

# Mikrovlnami asistovaná syntéza 2,6,9- trisubstituovaných purinů

Bc. Michal Luža

---

Diplomová práce  
2021



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav chemie

Akademický rok: 2020/2021

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Michal Luža**  
Osobní číslo: **T19481**  
Studijní program: **N0721A210005 Chemie potravin a bioaktivních látek**  
Studijní obor: **Chemie potravin a bioaktivních látek**  
Forma studia: **Prezenční**  
Téma práce: **Mikrovlnami asistovaná syntéza 2,6,9-trisubstituovaných purinů**

### Zásady pro vypracování

#### I. Teoretická část

1. Stručná charakteristika purinů a jeho bioisosterů.
2. Zpracování literární rešerše na téma možnosti substituce purinového skeletu v polohách 2, 6 a 9 pomocí mikrovlnami asistované syntézy.

#### II. Praktická část

1. Návrh syntetické strategie a ověření proveditelnosti navrhovaného postupu.
2. Příprava série 2-chlor-6-alkyl/arylamino-9-(cyklo)alkylpurinů.
3. Optimalizace substituce arómu chloru na C2 vybranými alky/arylaminy pomocí mikrovlnami asistované syntézy.
4. Úplná strukturální charakterizace všech připravených sloučenin.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] MANVAR, A., SHAH, A.: Microwave-assisted chemistry of purines and xanthenes. An overview. *Tetrahedron* 2013, 69, 8105-8127.
- [2] ELGEMEIE, G., HAMED, M.: Microwave Synthesis of Guanine and Purine Analogs. *Current Microwave Chemistry* 2014, 1, 155-176.
- [3] KAPPE, C. O.: Microwave dielectric heating in synthetic organic chemistry. *Chemical Society Reviews* 2008, 37, 1127-1139.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Michal Rouchal, Ph.D.**  
Ústav chemie

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2020**

Termín odevzdání diplomové práce: **14. května 2021**

L.S.

---

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

---

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

Ve Zlíně dne 25. března 2021

PROHLÁŠENÍ AUTORA  
DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

**Prohlašuji,**

- že jsem na diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne: 14.5.2021

Jméno a příjmení studenta: Michal Luža

.....  
podpis studenta

## ABSTRAKT

Možná biologická aktivita purinů motivuje mnohé vědecké týmy k výzkumu možností syntéz jejich 2, 6, 8 a 9 substituovaných derivátů. Tato diplomová práce popisuje tříkrokovou syntézu 2,6,9-trisubstituovaných purinů s doposud nepopsanou strukturou. Samotná syntéza sestávala z alkylace komerčně dostupného 2,6-dichlor-9*H*-purinu 2-jodpropanem, následovanou mikrovlnami asistovanou S<sub>N</sub>Ar atomu chloru v poloze 6 alkylovaného purinu, a v posledním kroku další mikrovlnami asistovanou S<sub>N</sub>Ar atomu chloru v poloze 2 purinových derivátů, která se ukázala být relativně problematickou. Připravené sloučeniny byly charakterizovány pomocí běžně používaných metod strukturní analýzy.

Klíčová slova: 2,6,9-trisubstituované puriny, mikrovlnami asistovaná syntéza, konvenční syntéza, nukleofilní aromatická substituce, metody strukturní analýzy.

## ABSTRACT

The possible biological activity of purines motivates many research groups to investigate the possibility of synthesizing their 2, 6, 8 and 9 substituted derivatives. This diploma thesis describes a three-step synthesis of 2,6,9-trisubstituted purines with an undescribed structure. The synthesis itself consisted of the alkylation of commercially available 2,6-dichloro-9*H*-purine with 2-iodopropane, followed by microwave-assisted S<sub>N</sub>Ar of the chlorine atom in position 6 of the alkylated purine, and in the last step another microwave-assisted S<sub>N</sub>Ar of chlorine in position 2 of the purine derivatives, proved to be relatively problematic. The prepared compounds were characterized using commonly used structural analysis methods.

Keywords: 2,6,9-trisubstituted purines, microwave-assisted synthesis, conventional synthesis, nucleophilic aromatic substitution, methods of structural analysis.

## Poděkování

Rád bych poděkoval Ing. Michalu Rouchalovi, Ph.D. za poskytnuté odborné rady a připomínky při práci, pomoc při vyhodnocování výsledků a za aktivní a pozitivní přístup k dané problematice, který mi byl celou dobu motivací.

Dále bych rád poděkoval Filipu Zatloukalovi a Petřovi Janovskému za cenné rady, trpělivost, pomoc při práci v laboratoři a při vyhodnocování výsledků analýz.

Děkuji Anetce Závodné a Anetce Hromádkové za analyzování vzorků pomocí GC-MS a jejich ochotu kdykoliv pomoci. Dále bych rád poděkoval RNDr. Lence Dastykové, Ph.D. za analyzování vzorků na NMR a její obětavý přístup při konzultaci výsledků těchto analýz.

Nakonec bych chtěl poděkovat své rodině za psychickou i finanční podporu při studiu. Přítelkyni za trpělivost a za to, že na mě doma po dlouhých dnech v laboratořích čekalo teplé jídlo. A samozřejmě spolužákům, kteří mě doprovázeli po celou dobu studia a vytvářeli příjemnou atmosféru.

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

**OBSAH**

<b>ÚVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>9</b>
<b>1 PURINY</b> .....	<b>10</b>
1.1 TAUTOMERY PURINU .....	10
1.2 BIOISOSTERY PURINU .....	11
1.3 BIOLOGICKÁ AKTIVITA PURINŮ .....	12
<b>2 MIKROVLNAMI ASISTOVANÁ SYNTÉZA 2,6,9- TRISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ</b> .....	<b>14</b>
2.1 PRINCIP MIKROVLNAMI ASISTOVANÉ SYNTÉZY .....	14
2.2 PŘÍKLADY MIKROVLNAMI ASISTOVANÉ SYNTÉZY 2,6,9- TRISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ .....	15
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>24</b>
<b>3 PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ</b> .....	<b>25</b>
<b>4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>26</b>
4.1 ALKYLACE 2,6-DICHLOR-9 <i>H</i> -PURINU .....	26
4.2 MIKROVLNAMI ASISTOVANÁ NUKLEOFILNÍ AROMATICKÁ SUBSTITUCE ATOMU CHLORU NA C6.....	27
4.3 NUKLEOFILNÍ AROMATICKÁ SUBSTITUCE ATOMU CHLORU NA C2 PROVÁDĚNÁ KONVENČNÍM ZPŮSOBEM .....	30
4.4 MIKROVLNAMI ASISTOVANÁ NUKLEOFILNÍ AROMATICKÁ SUBSTITUCE ATOMU CHLORU NA C2.....	30
<b>5 VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>35</b>
5.1 KOMENTÁŘ K DISKUZNÍ ČÁSTI .....	35
5.2 ALKYLACE 2,6-DICHLOR-9 <i>H</i> -PURINU .....	35
5.3 MIKROVLNAMI ASISTOVANÁ NUKLEOFILNÍ AROMATICKÁ SUBSTITUCE ATOMU CHLORU NA C6.....	37
5.4 NUKLEOFILNÍ AROMATICKÁ SUBSTITUCE ATOMU CHLORU NA C2.....	39
5.4.1 Optimalizace nukleofilní aromatické substituce atomu chloru na C2 konvenční metodou zahřevu .....	42
5.4.2 Mikrovlnami asistované S <sub>N</sub> Ar atomu chloru na C2 .....	43
<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>48</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>49</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> .....	<b>53</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....	<b>54</b>
<b>SEZNAM TABULEK</b> .....	<b>56</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH</b> .....	<b>57</b>

## ÚVOD

Purin je jedním z nejvýznamnějších a nejhojněji používaných strukturních motivů v medicíně. Základem je sloučenina tvořící bicyklický systém, vzniklý vzájemnou kondenzací imidazolu a pyrimidinu. U širokého množství purinových derivátů byla prokázána významná biologická aktivita. Toto úzce souvisí s nepřeberným množstvím možností substituce purinového skeletu, kdy zpravidla dochází k substitucím v polohách 2, 6, 8 a 9.

Použití konvenčních technik ohřevu často zahrnuje dlouhou reakční dobu a ne vždy poskytuje uvažované sloučeniny ve vysokých výtěžcích. Technika mikrovlnného ohřevu je naopak schopna zajistit rychlé, selektivní a rovnoměrné zahřívání reakční směsi, které vede k vyšším výtěžkům syntéz a k zásadnímu zkrácení reakční doby. Právě mikrovlnami asistovanou syntézou se tato práce zabývá.

Teoretická část této diplomové práce se první kapitolou věnuje obecné charakteristice purinových sloučenin. Ve druhé kapitole se zabývá rešerží na téma syntézy 2,6,9-trisubstituovaných purinů, zaměřené primárně na nukleofilní aromatickou substituci atomu chloru v poloze 2, kde tyto probíhají relativně neochotně a za náročných podmínek.

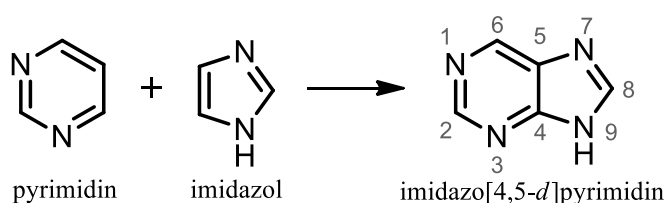
V praktické části je nejprve popsána příprava alkylovaného 2,6-dichlor-9*H*-isopropyl purinu a následná nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze 6 tohoto derivátu vybranými aminy. Hlavním bodem této části práce je série nukleofilních aromatických substitucí atomu chloru v poloze 2 získaných purinových derivátů. Tato část zahrnuje sérii nezdařených experimentů, inspirovaných literární rešerží. Následně jsou popsány experimenty s optimalizovanými podmínkami, jež vedly k syntéze nových v literatuře doposud nepopsaných 2,6,9-trisubstituovaných purinů.



## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

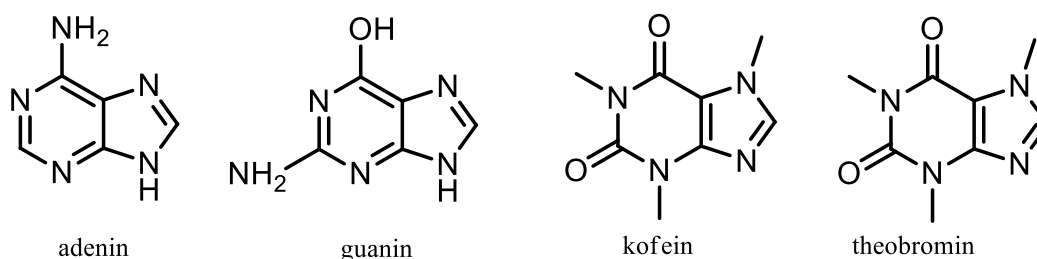
## 1 PURINY

Puriny patří do skupiny heterocyklických sloučenin odvozených od cyklických uhlovodíků náhradou jednoho, nebo několika uhlíkových atomů jiným heteroatomem, kterým může být dusík, kyslík, síra, fosfor, ale i jiné atomy. Základem samotného purinu je sloučenina, která tvoří bicyklický systém vzájemnou kondenzací imidazolu (pětičlenného heterocyklu se dvěma atomy dusíku) a pyrimidinu (šestičlenného heterocyklu se dvěma atomy dusíku). Systematický název této sloučeniny je tedy imidazo[4,5-*d*]pyrimidin (Obrázek 1). [1]



Obrázek 1: Struktura purinového skeletu.

V roce 1884 byl imidazo[4,5-*d*]pyrimidin poprvé syntetizován Emilem Fisherem, který za tento objev získal v roce 1902 Nobelovu cenu. Purin se ve své základní formě v přírodě prakticky nenachází, ale lze jej nalézt v řadě známých a významných molekul. Mezi nejznámější patří určitě kofein, nebo theobromin. Deriváty purinu se vyskytují také ve formě dusíkatých bází, podílejících se na stavbě DNA a RNA, konkrétně adenin (6-aminopurin) a guanin (2-amino-6-oxopurin). Vybrané příklady purinových derivátů jsou znázorněny na Obrázku 2. [2,3]

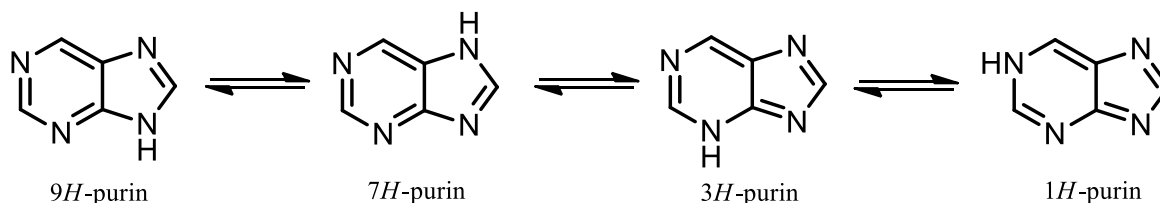


Obrázek 2: Vybrané příklady purinových derivátů.

### 1.1 Tautomery purinu

Purin se může díky poloze umístění atomu vodíku na jednom ze čtyř dusíkových heteroatomů vyskytovat ve čtyřech tautomerních formách (Obrázek 3), kdy nejstabilnější

a nejčastěji se vyskytující formou je *9H*-purin. Tento tvoří ve vodných roztocích téměř ekvimolární směs se *7H*-purinem. Tautomery *1H*- a *3H*- se zatím nepodařilo izolovat. [1,4]

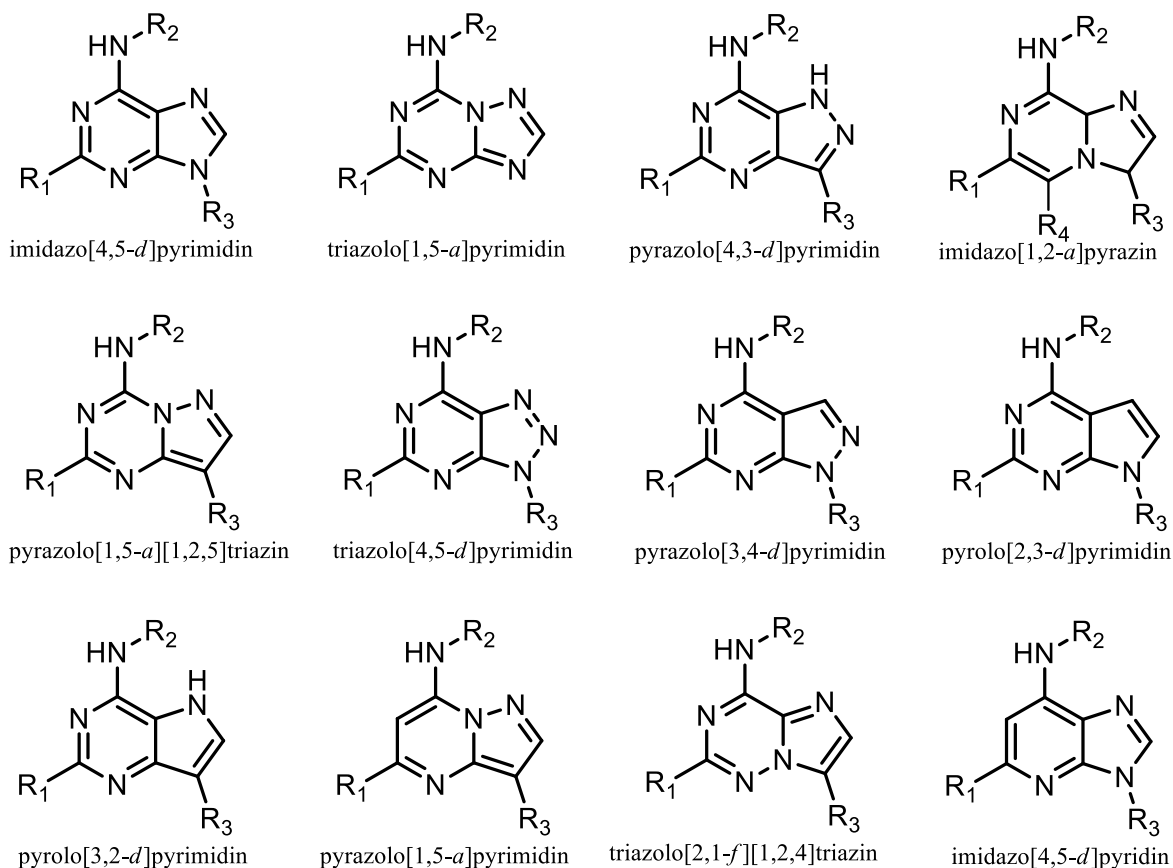


Obrázek 3: Možné tautomerní formy purinu.

## 1.2 Bioisostery purinu

Obecně jsou jako bioisostery označovány látky strukturně podobné jejich výchozí sloučenině, ale lišící se rozložením atomů ve struktuře, nebo záměnou funkční skupiny. Purinové bioisostery jsou látky disponující podobnými fyzikálními a chemickými vlastnostmi, jejichž malé odlišnosti mohou zásadně ovlivnit chování látek z pohledu medicínské chemie. Mezi tyto vlastnosti patří rozpustnost, reaktivita, hydrofobicita nebo elektrostatický potenciál. Takové změny struktury mohou například ovlivnit metabolickou stabilitu, optimalizaci biologických vlastností, snížit nežádoucí účinky, nebo zlepšit farmakologickou aktivitu příslušného bioisosteru, ve srovnání s původním léčivem obsahujícím purinový skelet. [5,6]

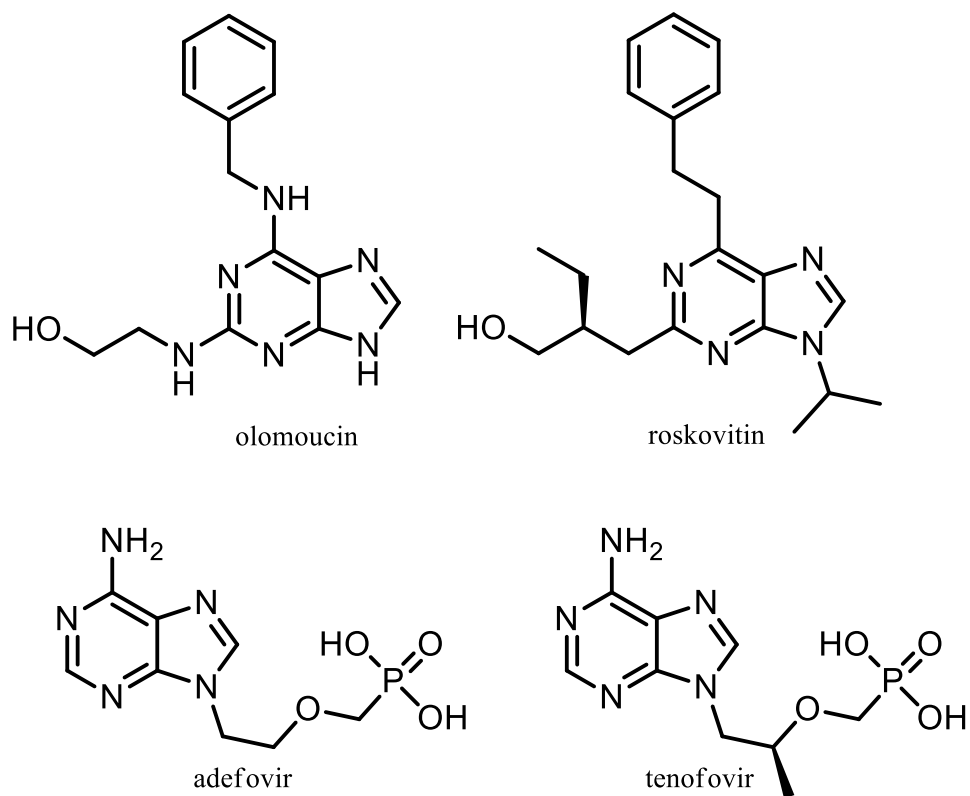
Bioisostery purinu lze syntetizovat několikastupňovými procesy přes velké množství meziproduktů. Zatím bylo popsáno 11 bioisosterů purinu. Jak lze vidět na Obrázku 4, týkají se tyto změny přidání, odebrání, nebo přesunu atomu dusíku v původní molekule. Jedná se např. o disubstituované deriváty triazolo[1,5-*a*]pyrimidinu nebo tetrasubstituované imidazo[1,2-*a*]pyraziny. [7,8]



Obrázek 4: Vybrané příklady purinových derivátů.

### 1.3 Biologická aktivita purinů

Purinové skelety přitahují velkou pozornost řady výzkumných týmů kvůli jejich převaze ve farmaceuticky nepostradatelných sloučeninách. Mohou vystupovat jako induktory interferonu, inhibitory fosfodiesteráz, sulfotransferáz, katepsinu K, modulátory hormonálního receptoru uvolňujícího kortikotropin. Dále jsou také využívány jako inhibitory CDK (cyklin-dependentních kináz), Src tyrosinkináz, nebo proteinkináz (jako příklad lze uvést sloučeniny známé pod jejich triviálními názvy jako olomoucín, roscovitin, nebo purvalanol A). Bylo zjištěno, že puriny hrají zásadní roli v neurotransmisí a neuromodulaci a jsou selektivními inhibitory řady mikroorganismů způsobujících infekční onemocnění, jako je například *Mycobacterium tuberculosis* způsobující tuberkulózu. Například Adefovir a Tenofovir, acyklické fosfonáty nukleosidu, se používají v klinické praxi ke zmírnění projevů způsobených při infekci virem lidské imunodeficiency (HIV) a k léčbě hepatitidy B. [9,10,11,12]

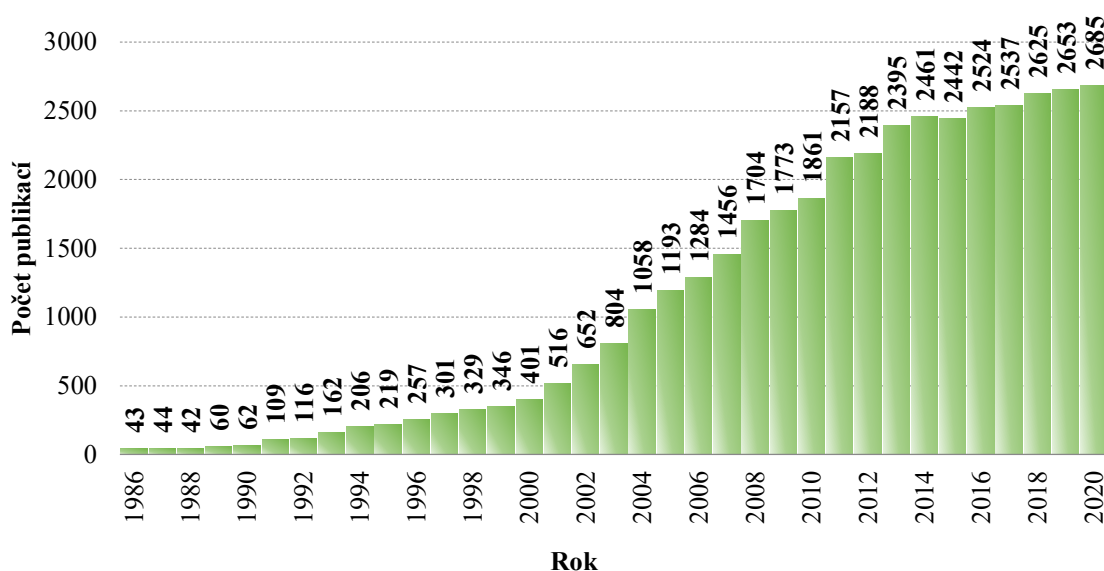


Obrázek 5: Vybrané deriváty purinu s biologickou aktivitou. [13,14]

## 2 MIKROVLNAMI ASISTOVANÁ SYNTÉZA 2,6,9-TRISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ

### 2.1 Princip mikrovlnami asistované syntézy

Mikrovlnný ohřev se stal standardní metodou, která představuje průlom ve způsobu provádění chemických syntéz. Důkazem budiž rostoucí trend množství publikací na téma mikrovlnami asistované syntézy v čase, který lze pozorovat na grafu z webu scopus.com (Obrázek 6). Graf zobrazuje množství publikací vyhledaných zadáním parametrů „microwave and synthesis“.

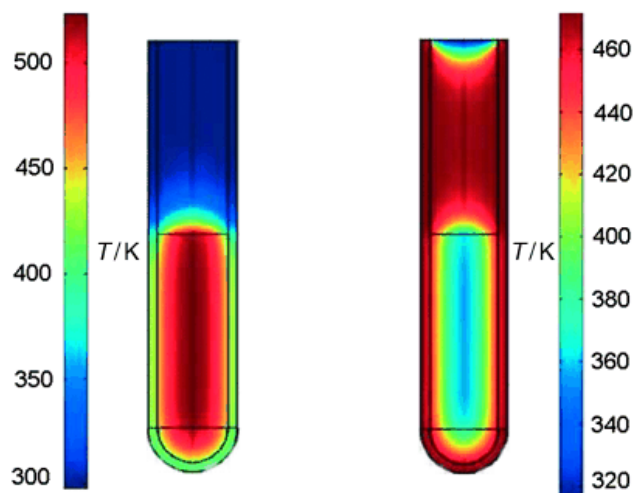


Obrázek 6: Graf počtu publikací týkajících se mikrovlnami asistované syntézy od roku 1986 do roku 2020. [scopus.com]

Jelikož mohou být konvenční způsoby syntéz často zdlouhavé a neefektivní, je mikrovlnný ohřev neodmyslitelnou součástí mnoha výzkumných pracovišť zabývajících se organickou syntézou. A to právě díky možnosti zkrácení doby reakcí a zvýšení izolovaných výtěžků zamýšlených produktů. Už studie z roku 1986, kterou publikovali Gedye, Smith a kol., popisuje právě tento fenomén rychlosti a čistoty produktů získaných pomocí mikrovlnami asistované syntézy. Bylo zjištěno, že optimalizací reakčních podmínek aplikovaných v případě konvenční syntézy, lze, pomocí mikrovlnami asistované syntézy, reakční čas zásadním způsobem zkrátit (z dnů či hodin na desítky minut). [15,17]

U konvenčních metod záhřevu se teplo vytváří ve vnějším zdroji a následně prostupuje přes materiálové překážky až ke středu objemu reakční směsi. V mikrovlnném reaktoru ale

dochází k přenosu energie přímo na reaktivní částice roztoků. Přímým spojením s molekulami reaktantů dochází k rychlému zvýšení teploty a vzniku místního přehřátí molekul, což ovlivní i rozpouštědlo. Rozdíl teplotního profilu zkumavky po 60 s záhřevu jak konvenčním, tak mikrovlnným způsobem lze pozorovat na Obrázku 7.



Obrázek 7: Teplotní profil zkumavky po 60 s záhřevu mikrovlnami a v olejové lázni. [18]

V principu dochází k ohřevu dvěma odlišnými mechanismy: dipólovou rotací a iontovou vodivostí, tedy obrácením dipólů a vytěsňováním nabitých iontů z roztoku. Záhřev dipólovou rotací je způsoben přenesením energie mezi molekulami, když molekuly interagují s vlnami elektrického pole elektromagnetického záření. Účinnost vazby dipólů s elektrickým polem je závislá na polaritě molekul (rozpuštědla a substrátu).

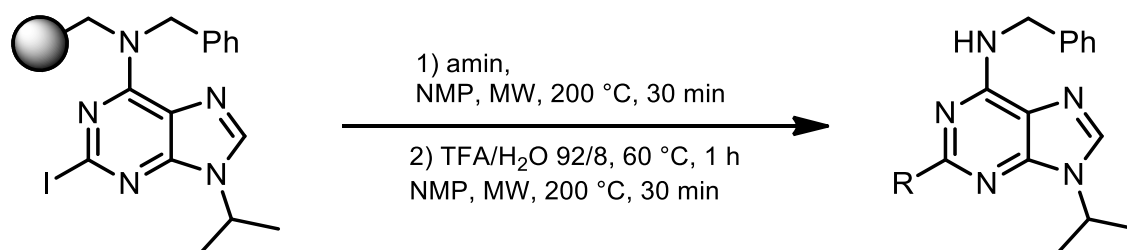
Záhřev vlivem iontového vedení je výsledkem pohybu volných iontů nebo iontových látek v roztoku. Tření těchto částic vede ke zvýšení teploty roztoku. [17,19]

## 2.2 Příklady mikrovlnami asistované syntézy 2,6,9-trisubstituovaných purinů

Kvůli svému obrovskému rozsahu užití v lékařské chemii získaly purinové skelety substituované v poloze 2, 6, 8 a 9 velké množství pozornosti. Zatímco alkylace do polohy N9 či nukleofilní aromatická substituce na C6 jsou reakcemi, které, volně řečeno „běží bez problémů“, o reakcích, jejichž cílem je provést substituci v poloze C2 toto říci nelze. A jelikož je cílem této diplomové práce nalézt vhodné podmínky právě pro substituci v poloze C2, bude tato kapitola věnována zejména výčtu doposud známých a v literatuře popsaných metod vedoucích k substituci v poloze C2. Nejobvyklejším problémem, který spojuje většinu publikací zabývajících se nukleofilní aromatickou substitucí purinového

motivů na C2, je dlouhá reakční doba a nepříliš vysoké výtěžky, v nichž jsou připravované sloučeniny získávány. Bylo vyvinuto několik metod syntéz na pevné fázi, ale substituce v poloze 2 se ukázaly jako těžce dosažitelné. [20,21,22]

Nekonvenční metoda ohřevu pomocí mikrovln při syntéze purinů byla zkoumána několika týmy vědců. Za zmínku stojí průkopnická práce Al-Obeidiho a kol., kteří provedli nukleofilní aromatickou substituci na halogenovaném purinu v poloze 2. Použity byly dvě strukturně příbuzné sloučeniny, pomocí kterých měli zdůraznit pozitivní příspěvek mikrovlnného záření ke zvýšení účinnosti dislokace C2 jodového substituentu alifatickými aminy. Nahrazení jodu bylo dosaženo reakcí s diethanolaminem, nebo propanolaminem za přítomnosti methylpyrrolidonu při 200 °C po dobu 30 minut (Obrázek 8). Relativní zastoupení vzniklých produktů bylo následně stanoveno metodou HPLC na 77 % a 89 %. Pro výsledné porovnání je třeba zmínit, že konvenční metodou ohřevu trvaly reakce s podobně vysokými výtěžky okolo 48 h. [22,23,24]

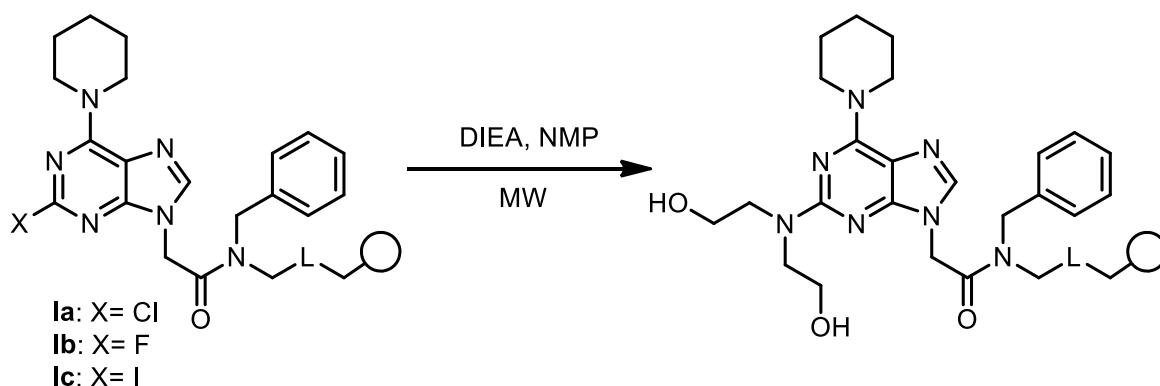


Obrázek 8: Příklad S<sub>N</sub>Ar atomu jodu v poloze 2.

V roce 2005 Al-Obeidi a jeho skupina představili sekvenční reakci aromatické nukleofilní substituce v poloze 6 vázané na polystyrenovou pryskyřici (konvenčním záhřevem), následovanou mikrovlnami asistovaným nahrazením atomu jodu z polohy C2 purinového skeletu 1-(3-aminopropyl)-2-pyrrolidinonem, nebo 2-(1-piperidinyl)ethanaminem. Tyto reakce probíhaly při teplotě 150 °C po dobu 30 minut. Izolované výtěžky se pohybovaly v rozmezí 30–80 %. Následně zjistili, že povaha substituentu v poloze 6 purinového skeletu ovlivňuje ochotu halogenu v poloze 2 odstoupovat. Substituenty, které jsou elektronově bohaté (např. piperidinyl) snižují reaktivitu směrem k nukleofilní substituci, zatímco elektronově chudé substituenty mají spíše opačný efekt. U sloučenin **Ia-c** zkoumali autoři vliv halogenu navázaného v poloze 2 purinového skeletu (Obrázek 9). Úrovně přeměny ukázaly, že atomy fluoru a jodu jsou lepšími substituenty, než atom chloru. Následně byl proveden experiment za mírně odlišných podmínek pro porovnání



fluoru a jodu mezi sebou, kdy se jod jevil jako nejvhodnějším ze zkoumaných substituentů v poloze 2 purinového skeletu (Tabulka 1). [25,26]

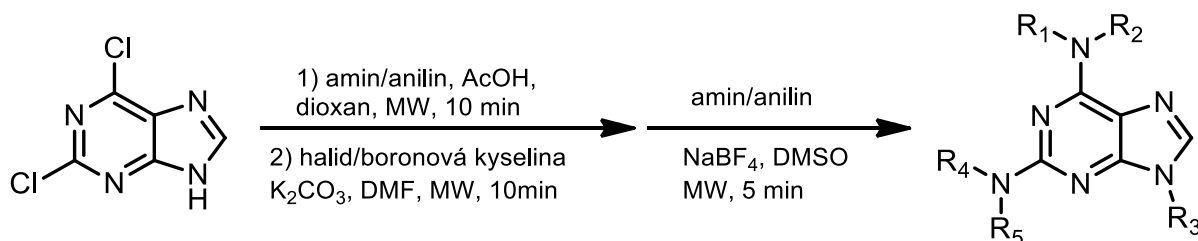


Obrázek 9: Vlivu halogenového substituentu na průběh  $S_NAr$ .

Tabulka 1: Vliv halogenových substituentů a podmínek reakce na výtěžek produktu.

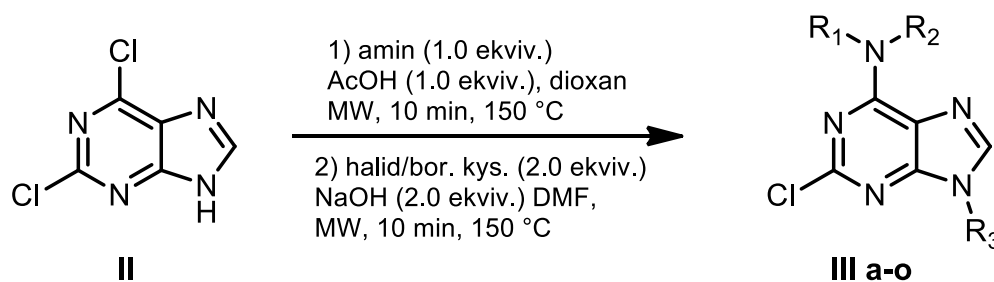
X	Výkon MW (W)	Čas (min)	Izolovaný výtěžek (%)
Cl	720	30	4
F	720	30	16
I	720	30	22
F	960	60	62
I	960	60	92

He Huang, Hong Liu a jejich kolegové zpracovali sekvenční regioselektivní nukleofilní aromatické substituce polohy 2 a 6, a N9 alkylace vybraných derivátů purinu. Popsali rychlou a efektivní metodu dvou krokové syntézy (Obrázek 10). [27]



Obrázek 10: Reakční schéma dvou krokové syntézy („two pot synthesis“).

Nejprve provedli dvoustupňovou reakci dle schématu na Obrázku 11, která zahrnovala nukleofilní aromatickou substituci atomu chloru v poloze 6 purinového skeletu různými aromatickými či alifatickými aminy a *N*-alkylaci/arylací v poloze N9 s různými organickými halogenidy a deriváty kyseliny borité. [27]

Obrázek 11: Reakční schéma mikrovlnami asistované  $S_NAr$  a  $N$ -alkylace/arylace.

Jako výchozí sloučenina byl použit komerčně dostupný 2,6-dichlor-9*H*-purin. K tomuto bylo přidáno ekvimolární množství příslušného aminu a kyseliny octové, kdy tato směs reagovala v dioxanu při 150 °C po dobu 10 minut v mikrovlnném reaktoru. Další parametry, jako použitý výkon, nebo tlak ve studii nejsou uvedeny. Po následném ochlazení byl do reakční směsi přidán příslušný organický halogenid (ve 2 molárním přebytku), NaOH (v tomtéž přebytku) a DMF. Následně byla reakční směs opětovně podrobena mikrovlnnému ohřevu za stejných podmínek, za vzniku kýžených produktů, kdy detaily jednotlivých reakcí jsou uvedeny v Tabulce 2. [27]

Tabulka 2: Vybrané aminy, reaktanty a izolovaný výtěžek jejich reakce. [27]

Reakce	Amin	Reaktant	Produkt	Izolovaný výtěžek (%)
1	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NH <sub>2</sub>	benzylbromid	<b>IIIa</b>	80
2	4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	benzylbromid	<b>IIIb</b>	94
3	4-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	benzylbromid	<b>IIIc</b>	88
4	3-F <sub>3</sub> CC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	benzylbromid	<b>III d</b>	47
5 <sup>a</sup>	4-NO <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	benzylbromid	<b>IIIe</b>	21
6	2-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	benzylbromid	<b>III f</b>	92
7	3-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	benzylbromid	<b>III g</b>	83
8	4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	benzylbromid	<b>III h</b>	94
9	4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	ethylbromid	<b>III i</b>	83
10	2-aminopropan	benzylbromid	<b>III j</b>	72
11	diethylamin	benzylbromid	<b>III k</b>	80
12	morfolin	benzylbromid	<b>III l</b>	83
13	morfolin	ethylbromid	<b>III m</b>	81
14 <sup>b</sup>	4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	kyselina fenylboritá	<b>III n</b>	17
15 <sup>b</sup>	morfolin	kyselina fenylboritá	<b>III o</b>	19

Reakční podmínky (lišící se od podmínek uvedených na Obrázku 10): <sup>a</sup> 180 °C, 20 min. každý krok, <sup>b</sup> 0,265 mmol 2,6-dichlorpurinu, 1,0 ekv. anilinu/aminu a 1,0 ekv. AcOH ve 2 ml suchého DMF po dobu 10 minut. Následně bylo přidáno 2,0 ekv. kyseliny fenylborité, 2,0 ekv. bezvodého octanu měďnatého, 0,5 g aktivního molekulárního síta a 3,0 ekv. triethylaminu.

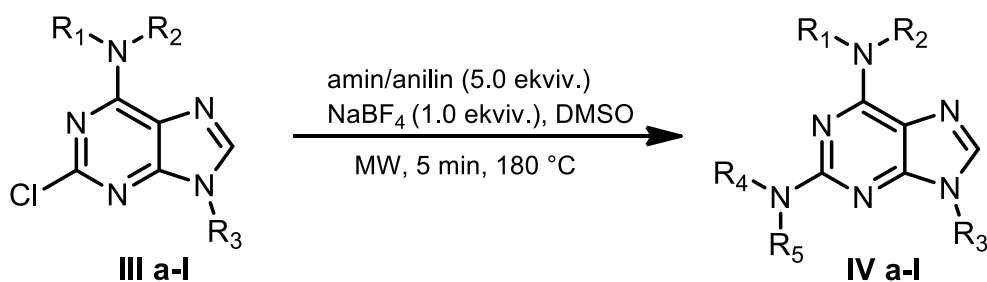
Nakonec se zaměřili na nejnáročnější substituci atomu chloru v poloze 2 několika různými aromatickými a alifatickými aminy. Jako první zkoumali podmínky použití  $\text{NaBF}_4$  jako katalyzátoru C2 substituce za různých podmínek. Konkrétně se jednalo o použití různých rozpouštědel, bází a množství  $\text{NaBF}_4$  (Tabulka 3). Nejlepšími podmínkami se zdálo být použití 5 molárního množství aminu, ekvimolární množství  $\text{NaBF}_4$  v prostředí DMSO při  $180\text{ }^\circ\text{C}$  po dobu 5 min. [27]

Tabulka 3: Optimalizace podmínek  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  atomu chloru v poloze 2 purinového skeletu.

Reakce	Rozpouštědlo (báze)	$\text{NaBF}_4$ (ekviv.)	Izolovaný výtěžek (%)
1	DMF	0	51
2	DMF	0,2	78
3 <sup>a</sup>	DMF ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ )	0,2	67
4 <sup>b</sup>	DMF (NaOH)	0,2	66
5 <sup>c</sup>	DMF(NaOEt)	0,2	61
6	NMP	0,2	62
7	$\text{CH}_3\text{CN}$	0,2	17
8 <sup>d</sup>	$\text{CH}_3\text{CN/NMP}$	0,2	51
9	DMSO	0,2	82
10	DMSO	1,0	96
11	DMSO	2,0	87
12	DMSO	5,0	63

Reakční podmínky (lišící se od podmínek uvedených na Obrázku 11): <sup>a</sup> Přidán ekvivalent  $\text{K}_2\text{CO}_3$  jako báze, <sup>b</sup> přidán ekvivalent NaOH jako báze, <sup>c</sup> přidán ekvivalent NaOEt jako báze, <sup>d</sup>  $\text{CH}_3\text{CN/NMP}$  1:1(v:v) jako rozpouštědlo

Tato optimalizace vedla k přípravě série 2,6,9-trisubstituovaných purinů s výtěžky v rozpětí 81–99 % (Obrázek 12, Tabulka 4) vyjma reakce s methylanilinem, jejíž výtěžek byl jen 13 %. [27]



Obrázek 12: Obecné reakční schéma  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  chloru v poloze 2 vybraných 6,9-disubstituovaných purinů.

Tabulka 4: Optimalizace podmínek S<sub>N</sub>Ar atomu chloru v poloze 2 purinového skeletu.

Reakce	Výchozí látka	Anilin/amin	Produkt	Izolovaný výtěžek (%)
1	IIIa	morfolin	IVa	96
2	IIIb	morfolin	IVb	95
3	IIIc	morfolin	IVc	93
4	III d	morfolin	IVd	88
5	IIIe	morfolin	IVe	99
6	III f	morfolin	IVf	99
7	III g	isopropylamin	IVg	81
8	III h	diethylamin	IVh	83
9	III i	piperazin	IVi	99
10	III j	benzylamin	IVj	87
11	III k	4-methoxybenzylamin	IVk	81
12	III l	<i>p</i> -toluidin	IVl	13

Aromatické aminy není jednoduché při nukleofilní aromatické substituci do polohy 2 navázat, a to z důvodu jejich nízké nukleofility. V Tabulce 5 jsou uvedeny hodnoty  $pK_a$  a  $pK_b$  vybraných aromatických a alifatických aminů. [28]

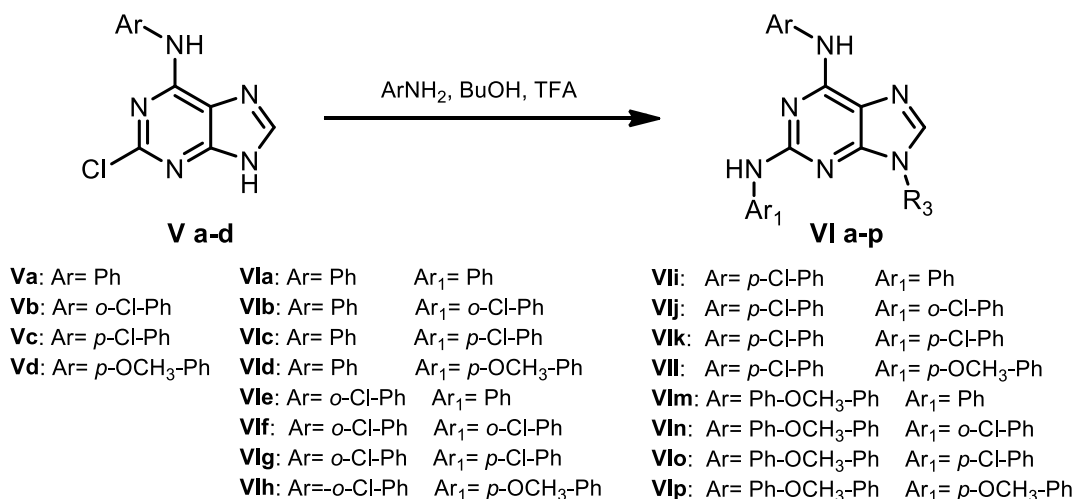
Tabulka 5: Hodnoty  $pK_a$  a  $pK_b$  vybraných sloučenin. [28]

Sloučenina	$pK_a$	$pK_b$
anilin	4,60	9,40
benzylamin	9,33	4,67
methylamin	10,62	3,38
ethylamin	10,87	3,13
dimethylamin	10,73	3,13

Zkoumáním purinových derivátů lze vyvodit, že hlavním důvodem poklesu reakční aktivity polohy 2 je existence aminu v poloze 6, který sdílí elektrony s purinovým kruhem  $p-\pi$  vazbou. Kyseliny však mohou obsadit elektrony atomu dusíku a přerušit  $p-\pi$  vazbu. To zvýší reakční aktivitu polohy 2. [29,30]

Hong-Fei Lu a spol. ve své práci zkoumali právě tento jev a dospěli k závěru, že protonace 2,6-dichlor-9*H*-purinu aktivuje atomy chloru k nukleofilní substituční reakci. Proto provedli několik experimentů, kdy výchozí látkou byly různé 2-chlor-6-anilino substituované puriny, ke kterým bylo přidáno ekvimolární množství trifluoroctové kyseliny, příslušný aromatický amin (v pěti molárním přebytku) a jako rozpouštědlo byl použit butan-1-ol (Obrázek 12). Během těchto reakcí vznikalo mnoho nechtěných

vedlejších produktů, ale přesto se velikost výtěžků kýžených molekul pohybovala v rozmezí 20–70 %. (Tabulka 5) [30]



Obrázek 13: Reakční schéma S<sub>N</sub>Ar chloru v poloze 6 purinového skeletu. [30]

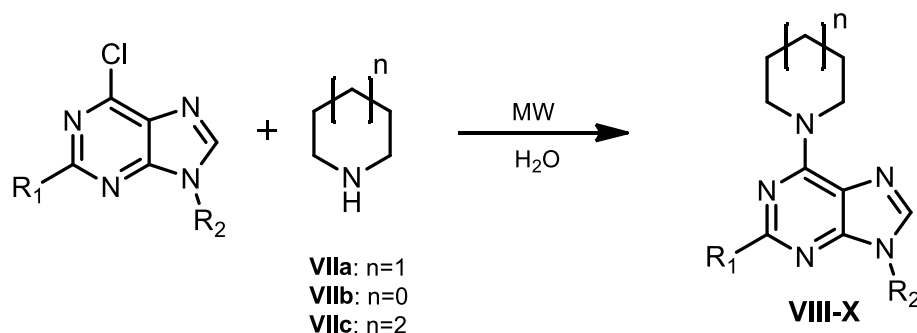
Byl také zkoumán vliv vybraných kyselin (chlorovodíková, trifluoroctová) a chloridu hlinitého jako katalyzátoru, který je přehledně zpracovaný v Tabulce 6 z níž je zřejmé, že kyselina trifluoroctová a bezvodý chlorid hlinitý jsou lepšími katalyzátory, než kyselina chlorovodíková. [30]

Tabulka 6: Vliv katalyzátoru na výtěžky S<sub>N</sub>Ar. [30]

látko	HCl (%)	TFA (%)	AlCl <sub>3</sub> (%)	látko	HCl (%)	TFA (%)	AlCl <sub>3</sub> (%)
<b>Vla</b>	36	<b>55</b>	55	<b>Vli</b>	31	<b>69</b>	69
<b>Vlb</b>	29	<b>50</b>	49	<b>Vlj</b>	23	<b>51</b>	54
<b>Vlc</b>	37	<b>49</b>	51	<b>Vlk</b>	20	<b>49</b>	45
<b>Vld</b>	41	<b>62</b>	67	<b>Vll</b>	23	<b>54</b>	46
<b>Vle</b>	34	<b>50</b>	57	<b>Vlm</b>	28	<b>57</b>	65
<b>Vlf</b>	21	<b>51</b>	46	<b>Vln</b>	45	<b>61</b>	67
<b>Vlg</b>	38	<b>54</b>	52	<b>Vlo</b>	45	<b>51</b>	68
<b>Vlh</b>	31	<b>45</b>	46	<b>Vlp</b>	43	<b>70</b>	71

Dalším zajímavým příkladem je práce Gua a kolektivu, kteří se nejprve zaměřili na mikrovlnami asistovanou nukleofilní substituci 2,6-dichlor-9*H*-purinu piperidinem ve vodě a zkoumali optimální nastavení parametrů syntézy, jako je doba a teplota reakce, nebo výkon mikrovlnného reaktoru. Zdálo se, že reakční doba 8 minut byla ideální pro dosažení chemické rovnováhy, protože překročením této doby se výtěžky zvyšovaly velice nepatrně. Výkon se jako ideální jevil při 400 W a teplota 100 °C. Touto optimalizací dokázali

izolovat 2-chlor-6-piperidino-9*H*-purin ve výtěžku 82% aniž by byla použita jakákoliv další báze. [31]



Obrázek 14: Reakční schéma  $S_NAr$  atomu chloru v poloze 6 purinového skeletu s piperidinem **VIIa**, pyrrolidinem **VIIb** a hexamethylenaminem **VIIc**. [31]

Dále byla provedena řada nukleofilních substitucí 6-chlorpurinových derivátů sekundárními cyklickými aminy – piperidinem, pyrrolidinem a hexamethylenaminem. Výsledky jsou zhodnoceny v Tabulce 7. U piperidinu reakce probíhala (experiment 1–10), zřejmě pro jeho vyšší bazicitu, která ovlivní i rozpustnost purinu ve vodě, se všemi vybranými purinovými deriváty. V případě pyrrolidinu reakce neprobíhala a proto bylo nutné zvýšit rozpustnost purinu přidáním další báze do reakční směsi. Přidáním NaOH jako báze bylo dosaženo výtěžků v rozmezí 77–93 % (experiment 11–19), čímž bylo potvrzeno, že rozpustnost výchozí látky v reakční směsi hraje zásadní roli při průběhu reakce. U hexamethylenaminu reakce neprobíhala ani při přidání NaOH jako báze, pravděpodobně kvůli tomu, že se jedná o stericky bráněný amin (experiment 20). Z provedených reakcí je zřejmý vliv substituentu navázaného v poloze N9 na výsledný výtěžek reakce. V případě, že byl substituentem kyanoethyl nebo allyl, byly výtěžky, ve srovnání s jinými substituovanými substráty, vyšší. Toto chování lze připsat sterickému bránění. [31]

Tabulka 7: S<sub>N</sub>Ar 6-chlor-9*H*-purinu s piperidinem<sup>a</sup>, pyrrolidinem<sup>b</sup>, hexamethylenaminem<sup>b</sup>.

Reakce	n	Produkt	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Izolovaný výtěžek (%)
1	1	VIIIa	Cl	H	95
2	1	VIIIb	H	ribóza	82
3	1	VIIIc	Cl	ribóza	84
4	1	VIII d	NH <sub>2</sub>	ribóza	78
5	1	VIII e	H	–CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CN	86
6	1	VIII f	Cl	–CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CN	88
7	1	VIII g	H	–CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	84
8	1	VIII h	Cl	–CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	86
9	1	VIII i	H	–CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	80
10	1	VIII j	Cl	–CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	83
11	0	IX a	H	H	91
12	0	IX b	Cl	H	93
13	0	IX c	NH <sub>2</sub>	H	90
14	0	IX d	H	ribóza	79
15	0	IX e	Cl	ribóza	81
16	0	IX f	NH <sub>2</sub>	ribóza	77
17	0	IX g	Cl	–CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	83
18	0	IX h	Cl	–CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CN	84
19	0	IX i	Cl	–CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	80
20	2	X a	H	H	Bez reakce

<sup>a</sup> Reakční podmínky: 2,6-dichlorpurinový derivát (1 mmol), piperidin (4 mmol), H<sub>2</sub>O (2 mL), MW (400 W, 100 °C)

<sup>b</sup> Reakční podmínky: 6-chlorpurinový derivát (1 mmol), pyrrolidin/hexamethylenamin (1,2 mmol), H<sub>2</sub>O (2 mL), NaOH (2 mmol), MW (400 W, 100 °C).

Pro demonstraci výhody použití mikrovlnami asistované syntézy provedl Guo a kolektiv srovnávací reakci za stejných podmínek pomocí konvenčního ohřevu v olejové lázni, jejímž produktem byla látka VIIIa. Reakce trvající 24 hodin poskytla pouze 15 % izolovaný výtěžek, což jasně dokazuje výhodu mikrovlnného záhřevu oproti ohřevu konvenčnímu. [31]

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**



### 3 PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ

Teploty tání ( $t_f$ ) uvedené v diplomové práci byly měřeny na Koflerově bloku a nejsou korigovány. Měření infračervených spekter (IR) bylo prováděno na přístroji FTIR ALPHA-T (Bruker) v podobě KBr tablet. Při výpisu spekter z IR byly použity následující zkratky charakterizující intenzitu absorpčních pásů: s (silná), m (střední), w (slabá), případně také šířku pásu: b (široký pás). Tenkovrstvá chromatografie (TLC) využívaná pro monitorování reakcí byla prováděna na deskách typu Alugram Sil G/UV<sub>254</sub> firmy Macherey-Nagel. Jako stacionární fáze pro sloupcovou chromatografii byl použit silikagel od firmy Macherey-Nagel a jako mobilní fáze byla použita směs chloroform/metanol v poměrech (8/1, v/v) jako systém a, ethyl-acetát/petrolether v poměru (1/1, v/v) jako systém b. Nukleární magnetická rezonance byla prováděna na přístroji JEOL JNM-ECZ 400R/S3 pracujícím při frekvenci 399,78 MHz (<sup>1</sup>H) a 100,53 MHz (<sup>13</sup>C). Chemické posuny v <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektrech jsou uváděny v jednotkách ppm. Jako inertní standardy byla používána rozpouštědla (<sup>1</sup>H:  $\delta$ (reziduální DMSO-*d*<sub>5</sub>) = 2,50 ppm;  $\delta$ (reziduální CHCl<sub>3</sub>) = 7,27 ppm; <sup>13</sup>C:  $\delta$ (reziduální CDCl<sub>3</sub>) = 77,16 ppm). Pro účel interpretace vodíkových spekter byly využity následující zkratky: s (singlet), d (dublet), t (triplet), m (multiplet). Kvalitativní analýza reakčních směsí a finálních látek byla provedena pomocí plynového chromatografu s plamenově ionizačním detektorem Smimadzu 2010 (GC-FID), případně s hmotnostním spektrometrem (GC-MS) vybaveným kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem (Shimadzu QP2010). Plynový chromatograf (GC-FID) byl vybaven kolonou Supelco SLB-5ms (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm). Pro analýzy byl zvolen následující teplotní program: 100 °C/7 min; 25 °C/min s teplotou nástřiku 250 °C. Nosný plyn: N<sub>2</sub>. Plynový chromatograf (GC-MS) byl vybaven kolonou EQUITY 1 (30 m × 0,32 mm × 1,0 μm). Pro analýzy byl zvolen následující teplotní program: 100 °C/7 min; 30 °C/min s teplotou nástřiku 250 °C. Nosný plyn: He, iontový zdroj: 200 °C, 70 eV. Všechny GC-MS analýzy byly provedeny za lineární konstantní rychlosti 52 cm/s. Ve výpisech signálů z hmotnostních spekter jsou uvedeny hodnoty signálů s relativním zastoupením nejméně 5 %, vyjma molekulových iontů. Hodnoty intenzit vybraných fragmentů jsou uvedeny v závorce za hodnotou *m/z*. Mikrovlnami asistované syntézy byly provedeny na mikrovlnném reaktoru Discovery SP od firmy CEM. Podmínky použité pro jednotlivé reakce, jsou blíže popsány v experimentální a diskuzní části této práce (kapitola 4 a 5).

Výchozí látka 2,6-dichlor-9*H*-purin, reakční činidla a rozpouštědla pro syntézy byly získány z komerčních zdrojů a byly použity bez dalších úprav.

## 4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 4.1 Alkylace 2,6-dichlor-9H-purinu

Do baňky o objemu 100 cm<sup>3</sup> bylo naváženo 5 g (26,45 mmol) 2,6-dichlor-9H-purinu, který byl následně rozpuštěn v 50 cm<sup>3</sup> dimethylsulfoxidu. Vzniklý roztok byl chlazen ve vodní lázni s ledem na teplotu 15–18 °C, kdy bylo přidáno 5,5 g (36,70 mmol) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 6,60 cm<sup>3</sup> (66,15 mmol) 2-jodpropanu v uvedeném pořadí. Reakce probíhala 8 hodin (monitorováno pomocí TLC) za nepřetržitého míchání a chlazení použitím ledu na teplotu 15–18 °C. Po ukončení reakce bylo do směsi přidáno asi 100 cm<sup>3</sup> destilované vody a směs byla extrahována v dělicí nálevce ethyl-acetátem, kdy se v horní části dělicí nálevky oddělil organický podíl, který byl převeden do kádinky. Vodný podíl byl vrácen do děličky a dále extrahován dalšími podíly ethyl-acetátu. Tento postup byl proveden šestkrát, kdy každá extrakce byla prováděna 15–20 cm<sup>3</sup> ethyl-acetátu. Spojené organické podíly byly následně promyty nasyceným roztokem NaCl (2 × 20 cm<sup>3</sup>), sušeny nad síranem sodným a odpařeny na rotační vakuové odparce (RVO). Odpařením byl získán surový produkt v podobě žlutého krystalického prášku, který bylo nezbytné přechistit sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a), čímž došlo k oddělení dvou vznikajících isomerů.

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

Čistý N9 isomer byl získán v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 4,27 g (70 %);  $t_i = 148\text{--}150\text{ °C}$  ( $t_{i(\text{lit})} = 149\text{--}151\text{ °C}$  [32]);  $R_f = 0,58$  (systém a).

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  1,56 (d,  $J = 6,9$  Hz, 6H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 4,83 (m, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 8,85 (s, 1H, NC<sup>8</sup>HN) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  21,7 (CH<sub>3</sub>); 48,0 (CH); 130,7 (C); 146,6 (CH); 149,5 (C); 150,5 (C); 152,9 (C) ppm.

IR (KBr): 3119 (w), 2986 (w), 2975 (w), 1783 (w), 1588 (s), 1556 (s), 1488 (m), 1463 (m), 1403 (w), 1390 (m), 1359 (s), 1318 (m), 1275 (m), 1245 (s), 1216 (s), 1186 (m), 1158 (s), 1139 (m), 1107 (w), 1089 (w), 959 (m), 872 (s), 778 (m), 682 (w), 645 (m), 628 (m), 595 (m) cm<sup>-1</sup>.

GC-EI-MS ( $t_R = 14,1$  min): 40 (6), 41 (74), 42 (14), 43 (100), 47 (6), 53 (6), 64 (6), 65 (5), 73 (10), 92 (6), 99 (6), 153 (51), 155 (16), 179 (10), 188 (38), 189 (15), 190 (24), 191 (9), 215 (38), 217 (26), 230 (M<sup>+</sup>(<sup>35</sup>Cl<sub>2</sub>), 49), 232 (M<sup>+</sup>(<sup>35</sup>Cl+<sup>37</sup>Cl), 32), 230 (M<sup>+</sup>(<sup>37</sup>Cl<sub>2</sub>), 5) *m/z* (%).

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

Čistý N7 isomer byl získán v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 0,61 g (10 %);  $t_f = 152\text{--}154\text{ }^\circ\text{C}$  ( $t_{f(\text{lit})} = 151\text{--}153\text{ }^\circ\text{C}$  [33]);  $R_f = 0,23$  (systém a).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  1,60 (d,  $J = 6,7$  Hz, 6H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 5,14 (m, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 9,05 (s, 1H,  $\text{NC}^8\text{HN}$ ) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  22,7 ( $\text{CH}_3$ ); 49,7 (CH); 121,5 (C); 143,0 (CH); 149,6 (C); 150,7 (C); 163,2 (C) ppm.

IR (KBr): 3110 (w), 2985 (w), 2961 (w), 2925 (w), 2359 (w), 2339(w), 1824(w), 1596(s), 1530 (s), 1461 (s), 1404 (s), 1389 (s), 1378 (s) 1314 (s), 1276 (m), 1197 (m), 1166 (s), 1140 (m), 1102 (m), 997 (s), 869 (s), 784 (s), 634 (s)  $\text{cm}^{-1}$

GC-EI-MS ( $t_R = 15,7$  min): 40 (5), 41 (69), 42 (14), 43 (100), 47 (6), 64 (6), 73 (10), 76 (5), 92 (5), 99 (5), 118 (6), 153 (49), 155 (14), 179 (9), 188 (37), 189 (14), 190 (23), 191 (8), 215 (37), 217 (24), 230 ( $\text{M}^+$  ( $^{35}\text{Cl}_2$ ), 48), 232 ( $\text{M}^+$  ( $^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}$ ), 30), 230 ( $\text{M}^+$  ( $^{37}\text{Cl}_2$ ), 5)  $m/z$  (%).

**4.2 Mikrovlnami asistovaná nukleofilní aromatičká substituce atomu chloru na C6**

Sloučenina **2a** (1 g; 4,3 mmol) byla rozpuštěna v 15  $\text{cm}^3$  ethanolu ve 35  $\text{cm}^3$  zkumavce pro mikrovlnné syntézy. Do vzniklého roztoku byl přidán 2,0 molární přebytek anilinu (při syntéze sloučeniny **3**), nebo 1,1 molární přebytek alifatického aminu (methylamin, ethylamin, nebo dimethylamin) a dvoumolární přebytek triethylaminu (při syntéze sloučenin **4**, **5** a **6**). Zkumavka byla uzavřena speciálním silikonovým septem a vložena do mikrovlnného reaktoru s teflonovou bezpečnostní nádobou. Reakční podmínky byly nastaveny pomocí softwaru Synergy-D následovně: tlak 21 bar, výkon 200 W, teplota 150  $^\circ\text{C}$ , čas 15 minut. Po dokončení reakce byla provedena zkouška pomocí TLC a následně byla reakční směs analyzována pomocí GC-MS. Po zchlazení reakční směsi na laboratorní teplotu byla tato naředěna destilovanou vodou a následně extrahována 6  $\times$  20  $\text{cm}^3$  ethyl-acetátu. Spojené organické podíly byly promyty 2  $\times$  20  $\text{cm}^3$  nasyceného roztoku chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Po odpaření rozpouštědla na RVO byl surový produkt purifikován sloupcovou chromatografií (silikagel, systém b).

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

Čistý produkt byl získán purifikací pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, systém b) v podobě nažloutlých krystalků ve výtěžku 937 mg (96 %);  $t_r = 118\text{--}120\text{ }^\circ\text{C}$ .

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  1,54 (d,  $J = 6,6$  Hz, 6H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 4,70 (m, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 7,09 (t,  $J = 7,9$  Hz, 1H, Ph); 7,36 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, Ph); 7,84 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H, Ph); 8,43 (s, 1H,  $\text{NC}^8\text{HN}$ ); 10,23 (s, 1H,  $\text{C}^6\text{NH}$ ) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  22,6 ( $\text{CH}_3$ ); 47,5 (CH); 119,7 (C); 121,8 (CH); 123,9 (CH); 129,0 (CH); 139,4 (C); 140,9 (C); 150,8 (C); 152,5 (CH); 153,0 (C) ppm.

IR (KBr): 3110 (w), 2985 (w), 2961 (w), 2925 (w), 2359 (w), 2339 (w), 1824 (w), 1596 (s), 1567 (w), 1530 (m), 1461 (s), 1389 (s), 1378 (s), 1314 (m), 1276 (m), 1227 (s), 1197 (m), 1166 (m), 1140 (m), 1102 (w), 997 (s), 869 (m), 784 (m), 634 (m)  $\text{cm}^{-1}$ .

GC-EI-MS ( $t_r = 25,0$  min): 41 (24), 43 (22), 51 (22), 65 (11), 76 (6), 77 (65), 78 (7), 92 (9), 102 (6), 103 (11), 104 (14), 116 (5), 129 (10), 156 (11), 182 (5), 209 (10), 210 (89), 211 (12), 244 (88), 245 (38), 246 (33), 247 (13), 252 (7), 286 (37), 287 ( $\text{M}^+(\text{}^{35}\text{Cl})$ , 100), 288 (28), 289 ( $\text{M}^+(\text{}^{37}\text{Cl})$ , 30), 290 (5),  $m/z$  (%).

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

Čistý produkt byl získán purifikací pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, systém b) v podobě bezbarvých krystalků ve výtěžku 937 mg (96 %);  $t_r = 165\text{--}170\text{ }^\circ\text{C}$ .

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  1,49 (d,  $J = 7,0$  Hz, 6H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 2,92 (s, 3H,  $\text{C}^6\text{NHCH}_3$ ); 4,66 (m, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 8,12 (s, 1H,  $\text{C}^6\text{NHCH}_3$ ); 8,23 (s, 1H,  $\text{NC}^8\text{HN}$ ) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  22,1 ( $\text{CH}_3$ ); 27,1 ( $\text{CH}_3$ ); 46,6 (CH); 118,5 (C); 139,0 (CH); 148,9 (C); 152,8 (C); 155,5 (C) ppm.

IR (KBr): 3274(s), 2978(m), 2932(m), 1631(s), 1568(m), 1542(w), 1475(w), 1390(w), 1359(m), 1311(m), 1290(m), 1226(m), 1203(w), 1163(w), 1104(w), 1074(w), 979(w), 930(m), 788(w), 658(w), 638(w)  $\text{cm}^{-1}$ .

GC-EI-MS ( $t_r = 15,0$  min): 40 (7), 41 (36), 42 (24), 43 (25), 52 (5), 53 (16), 54 (9), 65 (6), 66 (13), 67 (16), 68 (9), 79 (10), 80 (8), 91 (5), 92 (15), 93 (10), 94 (9), 106 (10), 119 (73), 120 (12), 121 (9), 133 (9), 146 (17), 147 (10), 148 (34), 153 (6), 154 (85), 155 (55), 156

(30), 157 (17), 158 (1), 159 (1), 160 (0), 161 (16), 182 (31), 183 (98), 184 (18), 185 (33), 190 (5), 197 (14), 210 (9), 225 ( $M^+(^{35}\text{Cl})$ , 100), 226 (12), 227 ( $M^+(^{37}\text{Cl})$ , 33),  $m/z$  (%).

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

Čistý produkt byl získán purifikací pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, systém b) v podobě bezbarvých krystalků ve výtěžku 975 mg (94 %);  $t_t = 118\text{--}120$  °C ( $t_{t(\text{lit})} = 119$  °C [34]).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  1,16 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H,  $\text{C}^6\text{NHCH}_2\text{CH}_3$ ); 1,49 (d,  $J = 6,7$  Hz, 6H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 3,45 (s, 2H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_3$ ); 4,66 (m, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 8,19 (s, 1H,  $\text{C}^6\text{NHCH}_2\text{CH}_3$ ); 8,23 (s, 1H,  $\text{NC}^8\text{HN}$ ) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  14,5 ( $\text{CH}_3$ ); 22,0 ( $\text{CH}_3$ ); 34,8 ( $\text{CH}_2$ ); 46,6 (CH); 118,4 (C); 139,0 (CH); 149,1 (C); 152,8 (C) ppm; 154,9 (C) ppm.

IR (KBr): 3111 (w), 2971 (m), 2932 (w), 1626 (s), 1573 (m), 1537 (m), 1477 (w), 1451 (m), 1414 (w), 1347 (m), 1309 (s), 1292 (s), 1225 (s), 1131 (w), 1080 (w), 1052 (m), 1001 (m), 942 (m), 890 (w), 845 (w), 788 (m), 643 (m), 539 (m)  $\text{cm}^{-1}$ .

GC-EI-MS ( $t_R = 15,3$  min): 40 (9), 41 (38), 42 (13), 43 (38), 44 (82), 53 (11), 54 (13), 55 (5), 62 (6), 65 (7), 66 (11), 67 (10), 68 (6), 79 (5), 80 (7), 91 (5), 92 (21), 93 (8), 106 (8), 107 (13), 108 (9), 118 (6), 119 (48), 120 (6), 133 (21), 134 (44), 146 (20), 153 (8), 153 (8), 154 (19), 155 (12), 156 (7), 160 (16), 161 (29), 162 (5), 169 (55), 170 (5), 171 (18), 182 (100), 183 (9), 184 (32), 196 (44), 197 (25), 198 (16), 199 (8), 211 (30), 213 (10), 224 (58), 225 (7), 226 (19), 239 ( $M^+(^{35}\text{Cl})$ , 89), 240 (13), 241 ( $M^+(^{37}\text{Cl})$ , 29)  $m/z$  (%).

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

Čistý produkt byl získán purifikací pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, systém b) v podobě bezbarvých krystalků ve výtěžku 985 mg (95 %);  $t_t = 147\text{--}150$  °C. ( $t_{t(\text{lit})} = 145\text{--}149$  °C [35])

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  1,49 (d,  $J = 7,0$  Hz, 6H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 3,30 (s, 6H,  $\text{C}^6\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 4,68 (m, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 8,25 (s, 1H,  $\text{NC}^8\text{HN}$ ) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  22,0 ( $\text{CH}_3$ ); 46,5 ( $\text{CH}_3$ ); 47,1 (CH); 118,5 (C); 138,1 (CH); 150,8 (C); 152,1 (C); 154,5 (C) ppm.

IR (KBr): 3102(m), 2973(m), 1725(w), 1604(s), 1560(m), 1481(w), 1403(m), 1361(m), 1310(s), 1227(s), 1187(w), 1140(m), 1147(w), 1088(w), 1033(m), 942(m), 873 (m), 784(m), 677(w), 658(m), 646(m), 609(w), 437 (w)  $\text{cm}^{-1}$ .

GC-EI-MS ( $t_R = 15,2$  min): 40 (5), 41 (24), 42 (25), 43 (20), 44 (42), 53 (5), 66 (7), 67 (14), 79 (6), 92 (15), 93 (8), 105 (5), 106 (7), 119 (49), 120 (7), 132 (9), 133 (11), 146 (17), 153 (8), 154 (12), 155 (8), 160 (5), 161 (14), 168 (100), 169 (10), 170 (32), 182 (56), 183 (5), 184 (18), 196 (8), 197 (7), 210 (75), 211 (9), 212 (24), 224 (7), 239 ( $M^+(^{35}\text{Cl})$ , 87), 240 (10), 241 ( $M^+(^{37}\text{Cl})$ , 24)  $m/z$  (%).

### 4.3 Nukleofilní aromatická substituce atomu chloru na C2 prováděná konvenčním způsobem

#### 9-isopropyl- $N^2, N^6$ -difenyl-9H-purin-2,6-diamin (7a)

Sloučenina **3** (20 mg; 69,5  $\mu\text{mol}$ ) byla rozpuštěna v 0,5  $\text{cm}^3$  butan-1-olu v 15  $\text{cm}^3$  varné baňce. Do vzniklého roztoku byl přidán 10,0 molární přebytek anilinu a vzniklá reakční směs byla refluxována po dobu 6 h při 160  $^\circ\text{C}$  pod zpětným chladičem. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC. Po ukončení reakce bylo do směsi přidáno asi 5  $\text{cm}^3$  destilované vody a směs byla extrahována v dělicí nálevce ethylacetátem. V horní části dělicí nálevky došlo k oddělení organického podílu, který byl převeden do erlenmayerovy baňky, a vodný podíl byl znovu promýván podíly ethyl-acetátu v dělicí nálevce. Tento potup byl proveden pětkrát, kdy každá extrakce byla provedena asi 5  $\text{cm}^3$  ethyl-acetátu. Spojené organické podíly byly následně promyty nasyceným roztokem NaCl (2  $\times$  5  $\text{cm}^3$ ), sušeny nad síranem sodným a analyzovány pomocí GC-MS, kdy byl stanoven relativní výtěžek reakce 18 %.

### 4.4 Mikrovlnami asistovaná nukleofilní aromatická substituce atomu chloru na C2

#### Obecný postup přípravy sloučenin 7a–10a:

Výchozí látka byla rozpuštěna ve 2  $\text{cm}^3$  butan-1-olu v 15  $\text{cm}^3$  zkumavce určené pro mikrovlnné syntézy. K reakční směsi byl přidán 10 molární přebytek anilinu s ekvimolárním množstvím kyseliny trifluoroctové. Zkumavka byla uzavřena speciálním silikonovým septem a vložena do mikrovlnného reaktoru s teflonovou bezpečnostní nádobou. Reakční podmínky byly nastaveny pomocí softwaru Synergy-D následovně: tlak

21 bar, výkon 300 W, teplota 160 °C, čas 1 h. Po dokončení reakce byla provedena zkouška pomocí TLC a následně byla reakční směs analyzována pomocí GC-MS. Po zchlazení reakční směsi na laboratorní teplotu byla tato naředěna destilovanou vodou a následně extrahována 6 × 10 cm<sup>3</sup> ethyl-acetátu. Spojené organické podíly byly promyty 2 × 10 cm<sup>3</sup> nasyceného roztoku chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Po odpaření rozpouštědla na RVO byl surový produkt purifikován sloupcovou chromatografií.

### Obecný postup přípravy sloučenin 7b–10b:

Výchozí látka byla rozpuštěna ve 2 cm<sup>3</sup> butan-1-olu v 15 cm<sup>3</sup> zkumavce určené pro mikrovlnné syntézy. K reakční směsi byl přidán 10 molární přebytek benzylaminu. Zkumavka byla uzavřena speciálním silikonovým septem a vložena do mikrovlnného reaktoru s teflonovou bezpečnostní nádobou. Reakční podmínky byly nastaveny pomocí softwaru Synergy-D následovně: tlak 21 bar, výkon 300 W, teplota 160 °C, čas 1 h. Po dokončení reakce byla provedena zkouška pomocí TLC a následně byla reakční směs analyzována pomocí GC-MS. Po zchlazení reakční směsi na laboratorní teplotu byla tato naředěna destilovanou vodou a následně extrahována 6 × 10 cm<sup>3</sup> ethyl-acetátu. Spojené organické podíly byly promyty 2 × 10 cm<sup>3</sup> nasyceného roztoku chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Po odpaření rozpouštědla na RVO byl surový produkt purifikován sloupcovou chromatografií.

### 9-isopropyl-*N*<sup>2</sup>,*N*<sup>6</sup>-difenyl-9*H*-purin-2,6-diamin (7a)

Sloučenina **7a** byla připravena dle obecného postupu z výchozích navážek: purin **3** (150 mg; 0,52 mmol), butan-1-ol (2 cm<sup>3</sup>), anilin (473 μL, 5,2 mmol), kyselina trifluoroctová (39 μL, 0,52 mmol). Surový produkt purifikován sloupcovou chromatografií (silikagel, systém b), kdy byla získána směs sloučeniny **3** a **7a** v relativním poměru 53:47 dle GC-MS. Tato byla následně podrobena krystalizaci z methanolu, která poskytla titulní látku v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 30,5 mg (17 %). *t*<sub>t</sub> = 211–213 °C

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 1,64 (d, *J* = 7,0 Hz, 6H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 4,77 (m, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 7,02 (t, 1H, Ph); 7,04 (s, 1H, C<sup>6</sup>NH); 7,11 (t, 1H, Ph); 7,34 (t, 2H, Ph); 7,37 (t, 2H, Ph); 7,64 (s, 1H, C<sup>2</sup>NH); 7,70 (s, 1H, NC<sup>8</sup>HN); 7,71 (d, 2H, Ph); 7,78 (d, 2H, Ph); ppm.

GC-EI-MS ( $t_R = 80,5$  min): 41 (8), 43 (8), 51 (9), 65 (6), 77 (38), 78 (5), 92 (6), 93 (10), 103 (7), 104 (16), 118 (5), 131 (5), 144 (8), 184 (5), 185 (22), 210 (8), 227 (22), 301 (56), 302 (21), 343 (18), 344 ( $M^+$ , 100), 345 (24)  $m/z$  (%).

#### ***N*<sup>2</sup>-benzyl-9-isopropyl-*N*<sup>6</sup>-fenyl-9*H*-purin-2,6-diamin (7b)**

Sloučenina **7b** byla připravena dle obecného postupu z výchozích navážek: purin **3** (150 mg; 0,52 mmol), butan-1-ol (2 cm<sup>3</sup>), benzylamin (569 μL, 5,2 mmol), kyselina trifluoroctová (39 μL, 0,52 mmol). Po dokončení reakce byla provedena zkouška pomocí TLC a následně byla reakční směs analyzována pomocí GC-MS, kdy byl stanoven relativní poměr výchozí látky **3** a produktu **7b** (53:47).

GC-EI-MS ( $t_R = 81,6$  min): 41 (18), 43 (30), 44 (6), 51 (8), 65 (19), 77 (38), 78 (5), 79 (6), 91 (77), 92 (10), 93 (17), 103 (6), 104 (18), 106 (23), 119 (7), 134 (7), 158 (6), 184 (5), 210 (32), 211 (14), 224 (5), 239 (5), 252 (27), 253 (29), 254 (11), 281 (8), 315 (34), 316 (9), 344 (9), 357 (15), 358 ( $M^+$ , 100), 359 (25)  $m/z$  (%).

#### ***9*-isopropyl-*N*<sup>6</sup>-methyl-*N*<sup>2</sup>-fenyl-9*H*-purin-2,6-diamin (8a)**

Sloučenina **8a** byla připravena dle obecného postupu z výchozích navážek: purin **4** (150 mg; 0,66 mmol), butan-1-ol (2 cm<sup>3</sup>), anilin (603 μL, 6,64 mmol), kyselina trifluoroctová (49 μL, 0,66 mmol). Po dokončení reakce byla provedena zkouška pomocí TLC a následně byla reakční směs analyzována pomocí GC-MS, kdy byl stanoven relativní poměr výchozí látky **4** a produktu **8a** (51:49).

GC-EI-MS ( $t_R = 27,8$  min): 41 (12), 42 (11), 43 (13), 51 (5), 65 (6), 67 (7), 77 (19), 92 (6), 93 (7), 104 (9), 108 (30), 118 (5), 119 (6), 121 (6), 123 (37), 165 (18), 210 (13), 211 (13), 212 (11), 224 (5), 239 (43), 240 (36), 241 (5), 254 (10), 267 (7), 281 (13), 282 ( $M^+$ , 100), 283 (18)  $m/z$  (%).

#### ***N*<sup>2</sup>-benzyl-9-isopropyl-*N*<sup>6</sup>-methyl-9*H*-purin-2,6-diamin (8b)**

Sloučenina **8b** byla připravena dle obecného postupu z výchozích navážek: purin **4** (150 mg; 0,66 mmol), butan-1-ol (2 cm<sup>3</sup>), benzylamin (726 μL, 6,64 mmol), kyselina trifluoroctová (49 μL, 0,66 mmol). Po dokončení reakce byla provedena zkouška pomocí



TLC a následně byla reakční směs analyzována pomocí GC-MS, kdy byl stanoven relativní poměr výchozí látky **4** a produktu **8b** (83:13).

GC-EI-MS ( $t_R = 27,7$  min): 41 (12), 42 (11), 43 (18), 65 (15), 67 (5), 68 (5), 79 (6), 91 (65), 92 (8), 94 (7), 106 (28), 107 (7), 108 (6), 119 (6), 120 (5), 121 (10), 122 (8), 133 (6), 134 (16), 135 (5), 148 (21), 149 (22), 163 (7), 176 (13), 177 (7), 191 (36), 192 (13), 211 (6), 219 (11), 224 (6), 253 (16), 254 (11), 279 (6), 295 (18), 296 ( $M^+$ , 100), 297 (20)  $m/z$  (%).

### **9-isopropyl- $N^6$ -ethyl- $N^2$ -fenyl-9H-purin-2,6-diamin (9a)**

Sloučenina **9a** byla připravena dle obecného postupu z výchozích navážek: purin **5** (150 mg; 0,63 mmol), butan-1-ol (2 cm<sup>3</sup>), anilin (567  $\mu$ L, 6,30 mmol), kyselina trifluoroctová (46  $\mu$ L, 0,63 mmol). Po dokončení reakce byla provedena zkouška pomocí TLC a následně byla reakční směs analyzována pomocí GC-MS, kdy byl stanoven relativní poměr výchozí látky **5** a produktu **9a** (51:49).

GC-EI-MS ( $t_R = 28,9$  min): 41 (16), 42 (5), 43 (23), 44 (15), 51 (6), 54 (5), 65 (7), 77 (26), 92 (11), 93 (16), 104 (12), 107 (7), 108 (25), 109 (23), 118 (8), 119 (10), 134 (7), 135 (6), 161 (6), 210 (21), 211 (11), 212 (5), 225 (16), 226 (16), 239 (33), 240 (5), 252 (7), 253 (26), 254 (23), 267 (5), 268 (10), 281 (24), 295 (10), 296 ( $M^+$ , 100), 297 (19),  $m/z$  (%).

### **$N^2$ -benzyl-9-isopropyl- $N^6$ -ethyl-9H-purin-2,6-diamin (9b)**

Sloučenina **9b** byla připravena dle obecného postupu z výchozích navážek: purin **5** (150 mg; 0,63 mmol), butan-1-ol (2 cm<sup>3</sup>), benzylamin (684  $\mu$ L, 6,30 mmol), kyselina trifluoroctová (46  $\mu$ L, 0,63 mmol). Po dokončení reakce byla provedena zkouška pomocí TLC a následně byla reakční směs analyzována pomocí GC-MS, kdy byl stanoven relativní poměr výchozí látky **5** a produktu **9b** (83:13).

GC-EI-MS ( $t_R = 28,7$  min): 40 (9), 41 (16), 43 (21), 44 (12), 51 (5), 52 (6), 56 (5), 65 (16), 68 (12), 77 (7), 80 (5), 81 (9), 91 (100), 92 (7), 93 (6), 105 (6), 106 (18), 107 (10), 108 (6), 119 (6), 134 (30), 135 (14), 136 (6), 146 (5), 162 (14), 163 (7), 176 (11), 177 (11), 204 (6), 205 (35), 206 (11), 225 (6), 233 (7), 240 (7), 253 (17), 267 (15), 268 (6), 283 (5), 293 (7), 295 (10), 309 (17), 310 ( $M^+$ , 76), 311 (23)  $m/z$  (%).

**9-isopropyl-*N*<sup>6</sup>,*N*<sup>6</sup>-dimethyl-*N*<sup>2</sup>-fenyl-9*H*-purin-2,6-diamin (10a)**

Sloučenina **10a** byla připravena dle obecného postupu z výchozích navážek: purin **6** (150 mg; 0,63 mmol), butan-1-ol (2 cm<sup>3</sup>), anilin (567 μL, 6,30 mmol), kyselina trifluoroctová (46 μL, 0,63 mmol). Po dokončení reakce byla provedena zkouška pomocí TLC a následně byla reakční směs analyzována pomocí GC-MS, kdy byl stanoven relativní poměr výchozí látky **6** a produktu **10a** (86:14).

GC-EI-MS (*t*<sub>R</sub> = 29,2 min): 41 (13), 42 (9), 43 (16), 44 (13), 51 (5), 65 (7), 67 (6), 77 (25), 92 (10), 93 (12), 104 (15), 107 (6), 108 (27), 117 (5), 118 (6), 119 (9), 209 (6), 210 (27), 211 (8), 224 (14), 225 (53), 226 (9), 237 (7), 239 (29), 253 (13), 254 (5), 267 (72), 268 (13), 281 (9), 296 (100), 297 (19), 344 (9), 357 (15), 358 (M<sup>+</sup>, 100), 359 (25) *m/z* (%).

***N*<sup>2</sup>-benzyl-9-isopropyl-*N*<sup>6</sup>,*N*<sup>6</sup>-dimethyl-9*H*-purin-2,6-diamin (10b)**

Sloučenina **10a** byla připravena dle obecného postupu z výchozích navážek: purin **6** (150 mg; 0,63 mmol), butan-1-ol (2 cm<sup>3</sup>), benzylamin (684 μL, 6,30 mmol), kyselina trifluoroctová (46 μL, 0,63 mmol). Po dokončení reakce byla provedena zkouška pomocí TLC a následně byla reakční směs analyzována pomocí GC-MS, kdy byl stanoven relativní poměr výchozí látky **6** a produktu **10b** (93:7).

GC-EI-MS (*t*<sub>R</sub> = 28,7 min): 41 (14), 42 (10), 43 (22), 44 (17), 65 (15), 77 (6), 79 (5), 91 (100), 92 (12), 93 (5), 94 (5), 106 (16), 107 (6), 108 (5), 119 (8), 120 (5), 121 (8), 133 (10), 134 (25), 135 (8), 148 (11), 162 (11), 163 (7), 176 (9), 190 (6), 204 (10), 205 (24), 206 (6), 224 (7), 233 (6), 238 (7), 239 (15), 253 (7), 267 (15), 281 (31), 282 (6), 309 (13), 310 (M<sup>+</sup>, 99), 311 (20) *m/z* (%).

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

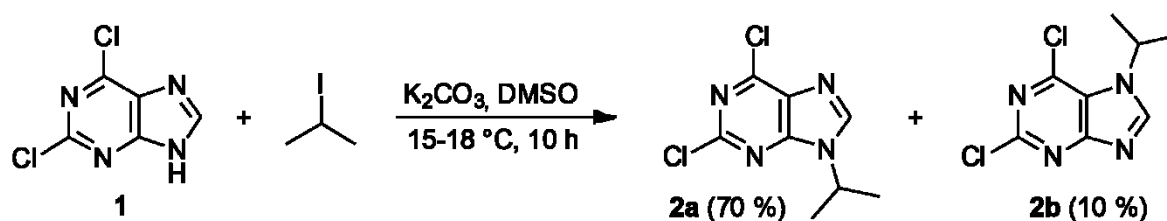
### 5.1 Komentář k diskuzní části

V následující části diplomové práce budou komentovány výsledky z uskutečněné experimentální činnosti. Tato práce zapadá do oblasti chemie purinových sloučenin, které je již řadu let věnována pozornost ve výzkumné skupině doc. Roberta Víchy.

Diplomová práce plynule navazuje na moji bakalářskou práci, v níž bylo hlavním úkolem prozkoumat možnosti mikrovlnami asistované nukleofilní aromatické substituce atomu chloru na C6 sloučeniny **2a**. Primárním cílem předložené práce bylo tedy navázat na původní práci, provést optimalizaci S<sub>N</sub>Ar na C6 a zejména pak prozkoumat možnosti aplikace mikrovlnami asistované syntézy pro nukleofilní aromatickou substituci atomu chloru v poloze 2 purinového skeletu. Poté měla být připravena série 2,6,9-trisubstituovaných purinů s doposud nepopsanou strukturou.

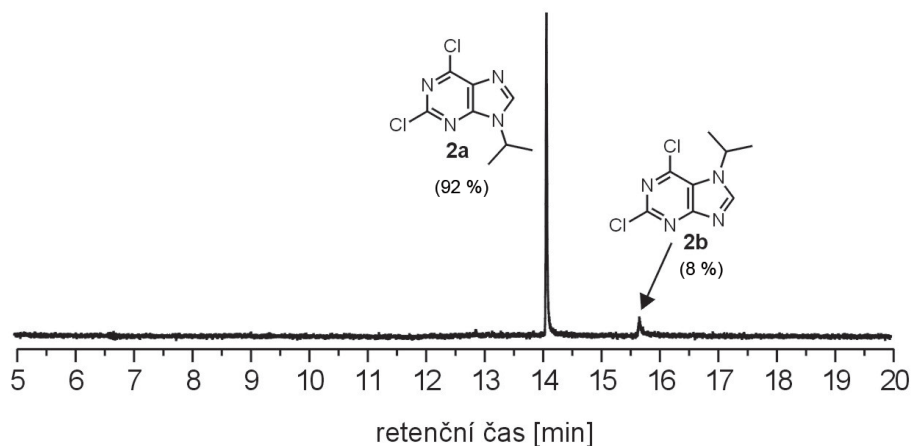
### 5.2 Alkylace 2,6-dichlor-9H-purinu

V první řadě bylo nezbytné připravit větší množství látky **2a** alkylací výchozího 2,6-dichlor-9H-purinu (**1**) 2-jodpropanem do polohy N9. Výchozí purin **1** tedy reagoval s 2-jodpropanem v dimethylsulfoxidu s přidávkem uhličitanu draselného jako báze (Obrázek 15).



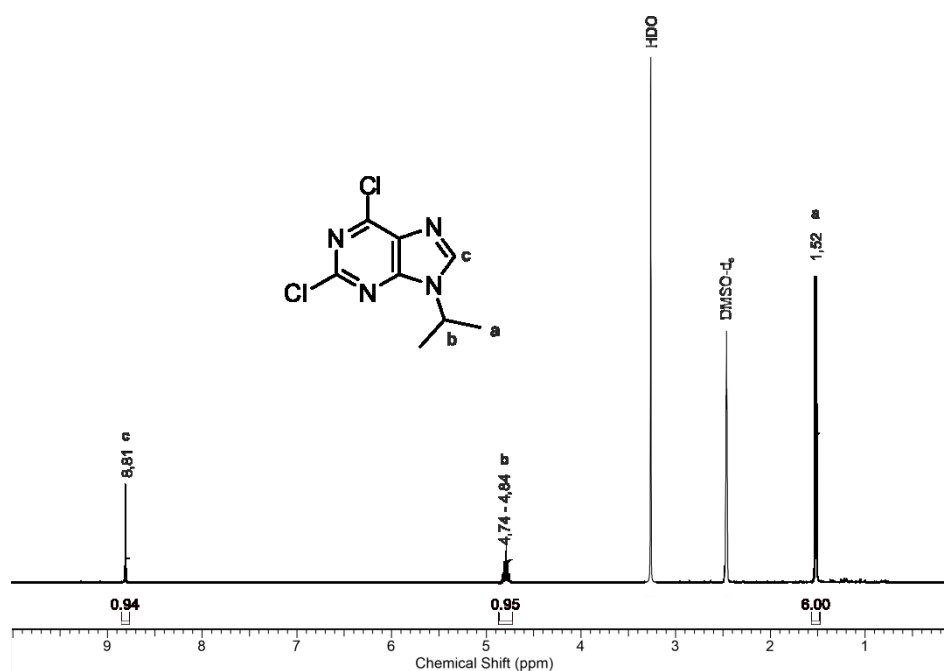
Obrázek 15: Alkylace 2,6-dichlor-9H-purinu.

Reakce byla prováděna po dobu 10 h za neustálého chlazení reakční směsi na teplotu v rozmezí 15–18 °C pomocí vodní lázně s ledem. Tyto podmínky vychází z publikace [32], kde je popsán přímý vliv teploty reakční směsi na zlepšení poměru vzniku N9-alkylového derivátu vůči jeho N7-alkylovanému izomeru. Jejich relativní zastoupení bylo stanoveno dle GC-MS na 92 % (pro N9), resp. 8 % (pro N7). (Obrázek 16).



Obrázek 16: GC-MS analýza po alkylaci 2,6-dichlor-9H-purinu (1).

Izomery od sebe byly následně odděleny pomocí sloupcové chromatografie a chromatografická čistota N9 derivátu byla potvrzena pomocí GC-MS. Struktura izomeru N9 byla následně potvrzena pomocí nukleární magnetické rezonance. V  $^1\text{H}$  NMR spektru sloučeniny **2a** (Obrázek 17) je možné pozorovat signál v oblasti 1,52 ppm odpovídající methylové skupině propan-2-ylového substituentu, dále multiplet v oblasti 4,74–4,84 ppm odpovídající CH skupině z téhož substituentu. Posledním signálem byl singlet v oblasti 8,81 ppm, který byl přiřazen atomu vodíku C<sup>8</sup>H nacházejícímu se mezi dvěma atomy dusíku imidazolového kruhu purinového skeletu.

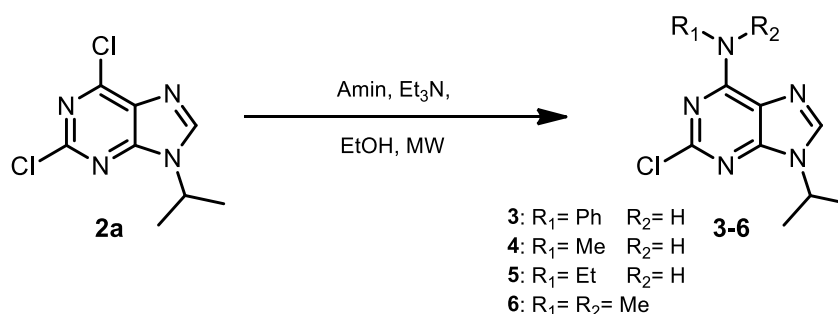


Obrázek 17:  $^1\text{H}$  NMR spektrum sloučeniny **2a**.

### 5.3 Mikrovlnami asistovaná nukleofilní aromatická substituce atomu chloru na C6

V další části diplomové práce byla provedena série nukleofilních aromatických substitucí atomu chloru v poloze 6 purinu **2a** za podmínek, které byly pilotně ověřeny již při zpracování bakalářské práce. Cílem bylo navázat různé alifatické, nebo aromatické aminy do polohy 6 pomocí mikrovlnami asistované syntézy.

Obecné schéma mikrovlnami asistovaných syntéz je uvedeno na Obrázku 18, kdy byly na mikrovlnném reaktoru zvoleny následující podmínky: výkon 200 W, teplota 150 °C a tlak 21 bar.



Obrázek 18: Obecné schéma S<sub>N</sub>Ar na C6 prováděných pomocí MW syntézy.

Pro syntézu sloučeniny **3** byl výchozí purin **2a** ponechán reagovat s 2,0 molárním přebytkem anilinu, bez použití báze po dobu 20 minut v mikrovlnném reaktoru. Pro syntézu sloučenin **4**, **5** a **6** bylo kromě 1,1 molárního množství daného alifatického aminu (methylamin, ethylamin, dimethylamin) nezbytné přidat 2,0 molární přebytek triethylaminu jako báze. Provedené experimenty, podmínky, při nichž byly prováděny, a jejich výtěžky, jsou pro lepší přehlednost zpracovány v Tabulce 8.

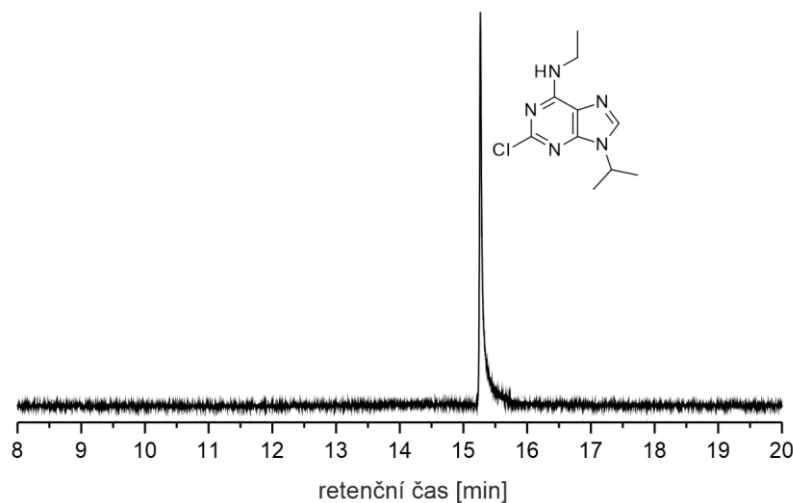
Tabulka 8: Výčet provedených S<sub>N</sub>Ar na C6 pomocí mikrovlnami asistované syntézy.

Reakce	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Amin	Et <sub>3</sub> N	Produkt	Výtěžek (%)
<b>1<sup>a</sup></b>	fenyl	H	2,0 ekv.	-	<b>3</b>	96
<b>2<sup>b</sup></b>	methyl	H	1,1 ekv.	2,0 ekv.	<b>4</b>	96
<b>3<sup>b</sup></b>	ethyl	H	1,1 ekv.	2,0 ekv.	<b>5</b>	94
<b>4<sup>b</sup></b>	methyl	methyl	1,1 ekv.	2,0 ekv.	<b>6</b>	95

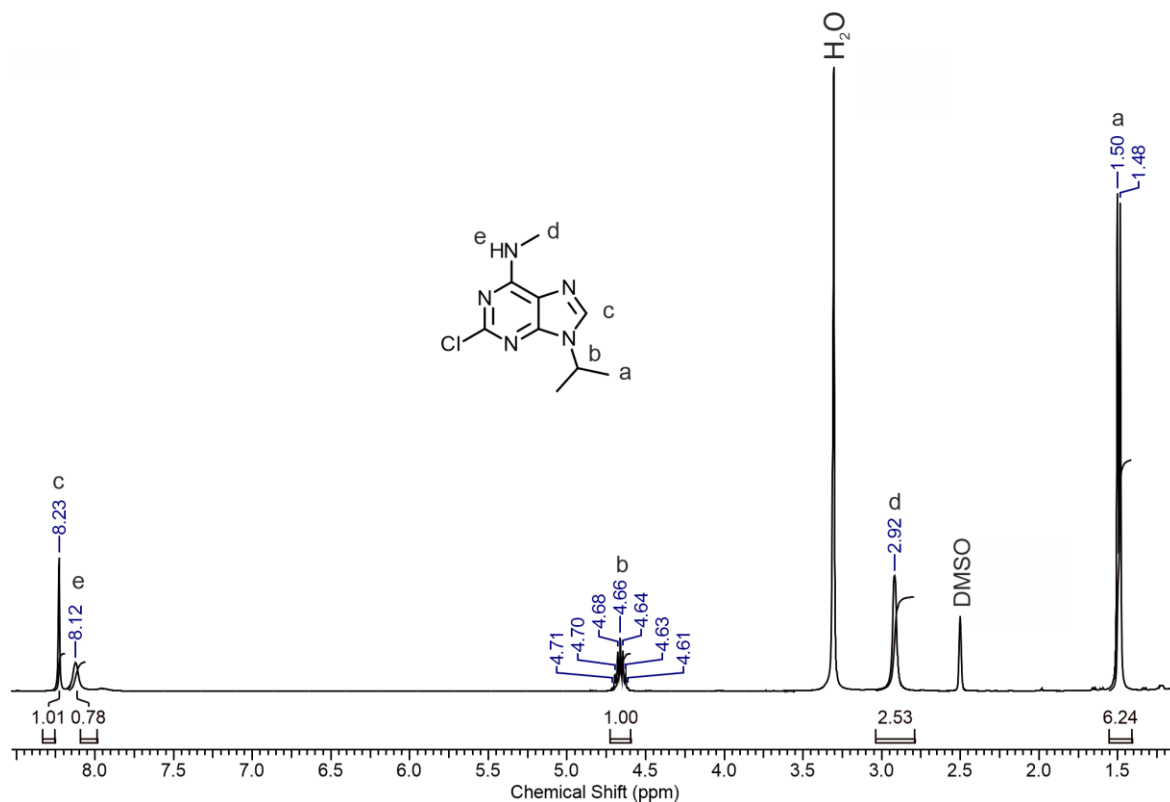
Podmínky reakce: <sup>a</sup>t = 20 min.; <sup>b</sup>t = 15 min.

Sloučeniny **3–6** byly získány ve velmi vysokých výtěžcích a odpovídající čistotě po přečištění surových směsí pomocí sloupcové chromatografie. Jejich chromatografická

čistota byla následně ověřena pomocí GC-MS. Příklad chromatogramu purifikované látky **5** lze vidět na Obrázku 19.



Obrázek 19: GC-MS analýza sloučeniny **5** po purifikaci sloupcovou chromatografií.



Obrázek 20:  $^1\text{H}$  NMR spektrum sloučeniny **4**.

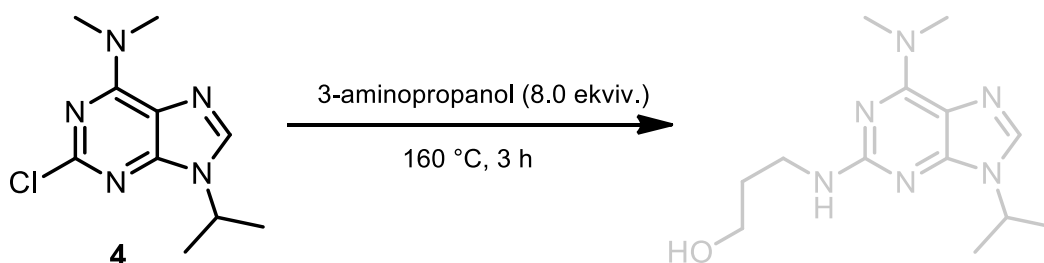
K potvrzení struktury sloučenin **3–6** byla použita nukleární magnetická rezonance. V  $^1\text{H}$  NMR spektru sloučeniny **5** (Obrázek 20) je možné pozorovat signál v oblasti 1,49 ppm odpovídající methylové skupině propan-2-ylového substituentu, dále multiplet v oblasti 4,61–4,71 ppm odpovídající CH skupině z téhož substituentu. Signál poukazující na

přítomnost methylového substituentu v poloze  $N^6$  se nachází v oblasti 2,92 ppm. Dalším signálem je singlet v oblasti 8,12 ppm, který poukazuje na přítomnost atomu vodíku sekundární amino skupiny navázané v poloze 6 purinového kruhu. Posledním signálem je singlet v oblasti 8,23 ppm, který byl přiřazen atomu vodíku  $C^8H$  nacházejícímu se mezi dvěma atomy dusíku imidazolového kruhu purinového skeletu.

#### 5.4 Nukleofilní aromatická substituce atomu chloru na C2

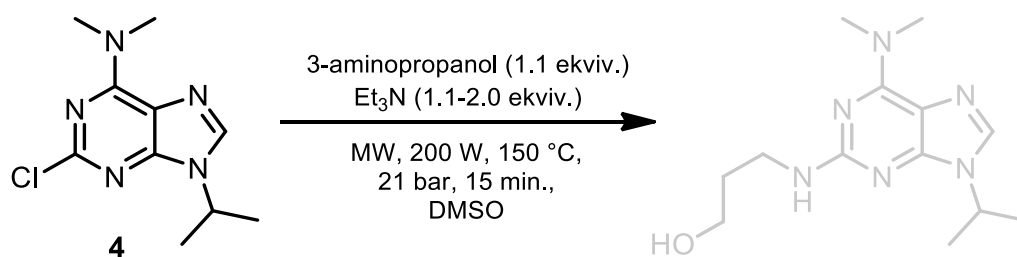
Nejdůležitější a také nejobsáhlejší částí práce byla optimalizace podmínek nukleofilní aromatické substituce atomu chloru v poloze 2 výše zmíněných purinových derivátů **3–6**. Atom chloru na C2 purinového kruhu je obecně velmi málo reaktivní a provést jeho substituci je za konvenčních podmínek relativně obtížné.

Nejprve byla provedena syntéza, jejímž cílem bylo provést nukleofilní aromatickou substituci atomu chloru v poloze 2 sloučeniny **4** působením 8,0 molárního přebytku 3-aminopropanolu. Reakční směs byla ponechána reagovat po dobu 3 hodin při 160 °C na olejové lázni (Obrázek 21). Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC a GC-MS, kdy nebyl pozorován žádný posun ve smyslu vzniku jakéhokoliv produktu v reakční směsi.



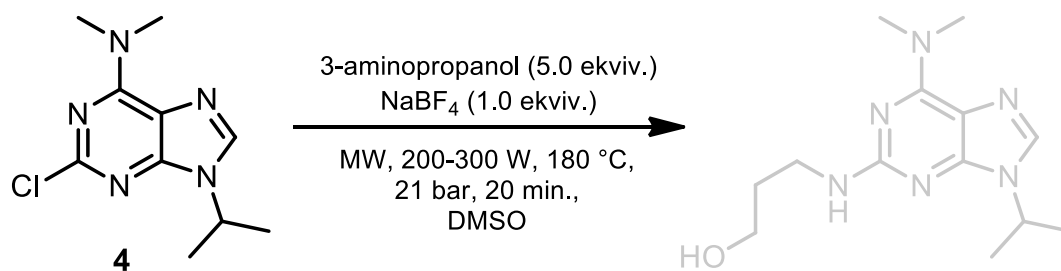
Obrázek 21: Reakce sloučeniny **4** s 3-aminopropanolem prováděná konvenčním způsobem.

Tento experiment byl následně podroben již optimalizovaným podmínkám uvedeným v kapitole 5.3 při syntéze v mikrovlnném reaktoru, kdy výchozí sloučenina **4** reagovala s 1,1 molárním přebytkem 3-aminopropanolu za přítomnosti 1,1, nebo 2,0 molárního množství triethylaminu jako báze (Obrázek 22). Nastavení mikrovlnného reaktoru bylo následující: výkon 200 W, teplota 150 °C, čas 15 minut a tlak 21 bar. Naneštěstí ani tyto experimenty nevedly, dle analýzy GC-MS, ke vzniku uvažovaného produktu v reakční směsi.



Obrázek 22: S<sub>N</sub>Ar chloru v poloze 2 sloučeniny **4** 3-aminopropanolem pomocí MW syntézy.

Další postup byl zvolen dle práce publikované He Huang, Hong Liu a kolektivem [27]. Jednalo se o syntézu, při které výchozí 6,9-substituovaný purinový derivát reagoval s 5,0 molárním přebytkem aminu a ekvimolárním množstvím NaBF<sub>4</sub> v prostředí DMSO při 180 °C po dobu 5 minut. Jelikož ve zmíněné práci nebyly popsány konkrétní podmínky mikrovlnami asistované syntézy, například nastavený tlak, nebo výkon mikrovlnného reaktoru, byly podmínky v tomto experimentu nastaveny následovně: výkon 200 W, teplota 180 °C, čas 20 minut a tlak 21 bar (Obrázek 23). Reakční směs byla po ukončení reakce analyzována pomocí GC-MS. Tento postup nevedl ke zdárné syntéze zamýšleného 2,6,9-trisubstituovaného purinu, a proto byly u dalšího experimentu upraveny reakční podmínky zvýšením výkonu mikrovlnného reaktoru na maximum, tedy 300 W. Ani to ovšem nevedlo ke kýženému produktu.

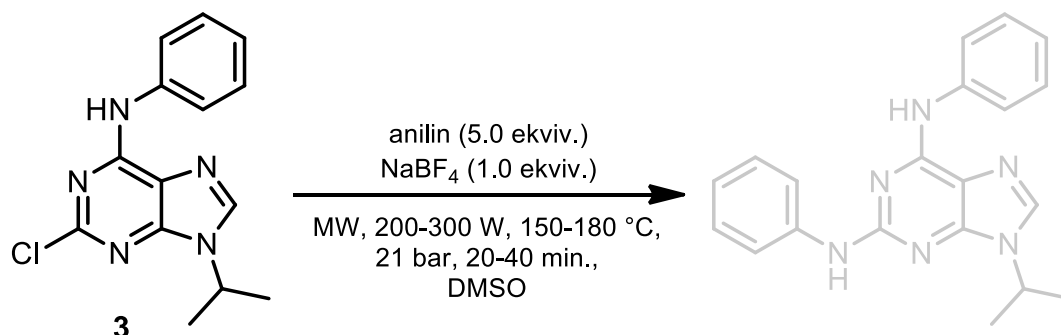


Obrázek 23: S<sub>N</sub>Ar chloru v poloze 2 sloučeniny **4** 3-aminopropanolem katalyzovaná pomocí NaBF<sub>4</sub>.

Následně byla výše popsaná metoda mikrovlnné syntézy otestována sérií reakcí sloučeniny **3** s 5,0 molárním přebytkem anilinu za přítomnosti NaBF<sub>4</sub> jako katalyzátoru, kde bylo testováno několik parametrů (Obrázek 24). Konkrétně se jednalo o změnu teploty reakce, prodloužení reakční doby, nebo zvýšení výkonu v mikrovlnném reaktoru. Pro přehlednost



jednotlivých experimentů jsou podmínky uvedeny v Tabulce 9. Nicméně ani jedna z metod nevedla ke vzniku požadovaného produktu.

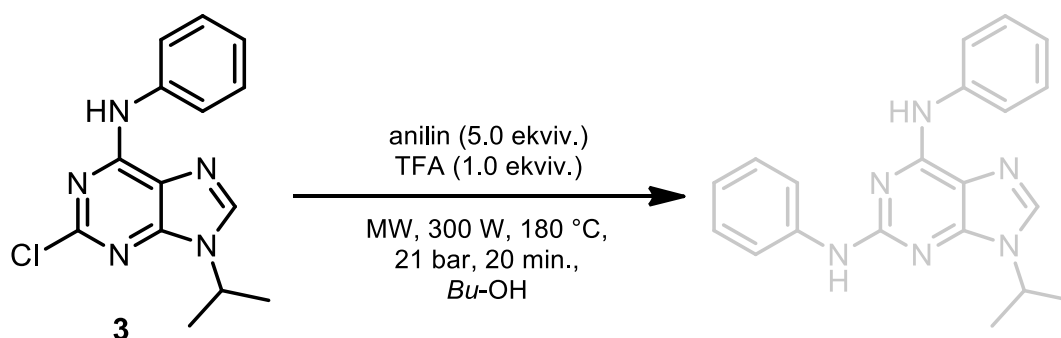


Obrázek 24:  $S_NAr$  atomu chloru v poloze 2 sloučeniny **3** katalyzovaná pomocí  $NaBF_4$ .

Tabulka 9: Série reakcí sloučeniny **3** s anilinem v přítomnosti  $NaBF_4$ .

Reakce	Výchozí látka	Anilin (ekv.)	$NaBF_4$ (ekv.)	Čas (min)	Teplota ( $^{\circ}C$ )	Tlak (PSI)	Výkon (W)	Výtěžek (%)
1	3	5,0	1,0	20	150	300	200	-
2	3	5,0	1,0	20	150	300	300	-
3	3	5,0	1,0	20	180	300	200	-
4	3	5,0	1,0	40	180	300	200	-

Další možný postup byl popsán Hong-Fei Luem a kolektivem [30], kdy ve své studii popisují použití trifluoroctové kyseliny jako katalyzátoru, protože zjistili, že protonace chlořsubstituovaných purinových skeletů aktivuje atomy chloru k nukleofilní substituční reakci. Proto byl proveden experiment, kdy bylo místo ekvimolárního množství  $NaBF_4$  použito ekvimolární množství kyseliny trifluoroctové a místo DMSO použit butan-1-ol (Obrázek 25). Bohužel, ani tento experiment nevedl ke zdárné syntéze zamýšlené sloučeniny.

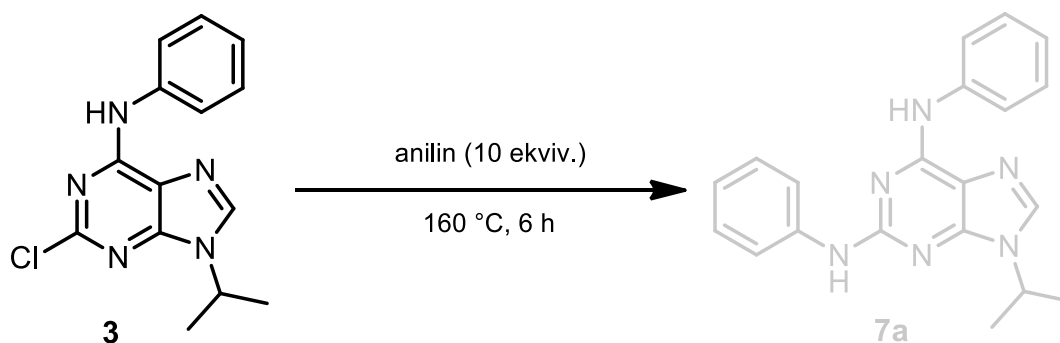


Obrázek 25:  $S_NAr$  atomu chloru v poloze 2 sloučeniny **3** katalyzovaná pomocí TFA.

### 5.4.1 Optimalizace nukleofilní aromatické substituce atomu chloru na C2 konvenční metodou záhřevu

Jelikož ani jedna z metod popsaných v literatuře z neznámých důvodů nefungovala, byla navržena série experimentů, jejichž podmínky byly navrženy na základě poznatků získaných během zpracování rešeršní části této práce, s nadějí, že by tyto mohly vést ke zdárné syntéze zamýšlených 2,6,9-trisubstituovaných purinů.

Výchozí látka **3** byla ponechána reagovat s 10 molárním přebytkem anilinu po dobu šesti hodin při teplotě 160 °C (Obrázek 26). Tato reakce byla monitorována pomocí TLC a GC-MS. Dle analýzy GC-MS se zdálo, že nedošlo ke vzniku zamýšleného produktu **7a**.



Obrázek 26: Reakce sloučeniny **3** s anilinem prováděná konvenčním způsobem.

Toto bylo později vyvráceno zjištěním, že problémem nebyly podmínky reakce, nýbrž nastavená délka metody měření. 2,6,9-trisubstituované purinové deriváty s anilinem v poloze 6 totiž mají oproti ostatním sloučeninám uvedeným v této práci mnohem vyšší hodnotu retenčního času (80–82 min.), takže bylo nutné metodu měření prodloužit. K tomuto zjištění naneštěstí došlo až po provedení celé série  $S_NAr$  atomu chloru na C2 konvenčním záhřevem (Tabulka 10). Bylo provedeno zpětné dohledání a porovnání ploch píků produktu, které se vyskytovaly vždy v následujících měřeních, ale tyto hodnoty relativních výtěžků mohou být natolik nepřesné, že jsou uvedeny pouze pro porovnání jednotlivých experimentů mezi sebou. Tento troufalý krok zohledňuje totožné nastavení podmínek měření.

Tabulka 10: Série reakcí sloučeniny **3** s anilinem prováděná konvenčním způsobem.

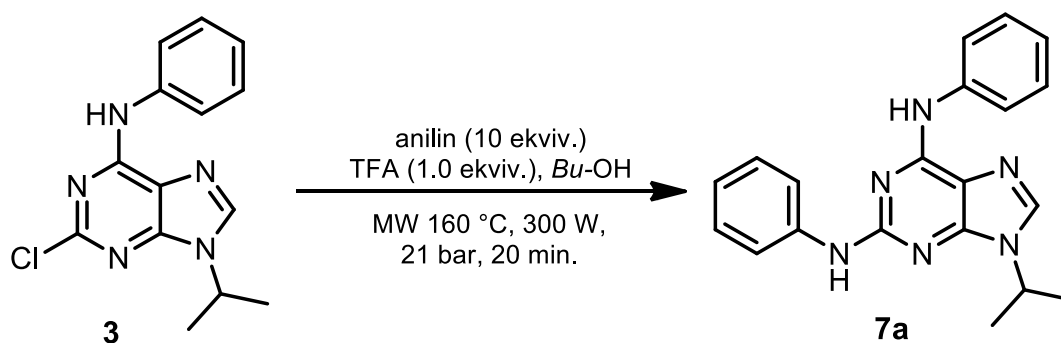
Reakce	Výchozí látka	Anilin (ekv.)	Katalyzátor (ekv.)	Čas (h)	Zdánlivý relativní výtěžek* (%)
1	3	10,0	-	6	61
2	3	20,0	-	6	98
3	3	10,0	NaBF <sub>4</sub> (1,0)	3	66
4	3	10,0	TFA (1,0)	3	70
5	3	10,0	TFA (1,0)	3	84
6	3	5,0	TFA (1,0)	3	18

\*Hodnoty neodpovídají skutečnému relativnímu zastoupení produktu a jsou uvedeny pouze pro orientační porovnání jednotlivých experimentů.

#### 5.4.2 Mikrovlnami asistované S<sub>N</sub>Ar atomu chloru na C2

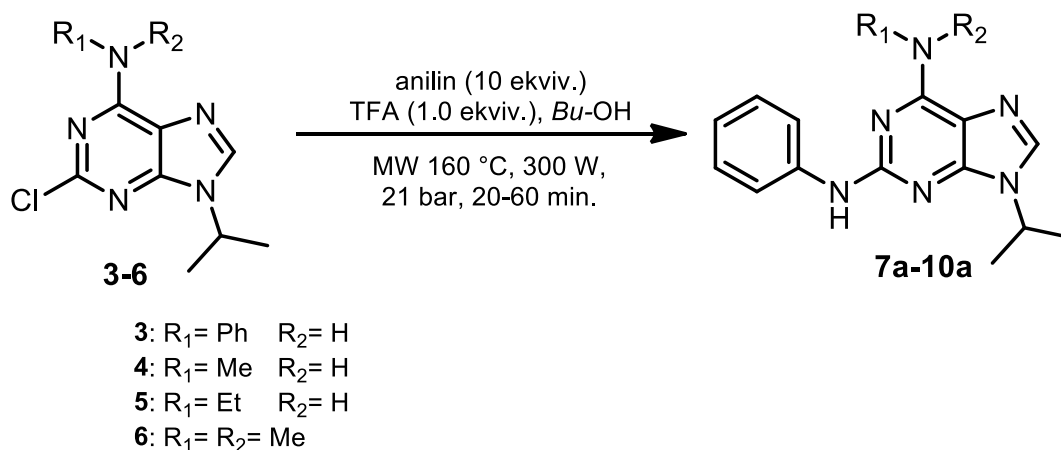
Podle orientačních výsledků předchozích experimentů byly vybrány nejvhodněji se jevící podmínky mikrovlnami asistované syntézy a ty dále testovány.

Jako první byla tedy provedena syntéza sloučeniny **3** s 10 molárním přebytkem anilinu v butan-1-olu s přidavkem ekvimolárního množství kyseliny trifluoroctové (Obrázek 27). Tato reakce probíhala v mikrovlnném reaktoru za následujících podmínek: teplota 160 °C, výkon 300 W, tlak 21 bar a čas 20 minut. Po ukončení byla reakční směs zpracována a analyzována pomocí GC-FID. Dle analýzy byl ve směsi obsažen podíl nezreagované sloučeniny **3**, ale také zamýšleného produktu **7a** a to v poměru 89:11.

Obrázek 27: S<sub>N</sub>Ar atomu chloru v poloze 2 sloučeniny **3** katalyzovaná pomocí TFA.

Následně byl tento experiment zopakován za prodloužení reakční doby z dvaceti minut na jednu hodinu, ale jinak totožných podmínek. Po ukončení reakce byla směs zpracována a znovu změřena pomocí GC-MS. Podíl nezreagované sloučeniny **3** ku zamýšlenému produktu **7a** se posunul směrem ke zvýšení relativního výtěžku, a to na 53:47.

Byla tedy provedena série experimentů (Obrázek 28), kdy byly nově nasyntetizovány látky **8a**, **9a** a **10a**, jejichž relativní výtěžky byly stanoveny dle GC-MS analýzy v rozsahu 14–57 %. (Tabulka 11). Pro srovnání katalytických schopností kyseliny trifluoroctové a tetrafluorboritanu sodného byl navíc proveden experiment 6, kdy se kyselina trifluoroctová jevila jako lepší katalyzátor i pro navázání alifatického aminu do polohy 2.



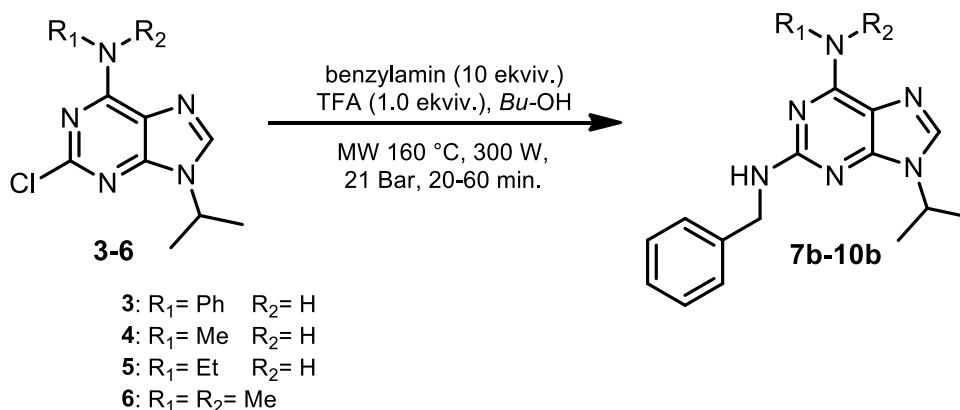
Obrázek 28: Obecné schéma S<sub>N</sub>Ar vedoucí k syntéze sloučenin **7a–10a**.

Tabulka 11: Mikrovlnami asistovaná syntéza sloučenin **7a–10a**.

Reakce	Výchozí látka	Anilin (ekv.)	Katalyzátor (ekv.)	Čas (min)	Produkt	Výtěžek <sup>a</sup> (%)
1	3	10,0	TFA (1,0)	20	<b>7a</b>	11
2	3	10,0	TFA (1,0)	60	<b>7a</b>	47
3	4	10,0	TFA (1,0)	60	<b>8a</b>	49
4	5	10,0	TFA (1,0)	60	<b>9a</b>	57
5	6	10,0	TFA (1,0)	60	<b>10a</b>	14
6	6	10,0	NaBF <sub>4</sub> (1,0)	60	<b>10a</b>	3

<sup>a</sup> dle GC-MS

Nakonec byla provedena poslední série experimentů, kdy výchozí látky **3–6** reagovaly s 10 molárním přebytkem benzylaminu a ekvimolárním množstvím kyseliny trifluoroctové, což vedlo k syntéze látek **7b–10b** (Obrázek 29). Dle analýzy GC-MS byly relativní výtěžky těchto experimentů o poznání menší (Tabulka 12, reakce 3–5), vyjma reakce s výchozí sloučeninou **3**, kdy vznikal produkt **7b** ve 24 %, respektive 47 % zastoupení (Tabulka 12, reakce 1 a 2).

Obrázek 29: Obecné schéma S<sub>N</sub>Ar vedoucí k syntéze sloučenin **7b–10b**.

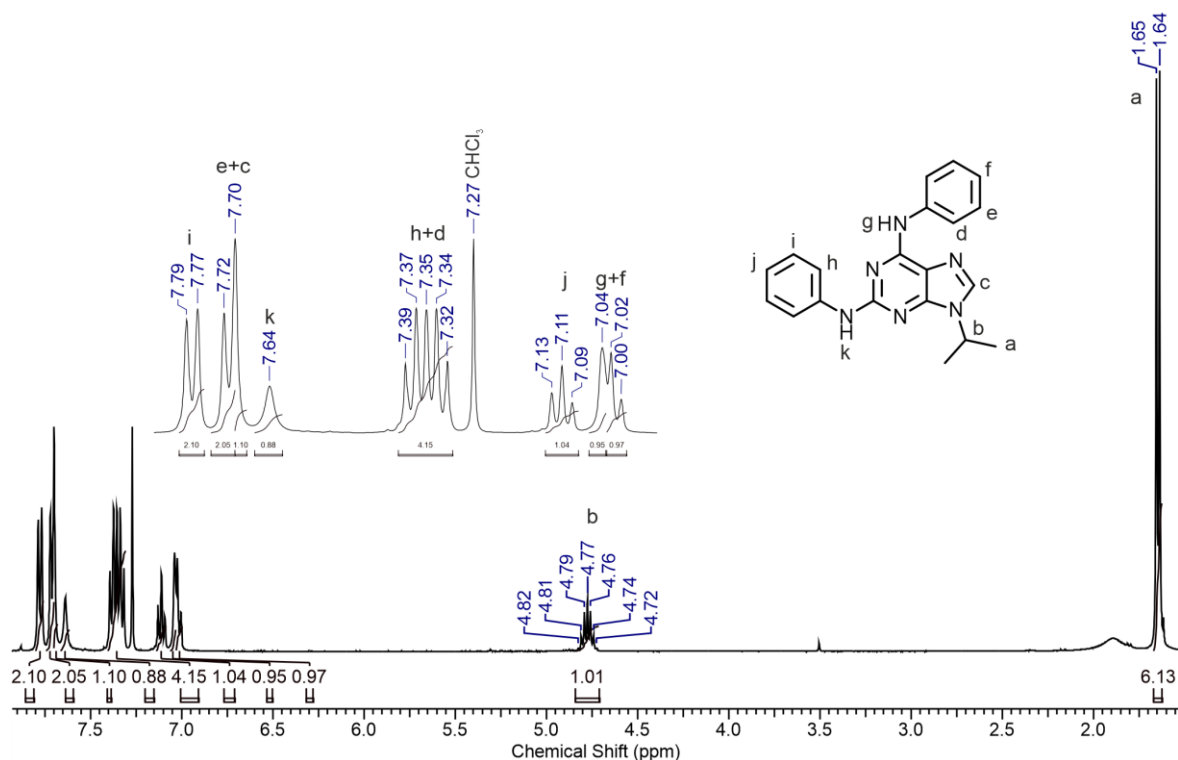
V reakčních směsích s produkty **8b–10b** byl zaznamenán nadměrný vznik koproduktu kyseliny trifluoroctové s benzylaminem a proto byly experimenty provedeny znovu za její absence. Tento krok vedl ke zvýšení relativních výtěžků z 5–9 % na 7–17 % dle GC-MS (Tabulka 12, reakce 6–8).

Tabulka 12: Mikrovlnami asistovaná syntéza sloučenin **7b–10b**.

Reakce	Výchozí látka	Benzylamin (ekv.)	Katalyzátor (ekv.)	Čas (min)	Produkt	Výtěžek <sup>a</sup> (%)
1	3	10,0	TFA (1,0)	20	<b>7b</b>	24
2	3	10,0	TFA (1,0)	60	<b>7b</b>	47
3	4	10,0	TFA (1,0)	60	<b>8b</b>	9
4	5	10,0	TFA (1,0)	60	<b>9b</b>	6
5	6	10,0	TFA (1,0)	60	<b>10b</b>	5
6	4	10,0	-	60	<b>8b</b>	17
7	5	10,0	-	60	<b>9b</b>	13
8	6	10,0	-	60	<b>10b</b>	7

<sup>a</sup> dle GC-MS

Vzhledem ke skutečnosti, že poslední série výše uvedených reakcí byly provedeny v době, kdy se blížil mezní termín pro odevzdání této práce, nebyla většina nasyntetizovaných sloučenin izolována a podrobena veškerým dostupným strukturním analýzám. Jediným produktem, který se podařilo izolovat v jeho čisté formě, byl produkt **7a**, tedy 9-isopropyl-*N*<sup>2</sup>,*N*<sup>6</sup>-difenyl-9*H*-purin-2,6-diamin. Tento byl podroben <sup>1</sup>H NMR analýze, jejíž výstup lze vidět na Obrázku 30.

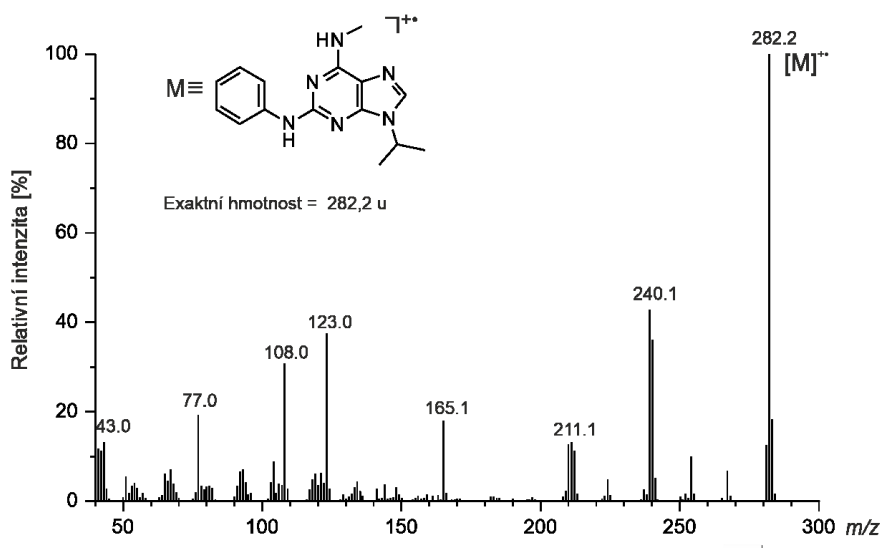


Obrázek 30: <sup>1</sup>H NMR spektrum 9-isopropyl-*N*<sup>2</sup>,*N*<sup>6</sup>-difenyln-9*H*-purin-2,6-diaminu (**7a**).

V <sup>1</sup>H NMR spektru sloučeniny **7a** bylo možné pozorovat dubletový signál v oblasti 1,64 ppm (signál „a“) pocházející z methylové skupiny isopropylu, který je navázán na atomu dusíku v poloze 9 purinového kruhu. Dále byl pozorován multiplet v oblasti 4,72–4,82 ppm (signál „b“) odpovídající CH skupině z isopropylu. Následně se zde vyskytoval signál v oblasti 7,02 ppm (signál „f“) v podobě tripletu s integrální hodnotou 0,97, který byl přiřazen atomu vodíku v poloze *para* anilinu navázaného v poloze 6 purinového kruhu. Tento byl překrytý signálem v oblasti 7,04 ppm (signál „g“), který zřejmě odpovídal protonu C<sup>6</sup>NH. Další triplet v oblasti 7,11 ppm (signál „j“) s integrální hodnotou 1,04 byl přiřazen atomu vodíku v poloze *para* anilinu navázaného v poloze 2 purinového kruhu. Ve spektru byly dále pozorovány dva překrývající se triplety v oblasti 7,32–7,39 ppm (signály „h+d“) s integrální hodnotou 4,15, které by mohly odpovídat atomům vodíku v poloze *ortho* obou anilinových substituentů. Pík v podobě singletu v oblasti 7,64 ppm (signál „k“) byl přiřazen atomu vodíku C<sup>2</sup>NH. Následně byl ve spektru pozorován atom vodíku umístěný na purinovém kruhu v poloze NC<sup>8</sup>HN, a to v podobě singletu s posunem 7,70 ppm (signál „c“), který překrýval dublet v oblasti 7,71 ppm (signál „e“), patřící dvěma protonům v poloze *meta* anilinu vázaném na C6. Poslední dubletový signál (označený

písmem „i“) byl přiřazen dvěma atomům vodíku v poloze *meta* anilinu vázaném na C2 purinového kruhu.

Struktura sloučenin **8a–10a** a **7b–10b** byla navržena alespoň na základě výsledků získaných z GC-MS analýz, kdy jako detektor byl použit hmotnostní spektrometr s elektronovou ionizací. Ve EI-MS spektrech všech zmíněných sloučenin byly pozorovány molekulové ionty, jejichž hodnota  $m/z$  odpovídala hodnotám pro jednotlivé látky vypočteným. Dále bylo ze vzhledu molekulových klastrů těchto iontů navýsost patrné, že neobsahují, na rozdíl od výchozích sloučenin, žádný atom chloru. Na Obrázku 31 je jako příklad uvedeno hmotnostní spektrum sloučeniny **8a**.



Obrázek 31: EI-MS spektrum sloučeniny **8a**.

## ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo připravit sérii 2,6,9-trisubstituovaných purinů, kdy největší výzvu představovala právě nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze C2 purinového skeletu.

Nejprve byla připravena sloučenina **2a**, která byla následně použita pro substituci atomu chloru v poloze 6. Tato byla připravena alkylací komerčně dostupného 2,6-dichlor-9*H*-purinu (**1**) do pozice N9 reakcí s 2-jodpropanem v prostředí uhličitanu draselného jako báze a dimethylsulfoxidu jako rozpouštědla.

V další části byla provedena série mikrovlnami asistovaných nukleofilních aromatických substitucí atomu chloru v poloze C6 sloučeniny **2a** anilinem, methyloaminem, ethyloaminem a dimethylaminem. Výstupem této části byla příprava sloučenin **3**, **4**, **5** a **6** v odpovídající čistotě a téměř kvantitativních výtěžcích, kdy struktura uvedených sloučenin byla potvrzena pomocí běžně používaných spektrálních metod (IR, MS, NMR).

V poslední části diplomové práce bylo provedeno několik experimentů, jejichž cílem bylo provést nukleofilní aromatickou substituci atomu chloru v poloze 2 aromatickým anebo alifatickým aminem. Tyto experimenty byly prováděny jak konvenčním způsobem, tak pomocí mikrovlnami asistované syntézy. Po optimalizaci reakčních podmínek byla provedena série mikrovlnami asistovaných nukleofilních aromatických substitucí atomu chloru na C2 sloučenin **3**, **4**, **5**, a **6** anilinem a benzylaminem, kdy byly nasyntetizovány nové a literaturou nepopsané sloučeniny **7a–10a** a **7b–10b**.

Vzhledem ke skutečnosti, že poslední série výše uvedených reakcí byly provedeny v době, kdy se blížil mezní termín pro odevzdání této práce, nebyla většina z nově připravených 2,6,9-trisubstituovaných purinů charakterizována pomocí všech dostupných metod strukturní analýzy. Z finálně připravených sloučenin byla plně strukturně charakterizována pouze sloučenina **7a**, která byla analyzována pomocí GC-MS a <sup>1</sup>H NMR. Struktura sloučenin **8a–10a** a **7b–10b** tak byla navržena na základě výsledků získaných pomocí plynové chromatografie s hmotnostně-spektrometrickou detekcí.



## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. SINGH, Rajbir. Synthetic drugs. 1st edition. New Delhi, India: Mittal Publications, **2002**. ISBN 81-7099-831X.
2. MURRAY, Robert K., **2001**. *Harperova biochemie*. Vyd. v ČR 3., v H + H druhé. Jinočany: H & H, 872 s. ISBN 8073190036.
3. GUYTON, A. C. a HALL, **2006**. *Medical Physiology*. 11. Philadelphia: Elsevier Saunders. ISBN 978-0-7216-0240-0.
4. LISTER, John H. *Fused pyrimidines: purines part II*. London: John Miley & Sons, **1971**. 655 s. ISBN 04-713-8205-1.
5. ERTL, Peter, 2012. *Physicochemical Properties*. BROWN, Nathan, ed. Bioisosteres in Medicinal Chemistry [online]. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2012-08-03, s. 129-139 [cit. 2021-03-09]. ISBN 9783527654307. Dostupné z: doi:10.1002/9783527654307.ch7
6. ŘEZNIČKOVÁ, Eva. *Pyrazolopyrimidinové inhibitory CDK: antiproliferační a proapoptické vlastnosti*. Olomouc, **2010**. Diplomová práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Katedra buněčné biologie a genetiky. Vedoucí diplomové práce Radek Jorda
7. ČERVINKA, Otakar. *Chemie organických sloučenin*. Díl 2. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, **1987**.
8. MANVAR, Atul a Anamik SHAH. *Microwave-assisted chemistry of purines and xanthines. An overview*. Tetrahedron [online]. 2013, **69**(38), 8105-8127 [cit. 2021-03-18]. ISSN 00404020. Dostupné z: doi:10.1016/j.tet.2013.06.034
9. DE CLERCQ, Erik. *Tenofovir: Quo Vadis Anno 2012 (Where Is It Going in the Year 2012) ?* Medicinal Research Reviews [online]. 2012, **32**(4), 765-785 [cit. 2021-03-18]. ISSN 01986325. Dostupné z: doi:10.1002/med.21267
10. BECKER, Frank, Krishna MURTHI, Chase SMITH, et al. *A Three-Hybrid Approach to Scanning the Proteome for Targets of Small Molecule Kinase Inhibitors*. Chem. Biol. [online]. 2004, **11**(2). DOI: 10.1016/j.chembiol.2004.02.001. ISSN 10745521.

11. DE CLERCQ, Erik. *Antiretroviral drugs*. Curr. Opin. Pharmacol. [online]. 2010, **10**(5), 507-515 [cit. 2020-05-13]. DOI: 10.1016/j.coph.2010.04.011. ISSN 14714892.
12. ABDEL-MAKSOU, Mohammed S., Usama M. AMMAR, Mohammed I. EL-GAMAL, et al. *Design, synthesis, and anticancer activity of imidazo[2,1-b]oxazole-based RAF kinase inhibitors*. Bioorganic Chemistry [online]. 2019, **93** [cit. 2021-4-26]. ISSN 00452068. Dostupné z: doi:10.1016/j.bioorg.2019.103349
13. CREWS, C. *Small-molecule inhibitors of the cell cycle*. Current Opinion in Chemical Biology [online]. **4**(1), 47-53 [cit. 2021-4-26]. ISSN 13675931. Dostupné z: doi:10.1016/S1367-5931(99)00050-2
14. WANG, Shuo, Yi ZHOU, Yue ZHANG, Xingyu HE, Xiangning ZHAO, Hairong ZHAO a Wei LIU. *Roscovitine attenuates renal interstitial fibrosis in diabetic mice through the TGF- $\beta$ 1/p38 MAPK pathway*. Biomedicine & Pharmacotherapy [online]. 2019, 115 [cit. 2021-4-26]. ISSN 07533322. Dostupné z: doi:10.1016/j.biopha.2019.108895
15. MAJETICH, G, R. HICKS. *Applications of microwave-accelerated organic synthesis*. Radiat. Phys. Chem. 1995, **45**, 567-579.
16. GEDYE, R., F. SMITH, K. WESTAWAY, H. ALI, L. BALDISERA, L. LABERGE a J. ROUSELL. *The use of microwave ovens for rapid organic synthesis*. Tetrahedron Letters. 1986, **27**(3), 279-282.
17. HAYS, B. L, *Microwave synthesis: Chemistry at the Speed of Light*. Michigan University: CEM Publishing; 2002, 295, ISBN-0-9722229-0-1
18. SCHANCHE, Jon-Sverre. *Microwave synthesis solutions from personal chemistry*. Molecular Diversity [online]. 2003, **7**(2-4), 291-298 [cit. 2021-5-1]. ISSN 1381-1991. Dostupné z: doi:10.1023/B:MODI.0000006866.38392.f7
19. CHEMAT, Farid a Giancarlo CRAVOTTO, 2013/01/01. *Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds*. ISBN 978-1-4614-4829-7. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4614-4830-3
20. SIELECKI, Thais M., John F. BOYLAN, Pamela A. BENFIELD a George L. TRAINOR. *Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors: Useful Targets in Cell Cycle*

- Regulation*. Journal of Medicinal Chemistry [online]. 2000, **43**(1), 1-18 [cit. 2021-04-21]. ISSN 0022-2623. Dostupné z: doi:10.1021/jm990256j
21. SCHULZE-GAHMEN, Ursula, Hendrik L. DE BONDT a Sung-Hou KIM. *High-Resolution Crystal Structures of Human Cyclin-Dependent Kinase 2 with and without ATP: Bound Waters and Natural Ligand as Guides for Inhibitor Design*. Journal of Medicinal Chemistry [online]. 1996, **39**(23), 4540-4546 [cit. 2021-04-21]. ISSN 0022-2623. Dostupné z: doi:10.1021/jm960402a
22. FIORINI, Maria T. a Chris ABELL. *Solution-phase synthesis of 2,6,9-trisubstituted purines*. Tetrahedron Letters [online]. 1998, **39**(13), 1827-1830 [cit. 2021-04-21]. ISSN 00404039. Dostupné z: doi:10.1016/S0040-4039(98)00098-7
23. DORFF, Peter H a Ravi S GARIGIPATI. *Novel solid-phase preparation of 2,6,9-trisubstituted purines for combinatorial library generation*. Tetrahedron Letters [online]. 2001, **42**(15), 2771-2773 [cit. 2021-04-21]. ISSN 00404039. Dostupné z: doi:10.1016/S0040-4039(01)00328-8
24. AUSTIN, Richard E., John F. OKONYA, Daniel R.S. BOND a Fahad AL-OBEIDI. *Microwave-assisted solid-phase synthesis (MASS) of 2,6,9-trisubstituted purines*. Tetrahedron Letters [online]. 2002, **43**(35), 6169-6171 [cit. 2021-04-17]. ISSN 00404039. Dostupné z: doi:10.1016/S0040-4039(02)01271-6
25. AUSTIN, Richard E., Christian WALDRAFF a Fahad AL-OBEIDI. *Microwave assisted solid-phase synthesis of trisubstituted 2-(2,6-purin-9-yl)acetamides*. Tetrahedron Letters [online]. 2005, **46**(16), 2873-2875 [cit. 2021-04-17]. ISSN 00404039. Dostupné z: doi:10.1016/j.tetlet.2005.02.130
26. ELGEMEIE, Galal a Mai HAMED, *Microwave Synthesis of Guanine and Purine Analogs*. Current Microwave Chemistry. **2014**(1), 155-176. DOI: 10.2174/2213335601666140417232548. ISSN 2213-3356.
27. HUANG, He, Hong LIU, Kaixian CHEN a Hualiang JIANG. *Microwave-Assisted Rapid Synthesis of 2,6,9-Substituted Purines*. Journal of Combinatorial Chemistry [online]. 2007, **9**(2), 197-199 [cit. 2021-04-17]. ISSN 1520-4766. Dostupné z: doi:10.1021/cc060155o

28. AAT Bioquest: *pKa and pKb Reference Table* [online]. 520 Mercury Drive Sunnyvale, CA, USA [cit. 2021-5-12]. Dostupné online: <https://www.aatbio.com/data-sets/pka-and-pkb-reference-table>
29. GRAUL, A., P.A. LEESON a J. CASTAÑER. *Abacavir Sulfate. Drugs of the Future* [online]. 1998, **23**(11) [cit. 2021-04-17]. ISSN 0377-8282. Dostupné z: doi:10.1358/dof.1998.023.11.474021
30. LU, Hong-Fei, Liang-Ze ZHANG, Ding-Ming WU a Jun-Tao ZHOU. *Microwave assisted synthesis of 2,6-substituted aromatic-aminopurine derivatives*. *Journal of Heterocyclic Chemistry* [online]. 2011, **48**(5), 1140-1144 [cit. 2021-04-17]. ISSN 0022152X. Dostupné z: doi:10.1002/jhet.629
31. QU, Gui-Rong, Lin ZHAO, Dong-Chao WANG, Jing WU a Hai-Ming GUO. *Microwave-promoted efficient synthesis of C6-cyclo secondary amine substituted purine analogues in neat water*. *Green Chemistry* [online]. 2008, **10**(3) [cit. 2021-4-26]. ISSN 1463-9262. Dostupné z: doi:10.1039/b719429c
32. OUMATA, Nassima, Karima BETTAYEB, Yoan FERANDIN, et al. *Roscovitinederived, dual-specificity inhibitors of cyclin-dependent kinases and casein kinases I*. *J. Med. Chem.* 2008, **51**, 5229–5242.
33. KOTEK, Vladislav, Naděžda CHUDÍKOVÁ, Tomáš TOBRMAN a Dalimil DVOŘÁK. *Selective Synthesis of 7-Substituted Purines via 7,8-Dihydropurines*. *Organic Letters* [online]. 2010, **12**(24), 5724-5727 [cit. 2021-5-10]. ISSN 1523-7060. Dostupné z: doi:10.1021/ol1025525
34. GIOVAGNOLI, Federico Andrés, Michal ROUCHAL, Peter BARTOŠ a Robert VÍCHA. *2-Chloro-N-ethyl-9-isopropyl-9H-purin-6-amine*. *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online* [online]. 2012, **68**(9), o2759-o2759 [cit. 2021-5-10]. ISSN 1600-5368. Dostupné z: doi:10.1107/S1600536812035933
35. ROUCHAL, Michal, Marek NEČAS a Robert VÍCHA. *2-Chloro-9-isopropyl-N,N-dimethyl-9H-purin-6-amine*. *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online* [online]. 2010, **66**(5), o1016-o1016 [cit. 2021-5-10]. ISSN 1600-5368. Dostupné z: doi:10.1107/S1600536810011797

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

CDK cyklin-dependentní kináza

DIEA *N,N*-diisopropyletylamin

DMF dimethylformamid

DNA deoxyribonukleová kyselina

FID plamenově-ionizační detektor

GC plynová chromatografie

HPLC vysokoúčinná kapalinová chromatografie

IR infračervená spektroskopie

MS hmotnostní spektrometrie

MW mikrovlnná syntéza

NMP methylypyrrolidon

NMR nukleární magnetická rezonance

RNA ribonukleová kyselina

RVO rotační vakuová odparka

$S_NAr$  nukleofilní aromatická substituce

TLC tenkovrstvá chromatografie

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Struktura purinového skeletu. ....	10
Obrázek 2: Vybrané příklady purinových derivátů. ....	10
Obrázek 3: Možné tautomerní formy purinu. ....	11
Obrázek 4: Vybrané příklady purinových derivátů. ....	12
Obrázek 5: Vybrané deriváty purinu s biologickou aktivitou. [13,14].....	13
Obrázek 6: Graf počtu publikací týkajících se mikrovlnami asistované syntézy od roku 1986 do roku 2020. [scopus.com].....	14
Obrázek 7: Teplotní profil zkumavky po 60 s záhřevu mikrovlnami a v olejové lázni. [18] .....	15
Obrázek 8: Příklad S <sub>N</sub> Ar atomu jodu v poloze 2. ....	16
Obrázek 9: Vlivu halogenového substituentu na průběh S <sub>N</sub> Ar.....	17
Obrázek 10: Reakční schéma dvou krokové syntézy („two pot synthesis“). ....	17
Obrázek 11: Reakční schéma mikrovlnami asistované S <sub>N</sub> Ar a <i>N</i> -alkylace/arylace. ....	18
Obrázek 12: Obecné reakční schéma S <sub>N</sub> Ar chloru v poloze 2 vybraných 6,9-disubstituovaných purinů. ....	19
Obrázek 13: Reakční schéma S <sub>N</sub> Ar chloru v poloze 6 purinového skeletu. [30] .....	21
Obrázek 14: Reakční schéma S <sub>N</sub> Ar atomu chloru v poloze 6 purinového skeletu s piperidinem <b>VIIa</b> , pyrrolidinem <b>VIIb</b> a hexamethylenaminem <b>VIIc</b> . [31].....	22
Obrázek 15: Alkylace 2,6-dichlor-9 <i>H</i> -purinu.....	35
Obrázek 16: GC-MS analýza po alkylaci 2,6-dichlor-9 <i>H</i> -purinu ( <b>1</b> ). ....	36
Obrázek 17: <sup>1</sup> H NMR spektrum sloučeniny <b>2a</b> . ....	36
Obrázek 18: Obecné schéma S <sub>N</sub> Ar na C6 prováděných pomocí MW syntézy.....	37
Obrázek 19: GC-MS analýza sloučeniny <b>5</b> po purifikaci sloupcovou chromatografií.....	38
Obrázek 20: <sup>1</sup> H NMR spektrum sloučeniny <b>4</b> . ....	38
Obrázek 21: Reakce sloučeniny <b>4</b> s 3-aminopropanolem prováděná konvenčním způsobem. ....	39
Obrázek 22: S <sub>N</sub> Ar chloru v poloze 2 sloučeniny <b>4</b> 3-aminopropanolem pomocí MW syntézy. ....	40
Obrázek 23: S <sub>N</sub> Ar chloru v poloze 2 sloučeniny <b>4</b> 3-aminopropanolem katalyzovaná pomocí NaBF <sub>4</sub> .....	40
Obrázek 24: S <sub>N</sub> Ar atomu chloru v poloze 2 sloučeniny <b>3</b> katalyzovaná pomocí NaBF <sub>4</sub> . ...	41
Obrázek 25: S <sub>N</sub> Ar atomu chloru v poloze 2 sloučeniny <b>3</b> katalyzovaná pomocí TFA.....	41
Obrázek 26: Reakce sloučeniny <b>3</b> s anilinem prováděná konvenčním způsobem. ....	42
Obrázek 27: S <sub>N</sub> Ar atomu chloru v poloze 2 sloučeniny <b>3</b> katalyzovaná pomocí TFA.....	43
Obrázek 28: Obecné schéma S <sub>N</sub> Ar vedoucí k syntéze sloučenin <b>7a–10a</b> . ....	44
Obrázek 29: Obecné schéma S <sub>N</sub> Ar vedoucí k syntéze sloučenin <b>7b–10b</b> .....	45

---

Obrázek 30: $^1\text{H}$ NMR spektrum 9-isopropyl- $N^2,N^6$ -difenyl-9 <i>H</i> -purin-2,6-diaminu ( <b>7a</b> )....	46
Obrázek 31: EI-MS spektrum sloučeniny <b>8a</b> .....	47

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1: Vliv halogenových substituentů a podmínek reakce na výtěžek produktu. ....	17
Tabulka 2: Vybrané aminy, reaktanty a izolovaný výtěžek jejich reakce. [27].....	18
Tabulka 3: Optimalizace podmínek S <sub>N</sub> Ar atomu chloru v poloze 2 purinového skeletu. ...	19
Tabulka 4: Optimalizace podmínek S <sub>N</sub> Ar atomu chloru v poloze 2 purinového skeletu. ...	20
Tabulka 5: Hodnoty p <i>K</i> <sub>a</sub> a p <i>K</i> <sub>b</sub> vybraných sloučenin. [28].....	20
Tabulka 6: Vliv katalyzátoru na výtěžky S <sub>N</sub> Ar. [30].....	21
Tabulka 7: S <sub>N</sub> Ar 6-chlor-9 <i>H</i> -purinu s piperidinem <sup>a</sup> , pyrrolidinem <sup>b</sup> , hexamethylenaminem <sup>b</sup> . .....	23
Tabulka 8: Výčet provedených S <sub>N</sub> Ar na C6 pomocí mikrovlnami asistované syntézy.....	37
Tabulka 9: Série reakcí sloučeniny <b>3</b> s anilinem v přítomnosti NaBF <sub>4</sub> . ....	41
Tabulka 10: Série reakcí sloučeniny <b>3</b> s anilinem prováděná konvenčním způsobem.....	43
Tabulka 11: Mikrovlnami asistovaná syntéza sloučenin <b>7a–10a</b> . ....	44
Tabulka 12: Mikrovlnami asistovaná syntéza sloučenin <b>7b–10b</b> .....	45



## SEZNAM PŘÍLOH

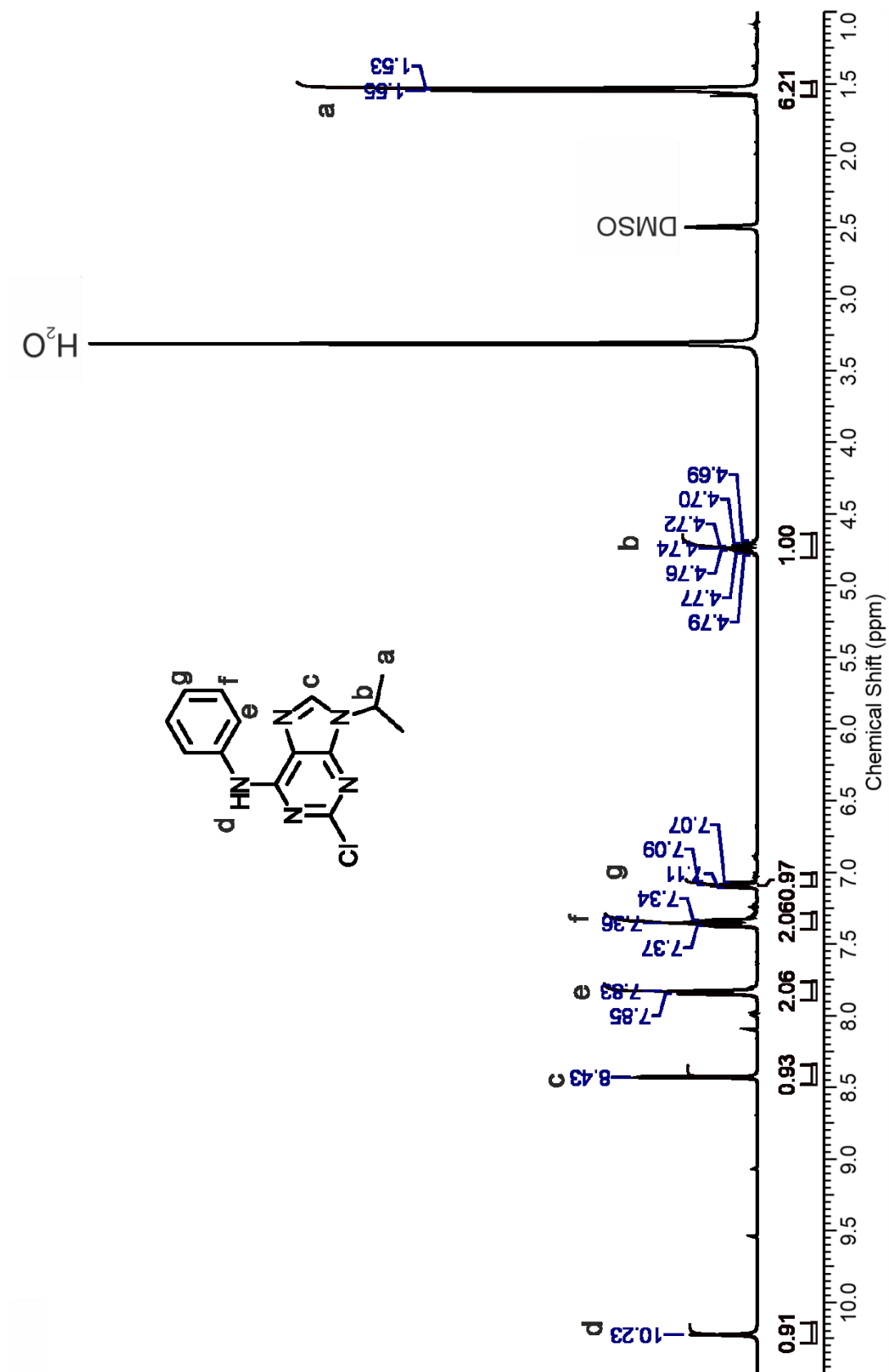
Příloha P I:  $^1\text{H}$  NMR SPEKTRUM LÁTKY 3

Příloha P II:  $^1\text{H}$  NMR SPEKTRUM LÁTKY 4

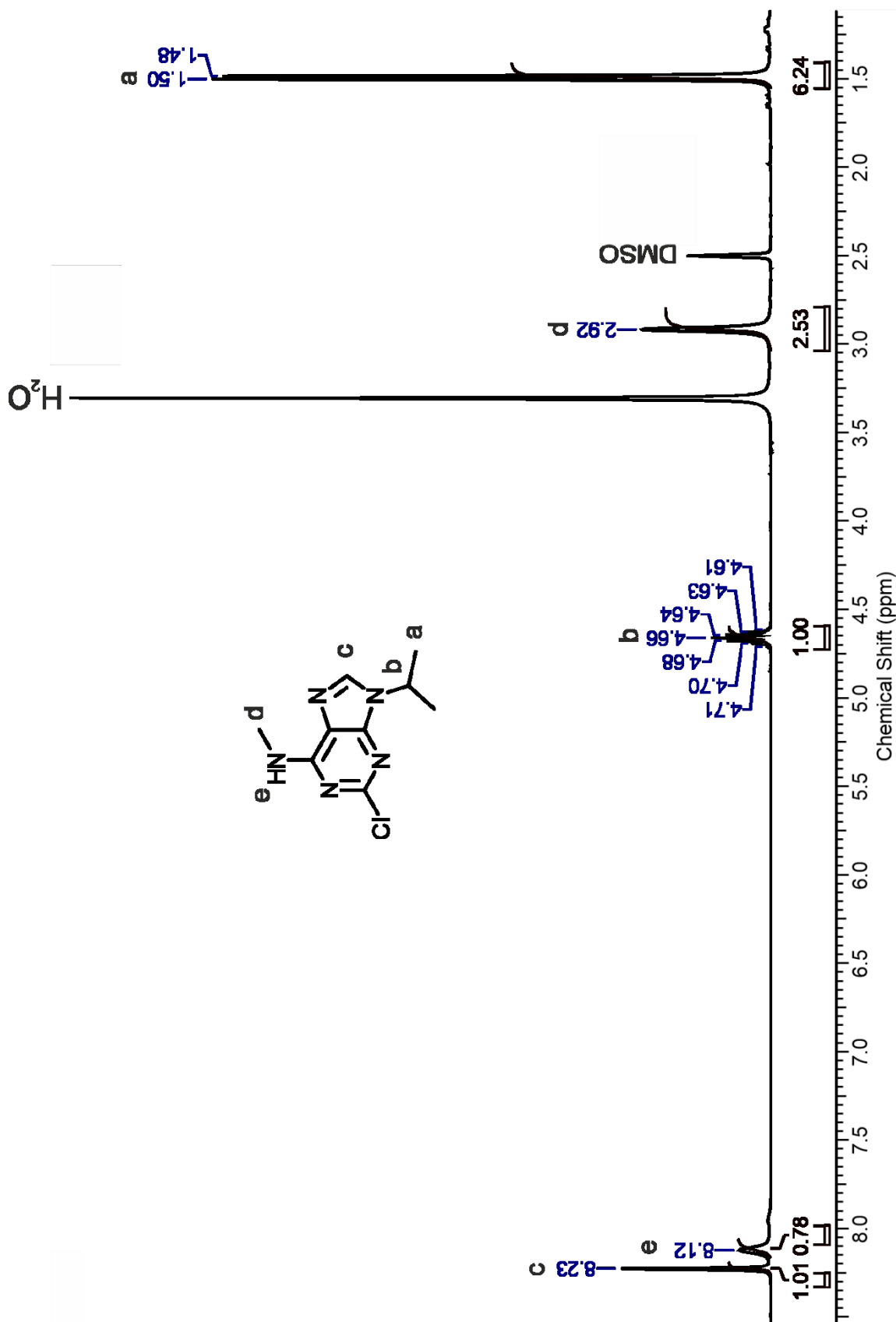
Příloha P III:  $^1\text{H}$  NMR SPEKTRUM LÁTKY 5

Příloha P IV:  $^1\text{H}$  NMR SPEKTRUM LÁTKY 6

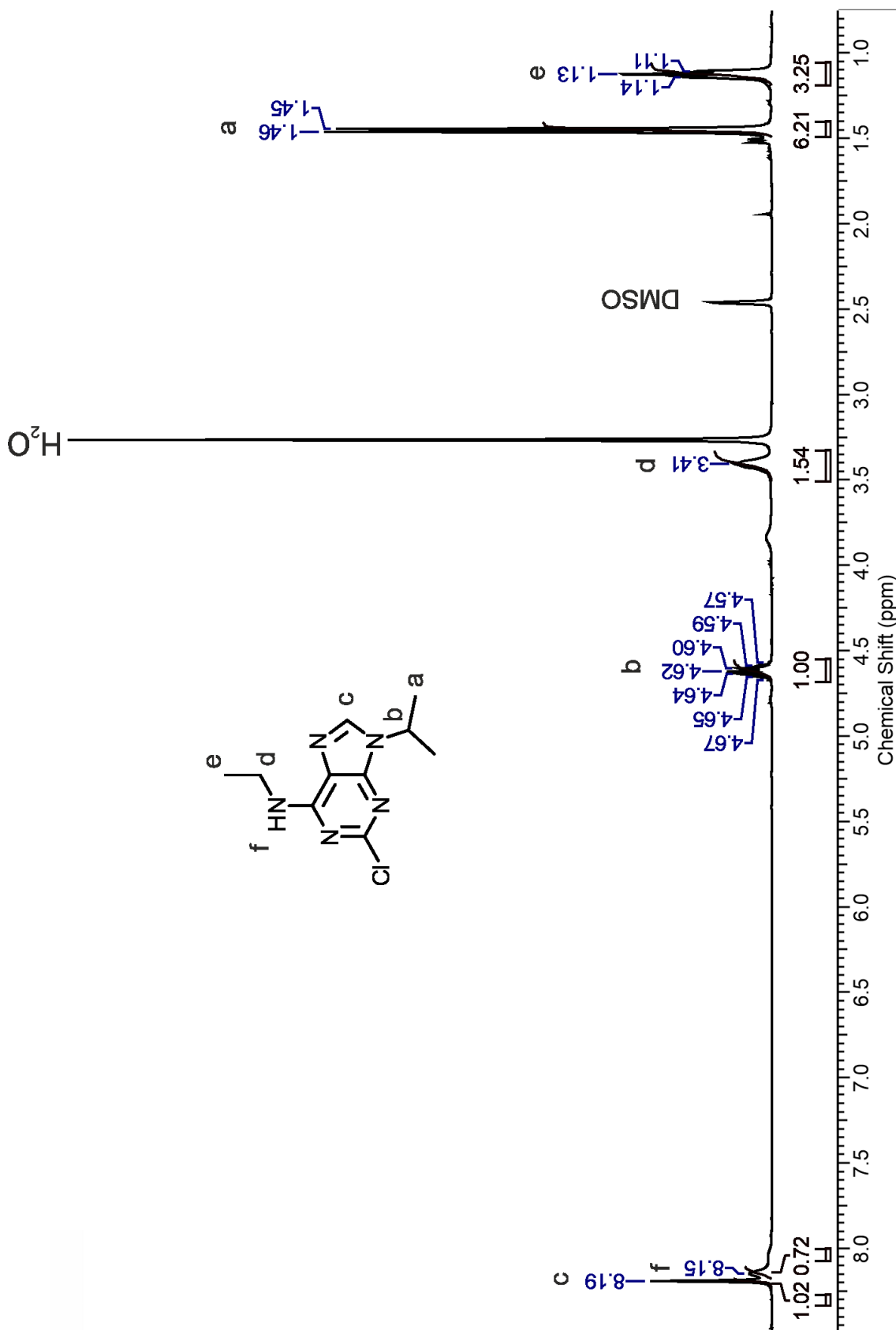
# PŘÍLOHA P I: $^1\text{H}$ NMR SPEKTRUM LÁTKY 3



# PŘÍLOHA P II: $^1\text{H}$ NMR SPEKTRUM LÁTKY 4



# PŘÍLOHA P II: $^1\text{H}$ NMR SPEKTRUM LÁTKY 5



# PŘÍLOHA P II: $^1\text{H}$ NMR SPEKTRUM LÁTKY 6

