



Cílená modifikace biologicky aktivních látek

The goal-directed modification of biologically active compounds

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE

Jméno a příjmení autora:	Ing. Michal Rouchal
Název disertační práce:	Cílená modifikace biologicky aktivních látek (The goal-directed modification of biologically active compounds)
Studijní program:	Chemie a technologie potravin
Studijní obor:	Technologie potravin
Školitel:	prof. Ing. Antonín Klásek, DrSc.
Školitel specialista:	Mgr. Robert Vícha, Ph.D.

*Věnováno Heleně Kloboučnickové, Daně Rouchalové a Lucii Rouchalové,
nejdůležitějším ženám mého života.*

Na tomto místě bych rád poděkoval prof. Ing. Antonínu Kláskovi, DrSc. za cenné rady, podnětné připomínky a čas, který mi během studia věnoval. Dále chci vyjádřit svůj dík Mgr. Robertu Víchovi, Ph.D., který mi ukázal, jaké krásy organická chemie skýtá. Snad mi bude prominuta trocha neformálnosti ... Roberte, díky za vše !!!

Děkuji všem členům našeho týmu za vytvoření výborného kolektivu a příjemného pracovního prostředí.

Díky Zuzce Kozubkové, Fabianě Pires de Carvalho, Robertu Bernatovi a Draganu Grbićovi, kteří se podíleli na přípravě některých látek komentovaných v předložené práci.

Děkuji Petře Branné a Aleně Matelové (ÚCH FT UTB) za měření ITC.

Děkuji Radkovi Markovi (NCBR MU) za měření NMR.

Děkuji Richardovi Čmelíkovi (IACH AV ČR, v.v.i.) za měření ESI-MS.

Děkuji Vladimíru Kryštofovi (LGR UPOL & IEB AV ČR, v.v.i.) za měření enzymatické a antiproliferační aktivity purinových sloučenin.

Díky Romanu Kimmelovi za přečtení rukopisu, mnoho podnětných rad a připomínek a také za vytvoření inspirativní atmosféry při sepisování práce.

Zvláštní poděkování patří mým rodičům Daně a Lubomírovi Rouchalovým a sourozencům Petrovi, Danušce a Kamilce za podporu, kterou mi během celého studia vyjadřovali. Své díky bych rád vyjádřil také rodičům mé ženy, Sylvě a Milanovi Pivovarčíkovým.

Závěrečné, ale nikoliv nejméně významné poděkování patří mé manželce Lucii, synovi Vojtíškovi a našemu čtyřnohému pokladu Iggynce ... **DĚKUJI VÁM !!!**

OBSAH

ABSTRAKT	7
ABSTRACT	8
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	9
ÚVOD	11
TEORETICKÁ ČÁST	12
1 ÚLOHA CDKS V PROCESU BUNĚČNÉHO DĚLENÍ	13
1.1 STRUČNÁ HISTORIE OBJEVU CDKS	13
1.2 BUNĚČNÝ CYKLUS	14
1.3 REGULACE BUNĚČNÉHO CYKLU PROSTŘEDNICTVÍM CDKS	15
1.3.1 Způsoby aktivace-inaktivace a struktura komplexů CDK/cyklin	15
1.3.2 Různé komplexy CDK/cyklin řídí odlišné fáze buněčného dělení	17
2 CHEMICKÉ INHIBITORY CDKS	19
2.1 SLOUČENINY S PURINOVÝM SKELETEM	19
2.1.1 Charakteristika vybraných purinových inhibitorů CDKS	20
2.1.2 Orientace purinových inhibitorů ve vazebném místě pro ATP	24
2.1.3 Možnosti syntézy purinových inhibitorů CDKS	26
2.2 OSTATNÍ INHIBITORY CDKS	32
2.2.1 Butyrolakton I	32
2.2.2 Staurosporiny	32
2.2.3 Flavonoidy	33
2.2.4 Inhibitory odvozené od trisubstituovaných purinů	35
2.2.5 Sloučeniny obsahující nekondenzovaný heterocyklus	37
2.2.6 Indirubin a jeho deriváty	40
2.2.7 Paullony	41
2.2.8 Varioliny, meridianiny a merioliny	42
3 VÝZNAM ADAMANTANU PŘI MODIFIKACI BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK	43
3.1 CHARAKTERISTIKA ADAMANTANU A PŘÍPRAVA JEHO JEDNODUCHÝCH DERIVÁTŮ ...	43
3.1.1 Možnosti přípravy adamantan-1-karboxylové kyseliny	44
3.1.2 Příklady syntéz 1-adamantylaminu	46
3.2 PŘÍKLADY APLIKACÍ ADAMANTANU V CHEMII LÉČIV	48
3.3 TVORBA INKLUZNÍCH KOMPLEXŮ DERIVÁTŮ ADAMANTANU S CDS	52
CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE	56
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	58
4 CHARAKTERISTIKA PŘÍSTROJOVÉHO VYBAVENÍ A INSTRUMENTÁLNÍCH METOD	59
5 PŘÍPRAVA VÝCHOZÍCH LÁTEK	61
5.1 ADAMANTAN-1-KARBONYLCHLORID	61
5.2 1-ADAMANTYLMETHANOL	61

5.3	1-(BROMMETHYL)ADAMANTAN	61
5.4	GRIGNARDOVA ČINIDLA	62
5.5	PŘÍPRAVA RANEYOVA NIKLU	62
6	PŘÍPRAVA FINÁLNÍCH LÁTEK	63
6.1	PŘÍPRAVA 1-ADAMANTYLANILINŮ	63
6.1.1	Příprava 1-adamantyl(fenyl)ketonů	63
6.1.2	Nitrace 1-adamantyl(fenyl)ketonů	64
6.1.3	Redukce nitroketonů na aminoketony	66
6.1.4	Redukce nitroketonů na nitroalkoholy	67
6.1.5	Redukce nitroalkoholů na aminoalkoholy	69
6.1.6	Reakce 1-adamantyl(nitrofenyl)ketonů s ethan-1,2-dithiolem	71
6.1.7	Redukce nitrodithiolanů na aminodithiolany	72
6.1.8	Příprava 1-adamantylanilinů s nepolárním alifatickým řetězcem	74
6.2	PŘÍPRAVA 1-ADAMANTYLBENZYLAMINŮ	76
6.2.1	Radikálová bromace 1-adamantyl(methylfenyl)ketonů	76
6.2.2	S _N 2 azidace 1-adamantyl(brommethylfenyl)ketonů	77
6.2.3	Redukce 1-adamantyl(azidomethylfenyl)ketonů na odpovídající aminy	78
6.2.4	Acetylace (1-adamantyl)[3-(aminomethyl)fenyl]methanonu	79
6.3	SYNTÉZA 2,6,9-TRISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ	80
6.3.1	Alkylace 2,6-dichlor-9 <i>H</i> -purinu	80
6.3.2	S _N Ar 2,6-dichlor-9-isopropyl-9 <i>H</i> -purinu na C6	81
6.3.3	S _N Ar 6-, „amino”-2-chlor-9-isopropyl-9 <i>H</i> -purinů na C2	90
6.4	CHARAKTERIZACE NEŽÁDOUCÍCH PRODUKTŮ	98
	VÝSLEDKY A DISKUZE	100
7	CHEMICKÉ SYNTÉZY A STRUKTURA PŘIPRAVENÝCH LÁTEK	101
7.1	SYNTÉZA 1-ADAMANTYLANILINŮ	101
7.1.1	Příprava 1-adamantyl(fenyl)ketonů a jejich nitrace	101
7.1.2	Příprava 1-adamantyl(aminofenyl)ketonů	103
7.1.3	Příprava 1-adamantyl(aminofenyl)alkoholů	103
7.1.4	Příprava 1-adamantylanilinů s nepolárním alifatickým řetězcem	105
7.2	SYNTÉZY VEDOUcí K 1-ADAMANTYLBENZYLAMINŮM	108
7.3	PŘÍPRAVA 2,6,9-TRISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ	111
7.3.1	Alkylace 2,6-dichlor-9 <i>H</i> -purinu	112
7.3.2	S _N Ar 2,6-dichlor-9-isopropyl-9 <i>H</i> -purinu na C6	115
7.3.3	S _N Ar 6-, „amino”-2-chlor-9-isopropyl-9 <i>H</i> -purinů na C2	121
8	KOMPLEXACE PŘIPRAVENÝCH LIGANDŮ S β-CD	128
8.1	STECHEMETRIE KOMPLEXŮ HOSTITEL-HOST	128
8.1.1	ESI-MS analýzy	128
8.1.2	Isotermická titrační kalorimetrie	133
8.2	GEOMETRIE KOMPLEXŮ HOSTITEL-HOST	135
8.2.1	NMR experimenty	136

9	BIOLOGICKÁ AKTIVITA 2,6,9-TRISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ	139
9.1	ENZYMATICKÁ AKTIVITA 2,6,9-TRISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ.....	139
9.2	CYTOTOXICITA 2,6,9-TRISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ	141
	ZÁVĚR	144
	PŘÍLOHY	147
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	151
	SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORA	168
	CURRICULUM VITAE	170

ABSTRAKT

V rámci předložené disertační práce byla připravena série 1-adamantylaminů obsahujících mezi adamantanovým skeletem a aromatickým kruhem řetězec s proměnnou polaritou a délkou. Promyšlené zavedení adamantanového skeletu do struktury s již popsány biologickými účinky může vést ke zlepšení některých farmakologických vlastností takto modifikovaného léčiva. S ohledem na tento fakt bylo následným cílem připravit sérii 2,6,9-trisubstituovaných purinů nesoucích různé 1-adamantylaminy na C6 purinového kruhu a následně studovat jejich biologické účinky na vybraných substrátech. Struktura všech připravených sloučenin byla potvrzena běžně používanými metodami strukturní analýzy.

Druhou oblast této práce představovalo studium schopnosti připravených ligandů tvořit inkluzní komplexy s β -cyklodextrinem (β -CD). Provedenými experimenty byla potvrzena tvorba komplexů β -CD·ligand přetrvávajících jak v plynné fázi, tak v roztoku. Hmotnostní spektrometrií a isothermickou titrační kalorimetrií bylo potvrzeno, že stechiometrie komplexů β -CD·ligand byla ve všech případech 1:1. Geometrie vznikajících komplexů byla navržena na základě 2D NMR experimentů. Z pozorovaných interakcí lze usuzovat, že adamantanový skelet je uvnitř kavity β -CD orientován blíže jeho sekundárnímu okraji a zbytek ligandu vyčnívá z primárního okraje hostitelské molekuly.

Připravené 2,6,9-trisubstituované puriny byly podrobeny testům na jejich enzymatickou a cytotoxickou aktivitu. Inhibiční účinky byly studovány vůči cyklin-dependentním kinasám (CDKs, konkrétně se jednalo o heterodimerní komplex CDK2/cyklin E), které hrají významnou roli při regulaci buněčného cyklu. Antiproliferační aktivita připravených purinů byla zkoumána na dvou typech nádorových buněčných linií *in vitro*. U některých sloučenin se projevila schopnost účinně blokovat aktivitu CDKs a/nebo eliminovat růst vybraných typů nádorových buněčných linií.

Klíčová slova: 1-Adamantylaminy, Puriny, β -Cyklodextrin, Komplexy hostitel-host, Cyklin-dependentní kinasy, Biologická aktivita

ABSTRACT

Presented doctoral thesis was focused on the synthesis of new series of 1-adamantylamines with modulated polarity and properties suitable for drugs modification. It is matter of common knowledge that the well-advised introduction of highly lipophilic adamantane moiety into the known biologically active compound might improve its pharmacological profile. On the bases of this fact, synthesised 1-adamantylamines were introduced at position C6 of the purine ring. Prepared 2,6,9-trisubstitued purines bearing adamantane moiety were subsequently studied as an eventual biologically active comopunds on choicely preselected substrates. All prepared compounds were fully characterised using spectral methods.

The second significant area of this work was the study of stoichiometry and geometry of inclusion complexes forming between prepared ligands bearing adamantane moiety and β -cyclodextrin (β -CD). The host-guest systems of prepared ligands with β -CD were studied using electrospray ionisation mass spectrometry, titration calorimetry and NMR spectroscopy. Performed experiments confirmed the formation of relatively stable host-guest systems in both gaseous phase and solution. The complexes with 1:1 stoichiometry were found to predominantly exist as pseudorotaxane-like threaded structures with adamantane cage sitting deep in the cavity of β -CD slightly shifted toward the wider secondary rim.

Novel series of 2,6,9-trisubstitued purines bearing adamantane moiety were studied as an eventual low-molecular-weight inhibitors of cyclin-dependent kinases (CDKs), namely toward heterodimeric complex CDK2/cyclin E. The antiproliferative activity of prepared purines was tested on two types of cancer cell lines *in vitro*. Some of synthesised purines showed relatively strong inhibitory and/or antiproliferative activity on the tested substrates.

Keywords: 1-Adamatnylamines, Purines, β -Cyclodextrin, Host-guest systems, Cyclin-dependent kinases, Biological activity

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

Zkratka	Název
Ad	1-adamantyl
AdH	adamantan
ALK	alkyl
AK	autokláv
ATP	adenosintrifosfát
β -CD	β -cyklodextrin
Bn	benzyl
BOH	bohemín
CAK	CDK-aktivující kinasa (CDK-activating kinase)
CD/s	cyklodextrin/y
CDK/s	cyklin-dependentní kinasa/y
CIP/KIP	přirozený inhibitor CDKs (CDK-interacting/kinase-inhibiting protein)
CKIs	přirozené inhibitory cyklin-dependentních kinas (CDK inhibitors; obecné označení)
DIEA	<i>N</i> -ethyl- <i>N</i> -isopropylpropan-2-amin, Hünigova báze
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DPBE	dibenzoylperoxid
EA	elementární analýza
EI-MS	hmotnostní spektrometrie s elektronovou ionizací
ESI-MS	hmotnostní spektrometrie s elektrosprejovou ionizací
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
GI ₅₀	koncentrace látky eliminující 50 % buněk v kultivačním testu
GTP	guanosintrifosfát
Hsp90	protein tepelného šoku 90 (heat shock protein 90)
HMQC	heteronuclear multiple quantum coherence

IC ₅₀	koncentrace látky inhibující 50 % aktivity purifikovaného enzymu
INK4	přirozený inhibitor CDKs (inhibitor of CDK4)
IR	infračervená spektroskopie
ITC	isotermická titrační kalorimetrie
K-562	lidská chronická myeloidní leukémie (human chronic myelogenous leukaemia)
MCF-7	lidský karcinom prsu (human breast cancer)
MPF	M-fázi podporující faktor (M-phase promoting factor)
MS	hmotnostní spektrometrie
MW	mikrovlnami asistovaná syntéza
NBS	<i>N</i> -bromsukcinimid
NMR	nukleární magnetická resonance
NOESY	nuclear Overhauser effect spectroscopy
OLO	olomoucín
OLO II	olomoucín II
pRb	protein retinoblastomu
PURV A	purvalanol A
PURV B	purvalanol B
RNA	ribonukleová kyselina
ROS	roskovitin
RVO	rotační vakuová odparka
SAR	vztah mezi strukturou a biologickou aktivitou (structure-activity relationship)
S _N Ar	nukleofilní aromatická substituce
<i>t</i> _t	teplota tání

ÚVOD

V lidském genomu je kódováno přibližně 518 proteinkinasy, přičemž řada z nich se aktivně podílí na velkém množství významných fyziologických procesů. Cyklin-dependentní kinasy (CDKs) jsou serin/threonin proteinkinasy známé zejména pro jejich schopnost účinně regulovat buněčný cyklus. Tyto heterodimerní komplexy však hrají významnou roli také v dějích jako je transkripce a replikace DNA, senescence, apoptosa či sestřih RNA.

Vývoj nízkomolekulárních inhibitorů CDKs byl iniciován zjištěním, že v různých typech lidských tumorů dochází k nadměrné aktivitě a deregulaci CDKs vedoucí k nekontrolovatelné proliferaci. V posledních 20-ti letech bylo popsáno velké množství látek se schopností inhibovat aktivitu CDKs a/nebo blokovat růst nádorových buněk v kultivačních testech či *in vivo*. Nicméně jen malému procentu z nich je umožněno vstoupit do finančně a časově náročného procesu pro „vyvolené“ zvaného klinické testování. V současné době se v klinickém zkoušení nachází přibližně 24 selektivních inhibitorů CDKs.

Nízkomolekulární inhibitory CDKs představují širokou skupinu sloučenin, které je možné dělit dle různých hledisek, zpravidla na základě jejich struktury, selektivity či mechanismu účinku. Významnou skupinu těchto látek představují 2,6,9-trisubstituované puriny, které kompetují s ATP o vazebné místo v apoenzymu CDK a zabraňují tak fosforylaci cílových molekul.

Promyšlená substituce purinového kruhu vhodnými deriváty nesoucími 1-adamantyl by mohla vést, vzhledem k vysoké lipofilitě tohoto unikátního uhlovodíku, nejen k přípravě nových purinů selektivně inhibujících CDKs, ale také ke zlepšení jejich farmakokinetických a farmakodynamických vlastností (např. rychlejšímu transportu přes buněčná rozhraní, efektivnější distribuci léčiva v organismu nebo snížení koncentrace účinné látky nezbytné k dosažení požadované inhibiční aktivity).

Významnou vlastností molekuly adamantanu je bezesporu také schopnost vytvářet relativně stabilní inkluzní komplexy s β -cyklodextrinem (β -CD). Cyklodextriny jsou typickým příkladem molekul, které lze velmi efektivně využít jako tzv. nosiče léčiv. Podání komplexu „léčivo-nosič“, namísto léčiva samotného, může vést k efektivnějšímu transportu léčiva na místo jeho působení či ke zvýšení jeho rozpustnosti ve vodných médiích. Díky přítomnosti adamantanového skeletu v purinových sloučeninách, jejichž příprava byla předmětem této práce, by případný vznik komplexů β -CD·purin mohl představovat jednu z možných cest, jak zvýšit rozpustnost těchto látek ve vodě.

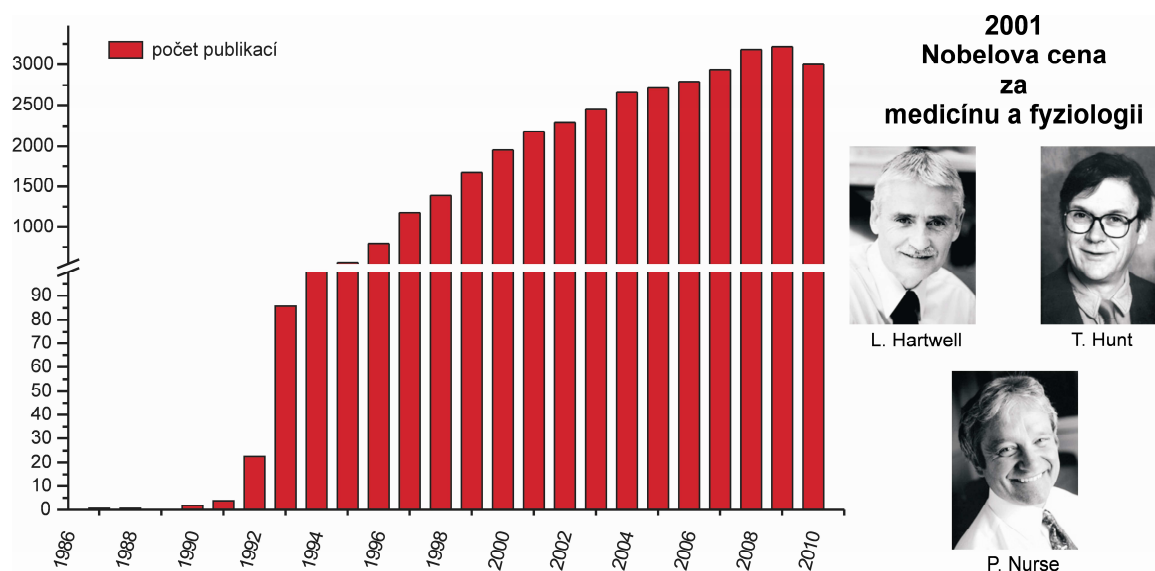
TEORETICKÁ ČÁST

1 ÚLOHA CDKs V PROCESU BUNĚČNÉHO DĚLENÍ

Kinasy jsou enzymy, které náleží do skupiny transferas, tedy enzymů přenášejících funkční skupiny (např. methylovou, acetylovou či fosfátovou) na cílovou molekulu. Významnou skupinu kinas představují proteinkinasy, kterých je v lidském genomu kódováno přibližně 518, přičemž řada z nich se uplatňuje při regulaci nepřeborného množství biochemických dějů^{1,2}. Mezi proteinkinasy se řadí také cyklin-dependentní kiny (CDKs) považované za jedny z klíčových molekul uplatňujících se v procesu buněčného dělení.

1.1 Stručná historie objevu CDKs

Objasněním rolí CDKs nejen v lidském organismu, ale také v organismech modelových (zvířata, rostliny), popsáním jejich struktury, principem asociace s pozitivními regulačními podjednotkami (cykliny) a způsobem jejich aktivace nebo naopak inaktivace, se v posledních několika desítkách let zabývalo mnoho vědeckých týmů prestižních univerzit a výzkumných ústavů. Za vyvrcholení jejich snahy lze považovat nepřeborné množství odborných prací otištěných nejprestižnějšími vědeckými časopisy z oborů biologie, biochemie, chemie či molekulární biologie. Na **Obrázku 1** je formou sloupcového grafu znázorněn počet prací týkajících se cyklin-dependentních kinas, které byly publikovány v letech 1987 až 2010. Dále je zdůrazněn rok 2001, v němž byli společně oceněni Lee Hartwell, Tim Hunt a Paul Nurse, kterým byla za jejich objevy v oblasti genů buněčného cyklu, zpětnovazebných kontrolních mechanismů, CDKs a cyklinů udělena Nobelova cena v oblasti medicíny a fyziologie.



Obrázek 1. Počet publikací v letech 1987–2010 podle Chemical Abstracts. Analýza byla provedena v únoru 2011 pomocí nástroje SciFinder Scholar™ s využitím databází Caplus a Medline. Práce obsažené v obou databázích byly zohledněny pouze jednou. Hledán výskyt klíčového slova „cyclin-dependent kinases“.

Prvními popsánymi „CDKs“ byly CDC2 a CDC28 pozorované při genetických studiích buněčného dělení kvasinek *Schizosaccharomyces pombe* a *Saccharomyces cerevisiae*³. Následně bylo prokázáno, že CDC2 a CDC28 působící na rozhraní fází G_1 – S a G_2 – M jsou funkčně ekvivalentní⁴. Navíc se ukázaly jako homologické vůči CDK1 účastníci se buněčného cyklu v savcích buňkách (z tohoto důvodu se termíny CDK1/CDC2 užívají jako synonyma). Rozluštění aminokyselinové sekvence polypeptidových řetězců CDC2/CDC28 znamenalo počátek v nomenklatuře strukturně příbuzných sloučenin, dnes nazývaných CDKs (cit.⁵). Jednotlivé typy savcích CDKs jsou označovány číslicemi (1–13), zatímco u rostlin je kromě číselného označení používáno ještě písmeno. Tak např. kvasinkový protein CDC2 je u savců označován jako CDK1 a u rostlin CDKA1.

1.2 Buněčný cyklus

Podstatou procesu buněčného dělení je vytvoření dvou geneticky identických dceřiných buněk z jedné buňky mateřské (označované také jako buňka originální). Tento děj je uskutečňován ve dvou hlavních, neustále na sebe navazujících, stádiích – interfázi a mitóze. Interfáze je složena ze tří časově i funkčně odlišných fází, a sice G_1 , S a G_2 (cit.⁶). Fáze G_1 je nazývána přípravnou a dochází v ní k syntéze řady proteinů. S -fáze se vyznačuje replikací DNA, jejíž struktura byla navržena v polovině minulého století⁷, a duplikací všech buněčných chromozómů. V G_2 -fázi se buňka připravuje na mitózu. Mitóza neboli M -fáze, je proces sestávající ze čtyř fází označovaných jako profáze, metafáze, anafáze a telofáze, při nichž dochází k oddělení dvou sesterských chromatid z chromozómů a následnému rozdělení buňky⁸. Detailnější studium jednotlivých mitotických dějů (např. anafáze) odhalilo, že i ony obsahují několik jednotlivých fází⁹. Kromě aktivní účasti na buněčné proliferaci se mohou buňky nacházet ve fázi G_0 (tzv. klidové stádium), ve které udržují jen bazální metabolismus.

Jednotlivé procesy buněčného cyklu (např. replikace DNA nebo mitóza) jsou řízeny zpětnovazebnými kontrolními mechanismy¹⁰⁻¹², které se tak aktivně podílejí na úspěšném dokončení buněčného dělení. Odhalí-li tyto mechanismy určité poškození, dochází k zastavení buněčné proliferace a následnému odstranění chyby pomocí reparačních procesů. Jestliže je zjištěné poškození závažné a jeho oprava se jeví jako „neekonomická“, nastává programovaná buněčná smrt, tzv. apoptóza¹³⁻¹⁷.

Normální buňka může podstoupit přibližně 40–60 buněčných cyklů. Poté dochází v důsledku řady vlivů (např. zkracování telomer) k období senescence a buňka zaniká. Tento fakt však neplatí pro buňky s nesprávně fungujícími kontrolními a řídicími mechanismy (buňky se stávají imortalitními). Nekontrolovatelnou proliferaci takto poškozených buněk je nezbytné potlačit.

1.3 Regulace buněčného cyklu prostřednictvím CDKs

CDKs jsou serin/threonin proteinkinasy představující klíčové molekuly regulačních mechanismů vystupujících v procesu buněčného dělení. Tuto úlohu vykonávají fosforylací hydroxylových skupin serinu či threoninu v polypeptidovém řetězci cílové molekuly prostřednictvím transferu γ -fosfátu z adenosin trifosfátu (ATP) vázaného v aktivním místě apoenzymu CDK (cit.¹⁸). Nedávné studie odhalily intervenci CDKs také v dalších procesech odehrávajících se na buněčné úrovni jakými jsou např. transkripce, apoptosa, sestřih RNA či nejrůznější neuronové funkce^{19,20}.

1.3.1 Způsoby aktivace-inaktivace a struktura komplexů CDK/cyklin

CDKs jsou heterodimerní komplexy obsahující dvě podjednotky, katalytickou (kinasa) a pozitivně regulační (cyklin). Jednotlivé CDKs mají podobnou velikost (30–40 kDa), naproti tomu cykliny, které dostaly název na základě jejich střídavé akumulace a destrukce napříč jednotlivými fázemi buněčného cyklu, se svojí velikostí (30–80 kDa) poněkud liší²¹. V současné době je známo přinejmenším 13 typů CDKs a 25 typů cyklínů²².

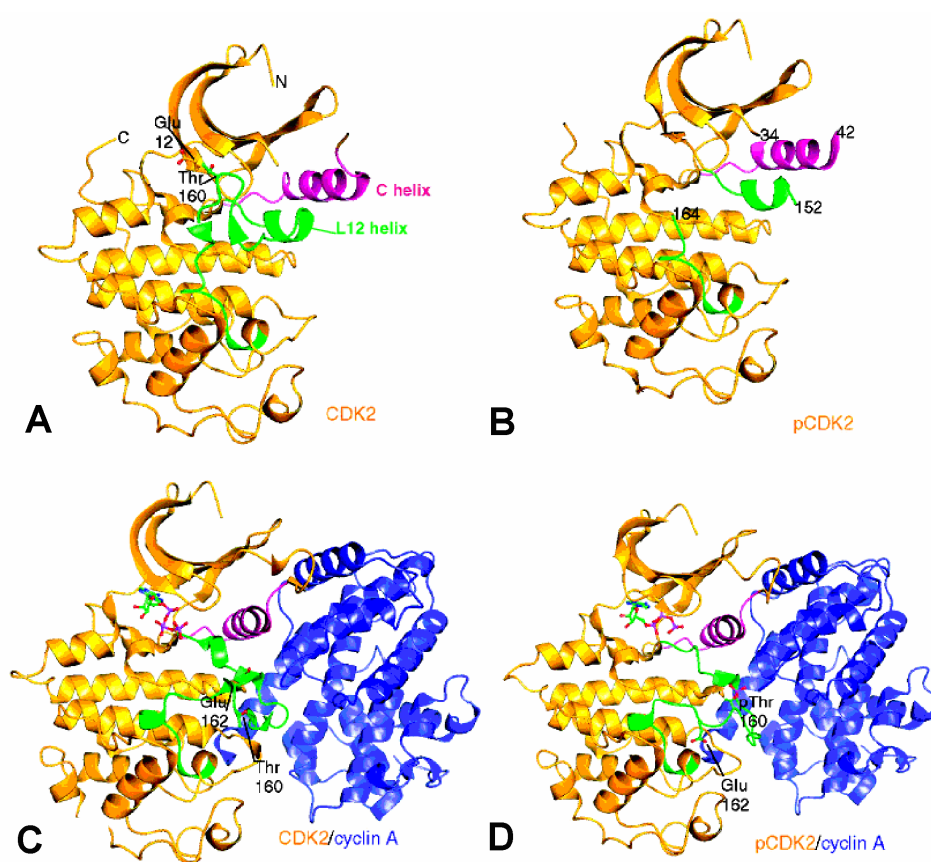
Kromě asociace apoenzymu CDK s příslušným typem cyklinu byly popsány také jiné děje vedoucí k aktivaci holoenzymu CDK/cyklin. Za pozitivně regulační nástroj lze označit např. fosforylaci threoninu (Thr161 pro CDK1) v T-smyčce CDK-aktivující kinasou (CAK; neplatí např. pro CDK5/p35 nebo CDK8), kdy tuto funkci u vyšších eukaryotických organismů vykonává trimer CDK7/cyklin H/Mat 1 (cit.²³) nebo defosforylaci threoninu a tyrosinu (Thr14 a Tyr15 pro CDK1) prostřednictvím fosfatasy CDC25 (cit.²⁴).

Existuje-li pozitivně regulační aparát, je na místě uvést, že aktivita CDKs je regulována také negativně, s cílem pozastavit probíhající buněčný cyklus a provést nezbytné opravy genetického materiálu. Za nástroje negativní regulace lze považovat např. disociaci cyklinu, deaktivující fosforylaci threoninu a tyrosinu (Thr14 a Tyr15 pro CDK1) prostřednictvím Myt1/Wee1 kinas nebo navázání specifických typů proteinů označovaných jako přirozené inhibitory CDKs (CKIs, cyclin-dependent kinase inhibitors)^{24,25}. CKIs se na základě jejich aminokyselinové sekvence a funkční specifity dělí do dvou rodin. Rodina označovaná INK4 (inhibitors of CDK4) zahrnuje proteiny p15, p16, p18 a p19 inhibující aktivitu CDK4 a CDK6, čímž dochází k zastavení buněčného cyklu ve fázi G₁. Naproti tomu inhibitory rodiny CIP/KIP (CDK-interacting/kinase-inhibiting protein), do níž patří proteiny p21, p27 a p57, se vyznačují schopností vázat se na širší spektrum komplexů CDK/cyklin a působit tak v různých fázích buněčného dělení^{26,27}.

Struktura inaktivních apoenzymů CDKs (cit.^{28,29}), aktivovaných komplexů CDKs s příslušným typem cyklinu^{30,31}, ale také CDKs s jejich přirozenými^{32,33}

či syntetickými^{28,34-39} inhibitory je zkoumána nejen rentgenostrukturní analýzou, ale také dynamicky se rozvíjejícím molekulovým modelováním a nukleární magnetickou rezonancí, s cílem detailněji odhalit princip mechanismu jejich aktivace či inaktivace. Získaná strukturní data jsou mimo jiné využívána při designu nových chemických inhibitorů CDKs.

V současné době je díky difrakci rentgenového záření popsána struktura přibližně poloviny ze třinácti známých typů CDKs (cit.^{30,40,41}), a sice CDK2, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7 a CDK9, přičemž nejčastěji je studován komplex CDK2/cyklin A (cit.⁴²⁻⁴⁶). V následujícím odstavci bude na základě informací získaných rentgenostrukturními analýzami a molekulovým modelováním popsána struktura právě tohoto heterodimerního komplexu a způsob jeho aktivace (**Obrázek 2A-D**)⁴⁷.



Obrázek 2. Struktura komplexu CDK2/cyklin A (cit.⁴⁷). (A) Inaktivní apoenzym CDK2. (B) Fosforylovaná forma apoenzymu CDK2. (C) Komplex CDK2/cyklin A. (D) Fosforylovaný komplex CDK2/cyklin A. Barevné označení: žlutá – CDK, fialová – C-helix, zelená – L12 helix, modrá – cyklin A.

Na **Obrázku 2A** je znázorněna struktura inaktivního apoenzymu CDK2, jehož menší *N*-terminální doména je složena převážně β -skládanými listy a *C*-helixem (místo pro navázání příslušného typu cyklinu; CDK2 asociuje s cykliny typu A a E) obsahujícím unikátní aminokyselinovou sekvenci

„PSTAIRES“ (Pro, Ser, Thr, Ala, Ile, Arg, Glu), zatímco větší C-terminální doména tvoří především α -helixy⁴⁸. Vazebné místo pro ATP se nachází v hluboké hydrofobní štěrbině mezi dvěma doménami, kde je také fosforylován aminokyselinový zbytek Thr160 (cit.⁴⁹, **Obrázek 2B**). Z tohoto obrázku je patrné, že fosforylovaná forma apoenzymu CDK2 (pCDK2) je strukturně velmi podobná jeho inaktivní formě⁵⁰. Jedinou výjimku tvoří změna orientace aminokyselinových zbytků 153–164 v aktivním místě pro ATP. V okamžiku vytvoření komplexu CDK2/cyklin A (**Obrázek 2C**) dochází k výrazným konformačním změnám, např. výrazné posunutí C-helixu oproti jeho pozici v apoenzymu CDK2, tvorba aktivního místa pro ATP nebo transformace aktivačního segmentu (Thr160 a Glu162)⁴⁷. Plně aktivním se komplex CDK2/cyklin A stává teprve po opětovné fosforylaci Thr160 CAK, jak je ukázáno na **Obrázku 2D**, přičemž dochází např. k rekonformaci T-smyčky²³.

1.3.2 Různé komplexy CDK/cyklin řídí odlišné fáze buněčného dělení

Rozdílné komplexy CDK/cyklin fosforylují různé substráty a ovlivňují tak odlišné fáze buněčného cyklu, případně se uplatňují v jiných buněčných procesech⁵¹. Jednotlivé heterodimerní komplexy je možné rozdělit do dvou velkých skupin. Členové první skupiny regulují rannou G₁-fázi, následný přechod G₁–S, případně pozdní S-fázi. Komplexy patřící do druhé skupiny řídí procesy brzké G₂-fáze a přechod G₂–M. Přehledný souhrn asociace jednotlivých CDKs s příslušnými typy cyklinů, jakož i funkce těchto komplexů, je uveden v **Tabulce 1**.

Tvorba komplexů CDK4 a CDK6 s cykliny typu D (jsou popsány typy D₁, D₂ a D₃) se účastní regulace fáze G₁. Příslušný holoenzym (např. CDK4/cyklin D) fosforyluje rodinu proteinů retinoblastomu (pRb, p107 a p130), což má za následek aktivaci transkripčního faktoru E2F (cit.⁵²). Abnormality v kaskádě CDK4/cyklin D/INK4/pRb/E2F jsou běžně pozorovány v mnoha typech nádorových onemocnění^{53–55}. Jako „multifunkční“ může být označen cyklin D₁, jehož zvýšená exprese může mít za následek stimulaci či inhibici buněčného dělení, ale také nástup senescence a apoptosy⁵⁶. Do první skupiny náleží také apoenzym CDK2, který asociuje se dvěma typy cyklinů, a sice s cykliny A a E. Tvorba komplexu CDK2/cyklin E je považována za nezbytný ve vztahu ke spuštění replikace DNA, zatímco holoenzym CDK2/cyklin A zajišťuje přechod z S-fáze⁵⁷. Na inaktivaci pRb se může podílet také CDK3 interagující s cykliny A a E. V některých nádorových buněčných liniích byla v nedávné době prokázána také tvorba komplexu CDK3/cyklin C stimuluje fosforylaci pRb během přechodu z klidového stádia G₀ do fáze G₁ (cit.⁵⁸).

Do druhé skupiny se řadí zejména CDK1 (CDC2), která vytváří heterodimerní komplexy s cykliny A a B. Substrátem vzniklých komplexů je

mimo jiné pRb úzce spojený s replikací DNA (cit.⁵⁹). Cyklin A asociuje s CDK1 na konci S-fáze, ve které, jak již bylo zmíněno, tvoří komplex také s CDK2. V průběhu G₂-fáze je cyklin A degradován a nastává aktivace cyklinu B. Následně dochází k tvorbě komplexu CDK1/cyklin B známému také jako MPF (M-fázi podporující faktor, z angl. M-phase promoting factor), zejména CDK1/cyklin B₁ a CDK1/cyklin B₂ (cit.²³).

Jak je zmíněno výše, některé heterodimerní komplexy CDK/cyklin se přímo neúčastní regulace procesu buněčného dělení (myšleno ve smyslu transformace jednotlivých fází buněčného cyklu). Tak např. CDK5 komplexující s cykliny typu D je nositelem celé řady funkcí v nervovém systému^{60,61}, CDKs 7–9 jsou nazývány jako transkripční CDKs a CDKs 11–13 interagují s cykliny typu L a účastní se sestřihu RNA (z angl. RNA-splicing)^{62,63}.

Tabulka 1. Heterodimerní komplexy CDK/cyklin (cit.^{57,58,59,62,63}).

Katalytická jednotka	Regulační jednotka	Funkce komplexu
CDK1	cyklin A ₁ , A ₂ , B ₁ –B ₃	buněčný cyklus (G ₂ –M), apoptosa
CDK2	cyklin A ₁ , A ₂ , E ₁ , E ₂	buněčný cyklus (G ₁ –S), apoptosa
CDK3	cyklin A ₁ , A ₂ , E ₁ , E ₂ , C	buněčný cyklus (G ₀ –G ₁ –S)
CDK4	cyklin D ₁ , D ₂ , D ₃	buněčný cyklus (G ₁ –S)
CDK5	cykliny typů D, E, G; proteiny p25, p35, p39	senescence, apoptosa, neuronové funkce
CDK6	cyklin D ₁ , D ₂ , D ₃	buněčný cyklus (G ₁ –S)
CDK7	cyklin H	CAK, transkripce
CDK8	cyklin C	transkripce
CDK9	cyklin T ₁ , T ₂ , K	transkripce
CDK10	cykliny typu L	transkripce, buněčný cyklus (G ₂ –M), neuronové funkce
CDK11	cykliny typu L	transkripce, neuronové funkce, sestřih RNA
CDK12	cykliny typu L	sestřih RNA
CDK13	cykliny typu L	sestřih RNA

2 CHEMICKÉ INHIBITORY CDKS

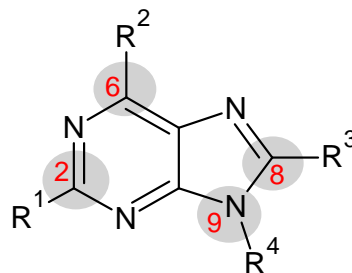
Abnormálně vysoká exprese cyklinů a/nebo ztráta schopnosti přirozených proteinových inhibitorů ovlivňovat aktivitu CDKs jsou jedny z několika známých příčin vedoucích k nekontrolované buněčné proliferaci a ke vzniku nádorových onemocnění. Deregulace aktivity CDKs je však spojena také se vznikem imunologických, neurologických, metabolických či infekčních chorob¹. Objev sloučenin s relativně malou molekulovou hmotností, které vykazují schopnost inhibovat aktivitu CDKs, ať už selektivně či nespecificky, poskytl novou strategii, jež by mohla být při léčbě těchto onemocnění využita.

V posledních 20-ti letech bylo popsáno velké množství látek se schopností inhibovat aktivitu CDKs a/nebo blokovat růst nádorových buněk v kultivačních testech či *in vivo*^{64,65}. Avšak jen zlomek z těchto sloučenin je dále zkoumán ve vztahu k jejich možnému terapeutickému využití. V současné době se v klinickém zkoušení nachází přibližně 24 selektivních inhibitorů CDKs (cit.⁶⁶).

Chemické inhibitory CDKs představují širokou skupinu sloučenin, které je možné dělit dle různých hledisek, zpravidla na základě jejich struktury, selektivity či mechanismu účinku. V této části práce budou jednotlivé typy syntetických inhibitorů uváděny na základě jejich strukturní příbuznosti, se zaměřením se nejen na jejich enzymatické a antiproliferační účinky, ale u vybraných látek se známou orientací ve vazebném místě pro ATP budou komentovány také jejich vazebné interakce. Důraz bude kladen na sloučeniny s purinovým skeletem, zejména 2,6,9-trisubstituované, jejichž příprava představuje jednu z částí této disertační práce.

2.1 Sloučeniny s purinovým skeletem

Název purin vytvořil Emil Fischer, který poprvé syntetizoval tuto slabou bázi v roce 1899 (cit.⁶⁷). Sloučeniny obsahující purinový kruh představují širokou skupinu látek, u nichž byla popsána celá řada biologických účinků. Mohou tak vystupovat jako inhibitory různých druhů proteinkinas⁶⁸⁻⁷⁰, sulfotransferas⁷¹⁻⁷³, fosfodiesteras⁷⁴⁻⁷⁶, proteinu tepelného šoku 90 (Hsp90)⁷⁷⁻⁷⁹, induktory interferonu⁸⁰⁻⁸², látky inhibující kompletování mikrotubulu⁸³⁻⁸⁵, případně jako agonisté^{86,87} či antagonisté^{88,89} receptorů adenosinu. Široký rozsah biologických účinků je dán nejen blízkou příbuzností s ATP či GTP (a jejich deriváty), ale také nepřeborným množstvím substituentů, jež mohou být kombinovány na atomech C2, C6, C8 a N9 purinového kruhu (**Obrázek 3**).



Obrázek 3. Struktura purinového kruhu.

2.1.1 Charakteristika vybraných purinových inhibitorů CDKs

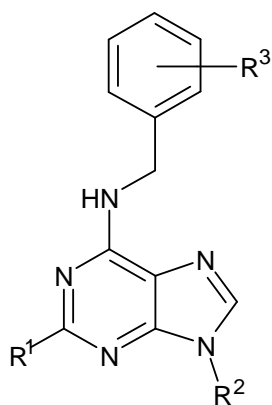
Prvními nescifickými inhibitory CDKs byly 6-(dimethylamino)purin a 6-(Δ^2 -isopentenyl)aminopurin⁹⁰. Následoval objev inhibičních vlastností olomoucínu (**I, Obrázek 4**), který se již v 80-tých letech používal v botanickém výzkumu jako inhibitor cytokinylglukosyltransferas⁹¹ (jako olomoucín byla tato sloučenina pojmenována až po objevení její schopnosti inhibovat CDKs). Olomoucín vykazuje afinitu vůči komplexům CDK1/cyklin B, CDK2/cyklin A a E v hodnotách IC_{50} nižších než $10 \mu\text{M}$ (cit.⁹²). Po úspěšném testování enzymatické aktivity olomoucínu byla zkoušena také jeho cytotoxicita na druhově odlišných buněčných liniích *in vitro*⁹³. Pro vývoj další generace selektivních inhibitorů CDKs bylo prospěšné také studium kokrystalu CDK2/olomoucín⁹⁴.

Dalším ze skupiny purinových derivátů je bohemín (**II, Obrázek 4**), v jehož molekule byl prodloužen alifatický řetězec na C2 o jeden atom uhlíku a v poloze 9 nahrazena methylová skupina za skupinu isopropylovou, která se následně stala nejfrekventovaněji užívaným substituentem v této pozici. Uvedené změny vedly, v porovnání s olomoucínem, ke zvýšení inhibiční aktivity vůči holoenzymu CDK1/cyklin B ($IC_{50} = 1 \mu\text{M}$)⁹⁵.

Vysoce selektivní sloučeninu potlačující nejen aktivitu komplexů CDK1/cyklin B ($IC_{50} = 0,65 \mu\text{M}$), CDK2/cyklin A ($IC_{50} = 0,7 \mu\text{M}$), CDK2/cyklin E ($IC_{50} = 0,1 \mu\text{M}$) a CDK5/p35 ($IC_{50} = 0,16 \mu\text{M}$)^{96,97}, ale např. také zabraňující transkripci viru prostého oparu (HSV-1; z angl. herpes simplex virus type 1)⁹⁸, představuje roskovitin (**III, Obrázek 4**), známý rovněž jako Selicibin nebo CYC202. Podobně jako řada jiných inhibitorů byl také roskovitin podroben rentgenostrukturní analýze zkoumající jeho interakce ve vazebném místě pro ATP (cit.⁹⁹). Roskovitin úspěšně absolvoval fázi I klinického zkoušení¹⁰⁰ a v současné době se nachází ve fázi II (cit.¹⁰¹). Během klinického testování nejsou studovány jen protinádorové účinky roskovitinu *in vivo*⁹⁷, ale také jeho farmakokinetické vlastnosti^{102,103}.

In vitro cytotoxicita (testovány byly vybrané druhy nádorových buněčných linií) olomoucínu (**I**), bohemínu (**II**) a roskovitinu (**III**) je vyšší, jsou-li tyto inhibitory komplexovány s ionty Zn^{II} , Pt^{II} nebo Pd^{II} (cit.¹⁰⁴⁻¹⁰⁶).

Zavedení hydroxylové skupiny do polohy *ortho* na aromatickém kruhu roskovitinu poskytlo sloučeninu 30× účinnější proti komplexu CDK1/cyklin B ($IC_{50} = 0,02 \mu\text{M}$), nazvanou olomoucín II (**IV, Obrázek 4**, cit.¹⁰⁷). Srovnatelná je aktivita roskovitinu a olomoucínu II vůči komplexům CDK2/cyklin E ($IC_{50} = 0,1 \mu\text{M}$) a CDK7/cyklin H ($IC_{50} = 0,45 \mu\text{M}$). Olomoucín II však v porovnání s roskovitinem vykazuje o řád vyšší aktivitu při inhibici holoenzymu CDK9/cyklin T ($IC_{50} = 0,06 \mu\text{M}$), který hraje významnou roli při transkripci RNA (cit.¹⁰⁸).

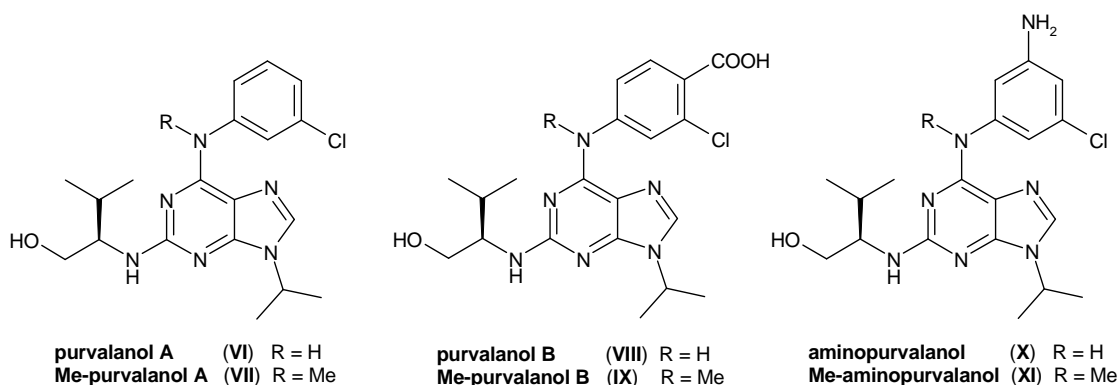


Slouč.	Název	R ¹	R ²	R ³
I	OLO		Me	H
II	BOH		iPr	H
III	ROS		iPr	H
IV	OLO II		iPr	2-OH
V	CVT-313		iPr	3-MeO

Obrázek 4. Strukturální vzorce OLO, BOH, ROS, OLO II a CVT-313. OLO – olomoucín, BOH – bohemin, ROS – roskovitin a OLO II – olomoucín II.

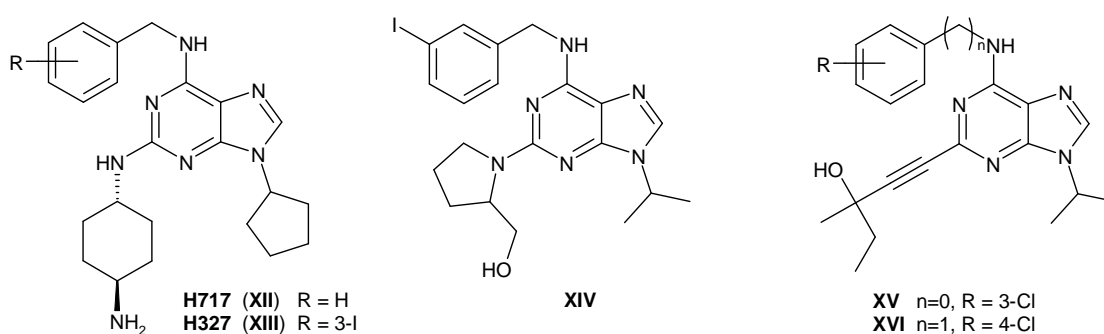
CVT-313 (**V**, **Obrázek 4**) je charakteristický přítomností terciárního aminu na C2 (namísto obvyklého aminu sekundárního). CVT-313 je relativně silným inhibítoem komplexů CDK1/cyklin B ($IC_{50} = 4,2 \mu M$), CDK2/cyklin A ($IC_{50} = 1,5 \mu M$)¹⁰⁹ a CDK2/cyklin E ($IC_{50} = 1,5 \mu M$)¹¹⁰.

Další významnou skupinu látek obsahujících purinový skelet a inhibujících aktivitu CDKs představují deriváty purvalanolu (**Obrázek 5**). Za povšimnutí stojí nahrazení benzylaminového substituentu v poloze 6 purinového kruhu 3-chloranilinovým. Mezi nejznámější patří bezesporu purvalanol A (**VI**), purvalanol B (**VIII**) a aminopurvalanol (**X**). U každé z těchto látek jsou známy také jejich *N*⁶-methylované analogy, tedy methylovaný purvalanol A (**VII**), methylovaný purvalanol B (**IX**) a methylovaný aminopurvalanol (**XI**)¹¹¹. Purvalanol A inhibuje aktivitu komplexů CDK1/cyklin B, CDK2/cyklin A a E, případně CDK5/p35 v hodnotách IC_{50} odpovídajících 4, 70, 35 a 75 nM (cit.¹¹²). Purvalanol B, lišící se od purvalanolu A umístěním karboxylové skupiny v poloze *para* na aromatickém kruhu, vykazuje vyšší enzymatickou afinitu ($IC_{50} = 6, 6, 9$ a 6 nM; hodnoty odpovídají holoenzymům CDK/cyklin uvedeným u látky purvalanol A)¹¹³. Aktivita aminopurvalanolu vůči analogickým komplexům CDK/cyklin je ve srovnání s purvalanolem B nižší, nicméně se jeví jako silnější inhibitor než purvalanol A. Literatura uvádí pro aminopurvalanol hodnoty $IC_{50} = 33, 28, 28$ a 20 nM (cit.^{114,115}). Jako zajímavý fakt, zejména v porovnání s enzymatickou aktivitou, se jeví výsledky získané při testování cytotoxicity sloučenin **VI**, **VIII** a **X**. Purvalanol A (**VI**) a aminopurvalanol (**X**) vykazovaly velmi nízké průměrné hodnoty ($GI_{50} = 2$, respektive 1,8 μM), zatímco purvalanol B (**VIII**) nevykazoval z důvodu nízké schopnosti prostupu přes buněčné membrány žádnou aktivitu^{114,116}.



Obrázek 5. Strukturální vzorce derivátů purvalanolu.

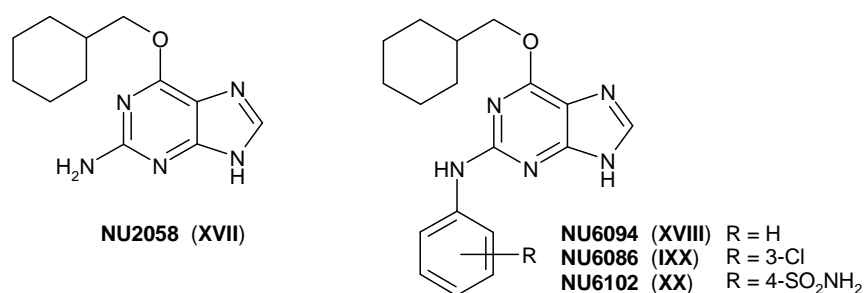
Připravena byla také řada látek odvozených především od olomoucínu (**I**), roskovitinu (**III**) nebo purvalanolu A (**VI**). Tyto sloučeniny, jejichž strukturální vzorce jsou uvedeny na **Obrázku 6**, jsou charakteristické přítomností cyklických, příp. alifatických substituentů vázaných na C2 a N9. Tak např. sloučeniny označované H717 (**XII**) a H327 (nebo také MDL 106,327DA, **XIII**) vykazují velmi silnou enzymatickou a cytotoxickou aktivitu *in vitro*. H717 inhibuje CDK1, CDK2 a CDK4 ($IC_{50} = 0,05, 2,0$ a $0,22 \mu M$) a jeho antiproliferační aktivita vůči MCF-7 (lidský karcinom prsu) činí $1,4 \mu M$ (cit.¹¹⁷). Aktivita H327 proti stejným typům CDKs je nepatrně nižší, avšak jeho cytotoxicita vůči MCF-7 je naopak vyšší ($GI_{50} = 0,6 \mu M$)¹¹⁸. Další zajímavou strukturu představuje [1-(6-[[3-jodfenyl)methyl]amino}-9-isopropyl-9*H*-purin-2-yl)pyrrolidin-2-yl]methanol (**XIV**) s inhibiční aktivitou proti CDK1 ($IC_{50} = 0,16 \mu M$), CDK2 ($IC_{50} = 0,45 \mu M$) a CDK5 ($IC_{50} = 0,65 \mu M$)¹¹⁹. Sloučeniny **XV** a **XVI**, pro které je typický alkynylový substituent na C2, inhibují selektivně komplex CDK1/cyklin B v hodnotách $IC_{50} = 60$ nM (cit.¹²⁰).



Obrázek 6. Sloučeniny odvozené od známých 2,6,9-trisubstituovaných purinů.

Velmi silnou inhibiční aktivitou se prezentuje skupina látek nazývaných O^6 -cyklohexylmethylguaninové deriváty (**Obrázek 7**). Základní strukturu, od níž byly změnou substituentu v poloze 2 odvozeny velmi účinné inhibitory, představuje sloučenina nazvaná NU2058 (**XVII**), která blokuje aktivitu

komplexů CDK1/cyklin B a CDK2/cyklin A, ale také některých nádorových buněčných linií v mikromolární koncentraci¹²¹. Následně připravené deriváty NU2058 jako např. NU6094 (**XVIII**), který má v poloze 2 anilinový substituent, nebo NU6086 (**IXX**) s 3-chloranilinem na C2, se vyznačují jak silnější enzymatickou, tak cytotoxickou aktivitou v porovnání s jejich „mateřskou“ sloučeninou^{121,122}. Prozatím nejsilnějším inhibítorem je ovšem NU6102 (**XX**), který má na aromatickém kruhu v poloze *para* navázanou sulfonamidovou skupinu. NU6102 inhibuje komplexy CDK1/cyklin B a CDK2/cyklin A v hodnotách 9 a 6 nM a jeho antiproliferační aktivita vůči MCF-7 činí 8 μ M (cit.^{121,123}).



Obrázek 7. *O*⁶-cyklohexylmethylguaninové deriváty.

V **Tabulce 2** je uveden přehledný souhrn enzymatické aktivity vybraných purinových inhibitorů proti různým komplexům CDK/cyklin.

Tabulka 2. Enzymatická aktivita vybraných purinových inhibitorů CDKs

Slouč. ^a	IC ₅₀ [μ M]						Citace
	CDK1/B	CDK2/A	CDK2/E	CDK5/p35	CDK7/H	CDK9/T	
I	7	7	7	3	–	–	92
III	0,65	0,7	0,1	0,16	0,49	0,74	96,97,108
IV	0,2	–	0,1	–	0,45	0,06	107,108
VI	0,004	0,07	0,0035	0,0075	–	–	112,114,115
VIII	0,006	0,006	0,009	0,006	–	–	113,114
XII	0,05	–	2	–	–	–	117
XX	0,009	0,006	–	–	–	–	121

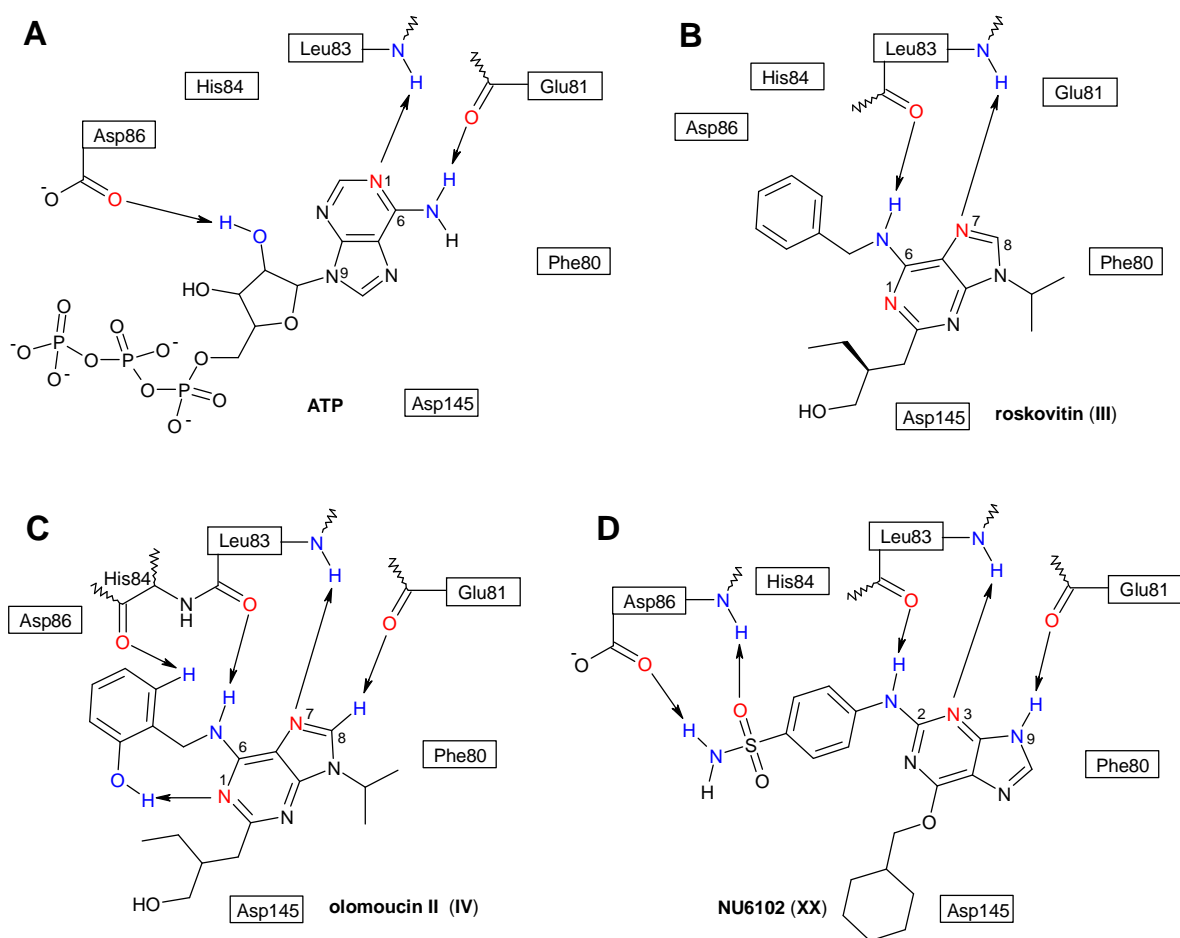
^a **I** – olomoucín, **III** – roskovitin, **IV** – olomoucín II, **VI** – purvalanol A, **VIII** – purvalanol B, **XII** – H717, **XX** – NU6102.

2.1.2 Orientace purinových inhibitorů ve vazebném místě pro ATP

Vazebné místo pro ATP se nachází v hluboké štěrbině mezi C- a N-terminálními doménami apoenzymu CDK (struktura komplexů CDK/cyklin je blíže popsána v kapitole 1.3.1). ATP-vazebná kapsa CDK může být rozdělena do tří oblastí definovaných na základě pozorovaných interakcí se strukturně odlišnými částmi molekuly ATP (**Obrázek 8A**). První oblast je charakteristická tvorbou vodíkových vazeb s purinovým skeletem. Amino skupina na C6, vystupující jako donor vodíku, interaguje s páteřním karbonylem Glu81, zatímco akceptorní N1 purinového kruhu tvoří vodíkovou vazbu s páteřní NH-skupinou Leu83. Tato část vazebného místa pro ATP se nazývá „hinge region“. Druhou oblast, která je často pojmenovávána jako ribosová kapsa, reprezentují interakce ribosy (vázané na N9 purinového kruhu) s residui Asp86, Gln131 a Val18. Vodíkové vazby jsou tvořeny prostřednictvím hydroxylových skupin ribosy a residui Asp86 a Gln131, aminokyselinový zbytek Val18 je pak přitahován van der Waalsovými silami. V posledním regionu dochází k fixaci fosfátového řetězce pomocí vzájemného spolupůsobení s polárními aminokyselinami Lys33, Asn132, Asp145, Lys129 a Thr14. Tato část vazebného místa pro ATP se označuje jako fosfátová kapsa (cit.^{124,125}).

U sloučenin s purinovým skeletem – které vykazují afinitu vůči CDKs, kompetují s ATP o vazebné místo a byl připraven jejich kokrystal s určitým typem CDK – byla stejně jako v případě komplexu CDK/ATP pozorována tvorba téměř identických interakcí postranních aminokyselinových residuí apoenzymu CDK a příslušného inhibitoru¹²⁶. Bylo také prokázáno, že navzdory určité strukturní příbuznosti mezi ATP a inhibitory s purinovým skeletem, jsou inhibitory CDKs oproti ATP otočeny ve vazebném místě téměř o 160° (cit.⁶⁴). Poté, co byla popsána orientace prvního selektivního inhibitoru CDKs olomoucínu (**I**, cit.⁹⁴), byly provedeny rentgenostrukturní analýzy také u dalších známých purinových inhibitorů CDKs, pro které je typické umístění sekundárního aminu na C6, např. roskovitinu (**III**, **Obrázek 8B**), purvalanolu B (**VIII**), aminopurvalanolu (**X**) a dalších, přičemž všechny byly lokalizovány ve vazebném místě pro ATP v takřka analogické pozici jako olomoucín, s tvorbou dvou vodíkových vazeb mezi donorní NH-skupinou na C6 a páteřním karbonylem Leu83, a akceptorním dusíkem N7 purinového kruhu a páteřní NH-skupinou Leu83 (cit.¹²⁷). Také olomoucín II (**IV**, **Obrázek 8C**) vykazuje obdobnou orientaci jako výše zmíněné purinové inhibitory. Olomoucín II navíc tvoří vodíkovou vazbu prostřednictvím donorní C⁸H s akceptorním karbonylem Glu81. Orientace olomoucínu II ve vazebném místě pro ATP je dále stabilizována intramolekulární interakcí mezi donorní hydroxylovou skupinou vázanou na aromatickém kruhu a akceptorním N1 purinového skeletu. Silnější afinita olomoucínu II vůči CDK2 (a možná také CDK9) by mohla být způsobena interakcí karbonylu His84 s protonem na aromatickém kruhu¹⁰⁸.

Překvapivé bylo také zjištění, že O^6 -cyklohexylmethylguaninové deriváty jako např. NU2058 (XVII) a NU6102 (XX, **Obrázek 8D**) se ve vazebném místě pro ATP orientují odlišným způsobem (v porovnání s olomoucinem, roskovitinem či purvalanoly). NU6102 tvoří pět vodíkových vazeb; tři s residui Glu81, Leu83 a Asp86 prostřednictvím N3 a N9 purinového kruhu, zbývající dvě interakce jsou podpořeny sulfonamidovou skupinou umístěnou v poloze *para* na aromatickém kruhu na C2, kdy atom kyslíku pocházející ze sulfonamidové skupiny je akceptorem vodíku z páteřní aminoskupiny Asp86, zatímco „sulfonamidová“ NH_2 poskytuje vodík postrannímu karboxylátu Asp86 (cit.¹²⁸⁻¹³⁰).



Obrázek 8. Interakce vybraných sloučenin s purinovým skeletem ve vazebném místě pro ATP CDK2. (A) Interakce ATP/apoCDK2. (B) Roskovitin/apoCDK2. (C) Olomoucín II/apoCDK2. (D) Vazba NU6102 v komplexu CDK2/cyklin A. Barevné označení: modrá – donory vodíku, červená – akceptory vodíku.

Při studiu interakcí ligand-protein může být rentgenostrukturní analýza do jisté míry nahrazena ekonomicky výhodnějším molekulovým modelováním, které v současné době nachází široké uplatnění při navrhování nových sloučenin s potenciálním inhibičním efektem vůči CDKs či jiným proteinkinázám^{131,132}.

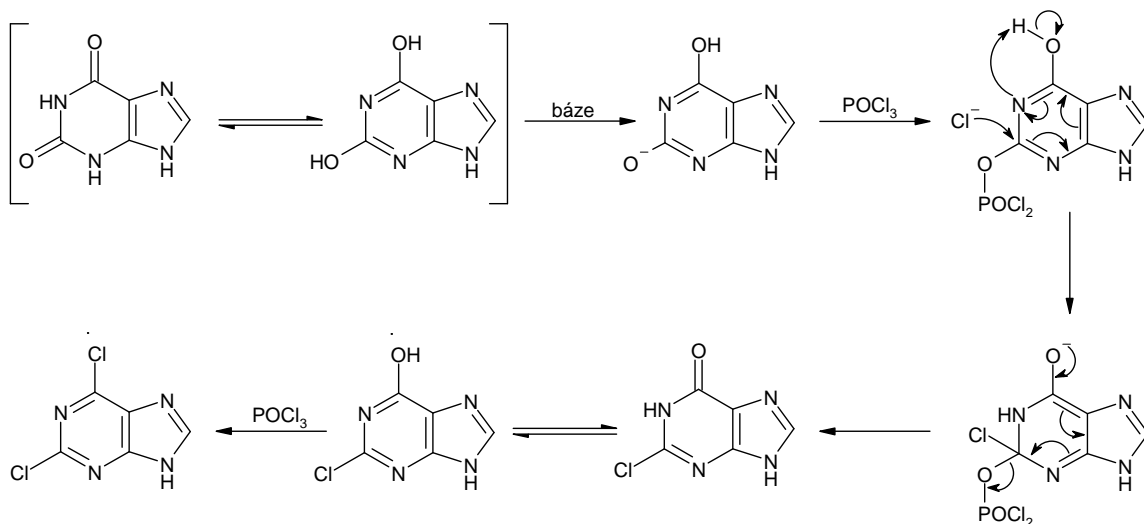
2.1.3 Možnosti syntézy purinových inhibitorů CDKs

Stejně jako je tomu v kapitole 2.1.1 i tato část práce bude soustředěna na 2,6,9-trisubstituované puriny.

Při syntéze 2,6,9-trisubstituovaných purinů je jako výchozí látka obecně používán 2,6-dihalogenpurin, nejčastěji pak významný farmaceutický intermediát 2,6-dichlorpurin. Jeho přípravu chlorací xanthinu pomocí pyrofosforylchloridu ($\text{O}[\text{P}(\text{OCl}_2)]_2$) popisují např. Eliot & Hitchings¹³³ nebo Naito *et al.*¹³⁴. Určitou modifikací těchto metod je použití báze (např. 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-enu) za účelem odštěpení protonu a převedení xanthinu na enolát, jehož následné rozpuštění v trichlorid fosforylu (POCl_3) poskytuje fosfonátový intermediát usnadňující atak chloridového aniontu, po němž dojde k odtržení PO_2Cl_2^- . Z důvodu vyšší rozpustnosti vzniklého 2-chlor-6-hydroxypurinu v POCl_3 může být první krok analogicky opakován s možností vyloučení báze (Schéma 1, cit.¹³⁵).

Další možností syntézy 2,6-dichlorpurinu je použití 2,6-dichlor-4,5-diaminopyrimidinu, jehož reakcí s ethoxy(hydroxy)methyl-acetátem vzniká směs produktů, a sice požadovaný 2,6-dichlorpurin a *N*-acetyl-2,6-dichlorpurin, který lze snadno hydrolyzovat na 2,6-dichlorpurin¹³⁶. Dihalogenaminopyrimidiny, např. 4,6-dichlor-5-aminopyrimidin, jsou také používány jako výchozí látky v kombinatoriální chemii při přípravě široké palety sloučenin (tzv. knihoven), kterými mohou být např. 6,9-disubstituované¹³⁷ nebo 2,6,8,9-tetrasubstituované¹³⁸ puriny.

Schéma 1

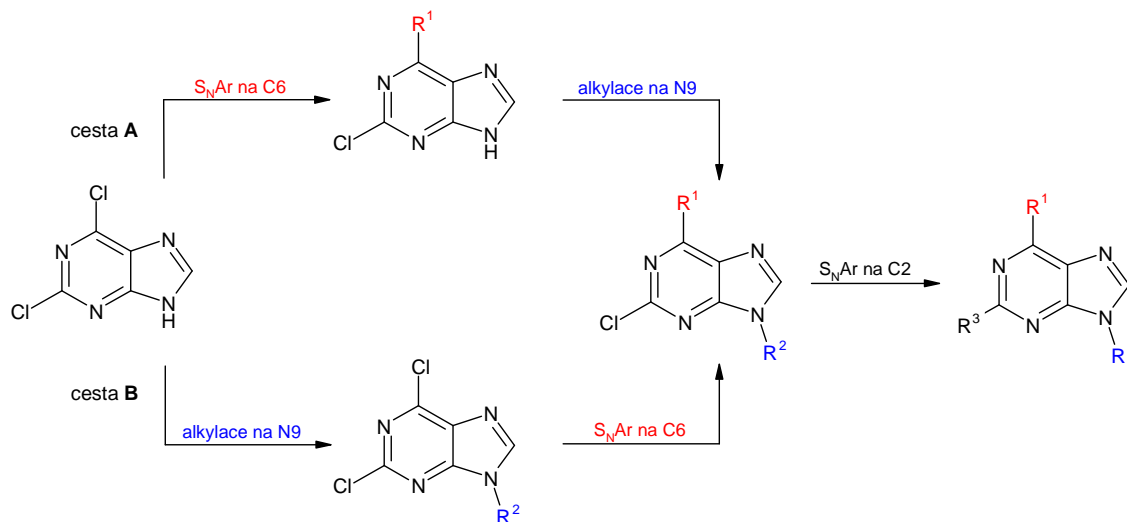


Nutno ovšem podotknout, že 2,6-dichlorpurin je v drtivé většině případů pořizován z komerčních zdrojů, čímž se stala jeho příprava takřka výhradně industriální záležitostí.

Při syntéze 2,6,9-trisubstituovaných purinů je obecně postupováno dvěma základními cestami (Schéma 2). Jedním z možných způsobů je nejprve provést

nukleofilní aromatickou substitucí (S_NAr) na C6 a následně alkylicí na N9 (cesta **A**). Druhou možností je nejprve naalkylovat purinový skelet na N9 a teprve poté provést S_NAr na C6 (cesta **B**). Společným krokem pro oba uvedené postupy je závěrečná S_NAr do polohy 2.

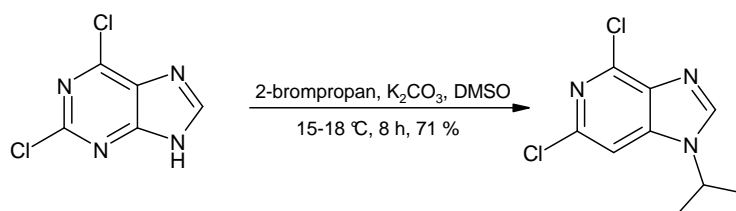
Schéma 2



Alkylicí purinů má obvykle za následek tvorbu směsi isomerních N7 a N9 alkylopurinů, kde N9 alkylovaný isomer bývá produktem majoritním, zatímco N7, případně další alkylační produkty, složkami minoritními¹³⁹. Tento, nikterak závažný, problém je při syntézách 2,6,9-trisubstituovaných purinů možné odstranit volbou cesty **A**, kdy je v prvním stupni do polohy 6 obvykle navázán objemný anilinový/benzylaminový substituent, který při následné alkylicí stericky brání tvorbě N7 alkylovaného isomeru.

Reakcí 2,6-dichlorpurinu s 2-brompropanem v dimethylsulfoxidu (DMSO) za přítomnosti K_2CO_3 lze získat výhradně N9 alkylovaný isomer ve výtěžku 71 % (**Schéma 3**, cit.¹⁴⁰). Autoři to vysvětlují precizní kontrolou reakční teploty, která byla po dobu provádění reakce (8 h) udržována v rozmezí 15–18 °C. Nicméně výsledek analýzy dokazující toto tvrzení (např. GC-MS), není v práci uveden.

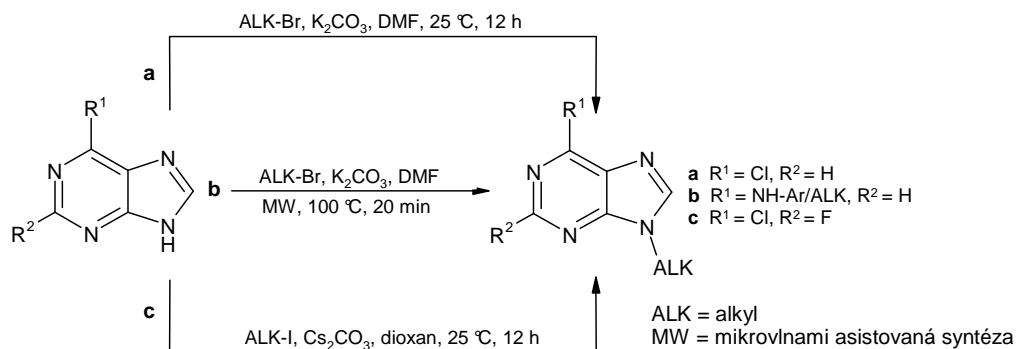
Schéma 3



Další způsoby přípravy N9 alkylovaných purinů z mono- příp. dihalogenpurinů popisuje Zacharie *et al.*¹⁴¹ (**Schéma 4**). První možností je reakce 6-chlorpurinu s bromalkanem v dimethylformamidu (DMF) za

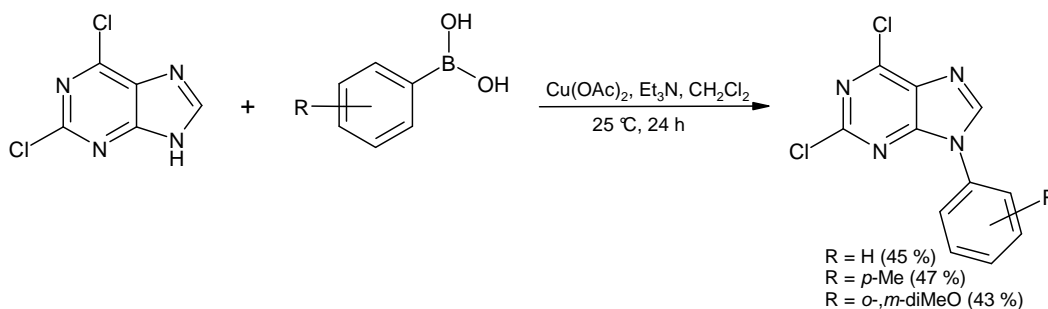
přítomnosti uhličitanu draselného prováděná za laboratorní teploty přes noc (**Schéma 4, a**). Uvedena je také mikrovlnami (MW) asistovaná syntéza 6-alkyl/arylamino-purinů s bromalkanem v DMF za přítomnosti K_2CO_3 poskytující požadovaný produkt po 20 minutách při teplotě $100\text{ }^\circ\text{C}$ (**Schéma 4, b**). Dalším typem je alkylace 2-fluor-6-chlorpurinu jodalkanem v dioxanu při $25\text{ }^\circ\text{C}$ za přítomnosti silné báze (**Schéma 4, c**).

Schéma 4



Méně častým příkladem je N9 arylace purinového kruhu. Reakcí 2,6-dichlorpurinu s derivátem fenylboronové kyseliny v přítomnosti bezvodého octanu měďnatého, triethylaminu (Et_3N) a dichlormethanu byla získána směs isomerních produktů, přičemž podíl N9 arylovaného isomeru byl větší než 90 % (**Schéma 5, cit.**¹⁴²).

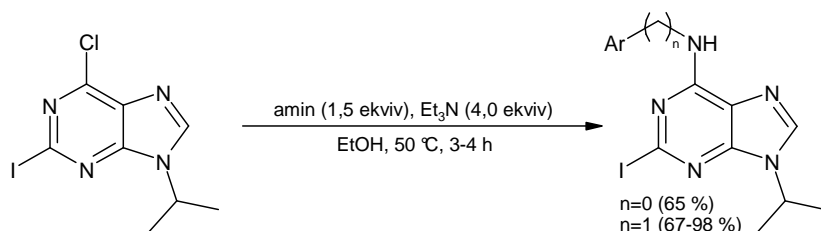
Schéma 5



Substituce atomu chloru, příp. jiného halogenu, na C6 nevyžaduje, vzhledem k vysoké reaktivitě halogenů v této poloze, žádné speciální podmínky a obvykle poskytuje požadovaný produkt v uspokojivých výtěžcích.

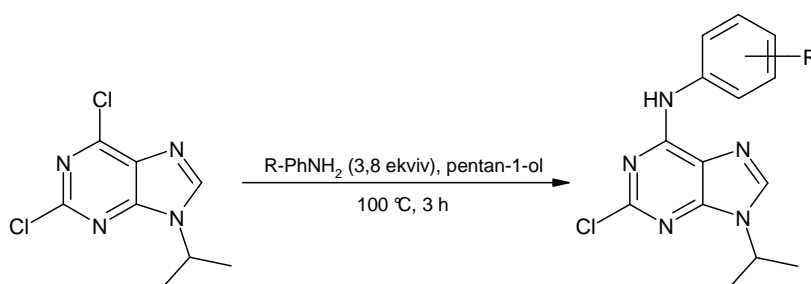
Typickou S_NAr na C6 představuje reakce příslušného anilinu/benzylaminu v přítomnosti báze (např. triethylaminu) za mírně zvýšené teploty, kdy reakce s benzylaminy poskytují vyšší výtěžky¹⁴³ (**Schéma 6**). To lze vysvětlit vyšší nukleofilitou benzylaminů v porovnání s aniliny.

Schéma 6



Kvantitativních výtěžků lze dosáhnout při reakci 2,6-dichlorpurinu s výraznějším přebytkem aminu (v případě dané studie různě substituovaných anilinů) prováděné v pentan-1-olu při 100 °C po dobu 3 hodin¹⁴⁴ (**Schéma 7**).

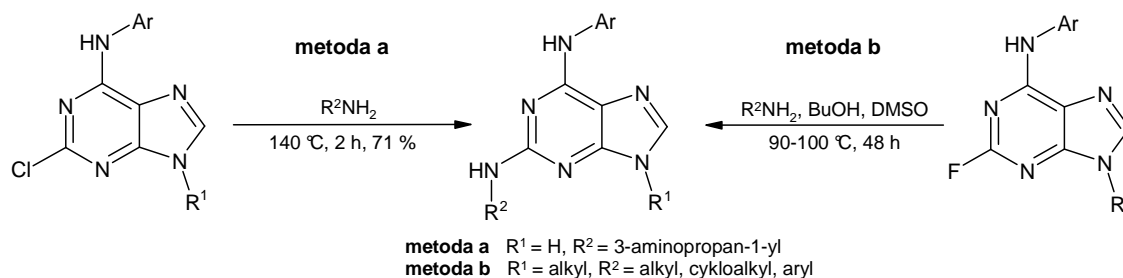
Schéma 7



Substituce do polohy C2 je z pohledu syntézy 2,6,9-trisubstituovaných purinů nejobtížnějším krokem vyžadujícím vyšší teploty a delší reakční časy. Při přípravě C2 substituovaných purinů se tak využívá nejširší paleta výchozích látek a reakčních podmínek s cílem dosáhnout co nejefektivnějších výsledků.

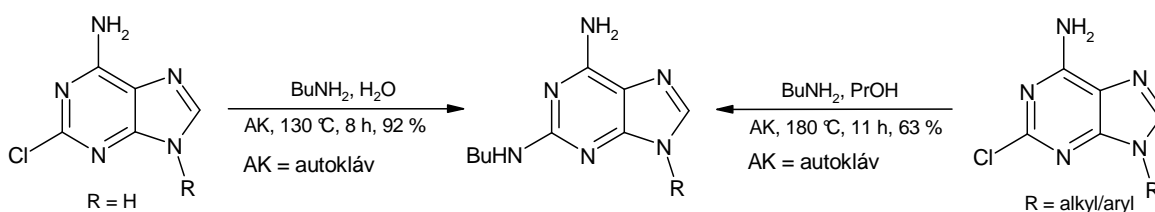
Na **Schématu 8** jsou uvedeny dva způsoby substituce na C2 purinového kruhu, které lze z hlediska nízké náročnosti (jak technické, tak zejm. ekonomické) považovat za velmi výhodné. Pravděpodobně nejjednodušší je reakce 6-arylamino-2-chlorpurinu s příslušným substituentem (nejčastěji se jedná o alifatické aminoalkoholy nebo diaminy). Kapalné skupenství těchto látek umožňuje provádět reakci za vyloučení rozpouštědla, kdy je příslušný amin aplikován v 6–10-ti násobném molárním přebytku. V komentovaném případě se jednalo o reakci *N*-benzyl-2-chlor-9*H*-purin-6-aminu s 1,3-diaminopropanem (**Schéma 8, metoda a**, cit.¹⁴⁵). Tento typ reakcí se obvykle provádí za vyšších teplot, přičemž požadované produkty jsou získány v relativně krátkých časech a uspokojivých výtěžcích. Další možnost představuje **metoda b** (**Schéma 8**, cit.¹⁴⁶), ve které reaguje 6-arylamino-2-fluorpurin s příslušným aminem ve směsi rozpouštědel (butanol/DMSO, 4/1, v/v). Reakční směs je míchána po dobu 48 hodin při teplotě 90–100 °C. Alifatické substituenty poskytují výtěžky v rozmezí 60–85 %, zatímco aromatické či cyklické jen okolo 50–65 %.

Schéma 8



Jinou alternativou nukleofilní aromatické substituce na C2 je příprava finálních sloučenin za použití autoklávu (AK)¹⁴⁷. Purin nesubstituovaný na atomu dusíku v poloze 9 poskytl reakcí s butylaminem ve vodě při teplotě 130 °C během 8 hodin požadovaný produkt ve výtěžku 92 %. V případě N9 alkylovaného/arylovaného purinu dochází k substituci atomu chloru butylaminem v propan-1-olu při teplotě 180 °C po 11 hodinách při výtěžku 63 % (**Schéma 9**).

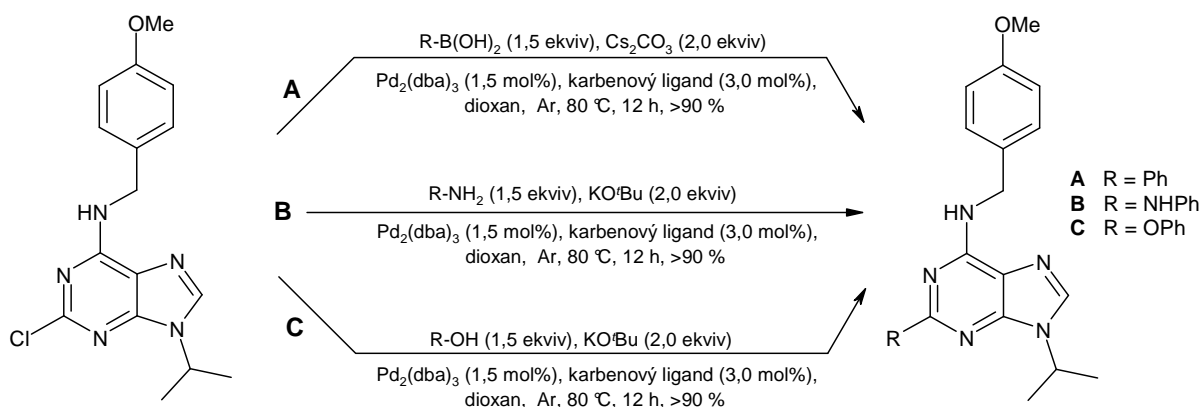
Schéma 9



$S_{\text{N}}\text{Ar}$ na C2 lze uskutečnit také reakcí příslušného alkyl/arylamínu s 2-halogenpurinem v přítomnosti báze. Kromě již zmíněného triethylaminu, používaného spíše při $S_{\text{N}}\text{Ar}$ na C6, se aplikují zpravidla báze silnější, např. tripropylamin, tributylamin nebo *N*-ethyl-*N*-isopropylpropan-2-amin (Hünigova báze)^{148,149}. Volba ostatních reakčních podmínek, jako je výběr vhodného rozpouštědla či jeho vyloučení, reakční teplota, použití inertní atmosféry apod., se v zásadě určuje na základě již publikovaných poznatků ostatních autorů nebo dle vlastních zkušeností.

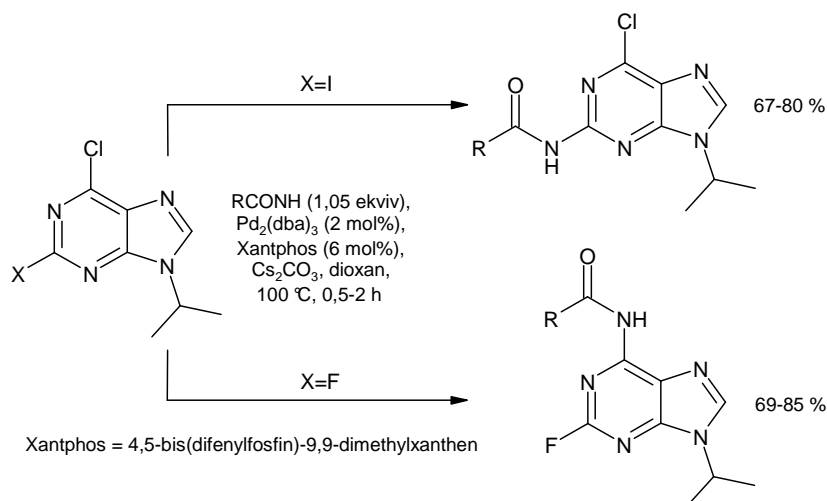
6-Benzylamino-2-chlor-9-isopropylpuriny mohou poskytovat odpovídající produkty také za podmínek palladiem katalyzovaných cross-couplingových reakcí s kyselinou boronovou, aniliny či fenoly v prostředí *N*-heterocyklických karbenových ligandů¹⁵⁰. Tyto reakce, ilustrované na **Schématu 10**, lze provést za přítomnosti tris(dibenzylidenaceton)dipalladia $[\text{Pd}_2(\text{dba})_3]$ jako katalyzátoru, karbenového ligandu a silné báze (pro couplingové reakce s kyselinou boronovou se používá Cs_2CO_3 , zatímco pro reakce s aniliny či fenoly *tert*-butoxid draselný) v bezvodém dioxanu pod inertní argonovou atmosférou. K vyšší než 90% konverzi dochází při míchání reakční směsi po dobu 12 hodin při teplotě 80 °C.

Schéma 10



Palladiem katalyzované cross-couplingové reakce nacházejí v syntéze purinů široké uplatnění. Lze je s úspěchem využít při přípravě 2-alkylpurinů¹⁵¹, 2-amidopurinů¹⁵², 2,6-diarylpurinů¹⁵³ nebo pro selektivní amidaci 2,6-dihalogenpurinů¹⁵⁴, při nichž hraje významnou roli typ halogenového substituentu na C2 purinového kruhu, jak ukazuje **Schéma 11**.

Schéma 11



Vzhledem k tomu, že výčet metod organické syntézy používaných při přípravě di-, tri- a tertasubstituovaných purinů by byl natolik obsáhlý, že je nemyslitelné postihnout jej v rámci této kapitoly, dovolím si pouze uvést, že kromě výše uvedených, je v literatuře popsána celá řada dalších, např. mikrovlnami asistované syntézy^{155,156}, reakce v pevné fázi¹⁵⁷⁻¹⁵⁹ nebo metody kombinatoriální chemie¹⁶⁰⁻¹⁶³.

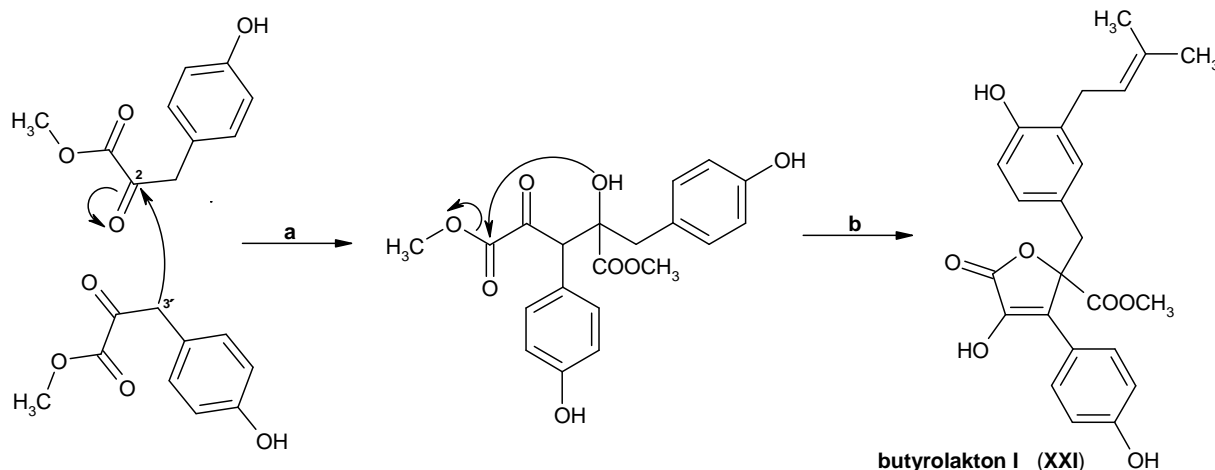
2.2 Ostatní inhibitory CDKs

Kromě purinových inhibitorů, popsaných v předcházející kapitole, byla identifikována celá řada dalších sloučenin s inhibičními účinky proti CDKs. Mezi nejvýznamnější patří butyrolakton I, flavonoidy, sloučeniny odvozené od trisubstitovaných purinů, inhibitory obsahující nekondenzovaný heterocyklus, paullony, indigoidní sloučeniny, aj.^{64,65,164}. Stejně jako v případě purinových inhibitorů (**kapitola 2.1**), budou také na tomto místě komentovány jak biologické účinky, tak orientace ve vazebném místě pro ATP jednotlivých sloučenin.

2.2.1 Butyrolakton I

Jedná se o vysoce selektivní ATP-kompetitivní sloučeninu se silným inhibičním účinkem proti CDK1 a CDK2, která byla izolována z plísně rodu *Aspergillus*^{165,166}. Cytotoxická aktivita butyrolaktonu I (**XXI**) byla prokázána na nádorových buněčných liniích *in vitro*, a to v mikromolárních koncentracích. Blokováním fosforylace histonu (proteinu asociujícímu v chromosomech s DNA) indukuje butyrolakton I zastavení buněčného cyklu na rozhraní fází G₂/M (cit.¹⁶⁷). Biosyntéza butyrolaktonu I zahrnuje konverzi fenylalaninu nebo tyrosinu na dvě molekuly methyl-4-hydroxyfenylpyruvátu, jejichž vzájemnou kondenzací v polohách 2 a 3' je vytvořen příslušný intermediát (**Schéma 12, a**). Následnou laktonizací a isoprenylací (**Schéma 12, b**) vzniká konečný produkt, tedy butyrolakton I (**XXI**)¹⁶⁸.

Schéma 12



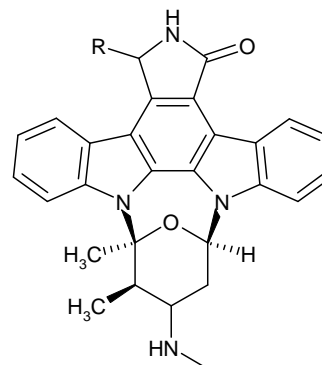
2.2.2 Staurosporiny

Indolkarbazolové deriváty (**Obrázek 9**) představují skupinu látek inhibujících širokou paletu proteinkinás a lze je tedy charakterizovat jako nescifické inhibitory CDKs. Staurosporin (**XXII**) byl poprvé izolován v roce 1977 z grampozitivní bakterie *Streptomyces staurosporeus* a o devět let později byla objevena jeho schopnost inhibovat proteinkinasu C v nanomolární

koncentraci¹⁶⁹. Vykazuje také velmi silnou afinitu vůči komplexům CDK2/cyklin A ($IC_{50} = 7 \text{ nM}$) a CDK4/cyklin D ($IC_{50} = 3\text{--}10 \text{ }\mu\text{M}$)¹⁷⁰.

7-Hydroxyderivátem staurosporinu je sloučenina nazvaná UCN-01 (**XXIII**). Jedná se o velmi účinný inhibitor komplexů CDK1/cyklin B ($IC_{50} = 31 \text{ nM}$), CDK2/cyklin A ($IC_{50} = 30 \text{ nM}$) a řady dalších proteinkinás¹⁷¹. UCN-01 prokázal také slibnou antiproliferační aktivitu na řadě nádorových buněčných linií¹⁷².

V současné době je popsáno velké množství indolkarbazolových sloučenin strukturně příbuzných s primárně izolovaným staurosporinem (např. K-252a, K-252b, rebeccamycin, holyrin A aj.). Struktura těchto sloučenin je dále modifikována¹⁷³⁻¹⁷⁵ a připravené analogy tak mohou představovat novou skupinu látek vhodných pro následné studium jejich biologických vlastností.



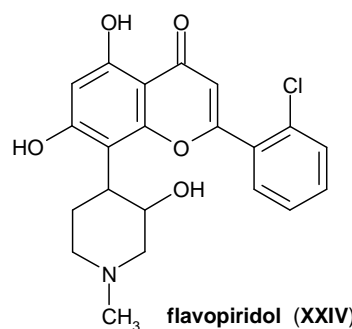
staurosporin (**XXII**) R = H
UCN-01 (**XXIII**) R = OH

Obrázek 9. Staurosporin a UCN-01.

2.2.3 Flavonoidy

Flavonoidy jsou významné sekundární rostlinné metabolity všeobecně známé především díky jejich antioxidačním a protizánětlivým účinkům¹⁷⁶.

Pravděpodobně nejvýznamnějším členem této skupiny je synteticky připravovaný flavopiridol (L86-8275, **XXIV**, **Obrázek 10**), obsažený v indické rostlině *Dysoxylum binectariferum*, který již absolvoval fázi I klinického testování¹⁷⁷ a v současné době se v National Cancer Institute (USA) uskutečňují klinické testy v rámci fáze II (cit.¹⁷⁸). Flavopiridol je velmi silným inhibitorem komplexů CDK1/cyklin B ($IC_{50} = 0,4 \text{ }\mu\text{M}$), CDK2/cyklin A ($IC_{50} = 0,1 \text{ }\mu\text{M}$), CDK4/cyklin D ($IC_{50} = 0,4 \text{ }\mu\text{M}$), CDK7/cyklin H ($IC_{50} = 0,3 \text{ }\mu\text{M}$), a ve vyšších koncentracích také jiných typů proteinkinás (např. proteinkinasy A či C)^{179,180}. Obvyklá cytotoxická aktivita flavopiridolu na testovaných nádorových buněčných liniích je přibližně 60 nM (cit.¹⁸¹).

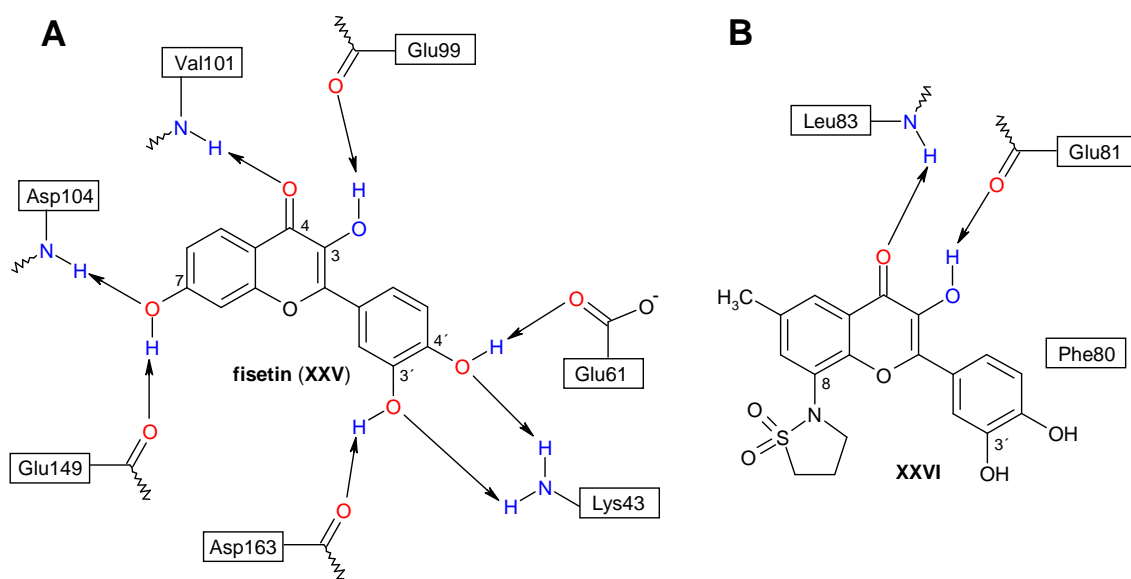


Obrázek 10. Flavopiridol.

Fisetin (**XXV**), 3,3',4',7-tetrahydroxyflavon, je relativně malý flavonol obsažený v některých druzích ovoce a zeleniny, který má prokazatelné protialergické účinky¹⁸² nebo schopnost napomáhat v procesu diferenciaci nervových buněk¹⁸³. Inhibice aktivity CDKs (zejm. CDK1, CDK2 a CDK4), vedoucí k zastavení buněčné proliferace, byla popsána při studiu vlivu fisetinu na buněčnou nádorovou linii

HT-29 (lidský karcinom tlustého střeva)¹⁸⁴. Fisetin však velmi účinně inhibuje také CDK6 ($IC_{50} = 0,85 \mu M$), což bylo potvrzeno rentgenostrukturní analýzou komplexu fisetin/CDK6/cyklin T (cit.¹⁸⁵). Zaznamenáno bylo celkem 87 intermolekulárních kontaktů mezi ligandem a substrátem, z toho osm vodíkových vazeb. Po jedné vodíkové vazbě tvoří substituenty vázané v polohách C3 a C4 fisetinu, kdy hydroxylová skupina na C3 interaguje s páteřním karbonylem Glu99 a karbonylová skupina na C4 tvoří vodíkovou vazbu s NH-skupinou Val101. Zbylých šest vodíkových vazeb zprostředkovávají interakce hydroxylových skupin vázaných na C3', C4' a C7 fisetinu s residui Asp104, Glu149, Glu61, Asp163 a Lys43 (**Obrázek 11A**).

Tvorba vodíkových vazeb prostřednictvím substituentů vázaných v polohách C3 a C4 inhibitoru byla zaznamenána také při analýze společného krystalu CDK2 a sloučeniny **XXVI**. Donorní hydroxylová skupina na C3 interaguje s karbonylem Glu81 a akceptorní karbonyl (C4) tvoří vodíkovou vazbu s amidovou skupinou Leu83 (**Obrázek 11B**). Jako velmi důležitá se zdá být také přítomnost isothiazolidin-1,1-dionu na C8, který tvoří mnoho krátkých kontaktů s residui Gly11, Val18 a Gln131. Nejsilnější enzymatickou a antiproliferační aktivitu z připravené série látek vykazovaly sloučeniny nesoucí na C3' hydroxylovou skupinu (**XXVI**), chlor nebo brom¹⁸⁶.

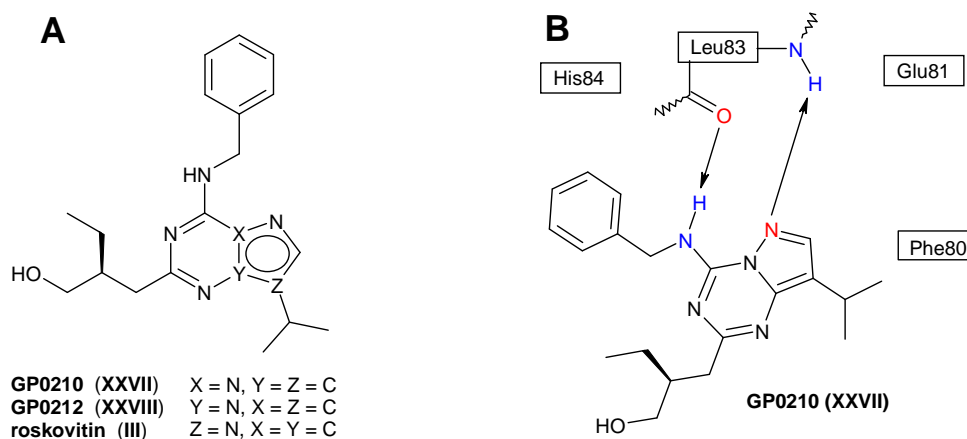


Obrázek 11. Interakce vybraných flavonoidů ve vazebném místě pro ATP. (A) Fisetin/CDK6/cyklin T. (B) Sloučenina XXVI/apoCDK2. Barevné označení: modrá – donory vodíku, červená – akceptory vodíku.

2.2.4 Inhibitory odvozené od trisubstituovaných purinů

Mezi látkami s relativně malou molekulovou hmotností, které vykazují enzymatické a/nebo antiproliferační účinky mají své nezastupitelné místo také sloučeniny, jejichž základní skelet je velmi blízký purinovému kruhu a celková struktura více či méně inspirována purinovými inhibitory jako jsou olomoucín, roskovitin či purvalanoly. Ze strukturního hlediska se jedná o sloučeniny obsahující vzájemně kondenzovaný 5-ti členný a 6-ti členný heterocyklický systém, a to buď prostřednictvím atomů uhlíku, nebo dusíku.

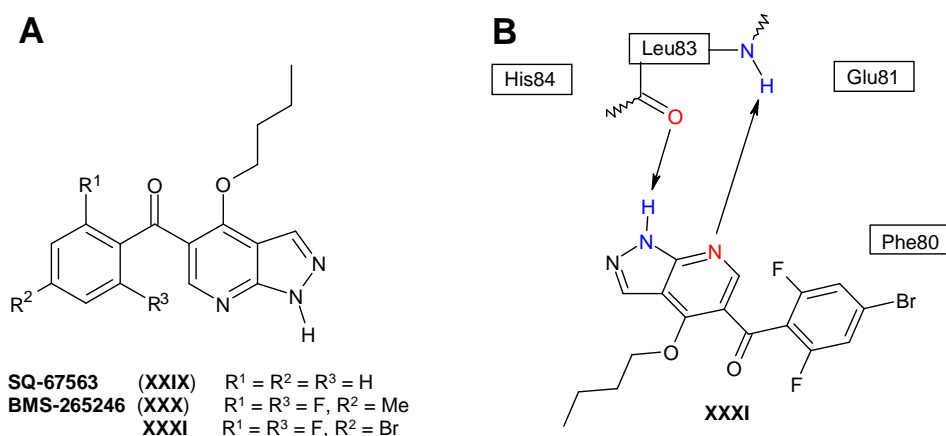
Strukturní modifikací roskovitinu, a sice přesunutím atomu dusíku (N9), byly připraveny dva nové inhibitory nazvané N-&-N1 (GP0210) a N-&-N2 (GP0212). GP0210 (**XXVII**) obsahuje pyrazolo[1,5-*a*]-1,3,5-triazinové jádro, zatímco skelet látky GP0212 (**XXVIII**) lze charakterizovat jako imidazo[2,1-*f*]-1,2,4-triazin (**Obrázek 12A**). Sloučenina GP0212 inhibuje různé holoenzymy CDK/cyklin a vybrané nádorové buněčné linie takřka ve stejných koncentracích jako roskovitin. Naopak látka GP0210 vykazuje (v porovnání s roskovitem) 5–6× silnější enzymatickou i antiproliferační aktivitu a byla také přibližně dvakrát účinnější v prováděných *in vivo* testech. Farmakokinetické studie (použit byl dvoukompartimentový model) GP0210 poskytly téměř shodné hodnoty u sledovaných veličin (např. plocha pod koncentrační křivkou léčiva, maximální koncentrace léčiva nebo poločas eliminace) jako u 2,6,9-trisubstituovaných purinových inhibitorů olomoucínu a roskovitinu^{187,188}. GP0210 vytváří v heterodimerním komplexu CDK2/cyklin A vodíkové vazby s páteřním karbonylem a amidovou skupinou Leu83 (**Obrázek 12B**) a zaujímá tak naprosto analogickou orientaci ve vazebném místě pro ATP tohoto holoenzymu jako roskovitin⁹⁵. Silnější inhibiční účinky GP0210 (ve srovnání s roskovitem) by mohly být způsobeny změnou elektrostatického potenciálu, k níž došlo z důvodu přesunutí atomu dusíku v heterocyklickém systému¹⁸⁷.



Obrázek 12. (A) Strukturní vzorce GP0210 & GP0212 a roskovitinu. (B) Orientace GP0210 ve vazebném místě pro ATP holoenzymu CDK2/cyklin A.

Také přesunutí atomu dusíku purinového kruhu z polohy N9 na C8 a substituce takto vzniklého pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidinového skeletu v polohách C3 a C7 vedla k získání sloučenin inhibujících CDK1 v 2–10× nižších koncentracích v porovnání s paralelně připravenými a testovanými 2,6-disubstituovanými puriny¹⁸⁹. Poskytl-li v několika případech transfer atomu dusíku na purinovém skeletu silnější inhibitory, pak výměna atomu uhlíku na C8 za atom dusíku a vytvoření 1,2,3-triazolo[4,5-*d*]pyrimidinového jádra (neboli 8-azapurinu) měla na biologickou aktivitu připravených sloučenin negativní efekt¹⁹⁰.

Dalším skeletem, který vznikl modifikací purinového kruhu je 1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin. Studium vztahu mezi strukturou a biologickou aktivitou byl z primárně připravené sloučeniny SQ-67563 (**XXIX**, cit.¹⁹¹) získán inhibitor nazvaný BMS-265246 (**XXX**) a také jeho blízký analog **XXXI** (**Obrázek 13A**)¹⁹². Sloučeniny **XXX** a **XXXI** jsou totožné přítomností dvou atomů fluoru v poloze *ortho* aromatického kruhu a liší se tak pouze substituentem vázaným v poloze *para* (**XXX** – methyl, **XXXI** – brom). Deriváty **XXX** a **XXXI** vykazují, v porovnání s „mateřskou“ sloučeninou SQ-67563, o jeden až dva řády vyšší inhibiční aktivitu proti komplexům CDK1/cyklin B a CDK2/cyklin E. BMS-265246 (**XXX**) prokázal také schopnost účinně blokovat růst nádorových buněčných linií *in vitro*. Rentgenostrukturní analýza látky **XXXI** s apoenzymem CDK2 (**Obrázek 13B**) odhalila tvorbu dvou vodíkových vazeb pyrazolopyridinového kruhu s Leu83. Bez jakýchkoli významných kontaktů se zdá být 4-butoxylový substituent, který je orientován do ribosové kapsy¹⁹².



Obrázek 13. (A) Strukturální vzorce sloučenin s 1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridinovým skeletem. (B) Orientace látky **XXXI** ve vazebném místě pro ATP apoenzymu CDK2. Barevné označení: modrá – donory vodíku, červená – akceptory vodíku.

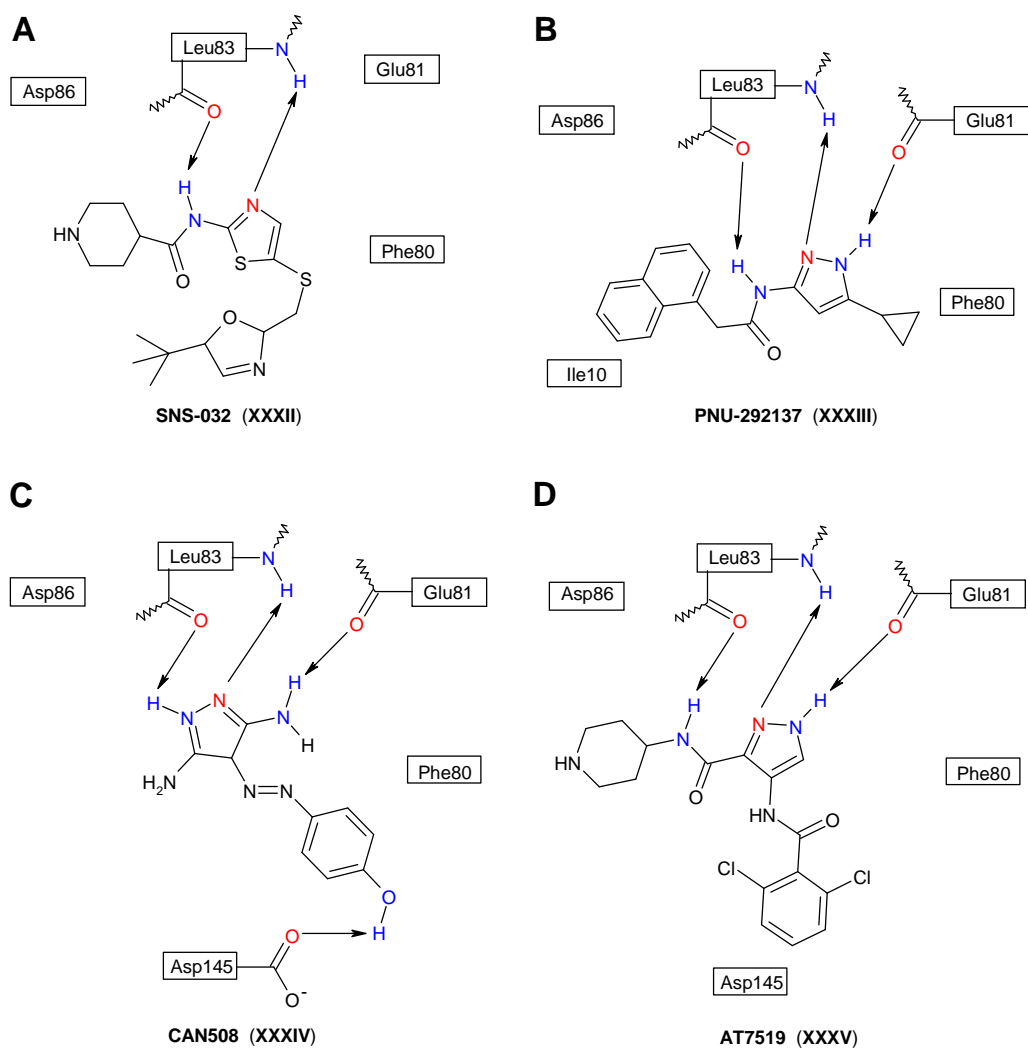
2.2.5 Sloučeniny obsahující nekondenzovaný heterocyklus

Nejen sloučeniny obsahující vzájemně kondenzovaný heterocyklický systém, ale také látky, jejichž jádro tvoří jednoduché heterocykly, představují relativně početnou skupinu nově připravených inhibitorů CDKs. Jednoduché heterocyklické systémy mohou být formálně děleny podle velikosti kruhu či počtu heteroatomů. V tomto souhrnu budou inhibitory s nekondenzovaným heterocyklem děleny dle velikosti kruhu.

Deriváty thiazolu a pyrazolu

Jedním z inhibitorů CDKs, který se v současné době nachází v klinickém testování je derivát 2-aminothiazolu známý pod označením SNS-032 nebo BMS-387032 (**XXXII**, cit.^{66,193}). Při studiu enzymatické aktivity SNS-032 na sérii 200 různých proteinkinás byla prokázána velmi silná selektivita tohoto inhibitoru vůči CDK2, CDK7 a CDK9 (cit.¹⁹⁴). Dále se SNS-032 ukázal jako značně cytotoxický, a to nejen *in vitro*, ale také *in vivo*^{195,196}. Schopnost vázat se v aktivním místě pro ATP byla potvrzena rentgenostrukturní analýzou SNS-032 s apoenzymem CDK2 (**Obrázek 14A**)¹⁹⁶. Jako u většiny takto studovaných inhibitorů byla pozorována tvorba vodíkových vazeb s páteřním karbonylem a amidovou skupinou Leu83. Tyto interakce jsou v případě SNS-032 tvořeny prostřednictvím akceptorního atomu dusíku, jenž je součástí thiazolového kruhu a donorního exocyklického amidového atomu vodíku. V dané konformaci se *tert*-butyloxazolový kruh „lámé“ směrem k thiazolovému jádru SNS-032 a orientuje se tak spíše do ribosové kapsy, než směrem k Phe80.

Novou skupinu látek selektivně inhibujících CDK2 představují rovněž pyrazoly, např. 3-amino- nebo 3,5-diaminopyrazoly. Výsledky získané při studiu primárně syntetizovaných jednoduchých derivátů 3-aminopyrazolu vedly k přípravě sloučeniny PNU-292137 (**XXXIII**) inhibující CDK2 v hodnotě $IC_{50} = 37$ nM a vykazující silnou cytotoxicitu *in vivo*. Rentgenovou difrakční analýzou kokryystalu PNU-292137/CDK2/cyklin A bylo zjištěno, že 3-aminopyrazolový kruh tvoří tři vodíkové vazby s Glu81 a Leu83, přičemž ve dvou případech je donorem a v jednom akceptorem vodíku. Cyklopropylový a naftylový substituent pak vytváří hydrofobní interakce s postranními řetězci nepolárních aminokyselinových residuí Phe80, Ile10 a Phe82 (**Obrázek 14B**, cit.¹⁹⁷). Jistou nevýhodou PNU-292137 je špatná rozpustnost ve vodných médiích a schopnost silně se vázat na plazmatické bílkoviny. Strukturní modifikací PNU-292137, a sice nahrazením *pro-S* atomu vodíku v acetamidu methylovou skupinou a výměnou naftyly za 4-(2-oxopyrrolidin-1-yl)fenylový substituent, byla získána sloučenina nazvaná PHA-533533. Kromě obdobných biologických účinků bylo u sloučeniny PHA-533533 (v porovnání s PNU-292137) dosaženo 10× lepší rozpustnosti ve vodném pufru a o 25 % nižší schopnosti vázat se na plazmatické bílkoviny¹⁹⁸.



Obrázek 14. Interakce CDK2 s vybranými deriváty thiazolu a pyrazolu. (A) SNS-032/apoCDK2. (B) PNU-292137/CDK2/cyklin A. (C) CAN508/apoCDK2. (D) AT7519/apoCDK2. Barevné označení: modrá – donory vodíku, červená – akceptory vodíku.

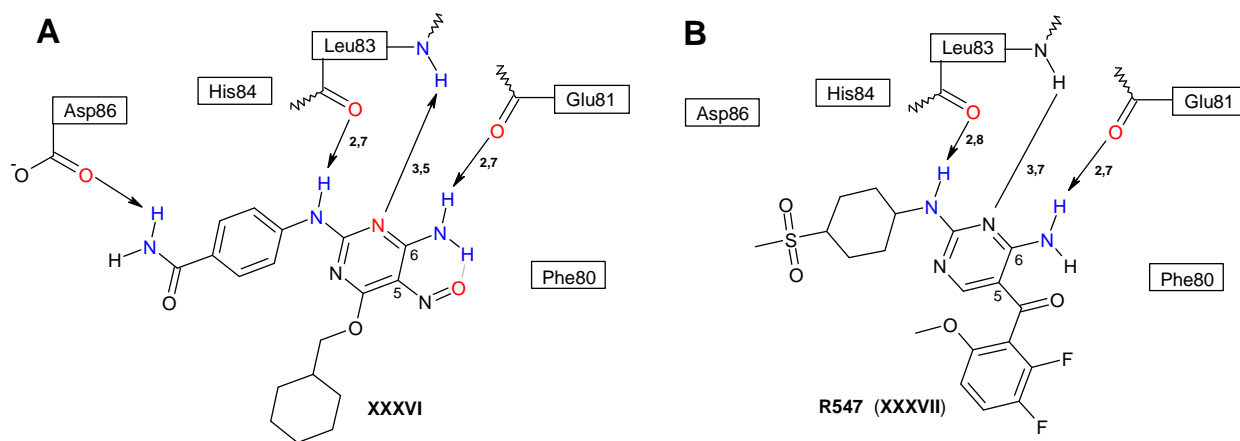
Další skupinu látek selektivně inhibujících CDKs, které obsahují pyrazolový kruh představují 4-arylazo-3,5-diaminopyrazoly. Na rozdíl od strukturně příbuzných 3-aminopyrazolů (např. PNU-292137, **XXXIII**) inhibují 4-arylazo-3,5-diaminopyrazoly také CDK4. Překvapivým odhalením byla afinita těchto sloučenin vůči komplexu CDK9/cyklin T. Nejsilněji tento holoenzym inhibuje sloučenina pojmenovaná CAN508 (**XXXIV**, $IC_{50} = 0,035 \mu M$), která také účinně blokuje proliferaci několika nádorových buněčných linií. Při studiu krystalové struktury CAN508 s apoenzymem CDK2 byly pozorovány celkem čtyři vodíkové vazby. Tři z nich jsou tvořeny prostřednictvím interakcí 3,5-diaminopyrazolového skeletu s residui Glu81 a Leu83, čtvrtá pak donorní hydroxylovou skupinou vázanou v poloze *para* benzenového kruhu, která interaguje s karboxylem Asp145 (**Obrázek 14c**, cit.¹⁹⁹).

Jednu z posledně připravených pyrazolových sloučenin inhibujících CDKs reprezentuje látka nazvaná AT7519 (**XXXV**, cit.²⁰⁰). AT7519 je selektivním inhibítorem řady CDKs (cit.²⁰¹), přičemž jeho aktivita proti CDK1, CDK2 a CDK5 je srovnatelná s 3-aminopyrazoly PNU-292137 a PHA-533533. Navíc AT7519 inhibuje také CDK4 a CDK7. Velmi silná je rovněž antiproliferační a proapoptická aktivita této sloučeniny, a to nejen *in vitro*, ale také *in vivo*²⁰⁰⁻²⁰². Pyrazolový skelet AT7519 zaujímá ve vazebném místě pro ATP monomerní CDK2 (**Obrázek 14D**, cit.²⁰⁰) podobnou orientaci jako 3-amino¹⁹⁷ a 3,5-diaminopyrazoly¹⁹⁹. Přestože je AT7519 relativně „mladým“ inhibítorem, byl již zaveden do klinického zkoušení (nyní se nachází v první fázi)^{66,193}.

Deriváty pyrimidinu

Nahrazením purinového kruhu *O*⁶-cyklohexylmethylguaninového derivátu NU6102 (**XX**, **Obrázek 7**, str. 23) za pyrimidinový a výměnou sulfonamidové skupiny za karboxamidovou, byla připravena sloučenina **XXXVI** velmi silně inhibující CDK1 (IC₅₀ = 0,07 μM) a CDK2 (IC₅₀ = 0,034 μM)²⁰³. Sloučenina **XXXVI** zaujímá prostřednictvím interakcí 2,6-diaminopyrimidinového kruhu s residui Glu81 a Leu83 a karboxamidové skupiny s terminálním karboxylem Asp86 takřka totožnou orientaci v ATP vazebném místě CDK2 jako NU6102 (**Obrázek 8D**, str. 25). Orientace sloučeniny **XXXVI** je, kromě řady hydrofobních interakcí, stabilizována pomocí intramolekulární vazby nitroso skupiny v poloze C5 s aminoskupinou na C6 (**Obrázek 15A**).

Novou skupinu sloučenin představují rovněž 2,4-diamino-5-ketopyrimidiny. Jedná se o selektivní ATP-kompetitivní inhibitory CDKs účinné v relativně nízkých koncentracích. Významným členem této skupiny látek je sloučenina pojmenovaná R547 (**XXXVII**). Ze série čítající více než 120 serin/threonin a tyrosin kinas inhiboval R547 pouze CDK1, CDK2 a CDK4 (IC₅₀ = 1–3 nM)²⁰⁴. R547 vykazuje rovněž velmi silné protinádorové účinky, a to jak *in vitro* tak *in vivo*^{204,205}. Studium kokryystalu R547/CDK2 odhalilo jeho schopnost kompetovat s ATP o vazebné místo (**Obrázek 15B**). R547 tvoří vodíkové vazby s residui Glu81 a Leu83. Avšak na rozdíl od sloučenin, jejichž interakce s CDK2 jsou uvedeny na **Obrázcích 14A-D a 15A**, nebyla v případě R547 pozorována interakce akceptorního pyrimidinového dusíku s páteří amidovou skupinou Leu83. Přitom vzdálenost mezi „centrálním“ akceptorem a NH-skupinou Leu83 je v případě R547 pouze o 0,2 Å větší než u sloučeniny **XXXVI** (cit.²⁰³), která tuto vodíkovou vazbu tvoří. Zaznamenán nebyl ani vznik možné intramolekulární vazby karbonylové skupiny vázané na C5 s NH₂ skupinou na C6 (látka **XXXVI** podobnou interakci tvoří, viz **Obrázek 14A**). R547 je pravděpodobně jedním z nejsilnějších a nejselektivnějších inhibitorů CDKs, který vstoupil do klinického testování (v současné době se nachází v první fázi)¹⁹³.



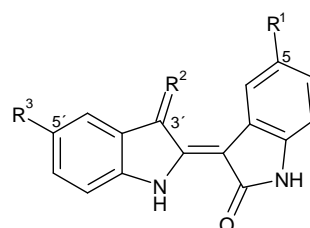
Obrázek 15. Vazebné interakce vybraných pyrimidinových sloučenin s CDK2. (A) Komplex sloučeniny XXXVI/CDK2/cyklin A. (B) R547/apoCDK2. Vazebné vzdálenosti jsou uvedeny v Å. Barevné označení: modrá – donory vodíku, červená – akceptory vodíku.

2.2.6 Indirubin a jeho deriváty

Indigoidní látky jsou často se vyskytujícími složkami léčivých preparátů používaných v tradiční čínské medicíně. Indirubin (**XXXVIII**) je aktivní přísadou v rostlinném extraktu Danggui Longhui Wan, který má prokazatelné účinky při léčbě chronických onemocnění, např. chronické myeloidní leukémie^{206,207}.

Indirubin a jeho deriváty (**Obrázek 16**), zejména pak 5-chlorindirubin (**XXXIX**), indirubin-3'-oxim (**XL**) a indirubin-5-sulfonová kyselina (**XLI**), jsou velmi silnými ATP-kompetitivními inhibitory komplexů CDK1/cyklin B, CDK2/cyklin A & E, CDK4/cyklin D a CDK5/p35 potlačující jejich aktivitu v mikromolárních koncentracích²⁰⁸⁻²¹¹.

Rentgenostrukturní analýzy sloučenin **XL** a **XLI** s CDK2 odhalily jejich vazbu v místě pro ATP. Byly nalezeny nejen obdobné vazebné interakce zmíněných látek charakteristické pro ATP (**Obrázek 8A**, str. 25), a to prostřednictvím vodíkových vazeb s páteřním karbonylem Glu81 a aminoskupinou Leu83, ale také interakce s páteřním karbonylem Leu83 (cit.²⁰⁸), identifikované např. u purinového inhibitoru roskovitinu (**III**, **Obrázek 8B**, str. 25).



- XXXVIII** R¹ = H, R² = O, R³ = H
- XXXIX** R¹ = Cl, R² = O, R³ = H
- XL** R¹ = H, R² = NOH, R³ = H
- XLI** R¹ = SO₃H, R² = O, R³ = H
- XLII** R¹ = NO₂, R₂ = NOH, R₃ = OH
- XLIII** R¹ = NO₂, R² = NOH, R³ = F

Obrázek 16. Deriváty indirubinu.

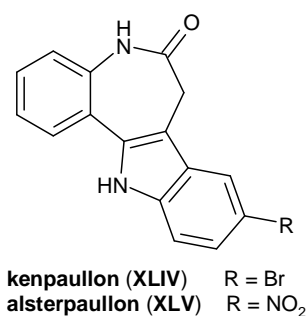
Velmi zajímavé vlastnosti vykazují molekulovým modelováním navržené a následně syntetizované 5,5'-substituované deriváty indirubin-3'-oximu²¹². Z výsledků molekulového modelování v ATP vazebném místě CDK2 vyplývá, že by jejich silnější aktivita (v porovnání s 5'-nesubstituovanými indirubin-3'-oximy) mohla být způsobena právě interakcemi mezi substituenty v poloze C5' a Asp86. Ze série připravených látek vykazovaly nejsilnější inhibiční aktivitu (testován byl holoenzym CDK2/cyklin E) 5-nitro-5'-hydroxy (**XLII**) a 5-nitro-5'-fluor (**XLIII**) deriváty indirubin-3'-oximu (**Obrázek 16**), a to v hodnotách $IC_{50} = 1,9 \text{ nM}$ (**XLII**) a $1,7 \text{ nM}$ (**XLIII**). Na sérii nádorových buněčných linií byla rovněž prokázána antiproliferační aktivita obou látek ($GI_{50} = 0,2\text{--}3,3 \text{ }\mu\text{M}$). Sloučenina **XLII** vykazuje 500× vyšší selektivitu vůči CDKs v porovnání s jinými proteinkinasami a také významné protinádorové účinky *in vivo*²¹² a mohla by se tak stát vhodným kandidátem pro klinické zkoušení.

2.2.7 Paullony

Skupina těchto látek je odvozena od 7,12-dihydroindolo[3,2-*d*][1]benzazepin-6(5*H*)-onu a přesto, že jsou strukturně poněkud odlišné od ostatních inhibitorů CDKs, byla na základě molekulového modelování s CDK2 objevena jejich schopnost kompetovat s ATP v jeho vazebném místě (cit.²¹³). Prvním paullonovým inhibitorem, účinným proti komplexům CDK1/cyklin B ($IC_{50} = 0,4 \text{ }\mu\text{M}$), CDK2/cyklin A ($IC_{50} = 0,68 \text{ }\mu\text{M}$), CDK2/cyklin E ($IC_{50} = 7,5 \text{ }\mu\text{M}$) a CDK5/p25 ($IC_{50} = 0,85 \text{ }\mu\text{M}$), je sloučenina obsahující v poloze 9 atom bromu, obecně známa pod názvem kenpaullon (**XLIV**, **Obrázek 17**)²¹⁴. Následným studiem vztahů mezi chemickou strukturou a biologickou aktivitou, pomocí tzv. SAR (structure-activity relationship) metod, byla příprava řady nových sloučenin se srovnatelnou, příp. vyšší schopností inhibice CDKs (cit.²¹⁵). 9-Nitroderivátem kenpaullonu je sloučenina nazvaná alsterpaullon (**XLV**, **Obrázek 17**) inhibující komplex CDK1/cyklin B v koncentraci 35 nM (cit.²¹⁶).

Za faktory značně limitující vývoj nových paullonových cytostatik lze považovat nízkou rozpustnost látek s paullonovým skeletem ve vodných médiích a jejich špatnou biologickou dostupnost v organismu. Zajímavou cestu by mohla představovat příprava komplexů

paullonových sloučenin s některými kovy (doposud publikovanými jsou komplexy s Ru^{II} , Os^{II} a Ga^{III})²¹⁷⁻²¹⁹. Přestože připravené komplexy vykazují relativně silné antiproliferační účinky proti různým nádorovým buněčným liniím (např. Ga^{III} -komplex je s průměrnou hodnotou $GI_{50} = 2,0 \text{ }\mu\text{M}$ 1,8–18×



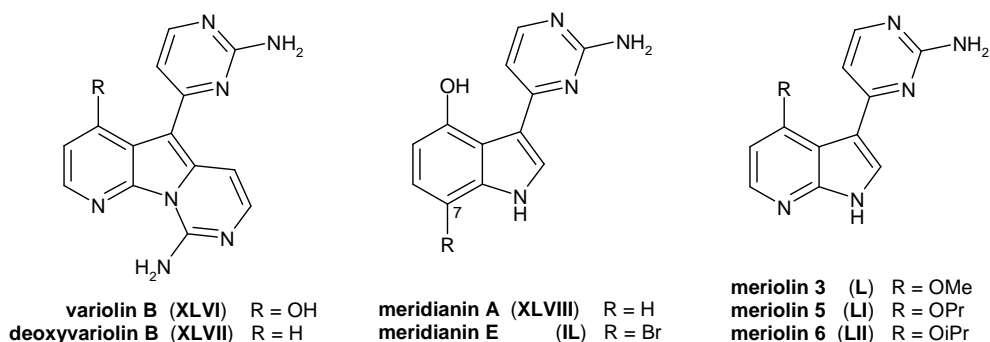
Obrázek 17. Paullonové deriváty.

cytotoxičtější než nekomplexovaný ligand), nepodařilo se doposud dosáhnout ani jejich uspokojivé rozpustnosti ve vodě ani hydrolytické stability.

2.2.8 Varioliny, meridianiny a merioliny

Varioliny, které obsahují pyrido[3',2':4,5]pyrrolo[1,2-*c*]pyrimidinové jádro substituované 2-aminopyrimidinovým kruhem a meridianiny, tedy 3-(2-aminopyrimidin-4-yl)-1*H*-indoly, jsou přírodního původu. Synteticky připravené merioliny – 3-(pyrimidin-4-yl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridiny – představují „hybridní strukturu“ vycházející z variolinů a meridianinů²²⁰.

Vzhledem k obtížné izolaci variolinů z houby *Kirkpatrickia variolosa* bylo významným krokem, poskytujícím uspokojivá množství požadovaného materiálu, dovršení totální syntézy variolinu B (**XLVI**, cit.²²¹), inhibujícího v mikromolární koncentraci široké spektrum CDKs, ale i jiné proteinkinasy. Další sloučeninou ze skupiny variolinů, která vykazuje zajímavé biologické účinky, je deoxyvariolin B (**XLVII**), který je svojí strukturou i aktivitou takřka identický s variolinem B (cit.²²²). Z několika známých meridianinů lze vyzdvihnout inhibiční účinky dvou látek, a sice meridianu A (**XLVIII**) a meridianinu E (**II**)^{222,223}. Meridianin E, který se od meridianinu A liší přítomností atomu bromu v poloze 7, se svými inhibičními vlastnostmi rovná již zmíněným variolinům, zatímco meridianin A (nesubstituovaný na C7) vykazuje v porovnání s varioliny přibližně 50× nižší aktivitu. Prozatím nejvyšší aktivita byla zjištěna u meriolinových sloučenin. V první sérii připravený meriolin 3 (**L**) má, v porovnání s varioliny a meridianiny, silnější inhibiční účinky vůči CDKs a jiným proteinkinásam²²². Další série látek poskytla sloučeniny nazvané meriolin 5 (**LI**) a meriolin 6 (**LII**) inhibující CDKs a GSK-3 α/β v nanomolární koncentraci. Silné antiproliferační a proapoptotické účinky meriolinů 3, 5 a 6 proti nádorovým buňkám kultivovaných za různých podmínek^{222,224} by mohly být podnětem směřujícím k optimalizaci jejich struktury ve vztahu k protinádorové aktivitě.



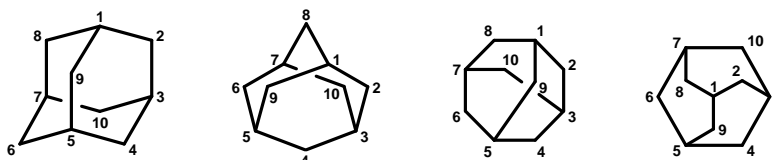
Obrázek 18. Strukturní vzorce vybraných variolinů (vlevo), meridianinů (uprostřed) a meriolinů (vpavo).

3 VÝZNAM ADAMANTANU PŘI MODIFIKACI BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK

3.1 Charakteristika adamantanu a příprava jeho jednoduchých derivátů

Adamantan je polycyklický uhlovodík s elegantní strukturou a specifickými vlastnostmi, které jsou v současné době uplatňovány v několika průmyslových odvětvích (např. farmacii či elektrotechnickém průmyslu). Počátky chemie adamantanu jsou úzce spjaty se jménem prof. Stanislava Landy, jenž jako první prezentoval jeho izolaci z hodonínské ropy na XII. sjezdu průmyslové chemie roku 1932 v Praze²²⁵.

Dle nomenklaturních principů IUPAC lze strukturu adamantanu (**Obrázek 19**) pojmenovat jako tricyklo[3.3.1.1^{3,7}]dekan, nicméně nutno podotknout, že se s tímto označením lze setkat jen velmi zřídka (naprosto převládá triviální označení „adamantan“). Adamantanový skelet lze charakterizovat jako rigidní systém sestávající ze tří vzájemně spojených cyklohexanových kruhů v takřka ideální židličkové konformaci²²⁶.



Obrázek 19. Možnosti vyjádření struktury adamantanu.

Vzhledem k velmi nízké koncentraci adamantanu v hodonínské ropě (0,02 až 0,03 %), nebyla množství izolovaná touto cestou nikdy příliš vysoká a sloužila jako zdroj adamantanu pouze do okamžiku objevení efektivnějších syntetických metod. V současné době představuje nejefektivnější cestu, vedoucí k získání adamantanového skeletu, postup uvedený na **Schématu 13** (cit. ²²⁷). Původ této syntézy lze spatřovat v práci zabývající se izomerací *endo*-tetrahydrodicyklopentadienu na jeho *exo* formu²²⁸, při které byl jako vedlejší produkt izolován právě adamantan. Principem optimalizované metody je hydrogenace dicyklopentadienu (**Schéma 13, a**) za vzniku tetrahydrodicyklopentadienu (**Schéma 13, b**), ze kterého je účinkem AlCl_3 při teplotě 150 až 180 °C během 8–12 hodin možné získat adamantan ve výtěžku 13–15 %.

Schéma 13

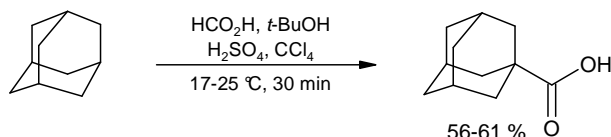


Při syntéze sloučenin obsahujících ve své molekule adamantanový skelet se však namísto adamantanu samotného obvykle vychází ze dvou významných intermediátů, a sice adamantan-1-karboxylové kyseliny a 1-adamantylaminu.

3.1.1 Možnosti přípravy adamantan-1-karboxylové kyseliny

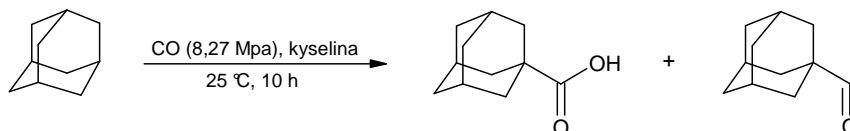
Klasickou metodu přípravy adamantan-1-karboxylové kyseliny představuje Kochova–Haafova karboxylace (**Schéma 14**, cit.²²⁹) poskytující požadovaný produkt v uspokojivých výtěžcích.

Schéma 14



Farooq a kolektiv studovali selektivitu elektrofilní formylace adamantanu a oxidem uhelnatým katalyzované velmi silnými kyselinami, označovanými jako tzv. superkyseliny²³⁰. Ve všech případech vznikala jako hlavní produkt adamantan-1-karboxylová kyselina, přičemž se vzrůstající kyselostí použitého katalyzátoru docházelo také k izolaci většího množství adamantan-1-karbaldehydu, jakožto vedlejšího produktu (**Schéma 15**, metoda 1–3). Byla-li reakce prováděna za stejných podmínek, ale s vyloučením rozpouštědla (1,1,2-trichlor-1,2,2-trifluorethan), byl vznik adamantan-1-karbaldehydu pozorován ve větších množstvích (**Schéma 15**, metoda 4–6).

Schéma 15



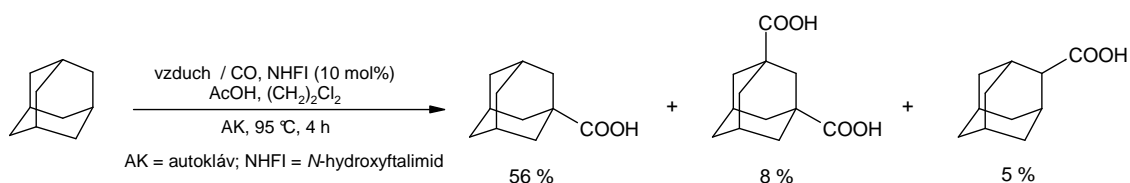
Metoda	Použitá kyselina	Molární poměr [Ac:Ad] ^a	Rozp. ^b	Selektivita [%]	
				AdCOOH	AdCHO
1	CF ₃ SO ₃ H	10:1	ano	99,8	0,2
2	B(OSO ₂ CF ₃) ₃ -CF ₃ SO ₃ H	3:1	ano	96,6	3,4
3	SbF ₅ -CF ₃ SO ₃ H	3:1	ano	91,8	8,2
4	CF ₃ SO ₃ H	10:1	ne	90,9	9,1
5	B(OSO ₂ CF ₃) ₃ -CF ₃ SO ₃ H	3:1	ne	85,5	14,5
6	SbF ₅ -CF ₃ SO ₃ H	3:1	ne	79,0	21,0

^a molární poměr – kyselina:adamantan.

^b 1,1,2-trichlor-1,2,2-trifluorethan.

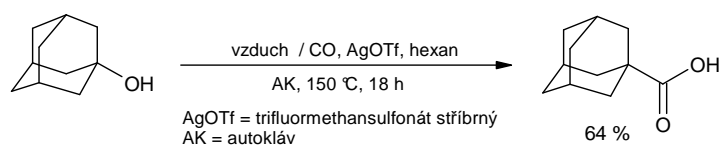
Adamantan-1-karboxylová kyselina je rovněž hlavním produktem karboxylace katalyzované *N*-hydroxyftalimidem (NHFI) v prostředí kyseliny octové a 1,2-dichlorethanu (**Schéma 16**, cit.²³¹). Reakce byla prováděna v autoklávu ve směsi vzduchu s oxidem uhelnatým při teplotě 95 °C po dobu 4 hodin. Kromě požadované adamantan-1-karboxylové kyseliny byly v minoritním množství izolovány také adamantan-1,2-dikarboxylová kyselina a adamantan-2-karboxylová kyselina.

Schéma 16



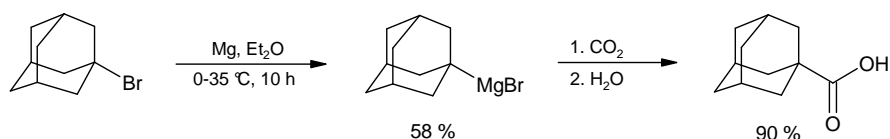
Kromě samotného adamantanu lze jako výchozí látku pro přípravu adamantan-1-karboxylové kyseliny použít také adamantan-1-ol²³². Za podmínek uvedených na **Schématu 17** byla adamantan-1-karboxylová kyselina získána ve výtěžku 64 %.

Schéma 17



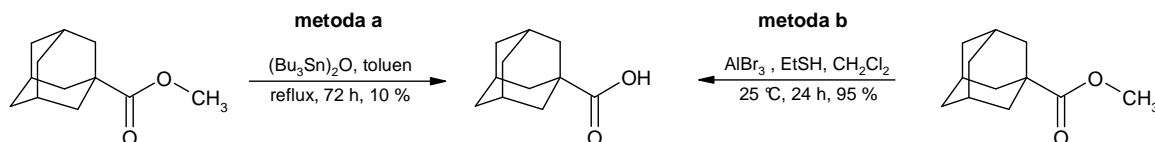
Pro přípravu adamantan-1-karboxylové kyseliny lze využít také organokovové sloučeniny (**Schéma 18**, cit.²³³). Přidáním předem připraveného bezvodého oxidu uhličitého k 1-adamantylmagnesiumbromidu a následnou hydrolyzou byl získán požadovaný produkt ve výtěžku 90 %.

Schéma 18



Jinou možností přípravy adamantan-1-karboxylové kyseliny je dealkylace příslušného esteru. Reakcí methylesteru adamantan-1-karboxylové kyseliny s oxidem bis(tributylcínitým) [(Bu₃Sn)₂O] v toluenu lze získat dealkylovaný produkt ve výtěžku 10 % (**Schéma 19, metoda a**, cit.²³⁴). Nicméně je-li podroben stejný ester reakci s AlBr₃ a ethanthiolem v prostředí dichlormethanu, je požadovaná kyselina získána ve výtěžku 95 % (**Schéma 19, metoda b**, cit.²³⁵). Nutno podotknout, že obě zmíněné metody nepředstavují vhodnou cestu vedoucí k získání adamantan-1-karboxylové kyseliny.

Schéma 19

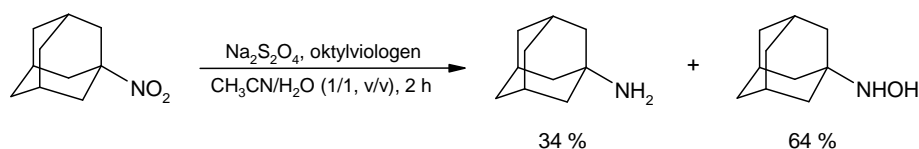


Kromě výše uvedených metod organické syntézy, byl publikován také biotransformační způsob získání adamantan-1-karboxylové kyseliny z adamantan-1-karbonitrilu. Tato transformace je uskutečňována prostřednictvím enzymů produkovaných mikroorganismem *Rhodococcus rhodochrous* AJ270, přičemž adamantan-1-karboxylová kyselina vzniká, s ohledem na použité reakční podmínky, ve výtěžku 60–90 % (cit.²³⁶).

3.1.2 Příklady syntéz 1-adamantylaminu

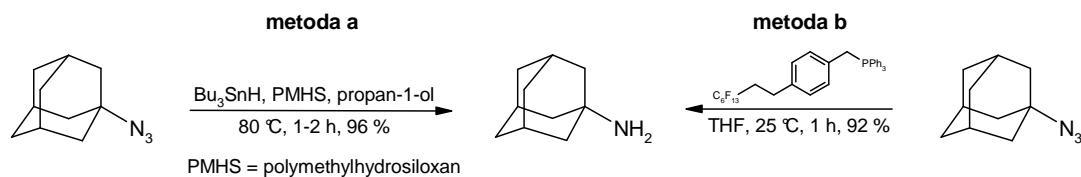
Při přípravě primárních aminů lze obecně použít celé řady redukčních metod. Jednou z možností by mohla být redukce 1-nitroadamantanu na odpovídající amin. Při pokusu o redukci 1-nitroadamantanu dithioničitanem sodným ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) pomocí 1,1'-dioktyl-4,4'-bipyridinu (deriváty 4,4'-bipyridinu jsou známé také jako „viologeny“) jakožto elektrontransferového katalyzátoru byl za podmínek uvedených na **Schématu 20** získán požadovaný 1-adamantylamin ve výtěžku 34 %, zatímco hlavním produktem reakce byl *N*-hydroxyadamantan-1-amin (64 %) ²³⁷. V případě použití jiné směsi rozpouštědel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$, 1/3, v/v) nebyl ani po deseti hodinách pozorován vznik požadovaného produktu a výchozí 1-nitroadamantan byl v 90% výtěžku vyzolován zpět z reakční směsi.

Schéma 20



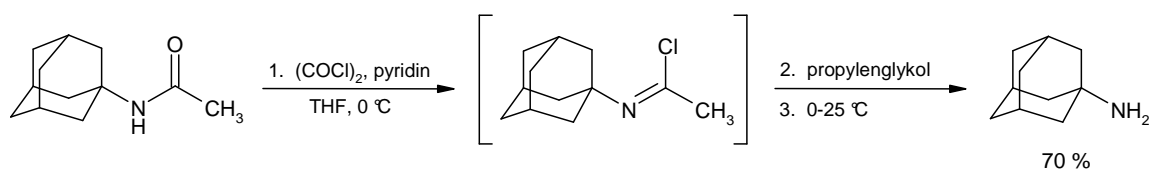
Jinou možností přípravy 1-adamantylaminu je redukce 1-azidoadamantanu. Hayes & Fu publikovali efektivní redukci azidů na aminy katalyzovanou tributylcín-hydridem (Bu_3SnH) v prostředí propan-1-olu (**Schéma 21, metoda a**, cit.²³⁸), kdy byl požadovaný 1-adamantylamin získán ve výtěžku 96 %. 1-Adamantylamin lze připravit také modifikovanou Staudingerovou reakcí, a to aplikací „fluorem-vázaného“ trifenylofosfanu, který je paralelně odstraňován pomocí FluoroFlash™ SPE, což poskytuje příslušné aminy ve vysokých výtěžcích a čistotě (**Schéma 21, metoda b**, cit.²³⁹).

Schéma 21



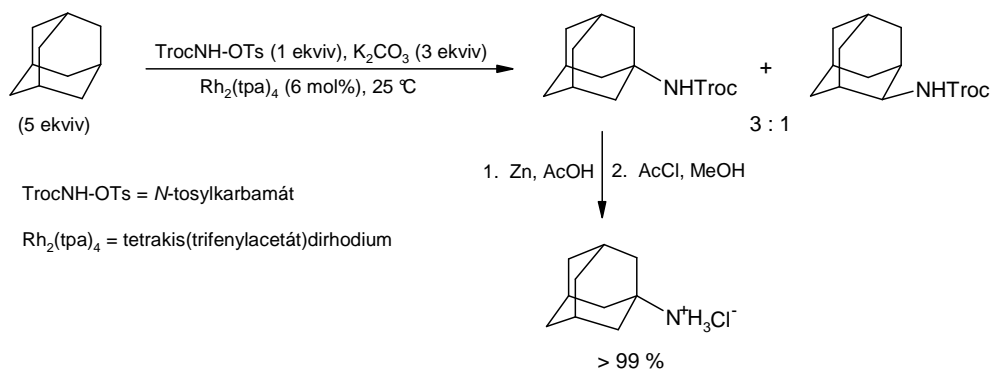
Kromě výše popsaných možností redukce nitro/azidoderivátů adamantanu, lze 1-adamantylamin připravit také odstraněním chránící amidové skupiny umístěné na adamantanovém skeletu. Několikastupňovou metodu představuje reakce *N*-(1-adamantyl)acetamidu s oxalylchloridem v pyridinu, za vzniku intermediátu, který je následnou reakcí s propylenglykolem a vytemperováním reakční směsi na laboratorní teplotu převeden na požadovaný 1-adamantylamin (**Schéma 22**, cit.²⁴⁰). Ten je možné získat přímo z reakční směsi jako stabilnější hydrochlorid nebo po neutralizaci směsi jako volnou bázi. Popsána je také reakce adamantan-1-karboxamidu s [bis(trifluoroacetoxy)jod]benzenem za vzniku 1-adamantylamonium-chloridu v 85% výtěžku²⁴¹.

Schéma 22



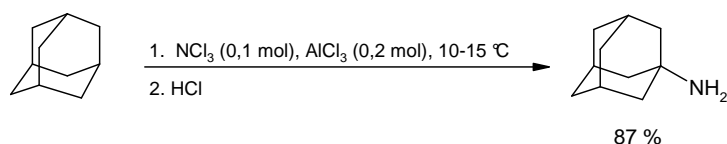
Jinou, dnes relativně využívanou chránící skupinou je trichlorethoxykarbonyl známý spíše pod označením „Troc“. Hurar & Lebel²⁴² připravili reakci adamantanu s *N*-tosyloxykarbamátem (TrocNH-OTs) katalyzovanou tetrakis(trifenylacetát)dirhodiem [Rh₂(tpa)₄] Troc-chráněný 1-adamantylamin a 2-adamantylamin v poměru 3:1. Reakcí připraveného 1-AdNHTroc se zinkem v prostředí kyseliny octové v prvním kroku, následovanou reakcí s acetylchloridem v methanolu za zvýšené teploty, byl 1-adamantylamonium-chlorid získán v kvantitativním výtěžku, jak je ilustrováno na **Schématu 23**.

Schéma 23



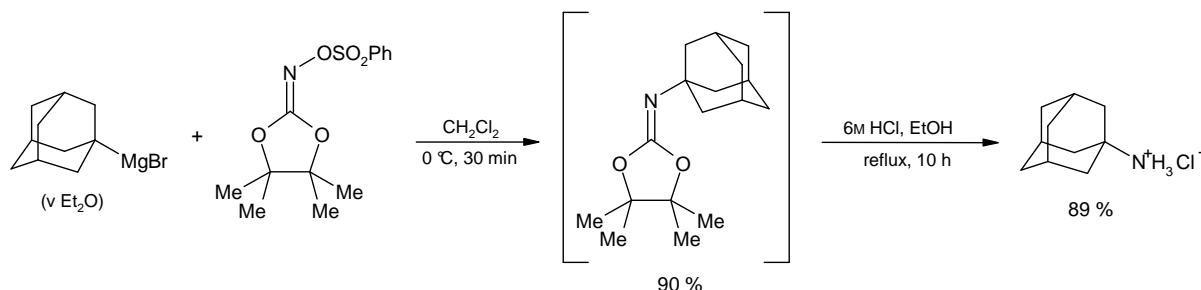
Studována byla také příprava 1-adamantylaminu za podmínek Friedelovy-Craftsovy reakce. Reakcí adamantanu s trichloraminem a chloridem hlinitým (molární poměr Ad:NCl₃:AlCl₃ = 1,1:1:2) – za vzniku komplexu Cl₃N...AlCl₃ – následovanou kyselou hydrolyzou, byl získán požadovaný 1-adamantylamin ve velmi dobrém výtěžku 87 % (**Schéma 24**, cit.²⁴³). Naproti tomu při reakci adamantanu s chloraminem a chloridem hlinitým došlo ke snížení výtěžku na pouhých 40 % (cit.²⁴⁴).

Schéma 24



Na **Schématu 25** je uvedena příprava 1-adamantylaminu elektrofilní aminací Grignardova činidla. Reakcí 1-adamantylmagnesiumbromidu (v diethyletheru) s (4,4,5,5-tertamethyl-1,3-dioxolan-2-yliden)amino benzonsulfonátem v CH₂Cl₂ byl získán příslušný imin ve výtěžku 90 %. Kyselou hydrolyzou vzniklého iminu 6M HCl (vodný roztok) byl 1-adamantylamonium-chlorid získán v 89% výtěžku²⁴⁵.

Schéma 25

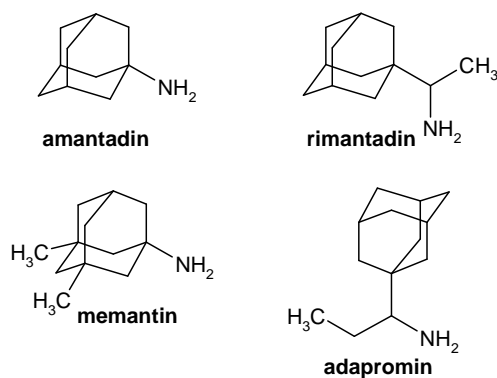


3.2 Příklady aplikací adamantanu v chemii léčiv

Molekula adamantanu je značně lipofilní, což s sebou ve vztahu k farmakologickým vlastnostem potenciálních léčiv, které ve své struktuře obsahují adamantanový motiv, může přinést celou řadu výhodných vlastností. Typickým příkladem je jistý potenciál efektivního transportu léčiva přes buněčné membrány (absorbce léčiv) a dalších farmakokinetických veličin (např. hodnot maximální plazmatické koncentrace léčiva (C_{max}) a času potřebného pro dosažení této koncentrace v organismu (t_{max}). Tyto veličiny však nejsou primárně ovlivněny pouze typem léčiva, resp. jeho fyzikálně-chemickými vlastnostmi, ale také způsobem podání a lékovou formou příslušného medikamentu. Neméně významný efekt může mít přítomnost adamantanu v molekule léčiva také na její vlastnosti farmakodynamické.

V současné době je popsáno nepřehledné množství sloučenin s adamantanovým skeletem vystupujících jako účinná antivirotika²⁴⁶⁻²⁵⁰ a antimikrobiotika^{251,252}, hypoglykemické přípravky²⁵³⁻²⁵⁵, sloučeniny vhodné pro léčbu hypertenze a vaskulárních zánětů²⁵⁶⁻²⁵⁹, induktory apoptosy²⁶⁰⁻²⁶³, tuberkulostatika^{264,265}, ligandy receptorů kanabinoidu^{266,267}, protirakovinové látky²⁶⁸⁻²⁷⁰, sloučeniny tlumící příznaky neurodegenerativních onemocnění²⁷¹⁻²⁷³ nebo látky potlačující příznaky Gaucherovy nemoci²⁷⁴.

Počátky syntézy sloučenin s adamantanovým skeletem s cílem detailního studia jejich biologických vlastností lze datovat do roku 1964, kdy Davies a kol. popsali antivirotické vlastnosti 1-adamantylaminu²⁷⁵, který je v současné klinické praxi známý pod triviálním označením amantadin či obchodními názvy Symmetrel nebo Symadine. Velmi podobné účinky byly objeveny také u dalších jednoduchých derivátů adamantanu, a sice rimantadinu [1-(1-adamantyl)-ethan-1-amin)] a adaprominu [1-(1-adamantyl)-propan-1-amin)]²⁷⁶. Všechny uvedené sloučeniny, tedy amantadin, rimantadin a adapromin, jsou účinnými virostatiky aktivními proti chřipce typu A a B, přičemž princip jejich účinku spočívá v inhibici dekapsidační fáze virové reprodukce²⁷⁷. Dalším příkladem může být memantin (3,5-dimethyladamantan-1-amin), který je terapeuticky účinný při léčbě Alzheimerovy nemoci, a jehož pozitivní účinky jsou popsány také u řady dalších neurodegenerativních onemocnění jako jsou Parkinsonova choroba, epilepsie, amyotrofická laterální skleróza, mrtvice, chronické bolesti a další²⁷⁸. Strukturální vzorce výše charakterizovaných jednoduchých derivátů adamantanu jsou uvedeny na **Obrázku 20**.



Obrázek 20. Jednoduché deriváty adamantanu.

Druhou možností při využití adamantanového skeletu v chemii léčiv jsou, kromě výše uvedené přípravy jednoduchých derivátů, strukturální modifikace sloučenin s již známými biologickými účinky. Důležitým předpokladem je nejen zachování původního aktivního místa obměňované struktury (tzv. farmakoforu), ale také umístění objemného adamantanového substituentu do

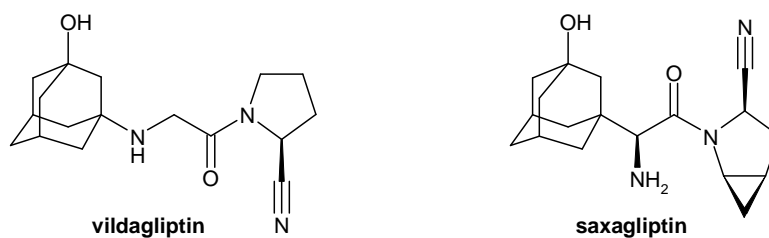
vhodné vzdálenosti od farmakoforu. Je-li adamantanový skelet umístěn příliš blízko původnímu aktivnímu místu molekuly, může dojít ke snížení nebo dokonce úplné ztrátě biologické aktivity²⁷⁹⁻²⁸¹.

Vzhledem k velkému množství sloučenin s adamantanovým skeletem, které vykazují biologické účinky, bude na několika následujících řádcích pojednáno pouze o těch, které již vstoupily do (pre)klinického testování nebo jsou dokonce schváleny pro komerční použití.

Pravděpodobně nejvýznamnější skupinou látek, ve smyslu uvedení do klinické praxe, jsou 1-adamantylové deriváty vildagliptin a saxagliptin (**Obrázek 21**). Jedná se o nekompetitivní inhibitory dipeptidylpeptidasy-IV, které slouží k léčbě diabetes mellitus typu 2, což je chronické onemocnění vyznačující se relativním nedostatkem insulinu.

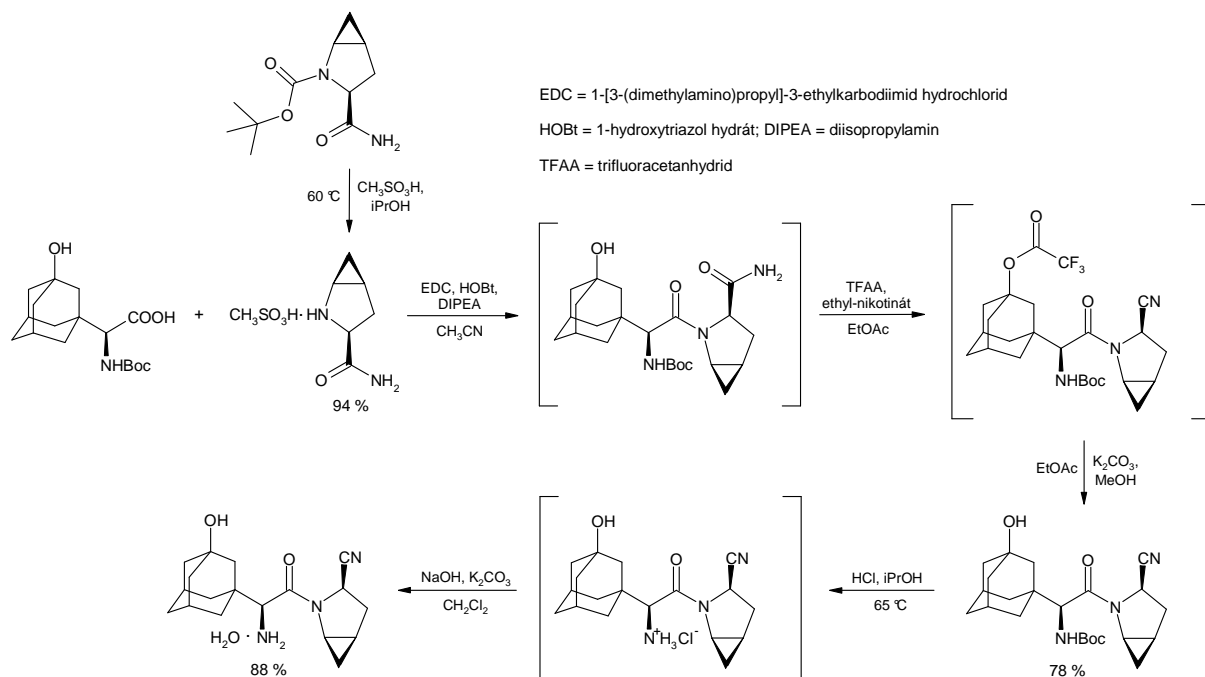
Pro komerční využití v Evropě byl již schválen vildagliptin (LAF237), registrovaný pod obchodním názvem Galvus[®] (Novartis)²⁸². V současné době bylo publikováno přibližně patnáct prací popisujících klinické zkoušky vildagliptinu za účasti více než sedmi tisíc náhodně vybraných pacientů²⁸³. Při perorálním podání, které je zpravidla indikováno v kombinaci s metforminem, sulfonylmočovinou nebo thiazolidiony, je vildagliptin velmi rychle absorbován, kdy maximální plazmatické koncentrace je dosaženo za 1,5–1,7 hodiny a biologická dostupnost dosahuje hodnoty 85 % (cit.²⁸⁴).

Další velmi dobrý příklad zavedení 1-adamantylu, vedoucí ke zlepšení farmakokinetických vlastností finální struktury, představuje saxagliptin (BMS-477118)²⁸⁵, který byl v nedávné době pod obchodním názvem Onglyza[™] schválen pro komerční využití v USA (cit.²⁸⁶, nicméně nadále absolvuje další klinická zkoušení). Zavedením 3-hydroxyadamantylového substituentu došlo k dramatickému zvýšení biologické dostupnosti z původních 5 % na hodnotu 75 % při zachování vysoké biologické aktivity²⁸⁷. Také s ohledem na očekávané zavedení saxagliptinu do klinické praxe byla vyvinuta metoda přípravy tohoto léčiva určená pro průmyslovou výrobu (**Schéma 26**, cit.²⁸⁸). Tento postup, během něhož dochází k pěti „chemickým transformacím“ a třem izolacím příslušných meziproductů, poskytuje požadovaný produkt v celkovém výtěžku 65 %.

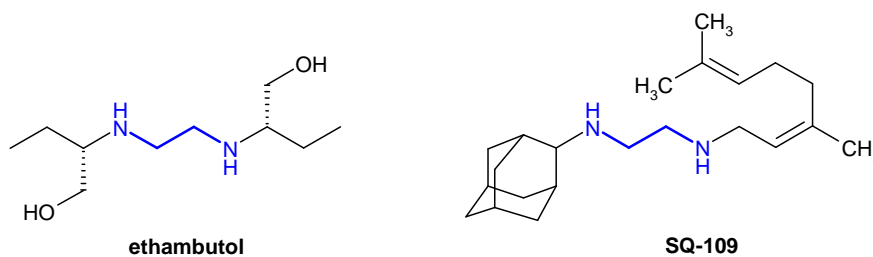


Obrázek 21. Vildagliptin a saxagliptin.

Schéma 26

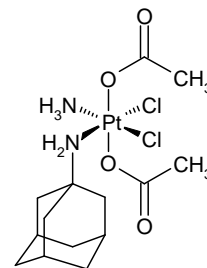


Velmi účinným tuberkulostatikem je sloučenina nesoucí označení SQ-109 (**Obrázek 22**). SQ-109 je jednou z 63 238 sloučenin připravených pomocí kombinatoriální chemie²⁶⁴. Každá z těchto látek obsahuje ethan-1,2-diaminový farmakofor, který je charakteristický pro známé tuberkulostatikum ethambutol (**Obrázek 22**). Antimikrobiální aktivita SQ-109 vůči *Mycobacterium tuberculosis* a některým hluboce rezistentním bakteriím byla potvrzena jak *in vitro* tak *in vivo* testy²⁸⁹. SQ-109 se nyní nachází v první fázi klinického zkoušení, které zaštiťuje biofarmaceutická společnost Sequella Inc.. Výsledky testů ukazují, že při podávání SQ-109 do výše 300 mg byl tento přípravek velmi dobře snášen bez projevu jakýchkoliv vážnějších vedlejších efektů²⁹⁰.



Obrázek 22. Ethambutol a SQ-109.

Jako perspektivní sloučeniny s protirakovinovými účinky se jeví v České republice vyvinutá cytostatika na bázi cisplatiny LA-9 a LA-12²⁹¹. Již provedená preklinická zkoumání se sloučeninou LA-12 (**Obrázek 23**) zahrnující *in vitro* a *in vivo* cytotoxické zkoušky na řadě nádorových buněčných linií, toxikologické a farmakokinetické studie přináší slibné výsledky²⁹¹⁻²⁹⁵. V porovnání s cisplatinou vykazuje LA-12 silnější protinádorovou aktivitu a relativně nízkou akutní toxicitu. Navíc má velmi dobrý farmakokinetický profil.



Obrázek 23. LA-12.

V **Tabulce 3** jsou uvedeny vybrané charakteristiky výše komentovaných sloučenin obsahujících adamantanový skelet, které již vstoupily do (pre)klinického zkoušení nebo byly dokonce schváleny pro komerční aplikaci.

Tabulka 3. Charakteristika vybraných sloučenin obsahujících adamantan.

Název		Producent	Typ léčiva	Vývojové stádium
triviální	obchodní			
vildagliptin	Galvus®	Novartis	antidiabetikum	schválen pro Evropu ^a
saxagliptin	Onglyza™	Bristol-Mayers Squibb, AstraZeneca	antidiabetikum	fáze III/IV ^{b,c} , schválen pro USA ^d
SQ-109	—	Sequella Inc.	tuberkulostatikum	fáze I ^{b,e}
LA-12	—	—	cytostatikum	preklinické zkoušení

^a www.ema.europa.eu

^b www.clinicaltrials.gov

^c www.astrazeneca.com

^d www.fda.gov

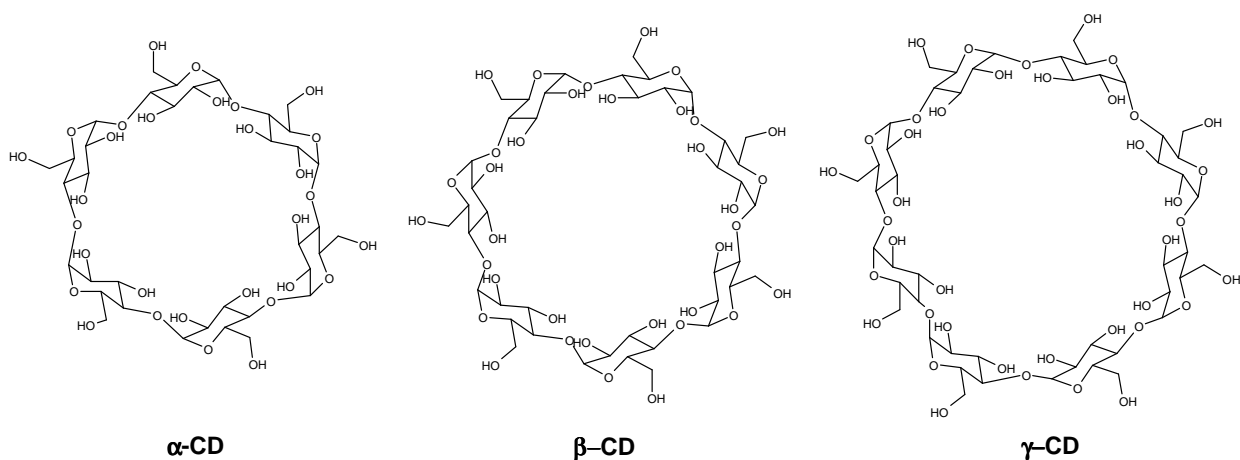
^e www.sequella.com

3.3 Tvorba inkluzních komplexů derivátů adamantanu s CDs

Vzhledem k jejich unikátní schopnosti zvýšit rozpustnost lipofilních látek ve vodných médiích nacházejí cyklodextriny (CDs) uplatnění v řadě průmyslových odvětví, mj. ve farmaceutickém, kosmetickém či potravinářském průmyslu. Ve farmaceutickém průmyslu se využívají zejména ke zlepšování farmakokinetických a farmakodynamických vlastností léčivých přípravků, které nemohou samy o sobě zcela projevit žádané farmakologické účinky po jejich aplikaci do těla pacienta nebo se vyznačují jinými nevhodnými vlastnostmi²⁹⁶. Typickými příklady jsou přípravky rozpustné jen v organických rozpouštědlech, léčiva dráždící sliznice, tkáň či kůži, medikamenty s velmi hořkou či svíravou

chutí apod.^{297, 298}. V potravinářském průmyslu je aplikace těchto látek doporučována při výrobě potravin (např. při výrobě džusů a ovocných šťáv jako ochrana před oxidační degradací způsobenou polyfenoloxidasami) nebo jako vhodných potravinářských aditiv (např. jako enkapsulačních činidel bránících vzniku nepříjemných vůní v průběhu technologického procesu či skladování)²⁹⁹.

CDs byly poprvé izolovány francouzským vědcem Villiersem v roce 1891 jako produkt bakteriální degradace škrobu. O více než 10 let později prokázal rakouský mikrobiolog Schardinger, že za vznik α - a β -CD je odpovědný mikroorganismus *Bacillus macerans*. Díky vyvinutí specifických enzymů (glukosyltransferas) a zdokonalení purifikačních postupů jsou v současné době jednotlivé typy CDs vyráběny v analytické kvalitě (čistota ≥ 99 %) a vysokých výtěžcích³⁰⁰.



Obrázek 24. Chemická struktura α -, β - a γ -CD.

Ze strukturního hlediska se jedná o makrocyclické oligosacharidy složené z D-glukopyranosylových jednotek spojených α -1,4-glykosidovými vazbami. Mezi tři majoritní členy této skupiny látek se řadí CDs sestávající ze šesti, sedmi a osmi glukosových jednotek, označované jako α -, β - a γ -CD (**Obrázek 24**, cit.³⁰¹).

Uvedené typy CDs mají rozdílné rozměry a fyzikálně-chemické vlastnosti (**Tabulka 4**). Jediným rozměrem, který je pro všechny CDs totožný, je výška (7,8 Å). Další parametry, jako je molekulová hmotnost, externí a interní průměr a průměr kavity CD, se liší v závislosti na počtu glukosových jednotek tvořících molekulu, přičemž se zvyšujícím se počtem těchto stavebních jednotek dochází k nárůstu každého z uvedených parametrů. Tvar molekuly CDs lze charakterizovat jako plytký komolý kužel (někdy označovaný také jako šálek bez dna nebo koblíha). Významnou vlastností CDs je jejich schopnost rozpouštět se ve vodných médiích. V tomto směru se jako nejlepší jeví γ -CD, naopak jednoznačně nejhůře ve vodě rozpustným cyklodextrinem je β -CD.

Nutno podotknout, že vhodnou substitucí kteréhokoliv atomu vodíku hydroxylové skupiny β -CD lze dosáhnout zvýšení rozpustnosti této látky ve vodě, např. více než 30-ti násobného zvýšení rozpustnosti ve vodě při teplotě 25 °C bylo dosaženo přípravou (2-hydroxypropyl)- β -CD (>500 mg·ml⁻¹).

Tabulka 4. Vybrané charakteristiky α -, β - a γ -CD (cit. ^{296,297,299,300}).

Typ CD	Glukosové jednotky	M _r [Da]	Rozměry [Å] ^a				Rozpustnost [mg·ml ⁻¹] ^b
			EP	IP	PK	V	
α -CD	6	972	13,7	5,7	4,7–5,3	7,8	145,0
β -CD	7	1135	15,3	7,8	6,0–6,6	7,8	18,5
γ -CD	8	1197	16,9	9,5	7,5–8,3	7,8	232,0

^a EP – externí průměr, IP – interní průměr, PK – průměr kavity, V – výška.

^b rozpustnost ve vodě při teplotě 25 °C.

Vzhledem k fokusaci této práce na tvorbu supramolekulárních komplexů připravených molekul nesoucích adamantanový skelet s β -CD, bude tento fakt zohledněn také v následujícím textu.

Zatímco vnitřní plocha kavity β -CD má hydrofobní charakter, její část externí je naopak hydrofilní. Tento fakt je dán orientací polárních a nepolárních skupin v molekule β -CD. Primární hydroxylové skupiny navázané na C6 se nacházejí na užším (primárním) okraji β -CD, zatímco sekundární hydroxylové skupiny pocházející z C2 a C3 jsou umístěny na protějším širším (sekundárním) okraji molekuly. Interiér kavity β -CD je zúžen v důsledku vyčnívajících protonů H3 (blíže sekundárnímu okraji) a H5 (blíže primárnímu okraji) a tvoří tak hydrofobní část molekuly β -CD (cit. ^{302,303}).

Z výše uvedeného vyplývá, že polární charakter externí části β -CD zajišťuje jeho schopnost rozpouštět se ve vodných médiích, zatímco hydrofobní interiér β -CD může „zapouzdřit“ nepolární části celé řady molekul a vytvářet tak komplexaci hostitele (β -CD) s hostem (ligand, např. R-Ad)³⁰⁴ (pozn. obecně se tyto vztahy označují jako host-guest systems). Jako jedna z nejvhodnějších molekul, téměř dokonale „zapadající“ do kavity β -CD, se jeví adamantan³⁰⁵. Z tohoto důvodu je tvorba supramolekulárních komplexů adamantanových derivátů s β -CD studována, přičemž závěry některých prací poukazují na zvýšenou rozpustnost připravených komplexů ve vodných médiích^{306,307}.

Tvorbu komplexů typu β -CD·ligand (kdy ligand nemusí nutně obsahovat adamantanový skelet) lze studovat z několika úhlů pohledu. Díky celé řadě vyvinutých analytických metod je nejen možné určovat stechiometrii a termodynamickou stabilitu komplexu, ale také navrhovat geometrii daného systému³⁰⁸. Pro potvrzení vzniku komplexu a určení jeho stechiometrie je možné využít hmotnostní spektrometrii (MS). Z velkého počtu dnes známých

měkkých ionizačních technik jsou při studiu vzniku komplexů hostitel-host výhodné zejména ESI (electrospray ionisation), MALDI (matrix-assisted laser desorption/ionisation) nebo REMPI (resonance-enhanced multi-photon ionisation). Běžně používanými hmotnostními analyzátory jsou kvadrupól (Q), iontová past (IT), time-of-flight (TOF) a jejich kombinace (např. QqQ nebo Q-TOF). Ucelená instrumentace pak může mít celou řadu podob, např. ESI-QqQ-MS (cit.³⁰⁹), ESI-Q-IT-MS (cit.³¹⁰), ESI-Q-TOF (cit.³¹¹) či MALDI-TOF (cit.³¹²). Stechiometrii supramolekulárních komplexů je možné určit také pomocí UV/Vis spektroskopie³⁰⁸ nebo nukleární magnetické rezonance (NMR), např. použitím titračních experimentů³¹³. Vazebné vlastnosti (stanoveny bývají základní termodynamické parametry systému, jako je entalpie, entropie či rovnovážná konstanta) a stochiometrii supramolekulárních komplexů lze studovat také prostřednictvím isotermické titrační kalorimetrie^{311,314}, případně fluorescenční korelační spektroskopie^{315,316}. Geometrii vzniklého komplexu lze navrhnout na základě celé řady NMR experimentů (aplikovat lze jak jedno- tak dvoudimenzionální NMR experimenty)^{314,316,317}. Všechny zmíněné techniky jsou prováděny v plynné fázi, případně v roztoku. Komplexaci je možné studovat také v pevné fázi, a sice pomocí rentgenové difrakční analýzy³⁰⁸. Nutno podotknout, že výsledky získané tímto způsobem mohou být velmi hodnotné. Na druhou stranu je nutné si uvědomit, že příprava dobře difragujícího monokrystalu představuje časově náročnou práci, nemluvě o pokusu vypěstovat monokrystal nějakého inkluzního komplexu.

Ačkoliv by na tomto místě mohly být schématicky znázorněny možné formy uspořádání, k nimž může docházet při tvorbě supramolekulárních komplexů typu β -CD·Ad-R, jsou některé příklady takových systémů blíže komentovány až v diskuzní části práce, konkrétně pak v **kapitole 8.2**, jejíž součástí je rovněž návrh geometrií komplexů β -CD·Ad-R (kde Ad-R představuje ligandy připravené v rámci této práce).

CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Na tomto místě jsou uvedeny elementární cíle disertační práce:

- ❖ na základě dostupných literárních zdrojů navrhnout a vyzkoušet vhodné metody přípravy série 1-adamantylaminů jakožto stavebních jednotek pro následné strukturální modifikace purinových inhibitorů CDKs;
- ❖ na základě dostupných literárních zdrojů navrhnout a vyzkoušet vhodné metody přípravy 2,6,9-trisubstituovaných purinů obsahujících na C6 purinového skeletu předešle připravené 1-adamantylaminy;
- ❖ pomocí vhodných metod strukturální analýzy (IR, EI-MS, ESI-MS, NMR) provést plnou charakterizaci výše uvedených skupin látek;
- ❖ vhodnými metodami (ESI-MS, isothermická titrační kalorimetrie, 2D NMR) prozkoumat schopnosti tvorby inkluzních komplexů vybraných 1-adamantylových ligandů s β -cyklodextrinem;
- ❖ provést základní testování enzymatické a antiproliferační aktivity připravených 2,6,9-trisubstituovaných purinů;
- ❖ výsledky obdržené na základě výše uvedené vědecko-výzkumné činnosti zpracovat vhodnými metodami a publikovat v mezinárodních impaktovaných časopisech a prezentovat na tuzemských či mezinárodních vědeckých setkáních.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4 CHARAKTERISTIKA PŘÍSTROJOVÉHO VYBAVENÍ A INSTRUMENTÁLNÍCH METOD

Teploty tání (t_i) byly měřeny na Koflerově bloku a nejsou korigovány. Elementární analýzy (C, H, N, S) byly prováděny na přístroji Flash EA 1112 Automatic Elemental analyzer (Thermo Fischer Scientific). Retenční faktory (R_f) byly určeny TLC analýzou při použití destiček typu Alugram Sil G/UV firmy Macherey-Nagel. Jako mobilní fáze byla použita směs petrolether/ethylacetát v poměrech (v/v): systém a (1/1), systém b (4/1), systém c (8/1) a systém d (16/1), nebo chloroform/methanol (8/1, v/v) jako systém e. NMR spektra byla měřena na přístroji Bruker Avance 500 při frekvenci 500,13 MHz (^1H) a 125,77 MHz (^{13}C) a na přístroji Bruker Avance 300 při frekvenci 300,13 MHz (^1H) a 75,77 MHz (^{13}C). Jako interní standard bylo používáno rozpouštědlo (^1H : $\delta(\text{reziduální CHCl}_3) = 7,27$ ppm; $\delta(\text{reziduální DMSO-}d_5) = 2,50$ ppm; ^{13}C : $\delta(\text{CDCl}_3) = 77,23$ ppm; $\delta(\text{DMSO-}d_6) = 39,52$ ppm). Při vypisování protonových spekter byly použity následující zkratky: s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kvartet, dd = dublet dubletů. Směšovací čas pro NOESY (cit.³¹⁸) experiment byl nastaven na 500 ms a spin-lock pro ROESY experiment na 400 ms. ^1H Signály pocházející z β -CD byly přiřazeny dle předešle publikované práce³¹⁹. 2D ^1H - ^{13}C gs-HMQC-NOESY spektra³²⁰ byla měřena při frekvenci 600,15 MHz (^1H) a 150,67 MHz (^{13}C). Infračervená spektra byla měřena na spektrometru FT-IR Mattson 3000 v podobě KBr tablet. Symboly použité při vypisování spekter značí intenzitu daného absorpčního pásu: w = slabá, m = střední, s = silná; případně jeho šířku: b = široký pás. Pro kvantitativní analýzu reakčních směsí byl použit plynový chromatograf Shimadzu QP-2010 s kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem (GC-EI-MS), vybavený integrovanou knihovnou spekter NIST 02 a kolonou Supelco SLB-5ms (30 m; 0,25 mm). Jako nosný plyn bylo použito helium s konstantním průtokem $38 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$. Teplotní program: $100 \text{ }^\circ\text{C}/7 \text{ min}$, $25 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ zvýšení na teplotu $250 \text{ }^\circ\text{C}$, jež byla držena patřičně dlouhou dobu. Teplota nástřiku: $250 \text{ }^\circ\text{C}$. Iontový zdroj: $200 \text{ }^\circ\text{C}$, 70 eV. Hmotnostní spektra sloučenin s vyšší molekulovou hmotností byla měřena metodou přímého vstupu na hmotnostním spektrometru (DI-EI-MS) Shimadzu QP-2010. Teplotní program: $80 \text{ }^\circ\text{C}/1 \text{ min}$, $40 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ zvýšení na teplotu $350 \text{ }^\circ\text{C}$, jež byla držena patřičně dlouhou dobu. Iontový zdroj: $200 \text{ }^\circ\text{C}$, 70 eV. Při vypisování hmotnostních spekter byly brány v úvahu signály s relativním zastoupením alespoň 5 % (neplatí pro molekulové ionty). Charakterizace vybraných fragmentů pozorovaných v hmotnostních spektrech je uváděna v závorce za hodnotnou m/z . U sloučenin, které ve své struktuře obsahují halogen (Cl, Br), jsou brány v úvahu také jednotlivé izotopy. ESI-MS analýzy byly prováděny na hmotnostním spektrometru s iontovou pastí Esquire LC a/nebo amaZon X (Bruker Daltonics, Brémy, Německo) vybavených elektrosprejovým ionizačním zdrojem. Veškerá měření byla

uskutečňována v pozitivním skenovacím módu. Vzorčky byly do iontového zdroje přiváděny kovovou kapilárou při konstantním průtoku 3–5 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$. Ostatní parametry: napětí na kapiláře: -3,5 až -4,5 kV; teplota sušícího plynu (250–300 °C); průtok sušícího plynu (5–10 $\text{dm}^3\cdot\text{min}^{-1}$); tlak rozprašovacího plynu (8–14 psi). Jako sušící a rozprašovací plyn byl použit dusík. Případné další parametry byly optimalizovány během jednotlivých experimentů. Tandemová hmotnostní spektra byla (po izolaci požadovanovaného iontu) měřena pomocí kolizí vyvolané disociace (collision-induced dissociation, CID). Jako kolizní plyn bylo použito He. Isotermická titrační kalorimetrie byla prováděna na přístroji VP-ITC MicroCal při teplotě 30 °C za použití směsi DMSO/H₂O (3/1, v/v) jako rozpouštědla. Koncentrace hostitele v cele a hosta v mikrostříkačce byly přibližně 7,0 mM (hostitel) a 0,6 mM (host). Při provádění experimentu byl z 250 μl stříkačky přidáván host k hostiteli v 210 sekundových intervalech, kdy v každém intervalu bylo přidáno 10 μl příslušného hosta. Získaná data byla zpracována pomocí programu MicroCal ORIGIN, který je součástí instrumentu. Rentgenostrukturní analýzy byly prováděny na difraktometru Kuma KM-4-CCD. Jednotlivé struktury byly řešeny a zpřesňovány pomocí programu *SHELXS97*, pro grafické zpracování byl použit program *ORTEP-3*.

Enzymatická a antiproliferační aktivita připravených 2,6,9-trisubstituovaných purinů byla studována ve spolupráci s Laboratoří růstových regulátorů Univerzity Palackého v Olomouci pod vedením doc. RNDr. Vladimíra Kryštofa, Ph.D.. Zvolená metodika je podrobně popsána v dříve publikované práci¹⁰⁸.

Adamantan-1-karboxylová kyselina, 2,6-dichlorpurin, použitá rozpouštědla a činidla byly zakoupeny z komerčních zdrojů.

V experimentální části budou uvedeny pouze syntetické postupy a plná charakteristika látek, na nichž se přímo podílel autor práce. Strukturní data sloučenin připravených ostatními členy týmu (včetně studentů absolvujících zahraniční praxe) nejsou z autorských důvodů součástí této práce, nicméně jsou (příp. budou) uvedeny ve výstupech s nimi souvisejících (publikace, výzkumné zprávy). Číslování jednotlivých sloučenin vychází ze schémat uvedených v diskuzní části předložené práce.

5 PŘÍPRAVA VÝCHOZÍCH LÁTEK

5.1 Adamantan-1-karbonylchlorid (1)

Titulní látka **1** byla připravena postupem uvedeným v literatuře³²¹. Adamantan-1-karboxylová kyselina (20,0 g; 111,0 mmol) byla rozsuspendována ve 28 cm³ bezvodého toluenu obsahujícího malé množství thionylchloridu. Po zahřátí vzniklé suspenze na teplotu 60–65 °C bylo během 90 minut přidáno 15,7 g (131,0 mmol) thionylchloridu a reakční směs ponechána míchat za této teploty dalších 8 hodin. Poté bylo do směsi přidáno 30 cm³ bezvodého toluenu a totéž množství bylo z reakční směsi oddestilováno (zmíněný postup byl opakován celkem čtyřikrát). Na závěr bylo ze směsi oddestilováno ještě 15 až 20 cm³ toluenu, kdy určující byla „medová“ barva reakční směsi. Neoddestilovaný zbytek byl ponechán spontánně krystalovat při teplotě –15 °C. Získané mírně nažloutlé jehlice byly odfiltrovány, vysušeny pod ochrannou argonovou atmosférou a dále používány bez nutnosti purifikace. Výtěžek 18,7 g (85 %); $t_f = 48\text{--}50$ °C (lit.³²² 47–48 °C). Spektrální data odpovídají literatuře³²¹.

5.2 1-Adamantylmethanol (2)

Titulní látka **2** byla připravena mírně modifikovaným literárním postupem³²³. Do trojhrdlé baňky o objemu 500 cm³ obsahující 100 cm³ suchého diethyletheru bylo během 30 minut opatrně přidáno 6,0 g (159,0 mmol) Li[AlH₄], přičemž byl pozorován značný vývin vodíku. Do vzniklé suspenze, jež byla během přidávání redukčního činidla chlazená směsí voda/led, bylo během 20 minut přidáno 10,0 g (55,5 mmol) adamantan-1-karboxylové kyseliny. Po přidání všech reaktantů byla reakční směs míchána při laboratorní teplotě po dobu 3 hodin a následně dalších 8 hodin refluxována pod ochrannou argonovou atmosférou. Další porce redukčního činidla (1,0 g; 26,3 mmol) byly přidávány do úplného spotřebování výchozí kyseliny (monitorováno pomocí GC-MS). Po ukončení reakce bylo do směsi opatrně přidáno 7,5 cm³ H₂O, 7,5 cm³ 15% roztoku hydroxidu sodného a 22,5 cm³ H₂O v uvedeném pořadí. V okamžiku vytvoření bezbarvé suspenze byla směs přefiltrována, filtrát promyt 4 × 20 cm³ 1,16M roztokem K₂CO₃ a sušen nad síranem sodným. Odpařením rozpouštědla byl získán surový produkt v podobě bezbarvého krystalického prášku. Čistá titulní látka byla získána krystalizací z hexanu v podobě bezbarvých jehlic ve výtěžku 7,7 g (84 %); $t_f = 116\text{--}118$ °C (lit.³²³ 117–119 °C).

GC-EI-MS (m/z , %): 41(9), 55(5), 67(10), 77(7), 79(21), 81(6), 93(22), 107(12), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 166(M⁺, 4).

5.3 1-(Brommethyl)adamantan (3)

Do baňky o objemu 1000 cm³ obsahující 435 cm³ HBr bylo přidáno 85,6 g (380 mmol) bromidu zinečnatého (pozorován vznik tmavě žlutého roztoku)

a 25,0 g (150,0 mmol) 1-adamantylmethanolu **2**. Vzniklá suspenze byla za stálého míchání refluxována, přičemž přibližně po 1 hodině došlo k úplnému rozpuštění 1-adamantylmethanolu a postupnému oddělování organické fáze ulpívající na hladině reakční směsi. Po 8 hodinách byla reakce ukončena (monitorováno GC-MS), krusta vytvořená na hladině v důsledku ochlazení organického podílu opatrně rozbita a směs přefiltrována. Pevné podíly byly rozpuštěny v diethyletheru a filtrát extrahován 6 × 20 cm³ diethyletheru. Spojené organické podíly byly promyty 2 × 20 cm³ nasyceného roztoku chloridu sodného a sušeny nad Na₂SO₄. Po odpaření rozpouštědla na RVO byl získán surový produkt v podobě hnědého krystalického prášku. Čistá titulní látka **3** byla získána krystalizací z hexanu v podobě světle hnědého krystalického prášku ve výtěžku 29,9 g (87 %); *t*_f = 33–35 °C (lit.³²⁴ 34–37 °C).

IR (KBr): 2907(s), 2845(s), 1451(m), 1269(m), 1230(s), 1091(w), 970(w), 915(w), 858(w), 646(m), 618(w), 561(w) cm⁻¹. GC-EI-MS (*m/z*, %): 41(7), 77(5), 79(14), 91(8), 93(16), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 149(AdCH₂, 6), 228(M⁺(⁷⁹Br), 2), 230(M⁺(⁸¹Br), 2).

5.4 Grignardova činidla

Veškerá Grignardova činidla byla připravena reakcí příslušného halogenderivátu s hořčíkovými hoblinami (1,2 molární přebytek) v bezvodém diethyletheru pod ochrannou argonovou atmosférou³²⁵. V některých případech byla reakční směs z důvodu vyšší reaktivity halogenderivátu chlazená, zatímco u méně reaktivních bylo nutné směs mírně zahřívat. Po přidání veškerého množství halogenderivátu byla reakční směs 2 hodiny refluxována. Výsledná koncentrace připraveného činidla byla stanovena acidimetrickou titrací na fenolftalein.

5.5 Příprava Raneyova niklu

Při přípravě Raneyova niklu používaného pro redukce a/nebo desulfurizace bylo postupováno dle modifikované metody uvedené v literatuře³²⁶. Ve 100 cm³ Erlenmeyerově baňce se zábrusem bylo za stálého míchání a chlazení směsí voda/led rozpuštěno 8,0 g (200,0 mmol) hydroxidu sodného ve 30 cm³ H₂O. Do vzniklého roztoku bylo během 45 minut přidáno 6,26 g Ra-Ni po malých dávkách tak, aby se pomalu vyvíjel vodík. Po přidání veškerého Ra-Ni byla směs 12 hodin míchána za laboratorní teploty. Takto připravená silně bazická suspenze byla následně promývána vodou do neutrálního pH. Po posledním promytí vodou byla směs promyta 10 × 10 cm³ organického rozpouštědla použitého pro danou reakci a poté dalšími dvěma porcemi příslušného rozpouštědla zbaveného vody běžnými sušícími postupy.

6 PŘÍPRAVA FINÁLNÍCH LÁTEK

6.1 Příprava 1-adamantylanilinů

6.1.1 Příprava 1-adamantyl(fenyl)ketonů

Do trojhrdlé baňky obsahující bezvodý THF (5 cm³ THF na 2,50 mmol acylchloridu) byl postupně přidán chlorid lithný, chlorid měďný a chlorid hlinitý v uvedeném pořadí a molárních poměrech 2:1:1, přičemž každý z katalyzátorů byl do směsi přidán až po rozpuštění toho předchozího. Do vzniklého roztoku byl následně přidán příslušný acylchlorid (v molárním poměru 100:3 vůči AlCl₃) a směs míchána 5 minut při teplotě 10 °C. Poté bylo do vzniklé směsi (přes septum pomocí teflonové kanyly) jednorázově přidáno Grignardovo činidlo. Po 1 hodině míchání za laboratorní teploty byla reakční směs hydrolyzována 60 cm³ 1M kyseliny chlorovodíkové a vzniklý roztok byl ponechán dalších 15 minut velmi intenzivně míchat při teplotě místnosti. Po kvantitativním převedení reakční směsi do dělicí nálevky byla vodná vrstva oddělena od organických podílů a extrahována diethyletherem (3 × 30 cm³). Spojené organické podíly byly následně promyty 2 × 20 cm³ uhličitanu draselného (1,16M vodný roztok), 2 × 10 cm³ chloridu amonného (3M vodný roztok) a sušeny nad síranem sodným. Odpařením rozpouštědla na RVO byl získán surový produkt. V případě obou připravených látek byl požadovaný 1-adamantyl (fenyl) keton doprovázen vedlejšími cross-couplingovými produkty, vznikajícími při přípravě Grignardova činidla. Tyto vedlejší produkty byly odstraněny pomocí sloupcové chromatografie.

(1-Adamantyl)(fenyl)methanon (4)

Podle výše uvedeného postupu z výchozích navážek 126,3 mg (2,98 mmol) LiCl, 127,5 mg (1,49 mmol) CuCl, 198,7 mg (1,49 mmol) AlCl₃, 9,89 g (49,7 mmol) adamantan-1-karbonylchloridu (**1**) a 41,0 cm³ 1,21M roztoku fenylmagnesiumbromidu v diethyletheru. Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/0 až 4/1, v/v) v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 9,38 g (79 %); *t*_i = 51–54 °C (lit.³²⁷ 51–52 °C). Strukturální data (NMR, IR) odpovídají literatuře³²⁸.

GC-EI-MS (*m/z*, %): 41(5), 67(7), 77(17), 79(17), 93(17), 105(9), 107(10), 135(Ad, 100), 136(AdH, 12), 240(M⁺, 11).

(C₁₇H₂₀O) vyp. složení: 84,96 % C; 8,39 % H

exp. složení: 85,12 % C; 8,56 % H

2-(1-Adamantyl)-1-fenylethan-1-on (5)

Podle výše uvedeného postupu z výchozích navážek 126,3 mg (2,98 mmol) LiCl, 127,5 mg (1,49 mmol) CuCl, 198,7 mg (1,49 mmol) AlCl₃, 9,89 g (49,7 mmol) benzoylchloridu a 41,0 cm³ 1,21M roztoku 1-adamantylmethylmagnesiumbromidu v diethyletheru. Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/0 až 4/1, v/v) v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 3,27 g (55 %); *t*_t = 61–63 °C.

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,61–1,72 (m, 12H, CH₂(Ad)); 1,95 (s, 3H, CH(Ad)); 2,72 (s, 2H, AdCH₂CO); 7,45 (m, 2H, Ph); 7,54 (m, 1H, Ph); 7,95 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 28,9(CH); 34,2(C); 37,0(CH₂); 43,2(CH₂); 51,5(AdCH₂CO); 128,6(CH); 128,7(CH); 132,9(CH); 139,1(C); 200,5(CO) ppm. IR (KBr): 3059(w), 2906–2858(bs), 2845(m), 1664(s), 1592(w), 1576(w), 1447(s), 1346(w), 1257(s), 1233(m), 1176(w), 1092(w), 1017(m), 975(w), 800(m), 742(s), 723(m), 693(s), 646(w), 600(s), 539(w) cm⁻¹. GC-EI-MS (*m/z*, %): 41(8), 55(6), 67(6), 77(42), 78(6), 79(15), 91(11), 92(7), 93(12), 105(100), 106(9), 107(7), 120(6), 135(Ad, 30), 179(7), 236 (M⁺–H₂O, 12), 253(12), 254(M⁺, 37), 255(7).

(C₁₈H₂₂O) vyp. složení: 84,99 % C; 8,72 % H

exp. složení: 84,73 % C; 8,65 % H

6.1.2 Nitrace 1-adamantyl(fenyl)ketonů

Acetylnitrát byl připraven velmi opatrným přidáváním směsi kyseliny dusičné (4,1 cm³) a kyseliny sírové (0,2 cm³) do 10 cm³ acetanhydridu při teplotě –15 °C. Z důvodu dobře známé schopnosti acetanhydridu tvořit s kyselinou dusičnou explozivní směsi byly nitrace prováděny v dvouplášťovém reaktoru o objemu 50 cm³, který byl spojen s externím chladícím zařízením. Při přidávání směsi kyselin bylo pečlivě monitorováno, aby teplota reakční směsi nepřesáhla 10 °C. Po přidání veškeré směsi kyselin do acetanhydridu (30 minut) byl do vzniklé směsi opatrně dávkován roztok příslušného 1-adamantyl(fenyl)ketonu (4,15 mmol) v 6 cm³ acetanhydridu (15 minut). Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC, která po 30–60 minutách po přidání příslušného ketonu indikovala spotřebování veškeré výchozí látky. Do reaktorku byla přidána ledová tříšť, po jejímž rozpuštění byla vodná fáze extrahována 4 × 20 cm³ diethyletheru. Spojené organické podíly byly opakovaně promyty 1,16M roztokem uhličitane draselného a sušeny nad bezvodým uhličitane draselným alespoň 48 hodin. Surový produkt byl získán odpařením rozpouštědla na RVO.

(1-Adamantyl)(3-nitrofenyl)methanon (6)

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, systém c) v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 358 mg (30 %); $t_t = 73-76\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,36$ (systém c).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1,74 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,98 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 2,08 (s, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 7,56 (dd, $J = 7,6\text{ Hz}$; 7,3 Hz, 1H, Ph); 7,81 (d, $J = 7,3\text{ Hz}$, 1H, Ph); 8,27 (d, $J = 7,6\text{ Hz}$, 1H, Ph); 8,36 (s, 1H, Ph) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): δ 28,2(CH); 36,6(CH_2); 39,2(CH_2); 47,4(CH_2); 122,3(CH); 125,0(CH); 129,5(CH); 133,2(CH); 141,0(C); 207,8(CO) ppm. IR (KBr): 3120(w), 3084(w), 2962–2848(bs), 1665(s), 1612(m), 1528(s), 1349(s), 1279(w), 1261(w), 1231(m), 1083(w), 1001(m), 967(w), 938(w), 903(w), 802(w), 711(s), 674(m), 643(w) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 41(5), 55(5), 67(8), 76(6), 77(7), 79(21), 81(6), 91(6), 93(20), 107(12), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 285(M^+ , 1).

($\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_3$) vyp. složení: 71,56 % C; 6,71 % H; 4,91 % N
exp. složení: 71,48 % C; 6,89 % H; 5,08 % N

(1-Adamantyl)(4-nitrofenyl)methanon (7)

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, systém c) v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 455 mg (38 %); $t_t = 122-123\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,30$ (systém c).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1,70–1,81 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,97 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 2,10 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 7,60 (d, $J = 6,9\text{ Hz}$, 2H, Ph); 8,25 (d, $J = 6,9\text{ Hz}$, 2H, Ph) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): δ 28,1(CH); 36,6(CH_2); 39,0(CH_2); 47,3(C); 123,5(CH); 127,9(CH); 143,1(C); 145,9(C); 209,3(CO) ppm. IR (KBr): 3107(w), 3077(w), 3044(w), 2906–2852(bs), 1689(s), 1600(m), 1514(s), 1454(w), 1346(s), 1273(m), 1243(m), 1181(w), 1104(w), 991(w), 952(w), 933(w), 856(s), 830(m), 810(m), 714(m), 696(w), 665(w), 569(w), 469(w) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 41(6), 55(5), 67(8), 77(8), 79(22), 81(6), 91(6), 93(20), 107(13), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 285(M^+ , 2).

($\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_3$) vyp. složení: 71,56 % C; 6,71 % H; 4,91 % N
exp. složení: 71,39 % C; 6,63 % H; 5,06 % N

2-(1-Adamantyl)-1-(3-nitrofenyl)ethan-1-on (8)

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, systém c) v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 788 mg (63 %); $t_t = 79-80\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,28$ (systém c).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1,67 (m, 12H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,96 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 2,77 (s, 2H, AdCH_2CO); 7,67 (dd, $J = 8,3\text{ Hz}$; 7,9 Hz, 1H, Ph); 8,27 (d, $J = 8,3\text{ Hz}$, 1H, Ph); 8,40 (d, $J = 7,9\text{ Hz}$, 1H, Ph); 8,76 (s, 1H, Ph) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3):

δ 28,9(CH); 34,4(C); 36,9(CH₂); 43,1(CH₂); 51,6(AdCH₂CO); 123,4(CH); 127,2(CH); 129,9(CH); 134,0(CH); 140,3(C); 148,7(C); 198,0(CO) ppm. IR (KBr): 3090(w), 2903–2846(bs), 1672(s), 1614(w), 1577(w), 1530(s), 1477(w), 1447(m), 1351(s), 1310(m), 1256(m), 1202(w), 1150(w), 1094(m), 1036(w), 925(w), 814(w), 731(m), 703(w), 667(w), 604(w) cm⁻¹. GC-EI-MS (*m/z*, %): 41(19), 53(8), 55(15), 65(6), 67(21), 69(5), 76(23), 77(23), 78(8), 79(47), 80(9), 81(15), 91(27), 92(28), 93(42), 104(26), 105(12), 107(20), 119(8), 135(Ad, 100), 136(AdH, 12), 150(15), 252(6), 282(M⁺-OH, 64), 283(13), 299(M⁺, 3).

(C₁₈H₂₁NO₃) vyp. složení: 71,22 % C; 7,07 % H; 4,68 % N

exp. složení: 71,35 % C; 7,23 % H; 4,42 % N

6.1.3 Redukce nitroketonů na aminoketony

Příslušný 1-adamantyl(nitrofenyl)keton (1,05 mmol) byl rozpuštěn ve 30 cm³ methanolu. Do vzniklého roztoku bylo přidáno 6 cm³ kyseliny chlorovodíkové (1/1, v/v, vodný roztok) a 130 mg (2,33 mmol) práškového železa. Reakční směs byla refluxována a průběh reakce monitorován pomocí TLC. Další dávky železa (130 mg; 2,33 mmol) byly do směsi přidávány vždy po spotřebování dávky předchozí, a to do okamžiku, kdy TLC indikovala vymizení veškeré výchozí látky. Po ukončení reakce byla směs zneutralizována 5% roztokem hydroxidu sodného (40 cm³) a vzniklá vodná vrstva extrahována 3 × 20 cm³ diethyletheru. Spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Odpařením rozpouštědla na RVO byl získán surový produkt.

(1-Adamantyl)(3-aminofenyl)methanon (9)

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a) v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 236 mg (88 %); *t_t* = 97–100 °C; *R_f* = 0,28 (systém b).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,75 (m, 6H, CH₂(Ad)); 1,99 (m, 6H, CH₂(Ad)); 2,07 (m, 3H, CH(Ad)); 3,73 (bs, 2H, NH₂); 6,72–6,77 (m, 2H, Ph); 6,91 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ph); 7,16 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 28,4(CH); 36,8(CH₂); 39,3(CH₂); 47,1(C); 113,7(CH); 116,8(CH); 117,3(CH); 128,9(CH); 141,2(C); 146,3(C); 210,9(CO) ppm. IR (KBr): 3474(m), 3381(s), 2900(s), 2850(m), 1662(s), 1626(m), 1593(m), 1494(m), 1446(m), 1321(m), 1295(w), 1219(m), 1180(w), 991(w), 793(w), 731(m), 682(w), 649(w) cm⁻¹. GC-EI-MS (*m/z*, %): 41(8), 55(6), 65(13), 67(9), 77(8), 79(24), 81(7), 91(7), 92(18), 93(23), 107(12), 120(M⁺-Ad, 20), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 227(M⁺-CO, 6), 255(M⁺, 24), 256(5).

(C₁₇H₂₁NO) vyp. složení: 79,96 % C; 8,29 % H; 5,49 % N
exp. složení: 79,89 % C; 8,35 % H; 5,37 % N

(1-Adamantyl)(4-aminofenyl)methanon (10)

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a) v podobě žlutého krystalického prášku ve výtěžku 257 mg (96 %); $t_r = 79-81$ °C; $R_f = 0,17$ (systém b).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,78 (m, 6H, CH₂(Ad)); 2,07 (m, 9H, CH₂(Ad)+CH(Ad)); 6,69 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, Ph); 7,72 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 28,6(CH); 37,0(CH₂); 39,9(CH₂); 46,9(C); 114,4(CH); 129,3(C); 131,0(CH); 148,2(C); 206,5(CO) ppm. IR (KBr): 3469(m), 3347(s), 2898(s), 2847(m), 1629(s), 1586(s), 1557(m), 1517(w), 1442(m), 1322(m), 1271(s), 1241(m), 1171(s), 1112(m), 986(w), 929(w), 841(m), 751(w), 643(w), 614(m), 511(w) cm⁻¹. GC-EI-MS (m/z , %): 65(8), 79(9), 92(9), 93(7), 120(M⁺-Ad, 100), 121(8), 135(Ad, 11), 255(M⁺, 8).

(C₁₇H₂₁NO) vyp. složení: 79,96 % C; 8,29 % H; 5,49 % N
exp. složení: 80,05 % C; 8,12 % H; 5,63 % N

2-(1-Adamantyl)-1-(3-aminofenyl)ethan-1-on (11)

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, systém b) v podobě světle oranžového krystalického prášku ve výtěžku 289 mg (92 %); $t_r = 66-68$ °C; $R_f = 0,25$ (systém c).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,65 (m, 12H, CH₂(Ad)); 1,95 (m, 3H, CH(Ad)); 2,68 (s, 2H, AdCH₂CO); 3,74 (bs, 2H, NH₂); 6,87 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H, Ph); 7,21-7,35 (m, 3H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 29,0(CH); 34,1(C); 37,0(CH₂); 43,2(CH₂); 51,5(CH₂); 114,5(CH); 119,5(CH); 119,7(CH); 129,4(CH); 140,3(C); 146,6(C); 200,7(CO) ppm. IR (KBr): 3459(m), 3405(m), 3328(m), 2899(s), 2846(s), 1660(s), 1627(m), 1595(m), 1453(m), 1326(m), 1287(m), 1197(w), 1162(w), 1143(w), 1096(w), 991(w), 903(w), 884(w), 777(w), 691(w), 677(w) cm⁻¹. GC-EI-MS (m/z , %): 41(8), 55(5), 65(18), 77(7), 79(12), 91(10), 92(42), 93(19), 106(6), 107(10), 120(M⁺-AdCH₂, 100), 121(14), 135(Ad, 20), 241(M⁺-CO, 5), 251(M⁺-H₂O, 6), 269(M⁺, 51), 270(10).

(C₁₈H₂₃NO) vyp. složení: 80,26 % C; 8,61 % H; 5,20 % N
exp. složení: 80,11 % C; 8,49 % H; 5,23 % N

6.1.4 Redukce nitroketonů na nitroalkoholy

Příslušný 1-adamantyl(nitrofenyl)keton (0,84 mmol) byl rozpuštěn v 5 cm³ horkého ethanolu. Vzniklý roztok byl vložen do ledové lázně, přičemž byla pozorována tvorba malého podílu jemné sraženiny výchozí látky. Po ochlazení vzniklé disperze na teplotu 0 °C byl jednorázově přidán tetrahydridoboritan

sodný (40 mg; 1,04 mmol) a reakční směs byla za intenzivního míchání vytemperována na laboratorní teplotu. V okamžiku spotřebování veškerého výchozího ketonu (monitorováno TLC) bylo do směsi opatrně přidáno 10 cm³ kyseliny chlorovodíkové (1M vodný roztok) za pozvolného vzniku mléčné sraženiny. Surový produkt byl získán extrakcí reakční směsi diethyletherem (3 × 15 cm³), promytím spojených organických podílů nasyceným roztokem chloridu sodného (2 × 10 cm³), sušením nad síranem sodným a odpařením rozpouštědla na RVO.

(1-Adamantyl)(3-nitrofenyl)methanol (12)

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, systém b) v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 234 mg (97 %); $t_t = 106\text{--}110\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,20$ (systém b).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,27–1,71 (m, 12H, CH₂(Ad)); 1,99 (m, 3H, CH(Ad)); 2,10 (s, 1H, CHOH); 4,33 (s, 1H, CHOH); 7,49 (m, 1H, Ph); 7,59 (m, 1H, Ph); 8,12 (m, 2H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 28,9(CH); 32,9(C); 37,2(CH₂); 43,3(CH₂); 54,7(CH₂); 70,3(CH); 120,9(CH); 122,4(CH); 129,6(CH); 132,1(CH); 148,6(C); 149,0(C) ppm. IR (KBr): 3543(m), 3432(m), 3106(w), 3092(w), 2906(s), 2848(s), 1525(s), 1475(w), 1448(w), 1349(s), 1312(w), 1286(w), 1194(w), 1126(w), 1088(w), 1036(m), 1021(m), 982(w), 930(w), 909(w), 896(w), 813(m), 722(m), 693(m), 661(w), 618(w) cm⁻¹. GC-EI-MS (m/z , %): 41(10), 55(7), 67(10), 77(13), 78(5), 79(26), 81(6), 91(7), 93(22), 105(5), 107(12), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 287(M⁺, <1).

(C₁₇H₂₁NO₃) vyp. složení: 71,06 % C; 7,37 % H; 4,87 % N
exp. složení: 70,83 % C; 7,18 % H; 4,55 % N

(1-Adamantyl)(4-nitrofenyl)methanol (13)

Čistý produkt byl získán krystalizací z methanolu v podobě světle žlutých krystalů ve výtěžku 233 mg (96 %); $t_t = 183\text{--}185\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,11$ (systém b).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,47–1,72 (m, 12H, CH₂(Ad)); 2,01 (m, 4H, CH(Ad)+CHOH); 4,33 (s, 1H, CHOH); 7,44 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H, Ph); 8,18 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 28,4(CH); 37,1(CH₂); 37,7(C); 38,3(CH₂); 82,3(CH); 122,8(CH); 128,8(CH); 147,5(C); 148,8(C) ppm. IR (KBr): 3565(s), 3112(w), 3081(w), 2908(s), 2848(s), 1600(m), 1506(s), 1450(w), 1346(s), 1312(m), 1216(w), 1168(w), 1105(m), 1038(m), 977(w), 938(w), 855(m), 830(w), 800(w), 760(w), 720(s), 701(w), 637(w), 740(m) cm⁻¹. GC-EI-MS (m/z , %): 41(8), 44(14), 55(6), 67(8), 77(8), 79(18), 91(5), 93(17), 107(10), 121(6), 122(14), 135(Ad, 100), 136(AdH, 12), 287(M⁺, 4).

(C₁₇H₂₁NO₃) vyp. složení: 71,06 % C; 7,37 % H; 4,87 % N
exp. složení: 71,34 % C; 7,45 % H; 4,98 % N

2-(1-Adamantyl)-1-(3-nitrofenyl)ethan-1-ol (14)

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, systém c) v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 220 mg (87 %); $t_r = 68\text{--}69\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,51$ (systém c).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1,50 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H, $\text{AdCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 1,59–1,79 (m, 12H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,88 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H, $\text{AdCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 2,02 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 5,05 (m, 1H, CHOH); 7,52 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 7,70 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 8,13 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, Ph); 8,23 (s, 1H, Ph) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): δ 28,9(CH); 32,9(C); 37,2(CH_2); 43,3(CH_2); 54,7(CH_2); 70,3(CH); 120,9(CH); 122,4(CH); 129,6(CH); 132,1(CH); 148,6(C); 149,0(C) ppm. IR (KBr): 3380(bs), 3090(w), 3072(w), 2899(s), 2845(s), 1525(s), 1445(m), 1349(s), 1314(w), 1199(w), 1160(w), 1103(m), 1066(m), 1014(w), 969(w), 827(w), 802(w), 740(m), 722(m), 698(m), 676(m) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 41(17), 43(5), 53(5), 55(12), 65(5), 67(22), 69(7), 77(21), 78(11), 79(35), 80(5), 81(21), 91(20), 92(11), 93(43), 94(8), 95(6), 105(13), 106(8), 107(28), 121(8), 134(6), 135(Ad, 100), 136(AdH, 14), 149(AdCH_2 , 58), 150(15), 152($\text{M}^+ - \text{AdCH}_2$, 22), 266(17), 283($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$, 14), 301(M^+ , <1).

($\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{NO}_3$) vyp. složení: 71,73 % C; 7,69 % H; 4,65 % N

exp. složení: 71,56 % C; 7,44 % H; 4,83 % N

6.1.5 Redukce nitroalkoholů na aminoalkoholy

Aminoalkoholy **15** a **17** byly připraveny stejným postupem jako aminoketony **9–11**. Aminoalkohol **18** byl připraven níže uvedeným způsobem.

(1-Adamantyl)(3-aminofenyl)methanol (15)

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a) v podobě světle žlutého krystalického prášku ve výtěžku 254 mg (94 %); $t_r = 137\text{--}139\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,11$ (systém b).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1,49–1,66 (m, 12H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,97 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 3,62 (bs, 2H, NH_2); 4,12 (s, 1H, CHOH); 6,60–6,67 (m, 3H, Ph); 7,10 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph) ppm. $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$): δ 1,37–1,63 (m, 12H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,89 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 3,86 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H, CHOH); 4,77 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H, CHOH); 4,85 (s, 2H, NH_2); 6,34–6,41 (m, 2H, Ph); 6,46 (s, 1H, Ph), 6,89 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 28,6(\text{CH})$; 29,9(C); 37,3(CH_2); 38,5(CH_2); 83,2(CH); 114,3(CH); 114,8(CH); 118,7(CH); 128,5(CH); 142,8(C); 145,9(C) ppm. IR (KBr): 3394(m), 2901(s), 2847(m), 2359(w), 1606(m), 1490(w), 1457(m), 1302(w), 1125(w), 1036(m), 885(w), 750(m), 730(m), 700(m), 667(w), 585(w), 418(w) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 41(8), 55(7), 65(5), 67(10), 77(16), 79(24), 81(7), 91(6), 92(5), 93(25), 94(17),

107(13), 120(6), 121(54), 122(M⁺-Ad, 13), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 257(M⁺, 20), 258(4).

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

exp. složení: 79,57 % C; 9,15 % H; 5,72 % N

2-(1-Adamantyl)-1-(3-aminofenyl)ethan-1-ol (17)

Čistý produkt byl získán po promytí hexanem v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 234 mg (82 %); $t_f = 142-145$ °C; $R_f = 0,57$ (systém a).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,50 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H, AdCH^AH^B); 1,59–1,79 (m, 12H, CH₂(Ad)); 1,88 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H, AdCH^AH^B); 2,02 (m, 3H, CH(Ad)); 5,05 (m, 1H, CHOH); 7,52 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 7,70 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 8,13 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, Ph); 8,23 (s, 1H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 28,9(CH); 32,9(C); 37,2(CH₂); 43,3(CH₂); 54,7(CH₂); 70,3(CH); 120,9(CH); 122,4(CH); 129,6(CH); 132,1(CH); 148,6(C); 149,0(C) ppm. IR (KBr): 3380(bs), 3090(w), 3072(w), 2899(s), 2845(s), 1525(s), 1445(m), 1349(s), 1314(w), 1199(w), 1160(w), 1103(m), 1066(m), 1014(w), 969(w), 827(w), 802(w), 740(m), 722(m), 698(m), 676(m) cm⁻¹. GC-EI-MS (m/z , %): 41(7), 67(7), 77(14), 79(9), 93(14), 94(72), 95(7), 107(6), 120(6), 121(20), 122(M⁺-AdCH₂, 100), 123(9), 135(Ad, 7), 253(5), 271(M⁺, 36), 272(7).

(C₁₈H₂₅NO) vyp. složení: 79,66 % C; 9,28 % H; 5,16 % N

exp. složení: 79,73 % C; 9,52 % H; 5,38 % N

(1-Adamantyl)(4-aminofenyl)methanol (18)

Nitroalkohol **13** (300 mg; 1,05 mmol) byl rozpuštěn v 6 cm³ dioxanu. Do vzniklého roztoku bylo přidáno 6 cm³ hexanu (z důvodu lepší rozpustnosti H₂), velký přebytek Ra-Ni a reakční směs byla intenzivně míchána při laboratorní teplotě pod H₂ atmosférou dokud nebyl veškerý výchozí nitroalkohol spotřebován (monitorováno TLC). Po ukončení reakce byl kapalný podíl oddělen od Ra-Ni filtrací, zředěn 15 cm³ H₂O a extrahován 3 × 15 cm³ diethyletheru. Spojené organické podíly byly promyty 2 × 10 cm³ nasyceného roztoku NaCl a sušeny nad Na₂SO₄. Surový produkt byl získán odpařením rozpouštědla na RVO. Čistá titulóvní látka byla získána po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a) v podobě světle žlutého krystalického prášku ve výtěžku 294 mg (98 %); $t_f = 143-146$ °C; $R_f = 0,41$ (systém a).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,48–1,67 (m, 12H, CH₂(Ad)); 1,97 (m, 3H, CH(Ad)); 3,53 (bs, 2H, NH₂); 4,11 (s, 1H, CHOH); 6,64 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, Ph); 7,06 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 28,8(CH); 29,9(C); 37,5(CH₂); 38,5(CH₂); 83,1(CH); 114,5(CH); 128,9(CH); 131,8(C); 145,8(C) ppm. IR (KBr): 3378(m), 2905(s), 2847(m), 1615(m), 1514(m), 1447(w), 1265(m),

1175(w), 1128(w), 1046(m), 844(w), 811(w), 572(m), 535(w), 481(w) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 41(4), 77(9), 79(7), 93(7), 94(12), 120(9), 121(M^+ -AdH,38), 122(M^+ -Ad, 100), 123(8), 135(Ad, 5), 257(M^+ , 4).

($\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}$) vyp. složení: 79,33 % C; 9,01 % H; 5,44 % N
exp. složení: 79,09 % C; 9,23 % H; 5,28 % N

6.1.6 Reakce 1-adamantyl(nitrofenyl)ketonů s ethan-1,2-dithiolem

Níže uvedené látky byly připraveny modifikovaným literárním postupem³²⁹. Příslušný 1-adamantyl(nitrofenyl)keton (0,35 mmol) byl rozpuštěn ve 2 cm^3 dichlormethanu a do vzniklého roztoku byl jednorázově přidán ethan-1,2-dithiol (52 mg; 0,55 mmol). Poté byla směs ochlazena v ledové lázni na 0 °C a při této teplotě míchána 30 minut. Následně bylo do vzniklého roztoku opatrně po kapkách přidáno 110 mg (1,00 mmol) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ a reakční směs míchána při teplotě místnosti dokud TLC neindikovala kompletní spotřebování výchozí látky. Po ukončení reakce byla směs zředěna 20 cm^3 dichlormethanu a promyta 5% roztokem hydroxidu sodného (3 \times 10 cm^3). Organický podíl byl poté promyt nasyceným roztokem chloridu sodného (2 \times 10 cm^3) a sušen nad síranem sodným. Odpařením rozpouštědla na RVO byl získán surový produkt.

2-(1-Adamantyl)-2-(3-nitrofenyl)-1,3-dithiolan (20)

Čistý produkt byl získán krystalizací ze směsi dichlormethan/hexan v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 115 mg (91 %); $t_t = 173\text{--}175$ °C; $R_f = 0,54$ (systém b).

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,57 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,78 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,99 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 2,98 (m, 2H, $\text{SCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 3,29 (m, 2H, $\text{SCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 7,43 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 8,10 (t, $J = 8,6$ Hz, 2H, Ph); 8,69 (s, 1H, Ph) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 29,0(CH); 36,5(CH_2); 38,8(CH_2); 39,8(CH_2); 41,1(C); 86,2(C); 122,0(CH); 125,7(CH); 127,3(CH); 136,9(CH); 146,4(C); 147,3(C) ppm. IR (KBr): 2898(s), 2850(m), 1518(s), 1447(w), 1420(w), 1343(s), 1304(w), 1282(w), 1103(w), 980(w), 840(w), 812(w), 730(m), 686(m), 617(w) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 67(6), 77(5), 79(17), 81(5), 93(15), 107(9), 135(Ad, 100), 136(AdH, 12), 196(7), 210(23), 226(M^+ -Ad, 5), 361(M^+ , 2).

($\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{NO}_2\text{S}_2$) vyp. složení: 63,12 % C; 6,41 % H; 3,87 % N; 17,74 % S
exp. složení: 62,95 % C; 6,64 % H; 3,59 % N; 17,91 % S

2-(1-Adamantyl)-2-(4-nitrofenyl)-1,3-dithiolan (21)

Čistý produkt byl získán krystalizací ze směsi dichlormethan/hexan v podobě bezbarvých jehlic ve výtěžku 115 mg (91 %); $t_t = 185\text{--}189$ °C; $R_f = 0,51$ (systém b).

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,57 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,79 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,99 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 2,98 (m, 2H, $\text{SCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 3,27 (m, 2H, $\text{SCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 7,97 (m, 2H, Ph); 8,10 (m, 2H, Ph) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 29,0(CH); 36,6(CH_2); 38,8(CH_2); 39,9(CH_2); 41,3(C); 86,4(C); 121,6(CH); 132,0(CH); 146,8(C); 151,6(C) ppm. IR (KBr): 2903(s), 2845(m), 1600(m), 1515(s), 1447(w), 1400(w), 1345(s), 1308(w), 1145(w), 1110(m), 1014(w), 979(m), 853(m), 842(m), 809(w), 728(m), 697(m), 638(w), 503(w) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 41(6), 67(7), 77(5), 79(18), 81(5), 91(5), 93(17), 107(10), 135(Ad, 100), 136(AdH, 13), 196(10), 210(8), 315($\text{M}^+ - \text{NO}_2$, 5), 361(M^+ , 3).

($\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{NO}_2\text{S}_2$) vyp. složení: 63,12 % C; 6,41 % H; 3,87 % N; 17,74 % S
exp. složení: 63,41 % C; 6,51 % H; 4,12 % N; 17,45 % S

2-(1-Adamantylmethyl)-2-(3-nitrofenyl)-1,3-dithiolan (22)

Čistý produkt byl získán krystalizací ze směsi dichlormethan/hexan v podobě světle žlutých krystalů ve výtěžku 110 mg (84 %); $t_t = 142\text{--}148$ °C; $R_f = 0,51$ (systém c).

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,30 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,51 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,80 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 2,52 (s, 2H, AdCH_2C); 3,06 (m, 2H, $\text{SCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 3,38 (m, 2H, $\text{SCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 7,46 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 8,07 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 8,15 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 8,71 (s, 1H, Ph) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 28,8(CH); 35,5(C); 36,8(CH_2); 38,9(CH_2); 43,6(CH_2); 58,3(CH_2); 72,5(C); 122,2(CH); 123,0(CH); 128,7(CH); 134,1(CH); 148,0(C); 149,1(C) ppm. IR (KBr): 3077(w), 2902(s), 2841(s), 1522(s), 1447(w), 1349(s), 1314(m), 1277(m), 1100(w), 898(w), 805(m), 736(m), 685(m), 588(w) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 41(6), 55(7), 67(8), 79(19), 81(7), 93(18), 107(8), 135(Ad, 34), 149(AdCH_2 , 6), 180(6), 226($\text{M}^+ - \text{AdCH}_2$, 100), 227(11), 228(10), 375(M^+ , 2).

($\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_2\text{S}_2$) vyp. složení: 63,96 % C; 6,71 % H; 3,73 % N; 17,08 % S
exp. složení: 63,98 % C; 6,58 % H; 3,95 % N; 16,82 % S

6.1.7 Redukce nitrodithiolanů na aminodithiolany

V baňce o objemu 250 cm^3 byl rozpuštěn příslušný nitrodithiolan (3,37 mmol) ve 125 cm^3 propan-2-olu. Do vzniklého roztoku bylo opatrně přidáno 20 cm^3 kyseliny chlorovodíkové (1/1, v/v, vodný roztok) a 424 mg (7,59 mmol) práškového železa. Do důrazně míchané a refluxované reakční směsi byly další porce železa (424 mg; 7,59 mmol) přidány v okamžiku spotřebování porce předchozí, a to do chvíle, kdy byla veškerá výchozí látka zreagována (monitorováno TLC). Po ukončení reakce byla směs neutralizována 5% roztokem hydroxidu sodného (120 cm^3) a extrahována $5 \times 15\text{ cm}^3$ diethyletheru. Spojené organické podíly byly promyty $3 \times 15\text{ cm}^3$ nasyceného

roztoku chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Odpařením rozpouštědla na RVO byl získán surový produkt.

2-(1-Adamantyl)-2-(3-aminofenyl)-1,3-dithiolan (23)

Čistá titulní látka byla získána po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, chloroform) v podobě světle oranžových jehlic ve výtěžku 950 mg (85 %); $t_t = 142\text{--}148\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,35$ (systém b).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1,55 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,83 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,96 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 3,02 (m, 2H, $\text{SCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 3,23 (m, 2H, $\text{SCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 3,48 (bs, 2H, NH_2); 6,57 (m, 1H, Ph); 7,04 (t, $J = 7,6\text{ Hz}$, 1H, Ph); 7,17 (m, 2H, Ph) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): δ 29,1(CH); 36,8(CH_2); 38,5(CH_2); 40,0(CH_2); 41,2(C); 87,4(C); 113,8(CH); 118,4(CH); 122,1(CH); 127,3(CH); 144,5(C); 144,6(C) ppm. IR (KBr): 3445(w), 3359(w), 2902(s), 2846(m), 1617(m), 1596(m), 1485(m), 1442(m), 1356(w), 1342(w), 1306(w), 1277(w), 1104(w), 978(w), 867(w), 779(m), 747(m), 701(m), 574(w) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 79(8), 92(5), 93(7), 135(Ad, 10), 136(AdH, 15), 196($\text{M}^+\text{-Ad}$, 100), 197(12), 198(10), 331(M^+ , 11).

($\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{NS}_2$) vyp. složení: 68,83 % C; 7,60 % H; 4,22 % N; 19,34 % S
exp. složení: 68,91 % C; 7,67 % H; 4,13 % N; 19,22 % S

2-(1-Adamantyl)-2-(4-aminofenyl)-1,3-dithiolan (24)

Čistá titulní látka byla získána po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, chloroform) v podobě světle oranžového krystalického prášku ve výtěžku 827 mg (74 %); $t_t = 121\text{--}124\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,31$ (systém b).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1,56$ (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,81 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,96 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 2,99 (m, 2H, $\text{SCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 3,23 (m, 2H, $\text{SCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 3,64 (bs, 2H, NH_2); 6,57 (d, $J = 8,6\text{ Hz}$, 2H, Ph); 7,55 (d, $J = 8,6\text{ Hz}$, 2H, Ph) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 29,1(\text{CH})$; 36,8(CH_2); 38,4(CH_2); 40,0(CH_2); 41,4(C); 87,3(C); 113,2(CH); 131,9(CH); 133,2(C); 145,0(C) ppm. IR (KBr): 3417(w), 2902(s), 2370(m), 2341(m), 1622(m), 1507(m), 1280(w), 1186(w), 977(w), 835(w), 652(w), 531(w) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 79(6), 93(5), 124(5), 136(AdH, 20), 196($\text{M}^+\text{-Ad}$, 100), 197(12), 198(9), 331(M^+ , 1).

($\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{NS}_2$) vyp. složení: 68,83 % C; 7,60 % H; 4,22 % N; 19,34 % S
exp. složení: 68,93 % C; 7,80 % H; 4,89 % N; 19,02 % S

2-(1-Adamantylmethyl)-2-(3-aminofenyl)-1,3-dithiolan (25)

Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, systém b) v podobě světle žlutého krystalického prášku ve výtěžku 1037 mg (87 %); $t_t = 115\text{--}120\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,29$ (systém b).

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,35 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,54 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,80 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 2,44 (s, 2H, AdCH_2C); 3,10 (m, 2H, $\text{SCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 3,32 (m, 2H, $\text{SCH}^{\text{A}}\text{H}^{\text{B}}$); 3,50 (bs, 2H, NH_2); 6,54 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,05 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,18 (m, 2H, Ph) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 28,9(CH); 35,4(C); 37,0(CH_2); 38,6(CH_2); 43,3(CH_2); 58,4(CH_2); 73,8(C); 114,0(CH); 115,1(CH); 118,9(CH); 128,7(CH); 145,6(C); 147,0(C) ppm. IR (KBr): 3420(w), 3343(w), 2896(s), 2844(s), 1615(m), 1598(m), 1481(m), 1489(m), 1447(m), 1416(w), 1363(w), 1346(w), 1313(m), 1274(w), 1102(w), 994(w), 873(w), 781(m), 694(m) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 41(6), 55(5), 60(5), 67(8), 77(7), 79(16), 81(5), 91(9), 92(10), 93(15), 107(7), 120(14), 135(Ad, 27), 136(AdH, 12), 196($\text{M}^+ - \text{AdCH}_2$, 100), 197(12), 198(9), 345(M^+ , 5).

($\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NS}_2$) vyp. složení: 69,51 % C; 7,88 % H; 4,05 % N; 18,56 % S
exp. složení: 69,64 % C; 8,15 % H; 4,27 % N; 18,33 % S

6.1.8 Příprava 1-adamantylanilinů s nepolárním alifatickým řetězcem

Příslušný aminodithiolan (2,37 mmol) byl rozpuštěn v 10 cm^3 dioxanu a do vzniklého roztoku byl přidán Ra-Ni ve velkém nadbytku. Reakční směs byla intenzivně míchána a refluxována pod ochrannou argonovou atmosférou. Reakční směs byla každé 2 hodiny analyzována pomocí GC-MS a v případě nevýznamného posunu reakce směrem k požadovanému produktu byla přidána další dávka Ra-Ni. Po ukončení reakce byl kapalný podíl oddělen od Ra-Ni filtrací, zředěn 15 cm^3 H_2O a extrahován 3 \times 15 cm^3 diethyletheru. Spojené organické podíly byly promyty 2 \times 10 cm^3 nasyceného roztoku NaCl a sušeny nad síranem sodným. Po odpaření rozpouštědla na RVO byla surová směs čištěna sloupcovou chromatografií (silikagel, systém b). Čistý produkt byl získán v podobě oleje, jenž byl následně rozpuštěn v organickém rozpouštědle a převeden na hydrochlorid probubláváním roztoku suchým chlorovodíkem.

3-(1-Adamantylmethyl)anilinium-chlorid (26)

Titulní látka byla získána po rozpuštění chromatograficky čistého produktu v hexanu a jeho převedení na hydrochlorid v podobě bezbarvého mikrokrytalického prášku ve výtěžku 494 mg (75 %); $t_f = 182\text{--}187$ °C; $R_f(\text{volná báze}) = 0,42$ (systém b).

^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$): δ 1,44 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,50–1,66 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,91 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 2,38 (s, 2H, AdCH_2Ph); 7,07–7,11 (m, 2H, Ph); 7,20 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 7,37 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 10,14 (bs, 3H, NH_3^+) ppm. ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$): δ 27,9(CH); 32,9(C); 36,4(CH_2); 41,6(CH_2); 49,8(CH_2); 120,3(CH); 124,4(CH); 128,7(CH); 129,6(CH); 131,8(C); 139,4(C) ppm. IR (KBr): 3422(w), 2901(s), 2846(s), 2604(m), 1602(w), 1578(w), 1487(m), 1451(m), 1345(w), 1312(w), 1105(w), 795(m), 742(w), 716(w),

694(m), 512(w) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 41(6), 67(8), 77(8), 79(19), 91(5), 93(16), 106(11), 107(13), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 241(M^+ , 35), 242(7).

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

exp. složení: 73,62 % C; 8,51 % H; 5,24 % N

4-(1-Adamantylmethyl)anilinium-chlorid (27)

Titulní látka byla získána po rozpuštění chromatograficky čistého produktu ve směsi hexan/diethylether a jeho převedení na hydrochlorid v podobě bezbarvého mikrokrytalického prášku ve výtěžku 579 mg (88 %); $t_t = 178\text{--}188$ °C; R_f (volná báze) = 0,28 (systém b).

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 1,43 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,57 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,90 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 2,38 (s, 2H, AdCH_2Ph); 7,19 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H, Ph); 7,31 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H, Ph); 10,43 (bs, 3H, NH_3^+) ppm. ^{13}C NMR (DMSO- d_6): δ 27,9(CH); 32,9(C); 36,4(CH_2); 41,6(CH_2); 49,5(CH_2); 122,5(CH); 129,4(C); 131,3(CH); 137,7(C) ppm. IR (KBr): 2902(s), 2848(s), 1613(w), 1573(w), 1509(m), 1450(w), 1314(w), 1205(w), 817(w), 601(m), 526(w), 485(m) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 41(6), 55(5), 67(7), 77(12), 79(23), 81(5), 91(6), 93(18), 106(M^+ -Ad, 100), 107(20), 135(Ad, 69), 136(AdH, 8), 241(M^+ , 35), 242(7).

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

exp. složení: 73,22 % C; 8,53 % H; 4,81 % N

3-[2-(1-Adamantyl)ethyl]anilinium-chlorid (28)

Titulní látka byla získána po rozpuštění chromatograficky čistého produktu v hexanu a jeho převedení na hydrochlorid v podobě bezbarvého mikrokrytalického prášku ve výtěžku 443 mg (64 %); $t_t = 142\text{--}152$ °C; R_f (volná báze) = 0,25 (systém b).

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 1,30 (m, 2H, $\text{AdCH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 1,52 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,65 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,94 (s, 3H, $\text{Ad}(\text{CH})$); 2,55 (m, 2H, $\text{AdCH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$); 7,20 (m, 3H, Ph); 7,37 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 10,32 (bs, 2H, NH_3^+) ppm. ^{13}C NMR (DMSO- d_6): δ 28,1(CH); 28,2(CH_2); 32,0(CH); 36,6(CH_2); 41,7(CH_2); 46,0(CH_2); 120,3(CH); 122,7(CH); 127,8(CH); 129,5(CH); 131,8(C); 145,1(C) ppm. IR (KBr): 3429(w), 2901(s), 2845(s), 2676(w), 2605(m), 2362(w), 1964(w), 1598(m), 1576(w), 1518(w), 1490(m), 1451(m), 1359(w), 1314(w), 1243(w), 1101(w), 1046(w), 790(w), 691(m), 524(w), 437(w) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 41(15), 53(7), 55(11), 67(15), 77(23), 78(6), 79(42), 80(5), 91(16), 93(34), 94(7), 105(5), 106(M^+ - AdCH_2 , 46), 107(67), 119(22), 120(M^+ -Ad, 49), 121(7), 135(Ad, 59), 136(AdH, 7), 149(AdCH_2 , 8), 255(M^+ , 100), 256(21).

($\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{ClN}$) vyp. složení: 74,07 % C; 8,98 % H; 4,80 % N

exp. složení: 73,86 % C; 9,17 % H; 4,63 % N

6.2 Příprava 1-adamantylbenzylaminů

6.2.1 Radikálová bromace 1-adamantyl(methylfenyl)ketonů

(1-Adamantyl)[3-(brommethyl)fenyl]methanon (33)

1-Adamantyl(methylfenyl)keton **29** (2,9 g; 11,4 mmol) byl rozpuštěn ve 24 cm³ bezvodého tetrachlormethanu. Do vzniklého roztoku byl přidán *N*-bromsukcinimid (2,1 g; 11,6 mmol), přičemž reakce byla iniciována přidáním katalytického množství dibenzoylperoxidu a ozářením wolframovou lampou. Směs byla refluxována pod chlorkalciovým uzávěrem a průběh reakce byl monitorován pomocí TLC. Po spotřebování veškeré výchozí látky byl sukcinimid odfiltrován a získaný filtrát odpařen do sucha na RVO. Získaný bezbarvý olej byl bez jakéhokoliv čištění použit pro následnou reakci. Výtěžek 3,04 g (80 %); $t_r = < 25$ °C; $R_f = 0,42$ (systém d).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,76 (m, 6H, CH₂(Ad)); 2,01 (m, 6H, CH₂(Ad)); 2,09 (m, 3H, CH(Ad)); 4,50 (s, 2H, PhCH₂Br); 7,34–7,50 (m, 3H, Ph); 7,54 (s, 1H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 28,3(CH); 33,0(CH₂); 36,7(CH₂); 39,3(CH₂); 47,2(C); 127,1(CH); 127,9(CH); 128,6(CH); 130,8(CH); 137,9(C); 140,4(C); 209,8(CO) ppm. IR (KBr): 2905(s), 2850(s), 2678(w), 2657(w), 1664(s), 1598(w), 1452(m), 1344(w), 1276(m), 1214(m), 1194(w), 1175(m), 1104(w), 1004(m), 802(w), 763(w), 733(w), 695(m), 625(w), 568(w) cm⁻¹. GC-EI-MS (m/z , %): 41(8), 55(6), 67(8), 77(7), 79(22), 81(6), 89(7), 90(10), 91(10), 93(18), 107(10), 118(5), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 332(M⁺(⁷⁹Br), <1), 334(M⁺(⁸¹Br), <1).

(C₁₈H₂₁BrO) vyp. složení: 64,87 % C; 6,35 % H

exp. složení: 64,78 % C; 6,21 % H

2-(1-Adamantyl)-1-[3-(brommethyl)fenyl]ethan-1-on (35)

Titulní látka byla získána analogickým postupem jako předchozí keton **33** z výchozích navážek 2,5 g (9,3 mmol) ketonu **31**, 20 cm³ bezvodého CCl₄, 1,70 g (9,6 mmol) NBS. Získaný bezbarvý olej byl bez jakéhokoliv čištění použit pro následnou reakci. Výtěžek 2,6 g (82 %); $t_r = < 25$ °C; $R_f = 0,39$ (systém d).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,65 (m, 12H, CH₂(Ad)); 1,94 (m, 3H, CH(Ad)); 2,71 (s, 2H, AdCH₂COPh); 4,52 (s, 2H, PhCH₂Br); 7,42 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,56 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,86 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,95 (s, 1H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 28,8(CH); 32,8(CH₂); 34,1(C); 36,9(CH₂); 43,1(CH₂); 51,4(CH₂); 128,5(CH); 128,9(CH); 129,1(CH); 133,3(CH); 138,4(C); 139,4(C); 199,6(CO) ppm. IR (KBr): 2901(s), 2846(s), 1673(s), 1600(w), 1449(m), 1312(w), 1168(w), 1216(w), 1143(w), 1094(w), 807(w), 762(w), 692(s) cm⁻¹. GC-EI-MS (m/z , %): 41(12), 55(7), 65(5), 67(9), 77(11), 79(21), 81(6), 89(14),

90(31), 91(26), 92(9), 93(16), 105(7), 107(8), 118(21), 119(26), 133(8), 135(Ad, 40), 136(AdH, 5), 196(M_A⁺-AdCH₂, 19), 198(M_B⁺-AdCH₂, 20), 253(11), 267(M_A⁺-Br, 100), 268(21), 346(M_A⁺(⁷⁹Br), 3), 348(M_B⁺(⁸¹Br), 3).

(C₁₉H₂₃BrO) vyp. složení: 65,71 % C; 6,68 % H

exp. složení: 65,59 % C; 6,65 % H

6.2.2 S_N2 azidace 1-adamantyl(brommethylfenyl)ketonů

(1-Adamantyl)[3-(azidomethyl)fenyl]methanon (37)

Bromderivát **33** (905 mg; 2,72 mmol) byl rozpuštěn v 10 cm³ bezvodého acetonu. Do vzniklého roztoku bylo jednorázově přidáno 1,77 g (27,2 mmol) azidu sodného a vzniklá suspenze byla refluxována pod ochrannou argonovou atmosférou do okamžiku spotřebování veškeré výchozí látky (monitorováno TLC). Po ukončení reakce byla směs zředěna vodou (rozpuštěn nezreagovaný NaN₃), vodná fáze byla extrahována 5 × 10 cm³ diethyletheru a spojené organické podíly sušeny nad síranem sodným. Odpařením rozpouštědla na RVO byl získán surový produkt v podobě bezbarvého oleje (798 mg; 99 %). Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, systém d) v podobě bezbarvého oleje ve výtěžku 587 mg (73 %); *t*_t = < 25 °C; R_f = 0,38 (systém d).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,76 (m, 6H, CH₂(Ad)); 2,01 (m, 6H, CH₂(Ad)); 2,09 (m, 3H, CH(Ad)); 4,39 (s, 2H, PhCH₂N₃); 7,41–7,51 (m, 4H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 28,3(CH); 36,7(CH₂); 39,3(CH₂); 47,2(C); 54,7(CH₂); 126,9(CH); 127,0(CH); 128,7(CH); 129,8(CH); 135,7(C); 140,6(C); 205,2(CO) ppm. IR (KBr): 2905(s), 2851(s), 2678(w), 2659(w), 2098(s), 1672(s), 1601(w), 1584(w), 1452(m), 1344(m), 1273(m), 1245(m), 1194(w), 1172(m), 1104(w), 999(m), 972(w), 935(w), 887(w), 803(w), 782(w), 732(w), 650(w) cm⁻¹.

(C₁₈H₂₁N₃O) vyp. složení: 73,19 % C; 7,17 % H; 14,23 % N

exp. složení: 73,08 % C; 7,32 % H; 14,17 % N

2-(1-Adamantyl)-1-[3-(azidomethyl)fenyl]ethan-1-on (39)

Titulní látka byla získána analogickým postupem jako předchozí azidoketon **37** z výchozích navážek 1,72 g (4,95 mmol) bromderivátu **35**, 10 cm³ bezvodého acetonu, 3,22 g (49,5 mmol) azidu sodného. Surový produkt byl získán v podobě bezbarvého oleje ve výtěžku 1,48 g (97 %). Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, systém d) a následně krystalizací z hexanu v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 1,12 g (73 %); *t*_t = 60–62 °C; R_f = 0,34 (systém d).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,66 (m, 12H, CH₂(Ad)); 1,94 (m, 3H, CH(Ad)); 2,72 (s, 2H, AdCH₂COPh); 4,42 (s, 2H, PhCH₂N₃); 7,44–7,52 (m, 2H, Ph); 7,89–

7,92 (m, 2H, Ph) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 28,9(CH); 34,1(C); 37,0(CH_2); 43,1(CH_2); 51,5(CH_2); 54,6(CH_2); 128,0(CH); 128,5(CH); 129,2(CH); 132,4(CH); 136,1(C); 139,6(C); 199,9(CO) ppm. IR (KBr): 2905(s), 2847(s), 2099(s), 1673(s), 1602(w), 1449(m), 1344(w), 1311(w), 1266(m), 1189(w), 1148(w), 1095(w), 979(w), 925(w), 806(w), 757(w), 723(w), 695(m), 695(w), 649(w), 610(w) cm^{-1} .

($\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}$) vyp. složení: 73,76 % C; 7,49 % H; 13,58 % N

exp. složení: 73,65 % C; 7,23 % H; 13,78 % N

6.2.3 Redukce 1-adamantyl(azidomethylfenyl)ketonů na odpovídající aminy

(1-Adamantyl)[3-(aminomethyl)fenyl]methanon (41)

Azidoketon **37** (555 mg; 1,88 mmol) byl rozpuštěn ve 21 cm^3 předem připravené methanolické HCl (1–2M). Do vzniklého roztoku bylo přidáno 203 mg (3,64 mmol) práškového železa. Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě, přičemž další dávky železa (203 mg; 3,64 mmol) byly přidávány dokud nebyl spotřebován veškerý výchozí azidoketon (sledováno pomocí TLC). Po ukončení reakce bylo rozpouštědlo odpařeno na RVO a tmavě hnědý olejovitý odparek byl neutralizován 7% rozrokem hydroxidu sodného (30 cm^3). Vzniklá vodná vrstva byla extrahována 5 \times 10 cm^3 diethyletheru, spojené organické podíly promyty 3 \times 10 cm^3 nasyceného roztoku NaCl a vysušeny nad Na_2SO_4 . Surový produkt získaný po odpaření rozpouštědla na RVO měl podobu bezbarvého oleje (220 mg; 44 %). Po přečistění sloupcovou chromatografií (silikagel, chloroform/methanol, 5/1, v/v) byl získán čistý produkt v podobě bezbarvého oleje ve výtěžku 135 mg (27 %); $t_t = < 25^\circ\text{C}$; R_f (volná báze) = 0,25 (systém a).

GC-EI-MS (m/z , %): 41(5), 67(8), 77(11), 79(19), 91(5), 93(18), 106(10), 107(12), 134(14), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 241($\text{M}^+ - \text{CO}$, 22), 252(7), 269(M^+ , 2).

2-(1-Adamantyl)-1-[3-(aminomethyl)fenyl]ethan-1-on (43)

Titulní látka byla získána analogickým postupem jako předchozí aminoketon **41** z výchozích navážek 1,12 g (3,62 mmol) azidoketonu **39**, 40 cm^3 methanolické HCl, 391 mg (7,00 mmol) práškového železa. Po přečištění surové směsi sloupcovou chromatografií (silikagel, chloroform/methanol, 5/1, v/v) byl požadovaný produkt získán v podobě bezbarvého oleje ve výtěžku 935 mg (91 %); $t_t = < 25^\circ\text{C}$; $R_f = 0,27$ (systém a).

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,66 (m, 12H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,81 (s, 2H, NH_2); 1,94 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 2,72 (s, 2H, AdCH_2COPh); 3,94 (s, 2H, PhCH_2NH_2); 7,41 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,51 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,81 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph);

7,90 (s, 1H, Ph) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 28,9(CH); 34,2(C); 37,0(CH_2); 43,2(CH_2); 51,5(CH_2); 127,0(CH); 127,3(CH); 128,8(CH); 131,7(CH); 139,4(C); 200,5(CO) ppm. IR (KBr): 3340(w), 2901(s), 2847(m), 1671(s), 1600(w), 1451(m), 1317(m), 1267(m), 1190(w), 1148(w), 807(w), 757(w), 695(m), 469(m) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 41(6), 55(5), 67(6), 77(21), 79(19), 91(10), 93(11), 104(8), 105(11), 106(22), 107(7), 118(19), 119(5), 134(M^+ -Ad CH_2 , 100), 135(Ad, 27), 253(14), 266(67), 267(14), 283(M^+ , 1).

($\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{NO}$) vyp. složení: 80,52 % C; 8,89 % H; 4,94 % N

exp. složení: 80,61 % C; 8,57 % H; 4,86 % N

6.2.4 Acetylace (1-adamantyl)[3-(aminomethyl)fenyl]methanonu

N-({3-[(1-Adamantyl)karbonyl]fenyl)methyl}acetamid (45)

Benzylamin **41** (441 mg; 1,64 mmol) byl rozpuštěn ve 4,4 cm^3 pyridinu a do vzniklého roztoku bylo přidáno 0,44 cm^3 acetanhydridu. Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě pod chlorkalciovým uzávěrem. Po úplném spotřebování výchozího aminu (monitorováno TLC) byla směs nalita na ledovou tříšť (pozorován vznik mléčné sraženiny). Poté byla vodná vrstva extrahována 6 \times 10 cm^3 směsi diethylether/hexan (3/1, v/v). Spojené organické podíly byly promyty 2 \times 10 cm^3 NaHCO_3 (10% vodný roztok), 2 \times 5 cm^3 nasyceného roztoku NaCl a přes noc byly sušeny nad síranem sodným. Po odpaření rozpouštědla na RVO byl získaný surový produkt rozpuštěn v diethyletheru a promyt HCl (5% vodný roztok), čímž byly odstraněny zbytky pyridinu. Po opětovném vysušení nad Na_2SO_4 a odpaření rozpouštědla ve vakuu, byl získaný surový produkt přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 424 mg (83 %); $t_r = 105\text{--}110$ °C; $R_f = 0,31$ (systém a).

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,74 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,98–2,07 (m, 12H, $\text{CH}_2(\text{Ad})+\text{CH}(\text{Ad})+\text{NHCOCH}_3$); 4,42 (d, $J = 5,6$ Hz, 2H, PhCH_2NH); 6,10 (bs, 1H, NHCOCH_3); 7,34–7,43 (m, 4H, Ph) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 23,4(CH_3); 28,3(CH); 36,7(CH_2); 39,3(CH_2); 43,6(CH_2); 47,1(C); 126,1(CH); 126,5(CH); 128,4(CH); 129,7(CH); 138,6(C); 140,3(C); 170,2(PhNHCO); 210,4(AdCOPh) ppm. IR (KBr): 3250(s), 3074(s), 2905(s), 2851(s), 2678(w), 2658(w), 1679(s), 1642(s), 1563(s), 1440(m), 1373(m), 1349(w), 1299(m), 1274(m), 1249(m), 1193(w), 1172(w), 1101(w), 1032(m), 996(m), 896(w), 790(m), 733(w), 705(m), 689(w), 640(w), 496(w) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 43(5), 67(6), 77(5), 79(14), 93(13), 106(5), 107(9), 135(Ad, 100), 136(AdH, 9), 178(5), 311(M^+ , 9).

($\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_2$) vyp. složení: 77,14 % C; 8,09 % H; 4,50 % N

exp. složení: 76,95 % C; 8,24 % H; 4,62 % N

6.3 Syntéza 2,6,9-trisubstituovaných purinů

6.3.1 Alkylace 2,6-dichlor-9H-purinu

Postup A:

Žádaný 2,6-dichlor-9-isopropyl-9H-purin (**47a**) byl připraven mírně modifikovaným literárním postupem³³⁰. V 500 cm³ baňce bylo rozpuštěno 5,0 g (26,5 mmol) 2,6-dichlor-9H-purinu (**46**) ve 175 cm³ DMF a do vzniklého žlutého roztoku bylo přidáno 11,0 g (79,5 mmol) bezvodého K₂CO₃. Do reakční směsi míchané při laboratorní teplotě bylo během 10 hodin postupně v pěti dávkách přidáno 15 cm³ (150,0 mmol) 2-jodpropanu. Po přidání poslední dávky alkylačního činidla byla směs míchána při teplotě místnosti dalších 24 hodin. Po ukončení reakce byla reakční směs nalita na ledovou tříšť, po jejímž rozpuštění byla vodná vrstva extrahována diethyletherem (5 × 15 cm³). Spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl (2 × 10 cm³) a sušeny nad síranem sodným. Surová směs obsahující N7 a N9 alkylované deriváty byla překrytalizována ze směsi ethyl-acetát/hexan. Obsahovaly-li podíly získané krystalizací zbytky nečistot, byly přečištěny sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a).

Postup B:

Sloučenina **47a** byla připravena mírně modifikovaným literárním postupem¹⁴⁰. Purin **46** (4,5 g; 23,8 mmol) byl rozpuštěn v 50 cm³ DMSO. Po ochlazení vzniklého roztoku na teplotu 15 °C bylo přidáno 9,9 g (71,4 mmol) K₂CO₃ a 11,9 cm³ (119,0 mmol) 2-jodpropanu v uvedeném pořadí. Poté byla reakční směs důkladně míchána při teplotě 15–18 °C po dobu 8 h. Následně byla směs zředěna vodou (cca 50 cm³) a extrahována diethyletherem (7 × 15 cm³). Spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl (2 × 10 cm³) a sušeny nad síranem sodným. Surová směs obsahující N7 a N9 alkylované deriváty byla překrytalizována ze směsi ethyl-acetát/hexan. Obsahovaly-li podíly získané krystalizací zbytky nečistot, byly přečištěny sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a).

2,6-Dichlor-9-isopropyl-9H-purin (47a)

Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvých jehliček ve výtěžcích 2,20 g (40 %, **Postup A**) a 3,30 g (60 %, **Postup B**); $t_t = 147\text{--}150\text{ }^\circ\text{C}$ (lit.³³⁰ 148–150 °C); $R_f = 0,36$ (systém a).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,65 (d, $J = 6,9$ Hz, 7H, CH(CH₃)₂); 4,91 (septet, $J = 6,9$ Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 8,17 (s, 1H, NC⁸HN) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,7(CH₃); 48,6(CH); 131,3(C); 143,7(CH); 152,0(C); 152,9(C); 153,0(C) ppm. IR (KBr): 3119(w), 2988(w), 1783(w), 1588(s), 1556(s), 1487(m), 1463(m), 1359(s), 1318(m), 1275(m), 1245(s), 1217(s), 1187(m), 1158(s),

1139(m), 1108(w), 959(m), 878(s), 778(m), 682(w), 645(m), 628(m), 596(m) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 41(39), 42(8), 43(31), 64(6), 92(12), 153(39), 155(12), 161(6), 188(100), 189(12), 190(64), 191(7), 192(11), 195(20), 197(7), 215(9), 217(6), 230($\text{M}_A^+(\text{}^{35}\text{Cl}_2)$, 34), 231(14), 232($\text{M}_B^+(\text{}^{35}\text{Cl}+\text{}^{37}\text{Cl})$, 22), 233(7), 234($\text{M}_C^+(\text{}^{37}\text{Cl}_2)$, 4).

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

exp. složení: 41,83 % C; 3,35 % H; 23,95 % N

2,6-Dichlor-7-isopropyl-7H-purin (47b)

Chromatograficky čistá titulní látka byla získána v podobě nažloutlého krystalického prášku; $t_t = 152\text{--}154\text{ }^\circ\text{C}$ (lit.³³¹ 151–153 $^\circ\text{C}$); $R_f = 0,28$ (systém a).

GC-EI-MS (m/z , %): 40(6), 41(73), 42(15), 43(100), 53(7), 64(8), 65(6), 85(6), 86(5), 91(7), 92(8), 99(7), 100(6), 101(5), 118(7), 126(8), 127(6), 134(6), 153(73), 154(7), 155(24), 179(16), 181(5), 188(49), 189(20), 190(31), 191(12), 192(6), 215(59), 216(6), 217(36), 230($\text{M}_A^+(\text{}^{35}\text{Cl}_2)$, 67), 231(7), 232($\text{M}_B^+(\text{}^{35}\text{Cl}+\text{}^{37}\text{Cl})$, 42), 233(5), 234($\text{M}_C^+(\text{}^{37}\text{Cl}_2)$, 8).

6.3.2 $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ 2,6-dichlor-9-isopropyl-9H-purinu na C6

Obecná metoda přípravy 6-,amino“-2-chlor-9-isopropyl-9H-purinu³³².

2,6-Dichlor-9-isopropyl-9H-purin (47a) byl rozpuštěn ve směsi DMF (2 cm^3 na 0,43 mmol 2,6-dichlor-9-isopropyl-9H-purinu), triethylaminu (1,1 molární přebytek u volných bází; 2,0 molární přebytek v případě hydrochloridů) a příslušného aminu (1,05 molární přebytek). Vzniklý roztok byl míchán při teplotě 80–100 $^\circ\text{C}$ pod chlorkalciovým uzávěrem dokud TLC neindikovala spotřebování veškerého výchozího 2,6-dichlor-9-isopropyl-9H-purinu. Po ukončení reakce byla reakční směs zředěna vodou (pozorována tvorba jemné sraženiny) a vodná vrstva extrahována 4 \times 10 cm^3 diethyletheru. Spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl (2 \times 10 cm^3) a sušeny nad síranem sodným. Surový produkt získaný odpařením rozpouštědla ve vakuu byl přečištěn sloupcovou chromatografií nebo krystalizací.

2-Chlor-9-isopropyl- N-methyl-9H-purin-6-amin (48)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 210 mg (0,91 mmol) purinu 47a, 65 mg (0,96 mmol) methylamonium-chloridu, 4 cm^3 DMF a 184 mg (1,82 mmol) Et_3N . Surový produkt (172 mg; 88 %) byl přečištěn krystalizací ze směsi ethyl-acetát/hexan. Čistá titulní látka byla získána v podobě jemných bezbarvých jehliček ve výtěžku 142 mg (72 %); $t_t = 168\text{--}170\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,24$ (systém a).

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,57 (d, $J = 5,9\text{ Hz}$, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 3,19 (s, 3H, C^6NHCH_3); 4,81 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 6,38 (s, 1H, C^6NHCH_3); 7,79 (s, 1H,

NC⁸HN) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,9(CH₃); 27,9(CH₃); 47,1(CH); 119,0(C); 137,5(CH); 149,8(C); 154,6(C); 156,2(C) ppm. IR (KBr): 3273(m), 2979(w), 2932(w), 1629(s), 1568(w), 1542(w), 1475(w), 1391(w), 1311(s), 1291(m), 1226(s), 1204(m), 1163(w), 1074(w), 979(m), 930(m), 885(w), 788(w), 658(m), 638(m), 601(w) cm⁻¹. GC-EI-MS (*m/z*, %): 40(5), 41(29), 42(19), 43(18), 53(13), 54(8), 65(6), 66(12), 67(15), 68(8), 79(8), 80(7), 91(5), 92(15), 93(9), 94(9), 106(9), 119(68), 120(11), 121(9), 133(8), 146(19), 147(11), 148(35), 153(5), 154(84), 155(54), 156(30), 157(16), 161(16), 182(M_A⁺-CH(CH₃)₂, 29), 183(96), 184(M_B⁺-CH(CH₃)₂, 18), 185(31), 197(14), 210(8), 225(M_A⁺(³⁵Cl), 100), 226(12), 227(M_B⁺(³⁷Cl), 32).

(C₉H₁₂ClN₅) vyp. složení: 47,90 % C; 5,36 % H; 31,03 % N
exp. složení: 47,57 % C; 5,37 % H; 31,09 % N

***N*-Benzyl-2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purin-6-amin (50)**

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 150 mg (0,65 mmol) purinu **47a**, 98 mg (0,68 mmol) benzylamonium-chloridu, 3 cm³ DMF a 132 mg (1,30 mmol) Et₃N. Surový produkt (165 mg; 84 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 136 mg (69 %); *t*_t = 175–177 °C (lit.³³³ 181–182 °C); *R*_f = 0,34 (systém a).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,56 (d, *J* = 6,3 Hz, 6H, CH(CH₃)₂); 4,85 (m, 3H, C⁶NHCH₂Ph+CH(CH₃)₂); 6,85 (bs, 1H, C⁶NHCH₂Ph); 7,37 (m, 5H, Ph); 7,53 (s, 1H, NC⁸HN) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,9(CH₃); 47,1(CH); 119,0(C); 127,8(CH); 128,1(CH); 128,9(CH); 137,9(CH); 138,4(C); 139,6(C); 155,5(C); 155,4(C) ppm. IR (KBr): 3266(w), 3125(w), 2979(w), 1715(w), 1626(s), 1571(m), 1536(w), 1453(w), 1354(m), 1311(m), 1292(m), 1254(w), 1229(m), 1202(w), 1068(w), 930(w), 724(w), 695(w), 660(w) cm⁻¹. GC-EI-MS (*m/z*, %): 65(22), 77(6), 79(7), 89(6), 91(Bn, 70), 92(11), 106(BnNH, 100), 107(9), 119(20), 153(5), 154(9), 161(5), 222(7), 223(5), 224(6), 258(M_A⁺-CH(CH₃)₂, 36), 259(19), 260(M_B⁺-CH(CH₃)₂, 14), 261(6), 301(M_A⁺(³⁵Cl), 54), 302(11), 303(M_B⁺(³⁷Cl), 18).

(C₁₅H₁₆ClN₅) vyp. složení: 59,70 % C; 5,34 % H; 23,21 % N
exp. složení: 59,68 % C; 5,45 % H; 22,88 % N

(1-Adamantyl){3-[(2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purin-6-yl)amino]fenyl} methanon (51)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 100 mg (0,43 mmol) purinu **47a**, 115 mg (0,45 mmol) aminoketonu **9**, 2 cm³ DMF a 48 mg (0,47 mmol) Et₃N. Surový produkt (190 mg; 98 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a). Čistá titulní látka byla získána

v podobě bezbarvých jehliček ve výtěžku 115 mg (60 %); $t_t = 85\text{--}93\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,21$ (systém a).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1,62 (d, $J = 6,9$ Hz, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 1,78 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 2,09 (m, 9H, $\text{CH}_2(\text{Ad}) + \text{CH}(\text{Ad})$); 4,88 (septet, $J = 6,6$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 7,29 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,38 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 7,69 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, Ph); 7,89 (s, 1H, Ph); 8,06 (s, 1H, NC^8HN); 8,31 (s, 1H, C^6NHPh) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): δ 23,0(CH_3); 28,4(CH); 36,8(CH_2); 39,3(CH_2); 47,3(C); 47,6(CH); 119,3(CH); 121,9(CH); 123,3(CH); 129,1(CH); 137,7(C); 138,9(CH); 140,3(C); 140,4(C); 150,7(C); 152,4(C); 154,0(C); 209,8(CO) ppm. IR (KBr): 3324(w), 2904(s), 2850(m), 1667(m), 1622(s), 1571(s), 1451(m), 1318(m), 1226(m), 1027(w), 998(w), 943(w), 788(w), 735(w), 665(w) cm^{-1} . DI-EI-MS (m/z , %): 67(7), 79(17), 91(5), 93(18), 107(9), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 243(7), 314($\text{M}_\text{A}^+ - \text{Ad}$, 12), 449($\text{M}_\text{A}^+ (^{35}\text{Cl})$, 27), 450(9), 451($\text{M}_\text{B}^+ (^{37}\text{Cl})$, 10).

($\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{ClN}_5\text{O}$) vyp. složení: 66,73 % C; 6,27 % H; 15,56 % N

exp. složení: 66,83 % C; 6,38 % H; 15,44 % N

(1-Adamantyl){3-[(2-chlor-9-isopropyl-9H-purin-6-yl)amino]fenyl} methanol (52)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 100 mg (0,43 mmol) purinu **47a**, 116 mg (0,45 mmol) aminoalkoholu **15**, 2 cm^3 DMF a 48 mg (0,47 mmol) Et_3N . Surový produkt (183 mg; 94 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 129 mg (67 %); $t_t = 198\text{--}201\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,28$ (systém a).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1,54–1,73 (m, 18H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2 + \text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,98 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 3,09 (s, 1H, CHOH); 4,24 (s, 1H, CHOH); 4,85 (septet, $J = 6,9$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 7,01 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,31 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,59 (s, 1H, Ph); 7,72 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, Ph); 7,85 (s, 1H, NC^8HN); 8,11 (s, 1H, C^6NHPh) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): δ 23,0(CH_3); 28,6(CH); 37,3(CH_2); 37,6(C); 38,5(CH_2); 47,5(CH); 83,0(CH); 119,6(CH); 120,5(CH); 124,0(CH); 128,2(CH); 137,5(C); 138,4(CH); 142,4(C); 150,6(C); 152,5(C); 152,6(C); 154,1(C) ppm. IR (KBr): 3322(w), 2902(s), 2848(m), 1644(s), 1578(s), 1470(m), 1347(m), 1317(m), 1217(m), 1058(w), 1031(m), 944(w), 668(w) cm^{-1} . DI-EI-MS (m/z , %): 67(9), 77(8), 79(21), 91(5), 93(23), 107(12), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 210(5), 238(7), 274(14), 276(5), 315(8), 316($\text{M}_\text{A}^+ - \text{Ad}$, 77), 318($\text{M}_\text{B}^+ - \text{Ad}$, 26), 319(5), 451($\text{M}_\text{A}^+ (^{35}\text{Cl})$, 5), 453($\text{M}_\text{B}^+ (^{37}\text{Cl})$, 2).

($\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{ClN}_5\text{O}$) vyp. složení: 66,43 % C; 6,69 % H; 15,49 % N

exp. složení: 66,38 % C; 6,79 % H; 15,21 % N

***N*-[3-(1-Adamantylmethyl)fenyl]-2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purin-6-amin
(53)**

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 88 mg (0,38 mmol) purinu **47a**, 110 mg (0,40 mmol) aminu **26**, 1,8 cm³ DMF a 77 mg (0,76 mmol) Et₃N. Surový produkt (138 mg; 83 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 95 mg (75 %); *t*_t = 63–68 °C; *R*_f = 0,45 (systém a).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,54–1,67 (m, 18H, CH(CH₃)₂+CH₂(Ad)); 1,96 (m, 3H, CH(Ad)); 2,41 (s, 2H, PhCH₂Ad); 4,86 (septet, *J* = 7,6 Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 6,88 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ph); 7,28 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ph); 7,49 (s, 1H, Ph); 7,67 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, Ph); 8,03 (s, 1H, NC⁸HN); 8,30 (s, 1H, C⁶NHPh) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,9(CH₃); 29,0(CH); 33,8(C); 37,2(CH₂); 42,7(CH₂); 47,8(CH₂); 51,5(CH); 118,2(CH); 123,2(CH); 126,9(CH); 128,3(CH); 136,1(C); 137,3(C); 138,1(C); 139,5(CH); 150,3(C); 152,3(C); 154,6(C) ppm. IR (KBr): 3289(w), 3195(w), 3126(w), 2976(w), 2903(s), 2845(m), 1623(s), 1597(s), 1572(s), 1452(bm), 1345(m), 1316(s), 1224(m), 1199(w), 1161(w), 1029(m), 942(w), 883(w), 788(w), 717(w), 699(w), 666(w), 639(w) cm⁻¹. DI-EI-MS (*m/z*, %): 67(7), 79(16), 81(5), 93(16), 107(9), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 435(M_A⁺(³⁵Cl), 25), 436(9), 437(M_B⁺(³⁷Cl), 9).

(C₂₅H₃₀ClN₅) vyp. složení: 68,87 % C; 6,94 % H; 16,06 % N

exp. složení: 69,17 % C; 6,98 % H; 15,80 % N

**(1-Adamantyl){4-[(2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purin-6-yl)amino]fenyl}
methanon (54)**

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 199 mg (0,86 mmol) purinu **47a**, 230 mg (0,90 mmol) aminoketonu **10**, 4 cm³ DMF a 96 mg (0,95 mmol) Et₃N. Surový produkt (306 mg; 79 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a). Čistá titulní látka byla získána v podobě světle oranžového krystalického prášku ve výtěžku 180 mg (47 %); *t*_t = 67–72 °C; *R*_f = 0,20 (systém a).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,62 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H, CH(CH₃)₂); 1,78 (m, 6H, CH₂(Ad)); 2,08 (m, 9H, CH₂(Ad)+CH(Ad)); 4,88 (septet, *J* = 6,9 Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 7,78 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, Ph); 7,87 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, Ph); 7,91 (s, 1H, NC⁸HN); 8,31 (s, 1H, C⁶NHPh) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,9(CH₃); 28,5(CH); 36,9(CH₂); 39,6(CH₂); 47,2(C); 47,7(CH); 119,1(CH); 129,6(CH); 134,1(C); 139,0(CH); 140,7(C); 150,8(C); 152,1(C); 154,0(C); 207,8(CO) ppm. IR (KBr): 3324(w), 2905(s), 2851(m), 1626(m), 1605(m), 1572(s), 1507(w), 1452(m), 1413(w), 1322(m), 1271(w), 1236(m), 1175(m), 1027(w), 987(w), 846(w), 638(w) cm⁻¹. DI-EI-MS (*m/z*, %): 55(5), 67(7), 77(6), 79(18), 91(6),

93(17), 107(7), 135(Ad, 32), 244(7), 272(11), 314(M_A⁺-Ad, 100), 315(18), 316(M_B⁺-Ad, 33), 317(6), 449(M_A⁺(³⁵Cl), 19), 450(6), 451(M_B⁺(³⁷Cl), 7).

(C₂₅H₂₈ClN₅O) vyp. složení: 66,73 % C; 6,27 % H; 15,56 % N

exp. složení: 67,05 % C; 6,59 % H; 15,80 % N

**(1-Adamantyl){4-[(2-chlor-9-isopropyl-9H-purin-6-yl)amino]fenyl}
methanol (55)**

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 100 mg (0,43 mmol) purinu **47a**, 116 mg (0,45 mmol) aminoalkoholu **18**, 2 cm³ DMF a 48 mg (0,47 mmol) Et₃N. Surový produkt (194 mg; 94 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a). Čistá titulní látka byla získána v podobě světle oranžového krystalického prášku ve výtěžku 92 mg (47 %); *t*_t = 289–293 °C; *R*_f = 0,19 (systém a).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,52–1,66 (m, 18H, CH(CH₃)₂+CH₂(Ad)); 1,99 (m, 3H, CH(Ad)); 4,24 (s, 1H, CHOH); 4,88 (m, CH(CH₃)₂); 7,28–7,31 (d+s, 3H, Ph+rozpouštědlo); 7,74 (m, 2H, Ph+NC⁸HN); 7,88 (s, 1H, C⁶NHPh) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 23,0(CH₃); 28,6(CH); 37,3(CH₂); 38,5(CH₂); 58,5(CH); 82,9(CH); 119,4(CH); 128,7(CH) ppm. IR (KBr): 3349(w), 2905(s), 2847(m), 1635(s), 1579(s), 1511(m), 1463(m), 1345(m), 1320(m), 1219(m), 1029(m), 942(w), 844(w), 787(w), 670(w) cm⁻¹. DI-EI-MS (*m/z*, %): 67(8), 77(12), 79(22), 81(6), 91(6), 93(19), 107(10), 134(5), 135(Ad, 37), 210(12), 238(10), 246(5), 274(40), 275(7), 276(13), 314(6), 315(38), 316(M_A⁺-Ad, 100), 317(30), 318(M_B⁺-Ad, 33), 319(6), 435(5), 451(M_A⁺(³⁵Cl), 11), 453(M_B⁺(³⁷Cl), 4).

(C₂₅H₃₀ClN₅O) vyp. složení: 66,43 % C; 6,69 % H; 15,49 % N

exp. složení: 66,56 % C; 6,55 % H; 15,71 % N

***N*-[4-(1-Adamantylmethyl)fenyl]-2-chlor-9-isopropyl-9H-purin-6-amin
(56)**

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 196 mg (0,85 mmol) purinu **47a**, 250 mg (0,90 mmol) aminu **27**, 4 cm³ DMF a 172 mg (1,70 mmol) Et₃N. Surový produkt (320 mg; 86 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 152 mg (41 %); *t*_t = 180–184 °C; *R*_f = 0,44 (systém a).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,50–1,70 (m, 18H, CH(CH₃)₂+CH₂(Ad)); 1,94 (m, 3H, CH(Ad)); 2,37 (s, 2H, PhCH₂Ad); 4,86 (septet, *J* = 6,9 Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 7,11 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H, Ph); 7,67 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H, Ph); 7,85 (s, 1H, NC⁸HN); 7,89 (s, 1H, C⁶NHPh) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 23,0(CH₃); 29,0(CH); 33,8(C); 37,2(CH₂); 42,6(CH₂); 47,4(CH₂); 50,9(CH); 119,6(CH); 119,8(CH); 131,3(CH); 134,3(C); 136,1(CH); 138,5(CH); 150,4(C); 152,6(C); 154,1(C)

ppm. IR (KBr): 3268(w), 3183(w), 3131(w), 2976(w), 2906(s), 2843(m), 1631(s), 1579(s), 1511(s), 1462(s), 1417(w), 1348(s), 1314(s), 1223(m), 1194(m), 1027(m), 942(m), 848(m), 787(w), 759(w), 659(w), 639(w), 610(w), cm^{-1} . DI-EI-MS (m/z , %): 55(11), 57(15), 67(9), 69(7), 71(8), 79(16), 81(7), 83(5), 85(6), 91(5), 93(18), 97(5), 107(9), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 222(7), 257(11), 300(M_A^+ -Ad, 23), 302(M_B^+ -Ad, 7), 435(M_A^+ (^{35}Cl), 37), 436(11), 437(M_B^+ (^{37}Cl), 13).

($\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{ClN}_5$) vyp. složení: 68,87 % C; 6,94 % H; 16,06 % N

exp. složení: 69,03 % C; 6,91 % H; 15,82 % N

2-(1-Adamantyl)-1-{3-[(2-chlor-9-isopropyl-9H-purin-6-yl)amino]fenyl} ethan-1-ol (57)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 123 mg (0,53 mmol) purinu **47a**, 150 mg (0,55 mmol) aminoalkoholu **17**, 2,5 cm^3 DMF a 58 mg (0,57 mmol) Et_3N . Surový produkt (224 mg; 91 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 121 mg (49 %); $t_t = 210\text{--}215$ °C; $R_f = 0,44$ (systém a).

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,48–1,94 (m, 20H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2 + \text{CH}_2(\text{Ad}) + \text{PhCHCH}_2\text{Ad}$); 2,49 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 2,51 (s, 1H, CHOH); 4,74 (m, 2H, $\text{CHOH} + \text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 7,03 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,20 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,64 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, Ph); 7,75 (s, 1H, Ph); 8,03 (s, 1H, NC^8HN); 8,63 (s, 1H, C^6NHPh) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 22,8(CH_3); 28,8(CH); 32,7(C); 37,3(CH_2); 43,2(CH_2); 47,5(CH); 54,2(CH_2); 70,8(CH); 118,4(CH); 119,1(C); 119,4(CH); 121,6(CH); 129,1(CH); 138,3(CH); 138,4(C); 147,8(C); 150,4(C); 152,4(C); 154,1(C) ppm. IR (KBr): 3319(w), 3241(w), 2899(s), 2846(m), 1642(m), 1573(s), 1500(w), 1467(m), 1424(w), 1347(m), 1324(m), 1289(w), 1222(m), 1200(w), 1037(w), 1001(w), 876(w), 794(m), 636(w) cm^{-1} . DI-EI-MS (m/z , %): 41(19), 43(10), 55(10), 67(16), 77(17), 79(27), 81(10), 91(14), 92(6), 93(27), 105(6), 107(13), 135(Ad, 23), 210(18), 238(21), 244(7), 246(10), 272(6), 274(81), 275(13), 276(27), 288(11), 314(7), 315(8), 316(M_A^+ - AdCH_2 , 100), 317(21), 318(M_B^+ - AdCH_2 , 33), 319(6), 447(M_A^+ - H_2O , 18), 448(8), 449(M_B^+ - H_2O , 10), 463(7), 465(M_A^+ (^{35}Cl), 43), 466(13), 467(M_B^+ (^{37}Cl), 15).

($\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{ClN}_5\text{O}$) vyp. složení: 67,01 % C; 6,92 % H; 15,03 % N

exp. složení: 67,21 % C; 7,19 % H; 14,86 % N

N-{3-[2-(1-Adamantyl)ethyl]fenyl}-2-chlor-9-isopropyl-9H-purin-6-amin (58)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 113 mg (0,49 mmol) purinu **47a**, 150 mg (0,51 mmol) aminu **28**, 2,3 cm^3 DMF

a 99 mg (0,98 mmol) Et₃N. Surový produkt (201 mg; 91 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 100 mg (45 %); $t_t = 55\text{--}60\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,41$ (systém a).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,57–1,72 (m, 20H, CH(CH₃)₂+CH₂(Ad)+PhCH₂CH₂Ad); 1,99 (m, 3H, CH(Ad)); 2,59 (t, $J = 7,9$ Hz, 2H, PhCH₂CH₂Ad); 4,87 (m, 1H, CH(CH₃)₂); 6,97 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H, Ph); 7,30 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H, Ph); 7,56 (s, 1H, Ph); 7,67 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 7,95 (s, 1H, NC⁸HN); 8,19 (s, 1H, C⁶NHPh) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,9(CH₃); 29,0(CH); 29,3(CH₂); 32,7(C); 37,5(CH₂); 42,6(CH₂); 46,8(CH₂); 47,6(CH); 117,8(CH); 119,0(C); 120,6(CH); 124,4(CH); 129,1(CH); 136,1(C); 138,2(C); 138,3(CH); 145,1(C); 150,4(C); 152,4(C); 154,3(C) ppm. IR (KBr): 3284(w), 3200(w), 3118(w), 2977(w), 2902(s), 2845(m), 1622(s), 1594(s), 1572(s), 1453(m), 1345(m), 1316(s), 1290(w), 1224(m), 1200(w), 1161(w), 1029(m), 941(w), 876(w), 788(w), 695(w), 665(w), 640(w) cm⁻¹. DI-EI-MS (m/z , %): 41(17), 43(6), 55(10), 67(22), 77(14), 79(39), 81(14), 91(15), 93(38), 107(19), 135(Ad, 58), 136(AdH, 7), 221(6), 224(5), 236(8), 258(14), 259(21), 260(7), 261(7), 272(23), 274(7), 301(31), 302(6), 303(10), 314(M_A⁺-Ad, 52), 315(11), 316(M_B⁺-Ad, 17), 448(31), 449(M_A⁺(³⁵Cl), 100), 450(39), 451(M_B⁺(³⁷Cl), 37), 452(10).

(C₂₆H₃₂ClN₅) vyp. složení: 69,39 % C; 7,17 % H; 15,56 % N

exp. složení: 69,49 % C; 7,11 % H; 15,87 % N

(1-Adamantyl){3-[(2-chlor-9-isopropyl-9H-purin-6-yl)aminomethyl]fenyl}methanon (59)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 118 mg (0,51 mmol) purinu **47a**, 144 mg (0,54 mmol) aminoketonu **41**, 2,4 cm³ DMF a 57 mg (0,56 mmol) Et₃N. Surový produkt (189 mg; 80 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a). Čistá titulní látka byla získána v podobě nažloutlého krystalického prášku ve výtěžku 170 mg (72 %); $t_t = 194\text{--}197\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,30$ (systém a).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,57–2,05 (m, 21H, CH(CH₃)₂+(CH₂)Ad+CH(Ad)); 4,88 (s+m, 3H, C⁶NHCH₂Ph+CH(CH₃)₂); 6,68 (bs, 1H, C⁶NHCH₂Ph); 7,29–7,69 (m, 5H, Ph+NC⁸HN) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,9(CH₃); 28,3(CH); 36,7(CH₂); 39,3(CH); 47,1(C); 47,2(CH); 119,1(C); 126,5(CH); 126,8(CH); 128,5(CH); 129,7(CH); 138,0(CH); 138,3(C); 140,3(C); 154,4(C); 155,4(C); 163,2(C); 210,1(CO) ppm. IR (KBr): 3261(m), 2977(w), 2904(s), 2852(m), 1665(m), 1618(s), 1573(m), 1536(w), 1475(m), 1454(w), 1347(m), 1310(s), 1273(w), 1247(w), 1227(s), 1201(w), 1171(w), 1101(w), 1063(w), 1049(w), 1008(w), 917(w), 788(w), 710(w), 642(w) cm⁻¹. DI-EI-MS (m/z , %): 67(7),

79(17), 90(5), 91(Bn, 7), 93(19), 107(10), 119(5), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 328(M_A⁺-Ad, 7), 463(M_A⁺(³⁵Cl), 29), 464(9), 465(M_B⁺(³⁷Cl), 11).

(C₂₆H₃₀ClN₅O) vyp. složení: 67,30 % C; 6,52 % H; 15,09 % N

exp. složení: 67,45 % C; 6,27 % H; 15,24 % N

(1-Adamantyl){4-[(2-chlor-9-isopropyl-9H-purin-6-yl)aminomethyl]fenyl}methanon (60)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 123 mg (0,53 mmol) purinu **47a**, 170 mg (0,56 mmol) aminoketonu **42**, 2,5 cm³ DMF a 107 mg (1,06 mmol) Et₃N. Surový produkt (236 mg; 96 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 210 mg (86 %); *t*_t = 166–172 °C; R_f = 0,29 (systém a).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,55 (d, *J* = 6,9 Hz, 6H, CH(CH₃)₂); 1,74 (m, 6H, CH₂(Ad)); 2,00 (m, 6H, CH₂(Ad)); 2,07 (m, 3H, CH(Ad)); 4,76–4,88 (s+m, 3H, C⁶NHCH₂Ph+CH(CH₃)₂); 6,70 (bs, 1H, C⁶NHCH₂Ph); 7,38 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H, Ph); 7,53 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H, Ph); 7,64 (s, 1H, NC⁸HN) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,9(CH₃); 28,3(CH); 29,9(C); 36,7(CH₂); 39,3(CH₂); 47,1(CH); 47,2(CH₂); 119,0(C); 127,5(CH); 127,9(CH); 138,0(CH); 139,0(C); 140,7(C); 150,4(C); 154,4(C); 155,4(C); 209,6(CO) ppm. IR (KBr): 3259(w), 2905(s), 2853(m), 1680(m), 1625(s), 1577(m), 1539(w), 1463(m), 1400(w), 1351(m), 1315(s), 1292(m), 1272(m), 1259(m), 1233(s), 1204(w), 1075(w), 987(w), 976(w), 920(m), 788(w), 664(w), 638(w) cm⁻¹. DI-EI-MS (*m/z*, %): 55(7), 57(7), 67(8), 79(17), 81(6), 89(5), 90(6), 91(Bn, 6), 93(19), 107(10), 118(8), 135(Ad, 100), 136(AdH, 11), 328(M_A⁺-Ad, 9), 463(M_A⁺(³⁵Cl), 30), 464(9), 465(M_B⁺(³⁷Cl), 11).

(C₂₆H₃₀ClN₅O) vyp. složení: 67,30 % C; 6,52 % H; 15,09 % N

exp. složení: 66,92 % C; 6,76 % H; 14,86 % N

2-(1-Adamantyl)-1-{3-[(2-chlor-9-isopropyl-9H-purin-6-yl)aminomethyl]fenyl}ethan-1-on (61)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 185 mg (0,80 mmol) purinu **47a**, 270 mg (0,84 mmol) aminoketonu **43**, 3,7 cm³ DMF a 162 mg (1,60 mmol) Et₃N. Surový produkt (345 mg; 90 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 295 mg (77 %); *t*_t = 166–170 °C; R_f = 0,33 (systém a).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,55–1,61 (m, 18H, CH(CH₃)₂+CH₂(Ad)); 1,91 (m, 3H, CH(Ad)); 2,69 (s, 2H, PhCOCH₂Ad); 4,78–4,91 (s+m, 3H, C⁶NHCH₂Ph+CH(CH₃)₂); 6,67 (bs, 1H, C⁶NHCH₂Ph); 7,41 (m, 1H, Ph); 7,55 (m, 1H, Ph); 7,68 (s, 1H, Ph); 7,85 (d, *J* = 6,3 Hz, 2H, Ph); 7,98 (s, 1H, NC⁸HN) ppm.

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 22,9(CH_3); 28,9(CH); 34,2(C); 36,9(CH_2); 43,2(CH_2); 47,2(CH); 51,5(CH_2); 119,1(C); 127,9(CH); 128,1(CH); 129,0(CH); 132,3(C); 138,0(CH); 138,9(CH); 139,5(C); 154,4(C); 155,3(C); 173,2(C); 200,1(CO) ppm. IR (KBr): 3267(w), 2902(s), 2847(m), 1666(m), 1631(s), 1578(m), 1541(w), 1473(m), 1353(m), 1312(s), 1296(m), 1263(m), 1234(s), 1203(m), 1077(w), 972(w), 936(w), 756(w), 662(m), 639(w) cm^{-1} . DI-EI-MS (m/z , %): 67(15), 77(12), 79(34), 81(7), 89(12), 90(21), 91(Bn, 30), 92(9), 93(34), 104(8), 105(9), 107(14), 118(12), 119(27), 129(5), 133(9), 134(6), 135(Ad, 69), 136(AdH, 8), 143(8), 170(6), 182(10), 195(5), 212(33), 214(11), 222(12), 258(17), 259(7), 260(6), 300(M_A^+ -AdCH₂CO, 27), 301(14), 302(M_A^+ -AdCH₂CO, 11), 303(5), 328(M_A^+ -AdCH₂, 23), 330(M_A^+ -AdCH₂, 8), 342(M_A^+ -Ad, 66), 343(14), 344(M_B^+ -Ad, 24), 345(5), 442(M_A^+ -Cl, 31), 443(10), 476(5), 477(M_A^+ (^{35}Cl), 100), 478(32), 479(M_B^+ (^{37}Cl), 35), 480(10).

($\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{ClN}_5\text{O}$) vyp. složení: 67,84 % C; 6,75 % H; 14,65 % N
exp. složení: 68,12 % C; 6,43 % H; 14,37 % N

2-(1-Adamantyl)-1-{4-[(2-chlor-9-isopropyl-9H-purin-6-yl)aminomethyl]fenyl}ethan-1-on (62)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 150 mg (0,65 mmol) purinu **47a**, 218 mg (0,68 mmol) aminoketonu **44**, 3 cm^3 DMF a 132 mg (1,30 mmol) Et_3N . Surový produkt (280 mg; 90 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 271 mg (87 %); $t_t = 146\text{--}150$ °C; $R_f = 0,31$ (systém a).

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,55 (d, $J = 6,3$ Hz, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 1,64 (m, 12H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,94 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 2,69 (s, 2H, PhCOCH_2Ad); 4,80 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 4,91 (bs, 2H, $\text{C}^6\text{NHCH}_2\text{Ph}$); 6,66 (bs, 1H, $\text{C}^6\text{NHCH}_2\text{Ph}$); 7,43 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H, Ph); 7,67 (s, 1H, NC^8HN), 7,90 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H, Ph) ppm.
 ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 22,9(CH_3); 28,9(CH); 34,2(C); 37,0(CH_2); 43,2(CH_2); 47,2(CH); 51,5(CH_2); 128,0(CH); 129,1(CH); 138,0(CH); 138,4(C); 143,4(C); 154,4(C); 155,3(C); 199,9(CO) ppm. IR (KBr): 3261(w), 2902(s), 2846(m), 1667(m), 1623(s), 1573(m), 1537(w), 1466(m), 1406(m), 1349(m), 1314(s), 1292(m), 1261(m), 1226(s), 1204(m), 1077(w), 1013(w), 977(w), 923(w), 788(w), 664(w) cm^{-1} . DI-EI-MS (m/z , %): 55(6), 67(16), 77(12), 79(32), 81(9), 89(17), 90(21), 91(Bn, 23), 92(8), 93(33), 104(7), 105(12), 107(14), 118(16), 119(16), 133(10), 134(5), 135(Ad, 74), 136(AdH, 9), 154(5), 170(11), 212(55), 213(6), 214(18), 222(8), 225(7), 257(6), 258(21), 259(6), 260(7), 266(20), 282(14), 286(10), 300(M_A^+ -AdCH₂CO, 14), 301(5), 302(M_B^+ -AdCH₂CO, 5), 328(M_A^+ -AdCH₂, 38), 329(7), 330(M_B^+ -AdCH₂, 13), 342(M_A^+ -Ad, 25), 343(6), 344(M_B^+ -Ad, 9), 434(6), 442(7), 463(11), 477(M_A^+ (^{35}Cl), 100), 478(31), 479(M_B^+ (^{37}Cl), 35), 480(10).

(C₂₇H₃₂ClN₅O) vyp. složení: 67,84 % C; 6,75 % H; 14,65 % N
exp. složení: 68,06 % C; 6,79 % H; 14,78 % N

6.3.3 S_NAr 6-, „amino“-2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purinů na C2

Obecná metoda přípravy 2,6-, „diamino“-9-isopropyl-9*H*-purinů³³⁴.

K příslušnému 6-, „amino“-2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purinu byl přidán 3-aminopropan-1-ol v 8,0 molárním přebytku. Vzniklá směs byla důrazně míchána při teplotě 160 °C pod ochrannou argonovou atmosférou. Po spotřebování veškerého výchozího purinu (monitorováno pomocí TLC, systém e) byla reakce ukončena. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakční směs zředěna cca 20 cm³ chloroformu, který byl (za účelem odstranění nezreagovaného přebytku 3-aminopropan-1-olu ze surové směsi) několikrát promyt destilovanou vodou. Organická fáze byla na závěr promyta 5 cm³ nasyceného roztoku NaCl a sušena nad síranem sodným. Odpařením rozpouštědla ve vakuu byl získán surový produkt, který byl následně dočištěn pomocí sloupcové chromatografie.

3-{[9-Isopropyl-6-(methylamino)-9*H*-purin-2-yl]amino}propan-1-ol (63)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 75 mg (0,33 mmol) purinu **48** a 206 mg (2,64 mmol) 3-aminopropan-1-olu. Surový produkt (80 mg; 92 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém e). Čistá titulní látka byla získána v podobě světle oranžového krystalického prášku ve výtěžku 71 mg (81 %); *t*_t = 137–143 °C; *R*_f = 0,22 (systém e).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,52 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H, CH(CH₃)₂); 1,74 (m, 2H, NHCH₂CH₂CH₂OH); 3,10 (d, *J* = 3,3 Hz, 3H, C⁶NHCH₃); 3,63 (m, 4H, NHCH₂CH₂CH₂OH); 4,61 (septet, *J* = 6,6 Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 5,16 (bs, 2H, NH(CH₂)₃OH); 6,08 (bs, 1H, C⁶NHCH₃); 7,51 (s, 1H, NC⁸HN) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,9(CH₃); 33,7(CH₃); 37,5(CH₂); 46,4(CH); 58,3(CH₂); 114,6(C); 134,3(CH); 155,9(C); 160,4(C) ppm. IR (KBr): 3416(s), 3270–3214(bs), 3125(w), 2970–2926(w), 2876(w), 1625(s), 1598(s), 1530(s), 1459(w), 1406(w), 1388(m), 1351(m), 1328(m), 1287(w), 1258(s), 1226(w), 1106(m), 1046(m), 983(w), 847(w), 789(m), 743(w), 714(w), 672(m), 645(m), 531(w) cm⁻¹. DI-EI-MS (*m/z*, %): 41(15), 42(17), 43((CH₃)₂CH, 18), 44(5), 53(5), 54(8), 55(6), 66(5), 67(9), 68(8), 80(6), 81(6), 82(6), 92(5), 93(6), 94(11), 106(7), 107(7), 108(15), 109(6), 119(11), 120(7), 121(9), 121(16), 122(7), 123(5), 133(12), 134(16), 135(28), 136(18), 146(5), 147(9), 148(35), 149(12), 150(9), 163(7), 164(21), 177(54), 178(34), 191(37), 192(17), 203(7), 205(5), 206(21), 219(M⁺–(CH₂)₂OH, 64), 220(62), 221(M⁺–CH(CH₃)₂, 16), 233(M⁺–CH₂OH, 51), 234(19), 247(6), 264(M⁺, 100), 265(16).

(C₁₂H₂₀N₆O) vyp. složení: 54,53 % C; 7,63 % H; 31,79 % N
exp. složení: 54,25 % C; 7,62 % H; 31,95 % N

3-{{6-(Benzylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl}amino}propan-1-ol (64)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 75 mg (0,25 mmol) purinu **50** a 150 mg (2,00 mmol) 3-aminopropan-1-olu. Surový produkt (83 mg; 98 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém e). Čistá titulní látka byla získána jako nažloutlý olej s tendencí ke krystalizaci při teplotě -15 °C do podoby světle žlutého krystalického prášku ve výtěžku 75 mg (88 %); $t_t = 85-89$ °C; $R_f = 0,43$ (systém e).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,53 (d, $J = 6,9$ Hz, 6H, CH(CH₃)₂); 1,74 (kvintet, $J = 5,6$ Hz, 2H, NHCH₂CH₂CH₂OH); 3,63 (m, 4H, NHCH₂CH₂CH₂OH); 4,62 (septet, $J = 6,9$ Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 4,79 (s, 2H, C⁶NHCH₂Ph); 5,10 (bs, 2H, NH(CH₂)₃OH); 6,38 (bs, 1H, C⁶NHCH₂Ph); 7,26–7,38 (m, 5H, Ph); 7,44 (s, 1H, NC⁸HN) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,9(CH₃); 33,7(CH₂); 37,6(CH₂); 46,4(CH); 58,5(CH₂); 114,6(C); 127,5(CH); 127,9(CH); 128,8(CH); 134,5(CH); 139,1(C); 155,1(C); 155,6(C); 160,4(C) ppm. IR (KBr): 3400(m), 3268–3206(bm), 3125(w), 2972–2873(bw), 1623(s), 1600(s), 1523(s), 1474(w), 1390(m), 1341(w), 1292(m), 1260(m), 1220(w), 1130(w), 1183(w), 1065(m), 1026(w), 972(m), 886(w), 787(m), 745(m), 726(w), 696(m), 639(m), 543(w) cm⁻¹. DI-EI-MS (m/z , %): 41(10), 43((CH₃)₂CH, 15), 55(5), 57(6), 65(10), 91(Bn, 100), 92(10), 106(BnNH, 20), 107(6), 108(7), 119(5), 134(10), 135(9), 149(7), 177(7), 191(11), 239(5), 253(8), 267(5), 282(10), 295(M⁺–(CH₂)₂OH, 20), 296(23), 297(M⁺–CH(CH₃)₂, 9), 309(M⁺–CH₂OH, 21), 310(9), 340(M⁺, 58), 341(13).

(C₁₈H₂₄N₆O) vyp. složení: 63,51 % C; 7,11 % H; 24,69 % N
exp. složení: 63,28 % C; 7,21 % H; 24,76 % N

(1-Adamantyl)[3-{{2-[(3-hydroxypropyl)amino]-9-isopropyl-9H-purin-6-yl}amino}fenyl]methanon (65)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 98 mg (0,22 mmol) purinu **51** a 132 mg (1,76 mmol) 3-aminopropan-1-olu. Surový produkt (103 mg; 95 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém e). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 47 mg (44 %); $t_t = 68-72$ °C; $R_f = 0,43$ (systém e).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,57 (d, $J = 6,9$ Hz, 6H, CH(CH₃)₂); 1,77–1,86 (m, 8H, CH₂(Ad)+NHCH₂CH₂CH₂OH); 2,09 (m, 9H, CH₂(Ad)+CH(Ad)); 3,67 (m, 4H, NHCH₂CH₂CH₂OH); 4,88 (septet, $J = 6,6$ Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 5,11 (bs, 2H,

NH(CH₂)₃OH); 7,29–7,37 (m, 2H, Ph); 7,61 (s, 1H, Ph); 7,71 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ph); 7,80 (s, 1H, NC⁸HN); 8,31 (s, 1H, C⁶NHPh) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,9(CH₃); 28,4(CH); 36,7(CH₂); 38,0(C); 39,4(CH₂); 46,7(CH₂); 47,2(CH); 58,8(CH₂); 119,4(CH); 121,9(CH); 122,1(CH); 128,7(CH); 135,5(C); 138,9(CH); 140,0(C); 152,6(C); 160,1(C); 209,6(CO) ppm. IR (KBr): 3331(m), 3246(m), 3119(w), 2904(s), 2849(m), 1627(s), 1578(s), 1523(m), 1482(m), 1410(w), 1323(w), 1250(m), 1214(w), 1058(m), 997(m), 884(w), 786(m), 641(w) cm⁻¹. DI-EI-MS (*m/z*, %): 44(7), 45(9), 67(6), 73(6), 77(7), 79(33), 91(8), 93(29), 107(15), 135(Ad, 54), 136(AdH, 6), 225(6), 226(6), 234(M⁺–AdCOPhNH, 31), 235(5), 268(8), 282(7), 401(12), 402(6), 415(14), 416(10), 429(7), 430(18), 431(7), 443(M⁺–(CH₂)₂OH, 33), 444(34), 445(M⁺–CH(CH₃)₂, 15), 457(M⁺–CH₂OH, 40), 458(20), 459(6), 487(10) 488(M⁺, 100), 489(33).

(C₂₈H₃₆N₆O₂) vyp. složení: 68,83 % C; 7,43 % H; 17,20 % N

exp. složení: 68,98 % C; 7,26 % H; 17,41 % N

3-[[6-({3-[1-Adamantyl(hydroxy)methyl]fenyl}amino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl]amino]propan-1-ol (66)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 92 mg (0,20 mmol) purinu **52** a 120 mg (1,60 mmol) 3-aminopropan-1-olu. Surový produkt (94 mg; 96 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém e). Čistá titulní látka byla získána v podobě světle žlutého krystalického prášku ve výtěžku 96 mg (94 %); *t*_i = 88–93 °C; *R*_f = 0,41 (systém e).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,54–1,68 (m, 18H, CH(CH₃)₂+CH₂(Ad)); 1,74 (m, 2H, NHCH₂CH₂CH₂OH); 1,93 (m, 3H, CH(Ad)); 2,65 (s, 1H, CHOH); 3,63 (m, 4H, NHCH₂CH₂CH₂OH); 4,20 (s, 1H, CHOH); 4,65 (septet, *J* = 6,6 Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 5,36 (bs, 2H, NH(CH₂)₃OH); 6,94 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H, Ph); 7,24 (m, 2H, Ph); 7,53 (m, 1H, Ph); 7,59 (s, 1H, NC⁸HN); 7,72 (s, 1H, C⁶NHPh) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,8(CH₃); 28,6(CH); 33,5(CH₂); 37,3(CH₂); 37,4(C); 38,1(CH₂); 38,4(CH₂); 46,5(CH); 58,7(CH₂); 82,7(CH); 114,8(C); 119,3(CH); 120,2(CH); 123,3(CH); 127,7(CH); 134,9(C); 138,3(CH); 142,6(C); 150,9(C); 152,7(C); 160,2(C) ppm. IR (KBr): 3343(m), 3246(m), 3198(w), 2903(s), 2847(m), 1625(s), 1583(s), 1524(m), 1488(m), 1420(w), 1370(w), 1250(m), 1215(w), 1226(w), 1047(m), 983(w), 885(w), 788(m), 756(m), 732(w), 702(w), 640(w) cm⁻¹. DI-EI-MS (*m/z*, %): 77(5), 79(20), 93(18), 107(9), 135(Ad, 38), 234(M⁺–AdCH(OH)PhNH, 11), 267(11), 297(7), 311(12), 313(9), 355(M⁺–Ad, 100), 356(23), 441(8), 490(M⁺, 61), 491(19).

(C₂₈H₃₈N₆O₂) vyp. složení: 68,54 % C; 7,81 % H; 17,13 % N

exp. složení: 68,39 % C; 7,93 % H; 17,27 % N

3-[[6-[[3-(1-Adamantylmethyl)fenyl]amino]-9-isopropyl-9H-purin-2-yl]amino]propan-1-ol (67)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 90 mg (0,21 mmol) purinu **53** a 126 mg (1,68 mmol) 3-aminopropan-1-olu. Surový produkt (93 mg; 93 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém e). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 70 mg (70 %); $t_t = 88\text{--}93\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,67$ (systém e).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1,54–1,71 (m, 18H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2 + \text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,81 (kvintet, $J = 5,6$ Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 1,96 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 2,39 (s, 2H, PhCH_2Ad); 3,69 (m, 4H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 4,69 (septet, $J = 6,6$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 5,25 (bs, 2H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$), 6,83 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H, Ph); 7,24 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,36 (s, 1H, Ph); 7,62 (s, 1H, C^6NHPh); 7,74 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 7,82 (s, 1H, NC^8HN) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): δ 22,8(CH_3); 28,9(CH); 33,8(C); 37,2(CH_2); 37,9(CH_2), 42,7(CH_2); 46,6(CH_2); 51,5(CH); 58,7(CH_2), 115,1(C); 118,0(CH); 122,7(CH); 125,9(CH); 128,1(CH); 135,0(C); 138,3(C); 139,2(CH); 150,8(C); 152,8(C); 160,2(C) ppm. IR (KBr): 3328(m), 3244(m), 3121(w), 2902(s), 2844(m), 1625(s), 1581(s), 1522(m), 1488(s), 1418(w), 1324(w), 1247(m), 1215(w), 1227(w), 1050(w), 884(w), 788(m), 755(m), 718(w), 700(w), 640(w) cm^{-1} . DI-EI-MS (m/z , %): 45(7), 79(23), 91(6), 93(20), 135(Ad, 36), 234($\text{M}^+ - \text{AdCH}_2\text{PhNH}$, 19), 251(5), 253(5), 387(7), 401(9), 415(8), 416(10), 429($\text{M}^+ - (\text{CH}_2)_2\text{OH}$, 31), 430(35), 431($\text{M}^+ - \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, 15), 443($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{OH}$, 37), 444(18), 473(12), 474(M^+ , 100), 475(33).

($\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{N}_6\text{O}$) vyp. složení: 70,85 % C; 8,07 % H; 17,71 % N

exp. složení: 70,73 % C; 7,92 % H; 17,60 % N

(1-Adamantyl)[4-({2-[(3-hydroxypropyl)amino]-9-isopropyl-9H-purin-6-yl}amino)fenyl]methanon (68)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 68 mg (0,15 mmol) purinu **54** a 94 mg (1,20 mmol) 3-aminopropan-1-olu. Surový produkt (65 mg; 89 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém e). Čistá titulní látka byla získána v podobě světle oranžového krystalického prášku ve výtěžku 35 mg (48 %); $t_t = 71\text{--}75\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,27$ (systém e).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1,18–1,80 (m, 20H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2 + (\text{CH}_2)\text{Ad} + \text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 2,04 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$), 3,67 (m, 4H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 4,65 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 5,25 (bs, 2H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$); 6,86 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, Ph); 7,63 (s, 1H, NC^8HN); 7,80 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, Ph); 8,21 (s, 1H, C^6NHPh) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): δ 22,8(CH_3); 28,5(CH); 36,8(CH_2), 37,3(CH_2); 39,6(CH_2); 42,1(C); 46,7(CH); 53,7(CH_2); 58,8(CH_2); 114,9(C); 119,6(CH);

127,6(CH); 131,0(C); 138,8(CH); 151,0(C); 152,2(C); 160,2(C); 199,0(CO) ppm. IR (KBr): 3328(m), 3246(m), 3114(w), 2903(s), 2849(m), 1627(s), 1590(s), 1574(s), 1508(s), 1473(m), 1407(m), 1370(w), 1322(m), 1271(w), 1239(m), 1174(m), 1057(m), 988(w), 930(w), 884(w), 844(w), 788(m), 750(w), 640(w) cm^{-1} . DI-EI-MS (m/z , %): 41(28), 43(28), 44(20), 55(57), 56(50), 67(19), 69(12), 73(12), 77(16), 79(38), 81(14), 91(16), 93(37), 107(18), 118(10), 120(9), 135(Ad, 86), 136(AdH, 11), 235(11), 237(7), 250(12), 252(9), 253(6), 264(16), 266(9), 295(27), 296(28), 297(6), 312(6), 323(6), 342(19), 343(5), 352(24), 353(M^+ -Ad, 39), 354(100), 355(22), 366(6), 370(8), 408(7), 410(91), 411(23), 430(8), 457(6), 487(5), 488(M^+ , 24), 489(10).

($\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_2$) vyp. složení: 68,83 % C; 7,43 % H; 17,20 % N

exp. složení: 69,02 % C; 7,55 % H; 17,34 % N

3-{{6-({4-[1-Adamantyl(hydroxy)methyl]fenyl}amino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl}amino}propan-1-ol (69)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 102 mg (0,23 mmol) purinu **55** a 138 mg (1,84 mmol) 3-aminopropan-1-olu. Surový produkt (110 mg; 97 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém e). Čistá titulní látka byla získána v podobě světle žlutého krystalického prášku ve výtěžku 89 mg (79 %); $t_{\text{r}} = 107\text{--}111\text{ }^\circ\text{C}$; $R_{\text{f}} = 0,43$ (systém e).

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,52–1,64 (m, 18H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2 + \text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,76 (m, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 1,95 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 3,03 (bs, 1H, CHOH); 3,63 (m, 4H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 4,16 (s, 1H, CHOH); 4,65 (septet, $J = 6,3\text{ Hz}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 5,22 (bs, 2H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$); 7,74 (d, $J = 8,3\text{ Hz}$, 2H, Ph); 7,56–7,62 (d+s, 3H, Ph+ NC^8HN); 7,90 (s, 1H, C^6NHPH) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 22,8(CH_3); 28,6(CH); 33,6(CH_2); 37,3(CH_2); 37,5(C); 37,8(CH_2); 38,4(CH_2); 46,6(CH); 58,7(CH_2); 82,7(CH); 115,0(C); 119,6(CH); 128,4(CH); 134,9(C); 138,4(CH); 138,0(C); 152,7(C); 160,2(C) ppm. IR (KBr): 3404–3345(bm), 3250(w), 3112(w), 2903(s), 2846(m), 1622(s), 1597(s), 1580(s), 1546(w), 1512(s), 1475(w), 1414(m), 1370(w), 1313(m), 1250(m), 1127(w), 1036(m), 1015(w), 936(w), 842(w), 788(m), 755(m), 641(w) cm^{-1} . DI-EI-MS (m/z , %): 44(6), 79(8), 93(6), 135(Ad, 10), 267(9), 313(11), 354(8), 355(M^+ -Ad, 100), 356(22), 490(M^+ , 38), 491(12).

($\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_2$) vyp. složení: 68,54 % C; 7,81 % H; 17,13 % N

exp. složení: 68,38 % C; 7,95 % H; 17,04 % N

3-{{6-{{4-(1-Adamantylmethyl)fenyl}amino}-9-isopropyl-9H-purin-2-yl}amino}propan-1-ol (70)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 101 mg (0,23 mmol) purinu **56** a 138 mg (1,84 mmol) 3-aminopropan-1-olu. Surový produkt (102 mg; 94 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém e). Chromatograficky čistá titulní látka byla získána v podobě světle hnědého krystalického prášku ve výtěžku 81 mg (74 %); $t_t = 85\text{--}90\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,68$ (systém e).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1,48–1,67 (m, 18H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2 + \text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,76 (m, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 1,92 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 2,33 (s, 2H, PhCH_2Ad); 3,67 (m, 4H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 4,86 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 5,26 (bs, 2H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$); 7,03 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H, Ph); 7,57 (s, 1H, C^6NHPh); 7,62 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H, Ph); 7,88 (s, 1H, NC^8HN) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): δ 22,8(CH_3); 28,9(CH); 33,7(C); 37,2(CH_2); 37,8(CH_2); 42,5(CH_2); 46,5(CH_2); 50,8(CH); 58,6(CH_2); 115,0(C); 119,6(CH); 131,0(CH); 133,3(C); 134,9(CH); 136,9(C); 150,7(C); 152,7(C); 160,2(C) ppm. IR (KBr): 3328(m), 3243(w), 3116(w), 2901(s), 2844(m), 1622(s), 1595(s), 1579(s), 1545(w), 1511(s), 1477(w), 1414(m), 1370(w), 1313(m), 1251(m), 1215(w), 1127(w), 1046(w), 948(w), 884(w), 844(m), 787(m), 756(w), 640(w) cm^{-1} . DI-EI-MS (m/z , %): 79(14), 93(12), 106(25), 107(7), 135(Ad, 20), 234($\text{M}^+ - \text{AdCH}_2\text{PhNH}$, 16), 251(5), 281(15), 295(16), 297(9), 339($\text{M}^+ - \text{Ad}$, 33), 340(7), 401(6), 416(17), 417(5), 429($\text{M}^+ - (\text{CH}_2)_2\text{OH}$, 17), 430(27), 431($\text{M}^+ - \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, 11), 443($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{OH}$, 33), 444(16), 473(7), 474(M^+ , 100), 475(33), 476(5).

($\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{N}_6\text{O}$) vyp. složení: 70,85 % C; 8,07 % H; 17,71 % N
exp. složení: 70,96 % C; 8,24 % H; 17,59 % N

3-{{6-{{3-{{2-(1-Adamantyl)-1-hydroxyethyl}fenyl}amino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl}amino}propan-1-ol (71)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 100 mg (0,22 mmol) purinu **57** a 132 mg (1,76 mmol) 3-aminopropan-1-olu. Surový produkt (105 mg; 95 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém e). Čistá titulní látka byla získána v podobě nažloutlého krystalického prášku ve výtěžku 99 mg (89 %); $t_t = 87\text{--}91\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,42$ (systém e).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1,56–1,79 (m, 22H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2 + \text{CH}_2(\text{Ad}) + \text{PhCHCH}_2\text{Ad} + \text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 1,97 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 3,65 (m, 4H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 4,67 (septet, $J = 6,9$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 4,90 (m, 1H, CHOH); 5,33 (bs, 2H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$); 7,01 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,24 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 7,51 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, Ph); 7,58 (s, 1H, Ph); 7,88 (s, 1H, NC^8HN); 8,00 (s, 1H, C^6NHPh) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): δ 22,8(CH_3);

28,9(CH); 32,7(C); 33,5(CH₂); 37,2(CH₂); 38,1(CH₂); 43,2(CH₂); 46,5(CH); 54,0(CH₂); 58,7(CH₂); 70,7(CH); 118,2(CH); 119,2(CH); 121,0(CH); 128,9(CH); 135,0(C); 139,1(C); 148,0(C); 152,6(C); 160,2(C) ppm. IR (KBr): 3333(m), 3247(w), 3119(w), 2900(s), 2845(m), 1625(s), 1584(s), 1524(m), 1484(m), 1443(w), 1370(w), 1324(w), 1254(m), 1215(w), 1131(w), 1064(m), 1112(w), 884(w), 787(m), 756(m), 641(w) cm⁻¹. DI-EI-MS (*m/z*, %): 79(16), 93(17), 107(9), 135(Ad, 67), 136(AdH, 6), 234(25), 267(9), 269(5), 311(18), 312(11), 313(7), 325(7), 355(M⁺-AdCH₂, 22), 356(8), 455(11), 460(11), 461(M⁺-CH(CH₃)₂, 5), 473(M⁺-CH₂OH, 6), 504(M⁺, 100), 505(34), 506(6).

(C₂₉H₄₀N₆O₂) vyp. složení: 69,02 % C; 7,99 % H; 16,65 % N
exp. složení: 69,09 % C; 7,93 % H; 16,78 % N

3-{{6-({3-[2-(1-Adamantyl)ethyl]fenyl}amino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl}amino}propan-1-ol (72)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 72 mg (0,16 mmol) purinu **58** a 96 mg (1,28 mmol) 3-aminopropan-1-olu. Surový produkt (75 mg; 96 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém e). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 62 mg (80 %); *t*_t = 72–78 °C; *R*_f = 0,71 (systém e).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,58–1,68 (m, 20H, CH(CH₃)₂+CH₂(Ad) +PhCH₂CH₂Ad); 1,75 (m, 2H, NHCH₂CH₂CH₂OH); 2,01 (m, 3H, CH(Ad)); 2,59 (t, *J* = 7,9 Hz, 2H, PhCH₂CH₂Ad); 3,69 (m, 4H, NHCH₂CH₂CH₂OH); 4,69 (m, 1H, CH(CH₃)₂); 5,28 (bs, 2H, NH(CH₂)₃OH); 6,93 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H, Ph); 7,27 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H, Ph); 7,53 (s, 1H, C⁶NHPh); 7,63 (m, 2H, Ph); 7,71 (s, 1H, NC⁸HN) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,9(CH₃); 29,0(CH); 29,4(CH₂); 32,7(C); 33,5(CH₂); 37,8(CH₂); 42,7(CH₂); 46,6(CH₂); 46,8(CH); 58,7(CH₂); 117,8(CH); 120,4(CH); 123,6(CH); 128,9(CH); 135,0(C); 139,0(CH); 144,9(C); 152,8(C); 160,2(C) ppm. IR (KBr): 3324(m), 3246(w), 3124(w), 2901(s), 2844(m), 1613(m), 1592(s), 1523(m), 1488(m), 1418(w), 1370(w), 1323(s), 1247(m), 1215(w), 1127(w), 1046(m), 1013(w), 934(w), 885(w), 787(m), 756(w), 696(w), 669(w), 641(w) cm⁻¹. DI-EI-MS (*m/z*, %): 79(13), 91(5), 93(11), 107(6), 135(Ad, 13), 234(M⁺-Ad(CH₂)₂PhNH, 21), 251(5), 253(8), 254(6), 267(5), 282(12), 295(7), 296(16), 309(11), 353(10), 401(6), 415(9), 443(M⁺-(CH₂)₂OH, 23), 444(24), 445(M⁺-CH(CH₃)₂, 11), 457(M⁺-CH₂OH, 35), 458(17), 487(10), 488(M⁺, 100), 489(34), 485(6).

(C₂₉H₄₀N₆O) vyp. složení: 71,28 % C; 8,25 % H; 17,20 % N
exp. složení: 71,19 % C; 8,20 % H; 17,29 % N

2-(1-Adamantyl)-1-{3-[(2-(3-hydroxypropyl)amino]-9-isopropyl-9H-purin-6-yl)amino)methyl]fenyl}ethan-1-on (73)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 100 mg (0,21 mmol) purinu **61** a 126 mg (1,68 mmol) 3-aminopropan-1-olu. Surový produkt (103 mg; 95 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém e). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 90 mg (80 %); $t_t = 64\text{--}69\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,16$ (systém e).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1,50 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,59–1,72 (m, 14H, $(\text{CH}_2)\text{Ad} + \text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 1,89 (m, 3H, $(\text{CH})\text{Ad}$); 2,66 (s, 2H, PhCOCH_2Ad); 3,62 (m, 4H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 4,60 (septet, $J = 6,6$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 4,83 (s, 2H, $\text{C}^6\text{NHCH}_2\text{Ph}$); 5,11 (bs, 2H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$); 6,46 (bs, 1H, $\text{C}^6\text{NHCH}_2\text{Ph}$); 7,36 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H, Ph); 7,43 (s, 1H, Ph); 7,52 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H, Ph); 7,81 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ph); 7,95 (s, 1H, NC^8HN) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): δ 22,8(CH_3); 28,9(CH); 33,7(CH_2); 34,1(C); 36,9(CH_2); 37,7(CH_2); 43,1(CH_2); 46,4(CH); 51,5(CH_2); 58,5(CH_2); 114,6(C); 127,5(CH); 127,9(CH); 128,8(CH); 132,1(CH); 134,5(C); 139,2(CH); 139,8(C); 155,1(C); 160,4(C); 200,2(CO) ppm. IR (KBr): 3322(m), 3249(w), 3120(w), 2903(s), 2847(m), 1670(m), 1601(s), 1496(s), 1450(w), 1391(w), 1371(w), 1346(w), 1288(w), 1255(m), 1216(w), 1137(w), 1069(m), 976(w), 884(w), 788(m), 757(w), 696(w), 644(w) cm^{-1} . DI-EI-MS (m/z , %): 44(14), 45(14), 60(6), 73(6), 79(9), 91(Bn, 9), 93(6), 119(16), 134(6), 135(Ad, 31), 249(6), 381($\text{M}^+ - \text{Ad}$, 9), 458(11), 471($\text{M}^+ - (\text{CH}_2)_2\text{OH}$, 17), 472(28), 473($\text{M}^+ - \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, 13), 485($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{OH}$, 11), 486(15), 487(5), 515(6), 516(M^+ , 100), 517(36), 518(7).

($\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_2$) vyp. složení: 69,74 % C; 7,80 % H; 16,27 % N

exp. složení: 69,58 % C; 7,84 % H; 16,36 % N

2-(1-Adamantyl)-1-{4-[(2-(3-hydroxypropyl)amino]-9-isopropyl-9H-purin-6-yl)amino)methyl]fenyl}ethan-1-on (74)

Titulní látka byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek 100 mg (0,21 mmol) purinu **62** a 126 mg (1,68 mmol) 3-aminopropan-1-olu. Surový produkt (101 mg, 93 %) byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém e). Čistá titulní látka byla získána v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 86 mg (79 %); $t_t = 66\text{--}70\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,23$ (systém e).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 1,51 (d, $J = 5,9$ Hz, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 1,61–1,69 (m, 14H, $\text{CH}_2(\text{Ad}) + \text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 1,92 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 2,67 (s, 2H, PhCOCH_2Ad); 3,61 (m, 4H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 4,60 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 4,81 (bs, 2H, $\text{C}^6\text{NHCH}_2\text{Ph}$); 5,04 (bs, 2H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$); 6,46 (bs, 1H, $\text{C}^6\text{NHCH}_2\text{Ph}$); 7,41 (m, 3H, $\text{Ph} + \text{NC}^8\text{HN}$); 7,87 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H, Ph) ppm.

^{13}C NMR (CDCl_3): δ 22,8(CH_3); 28,9(CH); 33,6(CH_2); 34,1(C); 36,9(CH_2); 37,7(CH_2); 43,2(CH_2); 46,4(CH); 51,4(CH_2); 58,5(CH_2); 127,6(CH); 128,9(CH); 134,6(C); 138,1(CH); 144,4(C); 155,1(C); 160,4(C); 199,9(CO) ppm. IR (KBr): 3316(m), 3242(w), 3115(w), 2902(s), 2847(m), 1668(m), 1600(s), 1496(s), 1409(w), 1390(w), 1370(w), 1346(w), 1260(m), 1214(w), 1133(w), 1067(m), 1014(w), 977(w), 788(m), 670(w), 642(w) cm^{-1} . DI-EI-MS (m/z , %): 79(15), 91(Bn, 11), 93(14), 107(9), 119(5), 133(9), 134(7), 135(Ad, 35), 249(8), 337(5), 381(M^+ -Ad, 21), 382(5), 458(9), 471(M^+ - $(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, 13), 472(23), 473(MCH^+ - $(\text{CH}_3)_2$, 8), 485(M^+ - CH_2OH , 20), 486(13), 515(5), 516(M^+ , 100), 517(35), 518(7).

($\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_2$) vyp. složení: 69,74 % C; 7,80 % H; 16,27 % N
exp. složení: 69,82 % C; 7,71 % H; 16,19 % N

6.4 Charakterizace nežádoucích produktů

(1-Adamantyl)[3-(ethylamino)fenyl]methanol (19)

Nitroketon **6** (200 mg; 0,70 mmol) byl rozpuštěn v 8 cm^3 ethanolu. Do vzniklého roztoku byl přidán velký přebytek Ra-Ni a reakční směs byla důrazně míchána při laboratorní teplotě pod H_2 atmosférou dokud nebyl veškerý výchozí keton spotřebován (monitorováno TLC). Po ukončení reakce byl kapalný podíl (oddělený od Ra-Ni filtrací) nalit na ledovou tříšť, po jejímž rozpuštění byla vodná fáze extrahována $3 \times 15 \text{ cm}^3$ diethyletheru. Spojené organické podíly byly promyty $2 \times 10 \text{ cm}^3$ nasyceného roztoku chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Surový produkt byl získán odpařením rozpouštědla na RVO. Čistá titulní látka byla získána krystalizací ze směsi ethyl-acetát/hexan v podobě světle oranžových krystalků ve výtěžku 91 mg (46 %); $t_f = 103\text{--}104 \text{ }^\circ\text{C}$; $R_f = 0,39$ (systém b).

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,27 (t, $J = 7,3 \text{ Hz}$, 3H, NHCH_2CH_3); 1,50–1,69 (m, 12H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,97 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 3,17 (q, $J = 7,3 \text{ Hz}$, 2H, NHCH_2CH_3); 4,13 (s, 1H, CHOH); 6,53 (m, 2H, Ph); 6,60 (d, $J = 7,6 \text{ Hz}$, 1H, Ph); 7,13 (m, 1H, Ph) ppm. ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 15,1(CH_3); 28,6(CH); 37,3(CH_2); 38,5(CH_2); 38,8(CH_2); 83,4(CH); 111,9(CH); 112,6(CH); 117,4(CH); 128,5(CH); 142,7(C); 148,0(C) ppm. IR (KBr): 3300(s), 2903(s), 2847(s), 1605(s), 1587(m), 1481(s), 1449(m), 1359(w), 1343(m), 1304(m), 1239(m), 1143(m), 1101(w), 1030(s), 935(w), 895(m), 785(m), 733(s), 703(s), 588(w), 470(w) cm^{-1} . GC-EI-MS (m/z , %): 55(12), 59(8), 67(12), 69(5), 77(13), 79(25), 81(9), 91(8), 93(28), 94(9), 106(6), 107(14), 120(7), 121(6), 122(21), 134(25), 135(Ad, 100), 136(AdH, 17), 149(44), 150(M^+ -Ad, 21), 285(M^+ , 44), 286(9).

($\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}$) vyp. složení: 79,95 % C; 9,53 % H; 4,91 % N
exp. složení: 79,78 % C; 9,85 % H; 4,88 % N

2-Chlor-9-isopropyl-*N,N*-dimethyl-9*H*-purin-6-amin (49)

Purin **47** (196 mg; 0,87 mmol) byl rozpuštěn ve směsi DMF (4 cm³), *N*-ethyl-*N*-isopropylpropan-2-aminu (225 mg; 1,74 mmol) a methylamoniumchloridu (61 mg; 0,91 mmol). Vzniklý roztok byl míchán při teplotě 80–100 °C pod chlorkalciovým uzávěrem po dobu 2 hodin. Poté byla reakční směs zředěna vodou (pozorována tvorba jemné sraženiny) a vodná vrstva extrahována 4 × 10 cm³ diethyletheru. Spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl (2 × 10 cm³) a sušeny nad síranem sodným. Surový produkt, složený z *N*-methyl a *N,N*-dimethyl derivátů v relativním zastoupení 42 % a 58 % (GC-MS), byl získán odpařením rozpouštědla ve vakuu. Čistý produkt byl získán po čištění sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a) v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 105 mg (54 %); $t_r = 145\text{--}149$ °C; $R_f = 0,34$ (systém a).

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,54 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H, CH(CH₃)₂); 3,50 (bs, 6H, C⁶N(CH₃)₂); 4,82 (septet, $J = 6,6$ Hz, 1H, CH(CH₃)₂); 7,74 (s, 1H, NC⁸HN) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃): δ 22,9(CH₃); 38,7(CH₃); 46,8(CH); 119,5(C); 136,1(CH); 151,6(C); 153,8(C); 155,4(C) ppm. IR (KBr): 3449(bw), 3101(m), 2974(m), 1725(w), 1604(s), 1560(m), 1481(w), 1455(w), 1435(w), 1405(m), 1361(m), 1309(s), 1275(w), 1226(s), 1188(w), 1146(w), 1088(w), 1032(m), 941(m), 973(m), 784(m), 677(w), 658(m), 646(m), 609(w) cm⁻¹. GC-EI-MS (m/z , %): 40(7), 41(33), 42(35), 43(26), 44(45), 52(5), 53(7), 54(5), 55(5), 65(5), 66(10), 67(20), 68(5), 79(7), 80(6), 92(19), 93(10), 94(5), 105(6), 106(8), 118(6), 119(56), 120(8), 132(10), 133(14), 134(6), 146(20), 147(5), 153(9), 154(13), 155(9), 156(5), 160(6), 161(14), 168(100), 169(10), 170(33), 182(58), 183(5), 184(18), 196(9), 197(7), 210(69), 211(8), 212(22), 224(7), 239(M⁺(³⁵Cl), 65), 240(9), 241(M⁺(³⁷Cl), 21).

(C₁₀H₁₄ClN₅) vyp. složení: 50,11 % C; 5,89 % H; 29,22 % N

exp. složení: 50,30 % C; 6,96 % H; 29,04 % N

VÝSLEDKY A DISKUZE

7 CHEMICKÉ SYNTÉZY A STRUKTURA PŘIPRAVENÝCH LÁTEK

Z důvodu dosažení co největší přehlednosti a usnadnění orientace případnému čtenáři v předloženém textu, bude kapitola pojednávající o chemických syntézách a struktuře připravených sloučenin uspořádána stejným způsobem jako je tomu v **kapitole 6** experimentální části.

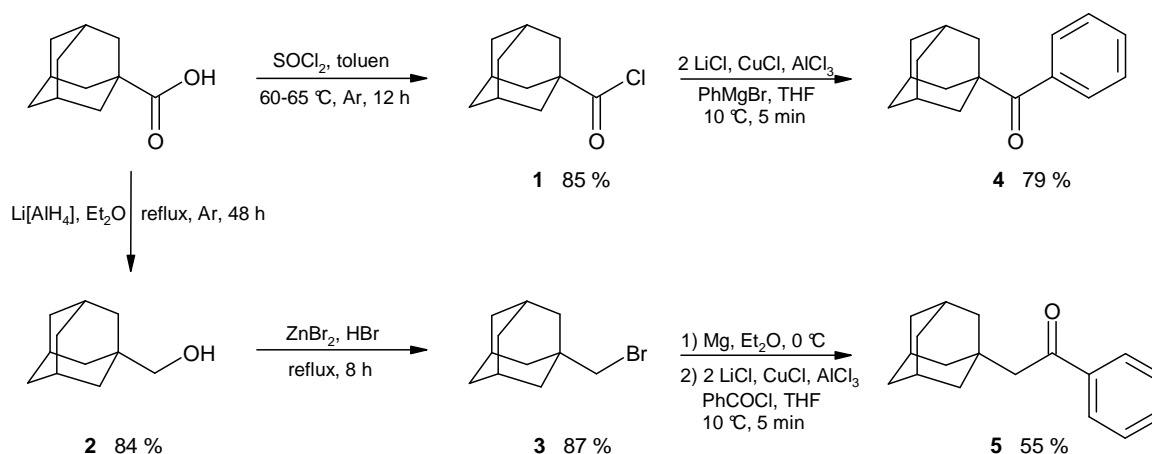
Součástí komentáře bude také příprava látek, jejichž strukturní data nejsou uvedena v experimentální části. Jedná se zejména o syntézy vedoucí k 1-adamantylbenzylaminům, na jejichž přípravě se v rámci zahraničních praxí, uskutečněných prostřednictvím studentské neziskové organizace IAESTE, podíleli Robert Bernat, Fabiana Pires de Carvalho a Dragan Grbić.

7.1 Syntéza 1-adamantylanilinů

7.1.1 Příprava 1-adamantyl(fenyl)ketonů a jejich nitrace

Prvním krokem vedoucím k získání požadovaných aminů byla příprava 1-adamantyl(fenyl)ketonů **4** a **5** (**Schéma 27**). Jako výchozí látka byla v obou případech použita adamantan-1-karboxylová kyselina, která byla získána z komerčních zdrojů v analytické kvalitě. Při přípravě ketonu **4** byla nejprve adamantan-1-karboxylová kyselina podrobena nukleofilní substituci na sp^2 -hybridizovaném atomu uhlíku, při níž byl reakcí s thionyl chloridem získán ve vysokém výtěžku adamantan-1-karbonylchlorid (**1**), který následnou reakcí s Grignardovým činidlem (fenylmagnesiumbromidem) poskytl požadovaný produkt **4** ve výtěžku 79 %.

Schéma 27



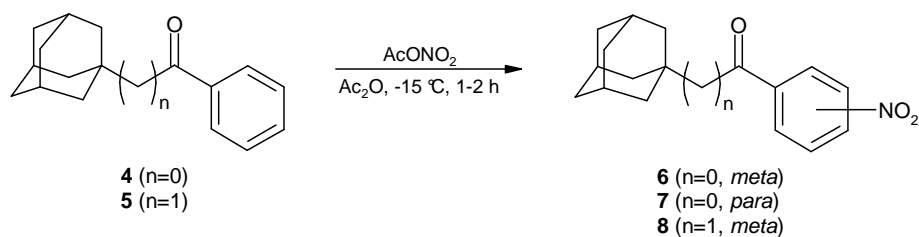
Ve druhém případě byla výchozí adamantan-1-karboxylová kyselina zredukována pomocí $\text{Li[AlH}_4]$ v diethyletheru na odpovídající primární alkohol **2**, který byl následnou bromací převeden na 1-(brommethyl)adamantan (**3**) ve výtěžku 87 %. Požadovaný keton **5**, obsahující mezi adamantanovým skeletem a benzenovým kruhem alifatický řetězec o jeden uhlík delší než v případě

ketonu **4**, byl připraven reakcí benzoylchloridu s 1-adamantylmethylmagnesiumbromidem, přičemž po přečištění surové směsi sloupcovou chromatografií byl jako vedlejší produkt získán 1,2-bis(1-adamantyl)ethan.

Aromatickou nitrací 1-adamantyl(fenyl)ketonů **4** a **5** byly připraveny látky sloužící jako intermediáty pro syntézu cílových aminů. Nitrace jsou jednou z nejlépe prostudovaných organických reakcí^{335,336}, kdy kromě obvykle používaných nitračních činidel jako je kyselina dusičná nebo směs koncentrované kyseliny dusičné a sírové (obecně nazývaná jako nitrační směs), je popsána celá řada dalších, např. acetylnitrát³³⁷, amylnitrát³³⁸, *N*-nitropyrazol³³⁹, nitroguanidin³⁴⁰ nebo guanidin nitrát³⁴¹.

Naše skupina studovala aromatické nitrace rozličných 1-adamantyl(fenyl)ketonů a distribuci jednotlivých regioisomerů za různých podmínek při použití směsi kyseliny sírové a dusičné (nitrační směs), kyseliny dusičné v acetanhydridu, guanidin nitrátu v kyselině sírové a AgNO₃ v přítomnosti acetylchloridu³⁴². Na základě pozorovaných distribucí regioisomerů a na základě kvantově-mechanických výpočtů byl navržen alternativní mechanismus pro nitrace aromatických karbonylových sloučenin zahrnující komplexaci nitračního činidla atomem kyslíku karbonylové skupiny a ustanovení rovnováhy mezi protonovanou a nitroniovanou formou ketonu. Při převaze protonované formy (silně kyselé prostředí, nižší teplota) se uplatňoval vyšší mírou klasický polární Ingoldův-Hudgesův mechanismus, zatímco v nekyselém prostředí převažovala nitroniovaná forma ketonu a *ortho* substituce. Při nitracích ketonů **4** a **5** se jako nejvhodnější ukázalo použití kyseliny dusičné v acetanhydridu při teplotě -15 °C, jak je ilustrováno na **Schématu 28**, přičemž výchozí acetylnitrát byl připraven smícháním acetanhydridu s kyselinou dusičnou v přítomnosti katalytického množství kyseliny sírové. V případě obou ketonů byl pozorován vznik všech regioisomerů, avšak s velmi odlišnou distribucí. V případě ketonu **4** byla distribuce isomerů *ortho/meta/para* v relativním procentuálním zastoupení (dle GC-MS) 33/34/33, zatímco u ketonu **5** byl poměr isomerů 30/65/5. Jednotlivé isomery byly po jejich izolaci odděleny pomocí sloupcové chromatografie (silikagel; petrolether/ethyl-acetát, 8/1, v/v). Pro přípravu cílových aminů byly dále použity jen některé nitrační produkty, a sice látky **6–8**.

Schéma 28

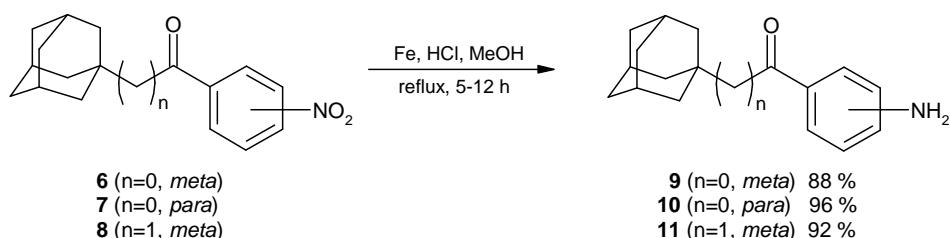


Ortho deriváty se nejevily vhodné pro následné substituce atomu chloru na C6 purinového kruhu, a to s ohledem na předpokládanou prostorovou orientaci výsledných molekul. Lze se domnívat, že u takto připravených sloučenin by objemný adamantanový skelet zabraňoval tvorbě klíčových vazebných kontaktů mezi akceptorním atomem dusíku v poloze 7 purinového kruhu a donorní NH-skupinou pocházející z 1-adamantylaminu (C⁶NHPh). Isomer *para* získaný nitrací ketonu **5** nebyl dále využíván z důvodu velmi malých množství izolovaných po chromatografickém přečištění surové směsi.

7.1.2 Příprava 1-adamantyl(aminofenyl)ketonů

Selektivní redukcí nitroskupiny ketonů **6–8** byly získány odpovídající aminoderiváty **9–11** (Schéma 29). Redukčním činidlem byl vodík vznikající reakcí železa s kyselinou chlorovodíkovou *in situ*. Nutno podotknout, že použití jiného než „pentakarbonylovaného“ železa (zakoupeno z komerčních zdrojů, Lachema Brno; pod označením carbonyl iron poder dostupné v nabídce společnosti BASF), např. železa v podobě kovových pilin či špon, mělo značný vliv na prodloužení reakční doby. Reakce byly uskutečňovány buďto ve směsi kyseliny chlorovodíkové a methanolu (1/1, v/v) nebo v 1–2M methanoličké HCl připravené vždy bezprostředně před prováděním dané reakce, a to bez podstatného vlivu na dosažený výtěžek nebo reakční čas. Požadované aminoketony **9–11** (ORTEP diagram asymetrické jednotky aminu **9** je uveden v Příloze 2a) byly po přečištění sloupcovou chromatografií získány ve velmi vysokých výtěžcích (88–96 %). Jistou nevýhodou připravených látek ve formě volných bází je jejich nízká stabilita za laboratorní teploty a nutnost skladování při teplotách okolo –10 °C. Uchovávat tyto látky za vyšších teplot by bylo možné po jejich převedení na odpovídající hydrochloridy. Nicméně, pokusy o zavedení suchého plynného chlorovodíku do roztoku aminoketonů **9–11** v diethyletheru či hexanu selhaly, když namísto očekávaných pevných látek byly získány jen kapalné produkty. Proto bylo rozhodnuto ponechat připravené aminoketony v podobě volných bází, a to i za cenu náročnějších skladovacích podmínek.

Schéma 29



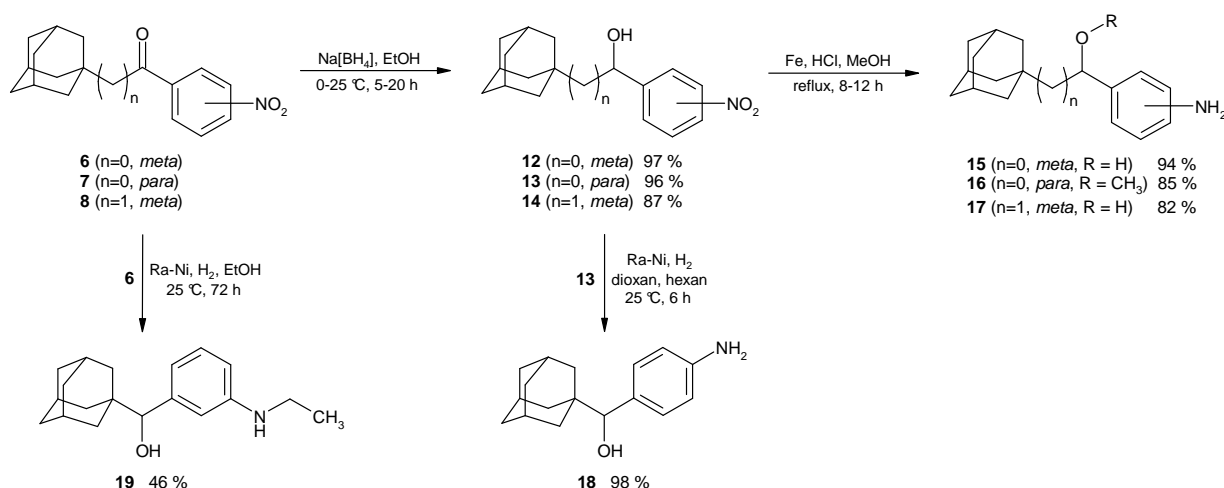
7.1.3 Příprava 1-adamantyl(aminofenyl)alkoholů

Při přípravě aminoalkoholů **15**, **17** a **18** se naskýkala možnost jejich syntézy neselektivní redukcí obou funkčních skupin (karbonylové skupiny

a nitroskupiny) v jednom reakčním kroku. Pokusy o redukci ketonů **6–8** pomocí $\text{Li}[\text{AlH}_4]$, případně systémem $\text{Na}[\text{BH}_4]/\text{Ra-Ni}$ v methanolu při teplotě 30 až 40 °C (cit.³⁴³) nebyly úspěšné, přičemž docházelo ke vzniku značně komplikovaných reakčních směsí. Při použití katalytické hydrogenace na Ra-Ni v ethanolu za laboratorní teploty (viz **Schéma 30**) se podařilo zredukovat obě funkční skupiny nitroketonu **6** (potvrzeno IR a NMR). Nicméně, ^1H NMR spektrum takto připravené látky obsahovalo, oproti očekávání, triplet a kvartet s chemickými posuny $\delta = 1,27$ ppm a $\delta = 3,17$ ppm. Integrací těchto píků bylo zjištěno, že tripletový signál odpovídá třem a kvartetový signál dvěma atomům vodíku. Z hodnot získaných pomocí NMR vyplývá, že se nejedná o požadovaný produkt, ale o jeho alkylovaný derivát **19** (**Schéma 30**) obsahující ethylový substituent. Takto navržená struktura odpovídá také molekulovému iontu pozorovanému v hmotnostním spektru sloučeniny **19** ($M^+ = 285$ m/z).

Na základě výše uvedených zkušeností s neselektivními redukcemi, bylo rozhodnuto připravit požadované látky postupem dvoukrokovým, a sice redukcí karbonylové skupiny za vzniku nitroalkoholů v prvním kroku a následně redukcí nitroskupiny na požadovaný aminoalkohol (**Schéma 30**).

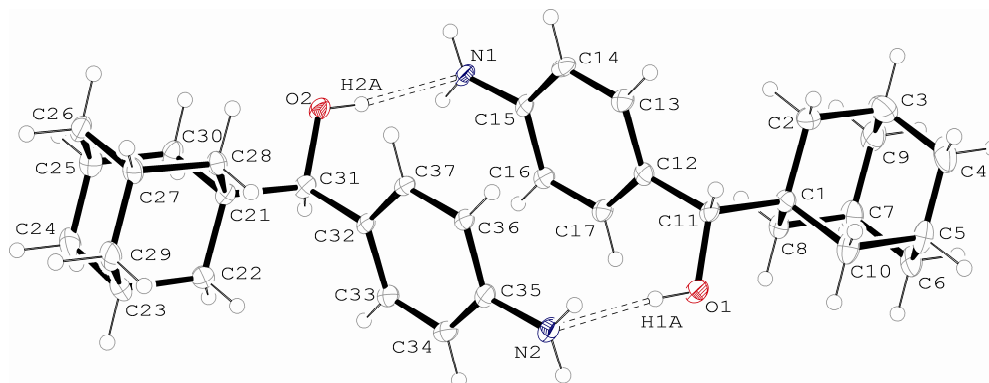
Schéma 30



Při přípravě nitroalkoholů **12–14** byl redukčním činidlem první volby $\text{Na}[\text{BH}_4]$, který se ukázal být velmi efektivní. Reakce byly prováděny v ethanolu při teplotě 0–25 °C (při přidávání redukčního činidla byla reakční směs chlazená směsí $\text{H}_2\text{O}/\text{led}$). Takto zvolené reakční podmínky poskytovaly požadované látky **12–14** ve velmi vysokých výtěžcích. Struktura nitroalkoholu **13** byla potvrzena také pomocí rentgenové difrakční analýzy (viz **Příloha 2b**).

Následnou redukcí nitroskupiny sloučenin **12–14** pomocí „pentakarbonylovaného“ železa ve směsi kyseliny chlorovodíkové a methanolu (1/1, v/v) byly v uspokojivých výtěžcích připraveny aminoalkoholy **15** a **17** (*ORTEP* diagram asymetrické jednotky aminu **17** je součástí **Přílohy 2c**), nicméně redukce

nitroalkoholu **13** byla doprovázena nukleofilní substitucí za vzniku methoxyaminu **16**, který byl izolován ve výtěžku 85 %. Pro přípravu požadovaného aminoalkoholu **18** byl nakonec zvolen postup spočívající v katalytické hydrogenaci nitroalkoholu **13** na Ra-Ni ve směsi dioxan/hexan (1/1, v/v) za laboratorní teploty. Struktura produktu, který byl získán v takřka kvantitativním výtěžku byla vyjma běžně používaných metod strukturní analýzy (IR, MS, NMR) potvrzena také rentgenovou difrakcí³⁴⁴. Asymetrická jednotka sloučeniny **18** se skládá ze dvou enantiomerů spojených intermolekulárními O—H...N vodíkovými vazbami a π - π interakcemi. (Obrázek 25).



Obrázek 25. ORTEP diagram asymetrické jednotky aminoalkoholu **18**. Vodíkové vazby jsou znázorněny přerušovanými čarami. Vybrané vazebné délky [Å] a torzní úhly [°]: C11—C1 1,562(6); C11—C12 1,514(6); C11—O1 1,422(5); O1—H1A 0,84; H1A—N2 2,04; C31—C21 1,547(6), C31—C32 1,518(6); C31—O2 1,44(5); O2—H2A 0,84; H2A—N1 2,06; C21—C31—C32—C37 -89,7(5); C1—C11—C12—C17 89,5(5).

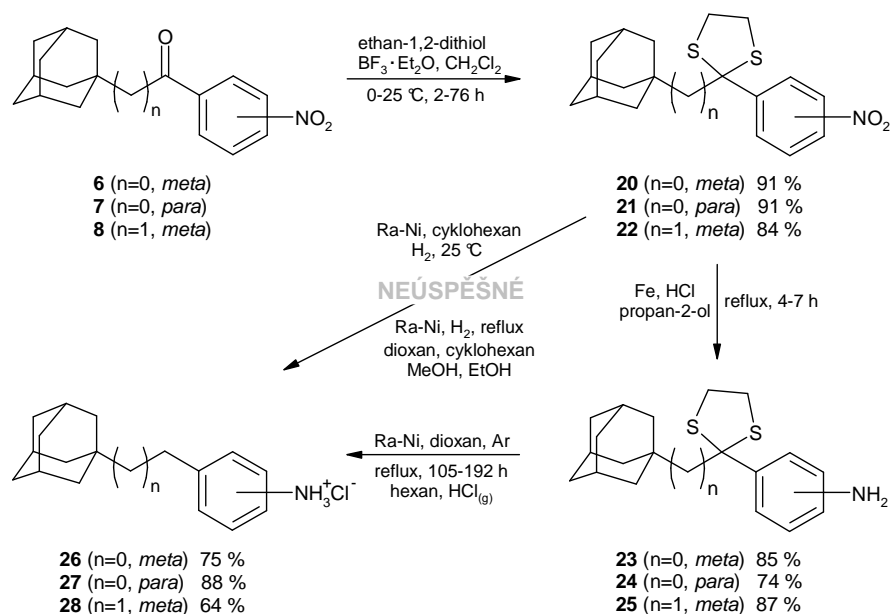
7.1.4 Příprava 1-adamantylanilinů s nepolárním alifatickým řetězcem

Stejně, jako tomu bylo v případě přípravy aminoalkoholů **15**, **16** a **18**, tak i při syntéze aminů **26–28**, které obsahují nepolární alifatický řetězec mezi adamantanovým skeletem a aromatickým kruhem, bylo možné uvažovat o jiném než zvoleném postupu. Nicméně metody přicházející v úvahu pro redukci karbonylové skupiny, jejíž provedení bylo zamýšleno v prvním reakčním kroku, jako např. Wolfova-Kižněrova nebo Clemmensenova redukce, byly zavrženy. Důvodem nebyly jen poněkud náročnější reakční podmínky (např. relativně vysoká reakční teplota při Wolfově-Kižněrově redukci), ale také obecně známá toxicita používaných činidel (např. hydrazin prokazatelně poškozuje zažívací a endokrinní soustavu). Zvolena tedy byla delší cesta zahrnující přípravu odpovídajících *S,S*-acetalů, redukci nitroskupiny železem v propan-2-olu a Mozingovu desulfurizaci^{345,346} pomocí Ra-Ni na odpovídající amin (Schéma 31). Jednotlivé reakce použité pro přípravu sloučenin **26–28** se zdály

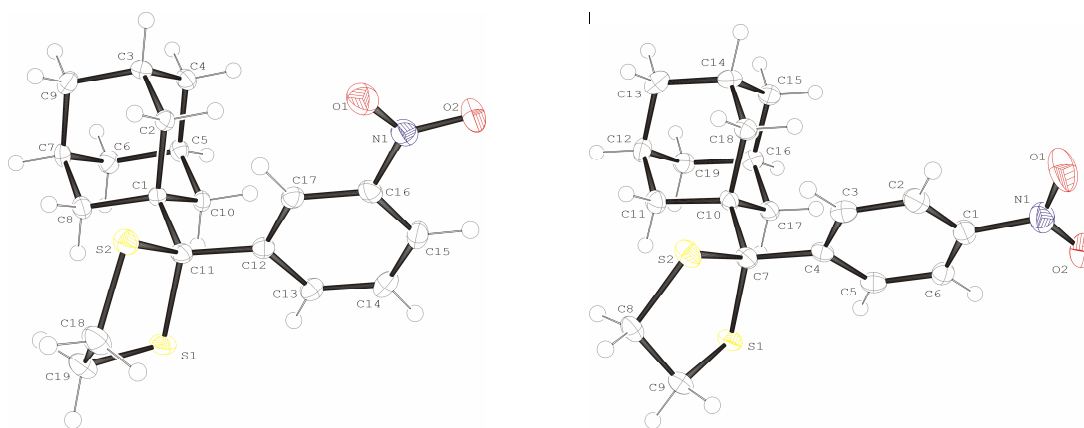
být výhodné také s ohledem na relativně vysoké výtěžky, ve kterých obecně poskytují požadované produkty.

V prvním kroku byly reakcí výchozích nitroketonů **6–8** s ethan-1,2-dithiolem v dichlormethanu za přítomnosti $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ připraveny sloučeniny **20–22**. Ketony **6** a **7** vstupovaly do reakce velmi ochotně, což ovlivnilo reakční dobu (< 2 h), v níž byl veškerý výchozí materiál přeměněn na požadovaný produkt. Naproti tomu keton **8**,

Schéma 31



delší o jednu methylenovou skupinu, reagoval o něco pomaleji, než výše zmíněné ketony **6** a **7**, přičemž reakce byla ukončena přibližně po 76 hodinách. Vzhledem k menšímu sterickému bránění, k němuž dochází u ketonu **8**, lze považovat jeho nižší reaktivitu za poněkud překvapivou. Požadované látky byly získány krystalizací ze směsi dichlormethan/hexan v podobě nažloutlých monokrystalů vhodných pro rentgenovou difrakční analýzu. ORTEP diagramy asymetrických jednotek sloučenin **20** a **21** jsou uvedeny na **Obrázku 26**.



Obrázek 26. ORTEP diagramy *meta*-nitrodithiolanu **20** (vlevo) a *para*-nitrodithiolanu **21** (vpravo).

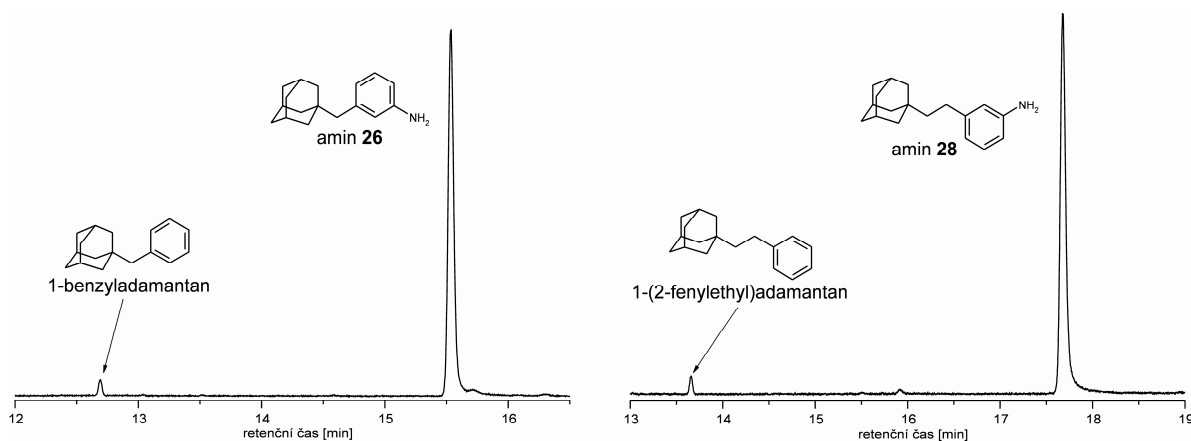
Následné pokusy o přímou redukci/desulfurizaci sloučenin **20–22** na cílové nepolární aminy katalytickou hydrogenací na Ra-Ni nebyly úspěšné. Reakce

výchozích nitrodithiolanů **20–22** v cyklohexanu nebo dioxanu za laboratorní, příp. zvýšené teploty poskytovaly jen obtížně purifikovatelné směsi produktů. Při refluxování reakční směsi v polárních protických rozpouštědlech (EtOH, MeOH) pak docházelo k alkylačním reakcím, a to buď za vzniku desulfurizovaných *N*-alkylaminů nebo k desulfurizaci nedocházelo vůbec a produktem tak byly *N*-alkylaminodithiolany (struktura vznikajících produktů byla určena pomocí GC-MS).

Z tohoto důvodu byly finální sloučeniny **26–28** připraveny redukcí nitroskupiny v prvním kroku a desulfurizací dithiolanového kruhu za vzniku methylenové skupiny v kroku druhém.

Při redukci nitroskupiny bylo opět použito „pentakarbonylované“ železo v HCl. Z důvodu zabránění nežádoucím alkylačním reakcím na atomu dusíku vznikající aminoskupiny, jako tomu bylo při neselektivní redukci nitroketonu **6** za vzniku sloučeniny **19**, bylo zvoleno rozpouštědlo s nižší alkylační schopností, a sice propan-2-ol. Redukce za takto zvolených podmínek proběhly úspěšně a požadované sloučeniny **23–25** byly po purifikaci surových směsí sloupcovou chromatografií izolovány ve výtěžcích 74–87 %.

Následné desulfurizace byly prováděny pomocí Ra-Ni v dioxanu za vyšších teplot pod ochrannou argonovou atmosférou. Jistou nevýhodou této reakce je nutnost použití velkého nadbytku Ra-Ni vůči výchozímu dithioacetalu³⁴⁵. Jednotlivé dávky čerstvě připraveného Ra-Ni byly do reakční směsi přidávány v okamžiku pozastavení průběhu reakce směrem k požadovanému produktu, což bylo monitorováno pomocí GC-MS. Kromě předpokládané desulfurizace docházelo ve všech případech také k desulfurizaci doprovázené deaminací za vzniku příslušného vedlejšího produktu, který byl ze surové směsi odstraněn pomocí sloupcové chromatografie. Zatímco v případě desulfurizace sloučenin **23** a **24** byl vedlejším produktem 1-benzyladamantan, tak při desulfurizaci látky **25** vznikal 1-(2-fenylethyl)adamantan. Struktura vedlejšího produktu vznikajícího při desulfurizaci sloučenin **23** a **24** byla navržena na základě hmotnostních spekter získaných metodou GC-EI-MS. Hmotnostní spektrum vedlejšího produktu, který doprovázel desulfurizaci aminodithiolanu **25** mohlo být navíc porovnáno s hmotnostním spektrem 1-(2-fenylethyl)adamantanu, který byl již dříve připraven a jeho struktura potvrzena vyjma IR, MS a NMR také rentgenovou difrakční analýzou³⁴⁷. Část chromatografického záznamu surové směsi získané Mazingovou desulfurizací sloučenin **23** a **25** je, spolu se strukturami vznikajících látek, uvedena na **Obrázku 27**. Jednotlivé nepolární aminy **26–28** byly po přečištění sloupcovou chromatografií získány v podobě olejů, které byly následně rozpuštěny v hexanu a zavedením suchého plynného chlorovodíku do vzniklého roztoku převedeny na odpovídající anilinium-chloridy ve výtěžcích 64–88 %.

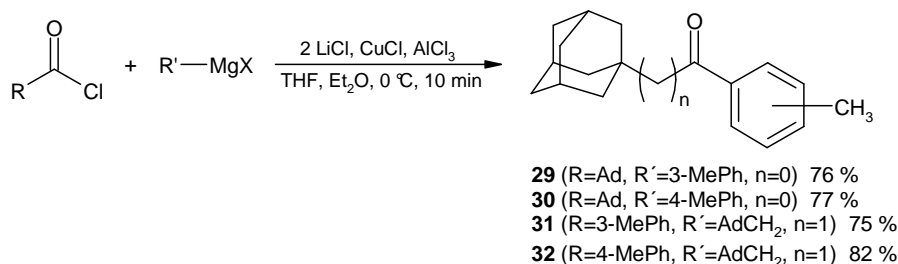


Obrázek 27. Část záznamu GC-MS surové směsi po Mozingově desulfurizaci aminodithiolanu **23** (vlevo) a aminodithiolanu **25** (vpravo).

7.2 Syntézy vedoucí k 1-adamantylbenzylaminům

Při zamýšlené syntéze cílových 1-adamantylbenzylaminů bylo nejprve nutné připravit výchozí 1/2-(1-adamantyl)-1-tolylmethanony/ethan-1-ony **29–32**, a to reakcí acylchloridu s odpovídajícím Grignardovým činidlem v přítomnosti katalytického množství příslušného halogenidu (**Schéma 32**). Všechny požadované 1-adamantyl(tolyl)ketony byly po separaci příslušného vedlejšího produktu (např. 4,4'-dimethylbifenyly vznikajícího při přípravě ketonu **30**) sloupcovou chromatografií izolovány v dobrých výtěžcích (75–82 %) a použity jako výchozí látky pro následnou přípravu cílových benzylaminů.

Schéma 32



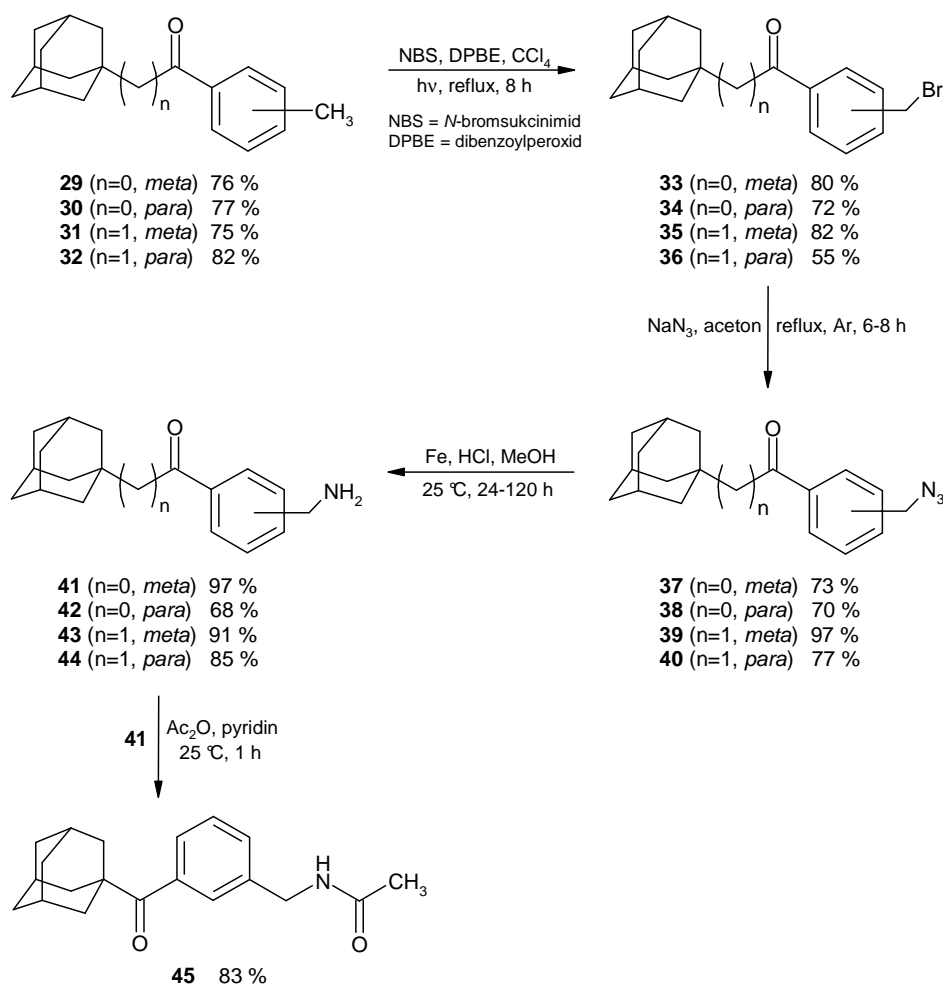
Požadované 1-adamantylbenzylaminy **41–44** byly následně syntetizovány po sobě jdoucí radikálovou bromací za použití *N*-bromsukcinimidu (NBS), nukleofilní substitucí bromu azidovou funkční skupinou a redukcí azidu na odpovídající benzylamin, jak je naznačeno na **Schématu 33**.

Pro radikálovou bromaci ketonů **29–32** bylo použito ekvivalentního množství NBS, přičemž reakce byla prováděna v bezvodém tetrachlormethanu při teplotě 80–85 °C. Samotná reakce byla iniciována použitím katalytického množství dibenzoylperoxidu (DPBE) a ozařováním wolframovou lampou. Tímto postupem byly požadované bromderiváty získány ve výtěžcích okolo

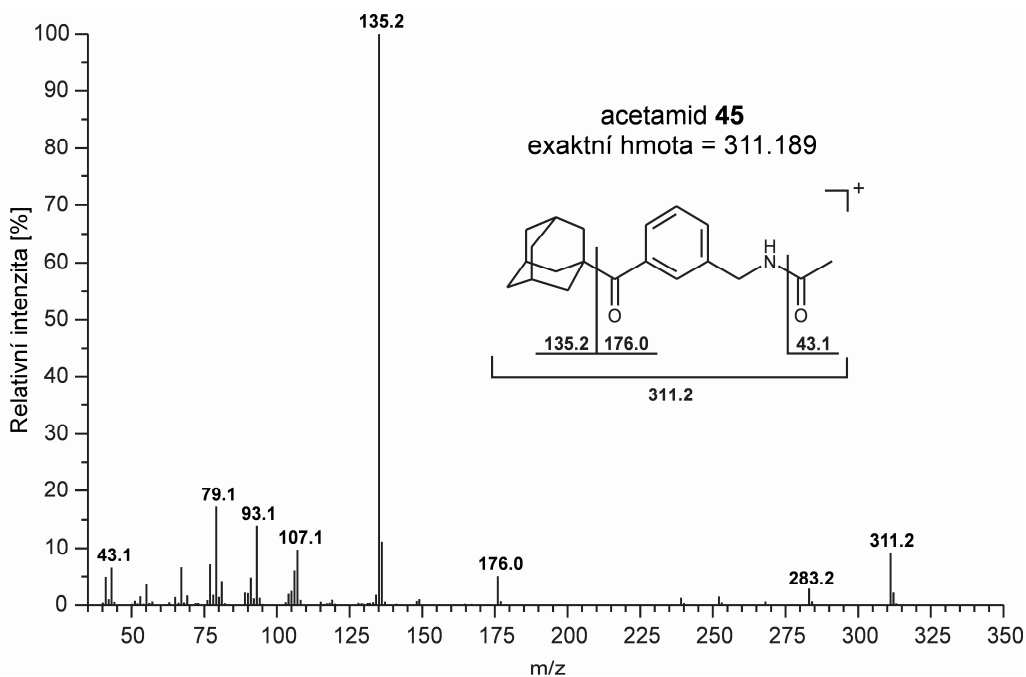
70 %. Sloučeniny **34** a **36** obsahující methylbromid v poloze *para* na aromatickém kruhu byly po přečištění sloupcovou chromatografií izolovány v podobě bezbarvých krystalků, zatímco ketony nesoucí tento substituent v poloze *meta*, tedy látky **33** a **35**, měly podobu bezbarvých olejů, které se během několika dní při teplotě $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ přeměnily na látky pevné.

Ve druhém kroku byly bromderiváty **33–36** ponechány reagovat s 10 ekvivalenty azidu sodného v acetonu podle postupu popsaného Seongem³⁴⁸. Vynikajícího výtěžku (97 %) bylo dosaženo při přípravě azidoketonu **39**, u sloučenin **37**, **38** a **40** se výtěžky pohybovaly v rozmezí 70–77 %. Z důvodu obtížné prostupnosti připravovaných azidů přes kolonu plynového chromatografu byl průběh reakce monitorován pouze pomocí TLC. Pro potvrzení přítomnosti azidové funkční skupiny v izolovaných sloučeninách pak byla použita infračervená spektroskopie. Ve spektrech látek **37–40** byly pozorovány silné absorpční pásy s vlnočty $2098\text{--}2102\text{ cm}^{-1}$ typickými pro azidovou skupinu^{349,350}.

Schéma 33



Redukce azidoketonů **37–40** na odpovídající aminy se oproti původnímu očekávání ukázala být značně problematická. Vyzkoušena byla celá řada redukčních činidel (např. triethylfosfin³⁵¹, propan-1,3-dithiol³⁵², zinek v kyselině octové³⁵³, Li[AlH₄]³⁵⁴ aj.) a rozličných reakčních podmínek, ale ani v jednom případě nebyl detekován vznik požadovaného produktu v reakční směsi. Nakonec se jako nejvhodnější ukázalo být použití, již několikrát zmiňovaného, „pentakarbonylovaného“ železa v prostředí 1–2M methanolické HCl. Reakce byly prováděny za laboratorní teploty, přičemž jednotlivé porce železa byly do směsi přidávány dokud TLC neindikovala spotřebování veškeré výchozí látky. Sloučeniny **41–44** byly izolovány, po neutralizaci reakční směsi, ve formě volných bází ve výtěžcích 68–97 %. Na rozdíl od aminů **42–44**, které se ukázaly být jako volné báze relativně stabilní, bylo v případě látky **41** zjištěno, že je v této formě značně nestálá (během několika desítek minut za laboratorní teploty docházelo k její přeměně z bezbarvého oleje na bezbarvou pevnou látku, kterou se nepodařilo blíže identifikovat). Z tohoto důvodu byl proveden pokus o převedení látky **41** na hydrochlorid. Nicméně při zavádění suchého plynného chlorovodíku do roztoku sloučeniny **41** v methanolu vznikal, namísto očekávané pevné látky, opět bezbarvý olej. Ačkoliv byl v hmotnostním spektru látky **41** pozorován signál o $m/z = 269$ odpovídající hodnotě molekulového iontu požadovaného aminu, data získaná infračervenou spektroskopií a nukleární magnetickou rezonancí nebyla použitelná a struktura této látky tak nemohla být s jistotou potvrzena. Proto bylo rozhodnuto převést sloučeninu **41** na *N*-substituovaný acetamid **45**. Toho bylo dosaženo acetylací látky **41** v pyridinu za laboratorní teploty při výtěžku 83 %. Struktura acetamidu **45** byla následně potvrzena pomocí NMR, IR a MS. V ¹³C NMR spektru acetamidu **45** byly, kromě jiných, pozorovány signály atomu uhlíku CH₃ ($\delta = 23$ ppm) a dále pak dvou karbonylových skupin. Kvarterní uhlík pocházející z acetamidové skupiny rezonoval v oblasti 170 ppm. Naproti tomu chemický posun karbonylu umístěného mezi adamantanovým skeletem a aromatickým kruhem byl 210 ppm. V hmotnostní spektru sloučeniny **45** (**Obrázek 28**), které bylo získáno technikou plynové chromatografie s hmotnostní detekcí, byl pozorován signál 311 m/z korespondující s molekulovou hmotností acetamidu **45**. Identifikovány byly také signály o $m/z = 43$, 135 a 176 vznikající fragmentací molekulového iontu, jak je naznačeno na **Obrázku 28**.



Obrázek 28. Hmotnostní spektrum acetamidu **45**.

7.3 Příprava 2,6,9-trisubstituovaných purinů

Pro syntézu 2,6,9-trisubstituovaných purinů nesoucích v poloze 6 substituent obsahující adamantanový skelet byl zvolen třístupňový sled reakcí. V prvním kroku byl výchozí 2,6-dichlor-9*H*-purin alkylován na atomu dusíku pětičlenného kruhu (N9). Následně byl atom chloru na C6 nahrazen „aminoadamantanovým“ substituentem. U takto získaných 9-alkyl-6-, „amino“-2-chlor-9*H*-purinů byla provedena nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze 2 alifatickým aminoalkoholem.

Uvedený sled reakčních kroků byl zvolen s ohledem na fakt, že změna pořadí prvního a druhého kroku, která také přicházela v úvahu, by mohla být do jisté míry nevýhodná. Prvním důvodem je časová neefektivnost vycházející z nutnosti alkylovat každý „6-amino“-2-chlor-9*H*-purin samostatně. Navíc alkylace připravených 6-, „amino“-2-chlor-9*H*-purinů by mohly vyžadovat použití silnějších bází, např. NaH, což by, vzhledem ke značným redukčním schopnostem hydridu sodného, mohlo vést k tvorbě nežádoucích produktů. Redukční účinky NaH by se mohly projevit u purinů substituovaných na C6 1-adamantylaminy obsahujícími mezi adamantanovým skeletem a aromatickým kruhem karbonylovou skupinu (sloučeniny **9–11** a **41–44**), která by mohla podléhat redukci za vzniku skupiny hydroxylové. Nutno podotnout, že alkylace 6-, „amino“-2-chlor-9*H*-purinů by díky sterickému bránění pravděpodobně docházelo výhradně k alkylace do polohy 9 purinového kruhu a byly tak získávány jen N9-alkylované produkty. Nicméně, tento fakt nijak neovlivnil

konečné rozhodnutí připravit sérii purinových sloučenin postupem uvedeným v prvním odstavci této kapitoly.

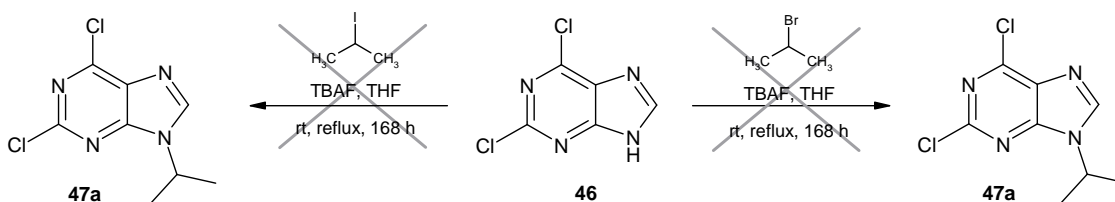
Rozhodnutí připravit sérii purinových sloučenin s rozdílnými 1-adamantylaminy na C6, polárně substituovaným alkylem na C2 a krátkým nepolárním alkylem na N9 vychází z poznatků získaných skupinami, které se přípravě purinových inhibitorů CDKs již delší dobu věnují³⁵⁵. Volba substituentů zaváděných na C2, C6 a N9 purinového skeletu vyplývá především z předpokládané orientace připravovaných sloučenin ve vazebném místě pro ATP.

7.3.1 Alkylace 2,6-dichlor-9H-purinu

Výchozí látkou pro zde diskutované alkylační reakce, ale ve své podstatě také pro přípravu celé nové série 2,6,9-trisubstituovaných purinů, byl komerčně dostupný 2,6-dichlor-9H-purin (**46**) pořízený v minimální garantované čistotě 99,0 % a nevyžadující tak žádnou další purifikaci. Volba navázat do polohy 9 isopropyl byla podpořena celou řadou již připravených purinových sloučenin s prokazatelnou afinitou vůči CDKs (cit.^{95,96,107,112}).

Jako první byla vyzkoušena alkylace „asistovaná“ tetrabutylamonium-fluoridem (TBAF)³⁵⁶, která měla podle autorů citované práce probíhat ve velmi krátkých časech (10 min) při získání N9/N7 isomerů v relativním procentuálním zastoupení 70/30. Nutno ovšem podotknout, že uvedená reakční doba se týkala primárního halogenalkanu, a sice methyljodidu. Vzhledem k záměru navázat na N9 isopropyl bylo nezbytně nutné použít sekundární alkylhalogenid a počítat tak, z důvodu sterického bránění, s delší reakční dobou. Alkylačním činidlem první volby byl 2-bromopropan. Reakční směs byla zpočátku míchána při laboratorní teplotě. Když nebyl ani po 48 hodinách zaznamenán vznik požadovanému produktu **47a** (monitorováno GC-MS), byla reakční směs dále refluxována. Ovšem ani zvýšení teploty nevedlo k očekávanému cíli. Proto byla reakce opakována s činidlem o vyšší alkylační schopnosti, 2-jodopropanem, nicméně se stejným výsledkem jako v předchozím případě (**Schéma 34**).

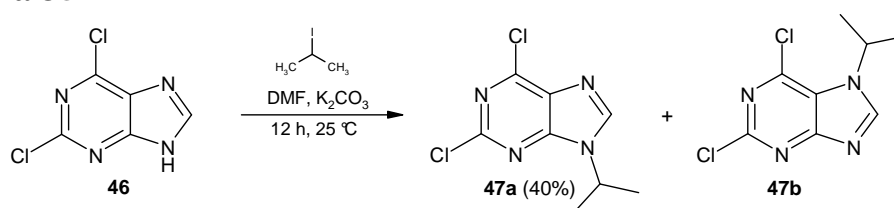
Schéma 34



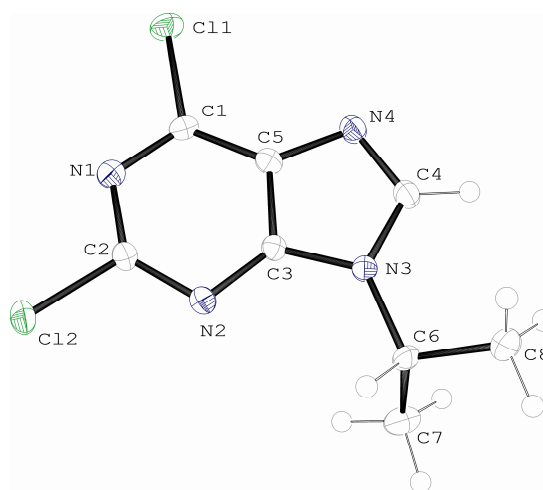
Další vyzkoušenou metodou byla reakce látky **46** s 2-jodopropanem za přítomnosti K_2CO_3 v DMF, jak je znázorněno na **Schématu 35**. Reakce byla prováděna za laboratorní teploty po dobu 12 h. Alkylační činidlo bylo do směsi přidáváno postupně ve 120 minutových intervalech, přičemž v rámci každého

intervalu bylo přidáno 20% obj. činidla. Vznikající N9 a N7 isomery byly odděleny krystalizací (ethyl-acetát/hexan), v případě nutnosti následovanou sloupcovou chromatografií (petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v). Požadovaný 2,6-dichlor-9-isopropyl-9*H*-purin (**47a**) byl získáván obvykle ve výtěžcích okolo 40 %, což odpovídá výtěžku uvedenému v literárním zdroji³³⁰, z něhož byl postup převzat. Struktura N9 isomeru **47a** byla, kromě obvykle používaných metod (IR, MS a NMR), potvrzena také rentgenovou difrakční analýzou (**Obrázek 29**). Struktura látky **47b**, která vznikala v reakční směsi v minoritním množství, byla navržena na základě hmotnostní spektrometrie.

Schéma 35



Další pokus o přípravu látky **47a** byl uskutečněn na základě práce citované v kapitole 2.1.3 (strana 27, Schéma 3, cit.¹⁴⁰). Avšak ani přes precizní kontrolu teploty mezi 15 až 18 °C (doporučení autorů výše citované publikace) po celou dobu provádění reakce (8 h) nebyl, na rozdíl od původní práce, potvrzen vznik výhradně N9-alkylovaného derivátu. Pomocí GC-MS byla v surové reakční směsi identifikována také přítomnost N7 isomeru (**Tabulka 5, Exp. III**). Nutno podotknout, že takto zvolené reakční podmínky poskytovaly purin **47a** ve vyšším výtěžku, než za podmínek popsanych na Schématu 35, a sice 60 %.



Obrázek 29. ORTEP diagram látky **47a**.

Tento experiment byl primárním podnětem pro uskutečnění série alkylací 2,6-dichlor-9*H*-purinu (**46**). Cílem bylo sledovat složení reakčních směsí za různých podmínek. Jako alkylační činidla byly zvoleny 2-brompropan a 2-jodpropan (vždy 5,0 ekviv), dále byly použity dva typy rozpouštědel (DMF a DMSO) a také dvě různé reakční teploty, a sice běžná laboratorní teplota a teplota 15–18 °C. Jako báze byl vždy použit K₂CO₃ (3,0 ekviv). Všechny reakce byly ukončeny po 8 hodinách, přičemž následovala analýza surové směsi pomocí GC-MS. Získané výsledky jsou uvedeny v **Tabulce 5**.

Tabulka 5. Vliv reakčních podmínek na složení surové směsi vznikající při alkylnaci 2,6-dichlor-9*H*-purinu (**46**).

Exp.	Alkylační činidlo	Rozp.	Teplota [°C]	Rel. zastoupení produktů detekovaných GC-MS [%]		
				Sloučenina (<i>m/z</i>)		
				47a (230/232/234)	49 (239/241)	47b (230/232/234)
I	2-jodpropan	DMF	15–18	81	8	11
II	2-jodpropan	DMF	lab. tep.	78	14	8
III	2-jodpropan	DMSO	15–18	89	–	11
IV	2-jodpropan	DMSO	lab. tep.	86	–	14
V	2-brompropan	DMF	15–18	69	25	6
VI	2-brompropan	DMF	lab. tep.	68	29	3
VII	2-brompropan	DMSO	15–18	90	–	10
VIII	2-brompropan	DMSO	lab. tep.	90	–	10

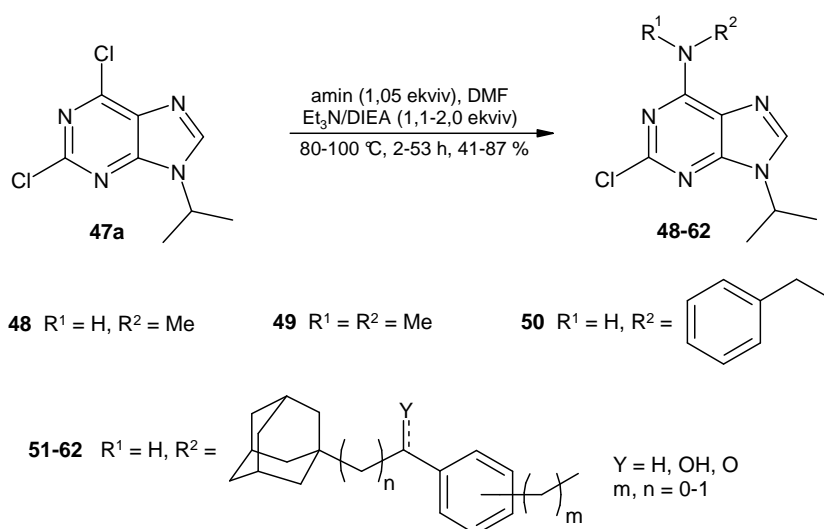
Ze získaných údajů vyplývá, že podstatný dopad na průběh reakce měl zejména druh použitého rozpouštědla. Ve všech případech, kdy byl jako rozpouštědlo použit DMF, byl v reakční směsi zaznamenán vznik vedlejšího produktu o $m/z = 239/241$, zatímco experimenty uskutečněné v DMSO tuto látku neposkytovaly. Část záznamu plynového chromatografu a hmotnostní spektra detekovaných látek získané za podmínek **Exp. II (Tabulka 5)** jsou součástí **Příloh 1a–d**. Z charakteru hmotnostního spektra vedlejšího produktu o $m/z = 239/241$ (viz **Příloha 1c**) lze usuzovat, že se jedná o látku obsahující jen jeden, nikoli dva atomy chloru, a to na základě přibližného poměru pozorovaného u signálů 239/241 m/z , který byl 3/1, což je pro izotopy ^{35}Cl (239 m/z) a ^{37}Cl (241 m/z) typické. Naopak při studiu hmotnostních spekter píků náležitých N9 (látka **47a**) a N7 (látka **47b**) isomerům (viz **Přílohy 1b a 1d**), byl kromě signálů o $m/z = 230/232$ (odpovídajících izotopové kombinaci $^{35}\text{Cl} + ^{35}\text{Cl}$ pro $m/z = 230$ a $^{35}\text{Cl} + ^{37}\text{Cl}$ pro $m/z = 232$) pozorován také vznik signálu o $m/z = 234$ vyjadřující přítomnost dvou izotopů ^{37}Cl . Zastoupení signálů 230/232/234 bylo v přibližném poměru 9/6/1 odpovídajícímu sloučeninám se dvěma atomy chloru. Přestože se látku o $m/z = 239/241$ nepodařilo ze surové směsi izolovat, byla určena její struktura. Z povahy hmotnostního spektra bylo zřejmé, že se jedná o sloučeninu obsahující pouze jeden atom chloru (viz komentář výše), což znamená, že jeden z atomů chloru purinového kruhu musel být nahrazen jiným substituentem. Vzhledem k obecně známé vyšší ochotě atomu chloru na C6 oproti atomu chloru na C2 purinového kruhu vstupovat do nukleofilních substitucí bylo zřejmé, že došlo k navázání jiného substituentu do polohy 6 purinového skeletu. Další úvahy se ubíraly

směrem k použitému typu rozpouštědla. Tím byl DMF, který může v přítomnosti báze podléhat dekarboxylaci za vzniku oxidu uhelnatého a dimethylaminu³⁵⁷, který by mohl nahradit atom chloru na C6 purinového kruhu a poskytnout tak 2-chlor-9-isopropyl-*N,N*-dimethyl-9*H*-purin-6-amin. Vznik této sloučeniny byl nakonec potvrzen díky možností porovnat hmotnostní spektrum sloučeniny o $m/z = 239/241$ se spektrem standardu (purin **49**, Schéma 36, Tabulka 6, Exp. II). Poměrně zásadní vliv na vznik sloučeniny **49** měl také druh alkylačního činidla, kdy v případě použití 2-brompropanu došlo k více než dvojnásobnému nárůstu relativního zastoupení této látky v surové reakční směsi. Poněkud méně ovlivňovala tvorbu nežádoucího produktu reakční teplota, kdy její udržování v rozmezí 15–18 °C vedlo k přibližně 5% poklesu vzniku sloučeniny **49**. Nutno zdůraznit, že problémům s tvorbou diskutované látky lze snadno předejít použitím DMSO namísto DMF.

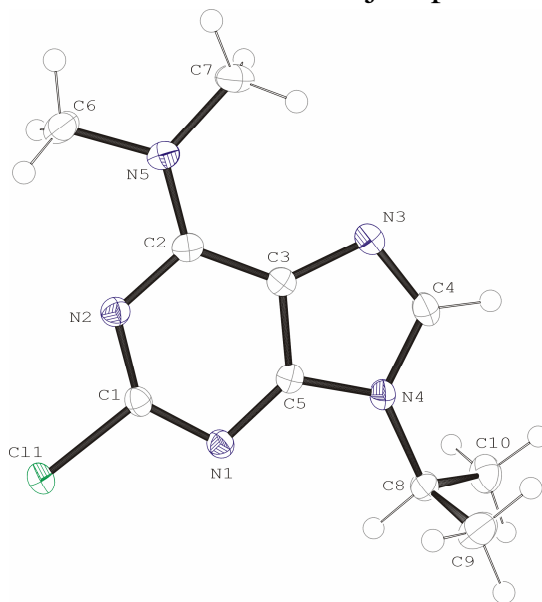
7.3.2 S_NAr 2,6-dichlor-9-isopropyl-9*H*-purinu na C6

Ve druhém kroku, vedoucím k přípravě nových 2,6,9-trisubstituovaných purinů, byla provedena série nukleofilních aromatických substitucí atomu chloru na C6 sloučeniny **47a** primárním aminem poskytující příslušný 6-„amino“-2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purin. Selektivita substituce atomu chloru v poloze 6 byla (jak je zmíněno výše) zaručena jeho obecně známou vyšší reaktivitou oproti atomu chloru umístěnému na C2. Všechny aminy zaváděné na C6 purinového kruhu byly použity v 1,05 molárním přebytku ve vztahu k výchozímu purinu **47a**. Jako báze byl po několika prvních reakcích vybrán triethylamin (Et₃N), zvoleným rozpouštědlem byl DMF. Látkové množství báze bylo odvozeno od povahy příslušného aminu, tzn. že u volných bází byl použit 1,1 molární přebytek a v případě hydrochloridů to bylo 2,0 ekvivalentní množství. Reakce byly uskutečňovány při teplotě 80–100 °C pod chlorkalciovým uzávěrem³³² (Schéma 36).

Schéma 36



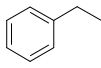
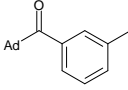
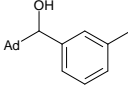
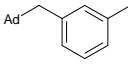
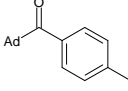
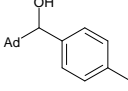
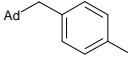
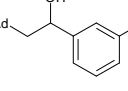
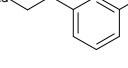
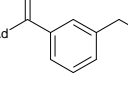
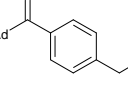
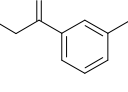
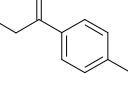
Před zavedením předešle připravených 1-adamantylaminů na purinový kruh byly provedeny reakce s jednoduchými aminy, a sice methylamonium-chloridem a benzylamonium-chloridem. Methylamonium-chlorid byl použit jen pro potvrzení, že zvolené reakční podmínky poskytnou požadovaný produkt. Reakcí methylaminonium-chloridu s purinem **47a** v Et₃N za výše uvedených podmínek byl v surové směsi pomocí GC-MS detekován nejen požadovaný purin **48** (Tabulka 6, Exp. I), ale také *N,N*-dimethylderivát **49** (Tabulka 6, Exp. II). Relativní zastoupení látek **48** a **49** bylo v poměru 96 : 4 % (GC-MS). Avšak v případě použití silnější báze (DIEA) byl zaznamenán zásadní nárůst relativního zastoupení neočekávaně vznikajícího *N,N*-dimethylderivátu **49**, přičemž se poměr látek **48** a **49** změnil na 42 : 58 %. Sloučenina **49** byla ze surové směsi izolována pomocí sloupcové chromatografie a její struktura byla následně potvrzena nejen použitím NMR, ale také pomocí rentgenové difrakce³⁵⁸ (Obrázek 30).



Obrázek 30. ORTEP diagram látky **49**.

Při přípravě purinu **50** (Tabulka 6, Exp. III) byl nejprve výchozí benzylamin rozpuštěn v methanolu a převeden působením suchého plynného chlorovodíku na hydrochlorid. Důvodem bylo ověření, zda bude benzylamonium-chlorid reagovat a bude tak možné (za stejných podmínek) provést také substituce atomu chloru na C6 1-adamantylaminy, které byly uchovávány ve formě hydrochloridů (látky **26–28**, **42** a **44**). Zvolené reakční podmínky poskytovaly požadovaný purin **50** ve velmi krátkých časech, s výtěžky pohybujícími se v rozmezí 65–69 %. Jelikož se jedná o sloučeninu se známou strukturou, mohla být získaná experimentální data porovnána s literárními hodnotami^{333,334,359}, přičemž ve všech dostupných spektrálních datech byla nalezena shoda. Předložená práce tak alespoň přináší nové informace o struktuře této látky v pevné fázi (ORTEP diagram asymetrické jednotky purinu **50** je uveden v Příloze 2d). Hlavním záměrem při syntéze sloučeniny **50** však bylo získání vhodné referenční látky pro pozdější testování biologických účinků purinů substituovaných 1-adamantylem.

Tabulka 6. S_NAr atomu chloru na C6 purinového kruhu (Schéma 36).

Exp.	Amin	Báze ^b	Množství báze ^c [ekviv]	Reakční doba [h]	Purin ^d			Výtěžek ^e [%]
					číslo	R ¹	R ²	
I	MA ^a	Et ₃ N	2,0	2	48	H	Me	72
II	MA ^a	DIEA	2,0	2	49	Me	Me	54
III	BA ^a	Et ₃ N	2,0	2	50	H		69
IV	9	Et ₃ N	1,1	48	51	H		60
V	15	Et ₃ N	1,1	24	52	H		67
VI	26	Et ₃ N	2,0	23	53	H		75
VII	10	Et ₃ N	1,1	53	54	H		47
VIII	18	Et ₃ N	1,1	25	55	H		47
IX	27	Et ₃ N	2,0	23	56	H		41
X	17	Et ₃ N	1,1	48	57	H		49
XI	28	Et ₃ N	2,0	24	58	H		45
XII	41	Et ₃ N	1,1	2	59	H		72
XIII	42	Et ₃ N	2,0	2	60	H		86
XIV	43	Et ₃ N	1,1	2,5	61	H		77
XV	44	Et ₃ N	2,0	2,5	62	H		87

^a MA = methylamonium-chlorid, BA = benzylamonium-chlorid.

^b Et₃N = triethylamin, DIEA = *N*-ethyl-*N*-isopropylpropan-2-amin.

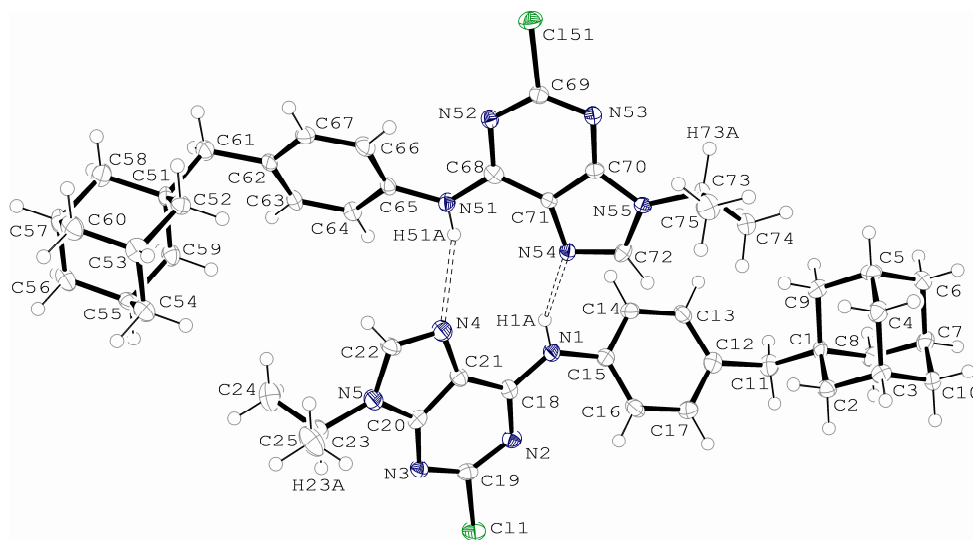
^c Látkové množství báze bylo zvoleno dle povahy výchozího aminu; 1,1 ekvivalentu pro volné báze a 2,0 ekvivalentu v případě hydrochloridů.

^d Ad = 1-adamantyl.

^e Po purifikaci sloupcovou chromatografií.

Jak je patrné z reakčních časů uvedených v **Tabulce 6**, tak celá skupina 1-adamantylanilinů (**Exp. IV–XI**) vstupovala do nukleofilních substitucí na C6 podstatně méně ochotněji, nežli 1-adamantylbenzylaminy, což lze vysvětlit vyšší nukleofilitou benzylaminových sloučenin. Kromě sloučenin **26–28**, tedy aminů s nepolárním alifatickým řetězcem mezi adamantanovým skeletem a benzenovým kruhem, byly všechny ostatní „anilinové“ ligandy použity ve formě volných bází. Nejvyšší výtěžky, v rozmezí 60–75 %, poskytovaly „krátké“ 1-adamantylaniliny substituované v poloze *meta* (**9**, **15** a **26**), zatímco z jejich *para* analogů (**10**, **18** a **27**) a také „dlouhých“ *meta* aminů **17** a **28** byly odpovídající puriny připraveny ve výtěžcích okolo 40–50 %. Největší problémy při purifikaci získaných surových směsí pomocí sloupcové chromatografie se vyskytovaly u purinů **53**, **56** a **58** nesoucích na atomu uhlíku v poloze 6 nepolární 1-adamantylaniliny, a to z důvodu velmi podobných retenčních faktorů těchto látek a výchozího purinu **47a**. Úplného přečištění tak bylo dosaženo v průměru po dvou až třech chromatografických děleních.

Při následných pokusech o vypěstování vhodných monokrystalů pro RTG byl zaznamenán úspěch pouze v případě purinu **56**. Monokrystal této látky byl získán kapalnou difuzí ze směsi aceton/hexan (3/1, v/v) za laboratorní teploty³⁶⁰. *ORTEP* diagram asymetrické jednotky purinu **56** složené ze dvou geometricky mírně odlišných molekul, které tvoří dimery pomocí N—H…N vodíkových vazeb, je spolu s vybranými parametry pro oba konformery uveden na **Obrázku 31**.



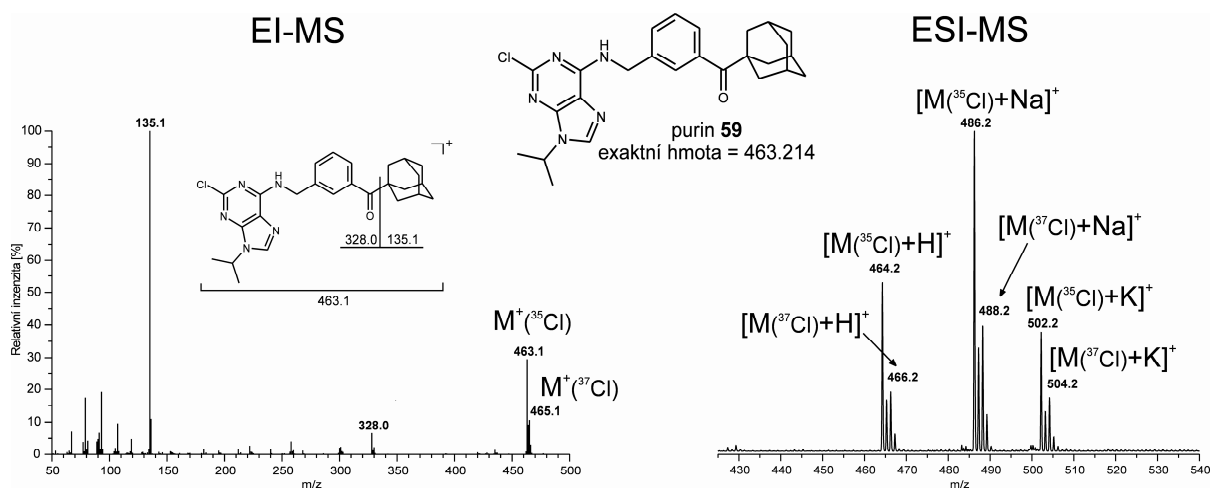
Obrázek 31. *ORTEP* diagram asymetrické jednotky purinu **56**. Vodíkové vazby jsou znázorněny přerušovanými čarami. Vybrané vazebné délky [Å] a torzní úhly [°]: N1—H1A 0,88; H1A—N54 2,14; N51—H51A 0,88; H51A—N4 2,27; C22—N5—C23—H23A -177,4(2); C21—C18—N1—C15 174,9(2); C17—C12—C11—C1 -94,6(3); C72—N55—C73—H73A 144,0(2); C71—C68—N51—C65 173,9(2); C67—C62—C61—C51 -98,4(2).

Kromě relativně krátkých reakčních časů bylo zavedení 1-adamantylbenzylaminů **41–44** (**Tabulka 6, Exp. XII–XV**) na purinový kruh zajímavé také ve vztahu k dosaženým výtěžkům, které byly ve všech případech (látky **59–62**) vyšší než 70 %. To lze vysvětlit vyšší nukleofilitou benzylaminů **41–44** v porovnání s 1-adamantylaniliny. Také v případě purinů **59–62** byla provedena řada pokusů vedoucích k získání monokrystalů vhodných pro rentgenovou difrakční analýzu. To se nakonec podařilo u látek **60** a **62**, a sice spontánní krystalizací z deuterovaného chloroformu v případě purinu **60** (**Příloha 2e**, cit.³⁶¹), jehož asymetrická jednotka se skládá z jedné molekuly chloroformu a jedné molekuly purinu v poměru 1:1, a kapalnou difuzí ze směsi aceton/hexan (3/1, v/v) v případě purinu **62** (**Příloha 2f**, cit.³⁶²).

Jediný neúspěch byl zaznamenán při zavádění aminoketonu **11** na C6 purinového kruhu, kdy ani použití silnější báze (DIEA), ani změna rozpouštědla (DMSO) nevedly k požadovanému cíli. Ve všech případech vznikala složitá směs látek, přičemž pokusy o izolaci jednotlivých složek surové směsi pomocí sloupcové chromatografie či krystalizace nebyly úspěšné.

Všechny výše popsané purinové sloučeniny (**48–62**) byly charakterizovány běžně používanými metodami strukturní analýzy, tj. IR, EI-MS, ESI-MS a NMR (¹H a ¹³C). Jejich výsledky (vyjma ESI-MS analýz) jsou uvedeny v experimentální části (**kapitola 6.3.2**).

Hmotnostní spektra sloučenin **48–50** byla získána pomocí techniky plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GC-EI-MS), přičemž použitý hmotnostní spektrometr byl vybaven kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem. Pro látky **51–62** byla z důvodu neprůchodnosti těchto sloučenin kolonou plynového chromatografu zvolena metoda přímého vstupu do hmotnostního spektrometru (DI-EI-MS). U všech analyzovaných látek byl zaznamenán signál o m/z odpovídající molekulovému iontu $[M]^+$, kdy byl vždy pozorován jak signál pro izotop ³⁵Cl, tak pro izotop ³⁷Cl (v přibližném poměru 3/1). Stejně jako struktura všech připravených 1-adamantylaminů (komentovaných v **kapitolách 7.1** a **7.2**), tak také 6-, „amino“-2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purinů byla studována pomocí ESI-MS. U všech analyzovaných látek byl jako dominantní pozorován signál o m/z odpovídající protonovanému molekulovému iontu $[M+H]^+$. Ve většině případů docházelo také k tvorbě sodných $[M+Na]^+$ a draselných $[M+K]^+$ aduktů. Na **Obrázku 32** jsou uvedena hmotnostní spektra sloučeniny **59** získaná oběma diskutovanými technikami. Výsledky ESI-MS analýz připravených purinů jsou blíže komentovány v **kapitole 8.1.1**.



Obrázek 32. Hmotnostní spektra purinu **59** získaná technikami EI-MS a ESI-MS. V případě ESI-MS je uvedena jen vybraná část spektra prvního řádu (+MS).

Při přiřazování signálů pozorovaných v ^1H NMR a ^{13}C NMR spektrech purinů **51–62** byla, kromě struktury, prokázána také čistota připravených sloučenin. Ve všech ^1H NMR spektrech sloučenin **51–62** byl v oblasti 1,54–1,62 ppm pozorován dubletový signál pocházející z methylových skupin isopropylu, který je navázán na atomu dusíku v poloze 9 purinového kruhu. Velmi důležitým faktem byla přítomnost protonů (CH a CH_2) pocházejících z adamantanového skeletu (1,61–2,09 ppm pro CH_2 a 1,91–2,09 ppm pro CH). Atom vodíku patřící aminoskupině vázané na $\text{C}6$ purinového kruhu (C^6NHR) byl pozorován ve dvou různých oblastech, a to v závislosti na tom, zda byl na aromatický kruh příslušného substituentu navázán přímo nebo přes methylenový můstek. V prvním případě (látky **51–58**, C^6NHPh) se tento signál pohyboval v oblasti 7,88–8,63 ppm. U purinů substituovaných 1-adamantylbenzylaminu (látky **59–62**) byl pík náležící protonu $\text{C}^6\text{NHCH}_2\text{Ph}$ pozorován jako široký singlet s chemickým posunem 6,66–6,70 ppm. Atomy vodíku pocházející z již zmíněného methylenového můstku sloučenin **59–62** ($\text{C}^6\text{NHCH}_2\text{Ph}$) byly pozorovány v oblasti 4,88–4,91 ppm. U všech analyzovaných látek byl rovněž naměřen atom vodíku umístěný na purinovém kruhu (NC^8HN). Jelikož se jedná o atom vodíku na atomu uhlíku, na nějž jsou vázány dva elektronegativní atomy dusíku, není překvapivé, že rezonuje při slabším magnetickém poli (7,38 až 8,03 ppm). Ostatní signály přítomné v protonových NMR spektrech byly odvislé od povahy 1-adamantylaminu navázaného na $\text{C}6$ purinového kruhu.

7.3.3 S_NAr 6-, „amino“-2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purinů na C2

Pro získání série 2,6-, „diamino“-9-isopropyl-9*H*-purinů bylo nutné provést nukleofilní aromatickou substituci chloru v poloze 2 purinového kruhu. Také při substituci atomu chloru na C2 purinového kruhu byl zvolený reakční postup nejprve ověřen se sloučeninou, která neobsahovala 1-adamantyl, konkrétně s purinem **50**. V případě, že byl daný postup úspěšný, byl pro jistotu potvrzen také reakcí s purinem **48**. Vzhledem k relativně malým množstvím 6-, „amino“-2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purinů nesoucích 1-adamantyl, které byly získány substitucí atomu chloru na C6, byl pro S_NAr na C2 použit jen jeden substituent, a to 3-aminopropan-1-ol. Tento alifatický aminoalkohol má v poloze C2 navázán také jeden z primárně připravených purinových inhibitorů CDKs triviálně označovaný jako bohemín (**Obrázek 4**, sloučenina **II**, str. 21).

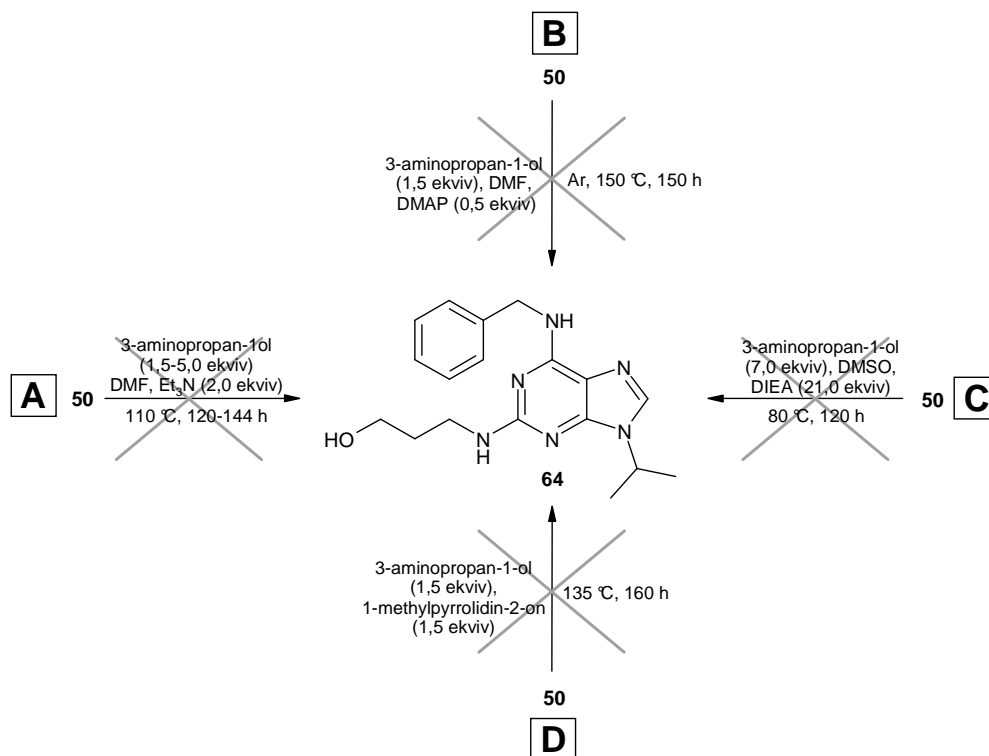
S cílem zavést 3-aminopropan-1-ol na C2 připravených 6-, „amino“-2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purinů bylo postupně neúspěšně vyzkoušeno několik postupů, a to reakcí s purinem **50**, jak je ukázáno na **Schématu 37**.

Nejprve byl proveden pokus o syntézu aplikovanou při substituci atomu chloru na C6 (**Schéma 37A**, cit.³³²). Vzhledem k tomu, že původně zvolený 1,5 molární přebytek 3-aminopropan-1-olu nezajistil posun reakce směrem k požadovanému produktu, byl následně tento aminoalkohol aplikován ve vyšších molárních přebytcích (3,0 a 5,0 ekviv). V těchto případech byl sice zaznamenán jistý pokrok, nicméně vznikající reakční směsi byly značně komplikované (monitorováno pomocí TLC).

Následně byl k přípravě purinu **64** použit 4-(dimethylamino)pyridin (DMAP), což je bazický katalyzátor vhodný nejen pro nukleofilní substituce, ale také celou řadu jiných typů reakcí³⁶³. Reakce byla prováděna při teplotě 150 °C, přičemž 3-aminopropan-1-ol byl použit v 1,5 molárním přebytku a jako rozpouštědlo byl zvolen DMF (**Schéma 37B**). Z důvodu neprůkazné TLC (při použití několika typů mobilních fází) byla reakce po 150 h ukončena, reakční směs zpracována a získaný surový produkt byl analyzován pomocí GC-MS. V izolovaném surovém produktu byl sice nalezen pík, jehož hmotnostní spektrum odpovídalo sloučenině **64**, nicméně jeho relativní zastoupení nepřesáhlo hranici 5 %.

Dalším postupem převzatým z literatury³⁶⁴ byla reakce 3-aminopropan-1-olu (7,0 ekviv) v DMSO a značném nadbytku Hünigovy báze (DIEA; 21,0 ekviv). Reakční směs byla míchána při teplotě 80 °C po dobu 5-ti dní bez jakéhokoli náznaku vzniku očekávaného produktu (**Schéma 37C**).

Schéma 37



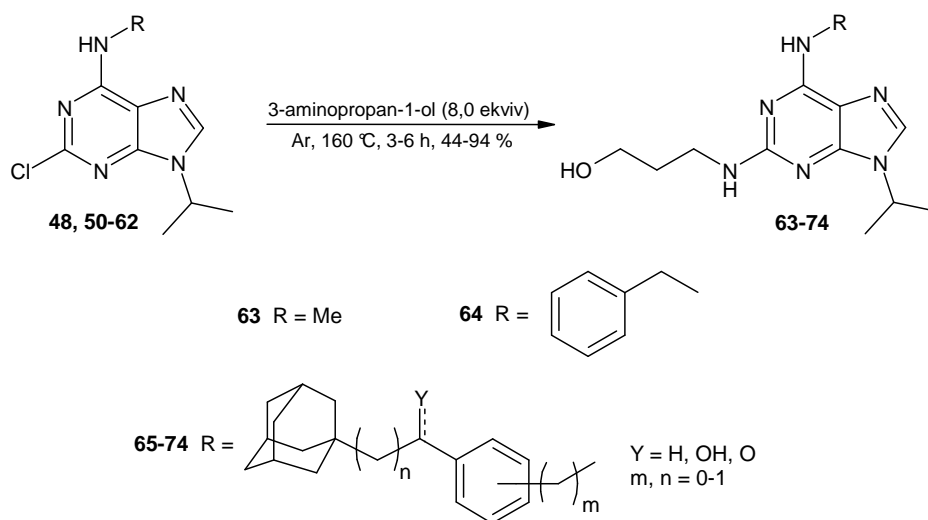
Poslední neúspěšně vyzkoušenou metodou byla aplikace 1-methylpyrrolidin-2-onu, který byl použit ve stejném stechiometrickém množství jako 3-aminopropan-1-ol (**Schéma 37D**, cit.³⁶⁵). Vzniklý roztok byl 160 hodin míchán při teplotě 135 °C. Ačkoli autoři původní publikace, z níž byl tento postup převzat, uvádějí tyto podmínky jako optimální, v našem případě se podařil požadovaný produkt detekovat v reakční směsi jen ve velmi malém množství (relativní zastoupení v surové směsi dle GC-MS činilo 6 %).

Pro přípravu nové série 2,6,9-trisubstituovaných purinů **63–74** se jako nejvhodnější nakonec ukázalo úplné vyloučení rozpouštědla z reakční směsi a použití nadbytku 3-aminopropan-1-olu. Přebytek aminoalkoholu byl zvolen na základě doporučení autorů původní publikace³³⁴, kteří při studiu tohoto typu reakce zjistili, že použití 8,0 molárních ekvivalentů aminoalkoholu se s ohledem na rychlost reakce (8 hodin), zastoupení vedlejších látek a dosažený výtěžek (90 %), ukázalo být nejefektivnější. Publikována byla rovněž práce³⁶⁶, ve které byl aminoalkohol, a sice (*R*)-2-aminobutan-1-ol, použit v 6,0 molárním přebytku, což poskytlo požadovaný produkt ve výtěžku 77 %.

Samotné reakce byly uskutečňovány pod ochranou argonovou atmosférou při teplotě 160 °C po dobu 3–6 hodin (**Schéma 38**, **Tabulka 7**). Při zpracování byla surová směs ochlazena na laboratorní teplotu a zředěna chloroformem. Poté bylo využito velmi dobré rozpustnosti 3-aminopropan-1-olu ve vodě, kdy byl několikerým promytím nezreagovaný nadbytek aminoalkoholu ze surové směsi

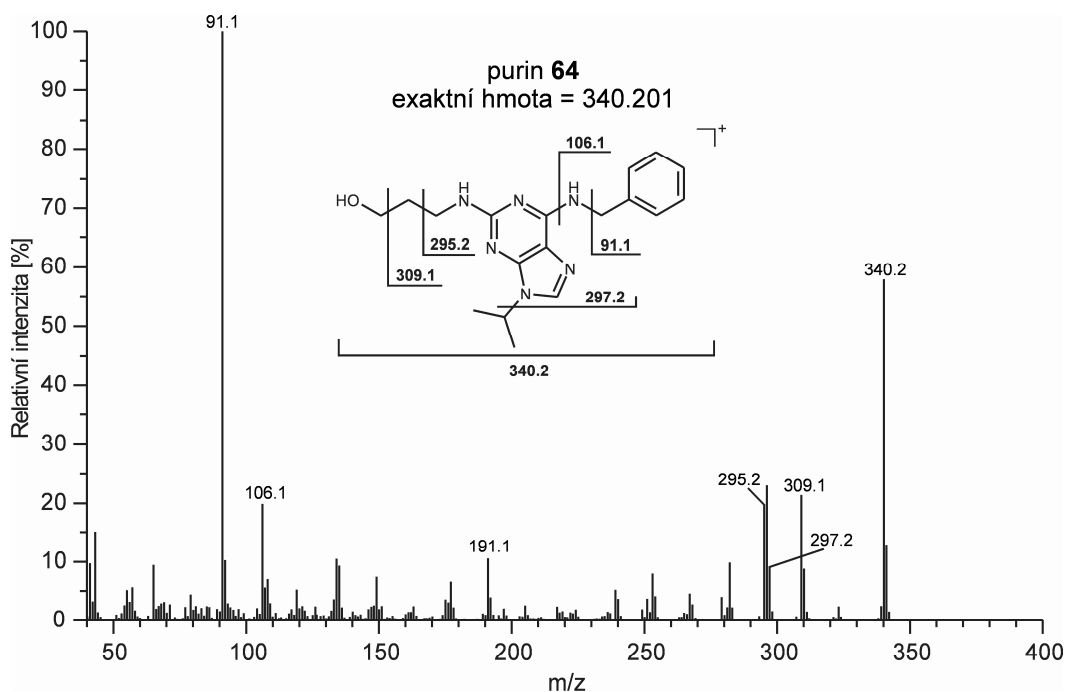
odstraněn. Požadované sloučeniny byly v dobré čistotě získány až po přečištění sloupcovou chromatografií.

Schéma 38



Jako první plně substituovaný purin byla připravena sloučenina **64** (Tabulka 7, Exp. II). K úplnému vymizení výchozí látky z reakční směsi došlo po 6 hodinách, přičemž po přečištění sloupcovou chromatografií byl požadovaný produkt získán ve výtěžku 88 %. Struktura látky **64**, známé pod triviálním označením bohemín, byla potvrzena hmotnostní spektrometrií (EI-MS), ¹H NMR a ¹³C NMR experimenty. Metodou přímého vstupu do hmotnostního spektrometru (Obrázek 33) byly, kromě molekulového píku ($M^+ = 340$ m/z), pozorovány signály o m/z 309 a 295 odpovídající ztrátám (CH₂)_nOH z 3-aminopropan-1-olu na C2 purinového skeletu, dále fragment 297 m/z vznikající odštěpením isopropylové skupiny na N9, a v neposlední řadě signály o m/z 91 (Bn) a 106 (BnNH).


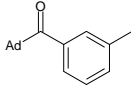
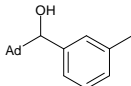
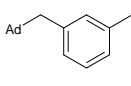
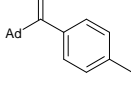
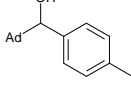
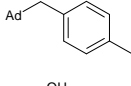
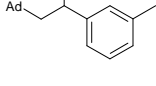
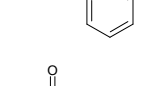
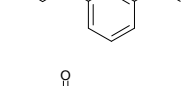
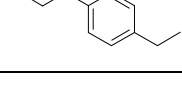
Po provedení NMR experimentu mohlo být jak protonové tak uhlíkové spektrum sloučeniny **64** porovnáno se spektrem uvedeným v literatuře³⁶⁷. Zatímco protonová spektra byla naprosto shodná, tak v uhlíkovém spektru se (stejně jako v případě výchozího purinu **50**) nepodařilo detekovat signál atomu uhlíku CH₂ (C⁶NHCH₂Ph) pocházející z benzylaminu zavedeného na C6 purinového kruhu. Nicméně, v protonovém spektru byla přítomnost atomů vodíku (C⁶NHCH₂Ph; $\delta_{exp} = 4,79$ ppm; $\delta_{lit}^{367} = 4,75$ ppm) náležících tomuto atomu uhlíku (stejně jako v případě výchozího purinu **50**) potvrzena. Vhodnost zvoleného postupu byla následně prokázána přípravou sloučeniny **63** (Tabulka 7, Exp. I), která byla získána ve výtěžku 81 %. Také v případě purinu **63** odpovídaly veškeré provedené analýzy navrhované struktře.



Obrázek 33. Hmotnostní spektrum purinu **64** získané metodou DI-EI-MS.

Po úspěšné přípravě a potvrzení struktury sloučenin **63** a **64** bylo přistoupeno k pokusům o zavedení 3-aminopropan-1-olu na C2 purinů **51–62** (Tabulka 6, Exp. III–XII, str. 115). Průběh všech provedených reakcí byl monitorován pomocí TLC (CHCl₃/MeOH, 8/1, v/v). Reakční časy byly ve všech případech takřka totožné a pohybovaly se v rozmezí 3 až 3,5 hodiny. Pouze při přípravě sloučeniny **68** (Tabulka 7, Exp. VI) zreagovala veškerá výchozí látka až po 6 hodinách. Následným přečištěním surových produktů pomocí sloupcové chromatografie (CHCl₃/MeOH, 8/1, v/v) byly získány puriny **65–74** (Tabulka 7, Exp. III–XII) ve velmi dobrých výtěžcích a odpovídající čistotě. Poněkud nižších výtěžků bylo dosaženo pouze u sloučenin **65** a **68**. Důvodem byla obtížnější separace požadovaných látek od vedlejších produktů při čištění surové směsi sloupcovou chromatografií.

Tabulka 7. S_NAr atomu chloru na C2 purinového kruhu (Schéma 38).

Exp.	Výchozí látka	Reakční doba [h]	Produkt ^a		Výtěžek ^b [%]
			číslo	R	
I	48	3	63	Me	81
II	50	6	64		88
III	51	3	65		44
IV	52	3,5	66		94
V	53	4	67		70
VI	54	6	68		48
VII	55	3,5	69		79
VIII	56	3	70		74
IX	57	3,5	71		89
X	58	3	72		80
XI	61	3,5	73		80
XII	62	3	74		79

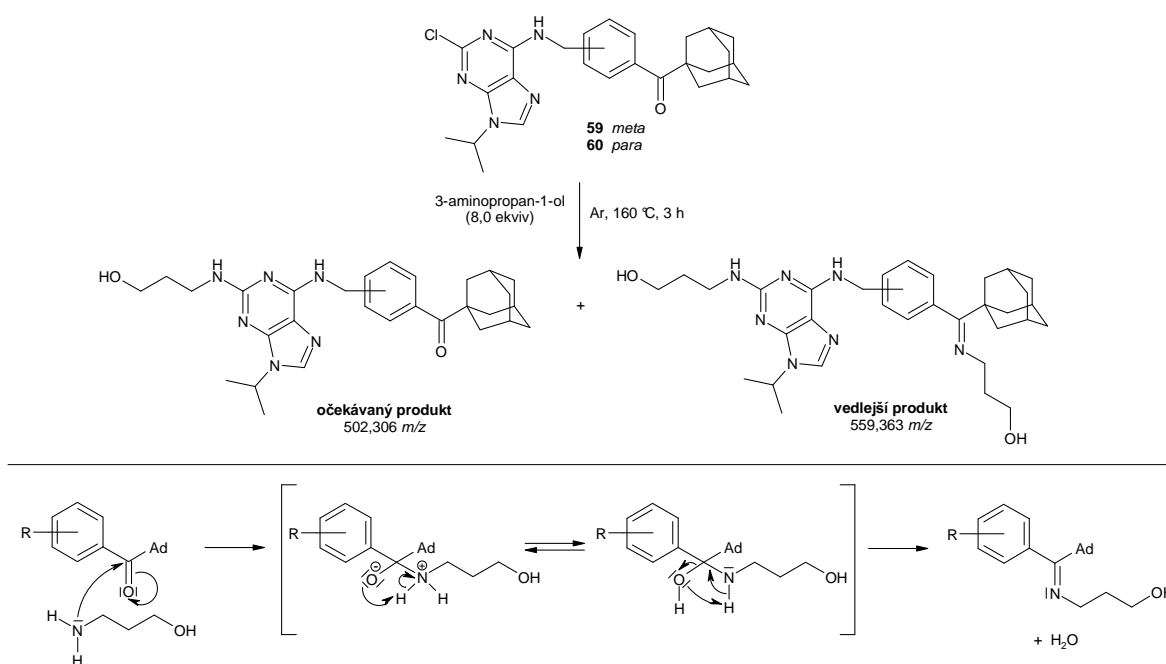
^a Ad = 1-adamantyl.

^b Po purifikaci sloupcovou chromatografií.

U většiny 6-, „amino“-2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purinů probíhala substituce atomu chloru na C2 bez větších problémů, s tvorbou vždy jedné vedlejší látky o relativně malé intenzitě (sledováno pomocí TLC). Ve většině případů byl vznikající vedlejší produkt od požadovaného purinu snadno oddělen sloupcovou chromatografií. Nicméně při reakcích 3-aminopropan-1-olu s puriny, u nichž jsou adamantanový skelet a aromatický kruh přímo spojeny karbonylovou skupinou (AdCOPh) – sloučeniny **51**, **54**, **59** a **60** – docházelo ke vzniku vedlejšího produktu s o poznání vyšší intenzitou (určeno dle TLC). Zatímco čištění surových směsí vzniklých reakcemi purinů **51** a **54** s 3-aminopropan-1-

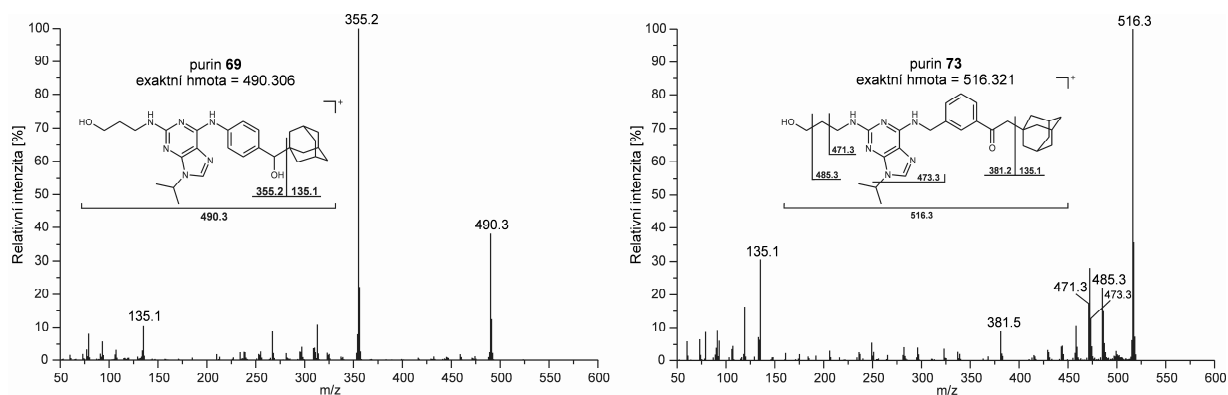
olem bylo úspěšné (naprosto čistý produkt se podařilo získat až po třetím přečištění), tak směsi, k jejichž tvorbě docházelo při reakcích 3-aminopropan-1-olu s puriny **59** a **60** (pozorován vznik dvou látek v přibližném zastoupení 1:1) byly naprosto nedělitelné. Po několika nezdařených pokusech o rozdělení vznikajících produktů pomocí sloupcové chromatografie bylo přistoupeno ke krystalizaci surových směsí, avšak také bez úspěchu. Vzhledem k tomu, že se u žádné z těchto reakcí nepodařilo vyizolovat vznikající vedlejší produkt, nelze s jistotou poukázat na jeho strukturu. Nicméně, výsledky získané EI-MS analýzami, kterým byly podrobeny získané surové směsi, poskytly informace, na jejichž základě lze o struktuře neočekávaně vznikající vedlejší látky uvažovat. V hmotnostních spektrech (DI-EI-MS) obou surových směsí byl pozorován signál, jehož hodnota odpovídá molekulovému iontu předpokládaného produktu ($M^+ = 502,3 \text{ m/z}$). Dále byl zaznamenán signál o $m/z = 559,4$, tedy o 57 m/z vyšší než hodnota M^+ uvažovaného produktu. Na základě těchto informací lze předpokládat, že by vedlejším produktem mohl být „imin“, jehož struktura a navržený mechanismus vzniku je uveden na Schématu 39.

Schéma 39



Uvažovaný vedlejší produkt by mohl vznikat nukleofilní adicí 3-aminopropan-1-olu (jakožto neutrálního nukleofilu) na elektrofilní atom uhlíku karbonylové skupiny výchozího purinu (**59** nebo **60**) za tvorby dipolárního intermediátu. Následným přesunem protonu z atomu dusíku na atom kyslíku vzniká neutrálnímu aminoalkol, jehož dehydratace vede ke konečným produktům, a sice iminu a vodě.

Struktura 2,6-, „diamino“-9-isopropyl-9*H*-purinů **65–74** byla potvrzena běžně používanými metodami strukturní analýzy (IR, MS a NMR). Hmotnostní spektra sloučenin **65–74** byla získána metodou přímého vstupu daného vzorku do hmotnostního spektrometru (DI-EI-MS). U všech studovaných látek byl pozorován signál o m/z odpovídající molekulovému iontu (M^+). U většiny plně substituovaných purinů (vyjma sloučenin **66**, **68** a **69**) měl molekulový ion relativní intenzitu 100 % a byl tak zároveň základním píkem příslušného spektra. Na **Obrázku 34** jsou pro ilustraci uvedena hmotnostní spektra purinů **69** a **73** získaná technikou DI-EI-MS. ESI-MS analýzy těchto látek poskytovaly ve všech spektrech prvního řádu dva signály, a sice $[M+H]^+$ a $[M+Na]^+$ (ESI-MS analýzy jsou blíže komentovány v **kapitole 8.1.1**). V 1H NMR spektrech sloučenin **65–74** byly (v porovnání s výchozími 6-, „amino“-2-chlor-9-isopropyl-9*H*-puriny **51–58**, **61** a **62**) pozorováno pět nových signálů pocházejících z 3-aminopropan-1-olu zavedeného na C2 purinového kruhu. Atomy vodíku náležící druhému atomu uhlíku z tohoto substituentu ($HOCH_2CH_2CH_2NH-R$) rezonovaly při silnějším magnetickém poli v oblasti 1,69–1,86 ppm. Multiplet s chemickým posunem 3,61–3,69 ppm byl přiřazen atomům vodíku pocházejících z prvního a třetího atomu uhlíku aminoalkoholu zavedeného na C2 ($HOCH_2CH_2CH_2NH-R$). Jako dva široké vzájemně se překrývající singlety pak byly pozorovány signály atomů vodíku $HO(CH_2)_3NH-R$, které rezonovaly v oblasti 5,04–5,36 ppm.



Obrázek 34. EI-MS spektra vybraných 2,6-, „diamino“-9-isopropyl-9*H*-purinů .

8 KOMPLEXACE PŘIPRAVENÝCH LIGANDŮ S β -CD

Cyklodextriny (CDs) jsou typickým příkladem molekul, které lze velmi efektivně využít jako tzv. nosiče léčiv. Navázání léčiva na speciálně navržený nosič je jednou z možností jak zlepšit jeho farmakokinetické vlastnosti. Podání komplexu „léčivo-nosič“, namísto léčiva samotného, může vést k efektivnějšímu transportu léčiva na místo jeho působení, zvýšení rozpustnosti léčiva ve vodných médiích nebo tak může být zajištěno jeho postupné uvolňování do organismu. Použití CD, a sice (2-hydroxypropyl)- β -CD, se již ukázalo jako výhodné při přípravě lékových forem 1-adamantylem substituovaného cytostatika LA-12 (**Obrázek 23**, str. 52)³⁶⁸.

Na následujících stranách budou stručně shrnuty výsledky získané při studiu tvorby inkluzních komplexů připravených ligandů s β -cyklodextrinem (β -CD). Molekula β -CD vystupovala ve všech případech jako hostitel a připravené ligandy (Ad-R) jako hosté. Při tvorbě určitých typů interakcí mezi hostitelskou molekulou a hostem lze hovořit o vzniku komplexu hostitel-host.

Případná komplexace připravených ligandů s β -CD byla studována z několika úhlů pohledu. Stechiometrie a stabilita vznikajících komplexů byla stanovena pomocí hmotnostní spektrometrie (ESI-MS) a isotermické titrační mikrokolorimetrie (ITC). K navržení geometrie komplexů hostitel-host byly prováděny 2D NMR experimenty (NOESY, gs-HMQC-NOESY). U purinových sloučenin byla eventuální schopnost těchto látek tvořit komplexy s β -CD zajímavá také ve vztahu k jejich biologickým účinkům (**kapitola 9**).

8.1 Stechiometrie komplexů hostitel-host

8.1.1 ESI-MS analýzy

Při měření hmotnostních spekter byla navázána spolupráce s Mgr. Richardem Čmelíkem, Ph.D. z Ústavu analytické chemie AVČR, v.v.i.. Jednotlivé experimenty byly prováděny na hmotnostním spektrometru s iontovou pastí Esquire LC (Bruker Daltonics). Některé látky byly analyzovány také pomocí hmotnostního spektrometru s iontovou pastí amaZon X (Bruker Daltonics), který byl na Fakultě technologické UTB ve Zlíně pořízen koncem roku 2009.

Kromě záměru studovat stechiometrii komplexů hostitel-host, byla hmotnostní spektrometrie použita také za účelem potvrzení struktury syntetizovaných 1-adamantylaminů a 2,6,9-trisubstituovaných purinů. Měřeny tedy byly jak ligandy samotné (rozpuštěné v MeOH), tak jejich ekvimolární směsi s β -CD (MeOH/H₂O, 1/1, v/v).

Při studiu samotných 1-adamantylanilinů (**Tabulka 8, Aminy 9–11, 15–18 a 26–28**) byly ve všech případech pozorovány signály protonovaných

molekulových iontů $[M+H]^+$. U látek **9–11**, **15**, **17** a **18** obsahujících mezi adamantanovým skeletem a benzenovým kruhem karbonylovou, příp. hydroxylovou funkční skupinu byly téměř vždy naměřeny také signály odpovídající vzniku sodných aduktů s molekulovými ionty $[M+Na]^+$ a dále píky o dvakrát vyšším m/z , pro něž lze navrhnout strukturu $[2\times M+H]^+$, případně $[2\times M+Na]^+$. Vznik dimerů je pravděpodobně zprostředkován intermolekulárními vodíkovými vazbami, což bylo v případě aminu **18** potvrzeno v pevné fázi pomocí rentgenové difrakční analýzy (**Obrázek 25**, strana 105, cit.³⁴⁴). Typické ESI-MS spektrum získané analýzou 1-adamantylanilinů je znázorněno na **Obrázku 35A**.

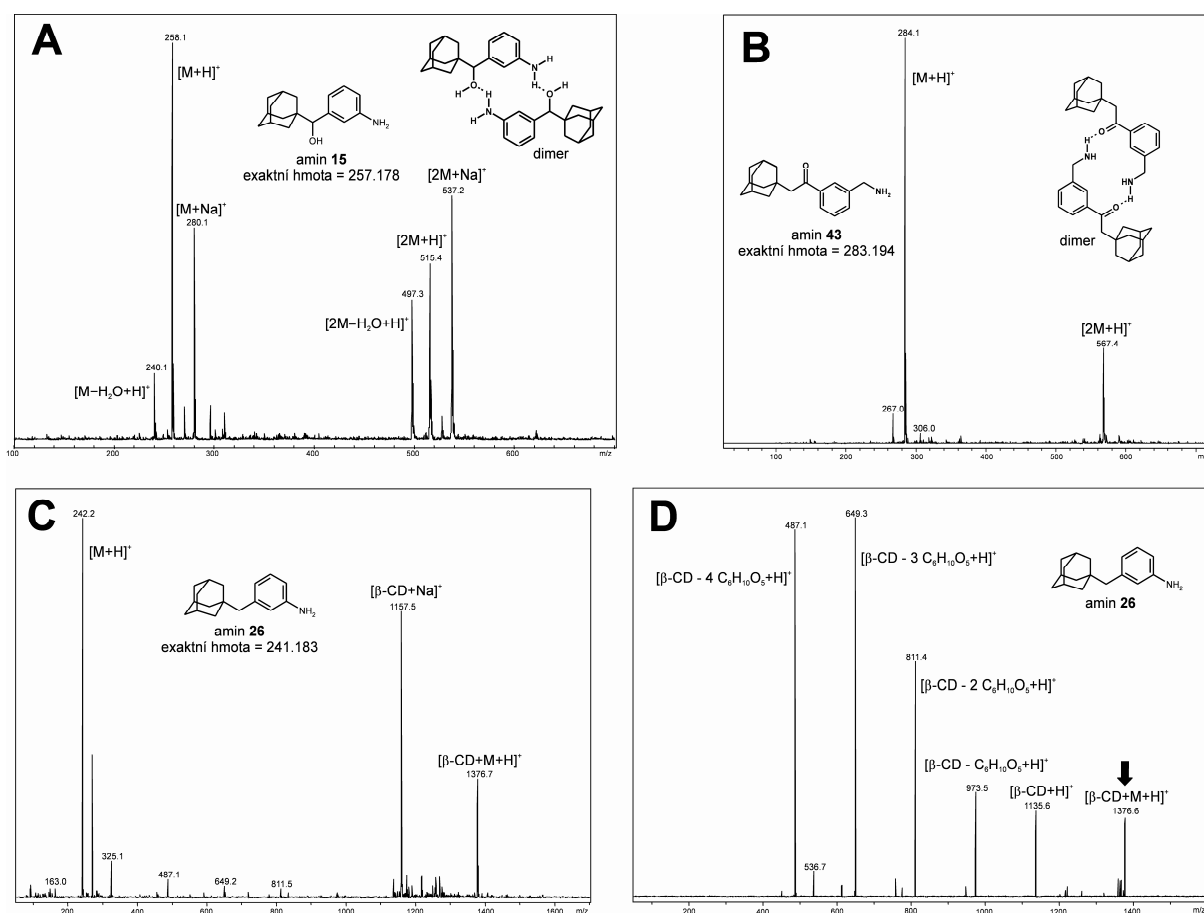
Ve spektrech 1-adamantylbenzylaminů (**Tabulka 8**, **Aminy 42–45**) byl jako dominantní signál pozorován pseudomolekulární ion $[M+H]^+$. U *meta* substituovaných benzylaminů **43** (**Obrázek 35B**) a **45** byly naměřeny také signály odpovídající strukturám $[M+Na]^+$ a $[2\times(M+H)-1]^+$.

Tabulka 8. Výsledky ESI-MS analýz samotných 1-adamantylaminů a jejich komplexů s β -CD.

Amin	Exaktní hmota									
	$[M+H]^+$		$[M+Na]^+$		$[2\times M+H]^+$		$[2\times M+Na]^+$		$[\beta\text{-CD}+M+H]^+$	
	teor.	exp.	teor.	exp.	teor.	exp.	teor.	exp.	teor.	exp.
9	256,2	256,1	278,2	278,1	511,4	511,3	533,4	533,3	1390,6	1390,6
10	256,2	256,1	278,2	278,1	511,4	–	533,4	533,3	1390,6	1390,6
11	270,2	270,1	292,2	292,1	539,4	539,2	561,4	561,3	1404,6	1404,6
15	258,2	258,1	280,2	280,1	515,4	515,3	537,4	537,2	1392,6	1392,6
16	272,2	272,1	294,2	294,1	543,4	–	565,4	–	1406,6	1406,6
17	272,2	272,1	294,2	294,1	543,4	543,4	565,4	565,4	1406,6	1406,6
18	258,2	258,1	280,2	–	515,4	–	537,4	537,2	1392,6	1392,6
26	242,2	242,1	264,2	–	482,4	–	505,4	–	1376,6	1376,7
27	242,2	242,1	264,2	–	482,4	–	505,4	–	1376,6	1376,6
28	256,2	256,3	278,2	–	510,4	–	533,4	–	1390,6	1390,6
42	270,2	270,1	292,2	–	538,4	–	561,4	–	1404,6	1404,6
43	284,2	284,1	306,2	306,0	567,4	567,4	589,4	–	1418,6	1418,6
44	284,2	284,1	306,2	–	567,4	–	589,4	–	1418,6	1418,6
45	312,2	312,1	334,2	334,1	623,4	623,3	646,4	–	1446,6	1446,5

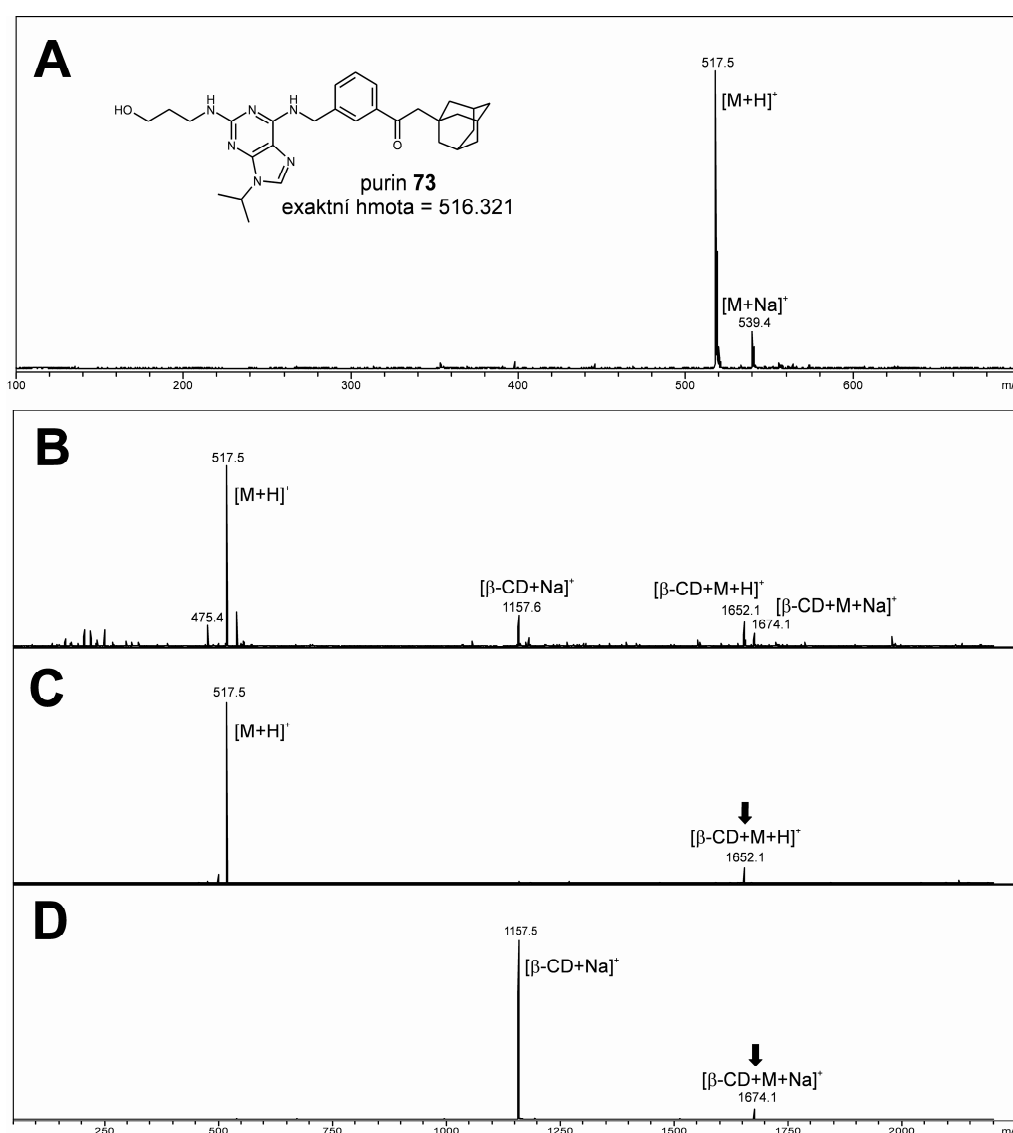
M = exaktní hmota aminu; exaktní hmota β -CD = 1134,4 g·mol⁻¹

Při studiu komplexů připravených aminů s β -CD bylo důležité, aby použitá ionizační energie zaručovala ionizaci, ale nebyla příliš vysoká, protože by mohlo docházet k „rozbíjení“ vznikajících komplexů. Schopnost tvořit supramolekulární komplexy s β -CD přežívající i v plynné fázi byla potvrzena u všech analyzovaných aminů. Kromě signálů odpovídajících protonovanému komplexu β -CD·amin $[\beta\text{-CD}+\text{M}+\text{H}]^+$ (**Tabulka 8**), byly pozorovány také signály o m/z náležící protonovanému aminu $[\text{M}+\text{H}]^+$ a sodnému aduktu β -CD $[\beta\text{-CD}+\text{Na}]^+$ (**Obrázek 35C**). Izolací a následnou fragmentací (MS/MS) protonovaného komplexu β -CD·amin byly pozorovány ionty potvrzující předpoklad o vznikajících komplexech hostitel-host. Jak je patrné z **Obrázku 35D**, došlo nejprve k odtržení aminu ze vzniklého komplexu a následně také k postupným ztrátám glukosových jednotek β -CD.



Obrázek 35. ESI-MS samotných 1-adamantylaminů a jejich komplexů s β -CD. (A) Spektrum prvního řádu aminoalkoholu **15**. (B) Spektrum prvního řádu benzylaminu **43**. (C) Spektrum prvního řádu komplexu β -CD·amin **26**. (D) MS/MS spektrum protonovaného komplexu β -CD·amin **26** ($1376,7 m/z$).

Ve spektrech prvního řádu purinů **48–74** (Tabulka 9) byl ve všech případech jako dominantní pozorován signál o m/z odpovídající pseudomolekulárnímu iontu $[M+H]^+$, jenž byl vždy (vyjma purinu **53**) doprovázen sodným aduktem $[M+Na]^+$. Typický příklad ESI-MS spektra samotného 2,6,9-trisubstituovaného purinu, v tomto případě purinu **73**, je uveden na **Obrázku 36A**. U většiny 6-, „amino“-2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purinů (sloučeniny **48–62**) docházelo také k tvorbě aduktů draselných $[M+K]^+$. Pro spektra purinů **48–62** byla typická přítomnost izotopických signálů atomu chloru ^{35}Cl a ^{37}Cl v přibližném poměru 3/1 (viz **Obrázek 32**, strana 120). Za zmínku také stojí, že v žádném spektru prvního řádu purinů **48–74** nebyl pozorován signál odpovídající příslušnému dimeru, jejichž existence v pevné fázi byla potvrzena u látek **50**, **56**, **60** a **62** rentgenovou difrakční analýzou³⁶⁰⁻³⁶².



Obrázek 36. Typický výsledek ESI-MS analýzy 2,6,9-trisubstituovaných purinů. (A) Spektrum prvního řádu purinu **73**. (B) Spektrum prvního řádu komplexu β -CD-purin **73**. (C) MS/MS spektrum protonovaného komplexu β -CD-purin **73**. (D) MS/MS spektrum sodného aduktu komplexu β -CD-purin **73**.

Tabulka 9. Výsledky ESI-MS analýz samotných 2,6,9-trisubstituovaných purinů a jejich komplexů s β -CD.

Purin	Exaktní hmota									
	[M+H] ⁺		[M+Na] ⁺		[M+K] ⁺		[β -CD+M+H] ⁺		[β -CD+M+Na] ⁺	
	teor.	exp.	teor.	exp.	teor.	exp.	teor.	exp.	teor.	exp.
48	226,1	226,0	248,1	248,0	264,1	–	1360,5	N	1382,5	N
49	240,1	240,2	262,1	262,0	278,1	–	1374,5	N	1396,5	N
50	302,1	302,2	324,1	324,1	340,1	340,2	1436,5	1436,6	1458,5	–
51	450,2	450,4	472,2	472,3	488,2	488,1	1584,6	1584,7	1606,6	1606,7
52	452,2	452,4	474,2	474,4	490,2	490,4	1586,6	1586,7	1608,6	1608,7
53	436,2	436,4	458,2	–	474,2	–	1570,6	1570,8	1592,6	1592,8
54	450,2	450,1	472,2	472,1	488,2	488,0	1584,6	1584,3	1606,6	1606,4
55	452,2	452,4	474,2	474,3	490,2	490,3	1586,6	1586,7	1608,6	1608,8
56	436,2	436,4	458,2	458,3	474,2	474,3	1570,6	1570,5	1592,6	1592,5
57	466,2	466,3	488,2	488,4	504,2	–	1600,6	1600,9	1622,6	–
58	450,2	450,4	472,2	472,3	488,2	–	1584,6	1584,9	1606,6	1584,9
59	464,2	464,2	486,2	486,2	502,2	502,2	1598,6	1598,5	1620,6	1620,5
60	464,2	464,3	486,2	486,3	502,2	502,2	1598,6	1598,7	1620,6	1620,8
61	478,2	478,3	500,2	500,3	516,2	516,3	1612,6	1612,6	1634,6	1634,6
62	478,2	478,3	500,2	500,3	516,2	516,3	1612,6	1612,6	1634,6	–
63	264,2	265,1	287,2	287,1	303,2	–	1398,6	N	1398,6	N
64	341,2	341,2	363,2	363,1	379,2	–	1475,6	1475,9	1497,6	–
65	489,3	489,5	511,3	511,5	527,3	–	1623,7	1624,2	1645,7	1646,2
66	491,3	491,5	513,3	513,5	529,3	–	1625,7	1626,3	1647,7	1648,3
67	475,3	475,5	497,3	497,5	513,3	–	1609,7	1610,1	1631,7	1632,2
68	489,3	489,3	511,3	511,2	527,3	–	1623,7	1624,2	1645,7	1646,1
69	491,3	491,5	513,3	513,6	529,3	–	1625,7	1626,3	1647,7	1648,2
70	475,3	475,5	497,3	497,5	513,3	–	1609,7	1610,1	1631,7	1632,1
71	505,3	505,5	527,3	527,5	543,3	–	1639,7	1640,4	1661,7	1662,2
72	489,3	489,5	511,3	511,6	527,3	–	1623,7	1624,1	1645,7	1646,2
73	517,3	517,5	539,3	539,4	555,3	–	1651,7	1652,1	1673,7	1674,1
74	517,3	517,6	539,3	539,5	555,3	–	1651,7	1652,3	1673,7	1674,1

M = exaktní hmota purinu; N = neměřeno; exaktní hmota β -CD = 1134,4 g·mol⁻¹

U všech připravených 2,6,9-trisubstituovaných purinů nesoucích v poloze 6 adamantanový substituent byla prokázána schopnost vytvářet stabilní inkluzní komplexy s β -CD v plynné fázi (**Tabulka 9**, poslední čtyři sloupce). Ve spektrech prvního řádu komplexů β -CD·purin byl ve všech případech pozorován protonovaný molekulový ion příslušného ligandu $[M+H]^+$, signál o m/z 1157 odpovídající sodnému aduktu β -CD $[\beta\text{-CD}+\text{Na}]^+$ a protonovaný komplex β -CD·purin $[\beta\text{-CD}+M+H]^+$. U většiny purinových ligandů byl pozorován také vznik sodného aduktu komplexu β -CD·purin $[\beta\text{-CD}+M+\text{Na}]^+$ (**Obrázek 36B**). Pro potvrzení tvorby komplexů β -CD·purin byla vždy provedena izolace požadovaného signálu s jeho následnou fragmentací. V tandemových spektrech protonovaného komplexu β -CD·purin byl pozorován signál odpovídající protonovanému ligandu $[M+H]^+$, z čehož vyplývá, že docházelo ke ztrátě hostitelské molekuly β -CD (**Obrázek 36C**). Při fragmentaci sodného aduktu komplexu β -CD·purin byla ve všech případech pozorována ztráta purinového ligandu za vzniku sodného aduktu β -CD $[\beta\text{-CD}+\text{Na}]^+$ (**Obrázek 36D**).

U všech studovaných ligandů byla pomocí ESI-MS analýz potvrzena tvorba supramolekulárních komplexů typu β -CD·Ad–R se stechiometrií 1:1.

8.1.2 Isotermická titrační kalorimetrie

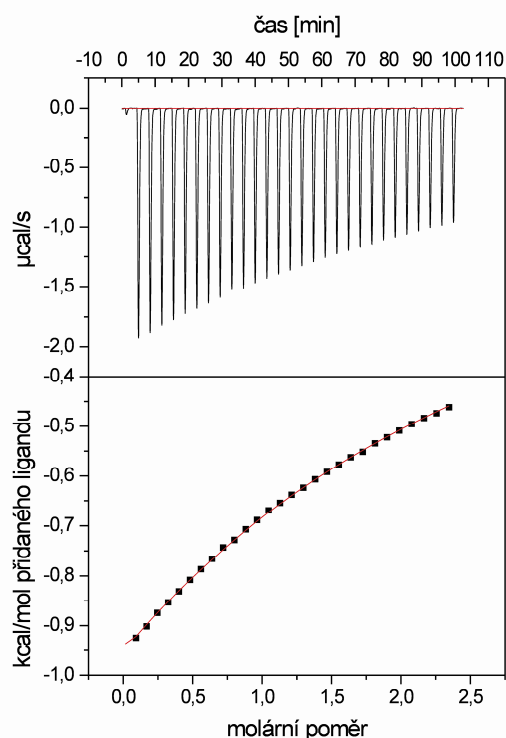
Vazebné vlastnosti připravených ligandů byly studovány použitím isotermické titrační kalorimetrie (ITC), a to na přístroji MicroCal VP-ITP, který je součástí přístrojového vybavení FT UTB.

V případě 1-adamantylanilinů bylo původním záměrem podrobit ITC látky **9–11**, **15**, **17**, **18** a **26–28**. U aminoalkoholů **15**, **17** a **18** nemohly být, z důvodu uvolňování dodatečného tepla během titračních i zřed'ovacích experimentů, stanoveny žádné termodynamické parametry. Tuto skutečnost lze přisoudit dodatečné rovnováze související s disociací dimerů a/nebo vyšších asociátů těchto sloučenin. Předpoklad tvorby vyšších asociátů podpořilo také neúspěšné proložení zřed'ovacích dat aminoalkoholů **15**, **17** a **18** teroretickou křivkou, které bylo provedeno pomocí jednoduchého disociačního modelu uvažujícího pouze disociaci dimerů. Aminy **26** a **27** vykazovaly v průběhu experimentů velmi pomalu ekvilibrující exotermní proces, který neumožňoval získat použitelná data. Typický výsledek ITC experimentu, v tomto případě získaný při studiu aminoketonu **9**, je uveden na **Obrázku 37**. Jak je z obrázku patrné, hodnota signálu je největší na začátku titrace, kdy se v cele hostitelská makromolekula (β -CD) nachází ve značném nadbytku. V průběhu experimentu se vlivem přidávání ligandu snižuje množství dostupného β -CD pro tvorbu dalších komplexů a tím pádem dochází k postupnému poklesu hodnoty signálu.

Hodnoty asociačních konstant (K), entalpií (ΔH), entropií (ΔS) a stechiometrií (n) vznikajících komplexů, tak byly úspěšně naměřeny jen pro aminoketony **9–11** a nepolární amin **28** (Tabulka 10).

Z připravených 1-adamantylbenzylaminů byla vhodná data získána pouze pro acetamid **45** (Tabulka 10). Pro tuto látku však bylo nezbytné hodnotu stechiometrie předdefinovat, a to na základě výsledků získaných NMR Job plot³⁶⁹ experimentem.

Stejně jako v případě ESI-MS tak i isotermická titrační kalorimetrie potvrdila, že stechiometrie komplexů β -CD·amin je 1:1 (Tabulka 10, poslední sloupec).



Obrázek 37. Výsledek ITC experimentu komplexu β -CD·amin **9**.

Tabulka 10. Termodynamické parametry supramolekulárních komplexů připravených ligandů s β -CD získané pomocí ITC experimentů.

Slouč.	$K [M^{-1}]$	$-\Delta H [kJ \cdot mol^{-1}]$	$-\Delta S [J \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}]$	n
9	226±25	46±15	105	1,0±0,3
10	186±23	35±14	71	1,1±0,4
11	313±55	38±17	75	1,0±0,4
28	694±28	44±3	88	0,93±0,05
45	128±141	26±1	46	1 ^a

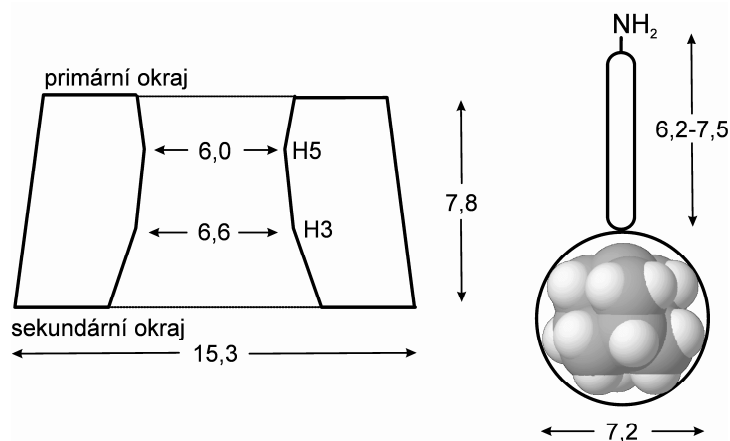
^a Předem definovaná hodnota stechiometrie komplexu.

V současné době nejsou k dispozici žádná data z ITC experimentů zaměřených na termodynamickou stabilitu komplexů β -CD·purin. Důvodem je velmi špatná rozpustnost 6-, „amino“-2-chlor-9-isopropyl-9H-purinů **51–62**, kterou tyto látky vykazovaly při přípravě roztoků používaných během ITC analýz (DMSO/H₂O, 3/1, v/v). U purinů **64–74** lze, vzhledem k jejich vyšší polaritě, očekávat lepší rozpustnost v daných typech rozpouštědel. Nicméně, jelikož se jedná o relativně nedávno připravenou sérii látek, nebyly do této chvíle ITC experimenty provedeny. Budou-li problémy s rozpustností purinových ligandů přetrvávat také u sloučenin **64–74**, bude proveden pokus o

stanovení stechiometrie komplexů β -CD·purin pomocí NMR Job plot experimentů.

8.2 Geometrie komplexů hostitel-host

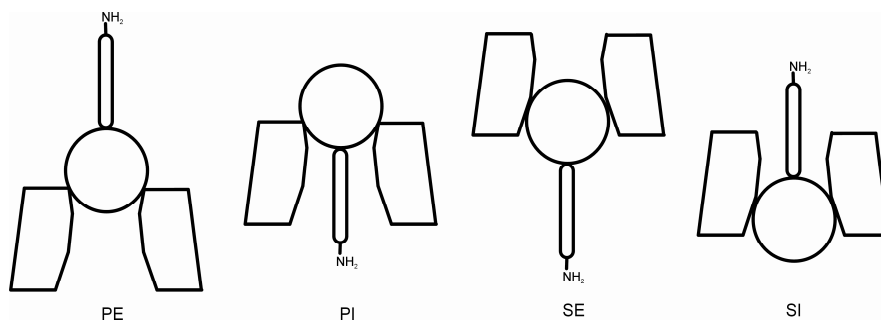
Přestože struktura molekuly β -CD je již popsána v teoretické části (**kapitola 3.3**, strana 53), dovolím si na tomto místě stručně charakterizovat základní parametry této sloučeniny. β -CD je makrocyclický oligosacharid složený z glukopyranosových jednotek spojených α -1,4-glykosidovými vazbami. Exteriér kavity β -CD je polární (z důvodu přítomnosti hydroxylových skupin), zatímco interiér kavity β -CD má nepolární charakter. Molekula β -CD sestává z užšího primárního okraje a širšího okraje sekundárního. Vnitřek kavity je zúžen v důsledku vyčnívajících protonů H3 a H5. Na **Obrázku 38** je, spolu s významnými rozměry [Å], znázorněna molekula β -CD a ligand obsahující adamantanový skelet (uvedené rozměry odpovídají připraveným 1-adamantylaminům).



Obrázek 38. Schématické znázornění β -CD a adamantanového ligandu. Rozměry jsou uvedeny v Å.

Interní průměr kavity β -CD je zřetelně menší, než průměr téměř kulovitého adamantanového skeletu, který tak pravděpodobně nemůže projít skrz kavitu molekuly β -CD. Nicméně, vzhledem k tomu, že průměr adamantanu (7,2 Å) je jen nepatrně větší, než nejužší místo kavity β -CD (6,0–6,6 Å), může docházet ke vzniku dvou různých typů komplexů. Adamantanový skelet tak může být umístěn buďto v oblasti primárního nebo sekundárního okraje β -CD. V již publikovaných studiích^{314,317}, ve kterých se autoři zabývali komplexací jednoduchých (nabitých i neutrálních) derivátů adamantanu (např. rimantadinu (**Obrázek 20**, strana 49) nebo 1-adamantylmethanolu (**Schéma 27**, strana 99, sloučenina **2**) bylo na základě provedených experimentů navrženo, že substituenty vázané na adamantanový skelet jsou orientovány mimo kavitu β -CD. U komplexů, v nichž je adamantan umístěn na sekundárním okraji β -CD

byla prokázána vyšší termodynamická stabilita. Primární okraj je pak adamantanem „osídlen“ pouze v případě, je-li sekundární okraj zablokován. Nicméně, nelze vyloučit, že nepolární substituenty vhodné délky mohou být provlečeny skrz kavitu β -CD. Z uvedeného vyplývá, že při vzniku takového typu komplexů hostitel-host může dojít ke čtyřem základním formám uspořádání (PE, PI, SE, SI), jak je graficky znázorněno na **Obrázku 39**.

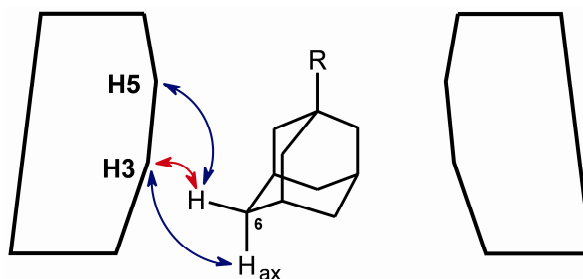


Obrázek 39. Schématické znázornění možných geometrií mezi β -CD a připravenými 1-adamantylaminy. S = sekundární, P = primární, I = interní, E = externí.

8.2.1 NMR experimenty

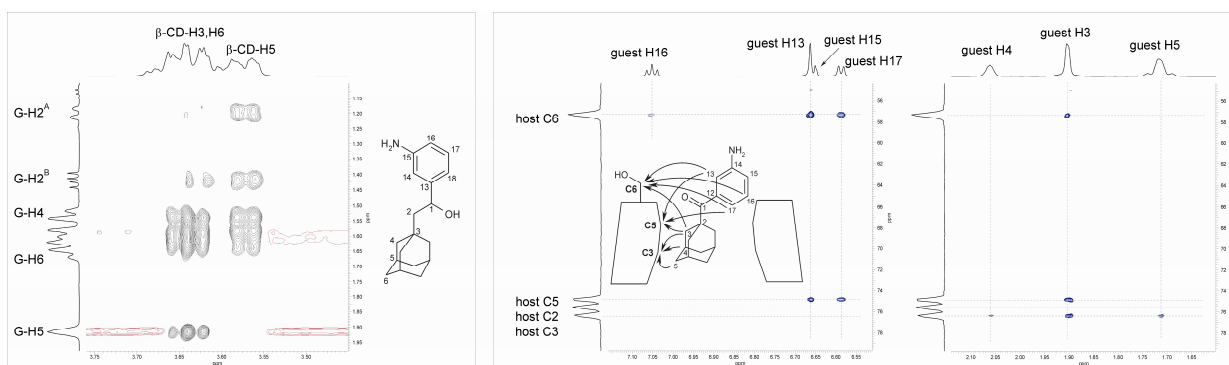
Objasnění geometrie vznikajících komplexů hostitel-host bylo provedeno pomocí různých typů 2D NMR experimentů, přičemž byla vždy měřena ekvimolární směs ligandu s hostitelskou makromolekulou (β -CD).

Při studiu geometrie komplexů β -CD·amin byly nejprve aplikovány NOESY experimenty, ve kterých je pro stanovení jednotlivých korelací využito nukleárního Overhauserova efektu (nOe) mezi jadernými spiny stejného typu atomů (např. ^1H – ^1H nebo ^{13}C – ^{13}C). Interakce pozorované mezi atomy vodíku pocházejícími z adamantanového skeletu (H4–6 pro amin **17**, **Obrázek 41**, vlevo) a atomy vodíku, jež jsou umístěny v interní části kavity β -CD (H3 a H5) naznačovaly tvorbu inkluzních komplexů β -CD·amin, ve kterých je adamantanový skelet umístěn uvnitř kavity β -CD. V roztoku převažující orientace adamantanového skeletu blíže k sekundárnímu okraji β -CD pak byla odhalena díky relativně silným nOe interakcím mezi atomy vodíku H5 hostitelské molekuly a atomy vodíku H2 příslušného ligandu (opět platí pro amin **17**). Osídlení sekundárního okraje β -CD adamantanovým skeletem bylo možné relativně snadno určit zejména u aminoalkoholů **15**, **17** a **18** a to díky zcela rozdílné intenzitě interakce axiálního a ekvatoriálního atomu vodíku (H6) adamantanového skeletu s atomy vodíku H3 a H5 z β -CD. Zatímco interakce mezi atomy vodíku H6_{ekv} s β -CD-H byly relativně zřetelné, pak interakce atomů vodíku β -CD s H6_{ax} byly buď velmi slabé nebo ve spektrech nebyly pozorovány vůbec (**Obrázek 40**).



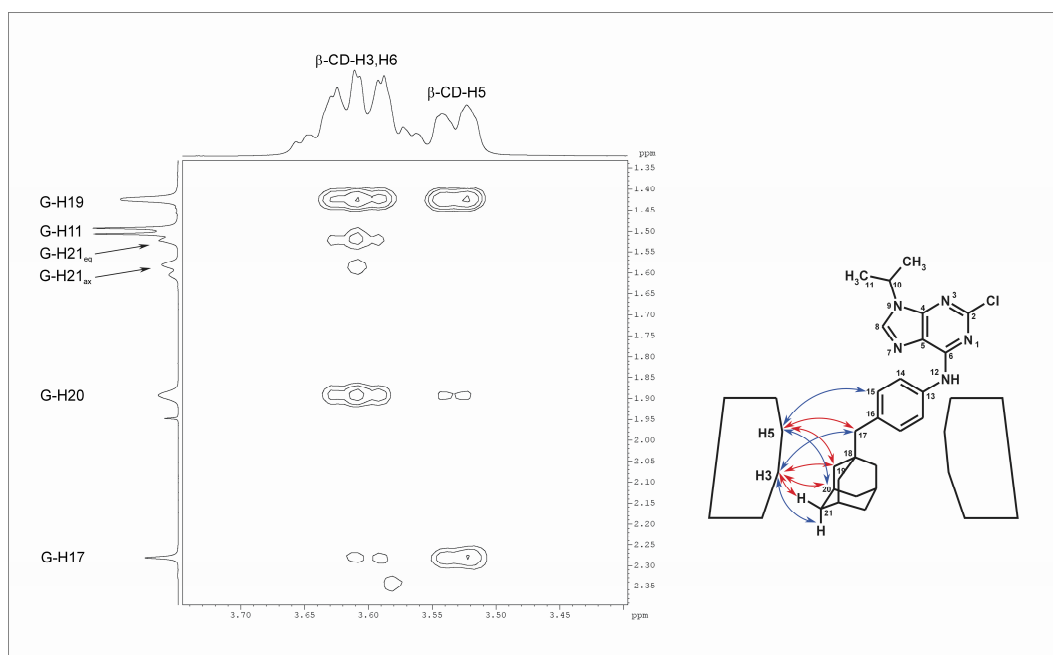
Obrázek 40. Schématické znázornění rozdílných intenzit interakcí axiálního a ekvatoriálního atomu vodíku (H6) ligandu s atomy vodíku H3 a H5 β -CD. Schématické znázornění neodpovídá skutečné velikosti jednotlivých molekul. Červená šipka znázorňuje silnou interakci, modré šipky znázorňují interakce slabé.

Výřez NOESY spektra ekvimolární směsi β -CD·amin **17** je uveden na **Obrázku 41** (vlevo). Nutno podotknout, že signály atomů vodíku H3 a H6 pocházejících z β -CD byly ve většině případů překryté (platí při použití směsi DMSO- d_6 /D $_2$ O, 3/1, v/v), což velmi ztěžovalo interpretaci interakcí pozorovaných v NOESY spektrech. Z tohoto důvodu bylo přistoupeno k provedení 2D ^1H - ^{13}C gs-HMQC-NOESY experimentů umožňujících stanovit interakce mezi dvěma různými typy atomů. Příklad spektra změřeného touto technikou (komplex β -CD·amin **9**) je znázorněn na **Obrázku 41** (uprostřed a vpravo). Z interakcí atomů vodíku H4 a H5 adamantanového skeletu s atomem uhlíku β -CD-C3, stejně jako z absence interakcí stejných atomů vodíku s atomem uhlíku β -CD-C5, lze usoudit, že je adamantan uvnitř kavity hostitele umístěn blíže k jeho sekundárnímu okraji. Na základě interakcí aromatických atomů vodíku H13 a H17 s atomy uhlíku C5 a C6 hostelské molekuly je dále možné předpokládat, že aromatická část molekuly ligandu vyčnívá z primárního okraje β -CD. Z výše uvedeného vyplývá, že připravené 1-adamantylaminy vytváří inkluzní komplexy, jejichž uspořádání je možné charakterizovat jako SI (viz schématické znázornění možných geometrií uvedených na **Obrázku 39**).



Obrázek 41. 2D NMR experimenty komplexů β -CD·amin. Výřez NOESY spektra komplexu β -CD·amin **17** (vlevo). Část gs-HMQC-NOESY spektra komplexu β -CD·amin **9** (uprostřed a vpravo). Experimenty byly prováděny ve směsi DMSO- d_6 /D $_2$ O (3/1, v/v) při teplotě 303 K. Schématické znázornění neodpovídá skutečné velikosti jednotlivých molekul.

Geometrie komplexů hostitel-host byla pomocí standardních NOESY experimentů studována také u 6-, „amino“-2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purinů **51–62**. Sloučeniny obsahující na C2 purinového kruhu alifatický aminoalkohol (látky **64–74**) nebyly z časových důvodů prozatím studovány. Příklad typického NOESY spektra ekvimolární směsi purinu **56** s β -CD je uveden na **Obrázku 42**. Atomy vodíku pocházející z adamantanového skeletu vykazují obdobné NOE interakce jako tomu bylo u 1-adamantylaminových ligandů. Relativně silné interakce byly pozorovány mezi atomy vodíku H19 adamantanového skeletu a atomy H3 a H5 β -CD. Také u purinových ligandů byly pozorovány rozdílné intenzity v interakcích axiálního a ekvatoriálního atomu vodíku adamantanu (H21 pro purin **56**) s atomy vodíku β -CD. Z výsledků získaných NOESY experimenty lze usoudit, že také u tohoto typu ligandů je adamantanový skelet umístěn blíže sekundárnímu okraji β -CD. Přetrvávajícím problémem však byly překrývající se signály interakcí mezi ligandem a atomy vodíku H3 a H6 hostitele. Podobně jako u 1-adamantylaminů tak i u purinových ligandů lze jako vysoce pravděpodobné navrhnout uspořádání typu SI. Avšak pro potvrzení takto navržené geometrie vznikajících komplexů β -CD·purin bude zapotřebí použít (stejně jako v případě 1-adamantylaminů) 2D ^1H - ^{13}C gs-HMQC-NOESY experimenty.



Obrázek 42. Výřez NOESY spektra komplexu β -CD·purin **56**. Experimenty byly prováděny ve směsi DMSO- d_6 /D $_2$ O (3/1, v/v) při teplotě 303 K. Schématické znázornění neodpovídá skutečné velikosti jednotlivých molekul. Červené šipky znázorňují silné interakce, modré šipky znázorňují interakce slabé.

9 BIOLOGICKÁ AKTIVITA 2,6,9-TRISUBSTITUOVANÝCH PURINŮ

Pro testování biologických účinků připravených 2,6,9-trisubstituovaných purinů byla návázána spolupráce s Laboratoří růstových regulátorů Přírodověcké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. Všechny zkoušky byly provedeny pod vedením doc. RNDr. Vladimíra Kryštofa, Ph.D.. Testování biologických účinků purinových sloučenin substituovaných 1-adamantylem (látky **51–62** a **65–74**) mělo dvě roviny. Zkoumána tak nebyla jen inhibiční aktivita připravených purinů proti určitému heterodimernímu komplexu CDK, ale také cytotoxicita těchto látek vůči vybraným druhům lidských nádorových buněčných linií *in vitro*. V provedených testech nebyly měřeny jen biologické účinky samotných purinových sloučenin (jak je obvyklé), ale také komplexů β -CD-purin (1:1 a 10:1, molární poměr). Puriny **50** a **64** byly použity jako referenční látky.

9.1 Enzymatická aktivita 2,6,9-trisubstituovaných purinů

Pro testování enzymatické aktivity připravených 2,6,9-trisubstituovaných purinů obsahujících adamantanový skelet byl vybrán heterodimerní komplex CDK2/cyklin E, který je v procesu buněčného dělení významný ve vztahu ke spouštění replikace DNA. Výsledky enzymatické aktivity všech testovaných purinových sloučenin jsou uvedeny v **Tabulce 11**. Inhibiční aktivita testovaných látek je uváděna v hodnotách IC_{50} udávajících koncentraci, ve které daná látka inhibuje 50 % aktivity purifikovaného enzymu.

Při studiu schopnosti samotných purinových sloučenin inhibovat aktivitu heterodimerního komplexu CDK2/cyklin E (**Tabulka 11**) hrála velmi významnou roli rozpustnost těchto látek v použitém typu rozpouštědla (DMSO). U většiny purinů substituovaných 1-adamantylem, které obsahují na C2 purinového skeletu atom chloru (látky **51–62**) se právě jejich omezená rozpustnost ukázala být, ve vztahu ke zjištění případné inhibiční aktivity těchto látek, značně limitujícím faktorem. Nicméně, v případě schopnosti těchto látek rozpouštět se v DMSO (sloučeniny **52**, **57** a **60**) byla naměřena jejich inhibiční aktivita vůči holoenzymu CDK2/cyklin E v koncentracích menších než 10 μ M. U purinů nesoucích adamantanový skelet, v jejichž molekule byl atom chloru na C2 nahrazen 3-aminopropan-1-olem (sloučeniny **65–74**) došlo ve většině případů ke zlepšení jejich rozpustnosti. Velmi silně inhibují komplex CDK2/cyklin E zejména látky **66** ($IC_{50} = 0,2 \mu$ M) a **68** ($IC_{50} = 0,6 \mu$ M), jejichž aktivita je srovnatelná se známými purinovými inhibitory roskovitinem a olomoucinem II (CDK2/cyklin E; $IC_{50} = 0,1 \mu$ M). Účinně blokují testovaný holoenzym také puriny **69** ($IC_{50} = 1,6 \mu$ M), **71** ($IC_{50} = 0,9 \mu$ M) a **74** ($IC_{50} = 3,3 \mu$ M). Určitý inhibiční účinek byl zjištěn také u látek **67** a **73**.

Byly-li purinové sloučeniny připravovány jako komplexy s β -CD (1:1, molární poměr, **Tabulka 11**) byla pozorována jejich zlepšená rozpustnost. Významným poznatkem je, že při přípravě ekvimolárních směsí β -CD·purin nedošlo ke ztrátě inhibiční aktivity testovaných látek. Velmi podobná aktivita byla, v porovnání s nekomplexovanými sloučeninami, pozorována při komplexaci β -CD s puriny **66**, **69** a **71**. U sloučenin **52**, **60**, **65**, **68** a **74** pak došlo při komplexaci s β -CD k mírnému poklesu jejich enzymatické aktivity.

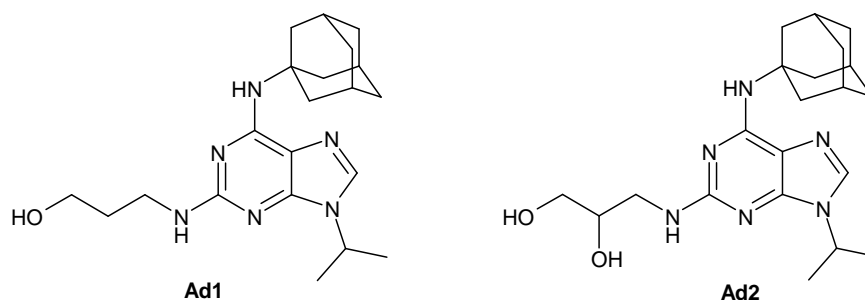
Tabulka 11. Enzymatická aktivita 2,6,9-trisubstituovaných purinů.

Sloučenina	CDK2/cyklin E IC ₅₀ [μ M]		
	purin	β -CD·purin (1:1)	β -CD·purin (10:1)
50	2,5±0,6	3,7±0,6	N
51	>12,5	66	N
52	1,4±0,7	6,9±5,5	N
53	>50	>50	N
54	>12,5	11,7±2,4	N
55	>12,5	>40	N
56	>12,5	>40	N
57	7,8±1,3	>40	N
58	>12,5	>40	N
59	>12,5	>40	N
60	8,7	29,1±1,8	N
61	>12,5	>40	N
62	>12,5	100	N
64	0,7±0,5	1,1±0,6	1,1±0,1
65	2,6±0,1	5,4±1,4	>40
66	0,2	0,2	0,3±0,2
67	11,9±7,9	>40	>40
68	0,6±0,2	1,4±0,5	7,6
69	1,6±0,7	1,5	26,1
70	>12,5	>40	>40
71	0,9±0,2	1,2	7,2
72	>12,5	>40	>40
73	13,9±5,1	>40	>40
74	3,3	15,7	20,9
Ad1 (cit. ³⁷⁰)	>100	–	–
Ad2 (cit. ³⁷¹)	>100	–	–

N = netestováno

Vliv komplexace na biologické účinky purinových sloučenin s β -CD, v nichž byla hostitelská makromolekula použita v 10-ti násobném molárním přebytku vůči purinovému ligandu, byl testován jen u purinů **65–74**. Takto zvolený molární přebytek β -CD se ve většině případů ukázal být méně výhodný než při použití ekvimolární směsi β -CD·purin. Výjimku tvoří pouze sloučeniny **64** a **66**, u nichž neměl přebytek β -CD na inhibiční aktivitu prakticky žádný vliv.

Při porovnání inhiničních účinků purinových sloučenin připravených v rámci této práce s látkami obsahujícími adamantanový skelet, jejichž aktivita vůči komplexu CDK2/cyklin E byla již dříve testována (**Tabulka 11** a **Obrázek 43**, sloučenina **Ad1** a sloučenina **Ad2**), je možné konstatovat, že rozhodnutí navázat objemný adamantanový skelet dále od purinového kruhu se ukázalo být správné. Lze předpokládat, že nízká inhibiční aktivita sloučenin **Ad1** a **Ad2** (se stejným výsledkem byly testovány tyto látky také vůči komplexu CDK1/cyklin B) je způsobena sterickým bráněním purinového kruhu adamantanovým skeletem, který tak zabraňuje tvorbě významných interakcí inhibitoru s aminokyselinovými residui ve vazebném místě pro ATP.



Obrázek 43. Purinové sloučeniny obsahující adamantanový skelet testované na inhibici CDKs.

9.2 Cytotoxicita 2,6,9-trisubstituovaných purinů

Cytotoxicita purinových sloučenin byla testována na dvou typech lidských nádorových buněčných linií, a sice K-562 (chronická myeloidní leukémie) a MCF-7 (karcinom prsu). Výsledky testování cytotoxicity celé série připravených 2,6,9-trisubstituovaných jsou uvedeny v **Tabulce 12**. Cytotoxicita testovaných sloučenin je uváděna v hodnotách GI_{50} udávajících koncentraci, ve které daná látka eliminuje 50 % buněk v třídenním kultivačním testu.

Testování antiproliferační aktivity samotných purinových sloučenin obsahujících adamantanový skelet bylo opět doprovázeno jejich značně nízkou rozpustností v použitém rozpouštědle (platí pro sloučeniny **51–62**, **66**, **67**, **71** a **72–74**). Pouze v případě purinů **65**, **68**, **69** a **70** (všechny mají na C2 purinového kruhu navázaný 3-aminopropan-1-ol) se podařilo dosáhnout uspokojivé rozpustnosti v DMSO a mohla se tak projevit případná

antiproliferační aktivita těchto látek. Sloučeniny **68** a **69** vykazovaly relativně silné cytotoxické účinky vůči oběma testovaným typům nádorových buněčných linií. Zejména pak hodnoty cytotoxicity látky **68** lze považovat za relativně zajímavé (K-562 $GI_{50} = 5,5 \mu\text{M}$; MCF-7 $GI_{50} = 5,7 \mu\text{M}$). Puriny **65** a **70** eliminovaly, v poměrně nízkých koncentracích, růst buněk jen u jednoho typu buněčné linie, a sice K-562 (purin **65** $GI_{50} = 6,2 \mu\text{M}$; purin **70** $GI_{50} = 10,4 \mu\text{M}$).

Tabulka 12. Antiproliferační aktivita 2,6,9-trisubstituovaných purinů.

Slouč.	K-562 GI_{50} [μM]			MCF-7 GI_{50} [μM]		
	purin	β -CD·purin (1:1)	β -CD·purin (10:1)	purin	β -CD·purin (1:1)	β -CD·purin (10:1)
50	>6,25	>40	N	>6,25	>40	N
51	>12,5	59	N	>12,5	49	N
52	>12,5	>40	N	>12,5	>40	N
53	>25	>40	N	>25	>40	N
54	>12,5	>40	N	>12,5	44	N
55	>12,5	>40	N	>12,5	>40	N
56	>12,5	>40	N	>12,5	>40	N
57	>12,5	>40	N	>12,5	>40	N
58	>6,25	>40	N	>6,25	>40	N
59	>6,25	7,8	N	>6,25	5,5	N
60	>6,25	>40	N	>6,25	>40	N
61	>12,5	4,6	N	>12,5	7,9	N
62	>12,5	>40	N	>12,5	15	N
64	97	>40	>40	26,8±6,4	35,9±3,9	35,4±4,3
65	6,2	15,0±0,2	>40	>6,25	15,2±0,9	>40
66	>6,25	34,7±0,1	>40	>6,25	31,7±2,4	>40
67	>6,25	28,7±10,2	>40	>6,25	>40	>40
68	5,5	16,5±0,7	>40	5,7	13,8±1,4	>40
69	10,1±0,8	18,7±0,6	>40	8,1±0,6	17,1±2,2	>40
70	10,4±0,7	23,7±2,8	>40	>12,5	32,9±0,1	>40
71	>6,25	33,6±1,5	>40	>6,25	16,6±2,2	>40
72	>12,5	>40	>40	>12,5	>40	>40
73	>6,25	19,8±0,5	>40	>6,25	30,3±5,0	>40
74	>6,25	17,7±0,6	>40	>6,25	21,5	>40
ROS¹⁰⁸	42	–	–	11	–	–

K-562 = chronická myeloidní leukémie; MCF-7 = karcinom prsu; N = netestováno

Rovněž při testování cytotoxicity purinových sloučenin se ukázala jejich schopnost vytvářet komplexy s β -CD jako velmi výhodná, a to nejen ve vztahu k rozpustnosti zkoušených purinů, ale také k jejich antiproliferační aktivitě. Za zmínku stojí vliv komplexace (β -CD·purin, 1:1) na cytotoxicitu purinů **59**, **61**, **66**, **67**, **71**, **73** a **74**, které byly v nekomplexované formě velmi špatně rozpustné. Komplexace s β -CD vedla u všech zmíněných sloučenin k vyšší rozpustnosti v DMSO a z toho plynoucí možnosti projevit jejich případné antiproliferační účinky. Z údajů uvedených v **Tabulce 11** je patrné, že puriny **59**, **61**, **66**, **67**, **71**, **73** a **74** vykazují ve formě komplexů s β -CD (ekvimolární směsi) antiproliferační účinky na obou typech testovaných nádorových buněčných linií (s výjimkou purinu **67**), a to v relativně nízkých koncentracích. U sloučenin **65**, **68**, **69** a **70** byl při komplexaci s β -CD pozorován mírný pokles jejich antiproliferační aktivity (v porovnání s jejich nekomplexovanou formou).

Stejně jako tomu bylo při studiu enzymatické aktivity purinových sloučenin, tak také při testování cytotoxicity látek **65–74** byla hostitelská makromolekula použita v 10-ti násobném molárním přebytku vůči purinovému ligandu. Jak je patrné z hodnot uvedených u **Tabulce 11**, takto zvolený molární přebytek β -CD neměl u žádné z testovaných sloučenin pozivní vliv na jejich cytotoxicitu.

Za zmínku stojí, že antiproliferační účinky sloučenin **51**, **59**, **61**, **65–71**, **73** a **74** (ať už samotných purinů nebo jejich ekvimolárních směsí s β -CD) na sledovaných lidských nádorových buněčných liniích byly srovnatelné nebo dokonce silnější v porovnání s roskovitinem, což je známý purinový inhibitor CDKs, který v současné době absolvuje druhou fázi klinického testování jako potenciální nádorové chemoterapeutikum.

Ze strukturního hlediska je patrné, že jako nejvhodnější stavební jednotky se ve vztahu k biologickým účinkům připravených purinových sloučenin jeví 1-adamantylaminy obsahující mezi adamantanovým skeletem a aromatickým kruhem karbonylovou, příp. hydroxylovou skupinu. Naproti tomu, puriny substituované nepolárními 1-adamantylaniliny (sloučeniny **53**, **56**, **58**, **67**, **70** a **72**) neprojeví (až na výjimky, např. cytotoxicita purinu **70**) žádné aktivitu na testovaných substrátech.

ZÁVĚR

Předložená disertační práce si kladla hned několik základních cílů. Neomezovala se „pouze“ na syntézu a strukturní charakteristiku požadovaných sloučenin, ale snahou bylo s připravenými látkami dále pracovat a studovat tak možnosti jejich dalšího využití.

Syntetická část vyžadovala nejprve přípravu 1-adamantylaminů, které se vzájemně liší polaritou a délkou řetězce spojujícího adamantanový skelet s aromatickým kruhem dané molekuly (sloučeniny **9–11**, **15**, **16**, **18**, **26–28** a **41–44**). Aminoketony **9–11** byly připraveny selektivní redukcí nitroskupiny výchozích nitroketonů **6–8**. Příprava většiny cílových 1-adamantylanilinů však vyžadovala použití více reakčních kroků. Aminoalkoholy **15**, **16** a **18** tak byly získány selektivní redukcí karbonylové skupiny nitroketonů **6–8** za vzniku nitroalkoholů **12–14** v prvním kroku, následovanou redukcí nitroskupiny sloučenin **12–14** na skupinu aminovou. Syntéza 1-adamantylanilinů obsahujících nepolární řetězec mezi adamantanovým skeletem a aromatickým kruhem (látky **26–28**) spočívala v přípravě nitrodithiolanů **20–22**, následovanou jejich redukcí za vzniku aminodithiolanů **23–25** a závěrečnou desulfurizací dithiolanového kruhu. Požadované 1-adamantylbenzylaminy **41–45** byly připraveny po sobě jdoucí radikálovou bromací (sloučeniny **33–36**) za použití *N*-bromsukcinimidu, nukleofilní substitucí bromu azidovou funkční skupinou (látky **37–40**) a v posledním kroku redukcí azidoketonů. 1-Adamantylaminy **9–11**, **15**, **16**, **18**, **26–28** a **41–44** byly připraveny s úmyslem jejich následného zavedení na purinový kruh, a sice nukleofilní aromatickou substitucí atomu chloru umístěného v poloze 6 tohoto kondenzovaného heterocyklu.

Při přípravě série 2,6,9-trisubstituovaných purinů byl zvolen třístupňový sled reakcí. V prvním kroku byl výchozí 2,6-dichlor-9*H*-purin (**46**) alkylován na atomu dusíku imidazolového kruhu za vzniku N9- a N7-alkylovaných derivátů **47a** (N9) a **47b** (N7). Po ověření reakčních podmínek s jednoduchými aminy byl atom chloru na C6 purinového kruhu nahrazen různými „aminoadamantanovými“ substituenty, čímž byla získána série 2-„amino“-6-chlor-9-isopropyl-9*H*-purinů **48–62**. V posledním kroku byla provedena nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze 2 purinového kruhu 3-aminopropan-1-olem, čímž byly získány sloučeniny **63–74**.

Všechny připravené sloučeniny byly charakterizovány běžně používanými metodami strukturní analýzy (IR, EI-MS, ESI-MS, NMR). Struktura sloučenin **9**, **13**, **17**, **18**, **20**, **21**, **47a**, **49**, **50**, **56**, **60** a **62** byla, díky vypěstování vhodného monokrystalu, pozvržena také rentgenovou difrakční analýzou.

Druhou významnou oblast této práce představovalo studium schopnosti připravených 1-adamantylových ligandů (jak aminů tak purinů) tvořit inkluzní komplexy s β -cyklodextrinem. Stechiometrie a stabilita případně vznikajících

komplexů byla studována pomocí hmotnostní spektrometrie a isotermické titrační kalorimetrie. K navržení geometrie komplexů β -CD·ligand byly prováděny 2D NMR experimenty (NOESY a gs-HMQC-NOESY). U všech studovaných látek docházelo k tvorbě komplexů hostitel-host se stechiometrií 1:1, přičemž lze předpokládat, že adamantanový skelet je uvnitř kavity β -CD umístěn blíže k jejímu sekundárnímu okraji a zbylá část ligandu vyčnívá z primárního okraje hostitelské molekuly.

U většiny připravených 2,6,9-trisubstituovaných purinů (sloučeniny **51–62** a **65–74**) byly na vybraných substrátech zkoumány jejich biologické účinky. Studována byla jak schopnost těchto látek inhibovat cyklin-dependentní kinasy (CDKs), což jsou klíčové molekuly podílející se na regulaci buněčného cyklu, tak také jejich antiproliferační aktivita na dvou typech lidských nádorových buněčných linií. V provedených testech byly studovány jak biologické účinky samotných purinových sloučenin, tak jejich komplexů s β -CD (β -CD·purin, 1:1 a 10:1, molární poměr).

Pro testování enzymatické aktivity připravených purinů byl vybrán heterodimerní komplex CDK2/cyklin E, který je v procesu buněčného dělení významný ve vztahu ke spouštění replikace DNA. Puriny obsahující v poloze 2 atom chloru (látky **51–62**) nevykazovaly ve většině případů (z důvodu nízké rozpustnosti v DMSO) žádnou inhibiční aktivitu. Výjimku u této série látek představovaly sloučeniny **52**, **57** a **60** inhibující holoenzym CDK2/cyklin E v koncentracích nižších než 10 μ M. Nahrazením atomu chloru na C2 purinového skeletu 3-aminopropan-1-olem došlo téměř u všech purinů obsahujících adamantanový motiv (sloučeniny **65–74**) ke zlepšení jejich rozpustnosti. Z těchto látek inhibují komplex CDK2/cyklin E velmi silně zejména látky **66** ($IC_{50} = 0,2 \mu$ M) a **68** ($IC_{50} = 0,6 \mu$ M), jejichž aktivita na tomto typu holoenzymu je srovnatelná se známými purinovými inhibitory roskovinem a olomoucinem II. Testovaný heterodimerní komplex účinně blokují také látky **69** ($IC_{50} = 1,6 \mu$ M), **71** ($IC_{50} = 0,9 \mu$ M) a **74** ($IC_{50} = 3,3 \mu$ M). Určitý inhibiční účinek byl zjištěn také u látek **67** a **73**. Byly-li purinové sloučeniny testovány ve formě ekvimolárních směsí s β -CD byla pozorována jejich zlepšená rozpustnost. Za významné lze také považovat, že při komplexaci s β -CD nedošlo ke ztrátě inhibiční aktivity testovaných látek.

In vitro cytotoxicita byla studována na dvou typech lidských nádorových buněčných linií, a sice K-562 (chronická myeloidní leukémie) a MCF-7 (karcinom prsu). Testování antiproliferační aktivity samotných purinových sloučenin obsahujících adamantanový skelet bylo opět doprovázeno jejich značně omezenou rozpustností v použitém rozpouštědle. Výjimku představují puriny **68** a **69**, které vykazovaly relativně silné cytotoxické účinky vůči oběma testovaným typům nádorových buněčných linií. Zejména pak hodnoty

cytotoxicity látky **68** lze považovat za relativně zajímavé (K-562 $GI_{50} = 5,5 \mu\text{M}$; MCF-7 $GI_{50} = 5,7 \mu\text{M}$). Rovněž při testování cytotoxicity purinových sloučenin se ukázala jejich schopnost vytvářet komplexy s β -CD jako velmi výhodná, a to nejen ve vztahu k rozpustnosti zkoušených purinů, ale také k jejich antiproliferační aktivitě.

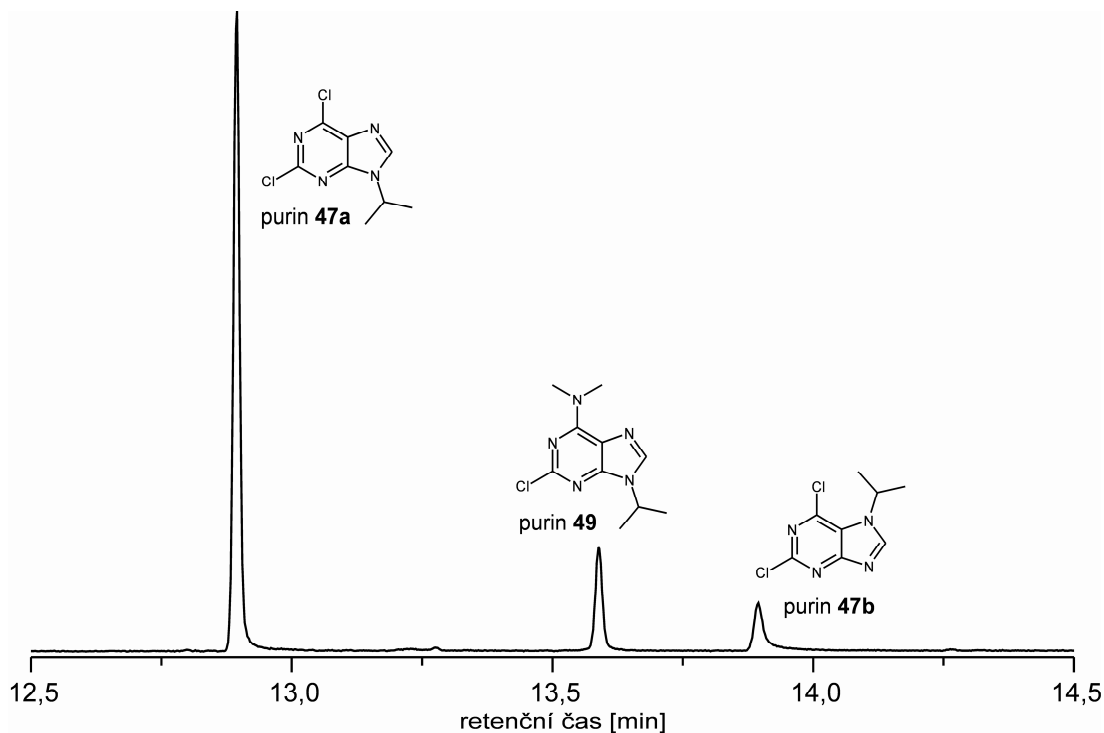
Za zmínku stojí, že antiproliferační účinky sloučenin **51**, **59**, **61**, **65–71**, **73** a **74** (ať už samotných purinů nebo jejich ekvimolárních směsí s β -CD) na vybraných lidských nádorových buněčných liniích byly srovnatelné nebo dokonce silnější v porovnání s roskovitinem (purinový inhibitor CDKs, který v současné době absolvuje druhou fázi klinického zkoušení).

Závěrem lze říci, že byla připravena nová skupina 1-adamantylaminů s vlastnostmi, kterých lze využít při modifikaci biologicky aktivních látek. V této práci byly připravené 1-adamantylaminy cíleně zavedeny na purinový kruh. Ze strukturního hlediska se jako nejvhodnější stavební jednotky jeví 1-adamantylaminy obsahující mezi adamantanovým skeletem a aromatickým kruhem karbonylovou, příp. hydroxylovou skupinu.

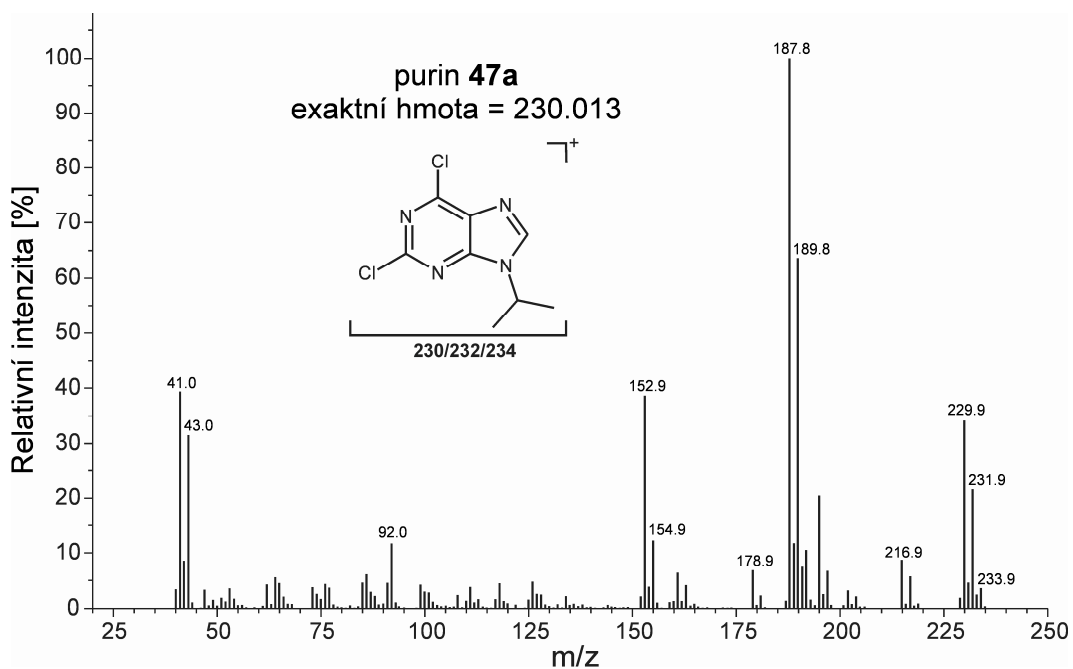
Námětem pro další výzkum by mohla být příprava nových 1-adamantylaminů jakožto vhodných stavebních jednotek pro modifikaci sloučenin s již známými biologickými účinky. Takové sloučeniny by měly pravděpodobně obsahovat mezi adamantanovým skeletem a aromatickým kruhem více než jednu polární skupinu, což by v konečném důsledku mohlo vést k tvorbě interakcí stabilizujících vazbu inhibitoru ve vazebném místě pro ATP příslušného apoenzymu CDK. Struktura nově připravovaných stavebních jednotek by mohla být založena na informacích získaných moderními metodami, např. molekulovým modelováním. Po optimalizaci struktury zamýšleného purinového inhibitoru obsahujícího novou stavební jednotku a jejím dokováním do aktivního místa vybraného substrátu lze získat velmi cenné informace o pravděpodobné orientaci nového inhibitoru v aktivním místě předpokládaného buněčného cíle. Připravené 1-adamantylaminy však nemusí být nutně navázány jen do polohy 6 purinového kruhu, ale také např. do polohy 2. Na C6 purinového kruhu se v takovém případě jeví jako nejvhodnější krátké alifatické aminy, které nejsou příliš prostorově objemné.

PŘÍLOHY

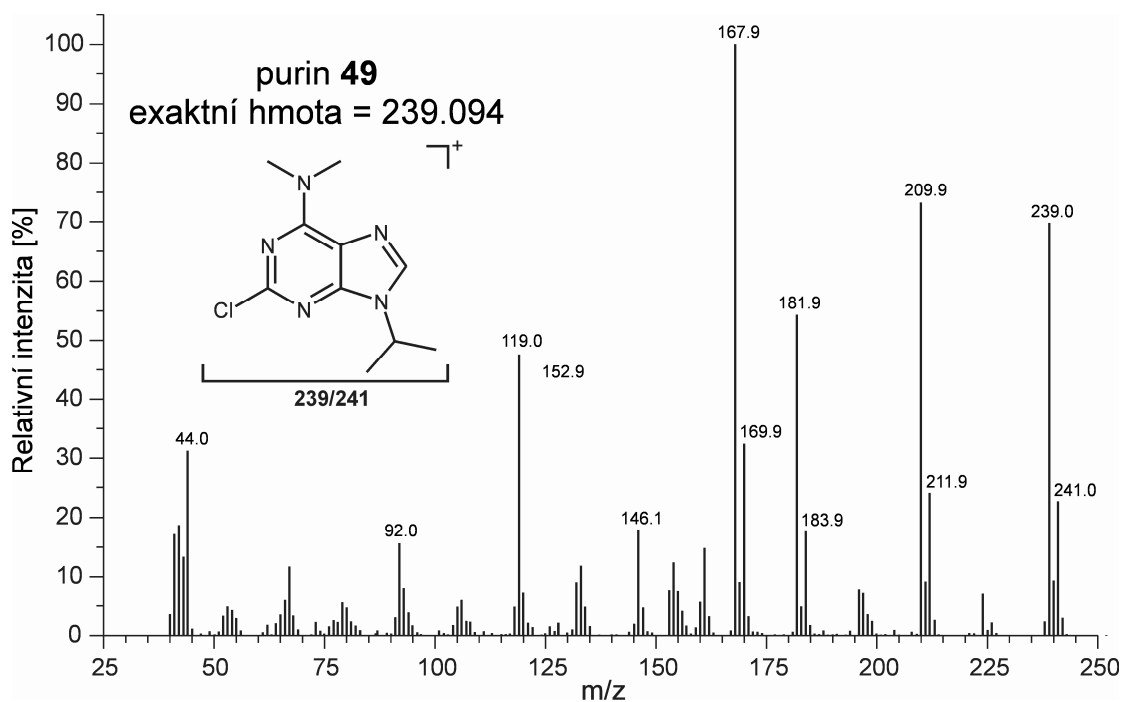
Příloha 1. Část chromatogramu a hmotnostní spektra produktů alkylace 2,6-dichlor-9H-purinu (46).



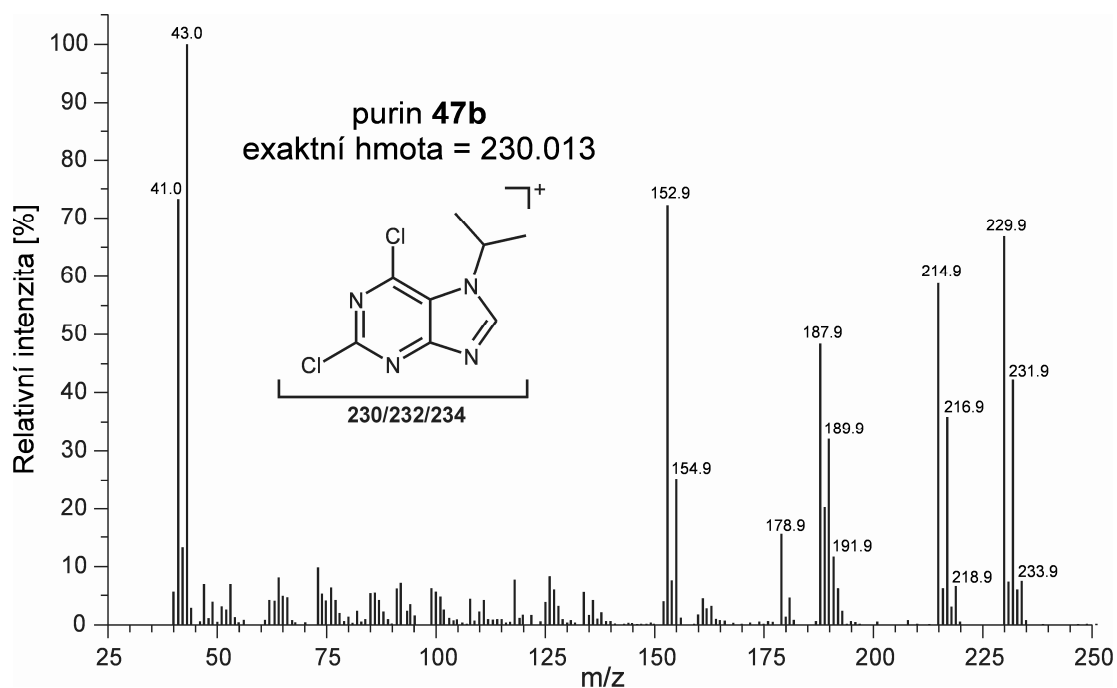
Příloha 1a. Část chromatogramu alkylace 2,6-dichlor-9H-purinu (46).



Příloha 1b. Hmotnostní spektrum 2,6-dichlor-9-isopropyl-9H-purinu (47a).

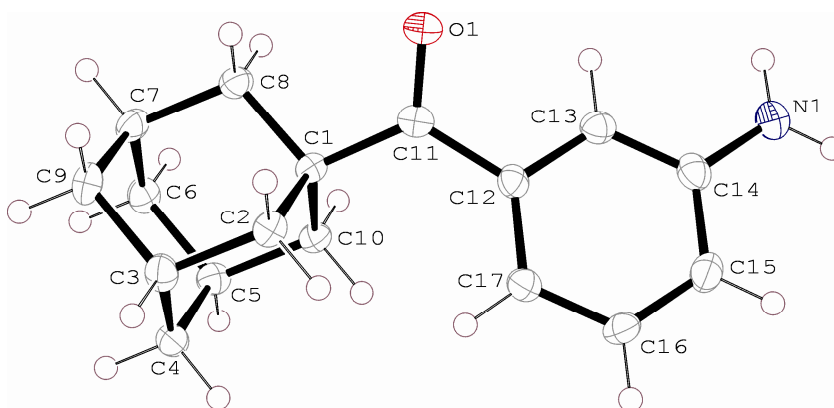


Příloha 1c. Hmotnostní spektrum 2-Chlor-9-isopropyl-*N,N*-dimethyl-9*H*-purin-6-aminu (**49**).

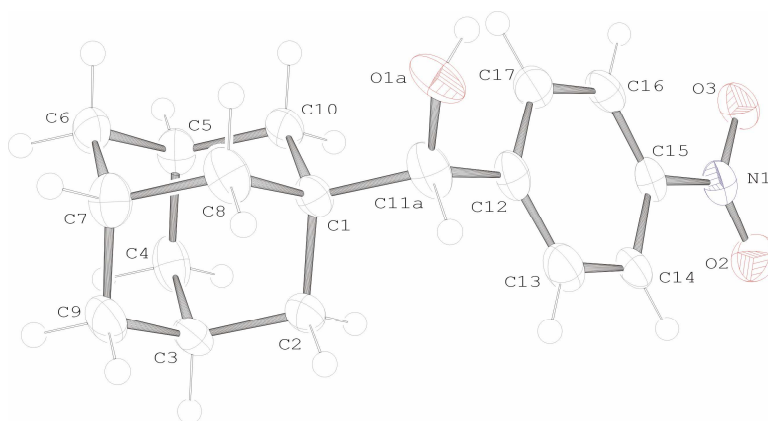


Příloha 1c: Hmotnostní spektrum 2,6-dichlor-7-isopropyl-7*H*-purinu (**47b**).

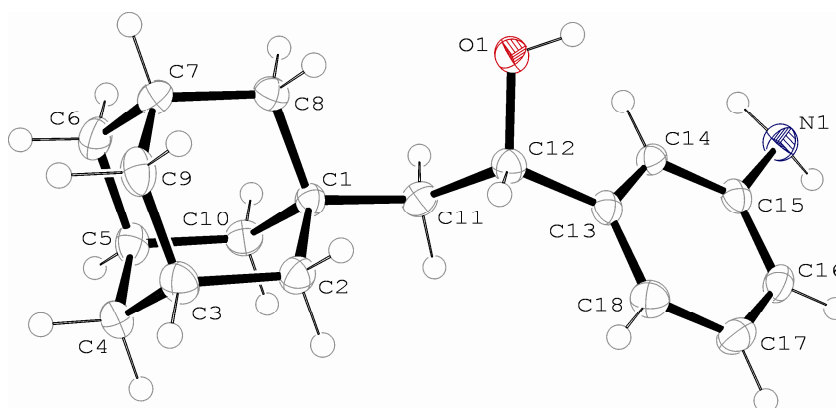
Příloha 2: ORTEP diagramy vybraných sloučenin



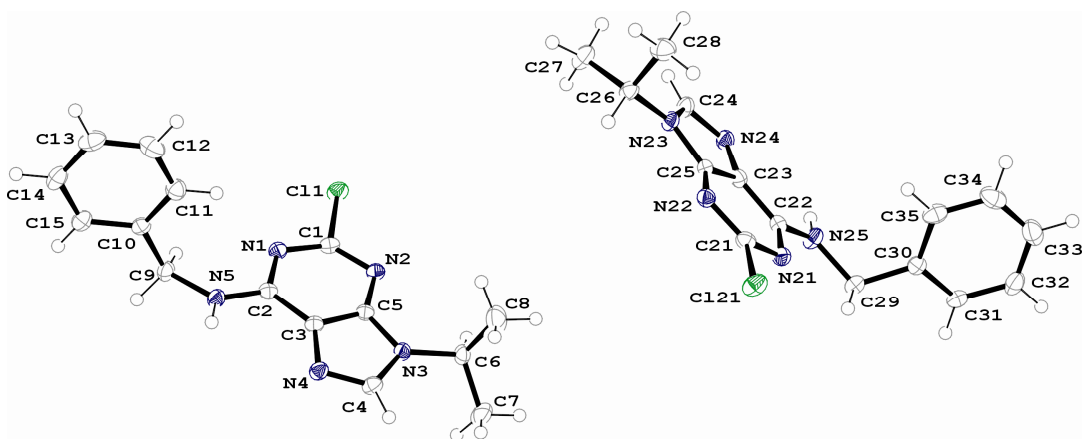
Příloha 2a: ORTEP diagram asymetrické jednotky (1-adamantyl)(3-aminofenyl)methanonu (**9**).



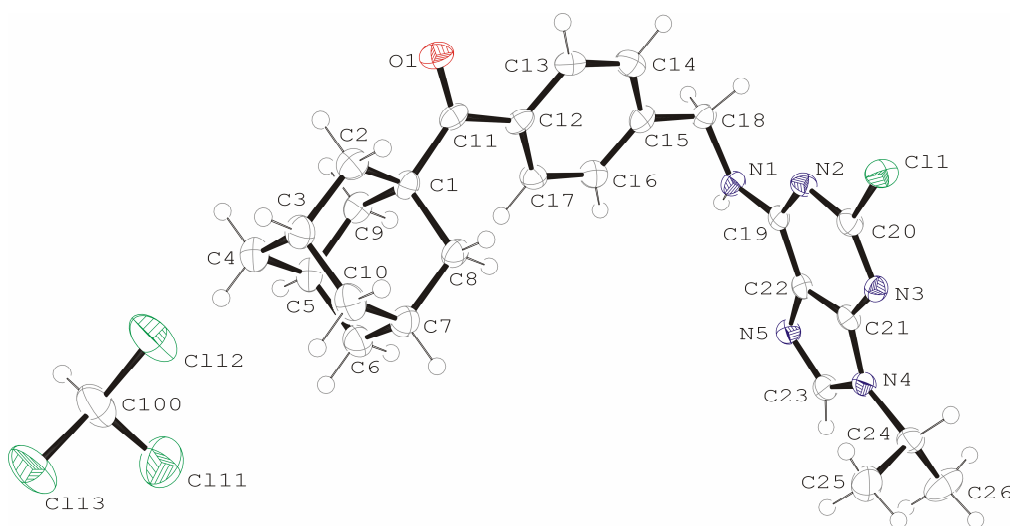
Příloha 2b: ORTEP diagram asymetrické jednotky (1-adamantyl)(4-nitrofenyl)methanolu (**13**).



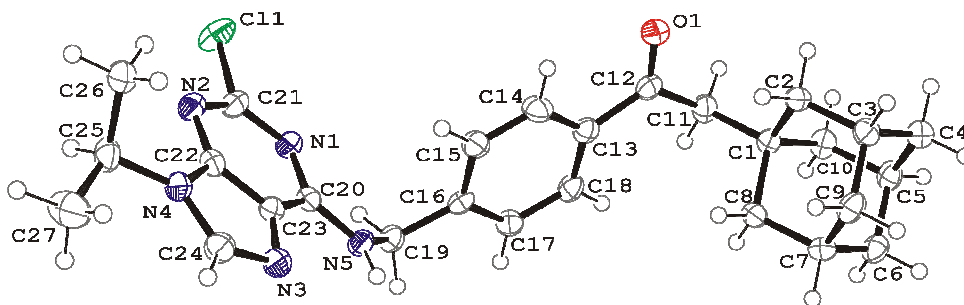
Příloha 2c: ORTEP diagram asymetrické jednotky 2-(1-adamantyl)-1-(3-aminofenyl)ethan-1-olu (**17**).



Příloha 2d: ORTEP diagram asymetrické jednotky *N*-benzyl-2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purin-6-aminu (**50**).



Příloha 2e. ORTEP diagram asymetrické jednotky 1-adamantyl-{4-[(2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purin-6-yl)aminomethyl]fenyl}methanonu (**60**).



Příloha 2f. ORTEP diagram asymetrické jednotky 2-(1-adamantyl)-1-{4-[(2-chlor-9-isopropyl-9*H*-purin-6-yl)aminomethyl]fenyl}ethan-1-onu (**62**).

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ¹ J. Zhang, P. L. Yang, N. S. Gray: *Nature Rev.* **2009**, *9*, 28-39.
- ² J. A. Adams: *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2271-2290.
- ³ N. M. Goodger, J. Canon, T. Hunt, P. R. Morgan: *Oral Oncol.* **1997**, *33*, 61-73.
- ⁴ P. Nurse: *ChemBioChem* **2002**, *3*, 596-603.
- ⁵ J. H. Doonan, G. Kitsios: *Mol. Biotechnol.* **2009**, *42*, 14-29.
- ⁶ K. Vermuelen, D. R. Bockstaele, Z. N. Berneman: *Cell Prolif.* **2003**, *36*, 131-149.
- ⁷ J. D. Watson, F. H. Crick: *Nature* **1953**, *171*, 737-738.
- ⁸ P. Nurse: *Cell* **2000**, *100*, 71-78.
- ⁹ A. de Gramont, O. Cohen-Fix: *Trends Biochem. Sci.* **2005**, *30*, 559-568.
- ¹⁰ M. B. Kastan, J. Bartek: *Nature* **2004**, *432*, 316-323.
- ¹¹ A. Luch: *ChemBioChem* **2002**, *3*, 506-516.
- ¹² M. V. Blahosklonný, A. B. Pardee: *Cell Cycle* **2002**, *1*, 103-110.
- ¹³ L. Coultas, A. Strasser: *Apoptosis* **2000**, *5*, 491-507.
- ¹⁴ D. E. Fischer: *Apoptosis* **2001**, *6*, 7-15.
- ¹⁵ S. Uldrijan, V. Kotala, B. Vojtěšek: *Chem. Listy* **2002**, *96*, 145-149.
- ¹⁶ N. Godefroy, C. Lemaire, B. Mignotte, J.-L. Vayssière: *Apoptosis* **2006**, *11*, 659-661.
- ¹⁷ S. L. Kinnings, R. M. Jackson: *J. Chem. Inf. Model.* **2009**, *49*, 318-329.
- ¹⁸ G. Fan, C. J. Steer: *Apoptosis* **1999**, *4*, 21-29.
- ¹⁹ J. W. Harper, P. D. Adams: *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2511-2526.
- ²⁰ J. C. Cruz, L. H. Tsai: *Curr. Opin. Neurobiol.* **2004**, *14*, 390-394.
- ²¹ I. R. Hardcastle, B. T. Golding, R. J. Griffin: *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2002**, *42*, 325-348.
- ²² M. Legraverend, D. S. Grierson: *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3987-4006.
- ²³ D. O. Morgan: *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **1997**, *13*, 261-91.
- ²⁴ M.-H. Lee, H.-Y. Wang: *Cell. Mol. Life Sci.* **2001**, *58*, 1907-1922.
- ²⁵ G. I. Shapiro: *J. Clin. Oncol.* **2006**, *24*, 1770-1783.
- ²⁶ R. R. Chivukula, J. T. Mendell: *Trends Biochem. Sci.* **2008**, *33*, 474-481.
- ²⁷ A. Besson, S. F. Dowdy, J. M. Roberts: *Dev. Cell* **2008**, *14*, 159-169.
- ²⁸ Z. Kříž, M. Otyepka, I. Bártoová, J. Koča: *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics* **2004**, *55*, 258-274.
- ²⁹ A. Vulpetti, P. Crivori, A. Cameron, J. Bertrand, M. G. Brasca, R. D'Alessio, P. Pevarello: *J. Chem. Inf. Model.* **2005**, *45*, 1282-1290.
- ³⁰ M. De Vivo, A. Cavalli, G. Bottegoni, P. Carloni, M. Recanatini: *Proteins* **2006**, *62*, 89-98.
- ³¹ P. J. Day, A. Cleasby, I. J. Tickle, M. O'Reilly, J. E. Coyle, F. P. Holding, R. L. McMenamin, J. Yon, Ch. Lengauer, H. Jhoti: *P. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 4166-4170.
- ³² P. D. Jeffrey, L. Tong, N. P. Pavletich: *Genes Dev.* **2000**, *14*, 3115-3135.
- ³³ D. Barrick: *ACS Chem. Biol.* **2009**, *4*, 19-22.

- ³⁴ T. G. Davies, P. Tunnah, L. Meijer, D. Marko, G. Eisenbrand, J. A. Endicott, M. E. M. Noble: *Structure* **2001**, *9*, 389-397.
- ³⁵ T. O. Fischmann, A. Hruza, J. S. Duca, L. Ramanathan, T. Mayhood, W. T. Windsor, H. V. Le, T. J. Guzi, M. P. Dwyer, K. Paruch, R. J. Doll, E. Lees, D. Parry, W. Seghezzi, V. Madison: *Biopolymers* **2008**, *89*, 372-379.
- ³⁶ S. Wang, Ch. Meades, C. Wood, A. Osnowski, S. Anderson, R. Yuill, M. Thomas, M. Mezna, W. Jackson, C. Midgley, C. Griffiths, I. Fleming, S. Green, I. McNae, S.-Y. Wu, C. McInnes, D. Zheleva, M. D. Walkinshaw, P. M. Fischer: *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1662-1675.
- ³⁷ B. Zhang, V. B. C. Tan, K. M. Lim, T. E. Tay: *J. Chem. Inf. Model.* **2007**, *47*, 1877-1885.
- ³⁸ V. Kryštof, P. Cankař, I. Fryšová, J. Slouka, G. Kontopidis, P. Džubák, M. Hajdúch, J. Srovnal, W. F. de Azevedo Jr., M. Orság, M. Paprskářová, J. Rolčík, A. Látr, P. M. Fischer, M. Strnad: *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 6500-6509.
- ³⁹ P. Dobeš, M. Otyepka, M. Strnad, P. Hobza: *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 4297-4304.
- ⁴⁰ B. Zhang, V. B. C. Tan, K. M. Lim, T. E. Tay: *Biochemistry* **2007**, *46*, 10841-10851.
- ⁴¹ V. Kryštof, I. Chamrád, R. Jorda, J. Kohoutek: *Med. Res. Rev.* **2010**, *30*, 646-666.
- ⁴² E. D. Lowe, I. Tews, K. Y. Cheng, N. R. Brown, S. Gul, M. E. M. Noble, S. J. Gamblin, L. N. Johnson: *Biochemistry* **2002**, *41*, 15625-15634.
- ⁴³ E. J. Goldsmith, R. Akella, X. Min, T. Zhou, J. M. Humphreys: *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 5065-5081.
- ⁴⁴ J. Sohn, J. M. Parks, G. Buhrman, P. Brown, K. Kristjánisdóttir, A. Safi, H. Edelsbrunner, W. Yang, J. Rudolph: *Biochemistry* **2005**, *44*, 16563-16573.
- ⁴⁵ I. Bártová, M. Otyepka, Z. Kříž, J. Koča: *Protein Science* **2004**, *13*, 1449-1457.
- ⁴⁶ M. Otyepka, I. Bártová, Z. Kříž, J. Koča: *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 7271-7281.
- ⁴⁷ L. N. Johnson, R. J. Lewis: *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2209-2242.
- ⁴⁸ J. Subramanian, S. Sharma, Ch. B-Rao: *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 5434-5441.
- ⁴⁹ L. M. Stevenson, M. S. Dean, J. H. Hagopian, J. Lew: *Biochemistry* **2002**, *41*, 8528-8534.
- ⁵⁰ U. Schulze-Gahmen, S.-H. Kim: *Inhibitors of Cyclin-dependent Kinases as Anti-tumor Agents*. **2007**, Taylor & Francis Group, editoři: P. J. Smith, E. W. Yue, kapitola 7, 143-164.
- ⁵¹ C. Wittenberg: *Nature* **2005**, *434*, 34-35.
- ⁵² Ch. J. Sherr: *Trends Biochem. Sci.* **1995**, *20*, 187-190.
- ⁵³ A. Burgess, M. Wigan, N. Gilda, W. De Pinto, P. Gillespie, F. Stevens, B. Gabrielli: *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 9987-9995.
- ⁵⁴ J.-P. Jeanon, J. A. Wilson: *Clin. Otolaryngol.* **1998**, *23*, 420-424.
- ⁵⁵ I. Diaz-Padilla, L. L. Siu, I. Duran: *Invest. New Drugs* **2009**, *27*, 586-594.
- ⁵⁶ E. K.-H. Han, S.-C. Ng, N. Arber, M. Begemann, I. B. Weinstein: *Apoptosis* **1999**, *4*, 213-219.
- ⁵⁷ J. Pines: *Trends Biochem. Sci.* **1993**, *18*, 195-197.
- ⁵⁸ M. Malumbres, M. Barbacid: *Trends Biochem. Sci.* **2005**, *30*, 630-641.
- ⁵⁹ A. Carnero: *Br. J. Cancer* **2002**, *87*, 129-133.

- ⁶⁰ F. A. Dhariwala, M. S. Rajadhyaksha: *Cell Mol. Neurobiol.* **2008**, *28*, 351-369.
- ⁶¹ J. Lew, J. H. Wang: *Trends Biochem. Sci.* **1995**, *20*, 33-37.
- ⁶² D. Hu, A. Mayedas, J. H. Trembley, J. M. Lahti, V. J. Kidd: *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 8623-8629.
- ⁶³ H. H. Chen, Y. H. Wong, A. M. Geneviere, M. J. Fann: *Biochem. Bioph. Res. Commun.* **2007**, *354*, 735-740.
- ⁶⁴ A. Huwe, R. Mazitschek, A. Giannis: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2122-2138.
- ⁶⁵ P. S. Sharma, R. Sharma, R. Tyagi: *Curr. Cancer Drug Targets* **2008**, *8*, 53-75.
- ⁶⁶ V. Kryštof, S. Uldrijan: *Curr. Drug Targets* **2010**, *11*, 291-302.
- ⁶⁷ H. Rosemeyer: *Chem. Biodivers.* **2004**, *1*, 361-401.
- ⁶⁸ N. Rucci, M. Šušar: *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2008**, *8*, 342-349.
- ⁶⁹ D. R. J. Hauser, T. Scile, D. M. Domeyer, B. Kammerer, S. A. Laufer: *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2060-2066.
- ⁷⁰ M. Knockaert, P. Greengard, L. Meijer: *Trends Pharmacol. Sci.* **2002**, *23*, 417-425.
- ⁷¹ V. L. Rath, D. Verdugo, S. Hemmerich: *Drug Discov. Today* **2004**, *9*, 1003-1011.
- ⁷² J. I. Armstrong, A. R. Portley, Y.-T. Chang, D. M. Nierengarten, B. N. Cook, K. G. Bowman, A. Bishop, N. S. Gray, K. M. Shokat, P. G. Schultz, C. R. Bertozzi: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1303-1306.
- ⁷³ D. E. Verdugo, M. T. Cancilla, X. Ge, N. S. Gray, Y.-T. Chang, P. G. Schultz, M. Negishi, J. A. Leary, C. R. Bertozzi: *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2683-2686.
- ⁷⁴ P. Raboisson, C. Lugnier, Ch. Muller, J.-M. Reismund, D. Schultz, G. Pinna, A. Le Bec, H. Basaran, L. Desaubry, F. Gaudiot, M. Seloum, J.-J. Bourguignon: *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 199-214.
- ⁷⁵ H. Suzuki, M. Nomura, K.-I. Miyamoto, H. Sawanish, K. Yamamoto: *Biol. Pharm. Bull.* **2004**, *27*, 357-360.
- ⁷⁶ W. J. Pitts, W. Vaccaro, T. Huynh, K. Leftheris, J. Y. Roberge, J. Barbora, J. Guo, B. Brown, A. Watson, K. Donaldson, G. C. Starling, P. A. Kiener, M. A. Poss, J. H. Dodd, J. C. Barrish: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 2955-2958.
- ⁷⁷ T. Taldone, A. Gozman, R. Maharaj, G. Chiosis: *Curr. Opin. Pharmacol.* **2008**, *8*, 370-374.
- ⁷⁸ L. Llauger, H. He, J. Kim, J. Aguirre, N. Rosen, U. Peters, P. Davies, G. Chiosis: *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 2892-2905.
- ⁷⁹ T. Taldone, W. Sun, G. Chiosis: *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2225-2235.
- ⁸⁰ K. Kazaoka, H. Sajiki, K. Hirota: *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51*, 608-611.
- ⁸¹ A. Kurimoto, T. Ogino, S. Ichii, Y. Isobe, M. Tobe, H. Ogita, H. Takaku, H. Sajiki, K. Hirota, H. Kawakami: *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 5501-5508.
- ⁸² A. Kurimoto, T. Ogino, S. Ichii, Y. Isobe, M. Tobe, H. Ogita, H. Takaku, H. Sajiki, K. Hirota, H. Kawakami: *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 1091-1099.
- ⁸³ G. R. Rosania, Y.-T. Chang, O. Perez, D. Sutherlin, H. Dong, D. J. Lockhart, P. G. Schultz: *Nat. Biotechnol.* **2000**, *18*, 304-308.

- ⁸⁴ Y.-T. Chang, S. M. Wignall, G. R. Rosania, N. S. Gray, S. R. Hanson, A. I. Su, J. Merlie Jr., O. Perez, R. Heald, P. G. Schultz: *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4497-4500.
- ⁸⁵ O. D. Perez, Y.-T. Chang, G. Rosania, D. Sutherlin, P. G. Schultz: *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 475-483.
- ⁸⁶ P. Fishman, K. A. Jacobson, A. Ochaion, S. Cohen, S. Bar-Yehuda: *Immun., Endoc. & Metab. Agents in Med. Chem.* **2007**, *7*, 298-303.
- ⁸⁷ B. V. Joshi, K. A. Jacobson: *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, *5*, 1275-1295.
- ⁸⁸ P. G. Baraldi, M. A. Tabrizi, S. Gessi, P. A. Borea: *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 238-263.
- ⁸⁹ Y. Shao, A. G. Cole, M.-R. Brescia, L.-Y. Qin, J. Duo, T. M. Stauffer, L. I. Rokosz, B. F. McGuinness, I. Henderson: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 1399-1402.
- ⁹⁰ V. Rialet, L. Meijer: *Anticancer Res.* **1991**, *11*, 1581-1590.
- ⁹¹ C. W. Parker, M. Wilson, D. S. Letham, D. E. Cowley, J. K. MacLeod: *Phytochem.* **1986**, *25*, 303-310.
- ⁹² J. Veselý, L. Havlíček, M. Strnad, J. J. Blow, A. Donella-Deana, L. Pinna, D. S. Letham, J.-Y. Kato, L. Detivaud, S. Leclerc, L. Meijer: *Eur. J. Biochem.* **1994**, *224*, 771-786.
- ⁹³ R. T. Abraham, M. Acquarone, A. Andersen, A. Aseni, R. Bellé, F. Berger, C. Bergounioux, G. Brunn, C. Buquet-Fagot, N. Glab, H. Goudeau, M. Goudeau, P. Guerrier, P. Houghton, H. Hendriks, B. Kloareg, M. Lippai, D. Marie, B. Maro, L. Meijer, J. Mester, O. Mulner-Lorillon, S. A. Poulet, E. Schierenberg, B. Schulte, D. Vaultot, M. H. Velhac: *Biol. Cell* **1995**, *83*, 105-120.
- ⁹⁴ U. Schulze-Gahmen, J. Brandsen, H. D. Jones, D. O. Morgan, L. Meijer, J. Veselý, S.-H. Kim: *Proteins* **1995**, *22*, 378-391.
- ⁹⁵ W. F. de Azevedo, S. Leclerc, L. Meijer, L. Havlíček, M. Strnad, S.-H. Kim: *Eur. J. Biochem.* **1997**, *243*, 518-526.
- ⁹⁶ L. Meijer, A. Borgne, O. Mulren, J. P. J. Chong, J. Blow, N. Inagaki, M. Inagaki, J.-G. Delcros, J.-P. Moulinoux: *Eur. J. Biochem.* **1997**, *243*, 527-536.
- ⁹⁷ S. J. McClue, D. Blake, R. Clarke, A. Cowan, L. Cummings, P. M. Fischer, M. MacKenzie, J. Melville, K. Stewart, S. Wang, N. Zhelev, D. Zheleva, D. P. Lane: *Int. J. Cancer* **2002**, *102*, 463-468.
- ⁹⁸ P. Diwan, J. J. Lacasse, L. M. Schang: *J. Virol.* **2004**, *78*, 9352-9365
- ⁹⁹ M. Mapelli, L. Massimiliano, C. Crovace, M. A. Seeliger, L.-H. Tsai, L. Meijer, A. Musacchio: *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 671-679.
- ¹⁰⁰ L. M. Schang: *Curr. Drug Targets - Infectious Disorders* **2005**, *5*, 29-37.
- ¹⁰¹ C. McInnes: *Drug Discov. Today* **2008**, *13*, 875-881.
- ¹⁰² F. I. Raynaud, P. M. Fischer, B. P. Nutley, P. M. Goddard, D. P. Lane, P. Workman: *Mol Cancer Ther.* **2004**, *3*, 353-362.
- ¹⁰³ B. P. Nutley, F. P. Raynaud, S. C. Wilson, P. M. Fischer, A. Gates, P. M. Goddard, A. J. McClue, M. Jarman, D. P. Lane, P. Workman: *Mol. Cancer Ther.* **2005**, *4*, 125-139.
- ¹⁰⁴ Z. Trávníček, V. Kryštof, M. Šipl: *J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100*, 214-225.
- ¹⁰⁵ M. Maloň, Z. Trávníček, R. Marek, M. Strnad: *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99*, 2127-2138.

- ¹⁰⁶ Z. Trávníček, M. Maloň, M. Zatloukal, K. Doležal, M. Strnad, J. Marek: *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *94*, 307-316.
- ¹⁰⁷ V. Kryštof, R. Lenobel, L. Havlíček, M. Kuzma, M. Strnad: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 3283-3286.
- ¹⁰⁸ V. Kryštof, I. W. McNae, M. D. Walkinshaw, P. M. Fischer, P. Müller, B. Vojtěšek, M. Orság, L. Havlíček, M. Strnad: *Cell. Mol. Life Sci.* **2005**, *62*, 1763-1771.
- ¹⁰⁹ E. E. Brooks, N. S. Gray, A. Joly, S. S. Kerwar, R. Lum, R. L. Mackman, T. C. Norman, J. Rosete, M. Rowe, S. R. Schow, P. G. Schultz, X. Wang, M. M. Wick, D. Shiffman: *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 29207-29211.
- ¹¹⁰ I. Pérez-Roger, C. Ivorra, A. Díez, M. José, E. Poch, S. M. Sanz-González, V. Andrés: *Curr. Pharm. Biotechnol.* **2000**, *1*, 107-116.
- ¹¹¹ M. Knockaert, P. Lenormand, N. Gray, P. Schultz, J. Pouységur: *Oncogene* **2002**, *21*, 6413-6424.
- ¹¹² N. S. Gray, L. Wodicka, A.-M. W. H. Thunnissen, T. C. Norman, S. Kwon, F. H. Espinoza, D. O. Morgan, G. Barnes, S. LeClerc, L. Meijer, S.-H. Kim, D. J. Lockhart, P. G. Schultz: *Science* **1998**, *281*, 533-538.
- ¹¹³ I. R. Hardcastle, B. T. Holding, T. J. Griffin: *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2002**, *42*, 325-348.
- ¹¹⁴ J.-L. Haesslein, N. Julian: *Curr. Top. Med. Chem.* **2002**, *2*, 1037-1050.
- ¹¹⁵ M. Knockaert, N. Gray, E. Damiens, Y.-T. Chang, P. Grellier, K. Grant, D. Fergusson, J. Mottram, M. Soete, J.-F. Dubremetz, K. Le Roch, C. Doerig, P. G. Schultz, L. Meijer: *Chem. Biol.* **2000**, *7*, 411-422.
- ¹¹⁶ S. Ruetz, D. Fabbro, J. Zimmermann, T. Meyer, N. Gray: *Curr. Med. Chem. - Anti-Cancer Agents* **2003**, *3*, 1-14.
- ¹¹⁷ M. K. Dreyer, D. R. Borchering, J. A. Dumont, N. P. Peet, J. T. Tsay, P. S. Wright, A. J. Bitonti, J. Shen, S.-H. Kim: *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 524-530.
- ¹¹⁸ P. W. Shum, N. P. Peet, P. M. Weintraub, T. B. Le, Z. Zhao, F. Barbone, B. Cashman, J. Tsay, S. Dwyer, P. C. Loos, E. A. Powers, K. Kropp, P. S. Wright, A. Bitonti, J. Dumont, D. R. Brocherding: *Nucleos. Nucleot. Nucl.* **2001**, *20*, 1067-1078.
- ¹¹⁹ M. Legraverend, O. Ludwig, E. Bisagni, S. LeClerc, L. Meijer, N. Giocanti, R. Sadri, V. Favaudon: *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 1281-1293.
- ¹²⁰ M. Legraverend, P. Tunnah, M. Noble, P. Ducrot, O. Ludwig, D. S. Grierson, M. Leost, L. Meijer, J. Endicott: *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1282-1292.
- ¹²¹ T. G. Davies, J. Bentley, Ch. A. Arris, F. T. Boyle, N. J. Curtin, J. A. Endicott, A. E. Gibson, B. T. Golding, R. J. Griffin, I. R. Hardcastle, P. Jewsbury, L. N. Johnson, V. Mesguiche, D. R. Newell, M. E. M. Noble, J. A. Tucker, L. Wang, H. J. Whitfield: *Nat. Struct. Biol.* **2002**, *9*, 745-749.
- ¹²² I. R. Hardcastle, Ch. E. Arris, J. Bentley, F. T. Boyle, Y. Chen, N. J. Curtin, J. A. Endicott, A. E. Gibson, B. T. Golding, R. J. Griffin, P. Jewsbury, J. Menyerol, V. Mesguiche, D. R.

- Newell, M. E. M. Noble, D. J. Pratt, L.-Z. Wang, H. J. Whitfield: *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 3710-3722.
- ¹²³ J. A. Gómez-Vidal, J. Campos, J. A. Marchal, H. Boulaiz, M. A. Gallo, E. Carrilo, A. Espinosa, A. Aránega: *Curr. Top. Med. Chem.* **2004**, *4*, 175-202.
- ¹²⁴ M. E. M. Noble, J. A. Endicott: *Pharmacol. Ther.* **1999**, *82*, 269-278.
- ¹²⁵ T. M. Sielecki, J. F. Boylan, P. A. Benfield, G. L. Tranior: *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1-18.
- ¹²⁶ T. G. Davies, D. J. Pratt, J. A. Endicott, L. N. Johnson, M. E. M. Noble: *Pharmacol. Ther.* **2002**, *93*, 125-133.
- ¹²⁷ L. Meijer, E. Raymond: *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 417-425.
- ¹²⁸ Ch. E. Arris, F. T. Boyle, A. H. Calvert, N. J. Curtin, J. A. Endicott, E. F. Barman, A. E. Gibson, B. T. Golding, S. Grant, R. J. Griffin, P. Jewsbury, L. N. Johnson, A. M. Lawrie, D. R. Newell, M. E. M. Noble, E. A. Sausville, R. Schultz, W. Yu: *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2797-2804.
- ¹²⁹ D. J. Pratt, J. Bentley, P. Jewsbury, F. T. Boyle, J. A. Endicott, M. E. M. Noble: *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 5470-5477.
- ¹³⁰ R. J. Griffin, A. Henderson, N. J. Curtin, A. Echalié, J. A. Endicott, I. R. Hardcastle, D. R. Newell, M. E. M. Noble, L.-Z. Wang, B. T. Golding: *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6012-6013.
- ¹³¹ F. Canduri, W. F. de Azevedo Jr.: *Current Computer-Aided Drug Design* **2005**, *1*, 53-64.
- ¹³² J. J.-L. Liao: *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 409-424.
- ¹³³ G. B. Eliot, G. H. Hitchings: *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 3508-3510.
- ¹³⁴ T. Naito, S. Nakagawa, T.-A. Okita, H. Yamashita, T. Yamasaki, H. Kamei, K. Totazsu, H. Imanishi, H. Kawaguchi: *Chem. Pharm. Bull.* **1982**, *30*, 2011-2019.
- ¹³⁵ Q. Zeng, B. Huang, K. Danielen, R. Shukla, T. Nagy: *Org. Process Res. Dev.* **2004**, *8*, 962-963.
- ¹³⁶ J. A. Monthery: *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 1928-1930.
- ¹³⁷ J. L. Kelley, R. M. Bullock, M. P. Krochmal, E. W. McLean, J. A. Linn, M. J. Durcan, B. R. Cooper: *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3207-3216.
- ¹³⁸ J. Yang, Q. Dang, J. Liu, Z. Wei, J. Wu, X. Bai: *J. Comb. Chem.* **2005**, *7*, 474-482.
- ¹³⁹ M. Zhong, M. J. Robins: *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8901-8906.
- ¹⁴⁰ N. Oumata, K. Bettayeb, Y. Ferandin, L. Demange, A. Lopez-Giral, M.-L. Goddard, V. Myrianthopoulos, E. Mikros, M. Flajolet, P. Greengard, L. Meijer, H. Galons: *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 5229-5242.
- ¹⁴¹ B. Zacharie, D. Fortin, N. Wilb, J.-F. Bienvenu, M. Asselin, B. Grouix, Ch. Penney: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 242-246.
- ¹⁴² M. Legraverend: *Tetrahedron* **2008**, *64*, 8585-8603.
- ¹⁴³ M. Legraverend, O. Ludwig, S. Leclerc, L. Meijer: *J. Heterocyclic Chem.* **2001**, *38*, 299-303.
- ¹⁴⁴ P. Imbach, H.-G. Capraro, P. Furet, H. Mett, T. Meyer, J. Zimmermann: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 91-96.

- ¹⁴⁵ K. Alarcon, M. Demeunynck, J. Lohmme, D. Carrez, A. Kroisy: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1855-1858.
- ¹⁴⁶ N. S. Gray, S. Kwon, P. G. Schultz: *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1161-1164.
- ¹⁴⁷ Y. Isobe, A. Kurimoto, M. Tobe, K. Hashimoto, T. Nakamura, K. Noimura: *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2088-2095.
- ¹⁴⁸ V. Brun, M. Legraverend, D. S. Grierson: *Tetrahedron* **2002**, *58*, 7911-7923.
- ¹⁴⁹ V. Kryštof, D. Moravcová, M. Paprskářová, P. Barbier, V. Peyrot, A. Hlobilková, L. Havlíček, M. Strnad: *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 1405-1411.
- ¹⁵⁰ S. Ding, N. S. Gray, Q. Ding, P. G. Schultz: *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 8751-8755.
- ¹⁵¹ M. Legraverend, O. Ludwig, E. Bisagni, S. Leclerc, L. Meijer: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 793-798.
- ¹⁵² L. Vandromme, M. Legraverend, S. Kreimerman, O. Lozach, L. Meijer, D. S. Grierson: *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 130-141.
- ¹⁵³ I. Čerňa, R. Pohl, B. Klepetářová, M. Hocek: *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5389-5392.
- ¹⁵⁴ S. Piguel, M. Legraverend: *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 7026-7029.
- ¹⁵⁵ H. Hung, H. Liu, K. Chen, H. Jiang: *J. Comb. Chem.* **2007**, *9*, 197-199.
- ¹⁵⁶ R. E. Austin, J. F. Okonya, D. R. S. Bond, F. Al-Obeidi: *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 6169-6171.
- ¹⁵⁷ D. A. Nugiel, L. A. M. Cornelius, J. W. Corbett: *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 201-203.
- ¹⁵⁸ P. H. Dorff, R. S. Garigipati: *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2771-2773.
- ¹⁵⁹ W. K.-D. Brill, C. Riva-Toniolo: *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6515-6518.
- ¹⁶⁰ B. Lucas, N. Rosen, G. Chiosis: *J. Comb. Chem.* **2001**, *3*, 518-520.
- ¹⁶¹ C. Riva-Toniolo, S. Müller, J. Schaub, W. K.-D. Brill: *Mol. Div.* **2003**, *6*, 43-53.
- ¹⁶² S. Ding, N. S. Gray, Q. Ding, X. Wu, P. G. Schultz: *J. Comb. Chem.* **2002**, *4*, 183-186.
- ¹⁶³ T. C. Norman, N. S. Gray, J. T. Koh, P. G. Schultz: *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7430-7431.
- ¹⁶⁴ A. M. Senderowicz: *Cancer Biol. Ther.* **2003**, *2*, S84-S95.
- ¹⁶⁵ L. Meijer: *Drug Resist. Update* **2000**, *3*, 83-88.
- ¹⁶⁶ L. Meijer: *Trends Cell Biol.* **1996**, *6*, 393-397.
- ¹⁶⁷ C. M. Crews, J. B. Shotwell: *Prog. Cell Cycle Res.* **2003**, *5*, 125-133
- ¹⁶⁸ P. M. Fischer, D. P. Lane: *Curr. Med. Chem.* **2000**, *7*, 1213-1245.
- ¹⁶⁹ A. J. Bridges: *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2541-2571.
- ¹⁷⁰ H. Nakano, S. Ōmura: *J. Antibiot.* **2009**, *62*, 17-26.
- ¹⁷¹ A. M. Senderowicz: *Oncogene* **2003**, *22*, 6609-6620.
- ¹⁷² T. Akiyama, T. Yoshida, T. Tsujita, M. Shimizu, T. Mizukami, M. Okabe, S. Akinaga: *Cancer Res.* **1997**, *57*, 1495-1501.
- ¹⁷³ I. Collins, M. D. Garrett: *Curr. Opin. Pharmacol.* **2005**, *5*, 366-373.
- ¹⁷⁴ L. J. Wilson, C. Yang, W. V. Murray: *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 7399-7404.
- ¹⁷⁵ S. Delarue-Cochin, I. McCort-Tranchepain: *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 706-716.

- ¹⁷⁶ G. Zapata-Torres, F. Opazo, C. Salgado, J. P. Muñoz, H. Krautwurst, C. Mascayano, S. Sepúlveda-Boza, R. B. Macciony, B. K. Cassels: *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 416-420.
- ¹⁷⁷ P. M. Fischer, J. Endicott, L. Meijer: *Prog. Cell Cycle Res.* **2003**, *5*, 235-248.
- ¹⁷⁸ M. Orzáez, A. Gortat, L. Mondragón, O. Bachs, E. Pérez-Payá: *ChemMedChem* **2009**, *4*, 19-24.
- ¹⁷⁹ M. D. Losiewicz, B. A. Carlson, G. Kaur, E. A. Sausville, P. J. Worland: *Biochem. Bioph. Res. Commun.* **1994**, *201*, 589-595.
- ¹⁸⁰ A. M. Senderowicz: *Oncogene* **2000**, *19*, 6600-6606.
- ¹⁸¹ E. A. Sausville, D. Zaharevitz, R. Gussio, L. Meijer, M. Locarn-Leost, C. Kunick, R. Schultz, T. Lahusen, D. Headlee, S. Stinson, S. G. Arbuck, A. Senderowicz: *Pharmacol. Ther.* **1999**, *82*, 285-292.
- ¹⁸² M. Kakai, T. Hirano, S. Higa, J. Arimitsu, M. Maruta, Y. Kuwahara, T. Ohkawara, K. Hagihara, T. Yamadori, Y. Shima, A. Ogata, I. Kawase, T. Tanaka: *Allergology International* **2007**, *56*, 113-123.
- ¹⁸³ Y. Sagara, J. Vanhnasy, P. Maher: *J. Neurochem.* **2004**, *90*, 1144-1155.
- ¹⁸⁴ X. Lu, J. Jung, H. J. Cho, D. Y. Lim, H. S. Lee, H. S. Chun, D. Y. Kwon, J. H. Y. Park: *J. Nutr.* **2005**, *135*, 2884-2890.
- ¹⁸⁵ H. Lu, D. J. Chang, B. Baratte, L. Meijer, U. Schulze-Gahmen: *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 737-743.
- ¹⁸⁶ J. Lee, T. Park, S. Jeong, K.-H. Kim, Ch. Hong: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 1284-1287.
- ¹⁸⁷ K. Bettayeb, H. Sallam, Y. Ferandin, F. Popowycz, G. Fournet, M. Hassan, A. Echalié, P. Bernard, J. Endicott, B. Joseph, L. Meijer: *Mol. Cancer Ther.* **2008**, *7*, 2713-2724.
- ¹⁸⁸ F. Popowycz, G. Fournet, C. Schneider, K. Bettayeb, Y. Ferandin, C. Lamigeon, O. M. Tirado, S. Mateo-Lozano, V. Notario, P. Colas, P. Bernard, L. Meijer, B. Joseph: *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 655-663.
- ¹⁸⁹ D. Moravcová, V. Kryštof, L. Havlíček, J. Moravec, R. Lenobel, M. Strnad: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2989-2992.
- ¹⁹⁰ L. Havlíček, K. Fuksová, V. Kryštof, M. Orság, B. Vojtěšek, M. Strnad: *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 5399-5407.
- ¹⁹¹ R. J. Misra, D. B. Rawlins, H.-Y. Xiao, W. Shan, I. Bursuker, K. A. Kellar, J. G. Mulheron, J. S. Sack, J. S. Tokarski, S. D. Kimball, K. R. Webster: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1133-1136.
- ¹⁹² R. J. Misra, H.-Y. Xiao, D. B. Rawlins, W. Shan, K. A. Kellar, J. G. Mulheron, J. S. Sack, J. S. Tokarski, S. D. Kimball, K. R. Webster: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2405-2408.
- ¹⁹³ S. Lapenna, A. Giordano: *Nature Rev.* **2009**, *8*, 547-566.
- ¹⁹⁴ A. Conroy, D. E. Stockett, D. Walker, M. R. Arkin, U. Hoch, J. A. Fox, R. E. Hawtin: *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2009**, *64*, 723-732.

- ¹⁹⁵ C. Benson, S. Kaye, P. Workman, M. Garrett, M. Walton, J. de Bono: *Br. J. Cancer* **2005**, *92*, 7-12.
- ¹⁹⁶ R. J. Misra, H.-Y. Xiao, K. S. Kim, S. Lu, W.-Ch. Han, S.A. Barbosa, J. T. Hunt, D. B. Rawlins, W. Shan, S. Z. Ahmed, L. Qian, B.-Ch. Chen, R. Zhao, M. S. Bednarz, K. A. Kellar, J. G. Mulheron, R. Bavorsky, U. Roongta, A. Kamath, P. Marathe, S. A. Ranadive, J. S. Sack, J. S. Tokarski, N. P. Pavletich, F. Y. F. Lee, K. R. Webster, S. D. Kimball: *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1719-1728.
- ¹⁹⁷ P. Pevarello, M. G. Brasca, R. Amici, P. Orsini, G. Traquandi, L. Corti, C. Piutti, P. Sansonna, M. Villa, B. S. Pierce, M. Pulici, P. Giordano, K. Martina, E. L. Fritzen, R. A. Nugent, E. Casale, A. Cameron, M. Ciomei, F. Roletto, A. Isacchi, G. P. Fofliatto, E. Petenti, W. Pastori, A. Marsiglio, K. L. Leach, P. M. Clare, F. Fiorentini, M. Varasi, A. Vulpeti, M. A. Warpehoski: *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 3367-3380.
- ¹⁹⁸ P. Pevarello, M. G. Brasca, P. Orsini, G. Traquandi, A. Longo, M. Nesi, F. Orzi, C. Piutti, P. Sansonna, M. Varasi, A. Cameron, A. Vulpetti, F. Roletto, R. Alzani, M. Ciomei, C. Albanese, W. Pastori, A. Marsiglio, E. Petenti, F. Fiorentini, J. R. Bischoff, C. Mercurio: *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 2944-2956.
- ¹⁹⁹ V. Kryštof, P. Cankař, I. Fryšová, J. Slouka, G. Kontopidis, P. Džubák, M. Hajdúch, J. Srovnal, W. F. de Azevedo Jr., M. Orság, M. Paprskářová, J. Rolník, A. Látr, P. M. Fischer, M. Strnad: *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 6500-6509.
- ²⁰⁰ Paul G. Wyatt, A. J. Woodhead, V. Berdini, J. A. Boulsridge, M. G. Carr, D. M. Cross, D. J. Davis, L. A. Devine, T. R. Early, R. E. Feltell, E. J. Lewis, R. L. McMEnamin, E. F. Navarro, M. A. O'Brien, M. O'Reilly, M. Reule, G. Saxty, L. C. A. Seavers, D.-M. Smith, M. S. Squires, G. Trewartha, M. T. Walker, A. J.-A. Wooldford: *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 4986-4999.
- ²⁰¹ L. Santo, S. Vallet, T. Hideshima, D. Cirstea, H. Ikeda, S. Pozzi, K. Patel, Y. Okawa, C. Gorgun, G. Perrone, E. Calabrese, M. Yule, M. Squires, M. Ladetto, M. Boccadoro, P. G. Richardson, N. C. Munshi, K. C. Anderson, N. Raje: *Oncogene* **2010**, *29*, 2325-2336.
- ²⁰² M. S. Squires, R. E. Feltell, N. G. Wallis, E. J. Lewis, D.-M. Smith, D. M. Cross, J. F. Lyons, N. T. Thompson: *Mol. Cancer Ther.* **2009**, *8*, 324-332.
- ²⁰³ K. L. Sayle, J. Bentley, F. T. Boyle, A. H. Calvert, Y. Cheng, N. J. Curtin, J. A. Endicott, B. T. Golding, I. R. Hardcastle, P. Jewsbury, V. Mesguiche, D. R. Newell, M. E. M. Noble, R. J. Parsons, D. J. Pratt, L. Z. Wang, R. J. Griffin: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3079-3082.
- ²⁰⁴ W. DePinto, X.-J. Chu, X. Yin, M. Smith, K. Packman, P. Goelzer, A. Lovey, Y. Chen, H. Qian, R. Hamid, Q. Xiang, Ch. Tovar, R. Blain, T. Nevins, B. Higgins, L. Luistro, K. Kolinsky, B. Felix, S. Hussain, D. Heimbrook: *Mol. Cancer Ther.* **2006**, *5*, 2644-2658.
- ²⁰⁵ X.-J. Chu, W. DePinto, D. Bartkovitz, S.-S. So, B. T. Vu, K. Packman, Ch. Lukacs, Q. Ding, N. Jiang, K. Wang, P. Goelzer, X. Yin, M. A. Smith, B. X. Higgins, Y. Chen,

- Q. Xing, J. Moliterni, G. Kaplan, B. Graves, A. Lovey, N. Fotouhi: *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 6549-6560.
- ²⁰⁶ J. Bain, H. McLuachlan, M. Elliott, P. Cohen: *Biochem. J.* **2003**, *371*, 199-204.
- ²⁰⁷ L. L. Kent, N. E. Hull-Cambel, T. Lau, J. C. Wu, S. A. Thompson, M. Nori: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1999**, *260*, 768-774.
- ²⁰⁸ R. Hoessel, S. Leclerc, J. A. Endicott, M. E. M. Noble, A. Lawrie, P. Tunnah, M. Leost, E. Damiens, D. Marie, D. Marco, E. Nedirberger, W. Tang, G. Eisenbrand, L. Meijer: *Nat. Cell Biol.* **1999**, *1*, 60-67.
- ²⁰⁹ S. Leclerc, M. Garnier, R. Hoessel, D. Marko, J. A. Bibb, G. L. Snyder, P. Greengard, J. Biernat, Y.-Z. Wu, E.-M. Maldenkow, G. Eisenbrand, L. Meijer: *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 251-260.
- ²¹⁰ M. Pallás, A. M. Canudas, E. Verdaguer, C. Allgaier, S. G. de Arriba, D. Alvira, F. X. Sureda, A. Camins: *Curr. Med. Chem. - Central Nervous System Agents* **2005**, *5*, 101-109.
- ²¹¹ J. Sridhar, N. Akula, N. Pattabiraman: *AAPS J.* **2006**, *8*, E204-E221.
- ²¹² S.-J. Choi, J.-E. Lee, S.-Y. Jeong, I. Im, S.-D. Lee, E.-J. Lee, S. K. Lee, S.-M. Kwon, S.-G. Ahn, J.-H. Yoon, S.-Y. Han, J.-I. Kim, Y.-Ch. Kim: *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3696-3706.
- ²¹³ C. Kunick, Ch. Schultz, T. Lemcke, D. W. Zaharevitz, R. Gussio, R. K. Jalluri, E. A. Sausville, M. Leost, L. Meijer: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 567-569.
- ²¹⁴ D. W. Zaharevitz, R. Gussio, M. Leost, A. M. Senderowicz, T. Lahusen, C. Kunick, L. Meijer, E. A. Sausville: *Cancer Res.* **1999**, *59*, 2566-2569.
- ²¹⁵ R. Gussio, D. W. Zaharevitz, C. F. McGrath, N. Pattabiraman, G. E. Kellogg, Ch. Schultz, A. Link, C. Kunick, M. Leost, L. Meijer, E. A. Sausville: *Anti-Cancer Drug Design* **2000**, *15*, 53-66.
- ²¹⁶ Ch. Schultz, A. Link, M. Leost, D. W. Zaharevitz, R. Gussio, E. A. Sausville, L. Meijer, C. Kunick: *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2909-2919.
- ²¹⁷ A. Dobrov, V. B. Arion, N. Kandler, W. Ginzinger, M. A. Jakupec, A. Ruffinska, N. G. von Keyserlingk, M. Galanski, Ch. Kowol, B. H. Keppler: *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 1945-1950.
- ²¹⁸ W. F. Schmid, R. O. John, C. B. Arion, M. A. Jakupec, B. K. Keppler: *Organometallics* **2007**, *26*, 6643-6652.
- ²¹⁹ W. F. Schmid, S. Zorbas-Seifried, R. O. John, V. B. Arion, M. A. Jakupec, A. Roller, M. Galanski, I. Chiorescu, H. Zorbas, B. K. Keppler: *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 3654-3656.
- ²²⁰ S. R. Walker, E. J. Carter, B. C. Huff, J. C. Morris: *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 3080-3098.
- ²²¹ R. J. Anderson, J. C. Morris: *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 8697-8699.
- ²²² K. Bettayeb, O. M. Tirado, S. Marinneau-Lambot, Y. Ferandin, O. Lozach, J. C. Morris, S. Mateo-Lozano, P. Drucekes, Ch. Schächtele, M. H. G. Kubbutat, F. Liger, B. Marquet, B. Joseph, A. Echalié, J. A. Endicott, V. Notario, L. Meijer: *Cancer Res.* **2007**, *67*, 8325-8334.

- ²²³ M. Gompel, M. Leost, E. B. De Kier Joffe, L. Puricelli, L. H. Franco, J. Palermo, L. Meijer: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 1703-1707.
- ²²⁴ A. Echaliier, K. Bettayeb, Y. Ferandin, O. Lozach, M. Clément, A. Valette, F. Liger, B. Marquet, J. C. Morris, J. A. Endicott, B. Joseph, L. Meijer: *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 737-751.
- ²²⁵ R. Vícha, M. Potáček: *Chem. Listy* **2004**, *98*, 68-74.
- ²²⁶ R. C. Fort Jr., P. von R. Schleyer: *Chem. Rev.* **1964**, *64*, 277-300.
- ²²⁷ P. von R. Schleyer, M. M. Donaldson, R. D. Nicolas, C. Cupas: *Organic Syntheses* **1962**, *42*, 8.
- ²²⁸ P. von R. Schleyer: *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 3292.
- ²²⁹ H. Koch, W. Haaf: *Org. Synth.* **1964**, *44*, 1.
- ²³⁰ O. Farooq, M. Marcelli, G. K. S. Prakash, G. A. Olah: *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 864-867.
- ²³¹ S. Kato, T. Iwahama, S. Sakaguchi, Y. Ishii: *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 222-223.
- ²³² H. Mori, A. Mori, Q. Xu, Y. Souma: *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 7871-7874.
- ²³³ G. Molle, P. Bauer, J. E. Dubois: *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 4120-4128.
- ²³⁴ C. J. Salomon, E. G. Mata, O. A. Mascaretti: *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7259-7266.
- ²³⁵ M. Node, K. Nishide, M. Sai, K. Fuji, E. Fujita: *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 1991-1993.
- ²³⁶ O. Meth-Cohn, M.-X. Wang: *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1997**, *1*, 1099-1104.
- ²³⁷ K. K. Park, Ch. H. Oh, W.-J. Sim: *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6202-6204.
- ²³⁸ D. S. Hays, G. C. Fu: *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 2796-2797.
- ²³⁹ C. V. Lindsley, Z. Zhao, R. C. Newton, W. H. Leister, K. A. Strauss: *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4467-4470.
- ²⁴⁰ S. G. Koenig, Ch. P. Vandenbossche, H. Zhao, P. Mousaw, S. P. Singh, R. P. Bakale: *Org. Lett.* **2009**, *11*, 433-436.
- ²⁴¹ G. M. Loudon, A. S. Radhakrishna, M. R. Almond, J. K. Blodgett, R. H. Boutin: *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 4272-4276.
- ²⁴² K. Huard, H. Lebel: *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6222-6230.
- ²⁴³ P. Kovacic, P. D. Roskos: *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 6457-6460.
- ²⁴⁴ J. W. Strand, P. Kovacic: *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 2977-2982.
- ²⁴⁵ M. Kitamura, T. Suga, S. Chiba, K. Narasaka: *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4619-4621.
- ²⁴⁶ G. Stamatiou, G. B. Foscolos, G. Vytas, A. Kolocouris, N. Kolocouris, C. Pannecouque, M. Witvrouw, E. Padalko, J. Neyts, E. de Clercq: *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 5485-5492.
- ²⁴⁷ C. E. Wagner, M. L. Mohler, G. S. Kang, D. D. Miller, E. E. Geisert, Y.-A. Chang, E. B. Fleischer, K. J. Shea: *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 2823-2833.
- ²⁴⁸ D. Tataridis, G. Fytas, A. Kolocouris, C. Fytas, N. Kolocouris, G. B. Foscolos, E. Padalko, J. Neyts, E. de Clercq: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 692-696.
- ²⁴⁹ G. Zoidis, C. Fytas, I. Papanastasiou, G. B. Foscolos, G. Fytas, E. Padalko, E. de Clercq, L. Naesens, J. Neyts, N. Kolocouris: *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3341-3348.

- ²⁵⁰ N. V. Makarova, E. I. Boreko, I. K. Moiseev, N. I. Pavlova, M. N. Zemtsova, S. N. Nikolaeva, G. V. Vladyko: *Pharm. Chem. J.* **2001**, *35*, 480-484.
- ²⁵¹ A. A. El-Emam, O. A. Al-Deeb, M. Al-Omar, J. Lehmann: *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 5107-5113.
- ²⁵² A. A. Kadi, R. El-Brollosy, O. A. Al-Deeb, E. E. Habib, T. M. Ibrahim, A. A. El-Emam: *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 235-242.
- ²⁵³ K. D. Koo, M. J. Kim, K.-H. Kim, S. Y. Hong, G.-C. Hur, H. J. Yim, G. T. Kim, H. O. Han, O. H. Kwon, T. S. Kwon, J. S. Koh, Ch.-S. Lee: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 4167-4172.
- ²⁵⁴ E. B. Villhauer, J. A. Brinkman, G. B. Naderi, B. F. Burky, B. E. Dunning, K. Prasad, B. L. Mangold, M. E. Russell, T. E. Hughes: *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 2774-2789.
- ²⁵⁵ B. Ahrén, M. Landin-Olsson, P.-A. Jansson, M. Svensson, D. Holmes, A. Schweizer: *J. Clin. Endocr. Metab.* **2004**, *89*, 2078-2084.
- ²⁵⁶ S. H. Hwang, Ch. Morisseau, Z. Do, B. D. Hammock: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 5773-5777.
- ²⁵⁷ S.-K. Anandan, Z. N. Do, H. K. Webb, D. V. Patel, R. D. Hlese: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 1066-1070.
- ²⁵⁸ I.-H. Kim, Ch. Morisseau, T. Watanabe, B. D. Hammock: *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2110-2122.
- ²⁵⁹ S. H. Hwang, H.-J. Tsai, J.-Y. Liu, Ch. Morisseau, B. D. Hammock: *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 3825-3840.
- ²⁶⁰ E. Parrella, M. Gianni, M. Fratelli, M. M. Barzago, I. Raska Jr., L. Diomedede, M. Kurosaki, C. Pisano, P. Carminati, L. Merlini, S. Dallavalle, M. Tavecchio, C. Rochette-Egley, M. Terao, E. Garattini: *Mol. Pharmacol.* **2006**, *70*, 909-924.
- ²⁶¹ M. I. Dawson, Z. Xia, T. Juany, M. Ye, J. A. Fontana, L. Farhana, B. Patel, L. P. Xue, M. Bhuiyan, R. Pellicciari, A. Macchiarulo, R. Nuti, X.-K. Zhang, Y.-H. Han, L. Tautz, P. D. Hoobs, L. Jong, N. Waleh, W. Chao, G.-S. Feng, Y. Pang, Y. Su: *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 5650-5662.
- ²⁶² R. G. Keedwell, Y. Zhao, L. A. Hammond, S. Qin, K.-Y. Tsang, A. Reitmair, Y. Molina, Y. Okawa, L. I. Atangan, D.-L. Shurland, K. Wen, D. M. A. Wallace, R. Bird, R. A. S. Chandraratna, G. Brown: *Cancer Res.* **2004**, *64*, 3302-3312.
- ²⁶³ L. Farhana, M. I. Dawson, M. Leid, L. Wang, D. D. Moore, G. Liu, Z. Xia, J. A. Fontana: *Cancer Res.* **2007**, *67*, 318-327.
- ²⁶⁴ R. E. Lee, M. Protopopova, E. Crooks, A. Slayden, M. Terrot, C. E. Barry III: *J. Comb. Chem.* **2003**, *5*, 172-187.
- ²⁶⁵ A. Nayyar, V. Monga, A. Malde, E. Coutinho, R. Jain: *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 626-640.
- ²⁶⁶ D. Lu, Z. Meng, G. A. Thakur, P. Fan, J. Steed, C. L. Tartal, D. P. Hurst, P. H. Reggio, J. R. Deschamps, D. A. Parrish, C. George, T. U. C. Järbe, R. J. Lamb, A. Makriyannis: *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4576-4585.

- ²⁶⁷ E. Stern, G. G. Muccuoli, B. Boiser, L. Hamtiaux, R. Millet, J. H. Poupaert, J.-P. Hénichart, P. Depreux, J.-F. Goossens, D. M. Lambert: *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 5471-5484.
- ²⁶⁸ J. Long, T. Manchandia, K. Ban, S. Gao, C. Miller, J. Chandra: *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2007**, *59*, 527-535.
- ²⁶⁹ J.-J. Wang, Y.-T. Chern, Y.-F. Chang, T.-Y. Liu, C.-W. Chi: *Anti-Cancer Drugs* **2002**, *13*, 533-543.
- ²⁷⁰ J.-J. Wang, Y.-F. Chang, Y.-T. Chern, C.-W. Chi: *Br. J. Cancer* **2003**, *89*, 1995-2003.
- ²⁷¹ L. S. Jensen, U. Bølcho, J. Egebjerg, K. Strømgaard: *ChemMedChem* **2006**, *1*, 419-428.
- ²⁷² Y. Wang, J. Eu, M. Washburn, T. Gong, H.-S. V. Chen, W. L. James, S. A. Lipton, J. S. Stamler, G. T. Went, S. Porter: *Current Alzheimer Research* **2006**, *3*, 201-204.
- ²⁷³ A. Thiry, J.-M. Dogné, C. T. Supuran, B. Maserec: *Curr. Pharm. Design* **2008**, *14*, 661-671.
- ²⁷⁴ Z. Yu, A. R. Sawkar, L. J. Whalen, C.-H. Wong, J. W. Kelly: *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 94-100.
- ²⁷⁵ W. L. Davies, R. T. Grunert, R. F. Haff, J. W. McGahen, E. M. Neumayer, M. Paulshock, J. C. Wats, T. R. Wood, E. C. Hermann, C. E. Hoffmann: *Science* **1964**, *144*, 862-863.
- ²⁷⁶ A. A. Spasov, T. V. Khamidova, L. I. Bugaeva, I. S. Morozov: *Pharm. Chem. J.* **2000**, *34*, 1-7.
- ²⁷⁷ O. I. Kiselev, V. M. Blinov, K. N. Kozeletskaya, V. I. Ilyenko, V. G. Platonov, O. N. Chupatkhin, M. A. Stukova, V. A. Karginov: *Vestnik Rossiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk* **1993**, 10-15.
- ²⁷⁸ S. K. Sonkusare, C. L. Kaul, R. Ramarao: *Pharmacol. Res.* **2005**, *51*, 1-17.
- ²⁷⁹ M. Babarić, S. Uršić, A. Pipelić, B. Zorc, A. Herold-Brundić, A. Nagl, M. Grdiša, K. Pavelić, R. Snoeck, G. Andrej, J. Balzarini, E. de Clercq, M. Mintas: *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 884-887.
- ²⁸⁰ M. Mor, A. Podoly, S. Rivara, F. Vacondio, A. Duranti, A. Tontini, S. Sanchini, G. Piersanti, J. R. Clapper, A. R. King, G. Tarzia, D. Piomelli: *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 3487-3498.
- ²⁸¹ M. Zahid, K. A. Yasin, T. Akhtar, N. H. Rama, S. Hameed, N. A. Al-Masoudi, R. Loddo, P. La Colla: *ARKIVOC* **2009**, (xi), 85-93.
- ²⁸² J. Doubis, A. Veves: *Adv. Ther.* **2008**, *25*, 627-643.
- ²⁸³ E. Bosi, P. Lucotti, E. Setola, L. Monti, P. M. Piatti: *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2008**, *82S*, S102-S107.
- ²⁸⁴ J. D. Croxtal, S. J. Keam: *Drugs* **2008**, *68*, 2387-2409.
- ²⁸⁵ D. J. Augeri, J. A. Robl, D. A. Betebenner, D. R. Magnin, A. Khanna, J. G. Robertson, A. Wang, L. M. Simpkins, P. Taunk, Q. Huang, S.-P. Han, B. Abboa-Offei, M. Cap, L. Xin, L. Tao, E. Tozzo, G. E. Welzel, D. M. Egan, J. Marcinkeviciene, S. Y. Chang, S. A. Biller, M. S. Kirby, R. A. Parker, L. G. Hamann: *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5025-5037.

- ²⁸⁶ S. Colagiuri: *Diabetes, Obesity and Metabolism* **2010**, *12*, 463-473.
- ²⁸⁷ C. J. Van der Schyf, W. J. Geldenhuys: *Neurotherapeutics* **2009**, *6*, 175-186.
- ²⁸⁸ S. A. Savage, G. S. Jones, S. Kolotuchin, S. A. Ramrattan, T. Vu, R. E. Waltermine: *Org. Process Res. Dev.* **2009**, *13*, 1169-1176.
- ²⁸⁹ L. Jia, J. E. Tomaszewski, C. Hanrahan, L. Coward, P. Noker, G. Gorman, B. Nikonenko, M. Protopopova: *Br. J. Pharmacol.* **2005**, *144*, 80-87.
- ²⁹⁰ Anonym: *Tuberculosis* **2008**, *88*, 159-161.
- ²⁹¹ F. Žák, J. Turánek, A. Kroutil, P. Sova, A. Mistr, A. Poulová, P. Mikolin, Z. Žák, A. Kašná, D. Záluská, J. Neča, L. Šindlerová, A. Kozubík: *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 761-763.
- ²⁹² P. Sova, A. Mistr, A. Kroutil, F. Žák, P. Poučková, M. Zadinová: *Anti-Cancer Drugs* **2005**, *16*, 653-657.
- ²⁹³ P. Sova, A. Mistr, A. Kroutil, F. Žák, P. Poučková, M. Zadinová: *Anti-Cancer Drugs* **2006**, *17*, 201-206.
- ²⁹⁴ V. Horváth, K. Souček, L. Švihálková-Šindlerová, J. Vondráček, O. Blanářová, J. Hofmanová, P. Sova, A. Kozubík: *Invest. New Drugs* **2007**, *25*, 435-443.
- ²⁹⁵ E. Roubalová, V. Kvartová, R. Hrstka, Š. Bořilová, E. Michalová, L. Dubská, P. Müller, P. Sova, B. Vojtěšek: *Invest. New Drugs* **2010**, *28*, 445-453.
- ²⁹⁶ K. Cal, K. Centkowska: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2008**, *68*, 467-478.
- ²⁹⁷ A. Vyas, S. Saraf, S. Saraf: *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2008**, *62*, 23-42.
- ²⁹⁸ V. J. Stella, Q. He: *Toxicol. Pathol.* **2008**, *36*, 30-42.
- ²⁹⁹ G. Astray, C. Gonzalez-Barreiro, J. C. Mejuto, R. Rial-Otero, J. Simal-Gándara: *Food Hydrocolloids* **2009**, *23*, 1631-1640.
- ³⁰⁰ F. van de Manakker, T. Vermonden, C. F. van Nostrum, W. E. Hennink: *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 3157-3175.
- ³⁰¹ F. Sallas, R. Darcy: *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 957-969.
- ³⁰² T. Cserháti: *Biomed. Chromatogr.* **2008**, *22*, 563-571.
- ³⁰³ J. Carrazana, A. Jover, F. Meijide, V. H. Soto, J. V. Tato: *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 9719-9726.
- ³⁰⁴ W. Tang, S. Ch. Ng: *J. Sep. Sci.* **2008**, *31*, 3246-3256.
- ³⁰⁵ M. V. Rekharsky, Y. Inoue: *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1875-1917.
- ³⁰⁶ W. C. Cromwel, K. Bystrom, M. R. Eftink: *J. Phys. Chem.* **1985**, *89*, 326-332.
- ³⁰⁷ K. J. C. van Bommel, G. A. Metselaar, W. Verboom, D. N. Reinhoudt: *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 5405-5412.
- ³⁰⁸ Ch. Schalley (editor): *Analytical methods in supramolecular chemistry.* **2007**, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 487 stran.
- ³⁰⁹ S. Kwon, W. Lee, H.-S. Shin, S. Yoon, Y. Kim, Y.-S. Kim, K. Lee, S. Lee: *J. Mol. Struct.* **2009**, *938*, 192-197.
- ³¹⁰ H. Zhang, G. Chen, L. Wang, L. Ding, Y. Tian, W. Jin, H. Zhang: *Int. J. Mass Spectrom.* **2006**, *252*, 1-10.

- ³¹¹ W. X. de Paula, Â. M. L. Denadai, M. M. Santoro, A. N. G. Braga, R. A. S. Santos, R. D. Sinisterra: *Int. J. Pharm.* **2011**, *404*, 116-123.
- ³¹² R. L. Jansen, L. W. Städe, R. Wimmer, A. Stensballe, M. Duroux, K. L. Larsen, Ch. Winger, L. Duroux: *Langmuir* **2010**, *26*, 11597-11604.
- ³¹³ A. Maheshwan, D. Sharma: *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2010**, *68*, 453-459.
- ³¹⁴ J. Carrazana, A. Jover, F. Meijide, V. H. Soto, J. V. Tato: *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 9719-9726.
- ³¹⁵ D. Granaderro, J. Bordello, M. J. Pérez-Alvite, M. Novo, W. Al-Soufi: *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, *11*, 173-188.
- ³¹⁶ S. Chelli, M. Majdoub, M. Jouini, S. Aeiyaeh, F. Maurel, K. I. Chane-Ching, P.-C. Lacaze: *J. Phys. Org. Chem.* **2007**, *20*, 30-43.
- ³¹⁷ L. Leclercq, A. R. Schmitzer: *J. Phys. Org. Chem.* **2009**, *22*, 91-95.
- ³¹⁸ J. Jeener, B. H. Meier, P. Bachmann, R. R. Ernst: *J. Phys. Chem.* **1979**, *71*, 4546-4553.
- ³¹⁹ H. J. Schneider, F. Hecket, V. Rudiger, H. Ikeda: *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1755-1785.
- ³²⁰ G. E. Martin, R. C. Crouch: *J. Nat. Prod.* **1991**, *54*, 1-70.
- ³²¹ H. M. R. Hoffmann, K. Haase: *Synthesis* **1981**, *9*, 715-719.
- ³²² R. Vícha, M. Nečas, M. Potáček: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2006**, *71*, 709-722.
- ³²³ R. Vícha, M. Potáček: *Tetrahedron* **2005**, *61*, 83-88.
- ³²⁴ Z. Kozubková: Příprava aminů pro cílenou modifikaci léčiv a studium jejich komplexů s cyklohextriny. Diplomová práce, UTB Zlín, **2008**, kap. 6.
- ³²⁵ R. Vícha: Syntéza léčivých látek na bázi adamantanu. Disertační práce, MU Brno, **2005**.
- ³²⁶ H. Adkins, H. R. Billica: *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 695-698.
- ³²⁷ Y. Endo, T. Sawabe, Y. Taoda: *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 180-181.
- ³²⁸ R. D. Rieke, M. V. Hanson, J. D. Brown: *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2726-2730.
- ³²⁹ C. G. Gutierrez, R. A. Stringham, T. Nitasaka, K. G. Glasscock: *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 3393-3395.
- ³³⁰ L. Havlíček, M. Hajdúch, M. Strnad: US Patent, **1998**, USG221873.
- ³³¹ V. Kotek, N. Chudíková, T. Tobrman, D. Dvořák: *Org. Lett.* **2010**, *12*, 5724-5727.
- ³³² M. T. Fioriny, Ch. Abell: *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 1827-1830.
- ³³³ L. Havlíček, J. Hanuš, J. Veselý, S. Leclerc, L. Meijer, G. Shaw, M. Strnad: *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 408-412.
- ³³⁴ N. Oumata, Y. Ferandin, L. Meijer, H. Galons: *Org. Process Res. Dev.* **2009**, *13*, 641-644.
- ³³⁵ M. Tanaka, E. Muro, H. Ando, Q. Xu, M. Fujiwara, Y. Souma, Y. Yamaguchi: *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2972-2978.
- ³³⁶ J. F. de Queiroz, J. W. de M. Carneiro, A. A. Sabino, R. Sparrapan, M. N. Eberlin, P. M. Esteves: *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6192-6203.
- ³³⁷ Ch. E. Stephens, T. M. Felder, J. W. Sowell Sr., G. Andrei, J. Balzarini, R. Snoeck, E. de Clercq: *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 1123-1132.
- ³³⁸ S. M. Tsang, A. P. Paul, M. P. DiGiamio: *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 3387-3390.
- ³³⁹ G. A. Olah, S. C. Narang, A. P. Fung: *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 2706-2709.

- ³⁴⁰ J. C. Oxley, J. L. Smith, J. S. Moran, J. N. Canino, J. Almong: *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 4449-4451.
- ³⁴¹ M. M. V. Ramana, S. S. Malik, J. A. Parihar: *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 8681-8683.
- ³⁴² R. Vícha, I. Kuřitka, M. Rouchal, V. Ježková, A. Zierhut: *ARKIVOC* **2009**, (*xii*), 60-80.
- ³⁴³ I. Pogorelić, M. Filipan-Litvić, S. Merkaš, G. Ljubić, I. Capanec, M. Litvić: *J. Mol. Catal. A - Chem.* **2007**, *274*, 202-207.
- ³⁴⁴ M. Rouchal, M. Nečas, R. Vícha: *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online* **2009**, *65*, o1018.
- ³⁴⁵ J. Svoboda: *Organická syntéza I.* **2000**, VŠCHT Praha, kap. 2.6.4, str. 58.
- ³⁴⁶ R. Mazingo, D. E. Wolf, S. A. Harris, K. Folkers: *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, *65*, 1013-1016.
- ³⁴⁷ M. Rouchal, M. Nečas, R. Vícha: *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online* **2010**, *66*, o1736.
- ³⁴⁸ H. R. Seong, D.-S. Kim, S.-G. Kim, H.-J. Choi, K. H. Ahn: *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 723-727.
- ³⁴⁹ S. Sun, P. Wu: *J. Phys. Chem. A* **2010**, *114*, 8331-8336.
- ³⁵⁰ F. Alfonso, Y. Moglie, G. Radivoy, M. Yus: *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 1875-1884.
- ³⁵¹ M. Vaultier, N. Knouzi, R. Carrié: *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 763-764.
- ³⁵² H. Bayley, D. N. Standring, J. R. Knowles: *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 3633-3634.
- ³⁵³ W. Lin, X. Zhang, Z. He, Y. Jin, T. Gong, A. Mi: *Synth. Commun.* **2002**, *32*, 3279-3284.
- ³⁵⁴ W. Aelterman, K. A. Tehrani, W. Coopens, T. Huybrechts, N. de Kimpe, D. Tourwé, J.-P. Declercq: *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 239-250.
- ³⁵⁵ V. Kryštof: Inhibitory cyklin-dependentních kinas: nová generace léčiv? Habilitační práce. UP Olomouc, **2008**, kap. 3.
- ³⁵⁶ A. Brik, Ch.-Y. Wu, M. D. Best, Ch.-H. Wong: *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 4622-4626.
- ³⁵⁷ Y. Wan, M. Alterman, M. Larhed, A. Hallberg: *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6232-6235.
- ³⁵⁸ M. Rouchal, M. Nečas, R. Vícha: *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online* **2010**, *66*, o1016.
- ³⁵⁹ L. Havlíček, M. Strnad, M. Hajdúch: US Patent, **2001**, US6221873B1.
- ³⁶⁰ M. Rouchal, M. Nečas, R. Vícha: *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online* **2009**, *65*, o1676.
- ³⁶¹ M. Rouchal, M. Nečas, R. Vícha: *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online* **2009**, *65*, o1268.
- ³⁶² M. Rouchal, M. Nečas, F. P. de Carvalho, R. Vícha: *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online* **2009**, *65*, o298–o299.
- ³⁶³ D. J. Berry, Ch. V. DiGiovanna, S. S. Metrick, R. Murugan: *ARKIVOC* **2001**, (*i*), 201-226.
- ³⁶⁴ Y.-T. Chang, N. S. Gray, G. R. Rosania, D. P. Sutherlin, S. Kwon, T. C. Norman, R. Sarohia, M. Leost, L. Meijer, P. G. Schultz: *Chem. Biol.* **1999**, *6*, 361-375.
- ³⁶⁵ S. R. Schow, R. L. Mackman, Ch. L. Blum, E. Brooks, A. G. Horsma, A. Joly, S. S. Kerwar, G. Lee, D. Shiffman, M. G. Nelson, X. Wang, M. M. Wick, X. Zhang, R. T. Lum: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 2697-2702.

- ³⁶⁶ S. Wang, S. J. McClue, J. R. Ferguson, J. D. Hull, S. Stokes, S. Parson, R. Westwood, P. M. Fischer: *Tetrahedron Asymm.* **2001**, *12*, 2891-2894.
- ³⁶⁷ S. Fletcher, V. M. Shahani, P. T. Gunning: *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 4258-4261.
- ³⁶⁸ L. Okáčová, D. Vetchý, A. Franc, M. Rabišková: *Chem. Listy* **2011**, *105*, 34-40.
- ³⁶⁹ L. Fielding: *Tetrahedron* **2000**, *56*, 6151-6170.
- ³⁷⁰ M. Otyepka, V. Kryštof, L. Havlíček, V. Siglerová, M. Strand, J. Koča: *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2506-2513.
- ³⁷¹ K. Vermeulen, M. Strand, V. Kryštof, L. Havlíček, A. van der Aa, M. Lenjou, G. Nijs, J. Rodrigus, B. Stockman, H. van Onckelen, D. R. van Bockstaele, Z. N. Berneman: *Leukemia* **2002**, *16*, 299-305.

SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORA

Původní sdělení v impaktovaných časopisech:

1. R. Vícha, M. Rouchal, Z. Kozubková, I. Kuřitka, R. Marek, P. Branná, R. Čmelík: Novel Adamantane-Bearing Anilines and Properties of Their Supramolecular Complexes with β -Cyclodextrin. *Supramolecular Chemistry* **2011**, v tisku.
2. Z. Kozubková, M. Rouchal, M. Nečas, R. Vícha: 1-Adamantylmethyl 2-aminobenzoate. *Acta Crystallographica* **2010**, E66, o3262.
3. M. Rouchal, M. Nečas, R. Vícha: 1-(2-Phenylethyl)adamantane. *Acta Crystallographica* **2010**, E66, o1736.
4. M. Rouchal, M. Nečas, R. Vícha: 2-Chloro-9-isopropyl-*N,N*-dimethyl-9*H*-purin-6-amine. *Acta Crystallographica* **2010**, E66, o1016.
5. R. Vícha, I. Kuřitka, M. Rouchal, V. Ježková, A. Zierhut: Directing effects in nitration of 1-adamantyl bearing aromatic ketones. *ARKIVOC* **2009**, xii, 60-80.
6. M. Rouchal, M. Nečas, R. Vícha: 4-(1-Adamantylmethyl)-*N*-(2-chloro-9-isopropyl-9*H*-purin-6-yl)aniline. *Acta Crystallographica* **2009**, E65, o1676.
7. M. Rouchal, M. Nečas, R. Vícha: (1-Adamantyl){4-[(2-chloro-9-isopropyl-9*H*-purin-6-yl)aminomethyl]-phenyl}methanone trichloromethane solvate. *Acta Crystallographica* **2009**, E65, o1268.
8. M. Rouchal, M. Nečas, R. Vícha: (1-Adamantyl)(4-aminophenyl) methanol. *Acta Crystallographica* **2009**, E65, o1018.
9. M. Rouchal, M. Nečas, F. Carvalho, R. Vícha: 2-(1-Adamantyl)-1-{4-[(2-chloro-9-isopropyl-9*H*-purin-6-yl)aminomethyl]phenyl}ethanone. *Acta Crystallographica* **2009**, E65, o298-o299.

Příspěvky na konferencích:

1. R. Kimmel, A. Němcová, Z. Macková, A. Lyčka, M. Nečas, M. Rouchal, R. Vícha, S. Kafka: 2-*O*-glycosylation of *N*-unsubstituted 4-hydroxyquinolin-2(1*H*)-ones. 45. konference „Pokroky v organické, bioorganické a farmaceutické chemii“, Nymburk, *Chem. Listy* **2010**, 104, 1101.

2. Z. Kozubková, M. Rouchal, P. Branná, R. Vícha: Novel Route to 4-(1-Adamantyl)quinoline Derivatives Based on Friedlander Cyclization. *3rd EuCheMS Chemistry Congress*, Nürnberg, Germany **2010**, VIIa.038.
3. J. Černochová, M. Rouchal, P. Branná, R. Marek, I. Kuřitka, R. Vícha: Synthesis of imidazolium salts bearing 1-adamantyl substituent and properties of their complexes with β -cyclodextrins. *PLASTKO*, Zlín **2010**, 249.
4. M. Rouchal, R. Čmelík, M. Nečas, R. Marek, R. Vícha: The Synthesis and Biological Activity of Novel Trisubstituted Purines. *13th Austrian Chemistry Days*, Vídeň **2009**, PO48.
5. R. Vícha, M. Rouchal, Z. Kozubková: Využití 1-adamantylu pro modifikaci biologicky aktivních látek. *IX. Mezioborové setkání mladých biologů, biochemiků a chemiků. Chem. Listy* **2009**, 103, 452-453.
6. R. Vícha, M. Rouchal, R. Marek, R. Čmelík, F. Carvalho, R. Bernat: Adamantane Bearing Benzylamines and Their Complexes with Cyclodextrin. *Balticum Organicum Syntheticum*, Vilnius **2008**, PO128, 175.

CURRICULUM VITAE

Jméno a příjmení: Michal Rouchal
Datum a místo narození: 13. 7. 1982, Brno
Rodinný stav: ženatý, 1 dítě

Vzdělání:

2010 – dosud doktorské studium: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně,
studijní program: Chemie a technologie potravin; studijní
obor: Technologie potravin
kombinovaná forma studia

2007 – 2010 doktorské studium: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně,
studijní program: Chemie a technologie potravin; studijní
obor: Technologie potravin
prezenční forma studia

2004 – 2007 magisterské studium: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně,
studijní program: Chemie a technologie potravin; studijní
obor: Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin

2001 – 2004 bakalářské studium: Vysoká škola Karla Engliše, Brno,
studijní obor: Ekonomika a management

1997 – 2001 středoškolské studium: Střední odborná škola ochrany
osob a majetku, Brno

Zaměstnání:

2010 – dosud Ústav chemie, Fakulta technologická, Univerzita Tomáše
Bati ve Zlíně, asistent (dále operátor hmotnostního
spektrometru s iontovou pastí amaZon X)

Členství v profesních organizacích:

2008 – dosud Česká společnost chemická (od r. 2010 člen oblastního
výboru ČSCH, pobočka Zlín)

Účast na grantových projektech:

- 2011 Nadace Tomáše Bati: Příprava 2,6,9-trisubstituovaných purinů obsahujících 1-adamantyl a studium jejich enzymatické a cytotoxické aktivity.
Řešitel: M. Rouchal
- Interní grantová agentura UTB: Syntéza a studium vlastností komponent pro supramolekulární systémy na bázi komplexů derivátů adamantanu a cyklodextrinů.
Řešitelé: Z. Kozubková, J. Černochová, A. Čablová, M. Rouchal, R. Vícha

Vedení bakalářských prací:

- 2011 Eva Achbergerová: Syntéza a spektrální vlastnosti sulfonovaných azobarviv substituovaných 1-adamantylem.
- Adéla Balgová: Organoleptická stabilita piva.
- 2010 Eva Oriňaková: Biologicky aktivní látky ve vybraných rostlinách rodu *Camellia*.

Studentská vědecká odborná činnost (školitel):

- 2010 Eva Achbergerová: Syntéza a spektrální vlastnosti sulfonovaných azobarviv.
1. místo v sekci pro bakalářské studijní obory

Ostatní:

- 2010 Účast na celostátním finále soutěže pro studenty doktorského studia „Cena za chemii 2010“ pořádanou Francouzským velvyslanectvím v ČR a společností Rhodia