

# Syntéza 4,7-disubstituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů

Radim Velecký

---

Bakalářská práce  
2018



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2017/2018

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Radim Velecký**

Osobní číslo: **T15562**

Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Syntéza 4,7-disubstituovaných pyrrolo[2,3-d]pyrimidinů**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Charakteristika purinu a jeho bioisosterů.
2. Možnosti syntézy derivátů pyrrolo[2,3-d]pyrimidinu.
3. Biologická aktivita sloučenin s pyrrolo[2,3-d]pyrimidinovým skeletem.

### II. Praktická část:

1. Provést optimalizaci pro zavedení 1-bromcyklopentanu do polohy N7.
2. Vytipovat vhodné primární a sekundární aromatické aminy pro substituci atomu chloru v poloze C4 a provést příslušné reakce.
3. Strukturu všech připravených sloučenin navrhnout pomocí běžných spektrálních metod.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

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

[2] SCHENONE, S. et al.: Pyrrolo[2,3-d]pyrimidines as Kinase Inhibitors. Current Medicinal Chemistry, 2017, 24, 2059-2085. ISSN: 0929-8673.

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

Vedoucí bakalářské práce:

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

Ústav chemie

Datum zadání bakalářské práce:

**2. února 2018**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**3. května 2018**

Ve Zlíně dne 2. února 2018



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*děkan*



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

Příjmení a jméno: VELECKÝ RADIM


Obor: CHTP

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 27. 4. 2018

  
.....

<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlázení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

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

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užíje-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídí k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## ABSTRAKT

V této bakalářské práci je popsána syntéza série 4,7-disubstituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů, jejichž struktura doposud nebyla v literatuře objasněna. Tyto látky jsou hojně studovány díky jejich možné biologické aktivitě. Bylo připraveno celkem 7 nových derivátů pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu obsahujících v poloze 4 různé aromatické aminy a v poloze 7 cyklopentylový substituent, přičemž jejichž struktura byla navržena pomocí běžně dostupných spektrálních metod. Deriváty nesoucí na aromatickém kruhu halogen bude nezbytné v nejbližší době podrobit opětovné purifikaci pomocí sloupcové chromatografie s cílem získat tyto látky v uspokojivé čistotě.

Klíčová slova: pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin, aromatický amin, alkylace, nukleofilní aromatická substituce, biologická aktivita

## ABSTRACT

In this bachelor thesis the synthesis of new series of 4,7-disubstituted pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines is described. These compounds are extensively studied due to their potential biological activity. In this work, seven novel pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine derivatives bearing at position 4 different aromatic amines and at position 7 cyclopentyl was prepared. The structure of prepared compounds was proposed on the bases of results obtained using common spectral methods. In the near future, it will be necessary to make follow-up column chromatography to obtain compounds bearing at C4 aromatic amines substituted with halogen in satisfactory purity.

Keywords: pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine, aromatic amine, alkylation, nucleophilic aromatic substitution, biological activity

## **Poděkování**

Tímto bych rád poděkoval vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Michalu Rouchalovi, Ph.D. za poskytnuté odborné rady ve studované problematice, výpomoc při vyhodnocování naměřených výsledků a především za velmi aktivní a pozitivní přístup k danému tématu.

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

Děkuji Ing. Lence Trhlíkové za měření GC-MS.

Děkuji kolektivu laboratoře č. 408 za praktické rady a výpomoc v laboratoři.

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

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

# OBSAH

ÚVOD.....	9
<b>I</b> <b>TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>10</b>
<b>1</b> <b>CHARAKTERISTIKA PURINU A JEHO BIOISOSTERŮ</b> .....	<b>11</b>
1.1    OBECNÁ CHARAKTERISTIKA PURINU.....	11
1.2    BIOISOSTERY PURINU .....	13
1.2.1    Pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidin .....	14
<b>2</b> <b>SYNTÉZA DERIVÁTŮ PYRROLO[2,3-D]PYRIMIDINU</b> .....	<b>15</b>
2.1    ALKYLACE A NUKLEOFILNÍ AROMATICKÁ SUBSTITUCE NA C4 A N7 .....	15
2.2    CROSS-COUPINGOVÉ REAKCE .....	17
2.3    MIKROVLNAMI ASISTOVANÉ SYNTÉZY.....	19
<b>3</b> <b>BIOLOGICKÁ AKTIVITA 7-DEAZAPURINŮ</b> .....	<b>21</b>
<b>II</b> <b>PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>25</b>
<b>4</b> <b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>26</b>
4.1    PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ.....	26
4.2    SYNTÉZA NOVÝCH 4,7-DISUBSTITUOVANÝCH PYRROLO[2,3- <i>D</i> ]PYRIMIDINŮ .....	27
4.2.1    Alkylace 4-chlorpyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu.....	27
4.2.2    Nukleofilní aromatická substituce sloučeniny 2 .....	28
<b>5</b> <b>VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>31</b>
5.1    SYNTÉZA SKUPINY NOVÝCH PYRROLO[2,3- <i>D</i> ]PYRIMIDINŮ.....	31
5.1.1    Alkylace 4-chlor-7 <i>H</i> -pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu .....	31
5.1.2    Nukleofilní aromatická substituce.....	34
<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>39</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>40</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> .....	<b>43</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....	<b>45</b>
<b>SEZNAM TABULEK</b> .....	<b>46</b>



## ÚVOD

Puriny patří do skupiny heterocyklických látek, které jsou tvořeny dvěma cykly, pyrimidinovým a imidazolovým. Díky své struktuře, která obsahuje čtyři atomy dusíku, mají velmi významné biologické účinky, díky kterým jsou hojně studovány. Jako méně prostudované se jeví bioisostery purinu a kvůli tomu se tato práce zabývá syntézou nových derivátů pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu.

Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidiny představují bioisostery purinu postrádající v poloze 7 (v případě číslování purinového kruhu) atom dusíku, které jsou významné svou biologickou aktivitou a ve velké míře jsou zkoumány v oblasti medicíně chemie jako možná léčiva. V nedávné době byla připravena řada sloučenin s pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinovým skeletem, které se v prvotních in vitro testech jeví jako nadějně a jsou v současné době podrobeny hlubšímu zkoumání jejich biologických účinků. Jako příklad lze uvést selektivní inhibitory některých kináz, potencionální antivirotika či antimikrobní látky.

V první kapitole teoretické části se tato bakalářská práce zabývá charakteristikou purinu a jeho bioisosterů se zaměřením se na pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin. Druhá kapitola popisuje možnosti syntézy derivátů pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu různými metodami, a to zejména zavedení různých substituentů pomocí alkylace a nukleofilní aromatické substituce. V poslední kapitole je popsána biologická aktivita známých pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů, s cílem shrnout nejnovějšími poznatky v této oblasti.

V experimentální části jsou popsány všechny syntetické postupy a vypsány spektrální charakteristiky všech látek, které byly v rámci řešení této bakalářské práce připraveny a získány v uspokojivé čistotě.

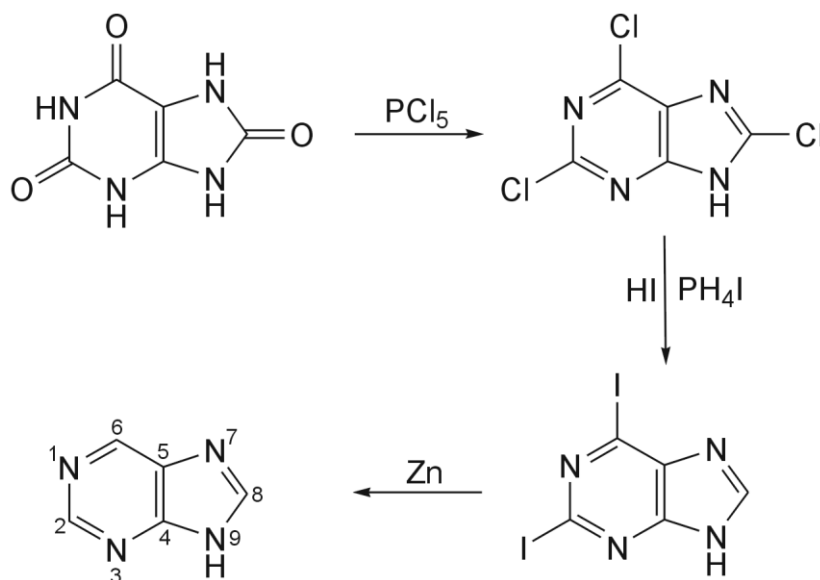
Nejdůležitější částí je poté diskuze, která obsahuje komentář k jednotlivým provedeným syntézám, jejich průběhu a získaným výsledkům. Diskuzní část má stejné uspořádání jako část experimentální, a to z důvodu lepší orientace čtenáře. Součástí této kapitoly je rovněž komentář k výsledkům získaným pomocí metod strukturní analýzy, na základě kterých byla navrhována struktura připravených látek.

## I. TEORETICKÁ ČÁST

# 1 CHARAKTERISTIKA PURINU A JEHO BIOISOSTERŮ

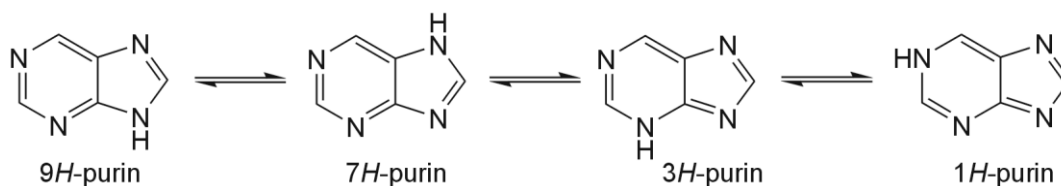
## 1.1 Obecná charakteristika purinu

Purin byl pojmenován německým chemikem Emilem Fischerem v roce 1884. První syntéza této organické sloučeniny však byla uskutečněna až v roce 1898 (**Obrázek 1**). Emil Fischer se v roce 1902 stal nositelem Nobelovy ceny za chemii, kterou získal za mimořádnou práci na syntéze cukrů a purinů.<sup>1,2</sup> Sloučeniny purinu jsou dusíkaté heterocyklické látky, tvořené pyrimidinovým a imidazolovým kruhem, se čtyřmi atomy dusíku v molekule. Tři z těchto atomů dusíku mají zásaditý charakter a podobají se atomům dusíku v pyridinu, kdy jejich nevázané elektronové páry v orbitalech  $sp^2$  leží v rovině kruhu. Čtvrtý atom dusíku není zásaditý a jeho nevázaný elektronový pár je součástí aromatického  $\pi$ -elektronového systému. Tyto sloučeniny se vyznačují specifickým číslováním znázorněným na **Obrázku 1**.<sup>3,4</sup> Purin je krystalická látka o bodu tání 217 °C. Je silnější zásadou ( $pK_A = 2,4$ ) než pyrimidin ( $pK_A = 1,3$ ), ale slabší než imidazol ( $pK_A = 8,9$ ). Purin v kombinaci se silnými kyselinami tvoří soli.



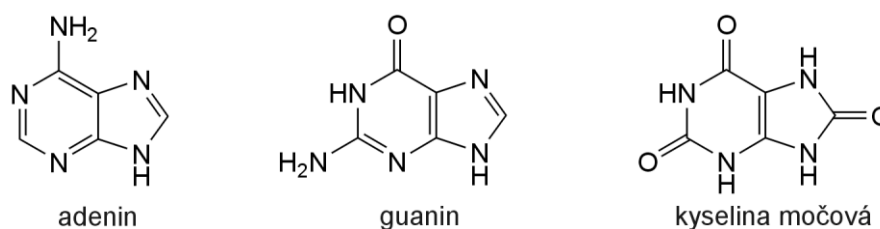
**Obrázek 1:** První syntéza purinu podle Emila Fischera.

Purin se teoreticky může vyskytovat ve čtyřech možných tautomerních formách (**Obrázek 2**). Mezi nejběžnější a nejstabilnější formu patří  $9H$ -purin s atomem vodíku na atomu dusíku v poloze 9. Dalšími možnostmi pak jsou  $7H$ -purin,  $3H$ -purin a  $1H$ -purin.<sup>5</sup>



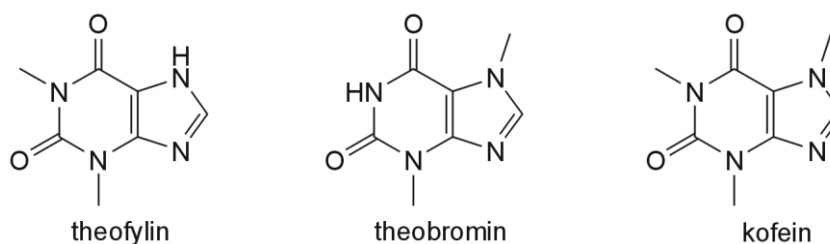
**Obrázek 2:** Tautomerní formy purinu.

Purin se volně v přírodě téměř nevyskytuje, ale je obsažen ve velkém množství významných molekul. Mezi nejznámější deriváty patří adenin (6-aminopurin) a guanin (2-amino-6-oxopurin), dusíkaté báze vázané v nukleových kyselinách a nukleosidech. Mezi nejdůležitější deriváty purinu patří kyselina močová (2,6,8-trioxypurin). U savců se nachází v malém množství v moči a krvi, u plazů a ptáků je posledním produktem látkové přeměny. V lidském organismu se produkuje ve větším množství při poruchách ledvin, kdy dochází ke vzniku ledvinových a močových kamenů.<sup>3</sup>



**Obrázek 3:** Strukturní vzorce vybraných derivátů purinu.

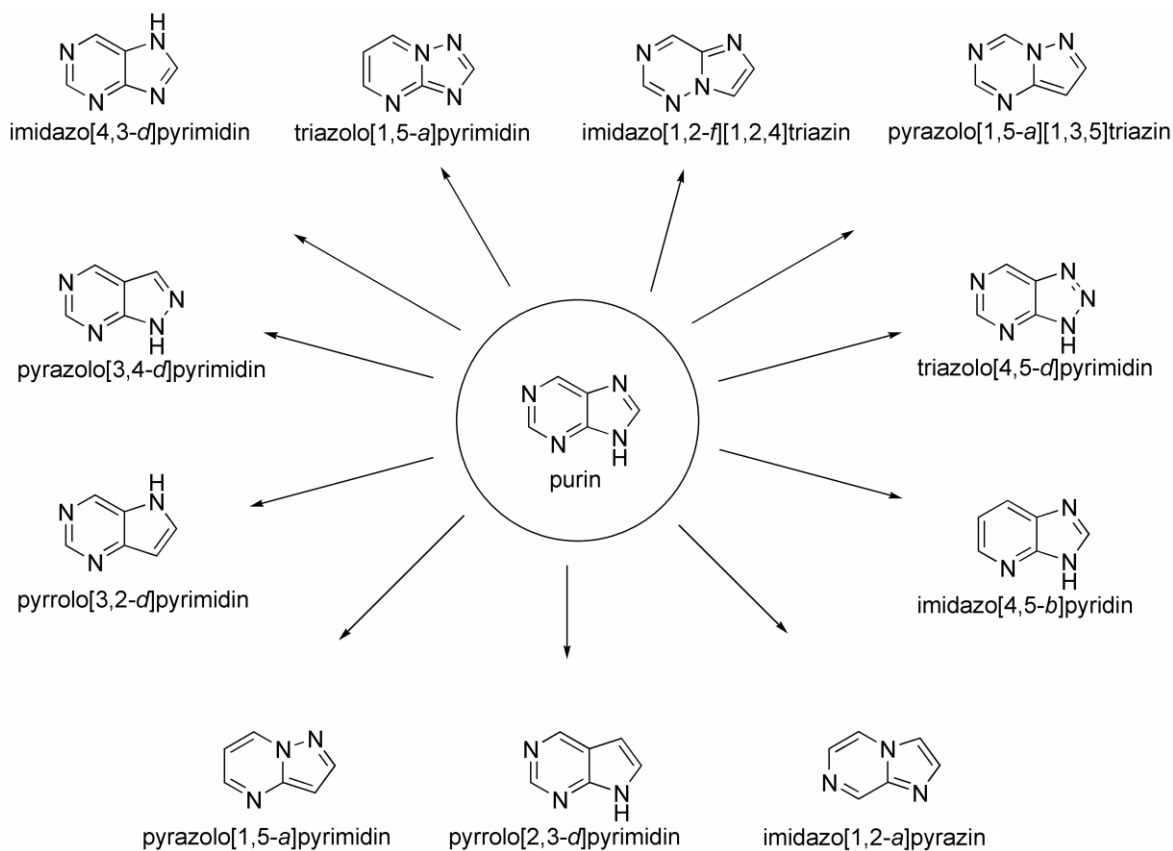
Mezi *N*-metylderiváty, kterým je přisuzován relativně velký fyziologický význam, patří theofylin, theobromin a kofein. Theofylin, neboli 1,3-dimetylxantin, se nachází v nepatrném množství v čajových lístcích. Má silný diuretický účinek, a proto se používá v lékařství jako diuretikum. Theobromin, neboli 3,7-dimetylxantin, tvoří cennou součást kakaových bobů. Podobně jako theofylin je důležitým, ale poněkud slabším diuretikem. Kofein, neboli 1,3,7-trimetylxantin, je hojně zastoupený v rostlinách, nejvíce však v zelené kávě a v čajových lístcích. Kofein má stimulační účinek na činnost srdce a centrální nervovou soustavu.<sup>6</sup>



**Obrázek 4:** Vybrané *N*-metylderiváty purinu.

## 1.2 Bioisostery purinu

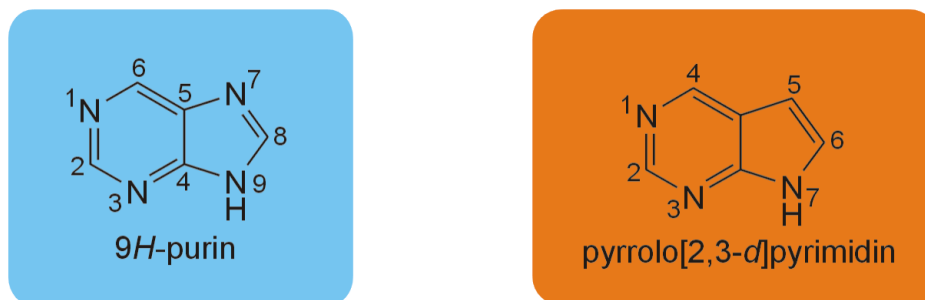
Bioisostery lze definovat jako látky strukturně podobné výchozí sloučenině, lišící se záměnou funkční skupiny, nebo rozložením atomů ve struktuře. Tyto změny mohou vést k odlišným fyzikálním a chemickým vlastnostem bioisosteru ve srovnání s původní molekulou. Jako příklad lze uvést reaktivitu, rozpustnost, hydrofobicitu či elektrostatický potenciál. Vzhledem k tomu, že se se syntézou nových bioisosterů lze velmi často setkat v oblasti medicínální chemie, jsou hojně studovány také vlastnosti sloučenin typické pro toto odvětví, zejména pak vliv změny na strukturu na biologickou aktivitu bioisosteru, jeho celkový farmakologický profil či snížení nežádoucích efektů.<sup>7</sup> Bioisostery purinu jsou syntetizovány několikastupňovými procesy, přes velké množství meziproduktů. Doposud bylo popsáno 11 bioisosterů purinu, které se liší svým prostorovým uspořádáním atomů v molekule. Tyto změny se týkaly přesunu atomu dusíku v molekule, odebrání jednoho atomu dusíku v molekule z původních čtyř na tři, nebo naopak přidání jednoho atomu dusíku za vzniku sloučeniny obsahující pět atomů dusíku.<sup>8</sup>



**Obrázek 5:** Struktura známých bioisosterů purinu.

### 1.2.1 Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin

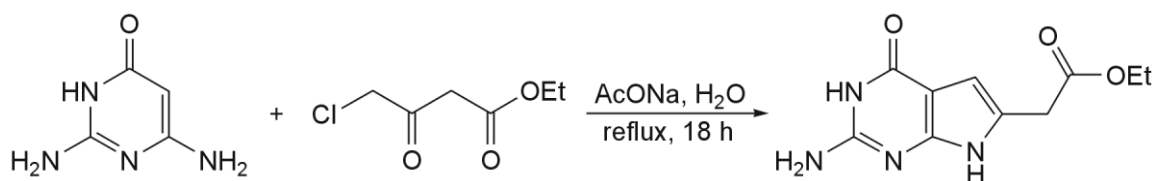
Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin, známý také jako 7-deazapurin, je bezbarvá krystalická látka lišící se od purinu absencí jednoho atomu dusíku v molekule, konkrétně pak atomu dusíku, který se v molekule purinu nachází v poloze 7. Tím se změnilo i číslování této molekuly od původní látky (**Obrázek 6**). Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidiny jsou třídou kondenzovaných heterocyklů zajímavých z pohledu jejich biologické aktivity. Jejich tvar připomíná purin, a proto mohou nahradit purinové nukleosidy v DNA a RNA. Některé 7-deazapurinové nukleosidy se také objevují v přírodě a to jak v podobě nukleosidů, tak jako složky nukleových kyselin. Mezi nejznámější patří Queuosin, obsažený v tRNA prokaryotických a eukaryotických organismech, a Tubercidin, který má antifungální a tuberkulostatické vlastnosti.<sup>9,10</sup>



**Obrázek 6:** Číslování purinového a pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového skeletu.

## 2 SYNTÉZA DERIVÁTŮ PYRROLO[2,3-*d*]PYRIMIDINU

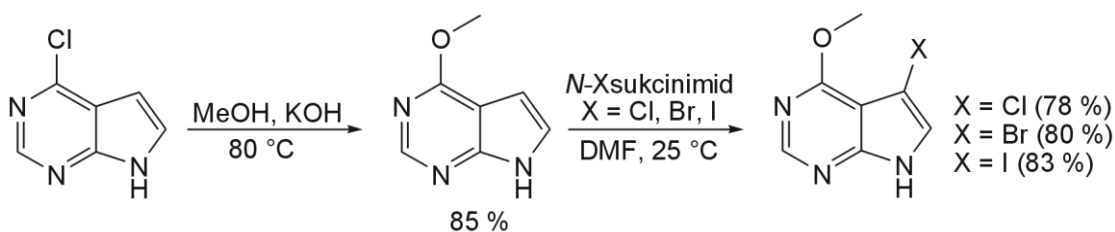
Nové 6-substituované pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidiny jako potenciální protinádorová činidla s vícenásobnými cíli inhibice popisuje ve své práci Xing a kolektiv.<sup>11</sup> Klíčový meziprodukt, ethyl(2-amino-4-oxopyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-6-yl)acetát, byl získán kondenzační reakcí 2,4-diamino-6-hydroxypyrimidinu s ethyl-4-chloracetoacetátem. Tyto dvě látky spolu reagovaly ve vodném roztoku octanu sodného (AcONa) za vzniku 6-substituovaného intermediátu, který byl získán po 18 hodinách refluxu (**Obrázek 7**).



**Obrázek 7:** Příklad syntézy pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového skeletu.

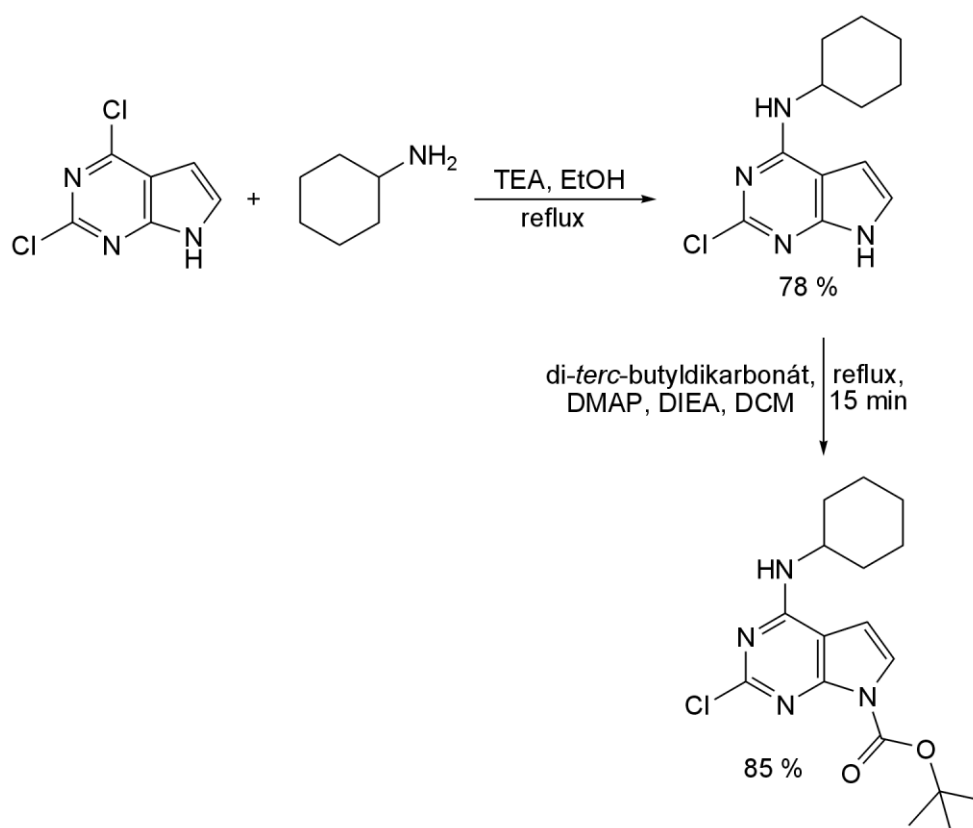
### 2.1 Alkylace a nukleofilní aromatická substituce na C4 a N7

Thiyagarajan a kolektiv<sup>12</sup> popisují ve své práci syntézu karbocyklických nukleosidů 4-methoxy-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů, jakožto nových sloučenin s předpokládanou antivirovou aktivitou (**Obrázek 8**). Jako výchozí látka byl použit komerčně dostupný 4-chlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin, který byl v prvním reakčním kroku ponechán reagovat s bezvodým methanolem, v přítomnosti KOH, kdy reakční směs byla refluxována po dobu 4 hodin pod ochrannou atmosférou (N<sub>2</sub>). Produkt této reakce, při níž došlo k substituci atomu chlóru v poloze 4 za methoxy skupinu, byl získán ve velmi dobrém výtěžku 85 %. Následně přistoupili autoři k zavedení halogenu do polohy 5 pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového kruhu, konkrétně pak atomu chloru, bromu či jodu. Jako zdroj daného halogenu sloužil odpovídající „*N*-halosukcinimid“, přičemž reakce probíhala v bezvodém DMF za laboratorní teploty pod ochrannou dusíkovou atmosférou. Po přečištění surové reakční směsi pomocí sloupcové chromatografie byly požadované produkty, určené pro další syntézu sloučenin s potenciální antivirovou aktivitou, získány ve výtěžku 78–83 %.



**Obrázek 8:** Příklad syntézy 4,5-disubstituovaného pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu.

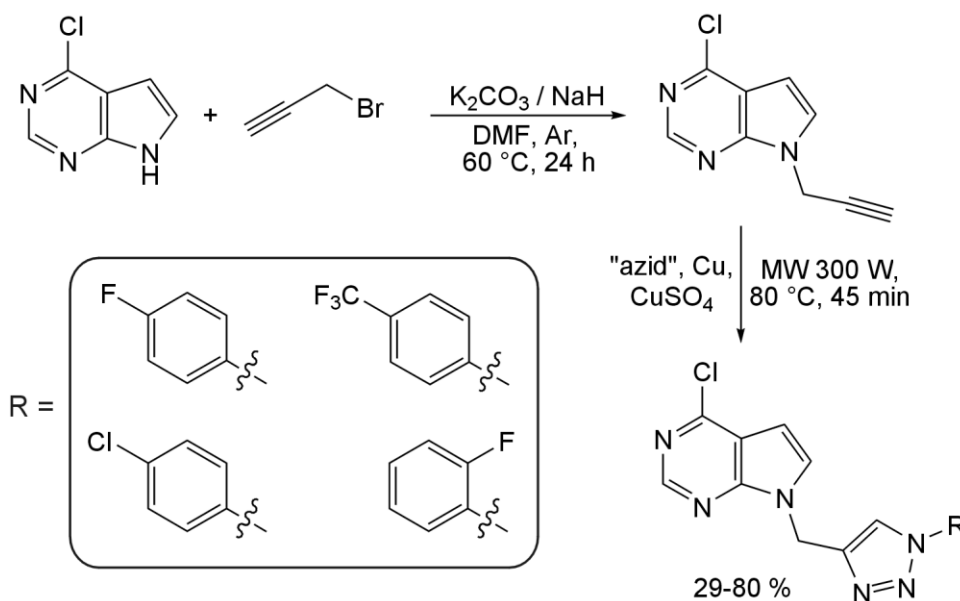
Syntézu nových pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinových inhibitorů kináz Mps1/TTK rakoviny prsu uvádí ve své práci Sugimoto a kolektiv.<sup>13</sup> 2-Chlor-*N*-cyklohexyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-amin získaný v prvním reakčním kroku byl připraven reakcí 2,4-dichlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu s cyklohexylaminem, v přítomnosti triethylaminu (TEA) jako báze. Reakční směs byla refluxována v ethanolu přes noc, přičemž požadovaný produkt byl získán ve výtěžku 78 %. Tento meziproduct dále reagoval s di-*tert*-butyl dikarbonátem, v prostředí 4-dimethylaminopyridinu (DMAP), diisopropylethylaminu (DIEA) a dichlormethanu (DCM), kdy po pouhých 15 minutách refluxování reakční směsi vznikl požadovaný produkt, který byl získán ve výtěžku 85 % (**Obrázek 9**).



**Obrázek 9:** Příklad syntézy 2,4,7-trisubstituovaného pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu.



Syntézu nového 7-deazapurinu s *N*-1 substituovaným 1,2,3-triazolem popisuje ve své práci Bistrovic a kolektiv,<sup>14</sup> kteří se zabývali syntézou malých molekul purinu a jeho bioisosterů s následným prozkoumáním biologické aktivity připravených látek. Nejdříve byla provedena alkylace komerčně dostupného 4-chlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu propargylbromidem v DMF za přítomnosti báze (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> nebo NaH), čímž byl získán klíčový meziprodukt pro další substituci. Alkylace výchozí látky probíhala 24 hodin při 60 °C pod ochrannou argonovou atmosférou. Autoři v práci neuvádí výtěžky meziproduktů, protože byly používány pro další reakční kroky bez jejich izolace, purifikace a bližší strukturní charakteristiky. Poté byla provedena 1,3-dipolární cykloadice vzniklého meziproduktu s různými aromatickými azidy obsahujícími na aromatickém jádře elektronově bohatý substituent (F, Cl, CF<sub>3</sub>). Reakce byly prováděny v mikrovlnném reaktoru za přítomnosti síranu měďnatého, elementární mědi a vodného roztoku *tert*-butanolu. Každá z reakcí probíhala po dobu 45 minut při 80 °C a výkonu 300 W. Finální produkty byly získány ve výtěžcích 29–80 %.



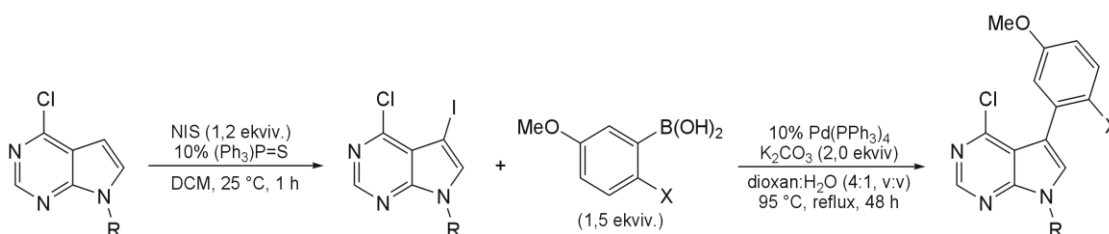
**Obrázek 10:** Příklad syntézy 4,7-disubstituovaného pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu.

## 2.2 Cross-couplingové reakce

Další možnost přípravy derivátů pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu představují cross-couplingové reakce. Tyto reakce jsou katalyzovány palladiem nebo niklem a jejich typickou vlastností je značná citlivost na přítomnost kyslíku. Musí se tedy provádět v inertní atmosféře. Nejpoužívanějším palladiovým katalyzátorem, který je velice stabilní

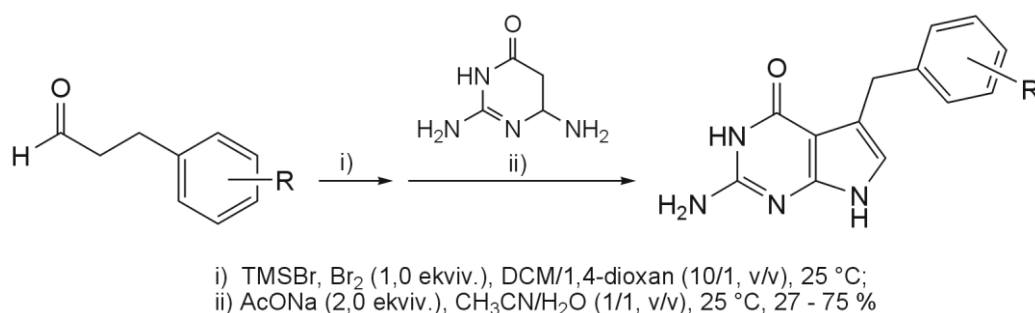
v krystalickém stavu, je tetrakis(trifenylfosfin)palladium  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$ . Pod argonovou atmosférou se dá skladovat při  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  mnoho měsíců.<sup>15</sup>

Přípravu 4,5,7-trisubstituovaného derivátu pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu, za účelem využití získaných atropoisomerů ke zvýšení cílové selektivity inhibitorových kináz, publikuje ve své práci Smith a kolektiv.<sup>16</sup> 4-Chlor-7-cyklopentyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin byl získán třístupňovou syntézou. Poté byl zaveden atom jodu do pozice 5 reakcí 4-chlor-7-cyklopentyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu s *N*-jodsukcinimidem v dichlormethanu. Jako katalyzátor byl použit trifenylfosfinsulfid. Reakce probíhala při laboratorní teplotě jednu hodinu. Po odpaření dichlormethanu a přečištění surového produktu byla získána bílá pevná látka ve výtěžku 78 %. Následovala cross-couplingová reakce 4-chlor-7-cyklopentyl-5-jod-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu s (2-halogen-5-methoxyfenyl)boronovou kyselinou za použití palladiového katalyzátoru. Reakce probíhala 48 hodin pod ochrannou argonovou atmosférou při teplotě  $95\text{ }^\circ\text{C}$ . Výsledný produkt byl vyčištěn pomocí sloupcové chromatografie. Byl-li v poloze 2 boronové kyseliny atom chloru, činil výtěžek reakce 35 %. Když se v poloze 2 boronové kyseliny nacházel atom bromu, byl výtěžek 57 %. Oba vzniklé vyčištěné produkty byly vyzolovány v podobě oranžového oleje.



**Obrázek 11:** Příprava 4,5,7-trisubstituovaného pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu.

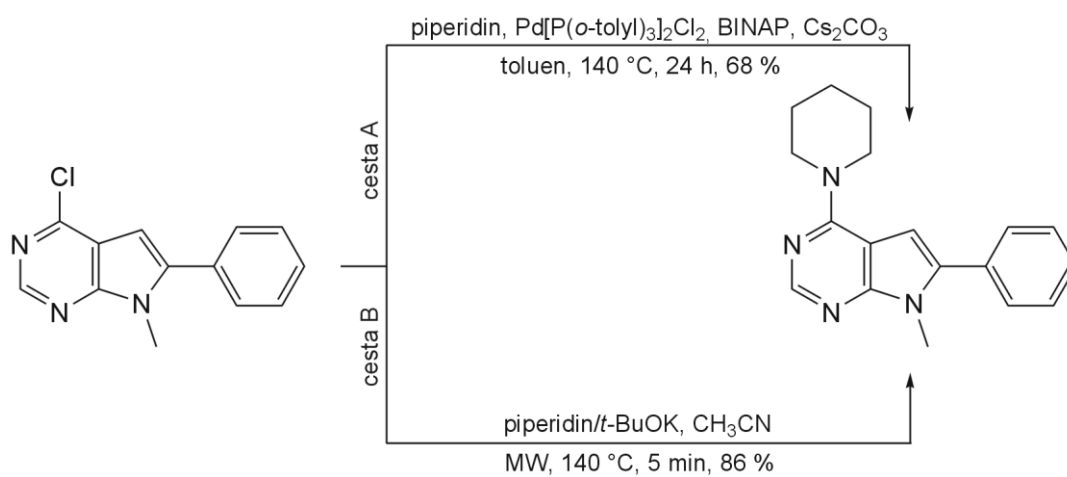
Syntézu nových sloučenin obsahujících pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinové jádro uvádí ve své práci také Lee a kolektiv.<sup>17</sup> Jejich práce se zabývá syntézou C5-benzyl substituovaných 2-aminopyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů jakožto slibných inhibitorů proteinu tepelného šoku. Syntéza pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového kruhu byla zahájena bromací 3-arylpropylaldehydu s bromem v přítomnosti bromtrimethylsilanu (TMSBr) při laboratorní teplotě ve směsi dichlormethan/1,4-dioxan (10/1, v/v). Následovala cyklizace s 2,6-diaminopyrimidin-4(3*H*)-onem, ze které vznikaly odpovídající 3-benzyl substituované pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-ony. Reakce probíhala při laboratorní teplotě v octanu sodném a směsi  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (1/1, v/v). Požadované produkty byly získány ve výtěžcích 27–75%.



**Obrázek 12:** Příprava 2,4,5-trisubstituovaného pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu.

### 2.3 Mikrovlnami asistované syntézy

Metody mikrovlnné syntézy nachází v posledních letech stále větší uplatnění při přípravě nepřehledného množství nových organických sloučenin. Hlavní výhodou této metody je časová úspora u reakcí, jejichž provádění pomocí konvenčního ohřevu vyžaduje několik desítek hodin. Jako příklad lze uvést substituce halogenů na aromatickém jádře, které jsou velmi náročné a časově zdlouhavé. Další předností mikrovlnami asistovaných reakcí jsou také srovnatelné nebo dokonce vyšší výtěžky, v nichž jsou připravované látky získávány. Prieur a kolektiv uvádí ve své práci lepší a účinnější syntetické cesty přípravy substituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů. Srovnávají syntézu za použití cross-couplingových reakcí s metodou mikrovlnné syntézy. Syntéza s použitím cross-couplingových reakcí probíhala v prostředí piperidinu, Pd[P(*o*-tolyl)<sub>3</sub>]<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> jakožto katalyzátoru, uhličitanu cesného a BINAP (2,2'-bis(difenylfosfino)-1,1'-binaftyl) při teplotě 140 °C po dobu 24 hodin. Výtěžek z této reakce činil 68 % (**Obrázek 13, cesta A**). Lepší výsledky byly získány reakcí výchozího 4-chlor-6-fenyl-7-methyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu s piperidinem v prostředí *t*-BuOK (*terc*-butoxid draselný) při teplotě 140 °C za použití mikrovlnného reaktoru po dobu 5 minut. Výtěžek této reakce byl 86 % (**Obrázek 13, cesta B**).<sup>17</sup>



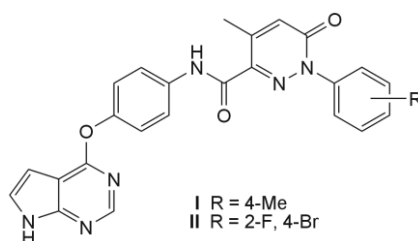
**Obrázek 13:** Srovnání syntézy 4,6-disubstituovaného pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu.

### 3 BIOLOGICKÁ AKTIVITA 7-DEAZAPURINŮ

7-Deazapuriny jsou významné svými biologickými účinky, díky kterým jsou v poslední době čím dál více prozkoumávány. Jejich biologická aktivita je ovlivněna navázanými substituenty na cyklu. Často vystupují jako protinádorové a antimikrobiální látky, antivirotika a další.

Z důvodu lepší přehlednosti budou významné sloučeniny v této kapitole číslovány římskými číslicemi.

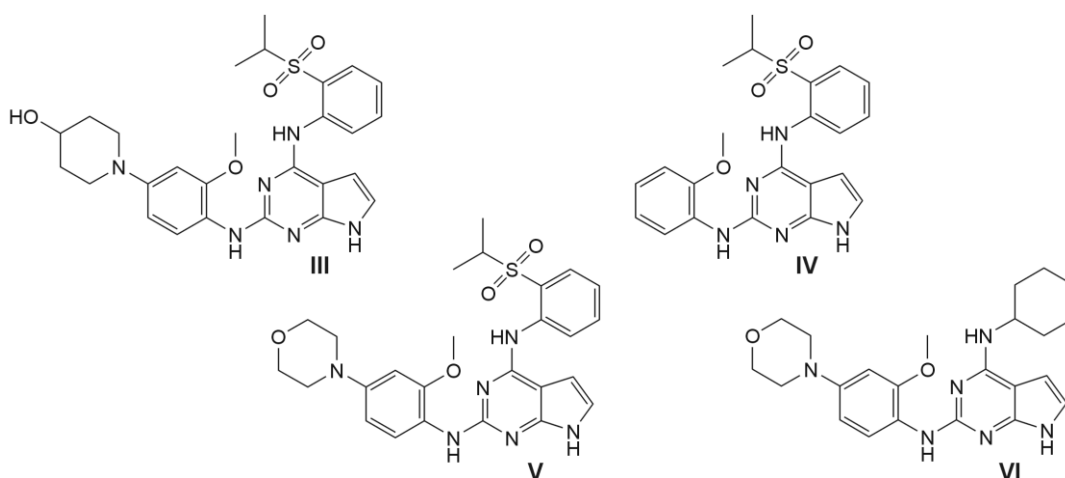
Inhibiční vlastnosti pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinových derivátů proti rakovinným buněčným liniím a taky proti c-Met kinázám popisuje ve své práci Wang a kolektiv. Inhibitory c-Met jsou malé molekuly, které inhibují enzymatickou aktivitu c-Met kináz a mají terapeutický účinek při léčbě různých typů rakoviny. Ve svém výzkumu vyobrazují přípravu několika 4,7-disubstituovaných derivátů a srovnání jejich inhibičních vlastností s Foretinibem, experimentálním kandidátem na léčbu rakoviny. Nejlépe z nově připravených 7-deazapurinových derivátů vyšly látky **I** a **II**, jejichž antiproliferační aktivita proti rakovinným buňkám byla srovnatelná s modelovým Foretinibem, přičemž u nádorové buněčné linie MCF-7 (rakovina prsu) byla jejich inhibiční koncentrace dokonce nižší. Nejlépe hodnocenou látkou se ale stal derivát pyrrolo[2,3-*b*]pyrimidinu, který vykazoval inhibiční účinky a vysokou selektivitu vůči c-Met kinázám.<sup>19</sup>



Sloučenina	IC <sub>50</sub> (μM)			
	A549	HepG2	MCF-7	PC-3
<b>I</b>	6,40±1,41	7,46±1,58	3,62±1,24	9,61±0,95
<b>II</b>	3,99±1,53	3,66±1,59	3,21±1,01	2,73±0,98
<b>tofacitinib</b>	1,74±0,38	2,88±0,67	3,92±0,93	1,48±0,47

**Obrázek 14:** Struktura sloučenin I a II, srovnání jejich biologické aktivity s tofacitinibem.

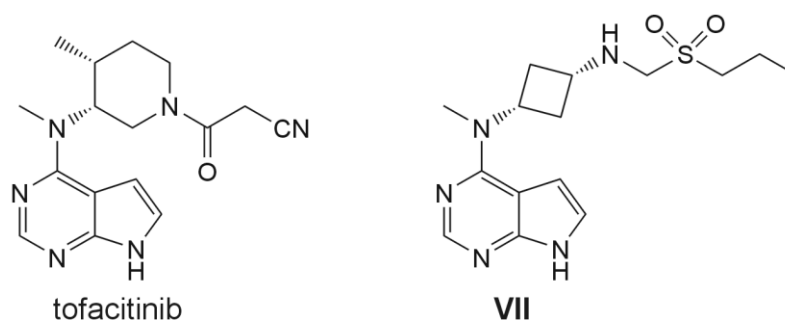
Také Sugimoto a kolektiv publikovali ve své práci nové pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidiny jako inhibitory Mps1/TTK kináz rakoviny prsu. Mps1/TTK reguluje několik procesů, jako jsou kontrola poškození DNA, regulační bod pro sestavení vřetena a duplikace centrozomů. Nově syntetizované molekuly byly rovněž podrobeny *in vitro* testům na cytostatické působení proti vybraným buněčným liniím rakoviny prsu. Hodnoty inhibiční koncentrace sloučenin **III**, **IV**, **V** a **VI** se pohybovaly v rozmezí od 0,05 do 1,0  $\mu\text{M}$  v případě několika buněčných liniích rakoviny prsu. Dále byly sloučeniny **III** a **VI** testovány v primární kultuře prsních epiteliálních buněk a obě látky nejevily žádnou negativní reakci. Účinnost proti Mps1/TTK kinázové aktivitě byla prováděna pomocí enzymatických testů za použití rekombinantního Mps1 - Cctn2 (specifický substrát). Sloučenina **III** inhibovala *in vitro* kinázovou aktivitu s inhibičními hodnotami  $\text{IC}_{50} = 0,0809 \mu\text{M}$  a sloučenina **VI** s hodnotou 0,356  $\mu\text{M}$ . Sloučeniny **IV** a **V** byly méně účinné. Sloučenina **VI** byla dále zkoumána v profilových kinázových testech proti dvaceti různým kinázám, přičemž vykazovala inhibici pouze proti dvěma z nich FAK/PTK2 a JNK1. Tím bylo zjištěno, že vykazuje selektivitu pro kinázu Mps1/TTK.<sup>13</sup>



**Obrázek 15:** Strukturální vzorce sloučenin III–VI.

Vazquez a kolektiv popisují ve své práci modifikaci selektivních JAK1. Janus kinázy (JAKs) jsou intracelulární tyrozinokinázy, které zprostředkovávají signalizaci četných cytokinů a růstových faktorů, které se podílejí na regulaci imunity, zánětu a krve tvorby. Existují čtyři členy Janus kináz: JAK1, JAK2, JAK3 a TYK2. Zatímco JAK1, JAK2 a TYK2 jsou všudypřítomně exprimovány, exprese JAK3 je z velké části omezena na leukocyty. Jako výchozí látka byl použit tofacitinib, inhibitor Janus kináz, ve kterém byl 3-aminopiperidin nahrazen *cis*-1,3-cyklobutyldiaminem zakončeným různými sulfonamidy.

Tím byly získány vysoce účinné a selektivní inhibitory JAK1. Sloučenina **VII** vykazovala vynikající farmakologický profil ve srovnání s ostatními sloučeninami, a proto byla dále vylepšena. Byla 28krát selektivní vůči JAK2, 340krát vůči JAK3 a 43krát vůči TYK2. Sloučenina **VII** po odpovídajícím toxikologickém testování *in vivo* byla postoupena do první fáze klinického testování.<sup>20</sup>



**Obrázek 16:** Srovnání struktur tofacitinibu se sloučeninou VII.

Thorarensen a kolektiv se zabývali ve své práci syntézou účinného, ale také selektivního inhibitoru JAK3. Celkem provedli syntézu dvaceti sloučenin odvozených od 7-deazapurinu. Nejvyšší selektivitu vykazovala pouze jedna sloučenina (**VIII**). Tato sloučenina inhibovala JAK3 v inhibiční koncentraci 33 nM, kdežto JAK1, JAK2 a TYK2 inhibovala až ve vysokých koncentracích. Srovnání inhibičních koncentrací s tofacitinibem je uvedeno na **Obrázku 17**. Tuto látku testují jako potenciální léčivo proti zánětlivým onemocněním.<sup>21</sup>

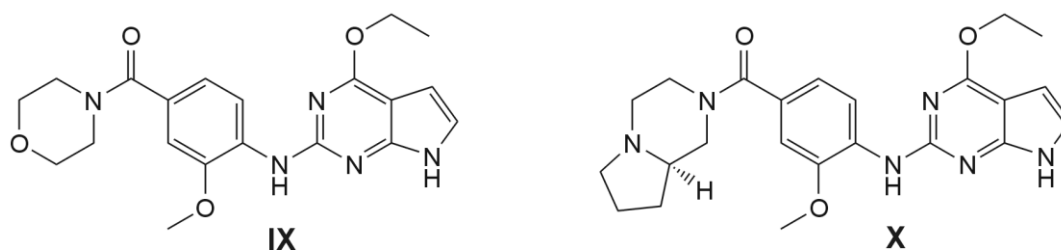
CN1CCN(C1)C(=O)CC=C  
**VIII**

	IC <sub>50</sub> (nM)			
Sloučenina	JAK1	JAK2	JAK3	TYK2
<b>VIII</b>	>10000	>10000	33,0	>10000
<b>tofacitinib</b>	77,4	55,0	15,1	489,0

**Obrázek 17:** Struktura sloučeniny VIII a srovnání její IC<sub>50</sub> s tofacitinibem.

Parkinsonova choroba je pomalé, progresivní a druhé nejčastější neurodegenerativní onemocnění, které postihuje více než 10 milionů lidí na celém světě. Bylo vyvinuto mnoho léčiv, ale ty pouze mírní průběh nemoci. Se zvýšeným rizikem Parkinsonovy choroby také souvisí LRRK2 (leucin bohaté opakující se kinázy 2), známe taky jako dardarin. Ding a kolektiv uvádí ve své práci syntézu 4-ethoxy-7H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidin-2-aminů jako

selektivně účinných a biologicky dostupných inhibitorů LRRK2. Z 22 zkoumaných sloučenin vykazovaly nejlepší inhibiční vlastnosti sloučeniny **IX** a **X**. Obě sloučeniny vykazovaly dobrou expozici na CNS u potkanů, ale u sloučeniny **X** byla pozorována nižší návaznost v mozku krys. Sloučenina **IX** byla vybrána na další farmakologické experimenty a byla měřena její inhibice LRRK2 fosforylace v mozku, plicích, slezině a ledvinách po orálním podání. Prokázala se redukce závislá na dávce fosforylace LRRK2 v mozku s přibližně 20%, 50% a 75% snížením u 10 mg/kg, 30 mg/kg a 100 mg/kg perorální dávky. Periferní účinky byly vyšší s téměř úplnou inhibicí fosforylace ve všech periferních tkáních (plíce, slezina, ledviny) ve všech dávkách. Sloučenina **IX** neprokázala žádnou významnou inhibici u člověka, což naznačuje nízkou obavu z interakcí mezi léky.<sup>22</sup>



**Obrázek 18:** Strukturální vzorce sloučenin IX a X.



## II. PRAKTICKÁ ČÁST

## 4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 4.1 Přístroje a vybavení

Teploty tání ( $t_f$ ) uvedené v bakalářské práci byly měřeny na Koflerově bloku a nejsou korigovány. Tenkovrstvá chromatografie (TLC) využívaná pro monitorování reakcí byla prováděna na deskách typu Alugram Sil G/UV<sub>254</sub> firmy Macherey-Nagel. Jako stacionární fáze pro sloupcovou chromatografii byl použit silikagel od firmy Macherey-Nagel. Infračervená spektra (IR) byla měřena na přístroji Spektrometr FTIR ALPHA-T (Bruker) v podobě KBr tablet. Při výpisu spekter z IR byly využity následující zkratky charakterizující intenzitu absorpčních pásů: s (silná), m (střední), w (slabá), případně také šířku pásu: b (široký pás). Vodíková spektra z nukleární magnetické rezonance (<sup>1</sup>H NMR) byla měřena na přístroji BRUKER ASCEND 500 s pracovní frekvencí 500,11 MHz. Inertními standardy byly rozpouštědla <sup>1</sup>H:  $\delta(\text{reziduální CHCl}_3) = 7,27$  ppm;  $\delta(\text{DMSO-}d_5) = 2,50$  ppm. Pro účel interpretace vodíkových spekter byly použity následující zkratky: s (singlet), d (dublet), t (triplet), m (multiplet). Kvalitativní analýza reakčních směsí a finálních látek byla provedena pomocí plynového chromatografu spojeného s hmotnostním spektrometrem vybaveným kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem (Shimadzu GC-MS QP2010). Plynový chromatograf byl vybaven kolonou EQUITY 1 (30 m × 0,32 mm × 1,0 μm). Pro analýzy byl zvolen následující teplotní program: 100 °C/7 min; 30 °C/min s teplotou nástřiku 250 °C. Nosný plyn: He, iontový zdroj: 200 °C, 70 eV. Všechny GC-MS analýzy byly provedeny za lineární konstantní rychlosti 52 cm/s. Ve výpisech signálů z hmotnostních spekter jsou uvedeny hodnoty signálů s relativním zastoupením nejméně 5 %, vyjma molekulových iontů. Hodnoty intenzit vybraných fragmentů jsou uvedeny v závorce za hodnotou  $m/z$ . ESI-IT-MS analýzy byly provedeny na hmotnostním spektrometru s iontovou pastí amaZon X (Bruker Daltonics, Brémy, Německo) vybaveném elektrosprejovým iontovým zdrojem. Veškerá měření byla provedena v pozitivním i negativním skenovacím módu. Do iontového zdroje byly vzorky přiváděny kovovou kapilárou při konstantním průtoku 3 μl·min<sup>-1</sup>. Ostatní parametry měření byly následující: napětí na kapiláře ±4,2 kV; teplota sušícího plynu (220 °C); průtok sušícího plynu (6 dm<sup>3</sup>·min<sup>-1</sup>); tlak rozprašovacího plynu (55,16 kPa). Jako sušící a rozprašovací plyn byl použit dusík. Případné další parametry byly optimalizovány během jednotlivých experimentů. Tandemová hmotnostní spektra byla po izolaci

vybraného iontu měřena pomocí kolizí indukované disociace (CID). Výchozí látka 4-chlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin, reakční činidla a rozpouštědla pro syntézy byly získány z komerčních zdrojů a použity bez dalších úprav.

## 4.2 Syntéza nových 4,7-disubstituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů

### 4.2.1 Alkylace 4-chlorpyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu

#### Metoda A

Do baňky o objemu 25 ml byl navážen 4-chlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (100 mg; 0,65 mmol) a rozpuštěn v 5 ml dimethylsulfoxidu. Poté bylo přidáno 174  $\mu$ l 1-bromcyklopentanu a po jeho rozpuštění bylo do reakční směsi přidáno 135 mg K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Reakce byla prováděna za laboratorní teploty a její průběh byl monitorován pomocí TLC (petrolether/ethyl-acetát, 4/1, v/v). Po 24 hodinách byla reakce ukončena, zředěna destilovanou vodou a extrahována 6  $\times$  15 ml ethyl-acetátu. Organické podíly byly spojeny a promyty nasyceným roztokem chloridu sodného (2  $\times$  15 ml) a sušeny nad síranem sodným. Surový produkt byl zbaven rozpouštědla pomocí rotační vakuové odparky (RVO) a čištěn pomocí sloupcové chromatografie.

#### Metoda B

Do 25 ml baňky byl navážen 4-chlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (100 mg; 0,65 mmol) a rozpuštěn ve 4 ml dimethylformamidu. Směs byla ochlazená pomocí směsi vody a ledu na 0 °C, poté byl přidán hydrid sodný (38 mg; 0,95 mmol). Po 30 minutách při 0 °C byla směs zahřáta na laboratorní teplotu. Po dosažení laboratorní teploty byl přidán 1-bromcyklopentan (140  $\mu$ l; 1,27 mmol) a reakční směs byla zahřáta na 60 °C na olejové lázni. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (petrolether/ethyl-acetát, 4/1, v/v), kdy reakce byla po 2 hodinách ukončena. Reakční směs byla zředěna destilovanou vodou a poté extrahována 6  $\times$  15 ml ethyl-acetátu. Organické části byly spojeny a promyty nasyceným roztokem chloridu sodného (2  $\times$  15 ml) a sušeny nad síranem sodným. Surový produkt byl zbaven rozpouštědla pomocí RVO a čištěn sloupcovou chromatografií.

#### 4-Chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (2)

Čištěním sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 4/1, v/v) byl získán požadovaný produkt ve výtěžku 103 mg (72 %, metoda A), resp. 105 mg (73 %, metoda B) ve formě žlutého oleje;  $t_r = 25$  °C.

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,81–1,83 (m, 2H, cPe); 1,89–1,94 (m, 4H, cPe); 2,27–2,30 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{cPe}$ ); 5,24 (pentet, 1H,  $\text{CHcPe}$ ); 6,66 (d,  $J = 3,5$  Hz,  $\text{C}^5\text{H}$ ); 7,37 (d,  $J = 4,0$  Hz,  $\text{C}^6\text{H}$ ); 8,67 (s, 1H,  $\text{C}^2\text{H}^3$ ) ppm. IR (KBr): 3441(w), 2960(w), 2872(w), 1587(m), 1542(m), 1453(m), 1418(m), 1356(m), 1274(w), 1231(w), 1209(m), 1147(w), 939(w), 850(w), 725(w)  $\text{cm}^{-1}$ . GC-EI-MS ( $t_r = 14,6$  min);  $m/z$ (%): 223( $^{37}\text{Cl}$ ) $\text{M}^+$ , 5), 221( $^{35}\text{Cl}$ ) $\text{M}^+$ , 17), 180(9), 155( $^{37}\text{Cl}$ ) $\text{M}^+ - \text{C}_5\text{H}_8$ , 32), 154(12), 153( $^{35}\text{Cl}$ ) $\text{M}^+ - \text{C}_5\text{H}_8$ , 100), 118(34), 67(10), 41(27). ESI-MS (pos.)  $m/z$  (%): 469,1 [ $2 \cdot (^{37}\text{Cl}_2)\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  (9); 467,1 [ $2 \cdot (^{35}\text{Cl} + ^{37}\text{Cl})\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  (60); 465,1 [ $2 \cdot (^{35}\text{Cl}_2)\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  (98); 246,0 [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  (35); 244,0 [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  (100); 224,0 [ $^{37}\text{Cl}$ ]  $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$  (34); 222,0 [ $^{35}\text{Cl}$ ]  $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$  (97).

#### 4.2.2 Nukleofilní aromatická substituce sloučeniny 2

Do baňky s kulatým dnem byla navážena sloučenina **2**, která byla rozpuštěna ve vypočítaném množství propan-2-olu. Poté byl do vzniklého roztoku přidán příslušný aromatický amin v dvoumolárním nadbytku. Reakční směs byla zahřívána na olejové lázni při teplotě 90 °C, čímž docházelo k refluxu pod zpětným chladičem zakončeným chlorkalciovým uzávěrem. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC (petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v). Po ukončení reakce (indikované úplným vymizením výchozího purinu) byla reakční směs ochlazena na laboratorní teplotu, zředěna vodou a 6krát extrahována 15 ml ethyl-acetátu. Organické podíly po extrakci byly spojeny a 2krát promyty 15 ml nasyceného roztoku chloridu sodného a dány sušit nad síran sodný. Rozpouštědlo bylo odpařeno pomocí RVO a surový produkt byl čištěn na sloupcové chromatografii.

#### N-Fenyl-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin (3)

Sloučenina **3** byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: 4-chlor-7-cyklopentyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (**2**) (150 mg; 0,68 mmol), anilin (126 mg; 1,36 mmol), propan-2-ol (15 ml). Reakce probíhala 23 hodin. Čištěním sloupcovou

chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v) byl získán požadovaný produkt s výtěžkem 150 mg (79 %) v podobě světle hnědého krystalického prášku;  $t_r = 141\text{--}148$  °C.

IR (KBr): 3261(w), 3195(w), 3117(w), 2959(m), 2870(w), 1614(s), 1582(s), 1561(s), 1522(m), 1496(m), 1446(s), 1411(m), 1393(m), 1361(m), 1324(m), 1244(m), 796(w), 747(m), 710(m), 691(w). GC-EI-MS ( $t_r = 30,1$  min);  $m/z$ (%): 278( $M^+$ , 49), 277(15), 237(21), 211(18), 210( $M^+ - C_5H_8, 100$ ), 209(58), 183(9), 155(6), 104(5), 92(8), 78(5), 77(24), 67(5), 65(6), 64(5), 51(6), 41(20). ESI-MS (pos.)  $m/z$  (%): 579,2 [ $2 \cdot M + Na$ ] $^+$  (11); 301,1 [ $M + Na$ ] $^+$  (12); 279,1 [ $M + H$ ] $^+$  (100). ESI-MS (neg.)  $m/z$  (%): 276,9 [ $M - H$ ] $^-$  (100).

#### ***N*-4-Methylfenyl-7-cyklopentyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-amin (4)**

Sloučenina **4** byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: 4-chlor-7-cyklopentyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (**2**) (100 mg; 0,45 mmol), 4-methylanilin (98 mg; 0,91 mmol), propan-2-ol (10 ml). Reakce probíhala 18 hodin. Čištěním sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v) byl získán požadovaný produkt s výtěžkem 90 mg (68 %) v podobě světle oranžového krystalického prášku;  $t_r = 143\text{--}148$  °C.

IR (KBr): 3446(m), 3276(m), 3201(m), 3117(w), 3025(w), 2959(m), 2918(w), 2868(m), 1618(s), 1579(s), 1563(s), 1510(s), 1466(s), 1429(m), 1409(m), 1363(m), 1308(m), 1243(m), 815(w), 783(w), 714(m). GC-EI-MS ( $t_r = 35,4$  min);  $m/z$ (%): 293(10), 292( $M^+$ , 55), 291(16), 251(21), 225(19), 224( $M^+ - C_5H_8, 100$ ), 223(51), 208(6), 197(10), 196(6), 118(9), 107(6), 106(15), 91(21). 79(6), 77(6), 67(5), 65(16), 64(5), 41(26). ESI-MS (pos.)  $m/z$  (%): 607,3 [ $2 \cdot M + Na$ ] $^+$  (7); 315,1 [ $M + Na$ ] $^+$  (10); 293,1 [ $M + H$ ] $^+$  (100). ESI-MS (neg.)  $m/z$  (%): 290,9 [ $M - H$ ] $^-$  (100).

#### ***N*-4-Methoxyfenyl-7-cyklopentyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-amin (5)**

Sloučenina **5** byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: 4-chlor-7-cyklopentyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (**2**) (100 mg; 0,45 mmol), 4-methoxyanilin (112 mg; 0,91 mmol), propan-2-ol (10 ml). Reakce probíhala 18 hodin. Čištěním sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v) byl získán požadovaný produkt s výtěžkem 106 mg (76 %) v podobě světle oranžového krystalického prášku;  $t_r = 155\text{--}163$  °C.

IR (KBr): 3443(w), 3268(w), 3201(w), 3104(w), 3041(w), 2999(w), 2962(m), 2871(w), 2835(w), 1620(s), 1584(s), 1562(s), 1509(s), 1466(s), 1431(m), 1410(m), 1308(m), 1241(s), 1039(m), 825(w), 712(m). GC-EI-MS ( $t_R = 14,6$  min);  $m/z(\%)$ : 309(16), 308( $M^+$ ,77), 307(15), 293(15), 267(22), 241(19), 240( $M^+$ - $C_5H_8$ ,100). 239(21), 226(7), 225(44). 224(6), 197(5), 196(6), 170(5), 120(8), 119(5), 118(24), 108(30), 107(5), 92(9), 91(5), 80(9), 77(9), 67(7), 65(7), 64(12), 53(5), 41(31). ESI-MS (pos.)  $m/z$  (%): 639,3 [ $2 \cdot M + Na$ ] $^+$  (5); 331,1 [ $M + Na$ ] $^+$  (11); 309,1 [ $M + H$ ] $^+$  (100). ESI-MS (neg.)  $m/z$  (%): 306,9 [ $M - H$ ] $^-$  (100).

#### ***N*-4-Ethoxyfenyl-7-cyklopentyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-amin (6)**

Sloučenina **6** byla připravena podle obecného postupu z výchozích navážek: 4-chlor-7-cyklopentyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (**2**) (100 mg; 0,45 mmol), 4-ethoxyanilin (112 mg; 0,91 mmol), propan-2-ol (10 ml). Reakce probíhala 19 hodin. Čištěním sloupcovou chromatografií (silikagel, petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v) byl získán požadovaný produkt s výtěžkem 104 mg (72 %) v podobě světle oranžového krystalického prášku;  $t_f = 139$ – $144$  °C.

IR (KBr): 3482(w), 3295(w), 3198(w), 3058(w), 2932(m), 2813(m), 1712(s), 1664(s), 1573(s), 1526(s), 1453(s), 1422(m), 1354(m), 1131(m), 854(w), 766(w). GC-EI-MS ( $t_R = 50,8$  min);  $m/z(\%)$ : 323(22), 322( $M^+$ ,100), 321(17), 294(15), 293(73), 281(14), 255(16), 254(85), 253(9), 226(16), 225(73), 197(9), 170(6), 120(5), 199(7), 118(35), 117(5), 109(5), 108(49), 93(7), 92(7), 91(7), 80(12), 65(13), 64(11), 53(7), 41(31). ESI-MS (pos.)  $m/z$  (%): 667,4 [ $2 \cdot M + Na$ ] $^+$  (7); 345,2 [ $M + Na$ ] $^+$  (14); 323,2 [ $M + H$ ] $^+$  (100). ESI-MS (neg.)  $m/z$  (%): 321,0 [ $M - H$ ] $^-$  (100).

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 5.1 Syntéza skupiny nových pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů

V této kapitole bude poskytnut komentář k syntéze, pomocí které byla připravena série 4,7-disubstituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů s doposud nepopsanou strukturou. Na tomto místě se jako vhodné jeví podotknout, že předložená bakalářská práce svojí tematikou zapadá do oblasti, která je na Ústavu chemie již několik let studována. Jedná se o syntézu di- či trisubstituovaných purinů, případně jeho bioisosterů, které by mohly vykazovat zajímavé biologické účinky. V předcházejících letech byla pozornost věnována zejména derivátům purinu, nicméně před dvěma lety začal také výzkum v oblasti syntézy pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinových sloučenin. Zatímco v předešlých případech byly syntetizovány sloučeniny obsahující v poloze 4 pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového kruhu aromatické aminy s adamantanovým skeletem, pro potřeby této práce byly zvoleny komerčně dostupné aromatické aminy lišící se substitucí v poloze *para*. Jako substituent, který bude zaveden na atom dusíku v poloze 7, byl zvolen neobjemný cykloalkan, konkrétně pak cyklopentan-1-yl. Série sloučenin, kterou bylo za cíl v rámci řešení této práce připravit, by měla logicky doplňovat sloučeniny, jejichž syntézou se ve své diplomové práci zabývá Vendula Tichavská a které se vzájemně liší typem substituentu umístěného právě na atomu dusíku v poloze 7 pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového skeletu.

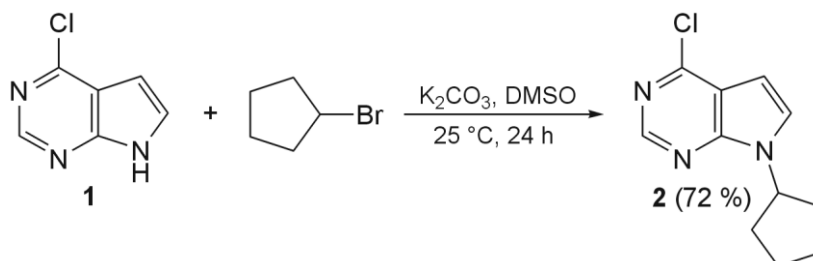
Syntéza uvažovaných sloučenin se skládala ze dvou kroků, alkylace a nukleofilní aromatické substituce, které budou komentovány v následujících kapitolách.

#### 5.1.1 Alkylace 4-chlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu

První krok vedoucí k přípravě série 4,7-disubstituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů představovala alkylace výchozího 4-chlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu (**1**) do pozice N7.

Tato reakce byla nejprve provedena ověřeným způsobem, který je na Ústavu chemie běžně používán při alkylationi derivátů purinu či pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu 2-jodpropanem. Výchozí chlor derivát **1** byl ponechán reagovat s 1-bromcyklopentanem v prostředí dimethylsulfoxidu za použití K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jako báze (**Obrázek 19**). Reakce byla prováděna za laboratorní teploty a její průběh byl monitorován pomocí TLC. Po 24 hodinách bylo usouzeno, že veškerý výchozí chlor derivát **1** již byl zreagován a reakce byla ukončena. Po

zpracování reakční směsi a vysušení organických podílů nad síranem sodným bylo rozpouštědlo odpařeno na rotační vakuové odparce (RVO) a získaný produkt přečištěn pomocí sloupcové chromatografie za použití mobilní fáze petrolether/ethyl-acetát (4/1, v/v). Požadovaný produkt byl získán v podobě světle žlutého oleje ve výtěžku 72 %.

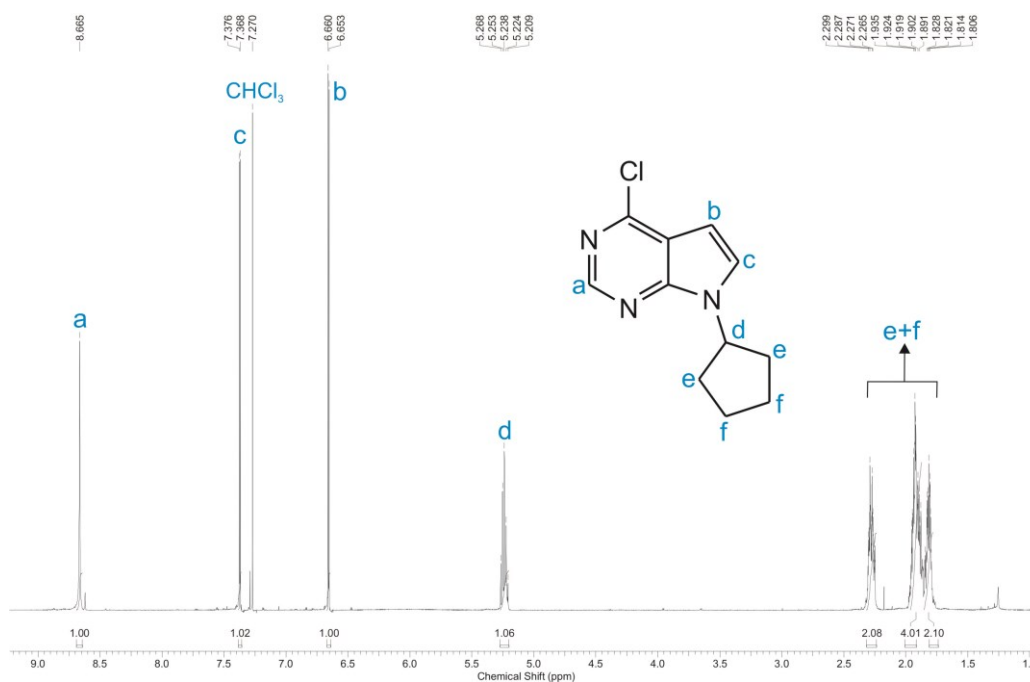


**Obrázek 19:** Alkylace sloučeniny 1 v prostředí uhličitanu draselného.

Následná analýza provedená pomocí GC-MS indikovala, že získaný produkt je chromatograficky čistý, přičemž hodnota  $m/z$  molekulového iontu pozorovaného v hmotnostním spektru odpovídala požadované sloučenině. V chromatogramu byl pozorován jediný pík s retenčním časem 14,63 minuty. Hmotnostní spektrum této sloučeniny získané pomocí elektronové ionizace poskytlo molekulový ion v podobě klastru sestávajícího ze dvou signálů o  $m/z$  221 a 223, které byly v přibližném vzájemném poměru 3:1, což dokazuje přítomnost jednoho atomu chloru v molekule. Základním píkem v tomto spektru pak byl signál o  $m/z$  153 (izotop  $^{35}Cl$ ) doprovázený signálem o  $m/z$  155 (izotop  $^{37}Cl$ ) vznikající neutrální ztrátou částice o  $m/z$  68 ( $C_5H_8$ ), kterou je s největší pravděpodobností cyklopenten.

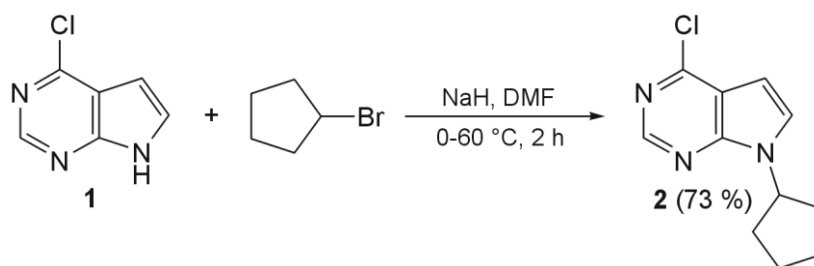
Struktura sloučeniny 2 byla potvrzena rovněž pomocí nukleární magnetické rezonance, kdy bylo změřeno vodíkové spektrum této látky. Ve spektru, které je uvedeno na **Obrázku 20** lze pozorovat celkem šest signálů pocházejících z předmětné molekuly a poté také signál náležící rozpouštědлу. V alifatické oblasti (1,81–2,30 ppm) se vyskytují celkem tři multiplety, které náležejí atomům vodíku  $CH_2$  z cyklopentylového kruhu (na **Obrázku 20** označeny jako „e“ a „f“; v experimentální části jsou tyto atomy vodíku označeny jako „ $CH_2cPe$ “). Atom vodíku pocházející z cyklopentylového kruhu (na **Obrázku 20** označen písmenem „d“) byl pozorován jako penten v oblasti 5,23 ppm. V aromatické oblasti se vyskytovaly celkem tři atomy vodíku pocházející z pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového kruhu, a sice atom vodíku umístěný na C2 (8,67 ppm), C5 (6,66 ppm) a C6 (7,37 ppm).





**Obrázek 20:**  $^1\text{H}$  NMR spektrum sloučeniny 2.

Nicméně, s ohledem na relativně dlouhý reakční čas bylo přistoupeno ještě k jednomu experimentu, v němž byla použita silnější báze, a sice hydrid sodný, který byl skladován jako 60% disperze v minerálním oleji (důvodem je bezpečnější manipulace s touto látkou např. během vážení).<sup>35</sup> Před samotnou aplikací a přidáním do reakční směsi byl NaH promyt bezvodým pentanem (zbaveným vody pomocí destilace nad sodíkem). Během přidávání hydridu sodného do roztoku výchozího chlor derivátu **1** v bezvodém dimethylformamidu byla reakční směs zchlazena na 0 °C. Poté byla ponechána vytemperovat na laboratorní teplotu, načež byl přidán 1-bromcyklopentan. Následně byla reakční směs zahřáta na 60 °C a průběh reakce byl monitorován pomocí TLC. Již po 2 hodinách TLC indikovala zreagování veškeré výchozí sloučeniny a bylo tedy přistoupeno ke zpracování reakční směsi. Pevné podíly (přesněji řečeno olejovité podíly) získané odpařením rozpouštědla na RVO byly následně přečištěny pomocí sloupcové chromatografie za použití stejné mobilní fáze, jako tomu bylo v předcházejícím případě, přičemž požadovaný produkt byl získán v podobě nažloutlého oleje ve výtěžku 73 % (Obrázek 21).

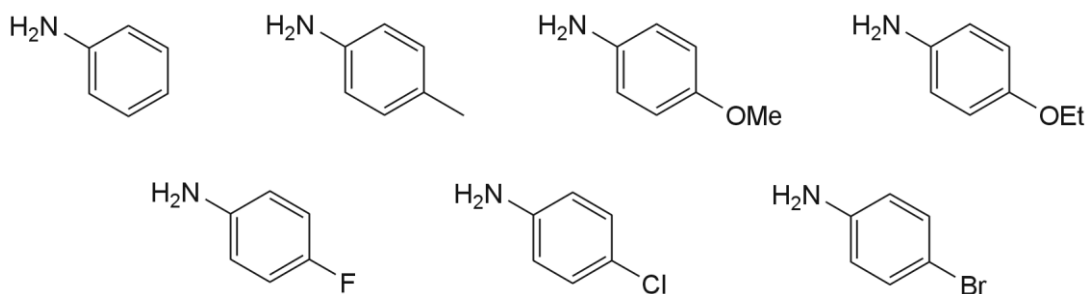


**Obrázek 21:** Alkylace sloučeniny **1** v prostředí hydridu sodného.

Ačkoliv byla požadovaná sloučenina získána pomocí obou výše uvedených metod v podstatě ve stejném výtěžku, bylo rozhodnuto, a to zejména s ohledem na značně rozdílnou reakční dobu, že další experimenty, které byly prováděny s větším množstvím výchozí sloučeniny, budou provedeny pomocí druhé metody, tedy za použití hydridu sodného jako báze.

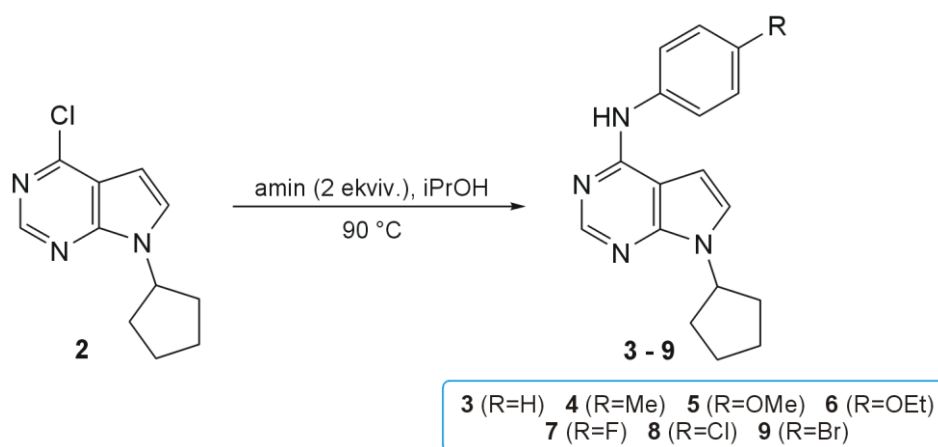
### 5.1.2 Nukleofilní aromatická substituce

Jako další krok byla provedena série nukleofilních aromatických substitucí atomu chloru v pozici C4 sloučeniny **2**. Jako substituenty byly vybrány různé aromatické aminy vzájemně se lišící typem substituentu umístěným v poloze 4 aromatického aminu (**Obrázek 22**). Jak je z obrázku patrné, jednotlivé aminy obsahují v této poloze různě elektronově bohaté substituenty. Modelovým substituentem byl anilin – jediný nesubstituovaný aromatický amin použitý v této práci. Aminem, který obsahuje v poloze *para* substituent, který přitahuje vazebné elektrony slaběji než atom vodíku (vykazuje tedy kladný induktivní efekt) a zvyšuje tak elektronovou hustotu, byl 4-methylanilin. Ostatní použité aromatické aminy již vykazují schopnost elektronovou hustotu snižovat a jedná se tedy o substituenty se záporným, avšak vzájemně se lišícím induktivním efektem. Takovými sloučeninami byly 4-methoxyanilin, 4-ethoxyanilin, 4-fluoranilin, 4-chloranilin a 4-bromanilin.



**Obrázek 22:** Aromatické aminy použité v této práci.

Jednotlivé reakce byly prováděny konvenčně, přičemž příslušný amin byl do reakční směsi vkládán ve dvoumolárním přebytku. Reakce probíhaly v isopropylalkoholu při 90 °C pod chlorkalciovým uzávěrem. Průběh jednotlivých reakcí byl monitorován pomocí TLC (petrolether/ethyl-acetát, 1/1, v/v). Reakce byly ukončeny po spotřebování veškerého výchozího purinu v rozmezí 18–23 hodin (**Obrázek 22**).



**Obrázek 23:** Nukleofilní aromatická substituce sloučeniny 2.

Skutečnost, že reakce nebyly prováděny za přítomnosti báze, jako tomu u reakcí tohoto typu někdy bývá, byla dána dlouholetými zkušenostmi spojenými s přípravou sloučenin tohoto typu. Role báze tak zastal amin použitý v reakční směsi ve dvoumolárním přebytku. Reakce probíhaly relativně dlouhou dobu, konkrétně od 18 do 23 hodin, a požadované sloučeniny byly získány v uspokojivých výtěžcích (68–79 %). Přehlednou sumarizaci poskytuje **Tabulka 1**, k níž je dále uveden komentář.

**Tabulka 1:** Sumarizace výsledků  $S_NAr$  atomu Cl sloučeniny 2

Sloučenina	R	Čas [h]	Výtěžek [%]
3	H	23	79
4	Me	18	68
5	OMe	18	76
6	OEt	19	72
7	F	23	---
8	Cl	25	---
9	Br	25	---

Sloučeniny, u nichž je v **Tabulce 1** uveden výtěžek, byly po ukončení reakce a následném zpracování reakční směsi čištěny pomocí sloupcové chromatografie, přičemž se je podařilo získat jako chromatograficky čistá chemická individua. Celý proces byl započat změřením „surového produktu“ pomocí GC-MS, přičemž bylo, ne zcela neočekávaně, zjištěno, že tato směs ve všech případech obsahovala nezreagovaný aromatický amin a dále pak příslušný produkt. Výchozí purin **2** nebyl v žádném z analyzovaných vzorků detekován. Důkaz opravňující nás hovořit o „úspěšně“ proběhnuvších reakcích byl získán z hmotnostních spekter, kdy v každém z EI-MS spekter všech analyzovaných vzorků byl pozorován ion, jehož hodnota  $m/z$  odpovídala očekávanému produktu. Následně bylo přistoupeno k již zmiňované sloupcové chromatografii, kdy se jako nejvhodnější mobilní fáze jevila směs petrolether/ethyl-acetát (1/1, v/v). Zatímco u sloučenin **3** až **6** proběhla separace příslušného produktu od nezreagovaného aromatického aminu bez větších obtíží a byl tak získán požadovaný produkt v uspokojivé čistotě, u sloučenin obsahujících na aromatickém jádře halogen (látky **7**, **8** a **9**) se separace obou složek nepodařila. Zda bylo dosaženo separace či nikoliv, bylo pozorováno jednak pomocí TLC, ale rovněž za použití GC-MS analýzy. Přes veškerou snahu se bohužel nepodařilo nalézt optimální mobilní fázi zaručující úspěšnou separaci halogenovaných purinů a příslušných aromatických aminů. V tuto chvíli se tak nabízí dvě možná řešení. Za prvé vyzkoušet sloupcovou chromatografii za použití jiné stacionární fáze, tedy namísto silikagelu provádět purifikaci na alumině. Nebude-li tato cesta vést k požadovanému cíli, bude pravděpodobně přistoupeno k vyzkoušení reakcí za použití báze (nabízí se hned několik možností) s tím, že příslušný aromatický amin bude použit ve stejném ekvimolárním množství jako výchozí purin. Takové reakce by mohly být provedeny jednak konvenčním způsobem, ale také v mikrovlnném reaktoru, kterým Ústav chemie krátce disponuje.

Pro úplnost je zapotřebí uvést, že ačkoliv jsou na **Obrázku 23** a v **Tabulce 1** uváděny všechny připravené sloučeniny, v experimentální části jsou uvedeny pouze ty, které byly po sloupcové chromatografii získány jakožto chromatograficky čisté (látky **3** až **6**). Ostatní, tedy halogenové deriváty, nejsou součástí experimentální části této práce.

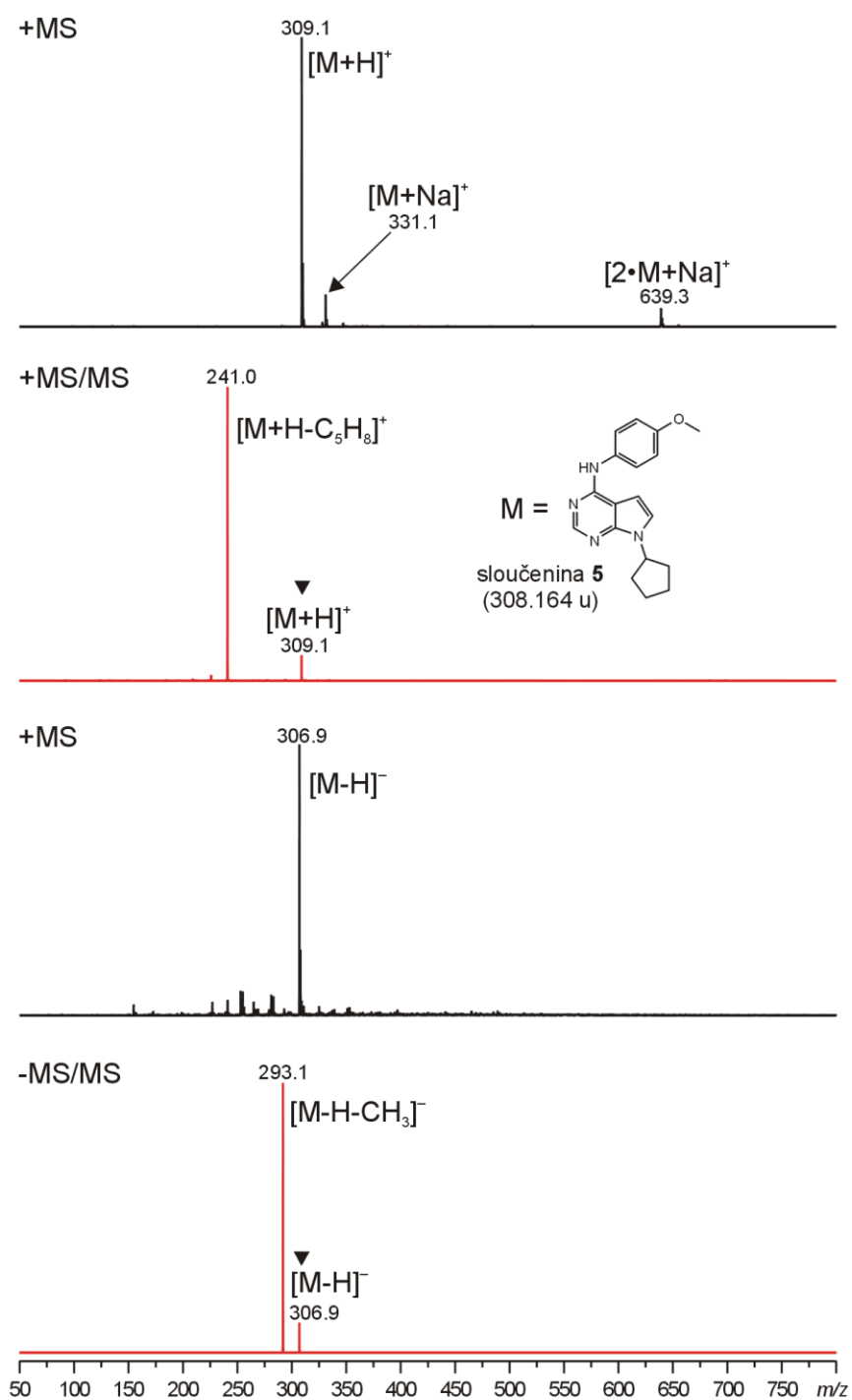
Struktura nově připravených pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinových derivátů **3** až **6** byla, vyjma již výše zmiňovaného GC-MS, potvrzena rovněž pomocí jiných spektrálních technik. S ohledem na skutečnost, že tyto sloučeniny byly v čisté podobě získány teprve

v průběhu dubna 2018 a toho času nebyla na FT UTB ve Zlíně k dispozici spektroskopie nukleární magnetické rezonance, nebyla tato technika ke strukturní charakterizaci připravených sloučenin použita. Nicméně, vzorky jsou již nachystány a v nejbližší době budou odeslány k analýze do NMR laboratoře Masarykovy univerzity v Brně. K určení struktury těchto látek tak byla použita infračervená spektroskopie a dále hmotnostní spektrometrie za použití ESI-IT-MS, tedy hmotnostního spektrometru s elektrosprejovou ionizací vybaveného iontovou pastí.

ESI-MS analýzy sloučenin **3–6** byly provedeny jak v pozitivním, tak také v negativním skenovacím módu, přičemž získané výsledky byly ve všech případech v podstatě analogické. Pro přesnější představu je na **Obrázku 24** uveden výsledek ESI-MS/MS analýzy sloučeniny **5**.

Ve spektru prvního řádu získaného v pozitivním skenovacím módu byly pozorovány celkem tři jedenkrát nabitě signály, které byly, dle jejich hodnoty  $m/z$ , určeny jako protonovaná molekula  $[M+H]^+$ , sodný adukt přílušného purinu  $[M+Na]^+$  a dále pak jako sodný adukt dimeru purinu  $[2\cdot M+Na]^+$ . Izolací a následnou fragmentací (ESI-MS/MS) iontu odpovídajícího protonované molekule byly získány další cenné informace o chování těchto látek v plynné fázi. V průběhu fragmentace všech připravených látek docházelo k neutrální ztrátě molekuly o  $m/z$  68, která by mohla mít sumární vzorec  $C_5H_8$ , a tudíž by se mohlo jednat o neutrální ztrátu molekuly cyklopentenu.

V negativním skenovacím módu byl ve všech případech pozorován jediný signál, jehož hodnota  $m/z$  odpovídala deprotonované molekule. Zatímco v případě sloučenin **3** a **4** nebyla následná fragmentace tohoto iontu úspěšná, u sloučenin **5** a **6** byl jako produktový ion pozorován signál o  $m/z$  293 vznikající neutrální ztrátou  $CH_3$  (v případě sloučeniny **5**), respektive  $C_2H_5$  (v případě sloučeniny **6**) za tvorby odpovídajícího radikálu, což v případě ESI-MS není příliš často pozorovaný typ iontu.



**Obrázek 24:** ESI-MS/MS spektra sloučeniny 5 v pozitivním a negativním skenovacím módu.

## ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo připravit sérii 4,7-disubstituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů s doposud nepopsanou strukturou a charakterizovat připravené sloučeniny pomocí běžně používaných instrumentálních metod (IR, MS, NMR).

Příprava 4,7-disubstituovaných pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinů byla rozdělena do dvou částí. Nejprve bylo nutné připravit sloučeninu **2**, která byla dále použita pro syntézu finálních sloučenin. Sloučenina **2** byla připravena alkyací komerčně dostupného 4-chlor-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinu (**1**) do pozice N7 reakcí s bromcyklopentanem, kdy byly vyzkoušeny dvě různé báze, a sice uhličitan draselný a hydrid sodný, který byl, s ohledem na znatelně kratší reakční dobu, používán pro všechny následující alkylační reakce.

V další části byla provedena série nukleofilních aromatických substitucí atomu chloru v poloze 4 sloučeniny **2** sérií aromatických aminů vzájemně se lišících substituentem v poloze *para*, kdy vyjma nesubstituovaného anilinu byl použit 4-methylanilin, 4-methoxyanilin, 4-ethoxyanilin, 4-fluoranilin, 4-chloranilin a 4-bromanilin. Příslušný amin byl v každé z reakcí použit ve dvoumolárním přebytku. Nukleofilní aromatickou substitucí byly připraveny sloučeniny **3–9**. Zatímco sloučeniny **3**, **4**, **5** a **6** byly získány v uspokojivé čistotě a výtěžcích a mohly tak být charakterizovány běžnými metodami strukturní analýzy, tak v případě sloučenin **7**, **8**, **9**, obsahujících na aromatickém jádře v *para* poloze halogen, nebyla jejich purifikace pomocí sloupcové chromatografie úspěšná, tudíž nemohla být provedena jejich úplná strukturní charakterizace. Nicméně, z výsledků získaných pomocí GC-MS je zřejmé, že reakce proběhly úspěšně. Nezbývá tedy než nalézt vhodnější podmínky pro jejich purifikaci.

V blízké budoucnosti, v podstatě ihned, jakmile budou dočištěny sloučeniny **7**, **8** a **9**, bude celá série odeslána na testování jejich biologické aktivity.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] REZENDE, Lisa. *Chronology of science*. New York, NY: Facts on File, **2006**. ISBN 978-081-6053-421.
- [2] Rosemeyer, H. *Chemistry & Biodiversity*, **2004**, 1, 361.
- [3] JIŘÍ DOSTÁL A KOLEKTIV. *Lékařská chemie II: bioorganická chemie*. 2., zcela přeprac. vyd. Brno: Masarykova univerzita, **2007**. ISBN 978-802-1037-892.
- [4] MCMURRY, John. *Organická chemie*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, nakladatelství VUTIUM, **2015**. Překlady vysokoškolských učebnic. ISBN 978-80-214-4769-1.
- [5] ČIČIBABIN, A. E. *Základy organickej chémie II*. diel. 1. vydání. Bratislava: Slovenské vydavateľstvo technickej literatúry, **1960**. ISBN 302-05-6
- [6] DEWICK, Paul M. *Essentials of organic chemistry: for students of pharmacy, medicinal chemistry and biological chemistry*. Hoboken, N.J.: J. Wiley, **2006**. ISBN 04-700-1665-5.
- [7] LISTER, John H. *Fused pyrimidines: purines part II*. London: John Wiley & Sons, **1971**. 655 s. ISBN 04-713-8205-1.
- [8] ČERVINKA, Otakar. *Chemie organických sloučenin*. Díl 2. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, **1987**.
- [9] ORIŇÁKOVÁ Eva. *Biologicky aktivní látky ve vybraných rostlinách rodu Camellia*. Zlín, **2010**. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Technologická fakulta, Obor chemie a technologie potravin. Vedoucí práce Ing. Michal Rouchal, Ph.D.
- [10] Lima, L. M.; Barreiro, E. J.: **2005**, *Curr. Med. Chem.*, 12, 23-49
- [11] ŘEZŇÍČKOVÁ, Eva. *Pyrazolopyrimidinové inhibitory CDK: antiproliferační a proapoptické vlastnosti*. Olomouc, **2010**. Diplomová práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Katedra buněčné biologie a genetiky.
- [12] Dwyer, M.P.; Paruch, K.; Alvarez, C.; Doll, R.J.; Keertikar, K.; Duca, J.; Fischmann, T.O.; Hruza, A.; Madison, V.; Lees, E.; Parry, D.; Seghezzi, W.; Sgambellone, N.;



- Shanahan, F.; Wiswell, D.; Guzi, T.J.: **2007**, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *17*, 6216-6219.
- [13] HOLÝ, Antonín. *Principy bioorganické chemie ve vývoji antivirotik a cytostatik*. Olomouc: Univerzita Palackého, **2004**. ISBN 80-244-0855-4.
- [14] Perlíková, P.; Hocek, M.: **2017**, *Med. Res. Rev.*, *37*, 1429-1460.
- [15] Xing, R.; Zhang, H.; Yuan, J.; Zhang, K.; Li, L.; Guo, H.; Zhao, L.; Zhang, C.; Li, S.; Gao, T.; Liu, Y.; Wang, L.: **2017**, *Eur. J. Med. Chem.*, *139*, 531-541.
- [16] Liu, Y.; Zhang, C.; Zhang, H.; Li, M.; Yuan, J.; Zhang, Y.; Zhou, J.; Guo, H.; Zhao, L.; Du, Y.; Wang, L.; Ren, L.: **2015**, *Eur. J. Med. Chem.*, *93*, 142-155.
- [17] Thiyagarajan, A.; Toyama, M.; Baba, M.; Sharon, A.; Bal, Ch.: **2016**, *Nucleos. Nucleot. Nucl.*, *35*, 305-314.
- [18] Sugimoto, Y.; Sawant, D.B.; Fisk, H.A.; Mao, L.; Li, Ch.; Chettiar, S.; Li, P-K.; Darby, M.V.; Brueggemeir, R.W.: **2017**, *Bioorg. Med. Chem.*, *25*, 2156-2166.
- [19] Naud, S.; Westwood, I.M.; Faisal, A., et al.: **2013**, *J. Med. Chem.*, *56*, 10045-10065.
- [20] Bistrović, A.; Grbčić, P.; Harej, A.; Sedić, M.; Kraljević-Pavelić, S.; Koštrun, S.; Plavec, J.; Makuc, D.; Raić-Malić, S.: **2018**, *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.*, *33*, 271-285.
- [21] Hocek, M. *Chemické Listy*. **2003**, *97*, 1145-1150.
- [22] Smith, D.E.; Marquez, I.; Lokensgard, M.E.; Rheingold, A.L.; Hecht, D.A.; Gustafson, J.L.: **2015**, *Angew. Chem. Int. Ed.*, *54*, 11754-11759.
- [23] Lee, J-H.; Shin, S.Ch.; Seo, S.H.; Seo, Y.H.; Jeong, N.; Kim, Ch-W.; Kim, E.E.; Keum, G.: **2017**, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *27*, 237-241.
- [24] Prieur, V.; Heindler, N.; Rubio-Martínez, J.; Guillaumet, G.; Pujol, M.D.: **2015**, *Tetrahedron*, *71*, 1207-1214.
- [25] Wang, L.X.; Liu, X.; Xu, S.; Tang, Q.; Duan, Y.; Xiao, Z.; Zhi, J.; Jiang, L.; Zheng, P.; Zhu, W.: **2017**, *Eur. J. Med. Chem.*, *141*, 538-551.

- [26] Liu, X.; Newton, R.C.; Scherle, P.A.: **2011**, *Expert. Opin. Investig. Drugs.*, *9*, 1225-1241.
- [27] Vazquez, M.L.; Kaila, N.; Strohbach, J.W.; Trzupek, J.D.; Brown, M.F.; Flanagan, M.E.; Mitton-Fry, M.J.; Johnson, T.A.; TenBrink, R.E.; Arnold, E.P.; Basak, A.; Heasley, S.E.; Kwon, S.; Langille, J.; Parikh, M.D.; Griffin, S.H.; Casavant, J.M.; Duclos, B.A.; Fenwick, A.E.; Harris, T.M.; Han, S.; Caspers, N.; Dowty, M.E.; Yang, X.; Banker, M.E.; Hegen, M.; Symanowicz, P.T.; Li, L.; Wang, L.; Lin, T.H.; Jussif, J.; Clark, J.D.; Telliez J-B.; Robinson, R.P.; Unwalla, R.: **2018**, *J. Med. Chem.*, *61*, 1130-1152.
- [28] Mavers, M.; Ruderman, E. M.; Perlman, H.; **2009**, *Curr. Rheumatol. Rep.*, *11*, 378–385.
- [29] O’Shea, J. J.; Plenge, R.: **2012**, *Immunity*, *36*, 542–550.
- [30] Thorarensen, A.; Dowty, M. E.; Banker, M. E.; Juba, B.; Jussif, J.; Lin, T.; Vincent, F.; Czerwinski, R. M.; Casimiro-Garcia, A.; Unwalla, R.; Trujillo, J. I.; Liang, S.; Balbo, P.; Che, Y.; Gilbert, A. M.; Brown, M. F.; Hayward, M.; Montgomery, J.; Leung, L.; Yang, X.; Soucy, S.; Hegen, M.; Coe, J.; Langille, J.; Vajdos, F.; Chrencik, J.; Telliez, J. B.: **2017**, *J. Med. Chem.*, *60*, 1971-1993.
- [31] Clark, J. D.; Flanagan, M. E.; Telliez, J. B.: **2014**, *J. Med. Chem.*, *57*, 5023–5038.
- [32] Tan, L.; Akahane, K.; McNally, R.; Reyskens, K. M.; Ficarro, S. B.; Liu, S.; Herter-Sprie, G. S.; Koyama, S.; Pattison, M. J.; Labella, K. M.; Johannessen, L.; Akbay, E. A.; Wong, K. K.; Frank, D. A.; Marto, J. A.; Look, A. T.; Arthur, S.; Eck, M. J.; Gray, N. S.: **2015**, *J. Med. Chem.*, *58*, 6589– 6606.
- [33] Ding, X.; Stasi, L.P.; Ho, M-H.; Zhao, B.; Wang, H.; Long, K.; Xu, Q.; Sang, Y.; Sun, Ch.; Hu, H.; Yu, H.; Wan, Z.; Wang, L.; Edge, C.; Liu, Q.; Li, Y.; Dong, K.; Guan, X.; Tattersall, F.D.; Reith, A.D.; Ren, F.: **2018**, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v tisku, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.03.045>.
- [34] Kalia, L.V.; Lang, A.E.: **2015**, *Lancet*, *386*, 896–912.
- [35] Pfizer Products Inc., Patent: WO2005/47289 A1, **2005**.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

A549	karcinom plic
AcONa	octan sodný
BINAP	2,2'-bis(difenylofosfino)-1,1'-binaftyl
Cetn2	gen kódující protein Centrin-2
CID	kolizi indukovaná disociace
c-Met	tyrosin proteinové kinázy
CNS	centrální nervová soustava
DCM	dichlormethan
DIEA	diisopropylethylamin
DMAP	4-dimethylaminopyridin
DMF	dimethylformamid
ESI-IT-MS	hmotnostní spektrometr s iontovou pastí
FAK/PTK2	fokální adhezivní kináza
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
HepG2	karcinom jater
IC50	koncentrace látky inhibující 50 % enzymu
IR	infračervená spektra
JAK 1-3	janus kináza typu 1-3
JNK1	proteinová kináza
LRRK2	leucin bohaté opakující se kinázy 2
MCF-7	karcinom prsu
Mps1	monopolární dělicí vřetenko 1
NMR	nukleární magnetická rezonance
PC-3	karcinom prostaty

---

Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	tetrakis(trifenylfosfin)palladium
RVO	rotační vakuová odparka
<i>t</i> -BuOK	<i>tert</i> -butoxid draselný
TEA	triethylamin
TLC	tenkovrstvá chromatografie
TMSBr	bromtrimethylsilan
<i>t</i> <sub>f</sub>	teplota tání
TTK	duálně specifická kináza
TYK 2	janus kináza typu 4

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<b>Obrázek 1:</b> První syntéza purinu podle Emila Fischera. ....	11
<b>Obrázek 2:</b> Tautomerní formy purinu. ....	12
<b>Obrázek 3:</b> Strukturní vzorce vybraných derivátů purinu. ....	12
<b>Obrázek 4:</b> Vybrané <i>N</i> -metylderiváty purinu. ....	12
<b>Obrázek 5:</b> Struktura známých bioisosterů purinu. ....	13
<b>Obrázek 6:</b> Číslování purinového a pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinového skeletu. ....	14
<b>Obrázek 7:</b> Příklad syntézy pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinového skeletu. ....	15
<b>Obrázek 8:</b> Příklad syntézy 4,5-disubstituovaného pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu. ....	16
<b>Obrázek 9:</b> Příklad syntézy 2,4,7-trisubstituovaného pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu. ....	16
<b>Obrázek 10:</b> Příklad syntézy 4,7-disubstituovaného pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu. ....	17
<b>Obrázek 11:</b> Příprava 4,5,7-trisubstituovaného pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu. ....	18
<b>Obrázek 12:</b> Příprava 2,4,5-trisubstituovaného pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu. ....	19
<b>Obrázek 13:</b> Srovnání syntézy 4,6-disubstituovaného pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidinu. ....	20
<b>Obrázek 14:</b> Struktura sloučenin I a II, srovnání jejich biologické aktivity s tofacitinibem. ....	21
<b>Obrázek 15:</b> Strukturní vzorce sloučenin III–VI. ....	22
<b>Obrázek 16:</b> Srovnání struktur tofacitinibu se sloučeninou VII. ....	23
<b>Obrázek 17:</b> Struktura sloučeniny VIII a srovnání její IC <sub>50</sub> s tofacitinibem. ....	23
<b>Obrázek 18:</b> Strukturní vzorce sloučenin IX a X. ....	24
<b>Obrázek 19:</b> Alkylace sloučeniny 1 v prostředí uhličitanu draselného. ....	32
<b>Obrázek 20:</b> <sup>1</sup> H NMR spektrum sloučeniny 2. ....	33
<b>Obrázek 21:</b> Alkylace sloučeniny 1 v prostředí hydridu sodného. ....	34
<b>Obrázek 22:</b> Aromatické aminy použité v této práci. ....	34
<b>Obrázek 23:</b> Nukleofilní aromatická substituce sloučeniny 2. ....	35
<b>Obrázek 24:</b> ESI-MS/MS spektra sloučeniny 5 v pozitivním a negativním skenovacím módu. ....	38

**SEZNAM TABULEK**

<b>Tabulka 1:</b> Sumarizace výsledků $S_NAr$ atomu Cl sloučeniny 2 .....	35
---	----