP	adenosintrifosfát
CDK	cyklin-dependentní kináza
CRK3	cyklin-dependentní kináza pocházející z rodu <i>Leishmania</i>
DIAD	diisopropylazodikarboxylát
DMA	<i>N,N</i> -dimethylanilin
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DPP-4	dipeptidyl peptidáza 4
EA	ethylacetát
ESI-MS	hmotnostní spektrometrie s elektrosprejovou ionizací
Et ₂ O	diethylether
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
CHCl ₃	chloroform
IC ₅₀	koncentrace látky inhibující 50%
IR	infračervená spektroskopie
K ₂ CO ₃	uhličitan draselný
Li[AlH ₄]	lithiumaluminum hydrid
MeOH	methanol
MIC	minimální inhibiční koncentrace
Mtb	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MW	mikrovlny

Na ₂ SO ₄	síran sodný
NaBF ₄	tetrafluoroborát sodný
NMR	nukleární magnetická rezonance
PE	petrolether
POCl ₃	trichlorid fosforylu
PPh ₃	trifenylfosfin
RVO	rotační vakuová odparka
TBAF	tetrabutylamonium fluorid
<i>t</i> -BuOK	tert-butoxid draselný
TEA	triethylamin
THF	tetrahydrofuran
TLC	chromatografie na tenké vrstvě
<i>t</i> _f	teplota tání

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Strukturní vzorec 9 <i>H</i> -purinu a způsob jeho číslování.	12
Obrázek 2: Strukturní vzorce vybraných purinových inhibitorů CDK.	17
Obrázek 3: Struktura připravených látek a srovnání jejich biologické aktivity s Rifampicinem.....	18
Obrázek 4: Struktura a antiprotozoální aktivita nové série pyrazolo[4,3- <i>d</i>]pyrimidinů a 6,9-disubstituovaných purinů.	19
Obrázek 5: Strukturní vzorec kinetinu a syntéza modelových látek.	20
Obrázek 6: Příklady vyjádření struktury adamantanu.	21
Obrázek 7: Strukturní vzorce sedmi sloučenin s adamantanovým skeletem využívaných v klinické praxi.	22
Obrázek 8: Strukturní vzorec cisplatiny a LA-12.	23
Obrázek 9: Strukturní vzorec sloučeniny Y-39241	24
Obrázek 10: Strukturní vzorce vybraných sloučenin substitovaných 1-adamantylem.	25
Obrázek 11: Vzorce vybraných heterocyklických aminů s adamantanovým motivem vykazujících multifunkcionalitu.....	25
Obrázek 12: Strukturní vzorec 5-nitro- <i>N</i> -(1-adamantyl)pyridin-2-aminu (AANP).....	26
Obrázek 13: Přiřazení ¹ H-NMR signálů protonům purinu 2 . (hodnoty jsou uvedeny v ppm).....	42
Obrázek 14: ESI-MS spektrum sloučeniny 15	49
Obrázek 15: ESI-MS/MS spektra iontu [M+H] ⁺ sloučeniny 15	50
Obrázek 16: ESI-MS spektrum sloučeniny 16	53
Obrázek 17: ESI-MS/MS spektra iontu [M+H] ⁺ sloučeniny 16	54
Obrázek 18: ESI-MS spektrum sloučeniny 17	55
Obrázek 19: ESI-MS/MS spektra iontu [M+H] ⁺ sloučeniny 17	56

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Nukleofilní aromatická substituce na C6 purinu 2 (Schéma 10).	44
Tabulka 2: Alkylace „6-amino-9 <i>H</i> -purinů na N9 (Schéma 11).	46