

Disertační práce

Syntéza a studium biologických účinků purinových nukleosidů substituovaných 1-adamantylem

Synthesis and Study of Biological Activity of Purine Nucleosides Substituted with 1-Adamantyl

Autor: **Ing. Jana Rudolfová**

Studijní program: **P2901 / Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **2901V013 / Technologie potravin**

Školitel: doc. Mgr. Robert Vícha, Ph.D.

Konzultant: Ing. Michal Rouchal, Ph.D.

Oponenti: prof. RNDr. Jitka Ulrichová, CSc.
doc. Ing. Stanislav Kafka, CSc.
doc. RNDr. Miroslav Soral, Ph.D.

Zlín, září 2022

© Jana Rudolfová

Klíčová slova: *glykosylace, nukleosid, purin, nukleofilní aromtická substituce, biologická aktivita*

Key words: *glycosylation, nucleoside, purine, nucleophilic aromatic substitution, biological activity*

Práce je dostupná v Knihovně UTB ve Zlíně.

Abstrakt

Purinové nukleosidy představují jednu z nejrozšířenějších skupin dusíkatých heterocyklů zastoupených v přírodě. V medicíně jsou velmi často používány zejména pro své významné biologické účinky, jakými je inhibice transportu nukleosidů v organismech, antifungální, antivirotická či protinádorová aktivita.

Předložená práce se zabývá přípravou série nových purinových 2,6-disubstituovaných ribonukleosidů nesoucích unikátní adamantylované aminy. Sestavená multikroková syntéza zahrnuje sekvenci několika po sobě jdoucích reakcí, a sice glykosylaci vybraných, případně připravených, purinových derivátů v poloze N9, nukleofilní aromatickou substituci do polohy C6 na purinovém skeletu vzniklých nukleosidů a následné odchránění nukleosidů. V případě, že molekula daných látek dovozovala, byly provedeny ještě doplňující modifikace v podobě redukce či další nukleofilní aromatické substituce do polohy C2 purinového jádra. Všechny připravené látky byly získány ve velmi dobrých výtěžcích a v odpovídající čistotě. Rovněž byla jejich struktura potvrzena pomocí běžně používaných metod spektrální analýzy.

Právě z důvodů zjištění možného medicínského využití byly připravené sloučeniny podrobeny testům na biologickou aktivitu (antiproliferační účinky a inhibici enzymu), v jejichž rámci byly provedeny také komplexace testovaných nukleosidů s β -cyklodextrinem.

Abstract

Purine ribonucleosides represent one of the most extensive groups of nitrogen heterocycles in the nature. In the medicine, these compounds are very often used mainly for a wide range of interesting biological effects, such as inhibition of nucleoside transport in the organisms or antifungal, antiviral and antitumor activities.

Submitted work deals with a preparation of series of novel purine 2,6-disubstituted ribonucleosides bearing unique adamantylated amines. Assembled multi-step synthesis contains a sequence of several one by one reactions, namely a glycosylation of selected, or prepared purine derivatives at the position N9 with a protected ribose as a glycosyl donor, a nucleophilic aromatic substitution in the position 6 of formed nucleosides' purine ring, followed by a deprotection of ribofuranose units at nucleosides. If the molecule of prepared compounds enabled, they were modified in next reactions as a reduction or a nucleophilic aromatic substitution in the position C2 of the purine core. All prepared compounds were obtained in good yields and purity. Their structures were confirmed using common methods of spectral analysis.

For possibility of medical use, final nucleosides were subjected to tests for biological activity (antiproliferative effects and enzyme inhibition) including complexation of tested nucleosides with β -cyclodextrin.

Nikdy jsem nebyla člověkem, který by se rád veřejně vyznával ze svých pocitů. Proto snad mé prosté ale o to větší a upřímnější děkuji, nebude bráno jako projev neúcty, nýbrž právě naopak.

Doc. Mgr. Robertovi Víchovi, Ph.D., jakožto vedoucímu mé práce. Cením si každé pomoci a velké podpory, které se mi od něj vždy dostalo.

Ing. Michalovi Rouchalovi, Ph.D., jakožto svému konzultantovi. Nejen za spolupráci a změření všech ESI-MS spekter, ale i za upřímnost, shovívavost a ochotu obětovat mi svůj čas a poradit, kdykoliv jsem potřebovala.

Ing. Romanovi Kimmelovi, Ph.D., který mě do práce v organické laboratoři zasvětil. Byl u mých krkolomných začátků, a když bylo třeba, dostalo se mi od něj i odpovídající kritiky, která mě nakopla správným směrem.

Doc. Mgr. Markovi Nečasovi, Ph.D. za změření RTG difrakční analýzy a Ústavu chemie Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně za možnost měření NMR spekter.

Katedře experimentální biologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci za provedení testů na biologickou aktivitu pod vedením doc. RNDr. Vladimíra Kryštofa, Ph.D.

Ing. Lence Trhlíkové za měření GC-MS a EA analýz.

Interní grantové agentuře UTB ve Zlíně za finanční podporu výzkumu.

Celému tehdejšímu studentskému kolektivu laboratoří Ústavu chemie za vytvoření skvělé badatelské atmosféry, zvláště pak Andrej Čablové a paní Hani Geržové (za mateřskou péči a oporu).

V neposlední řadě Vladimírovi Kroupovi a Polině Ogarkové za spolupráci a jejich trpělivost.

Speciální poděkování patří mé mamince, bez níž bych tuto práci nikdy nedopsala (i na dospělého stále platí mateřský dril). Mému tatínkovi a sestře Míši děkuji za spoluúčast při hlídání nejmladších členů mé rodiny.

Ten největší vděk a ještě větší omluva za ukradený čas patří mému muži Ondrovi a našim dětem Maji a Matějovi.

OBSAH

ÚVOD.....	8
TEORETICKÁ ČÁST.....	9
1 GLYKOSYLACE	10
1.1 Glykosylové donory	11
1.1.1 Příprava glykosylových donorů aplikací chránících skupin.....	11
1.1.2 Další glykosylové donory	12
1.2 Mechanismus glykosylace	14
1.3 Glykosylace v syntéze nukleosidů	16
1.4 Odstranění chránících skupin – deprotektce.....	23
2 NUKLEOFILNÍ SUBSTITUCE NA PURINOVÉM KRUHU	25
2.1 Substituce do polohy C6 purinových derivátů a nukleosidů.....	25
2.2 Substituce do polohy C2 purinových nukleosidů	28
3 BIOLOGICKÁ AKTIVITA PURINOVÝCH NUKLEOSIDŮ	31
3.1 Purinové nukleosidy používané v klinické praxi.....	32
3.1.1 Cytostatika	32
3.1.2 Antivirotika	34
3.1.3 Agonisté adenosinového receptoru	37
3.2 Přírodní purinové deriváty	38
3.2.1 Antibiotika.....	39
3.2.2 Cytokininy	40
4 PURINOVÉ NUKLEOSIDY S ADAMANTANOVÝM SKELETEM.....	44
4.1 Adamantanová léčiva	44
4.2 Adamantan v purinových nukleosidech	45
5 CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE.....	47
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	48
6 PŘÍSTROJE A METODY INSTRUMENTÁLNÍ ANALÝZY A DALŠÍ VYBAVENÍ.....	49
7 MULTIKROKOVÁ SYNTÉZA PURINOVÝCH NUKLEOSIDŮ, CHARAKTERISTIKA ZÍSKANÝCH SLOUČENIN A TESTY BIOLOGICKÉ AKTIVITY	51
7.1 Příprava aromatických aminů na bázi adamantanu	51
7.1.1 Nitrace (1-adamantyl)(fenyl)methanonu	51
7.1.2 Redukce nitroketonů na aminoketony	52
7.2 Chlorace hypoxanthinu.....	53
7.3 Nukleofilní substituce atomu chloru v poloze C6 purinového skeletu.....	54
7.4 Redukce karbonylové skupiny u purinových derivátů 10 a 11	58
7.5 Použité glykosylační metody	59

7.6	Odstranění chránících skupin z prekurzorů finálních nukleosidů	64
7.7	Redukce karbonylové skupiny u sloučenin 25, 26, 28 a 29	69
7.8	Nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze C2	71
7.9	Charakterizace neočekávaných produktů	74
7.10	Metodika studia biologické aktivity	78
DISKUZE A VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ		80
8	MULTIKROKOVÁ SYNTÉZA PURINOVÝCH RIBONUKLEOSIDŮ	81
8.1	Příprava adamantylových substituentů a dalších výchozích látek	82
8.1.1	Příprava aromatických aminů na bázi adamantanu	82
8.1.2	Chlorace hypoxanthinu a guaninu	84
8.2	Příprava purinových derivátů a jejich glykosylace	90
8.2.1	Nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze C6	91
8.2.2	Redukce karbonylové skupiny u purinových derivátů s atomem vodíku v poloze C2	95
8.2.3	Glykosylace	96
	<i>Optimalizace podmínek glykosylačních reakcí</i>	97
	<i>Glykosylace vedené přes silylované meziprodukty</i>	100
	<i>Glykosylace purinů substituovaných 1-adamantylem – „H-řada“</i>	103
	<i>Glykosylace purinů substituovaných 1-adamantylem – „Cl-řada“</i>	105
8.3	Odchránění prekurzorů nukleosidů	107
8.4	Redukce karbonylové skupiny sloučenin 25, 26, 28 a 29	108
8.5	Nukleofilní aromatická substituce atomu Cl v poloze C2	111
9	STUDIUM TVORBY HOSTITEL–HOST KOMPLEXŮ PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN S β -CD	116
10	STUDIUM BIOLOGICKÉ AKTIVITY PURINOVÝCH NUKLEOSIDŮ ...	121
10.1	Cytotoxicita	121
10.2	Inhibice enzymu CKX	123
ZÁVĚR		125
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY		127
SEZNAM OBRÁZKŮ		142
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK		144
PŘÍLOHY		147
CURRICULUM VITAE		149

ÚVOD

Puriny a monosacharidy svým významným zastoupením v přírodě, zajímavými vlastnostmi a důležitými funkcemi v metabolických drahách neustále přitahují pozornost nespočtu výzkumných týmů s různorodým zaměřením. Tyto dvě skupiny sloučenin se velmi úzce setkávají zejména v oblasti cukerné chemie a chemie nukleových kyselin v podobě nukleosidových bází. Vznikají prostřednictvím glykosylačních reakcí, jejichž charakteristikou se zabývá většina teoretické části této práce. Přestože jsou glykosylace prováděny již více než celé století, jejich komplikovanost je téměř pověstná. „*Na první pohled se nezdají být příliš složité – glykosylový donor reaguje s glykosylovým akceptorem za přítomnosti aktivátoru. Přesto každý, kdo má zkušenosti v oblasti chemie cukrů, ví, že každá glykosylace je unikátní reakcí, která musí být optimalizována individuálně a stále často první pokus nejednoho vědce končí stopou na TLC vrstvě připomínající čárový kód.*“¹

Do skupiny nejběžnějších dusíkatých sloučenin v živých organismech se řadí i deriváty adeninu a jeho glykosylované formy, adenosinu. Z toho důvodu volně navazuje na pojednání o glykosylacích kapitola zabývající se jedněmi z nejčastějších modifikací purinů, a to nukleofilními aromatickými substitucemi, které jsou vedené zejména do poloh 2 a 6 základního purinového kruhu.

Ovšem nejen vznikem a proměnami je příroda živa. Spousta látek na bázi purinu či jeho příbuzných heterocyklických analogů vykazují i jistou biologickou aktivitu. Na straně jedné stojí léčiva, jichž je v klinické praxi už několik let hojně využíváno, nebo jsou v současnosti na klinické úrovni testovány. Na straně druhé, se jedná o významné bioaktivní sloučeniny izolované z přírodních zdrojů, o jejichž možném využití ve farmacii se teprve uvažuje. Velmi podobné je tomu i v případě klecového uhlovodíku adamantanu, jehož využití a důležitost pro farmakologii a lékařství je přiblíženo v závěru teoretické části.

Stejně jako se staví dům, popisuje experimentální část práce krok po kroku, kámen po kameni sestavení syntézy vedoucí k vytyčeným ribonukleosidům, do nichž byly účelně zakomponovány unikátní adamantylované primární aminy, v minulosti navržené a vytvořeny naší výzkumnou skupinou. Nukleofilní aromatickou substitucí se podařilo těmito primárními aminy obsadit polohu C6 vybraných purinových derivátů a získané poznatky o glykosylacích byly přetransformovány v nezdary a ty následně ve zdárné vytvoření ribosylovaných purinů v poloze N9. Finální ribonukleosidy byly dokončeny odstraněním chránících skupin z glykosylového zbytku. Pokud to struktury připravených nukleosidů dovolovaly, byly u nich provedeny ještě další modifikace purinového kruhu.

Vrcholem celé práce je studium biologické aktivity oněch získaných sloučenin, zda mají předpoklady dostat se mezi úspěšné adepty pro lékařské využití. V rámci biologických testů byly zkoumány i komplexy připravených nukleosidů s β -cyklodextrinem.

TEORETICKÁ ČÁST

1 GLYKOSYLACE

Glykosylace je významná modifikace biologicky aktivních látek, proto patří mezi nejdůležitější reakce v oblasti cukerné chemie a glykobiologie. Umožňuje konverzi lipofilních látek na hydrofilní, čímž významně ovlivňuje nejen jejich fyzikálně-chemické (rozpuštěnost ve vodných médiích) či farmakokinetické (transport přes buněčné membrány, biologická dostupnost) vlastnosti, ale i farmakodynamické účinky. Současně však jde i o jeden z nejméně interpretovaných mechanismů organické syntézy.²⁻⁴

Od doby, kdy byly provedeny první glykosylační syntézy A. Michaelem* a E. Fischerem**, následované klíčovými studiemi W. Königse a E. Knorra***,⁵ bylo, mnohdy na jejich základě, vyvinuto obrovské množství dalších metod, včetně jejich modifikací a kombinací. V posledním desetiletí pak zaznamenala tato oblast chemie obrovský rozmach a značné pokroky jak v různorodosti používaných glykosylových donorů a možných aktivačních podmínek, tak v možnostech glykosylace samotné.⁶

V průběhu glykosylačních reakcí dochází ke spojení dvou monosacharidů nebo k zavedení jedné či více monomerních sacharidových jednotek do struktury různých molekul necukerné povahy, kterými mohou být lipidy, aminokyseliny, bílkoviny, alkaloidy, peptidy nebo steroidy, za vzniku glykosidové vazby.^{7,8} Tímto způsobem jsou získávány cukerné deriváty zvané glykosidy.

Glykosidy vznikají napojením monosacharidů obvykle tvořících šestičlennou (pyranosovou) nebo pětičlennou (furanosovou) cyklickou formu. Dle toho se pak vzniklé glykosidy nazývají pyranosidy, respektive furanosidy. Méně často se objevuje také označení pocházející z navázaného sacharidového zbytku, jako ribosidy, glukosidy, mannosidy atd.

Nejpoužívanější je však názvosloví odvozené od konkrétního atomu, přes nějž je glykosidová vazba vedena. Nejběžnější *O*-glykosidy vznikají propojením přes atom kyslíku, nicméně se lze setkat i s uhlíkatými (*C*-glykosidy), sírnými (*S*-glykosidy) a dusíkatými analogy (*N*-glykosidy, přesněji glykosylaminy).^{8,9}

Při tvorbě glykosidové vazby dochází také ke zformování nového anomerního centra na atomu uhlíku C1 monosacharidového zbytku. Vznik a konečná konformace glykosidů závisí mimo jiné na konformaci, sterickém bránění a elektronovém zastoupení u obou reakčních partnerů.² Uplatňuje se zde anomerní efekt, na jehož základě je možné rozeznat dva stereoisomery, α -anomer (1,2-*cis*) a β -anomer (1,2-*trans*). Vzájemně se liší konfigurací hemiacetalové (anomerní) hydroxylové skupiny, která je u α -anomeru orientována pod rovinu kruhu monosacharidu, zatímco u β -anomeru nad ni, jak je ukázáno na Obrázku 1.^{9,10}

* *Syntéza arylglykosidů z glykosylhalogenidů v roce 1879.*

** *Syntéza alkylglykosidů z hemiacetalů za přítomnosti HCl v roce 1893.*

*** *První kontrolovaná glykosylační metoda zahrnující aktivaci glykosylhalogenidů těžkými kovy a nukleofilní výměnu atomu chloru nebo bromu na anomerním centru v roce 1901.*



Obrázek 1: Obecné znázornění stereoisomerie glykosidů.

1.1 Glykosylové donory

Při glykosylacích dochází k přenosu sacharidového zbytku z glykosylového donoru (elektrofil) na odpovídající vazebné místo glykosylového akceptoru (nukleofil).^{6,9} Jako glykosylové donory slouží základní monosacharidy, ribosa, glukosa, manna aj. Protože však jsou sacharidy obecně polyhydroxylovými sloučeninami^{11,12} a hydroxylové skupiny nemusí být za zvolených glykosylačních podmínek stále a mohou podléhat nežádoucím transformacím, je nutné jednotlivé skupiny dočasně ochránit tak, aby byly za daných podmínek stabilní a nereaktivní.

Jeden ze způsobů, jak funkční skupiny chránit, spočívá v aplikaci chránících skupin, kterými jsou příslušné funkční skupiny dočasně zablokovány.¹³ Jen vzácně bývají používány i nechráněné nebo částečně chráněné glykosylové donory.⁸

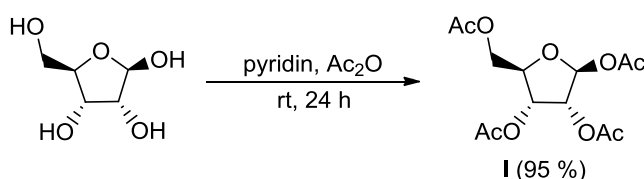
V chemii cukrů má však tento postup ještě kromě výše uvedeného i jiný význam. Chránící skupiny se mohou přímo nebo nepřímo účastnit reakce samotné a významně působit na její stereochemický průběh. Chemická syntéza glykosidů obvykle zahrnuje kroky, během nichž je monosacharid přeměněn do podoby plně chráněného glykosylového donoru s vhodnou odstupující skupinou na anomerním centru. Proto je důležité výběr vhodných glykosylových donorů nepodceňovat.^{6,12}

1.1.1 Příprava glykosylových donorů aplikací chránících skupin

Alkoholy ochotně reagují s deriváty karboxylových kyselin, jako jsou anhydridy či chloridy, a za vhodných podmínek poskytují odpovídající estery, které jsou, pro jejich nenukleofilní charakter a vysokou stabilitu za různých reakčních podmínek, jedněmi z nejpoužívanějších chránících skupin.¹⁴

Pravděpodobně nejvyhledávanějším procesem pro ochránění monosacharidů je acetylace, která například anhydridem kyseliny octové v pyridinu probíhá za laboratorní teploty s většinovým výtěžkem β -produktu (Schéma 1). Přestože nekatalyzovaná acetylace volných hydroxylových skupin probíhá za těchto podmínek velmi pomalu, nedochází při ní v takovém měřítku ke změně absolutní konfigurace na anomerním centru, jako např. při katalýze Lewisovou kyselinou.¹⁵

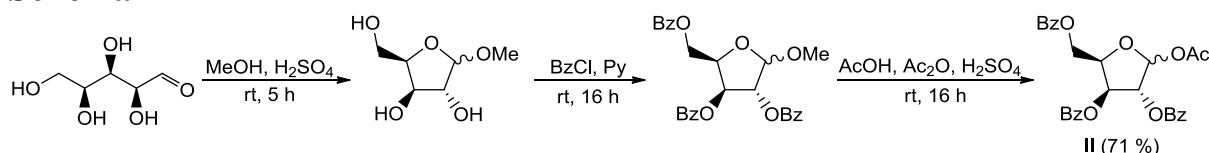
Schéma 1



I když je acetylová skupina při glykosylacích častokrát volena jako dobře odstupující z anomerního centra, faktem zůstává, že acetylovaný produkt není detekovatelný pomocí UV záření, což je nevýhodné zejména při sledování průběhu reakce tenkovrstvou chromatografií (TLC). Vhodnou alternativou k acetylovým chránicím skupinám je zavedení skupin benzoylových, čímž se problém s monitorováním průběhu reakcí vcelku elegantně vyřeší.

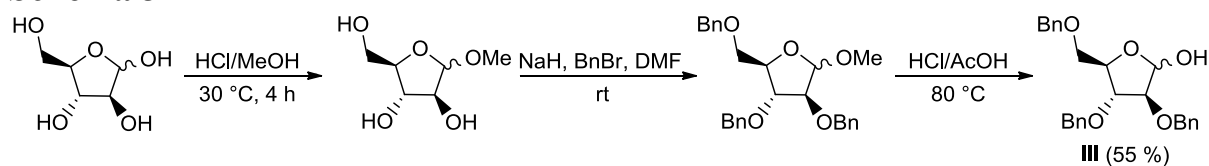
Často je proto organickými chemiky vyhledávanější třístupňová syntéza, uvedená na Schématu 2, kde v prvním kroku dochází k cyklizaci výchozího sacharidu a současně k nahrazení hydroxylové skupiny na atomu uhlíku C1 za methoxylovou skupinu působením kyseliny sírové v methanolu. Zbývající volné hydroxylové skupiny jsou ponechány reagovat s benzoylchloridem (BzCl) v prostředí pyridinu. V posledním kroku je methoxylová skupina nahrazena skupinou acetylovou.¹⁶

Schéma 2



Vhodně využít lze také benzyletherové skupiny, a to zejména během glykosylací bez účasti sousedících skupin. Příklad jejich přípravy znázorňuje Schéma 3. Částečně chráněnou arabinofuranosu **III** je možné získat několikastupňovou syntézou, během níž je opět nejprve připraven methoxylový derivát původního monosacharidu, následně dochází k reakci hydroxylových skupin s benzylbromidem (BnBr) v přítomnosti hydridu sodného a nakonec je provedena kyselá hydrolyza methoxylové skupiny na atomu uhlíku C1 zpět na skupinu hydroxylovou.¹⁷

Schéma 3



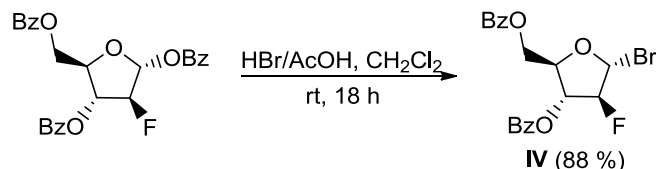
1.1.2 Další glykosylové donory

I když na výběru chránicích skupin samozřejmě záleží, mnohem důležitější je povaha odstupující skupiny na anomerním atomu uhlíku. Do této polohy bývají úmyslně zaváděny takové atomy či funkční skupiny, které odpovídají předem promyšleným podmínkám dané glykosylace.

Historicky nejdéle používanými glykosylovými donory jsou glykosylhalogenidy, zejména pak glykosylbromidy a glykosylchloridy.⁹ Od počátku 20. století byla pro jejich syntézu publikována řada postupů a ani v současnosti se od jejich využití neupouští.

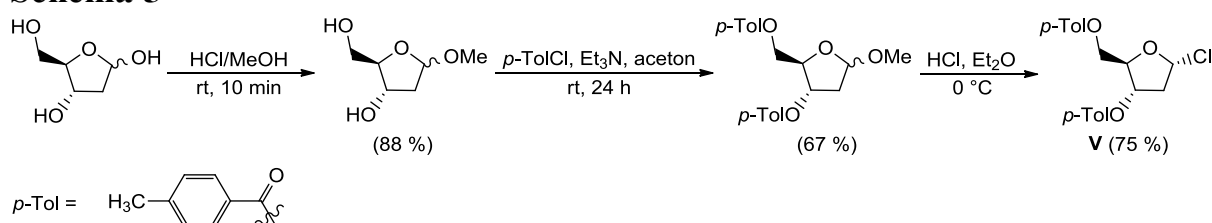
Schéma 4 znázorňuje jednu z metod jejich přípravy, a to bromaci působením 33% roztoku kyseliny bromovodíkové v kyselině octové na benzoylovou skupinu na anomerním atomu uhlíku 2-deoxy-2- β -fluor-1,3,5-tri-*O*-benzoyl-1- α -D-arabino-furanosy, poskytující požadovaný produkt **IV** ve výtěžku 88 %.¹⁸

Schéma 4

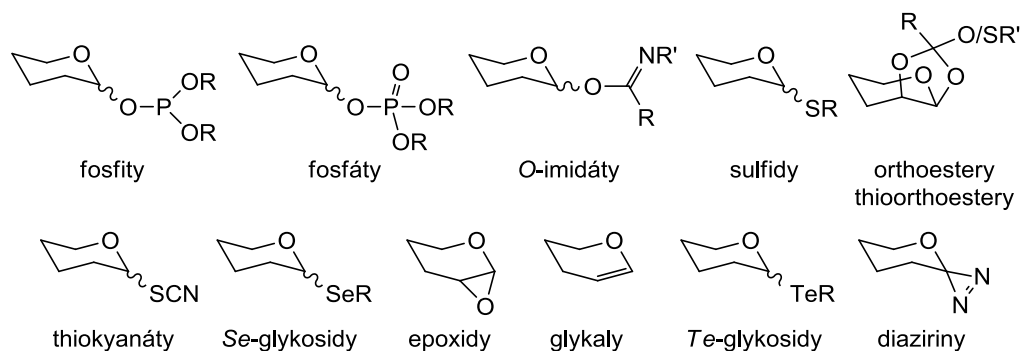


Pro syntézu „2-deoxyribonukleosidů“ se v posledních letech hojně používá 1-chlor-3,5-di-*O*-(*p*-toluoyl)-2-deoxy- α -D-ribofuranosa (**V**), na jejíž hydroxylové skupiny jsou zavedeny *p*-toluoylové zbytky a methoxylová skupina na anomerním atomu uhlíku je substituována atomem chloru (Schéma 5).¹⁹

Schéma 5



Přibližně od druhé poloviny 20. století se v publikacích postupně objevovala celá řada dalších glykosylových donorů (Obrázek 2) a s každou nově vyvinutou glykosylační metodou jich neustále přibývá.^{9,14}



Obrázek 2: Vybrané glykosylové donory používané od 2. pol. 20. století.^{9,20}

1.2 Mechanismus glykosylace

Protože detailní mechanismus glykosylací nebyl dlouho objasněn, sloužil model znázorněný na Schématu 6 jako obecné paradigma.⁹ V průběhu několika posledních let byl tento „návrh“ glykosylačních pochodů, jimiž se vznik glykosidů může ubírat, opakovaně experimentálně testován a ověřován.^{1-3,21-23}

Obecně by se dalo říci, že glykosylace nejčastěji probíhá mechanismem S_N1 zahrnující nukleofilní přesun na anomerním centru donoru.^{9,14}

Vzhledem k tomu, že mnoho používaných glykosylových donorů je příliš stabilních na to, aby se reakce spontánně účastnilo, prvním krokem prakticky každé glykosylační reakce bývá aktivace odstupující skupiny, která se obvykle provádí interakcí s aktivátorem (či promotorem), méně často s katalyzátorem.⁸

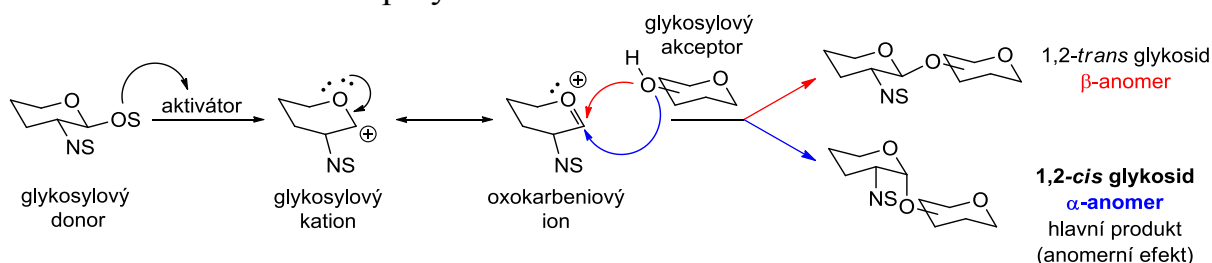
Pokud aktivátor zajišťuje oddělení anomerní odstupující skupiny z glykosylového donoru nesoucího neúčastnící se skupinu (Schéma 6a), vzniká glykosylový kation, kdy jediná možnost, jak jej intramolekulárně stabilizovat, je vytvoření oxokarbeniového iontu. Nejběžněji používané neúčastnící se skupiny jsou benzylové (Bn) pro neutrální cukry a azidové (N_3) pro 2-amino-2-deoxycukry.

Jelikož anomerní atom uhlíku v oxokarbeniovém iontu je v hybridizaci sp^2 , může nukleofilní atak nastat téměř se stejnou pravděpodobností ze „spodní“ (α -) i z „horní“ (β -) strany kruhu. Přestože je α -anomer díky anomernímu efektu termodynamicky výhodnější, často vzniká, v důsledku ireversibilního charakteru glykosylace komplexu aglykonů, podstatné množství kinetického β -produktu.

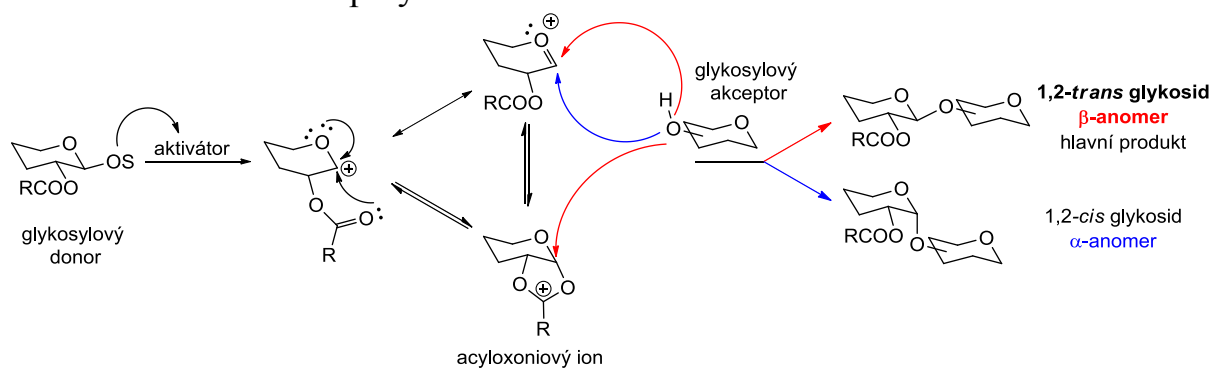
β -Glykosidová vazba však může být vytvořena také stereoselektivně, a to za aktivní spoluúčasti sousedících karbonylových skupin na atomu uhlíku C2 (Schéma 6b). Všeobecně jde například o substituenty jako *O*-acetylové (Ac), *O*-benzoylové (Bz), 2-ftalimidové (NPhth) a další. Takové glykosylace probíhají primárně přes bicyklický intermediát, acyloxoniumový ion, jenž je opět výsledkem intramolekulární stabilizace glykosylového kationtu. V tomto případě je přiblížení nukleofilu (alkoholu či aglykonu) možné jen z „horní“ strany kruhu.^{8,9,11}

Schéma 6

a) za neúčasti sousedící skupiny



b) za účasti sousedící skupiny



OS = odstupující skupina

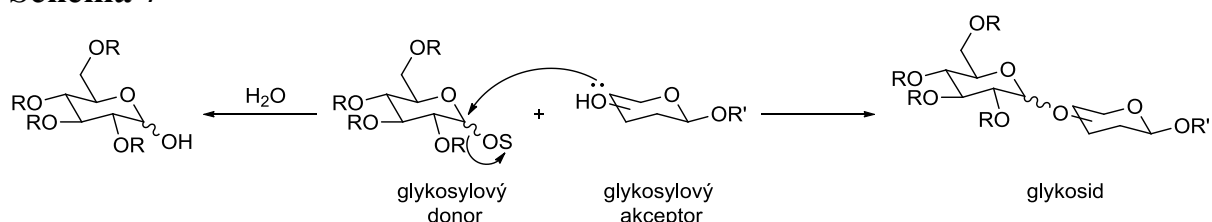
Byť je tento proces konceptuálně vcelku jednoduchý, faktem zůstává, že skoro po celých sto let od dob, kdy Königs a Knorr publikovali první glykosylaci, byly tyto reakce pro chemiky frustrujícím zážitkem.¹⁴

Prvním z řady problémů komplikujících tuto syntézu, kvůli nimž bývá vynakládáno značné úsilí na optimalizaci reakčních podmínek, je nesnadné dosažení kompletní stereokontroly.⁸ Na konečný poměr obou produktů lze působit různými faktory, mezi které patří zejména typ reaktantů, jejich koncentrace, způsob dávkování, chránicí skupiny, konformace a druh odstupující skupiny, výběr rozpouštědla a promotoru, sterické bránění, teplota a tlak.^{1,2,9,11}

Co se týče β-furanosidů, jejich syntéza je relativně přímočará a mohou být spolehlivě připraveny, podobně jako u pyranosových donorů, za účasti chránicích skupin na atomu uhlíku C2. Naproti tomu příprava α-glykofuranosidové vazby je obtížnější. Stereokontrola zde nemůže být posílena vlivem anomerního efektu právě díky konformační flexibilitě pětičlenného kruhu. Jak stereoelektronový, tak sterický efekt totiž upřednostňují právě tvorbu β-anomerů.⁹

Dalším důležitým faktorem je, že většina glykosylací musí být prováděna za absolutně bezvodých podmínek, protože i přítomnost jen nepatrného množství vody, která zde vystupuje jako kompetitivní nukleofil, může vést k rychlé hydrolyze donoru (Schéma 7). Jednou z možností, jak řešit tuto komplikaci, je přidání molekulového síta přímo do reakční směsi, aby byla vlhkost pohlcována kontinuálně během reakce.¹⁴

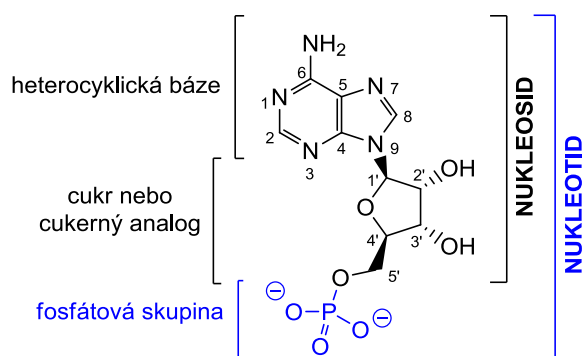
Schéma 7



I tak se ale stává, že ani optimalizované podmínky nejsou zcela ideální. Samotnou reakci mohou doprovázet další rozmanité pochody, jako např. tvorba orthoesterů, eliminace, cyklizační reakce, nechtěné intramolekulární transfery acylů a aglykonů, či přesmyky glykosylových donorů, které vedou k nejruznějším nežádoucím produktům.^{1,7} Glykosylace tak velmi často končí složitou a zdlouhavou purifikací a tím pádem i nízkými výtěžky.²⁴

1.3 Glykosylace v syntéze nukleosidů

Nejvýznamnějšími dusíkatými glykosidy jsou tzv. nukleové báze, z nichž se skládá páteř nukleových kyselin. Typický základ aglykonové složky nukleosidů a nukleotidů tvoří pyrimidin nebo purin, na který je *N*-glykosidovou vazbou napojena cukerná část, běžně zastoupena D-ribosou nebo 2-deoxy-D-ribosou (Obrázek 3).^{25,26} Je ovšem možné setkat se i s jiným monosacharidem, jako β-D-arabinosou či 3-deoxy-β-D-ribosou.²⁷



Obrázek 3: Struktura adenosinu (nukleosid) a adenosinmonofosfátu (nukleotid).²⁶

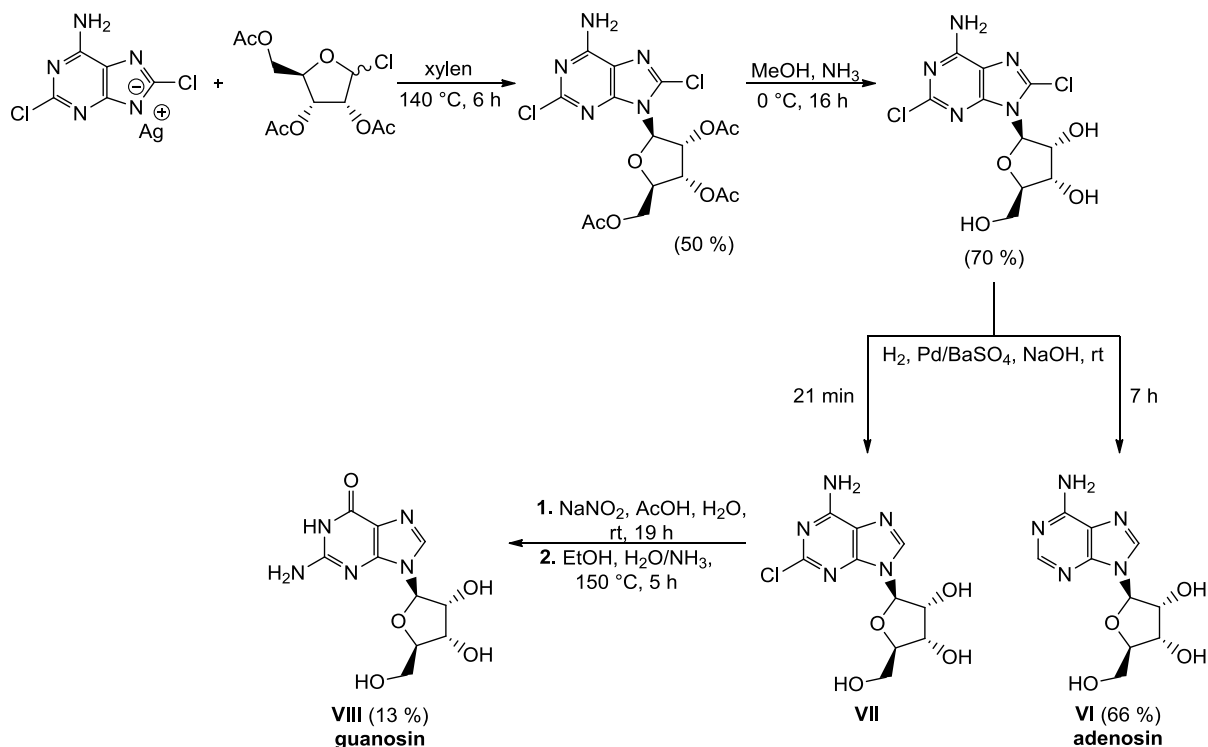
Skutečnost, že se nukleosidy skládají z těchto vcelku snadno definovatelných složek, jejich syntézu do jisté míry zjednodušuje. Všeobecná strategie zahrnuje tři základní stupně. Prvním je předpříprava jednotlivých komponentů ve vhodně ochráněné podobě, na což navazuje jejich vzájemné spárování s dosažením požadované stereochemie. Neodmyslitelnou součástí každé chemické syntézy nukleosidů je pak deprotektce, neboli odstranění chránících skupin.²⁸ Tyto „základní kroky“ bývají doplněny o další reakce a přeměny ve snaze o přípravu nových sloučenin s doposud nepopsanou strukturou.

Vůbec první chemické syntézy nejrozšířenějších purinových nukleosidů adenosinu (VI) a guanosinu (VIII) byly publikovány Davollem, Lythgoem a Toddem v roce 1948 (Schéma 8). Po vzoru Fischera a Helfericha* vycházeli ze stříbrné soli 2,8-dichloradeninu, kterou nechali reagovat ve vroucím xylenu s acetylovaným cukerným chlorderivátem. Na glykosylaci navazuje deprotektce a dehalogenace

* Studie Fischera a Helfericha o glykosylacích stříbrných solí purinových derivátů tetraacetylglukosylbromidy z roku 1914.³³

palladiem na síranu barnatém. Zatímco pro získání adenosinu byly odstraněny oba atomy chloru, pro syntézu guanosinu bylo využito faktu, že atom chloru v poloze 8 purinového kruhu lze odstranit mnohem snáze a lze tedy ve vhodnou dobu izolovat ze směsi samotný 2-chlorderivát. Poté byla na získaném meziproduktu **VII** prostřednictvím diazotace vyměněna aminoskupina na atomu uhlíku C6 za hydroxylovou skupinu a působením ethanolickeho amoniaku byl nakonec nahrazen i atom chloru v poloze 2 purinového skeletu aminoskupinou za vzniku finálního produktu **VIII**.^{29,30}

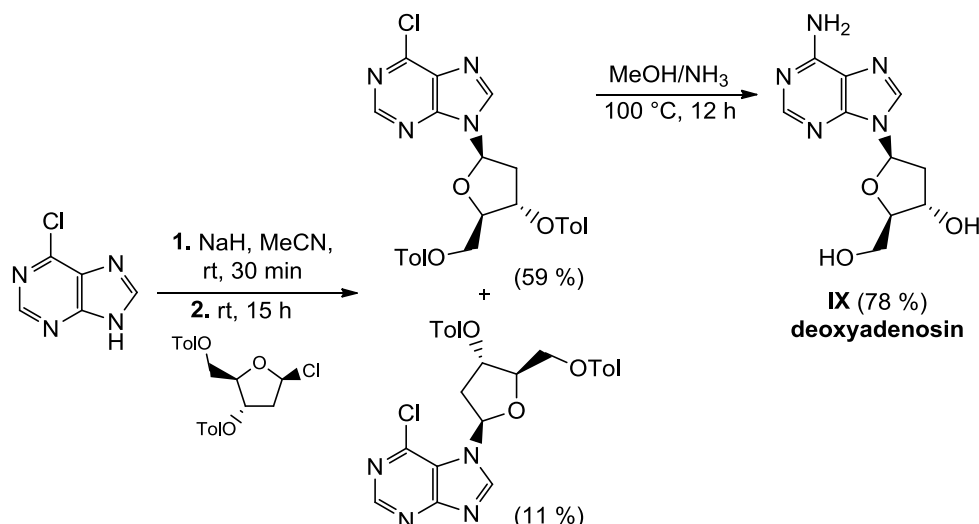
Schéma 8



Účinků kovových solí heterocyklických derivátů, a to jak již zmíněných stříbrných (např. z AgNO₃, Ag₂CO₃, Ag₂O),^{9,20,25,32} přes reaktivnější soli rtuťnaté (tj. HgSO₄, HgCl₂),^{21,25} až po nejlevnější a nejméně toxické soli sodné, bylo využíváno již od počátku historie glykosylačních reakcí.³¹

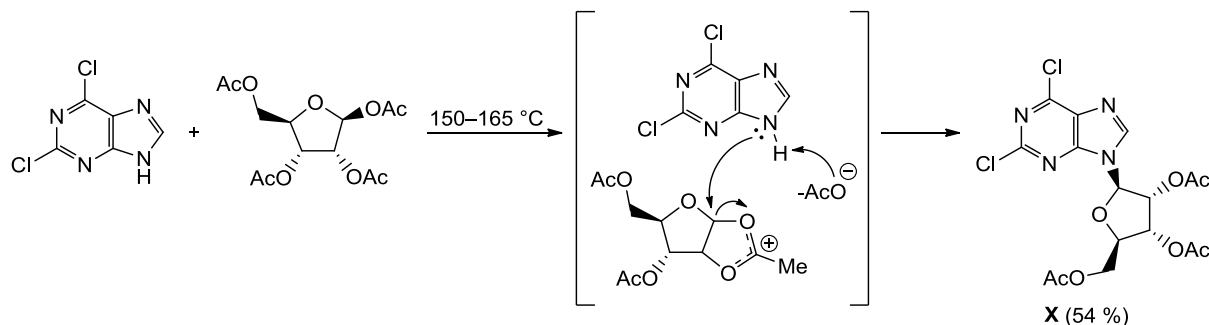
Na Schématu 9 je znázorněna syntéza deoxyadenosinu (**IX**), během níž je účinkem hydridu sodného *in situ* vytvořena sodná sůl 6-chlor-9H-purinu, která reaguje s 1-chlor-3,5-di-*O*-(*p*-toluoyl)-2-deoxy-β-D-ribofuranosou. Glykosylace je doprovázena vznikem obou isomerů, tedy N7 i N9, v přibližném poměru 1:6.³⁴

Schéma 9



Další z raných glykosylačních metod používaných v syntézách nukleosidů je reakce spočívající v zahřívání heterocyklické báze s peracetylovaným cukrem při teplotě kolem 150–165 °C (Schéma 10). Za účasti skupiny sousedící s anomerním centrem a při současném uvolňování kyseliny octové vzniká požadovaný produkt **X** zpravidla ve výtěžku převyšujícím 50%.^{35,36}

Schéma 10

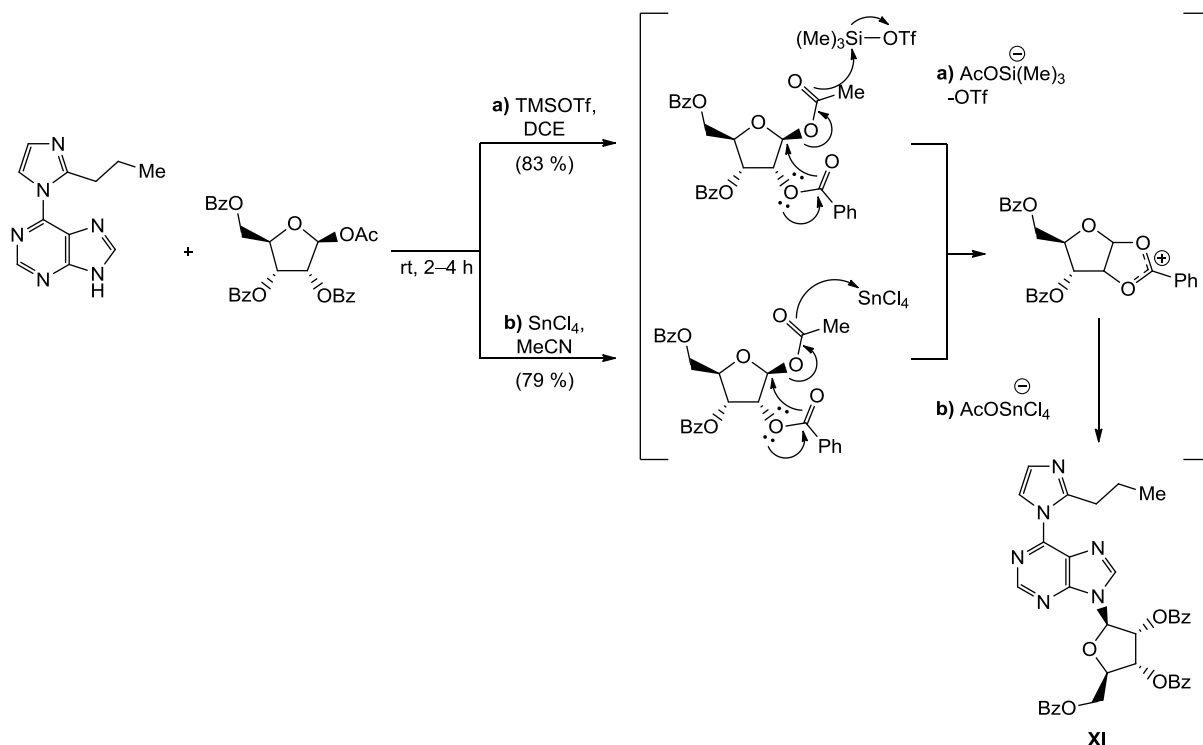


V současné době jsou nejpoužívanějšími aktivátory glykosylačních reakcí Lewisovy kyseliny, jako je chlorid cíničitý, titaničitý, zinečnatý nebo hlinitý, trimethylsilylchlorid (TMSCl), trimethylsilyltrifluormethansulfonát (TMSOTf, rovněž trimethylsilyltriflát), či etherát fluoridu boritého ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$).^{37–40} Tyto modifikované Hilbertovy–Johnsonovy reakce* jsou relativně rychlé (cca 2–4 h), probíhají za mírných podmínek (laboratorní teplota) a majoritním produktem je preferovanější β -nukleosid, jehož izolace obnáší jen několik nepříliš složitých operací.³⁷

Příklad Hilbertovy–Johnsonovy glykosylace je rozkreslen na Schématu 11, jehož součástí je i naznačený mechanismus aktivace cukerného donoru za účasti sousedící skupiny působením TMSOTf a vzniku acyloxoniového kationtu. Obdobným mechanismem probíhá i aktivace chloridem cíničitým.⁴¹

* Reakce 2,4-dialkoxypyrimidinů s halogenovanými cukry publikované v roce 1929.³²

Schéma 11

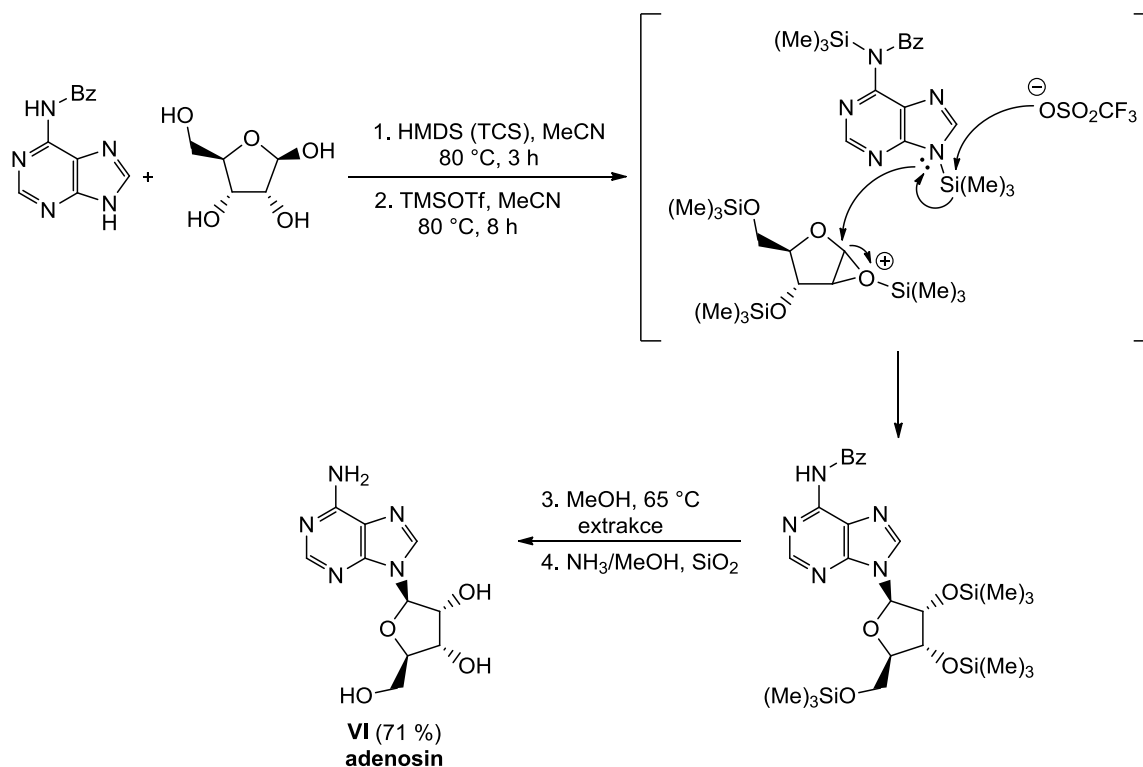


Dalo by se říci, že novější verzí Hilbertovy–Johnsonovy metody je tzv. Vorbrüggenova glykosylace. Typická Vorbrüggenova reakce vyžaduje předem silylovanou heterocyklickou bázi* (1. krok), která následně reaguje s glykosylovým donorem aktivovaným katalytickým množstvím Lewisovy kyseliny (2. krok).^{42,43}

Bennua, Krolikiewicz a Vorbrüggen publikovali v roce 1995 studii zabývající se persilylací D-ribosy a výchozího chráněného adeninu současně pomocí hexamethyldisilazanu (HMDS) s trimethylchlorsilanem (TCS).⁴⁴ TMSOTf byl přidán až v dalším kroku po odpaření přebytečného činidla a po závěrečné deprotekcii byl získán adenosin v celkovém výtěžku 71 % (Schéma 12).

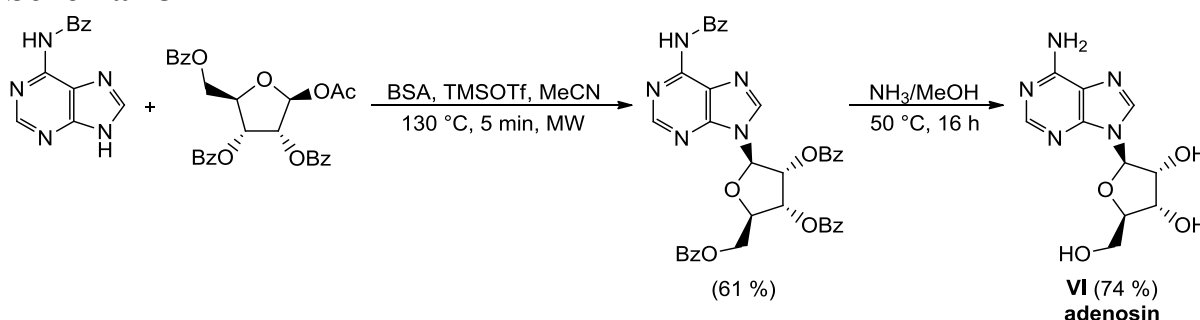
* Nejběžněji používaná silylační činidla v organické syntéze seřazená dle relativní silylační síly donoru: *N,O*-bis(trimethylsilyl)acetamid (BSA) > *N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid (BSTFA) > hexamethyldisilazan (HMDS).⁴⁵

Schéma 12



Na Schématu 13 je znázorněna reprodukce přípravy adenosinu dle postupu Vorbrüggena a spol.,^{40,46} který už před 25 lety dokázal, že lze oba kroky, silylaci a glykosylaci, sloučit v jeden, všechny reaktanty zahřívát společně a požadovaný produkt pak získat ve výtěžku až 81 %. Bookser a Rafaelle tyto poznatky využili a reakci uskutečnili v podobě mikrovlnami asistované syntézy. Předem ochráněný adenin a acetylbenzoylovaná ribosa byly společně se silylačním činidlem BSA a aktivátorem TMSOTf zahřívány na 130 °C po dobu 5 minut v mikrovlném reaktoru. Po odstranění chránících skupin činil výtěžek 74 %.⁴²

Schéma 13

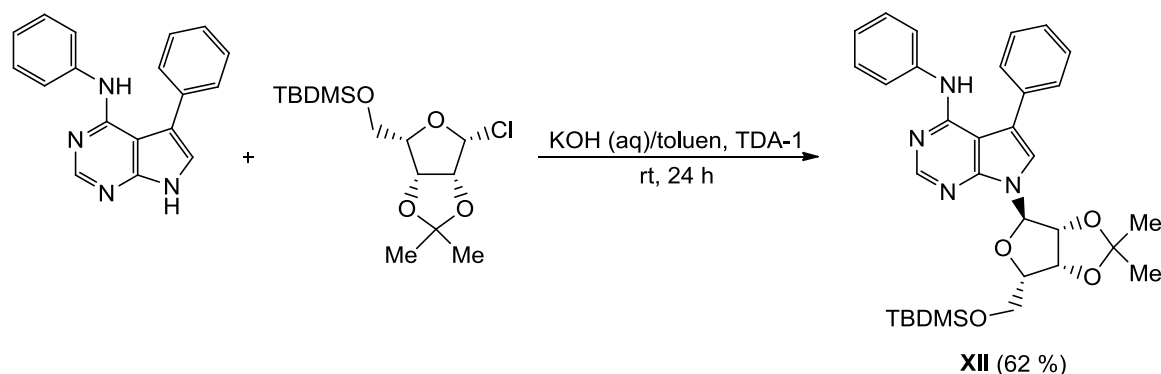


Všechny dosud diskutované metody mají již své modifikace, které jsou neustále vylepšovány a rozšiřovány, případně aplikovány na jiné typy sloučenin.

V publikaci z roku 2000 se Ugarkar a jeho výzkumná skupina například zabývali přípravou L-lyxofuranosylových nukleosidů.⁴⁷ Na Schématu 14 je uvedena reakce pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinového derivátu s chráněným L-lyxofuranosyl-chloridem

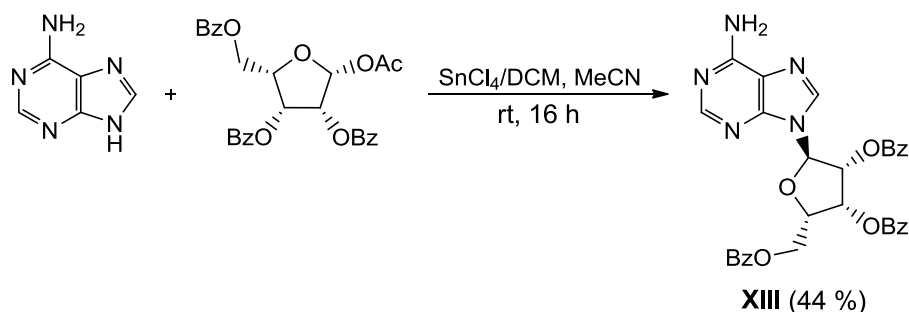
v přítomnosti tris-[2-(2-methoxyethoxy)ethyl]aminu (TDA-1), jakožto katalyzátoru fázového přenosu.

Schéma 14



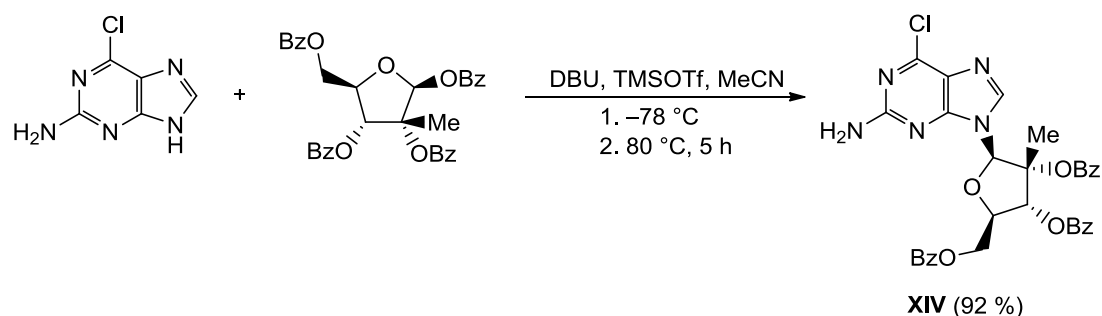
O tři roky později zveřejnila tatáž skupina práci popisující glykosylaci adeninu 1-*O*-acetyl-2,3,5-*O*-benzoyl- α -L-lyxofuranosou, tentokrát však za použití 1M chloridu cíničitého v dichlormethanu (Schéma 15).⁴⁸

Schéma 15



Ne zcela standardním příkladem může být i kondenzace 2-amino-6-chlor-9*H*-purinu s 2-*C*-methyl-1,2,3,5-tetra-*O*-benzoyl-D-ribofuranosou (Schéma 16) provedená při 80 °C v přítomnosti nenukleofilní báze 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-enu (DBU).⁴⁹ Autoři poznamenali, že záměrná modifikace standardních Vorbrüggenových podmínek zahrnující i teplotu reakčního roztoku při přidavku TMSOTf, a to -78 °C, je příčinou vyššího výtěžku, než jakého dosáhli před sedmi lety v publikaci, kde pracovali při teplotě 0 °C.⁵⁰

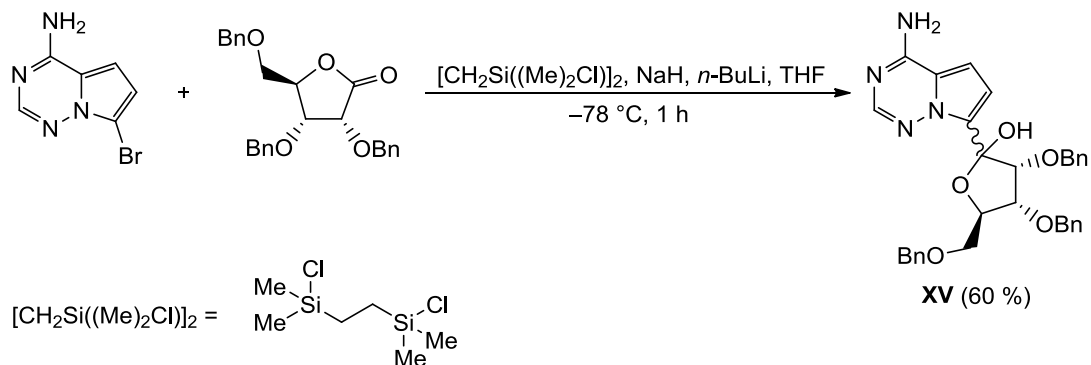
Schéma 16



V České republice se glykosylacemi a přípravou nukleosidových derivátů již řadu let zabývá výzkumná skupina profesora Hocka na Akademii věd ČR v Praze a v jejich pracích lze najít většinu zde zmíněných glykosylačních postupů. Například pro přípravu 7-(het)aryl-7-deazaadenosinů s modifikovanou cukernou složkou použili právě katalyzátory DBU i TDA-1.⁵¹

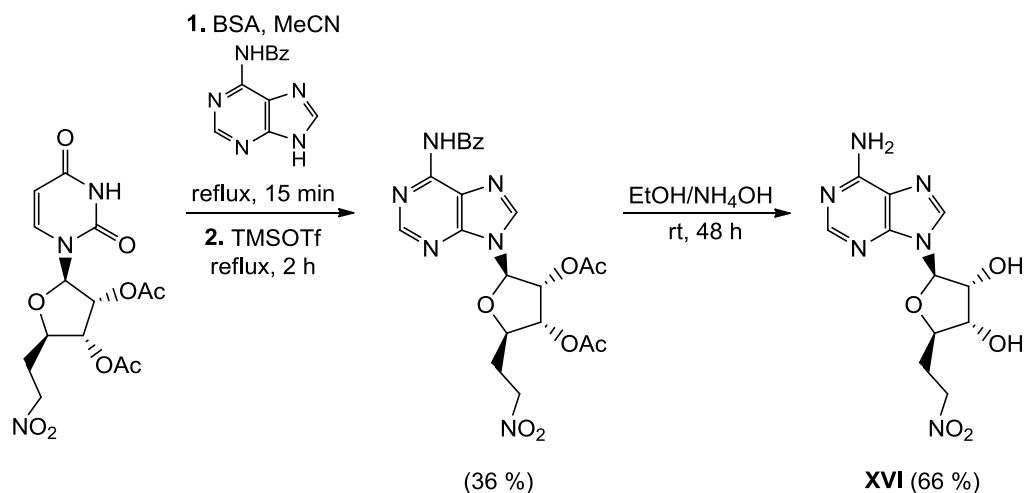
V neposlední řadě stojí za uvedení i trochu odlišný typ glykosylační reakce, jakým je například atak laktonového cukerného derivátu na heterocyklický kation vzniklý po odstoupení bromidového aniontu (Schéma 17).⁵²

Schéma 17



Protože je formace nukleosidu v přítomnosti Lewisových kyselin do jisté míry reversibilním procesem, je možné heterocyklickou bázi v daném nukleosidu vyměnit za jinou tzv. transglykosylací. Chemické transglykosylace bylo využito již v roce 1984 při přípravě sinefunginových analogů, které by mohly sloužit jako užitečné intermediáty kompletní syntézy sinefunginu.⁵³ Schéma 18 znázorňuje nahrazení uracilové báze za adeninovou pomocí silylace a katalýzy TMSOTf. Následným odstraněním acetylových chránících skupin vznikl derivát sinefunginu **XVI** ve výtěžku 66 %.

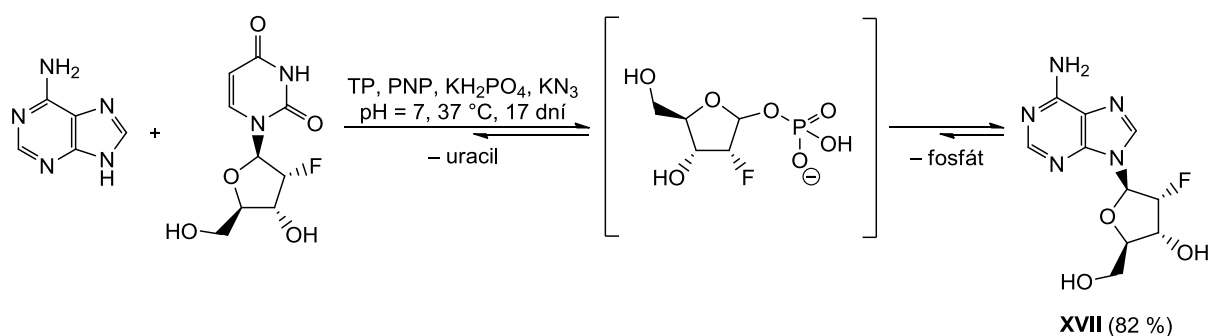
Schéma 18



* Antifungální antibiotikum izolované z aktinobakterie *Streptomyces griseolus*.

Jako velmi efektivní metoda pro syntézu některých analogů přírodních purinových nukleosidů se osvědčila i enzymatická transglykosylace,⁵⁴ jejíž příklad je zobrazen na Schématu 19. Reakce spočívá v přenosu furanosového kruhu z pyrimidinového nukleosidu na purinovou bázi za působení bakteriální purinové nukleosidfosforylasy (PNP). Odštěpení cukerné části z pyrimidinu předem zajišťuje buďto uridinofosforylase (UP) nebo thymidinofosforylase (TP), jejichž volba závisí na pentosovém donoru. Jelikož v případě uvedeném na Schématu 19 autoři zjistili neaktivitu UP vůči původnímu pyrimidinovému nukleosidu, byla pro přenos pentosylu použita TP.^{55,56}

Schéma 19



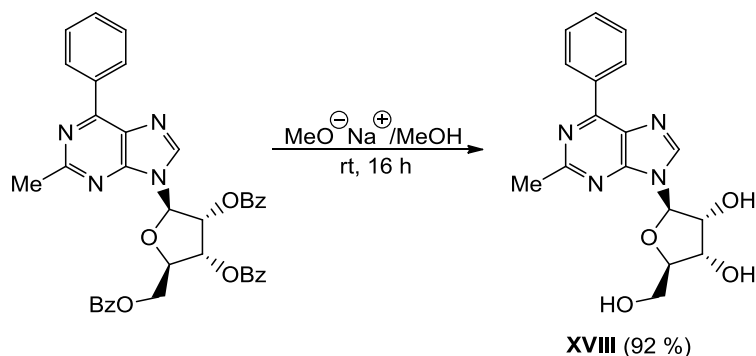
Trendem posledního desetiletí v enzymatické syntéze nukleosidů je využití jako substrátu samotného α -D-pentafuranos-1-fosfátu, který lze připravit jak enzymatickou, tak chemickou cestou.⁵⁶

1.4 Odstranění chránících skupin – deprotektce

Chráníci skupinami dočasně „zablokované“ hydroxylové skupiny na cukerné jednotce glykosidu lze snadno obnovit krokem zvaným deprotektce, neboli odchránění. Při přípravě nukleosidů bývá tento krok zařazován buďto bezprostředně po navázání cukru na heterocyklickou bázi, nebo až na konec celé syntetické cesty.

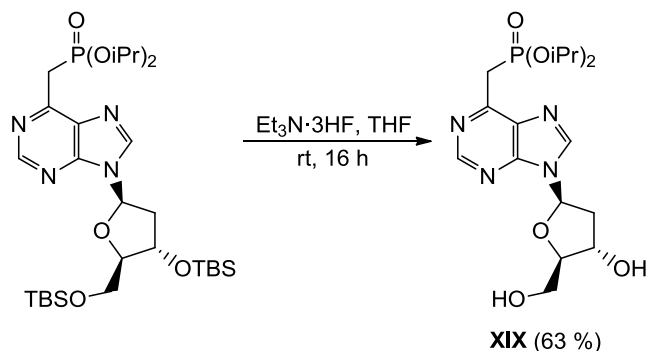
Do jisté míry jsou deprotektční podmínky pro rozmanité typy chránících skupin univerzální a z těch nejčastěji používaných lze uvést methanol nasycený amoniakem (viz Schéma 8, 9, 12 a 13), či roztok methoxidu sodného v methanolu (Schéma 20).⁵⁷

Schéma 20



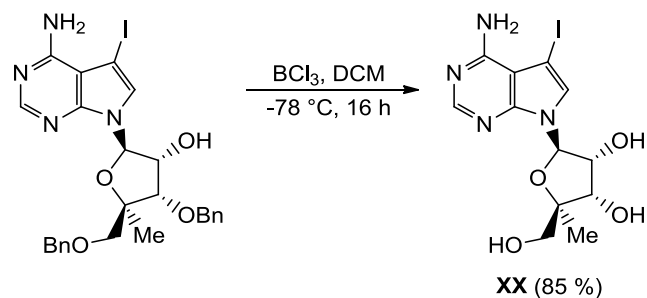
Méně obvyklá, přesto v praxi rovněž vyhledávaná, je deproteckce znázorněná na Schématu 21. Pomocí malého přebytku triethylamin-trihydrofluoridu ($\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{HF}$) v tetrahydrofuranu (THF) byly uvolněny hydroxylové skupiny za vzniku nukleosidu **XIX** odstoupením *tert*-butyldimethylsilylových skupin.⁵⁸

Schéma 21



V neposlední řadě může jako dobrý příklad posloužit i odchránění částečně benzylovaného nukleosidu pomocí přebytku chloridu boritého v dichlormethanu při $-78\text{ }^\circ\text{C}$, jako tomu bylo při syntéze derivátu 7-dezaadenosinu (**XX**), který byl získán ve výtěžku 85 % (Schéma 22).⁵⁹

Schéma 22



2 NUKLEOFILNÍ SUBSTITUCE NA PURINOVÉM KRUHU

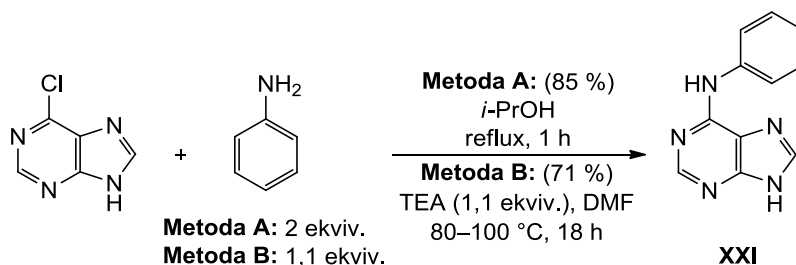
Purinové nukleosidy a jejich analogy se vyznačují enormní důležitostí především v oblasti medicíny, kde stabilně figurují jako zdroj antivirotické a protinádorové aktivity. Za tímto účelem je skupina těchto potenciálních chemoterapeutik neustále rozšiřována,²⁵ nejčastěji prostřednictvím nukleofilní výměny vhodné odstupující skupiny v poloze 2, 6 nebo 8 purinového skeletu.⁶⁰ Vzhledem k obsáhlosti řešeného tématu se bude text následujících kapitol soustředit pouze na syntézu 2,6-disubstituovaných derivátů adeninu či adenosinu.

2.1 Substituce do polohy C6 purinových derivátů a nukleosidů

Tradiční postup vedoucí k syntéze 6-aminosubstituovaných purinových analogů představuje nahrazení atomu halogenu (nejčastěji atomu chloru) či oxoskupiny odpovídajícími aminy. Kompletní aminace může být vcelku snadno dosaženo v organických rozpouštědlech, jako je butan-1-ol, acetonitril, 1,4-dioxan, *N,N*-dimethylformamid (DMF) nebo dimethylsulfoxid (DMSO), v přítomnosti terciárního aminu (např. triethylamin (TEA), *N,N*-diisopropylethylamin (DIPEA), *N,N*-dimethylcyklohexylamin) jako báze.^{61–66} V některých případech, jako je například zavedení arylové skupiny na aminoskupinu deoxyadenosinu, je zapotřebí i asistence katalyzátoru (CuI/K₃PO₄, InCl₃).^{64,67}

Na Schématu 23 jsou znázorněny dva příklady nukleofilní aromatické substituce atomu chloru komerčně dostupného 6-chlor-9*H*-purinu. Metodou A byl, reakcí výchozího purinu s anilinem v refluxujícím propan-2-olu bez účasti jakéhokoliv dalšího reaktantu, získán purinový derivát **XXI** ve výtěžku 85 %.⁶⁸ Naopak v případě Metody B byla substituce atomu chloru podpořena navíc přítomností triethylaminu.⁶⁹ Zásadní rozdíl mezi oběma postupy činí množství anilinu vstupujícího do reakce. Bez podpory báze je zapotřebí alespoň 2 ekvivalentů aminu na 1 ekvivalent výchozí látky, zatímco v druhém případě stačí pouze 1,1 molární přebytek anilinu na to, aby byl požadovaný produkt získán v uspokojivém výtěžku.

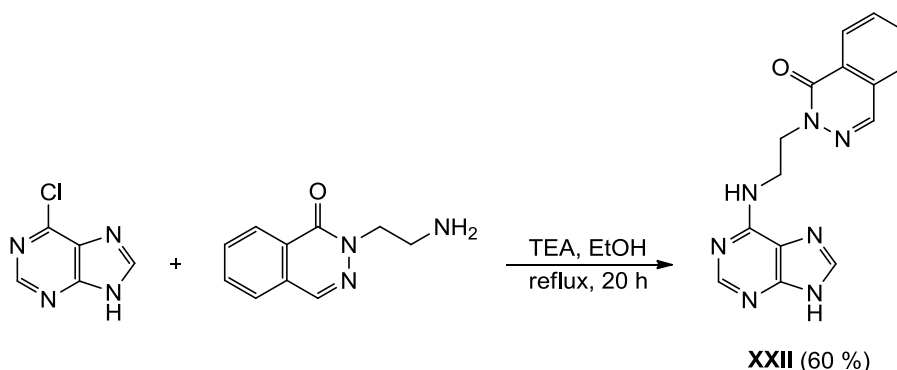
Schéma 23



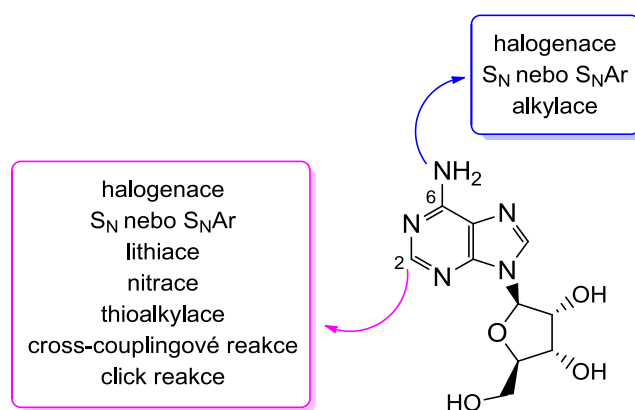
Vedle aromatických aminů je však možné na atom uhlíku C6 monosubstituovaného 9*H*-purinu obdobným způsobem navázat i primární či sekundární alifatické aminy, jako je tomu například ve studii Strappagheti a kol.⁷⁰

Substituce byly rovněž provedeny v přítomnosti TEA, ovšem v absolutním ethanolu. Jeden konkrétní příklad je uveden na Schématu 24.

Schéma 24



Dosud byla řeč pouze o neglykosylovaných purinových derivátech. Přestože je glykosylová vazba v purinových nukleosidech méně stabilní než u jejich pyrimidinových protějšků, lze i na jejich heterocyklické bázi provést celou řadu transformací,^{71,72} jako je například alkylace, halogenace, cross-couplingové reakce^{57,58,73} a samozřejmě i diskutované nukleofilní substituce (Obrázek 4).



Obrázek 4: Nejběžnější reakce prováděné na adenosinu.⁷²

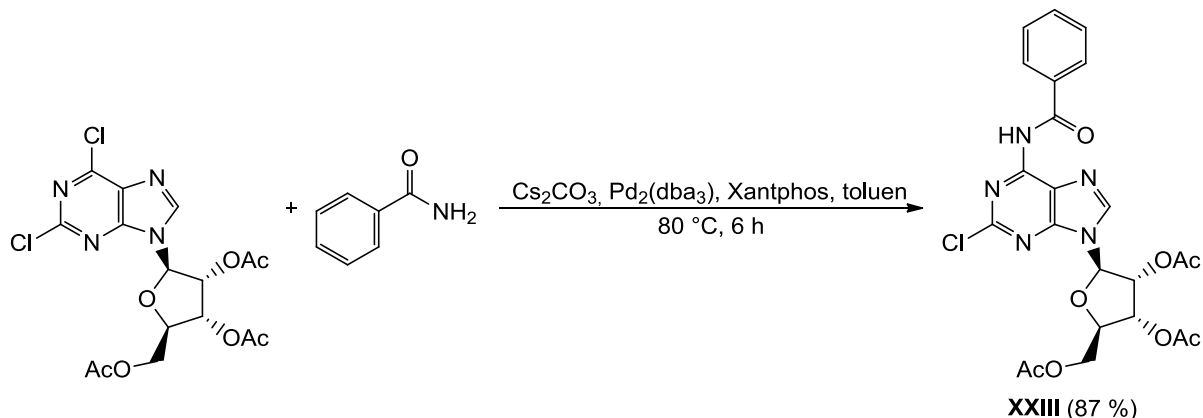
Předmětem práce Bosche a kol. bylo srovnání reaktivity 2,6-dihalogenpurinových nukleosidů v palladiem katalyzovaných reakcích s benzamidem za různých teplot. Pro tento účel se ukázali být palladium (v podobě Pd₂(dba₃)^{*}) a Xantphos^{**} velmi vhodnými partnery a po řadě reakcí bylo předpokládané pořadí reaktivity jednotlivých halogenů navázaných v polohách C2 a C6 purinového jádra zvolených halogenpurinových nukleosidů potvrzeno jako následující: C2—I > C2—Br > C6—Cl >> C2—Cl. Nukleosid **XXIII**, jehož syntéza je znázorněna na Schématu 25, vznikl jako jediný produkt během reakce 2,6-dichlor-9-(2',3',5'-tri-*O*-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-9*H*-purinu s benzamidem za katalýzy palladia, Xantphosu a uhličitanu

* tris(dibenzylidenaceton)dipalladium

** 4,5-bis(difenylofosfin)-9,9-dimethylxanthen

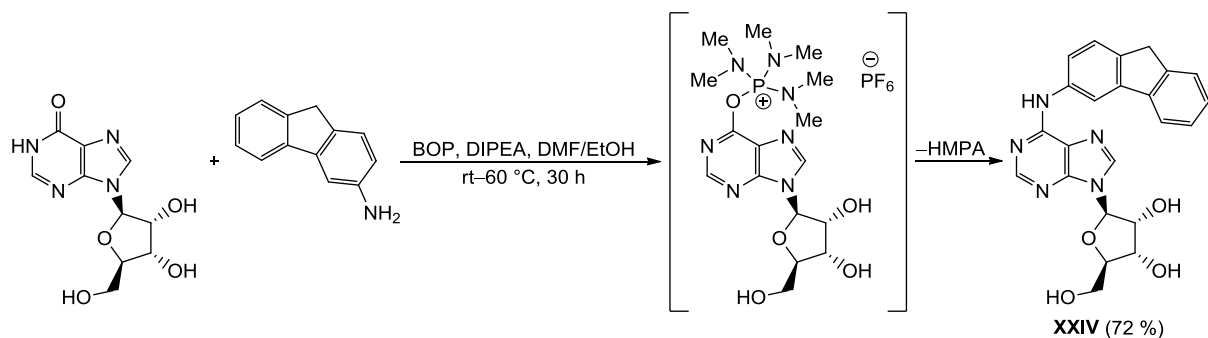
cesného v čistém toluenu. V případech, kdy se v poloze C2 vyskytoval atom jodu či bromu, docházelo za stejných podmínek a s podobnými výtěžky k navázání benzamidu přednostně právě do této polohy. Jen v 5–10% výtěžku byl získán také dibenzamidový derivát.⁷⁴

Schéma 25



Pokrokovou substituční metodu znázorňuje Schéma 26, kdy běžný protokol čtyřstupňové nukleosidové syntézy (protektce → glykosylace ↔ substituce → deprotektce) svým způsobem modifikoval Wan a jeho výzkumná skupina.⁷⁵ Oxoskupina na inosinu je aktivována pomocí BOP* a po eliminaci molekuly hexamethylfosforamidu (HMPA) následuje navázání příslušného aminu do uvolněné polohy C6 v přítomnosti DIPEA a směsi rozpouštědel (DMF/ethanol). Autoři vyzkoušeli obdobné podmínky pro široké spektrum primárních, alifatických i aromatických, aminů a ve všech případech dosáhli výtěžků vyšších než 50 %.

Schéma 26



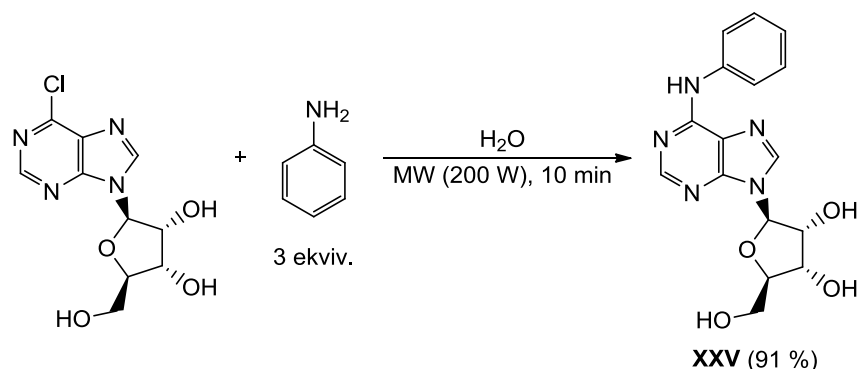
Z výše uvedených reakcí je patrné, že nukleofilní substituce prováděné konvenčním způsobem mnohdy vyžadují dlouhou reakční dobu (hodiny, někdy i dny). Vedle nich jsou však čím dál častěji publikovány i rychlejší syntézy asistované mikrovlnami.

Například studie zabývající se vývojem „ekologické“ metody právě pro přípravu 6-substituovaných aminopurinů využívá pro navázání anilinu do polohy C6

* 1-H-benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)fosfoniumhexafluorofosfát

u 6-chlor-9-(β -D-ribofuranosyl)-9*H*-purinu mikrovlnami asistovanou syntézou. Během 10 minut vznikl finální produkt **XXV** ve velmi dobrém výtěžku (Schéma 27).⁶⁹

Schéma 27



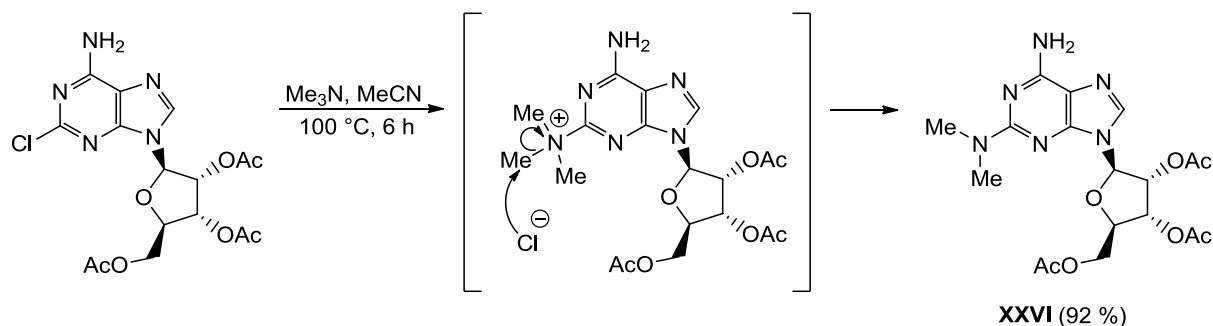
Na závěr této kapitoly je na místě zmínit i další snadno vyměnitelné skupiny používané při nukleofilních aromatických substitucích na atomu uhlíku C6 u purinových derivátů, a to zejména skupiny alkyloxy,⁷³ arylsulfanyl,⁶² nebo methylsulfanyl.⁷⁶

2.2 Substituce do polohy C2 purinových nukleosidů

Vzhledem ke svým významným biologickým účinkům se adenosin nejednou stává cílem nejrůznějších strukturních modifikací, zejména na atomu uhlíku C2 purinového kruhu. Protože je reaktivita vazby C6—Cl u 2,6-dichlorpurinů mnohem vyšší než u vazby C2—Cl, je výhodnější z nich nejprve připravit 2-chlorderiváty adeninu či adenosinu. Teprve při použití „drsnějších“ podmínek aminolýzy se získávají jejich 2,6-disubstituované aminoderiváty.⁷¹

Pro takovou konverzi atomu chloru v poloze 2 chráněného 2-chloradenosinu použili Robins a Uznaňski trimethylamin v acetonitrilu. Všechny reaktanty zahřívali v uzavřeném tlakovém reaktoru na 100 °C za vzniku očekávaného produktu **XXVI** (Schéma 28).⁷⁷

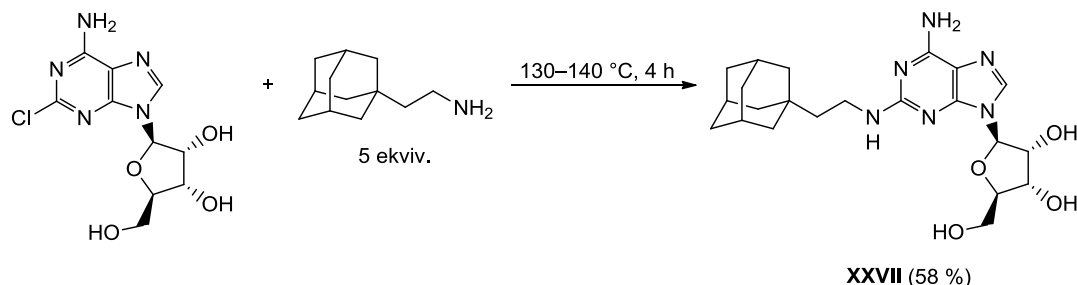
Schéma 28



Vyvinutím vhodné metody pro nukleofilní substituci do téže polohy 2-chloradenosinu se mimo jiné zabývali i Francis a kol.⁷⁸ Pro zavedení celé škály

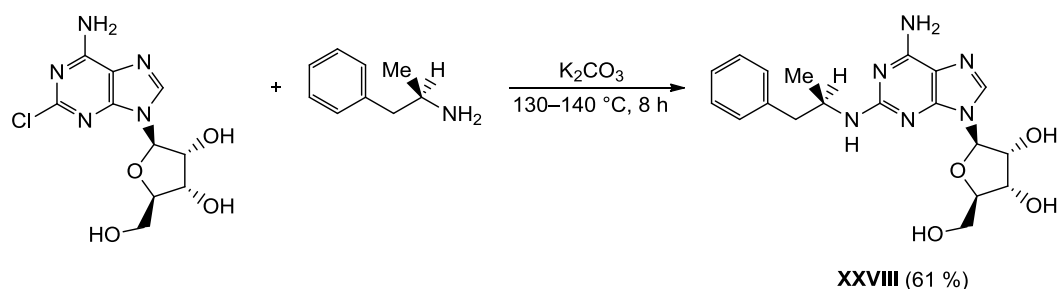
alifatických primárních i sekundárních aminů se jim osvědčilo vynechání rozpouštědla a výchozí nukleosid reagoval s pětinasobným přebytkem příslušného aminu při 130–140 °C. Na Schématu 29 je uveden konkrétní příklad, kdy reaktantem byl 2-(1-adamantyl)ethanamin.

Schéma 29



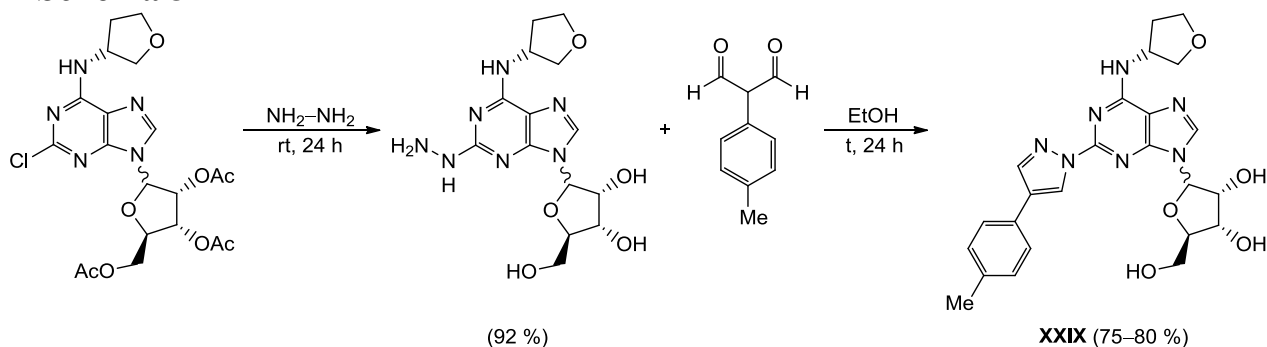
Obdobnou cestou postupovali také Borchering a kol. Sloučenina **XXVIII** byla připravena záměnou atomu chloru v 2-chloradenosinu za *R*-amfetamin za bazického působení uhličitanu draselného (Schéma 30).⁷⁹

Schéma 30



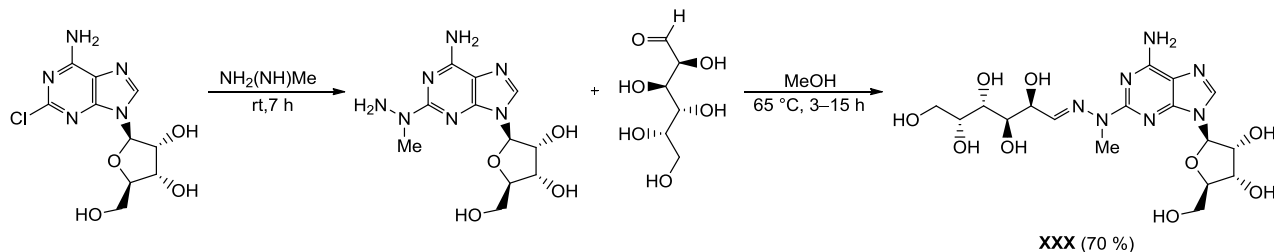
Dalším vyhledávaným způsobem je zavedení molekuly hydrazinu nebo některého z jeho derivátů namísto atomu chloru jako tzv. linkeru. Tato reakce trvá za laboratorní teploty přibližně 24 hodin a obvykle poskytuje uvažované produkty ve vysokých výtěžcích. Následnou transformací nebo prodloužením struktury hydrazinu je možné cíleně dospět například k látce **XXIX**, která vznikla kondenzací 2-hydrazinyladenosinu s 2-(*p*-tolyl)malondialdehydem (Schéma 31).⁸⁰

Schéma 31



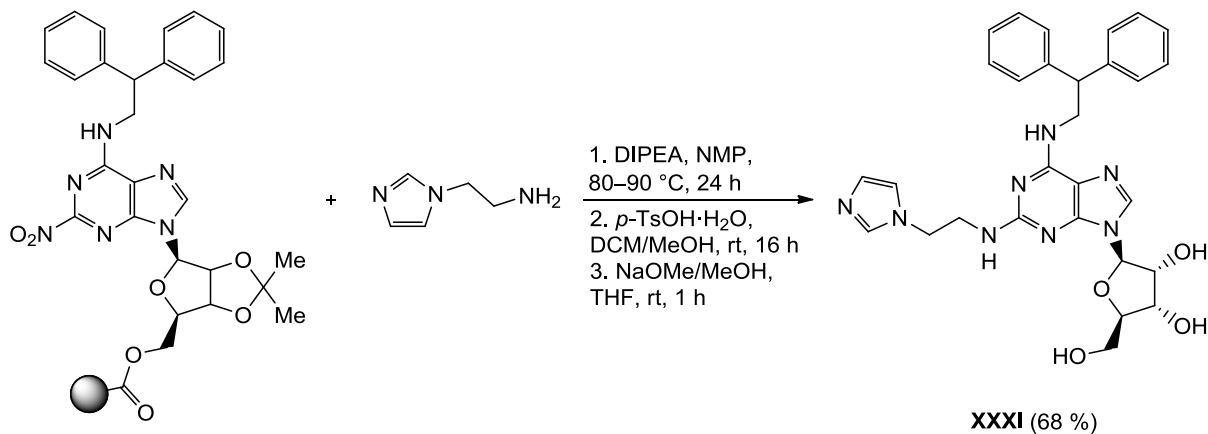
El-Tayeb a Gollos připravili sérii 2,6-diaminosubstituovaných nukleosidů, z nichž některé nesly v poloze 2 purinového skeletu na methylhydrazinovém linkeru ještě jednu molekulu monosacharidu. Schéma 32 ilustruje syntézu tzv. dvojitého nukleosidu **XXX**, který obsahuje kromě D-ribosy také otevřený řetězec L-galaktosy.⁸¹

Schéma 32



V roce 2002 Rodenko, Wanner a Koomen publikovali několikakrokovou syntézu adenosinových analogů na pevném nosiči. Výchozí nukleosid byl navázán na polystyrenovou pryskyřici přes atom uhlíku C5' pentosového kruhu. Při selektivní nukleofilní substituci do polohy C2 se nitro skupina osvědčila coby dobře odstupující jednotka, kdy nebylo zapotřebí ani vysoké teploty, jako v některých výše uvedených případech. Úspěšné konverze bylo docíleno za přítomnosti DIPEA v *N*-methyl-2-pyrrolidonu (NMP). Následným odchráněním cukerné jednotky monohyrátem *p*-toluensulfonové kyseliny ve směsi DCM/MeOH, uvolněním pevného nosiče z meziproductu pomocí methoxidu sodného v MeOH a závěrečným promytím THF vznikl finální produkt **XXXI** v 68% výtěžku (Schéma 33).⁸²

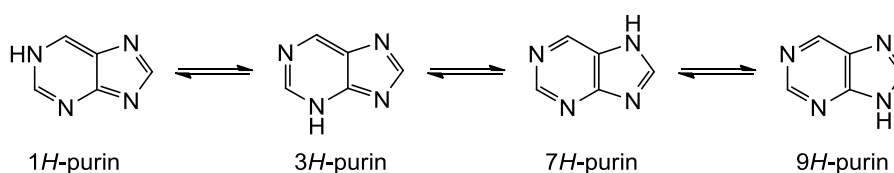
Schéma 33



Modifikované adenosinové deriváty **XXVII–XXXI** byly autory úmyslně připravovány jako potenciální ligandy pro A_{2A} adenosinový receptor, jehož význam bude přiblížen v následující kapitole.

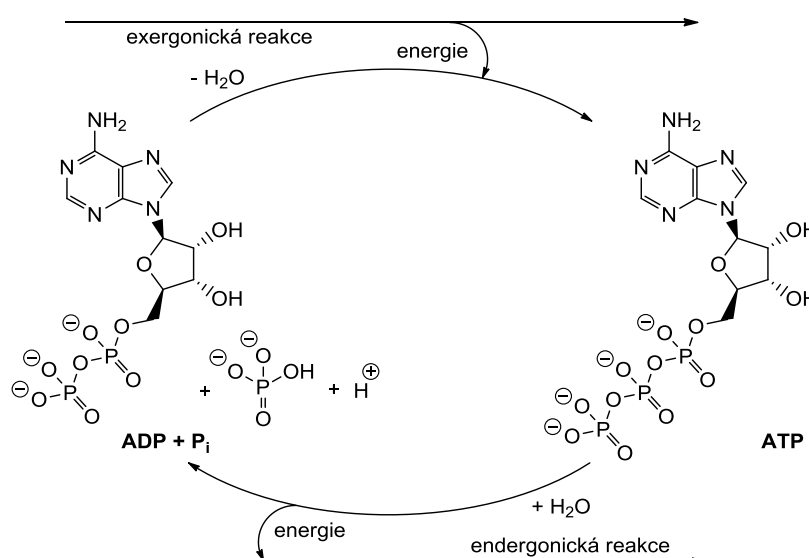
3 BIOLOGICKÁ AKTIVITA PURINOVÝCH NUKLEOSIDŮ

Jak v rostlinných, tak v živočišných organismech se vyskytuje velké množství látek, jejichž základní skelet tvoří dusíkatý heterocyklický systém poprvé popsany E. Fischerem v roce 1884. Imidazo[4,5-*d*]pyrimidin, běžně však nazývaný purin, se v přírodě v nesubstituované podobě nevyskytuje a ze čtyř možných tautomerních forem (Obrázek 5) byly experimentálně potvrzeny pouze dvě, 7*H*- a 9*H*-isomer.^{83,84} Téměř na všech atomech přítomných v obou aromatických cyklech jsou prováděny různé modifikace. Všechny takové sloučeniny pak lze zařadit pod souhrnný pojem puriny.



Obrázek 5: Možné tautomery purinu.

Nemalou část purinů představují purinové nukleosidy, jež mají samy o sobě mnohostranný význam. Dalo by se říci, že logickým počátkem výčtu zástupců jsou adenosin a guanosin, jejichž nejdůležitější funkcí je přítomnost v řetězcích nukleových kyselin. Odtud se jejich důležitost překlenuje prostřednictvím řady derivátů účastnících se mnoha metabolických pochodů, z nichž klíčovým je proces pro přenos energie v organismu, jinými slovy interkonverze fosfátových esterů obou jmenovaných nukleosidů (Obrázek 6). Avšak purinové nukleosidy mohou také zastávat funkce signálních molekul, neurotransmiterů a koenzymů či jejich součástí.⁶⁰



Obrázek 6: Interkonverze adenosindifosfátu (ADP) na adenosintrifosfát (ATP) a zpět.²⁶

Právě z těchto důvodů bývají připravovány syntetické deriváty přírodních nukleosidů, u nichž jsou následně testovány biologické účinky a později prováděny klinické testy pro jejich možné využití v medicíně.⁷¹ V organismu tyto látky velmi často působí jako antimetabolity. Mohou mít přímý inhibiční účinek na dílčí reakce intermediárního metabolismu nebo na enzymy, jejichž aktivita je nutná pro normální průběh biosyntetických reakcí.⁸⁵ Ovlivňují tak například syntézu a opravy DNA či hromadění zlomů v řetězci DNA. Jako závěrečnou akci jsou schopny navodit apoptózu.⁸⁶

Nicméně většina obdobných antimetabolitů vyžaduje nejprve vlastní metabolickou přeměnu, například formou intracelulární fosforylace na nukleotidy, popřípadě jinou úpravu, třeba pomocí příslušných enzymů, aby se do těchto biologických procesů mohla aktivně zapojit.⁸⁷

3.1 Purinové nukleosidy používané v klinické praxi

3.1.1 Cytostatika

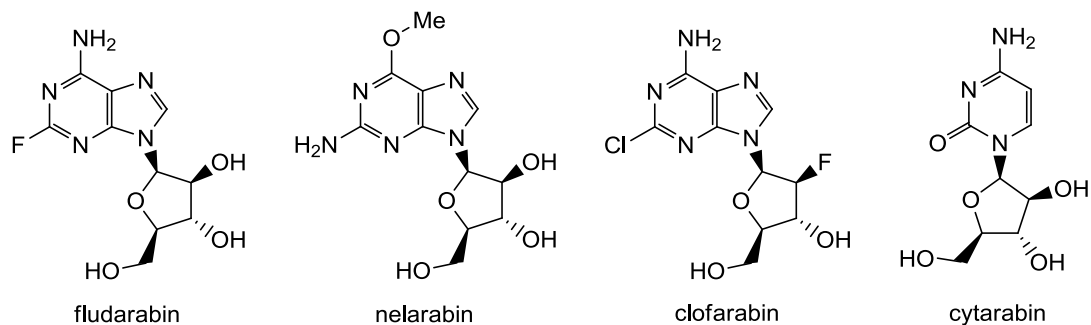
Purinové nukleosidy jako cytotoxická a cytostatická léčiva mají své místo zejména v léčbě hematologických nádorových onemocnění, kam patří i leukemie – zhoubné poruchy krvetvorby. Jedná se o klonální onemocnění charakterizované hromaděním a rozšířením nádorových buněk v kostní dřeni a důležitých orgánech, což vede až k hemopoetickému selhání organismu. Dle typu postižených krvetvorných buněk, v nichž došlo ke vzniku nádoru, se leukemie dělí na myeloidní (myelocyt = buňka v kostní dřeni) nebo lymfocytární (lymfocyt = typ bílé krvinky). Akutní leukemie (AL) je rychlá forma, při níž postižené buňky nejsou schopny se plnohodnotně vyvinout, jejich schopnost diferenciací je snížena, nebo ji úplně ztratily. Průběh chronické leukemie (CL) je naopak pomalý, buňky s maligními rysy dosahují dospělosti a mohou se rozšiřovat, ale nepodléhají apoptóze tak rychle jako jejich zdravé fyziologické protějšky.^{88,89}

Výčet následujících sloučenin zahrnuje nejen ty, jež jsou již řadu let využívány k léčbě hematologických poruch, ale i takové, které jsou součástí právě probíhajících klinických studií.

Jedním z nejraněji klinicky používaných chemoterapeutických léčiv je pentostatin (Obrázek 7), neboli 2'-deoxycoformycin, dostupný pod názvem NipentTM. Je určený pro pacienty trpící vlasatobuněčnou leukemií* (HCL – *Hairy Cell Leukemia*) nebo chronickou lymfocytární leukemií (CLL) s recidivou. Podává se intravenózně jednou za 14 dní po dobu 3–6 měsíců.⁹⁰ Jako v přírodě se vyskytující sloučenina byl poprvé izolován v roce 1974 z kultivovaného půdního mikroorganismu *Streptomyces antibioticus* a výzkum jeho bioaktivity byl původně založen na inhibici enzymu adenosindeaminasy (ADA) o hodnotách v rozmezí 2–10 μM .^{91,92}

Na Obrázku 7 je dále uveden strukturní vzorec synteticky připraveného deoxyribonukleosidu cladribinu, který je rezistentní vůči deaminaci enzymem ADA.

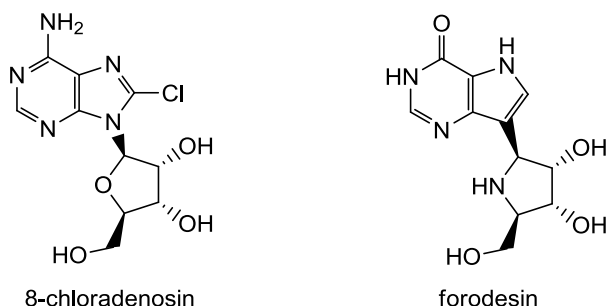
* Poměrně vzácné onemocnění charakterizované přítomností lymfoidních buněk s rozvlákněnou cytoplazmou.⁸⁸



Obrázek 8: Arabinosylová cytostatika.

V první fázi klinických testů se v současné době nachází adenosinový analog 8-chloradenosin (Obrázek 9) jako potenciální chemoterapeutikum pro medikaci CLL. V polovině roku 2016 byly zahájeny náborové testy dobrovolníků i pro testování jeho účinnosti vůči akutní formě LL.^{104,105}

Na Obrázku 9 je vedle 8-chloradenosinu uveden forodesin (immucillin H, BCX-1777), jenž získal v roce 2006 v rámci EU status *orphan drug*^{*} a pod značkou Fodosine[®] se používá k léčbě kožního T-lymfomu.¹⁰⁶ Nyní se testuje jak u chronické, tak u akutní formy lymfocytární leukemie vůči oběma typům cílových lymfocytů, B i T, a jako potenciální imunosupresivum pro likvidaci aktivovaných T-lymfocytů.^{85,103,104}



Obrázek 9: Chemoterapeutika v klinických testech.

3.1.2 Antivirotika

Zcela oprávněně se o virech mluví jako o nejjednodušší formě života. Jejich „organismus“ tvoří vlákno DNA nebo RNA s proteinovým obalem, nemají vlastní metabolický aparát, pouze omezenou enzymovou výbavu, která umožňuje jejich proniknutí do hostitelské buňky a „nastartování“ replikace. Dále jsou již zcela závislé na svém hostiteli a plně využívají jeho buněčnou výbavu. Tedy informaci o syntéze enzymů potřebných pro svou existenci si nesou ve své DNA, resp. RNA, vlastní syntéza pak probíhá v hostitelské buňce.¹⁰⁸ Toto úzké spojení mezi hostitelem a virem komplikuje vytvoření vhodného antivirotika, které by nejen bylo schopné

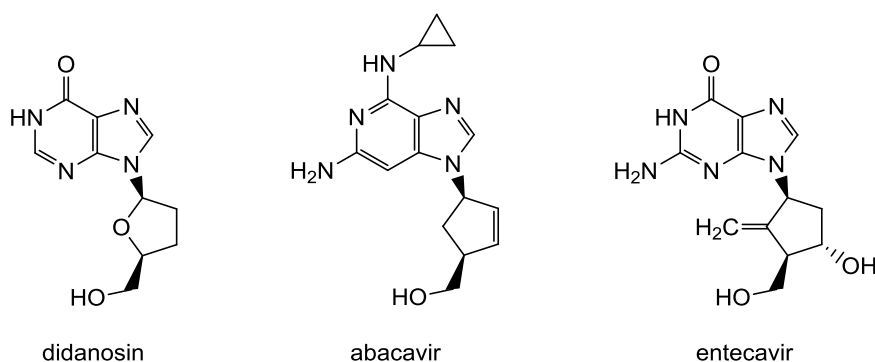
* *Orphan drug = sirotčí lék – označení pro léky určené pro vzácná onemocnění; za běžného stavu tato léčiva nepokrývají výrobcům náklady na jejich vývoj, proto pro ně byla vytvořena speciální legislativa.*⁸⁶

účinně inhibovat replikaci viru, ale současně by také způsobovalo co možná nejmenší škody na hostitelských buňkách.¹⁰⁹

Mezi virová onemocnění se řadí například chřipka, spalničky, opary vyvolané různými herpetickými viry, hepatitida (zánět jater), vzteklna, dětská obrna, pravé neštovice, HIV/AIDS nevyjímaje.

Inhibitory nukleosidové reverzní transkriptasy (NRTIs) jsou první antiretrovirální skupinou látek, která prokázala efektivitu právě vůči viru lidské imunitní nedostatečnosti (HIV – *Human Immunodeficiency Virus*).¹¹⁰ Tyto látky vystupují jako hlavní složky vysoce účinné antiretrovirální terapie (HAART – *Highly Active Antiretroviral Therapy*), kdy v kombinaci s dalšími léky snižují riziko šíření viru.¹¹⁹

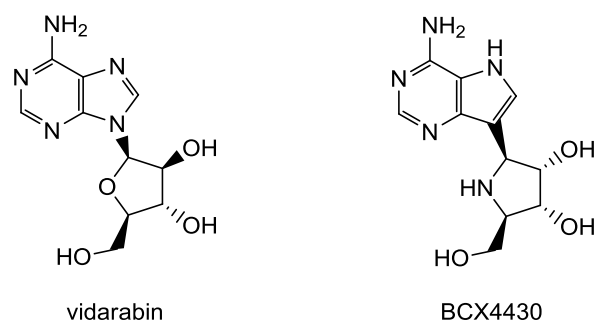
Ze skupiny nukleosidových inhibitorů na bázi purinu (Obrázek 10) se konkrétně jedná o didanosin (komerčně dostupný jako Videx[®], základní dávkování: dvakrát 200 mg·den⁻¹ pro >60 kg, dvakrát 125 mg·den⁻¹ pro <60 kg), abacavir (Ziagen[®], max. 600 mg·den⁻¹ v kombinaci s dalšími antiretroviroty) a entecavir (Baraclude[®]).¹¹¹ Entecavir však není pro léčbu HIV-infikovaných pacientů, kteří nejsou léčeni pomocí HAART, doporučován kvůli potenciálnímu rozvoji rezistence vůči NRTIs. Velmi často je naopak využíván k léčbě hepatitidy typu B.¹¹² U didanosinu byla rovněž potvrzena antiparazitární aktivita proti kokcidi *Toxoplasma gondii*.¹¹³



Obrázek 10: Purinové inhibitory nukleosidové reverzní transkriptasy.

Co se týče dalších virových onemocnění, arabinosylový analog adenosinu Vidarabine[®] (Obrázek 11) vykazuje antivirotickou aktivitu vůči poxvirům (např. pravé neštovice), jednoduchým oparům (*Herpes simplex*) i vůči viru *Varicella zoster virus*, který způsobuje plané neštovice a pásový opar.¹¹⁴ Jeho nevýhodou je vyšší toxicita a nižší metabolická stabilita oproti acicloviru, přesto se v klinických podmínkách testuje jeho využití v léčbě herpetických virů u pacientů s HIV, u nichž aciclovir nezabírá.¹¹⁵

Na Obrázku 11 je rovněž uveden derivát s pracovním označením BCX4430 (Immucillin A), který je prozatím v rámci klinických testů zkoumán jako budoucí možné chemoterapeutikum proti viru Ebola.^{104,116}

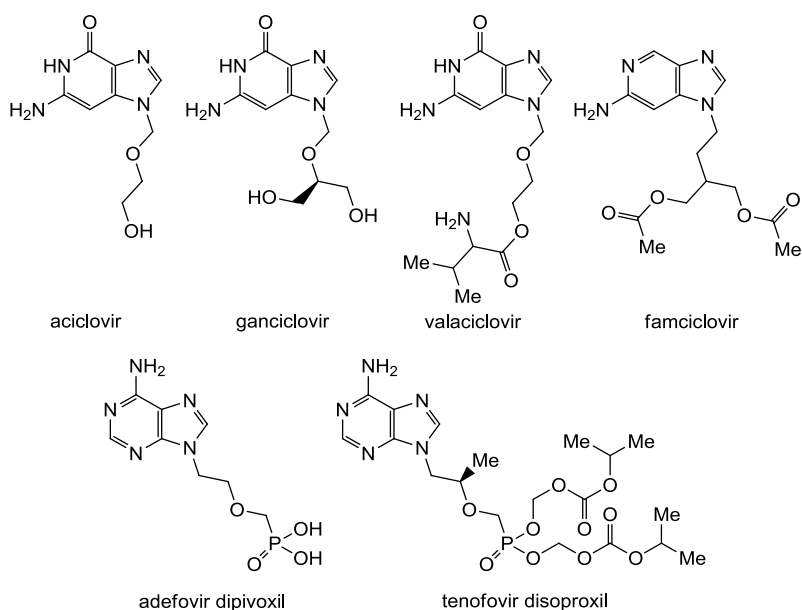


Obrázek 11: Nukleosidová antivirotika.

Stranou by neměly zůstat ani acyklické nukleosidy. Strukturní vzorce vybraných zástupců jsou uvedeny na Obrázku 12. Tyto látky se vyznačují zvláště vysokým stupněm specifity účinku. Aciclovir, běžně dostupný jako Acyclovir[®] nebo Zovirax[®], je nejlépe snášeným antivirotikem, jelikož jeho aktivace probíhá jen v infikovaných buňkách a přednostně inhibuje syntézu virové DNA. Aplikuje se při léčbě jednoduchých oparů, planých neštovic nebo pásového oparu.^{117–119}

Do této skupiny antivirotik dále spadá i ganciclovir, který bývá používán v terapii těžkých infekcí vyvolaných cytomegaloviry*, prekursor acicloviru valaciclovir či antiherpetický prekursor famciclovir.^{117,118}

Dále je na místě také jmenovat velmi dobře známé léky Hepsera[™] a Viread[™] mající společnou historii. Byly totiž vyvinuty výzkumným týmem profesora Holého. Pod názvem Hepsera[™] se skrývá antivirotikum adefovir dipivoxil, jež byl v roce 2002 oficiálně uveden na trh pro léčbu hepatitidy typu B. Od roku 2008 se začal proti tomuto onemocnění předepisovat i tenofovir disoproxil, coby výše zmíněný Viread[™]. Ten byl však už v roce 2001 schválen pro léčbu AIDS.⁷¹



Obrázek 12: Acyklické nukleosidy.

* Skupina virů vyznačující se schopností zvětšovat hostitelské buňky, řadí se do čeledi Herpesviridae.¹²⁰

3.1.3 Agonisté adenosinového receptoru

V posledních letech zažívá purinová chemie něco jako obrození. Velký rozvoj zaznamenalo zejména studium adenosinových receptorů (AR). Receptory jsou makromolekuly, jejichž fyziologickým úkolem je vázat biologicky účinné látky a převádět tuto vazbu na efekt, tedy na změnu buněčné funkce. Existují receptory různého složení a také s rozdílnými způsoby transdukci signálu.¹¹⁸

Adenosinové receptory náleží do skupiny receptorů spřažených s G-proteinem a existují čtyři známé podtypy – A₁, A_{2A}, A_{2B} a A₃, jež se vyskytují téměř v celém lidském těle a detekují lokální změnu koncentrace adenosinu.^{26,121} Každý z nich má ale jedinečný farmakologický profil a tkáňovou distribuci. A₁ AR jsou například důležité pro regulaci krevního tlaku nebo signálů bolesti, kdy jejich aktivace tyto signály tlumí, což vede k lokální anestezii, částečně chrání i před ischemií (nedokrevností) srdeční tkáně. A₂ AR mimo jiné působí protizánětlivě (jejich agonisté v léčbě astmatu představují vhodnou alternativu namísto glukokortikosteroidů) a rozšiřují cévy a A₃ AR ruší některé signální dráhy adenosinu, což umožňuje inhibici růstu lidských rakovinotvorných buněk.^{121–123} Současné výzkumy si dávají za cíl najít především jejich nové agonisty.¹²⁴

Afinita k adenosinovým receptorům (K_i^*) je definována jako poměr rychlosti disociace k asociaci léčiva na receptor. Čím je stanovená hodnota vyšší, tím nižší je afinita.¹²⁵ Samotný adenosin má vysokou afinitu k A₁ a A_{2A} AR, zatímco k receptorům A_{2B} a A₃ tak výrazná není. Jednotlivé hodnoty jsou uvedeny v Tabulce 1.¹²⁴

Tabulka 1: Afinita adenosinu k jednotlivým receptorům.

Receptor AR	K_i [nM]
A ₁	0,3–3
A _{2A}	1–20
A _{2B}	>1000
A ₃	>1000

Novým selektivním agonistou A₁ AR je kupříkladu tecadenoson s vazebnou afinitou K_i o hodnotě 6,5 nM,^{122,126} který je v klinických testech zkoumán v souvislosti s konverzí paroxysmální supraventrikulární tachykardie^{**} na sinusový rytmus.^{104,127,128}

Agonistou A_{2A} AR s výrazným vazodilatačním účinkem je regadenoson ($K_i = 290$ nM), vedený pod obchodní značkou Lexiscan[®] (USA) nebo Rapiscan[®] (EU). Jeho hlavní funkcí je rozšiřování cév (účinek od koncentrace 0,3–1,0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)¹²⁹ a je používán při farmakologických zátěžových testech, během

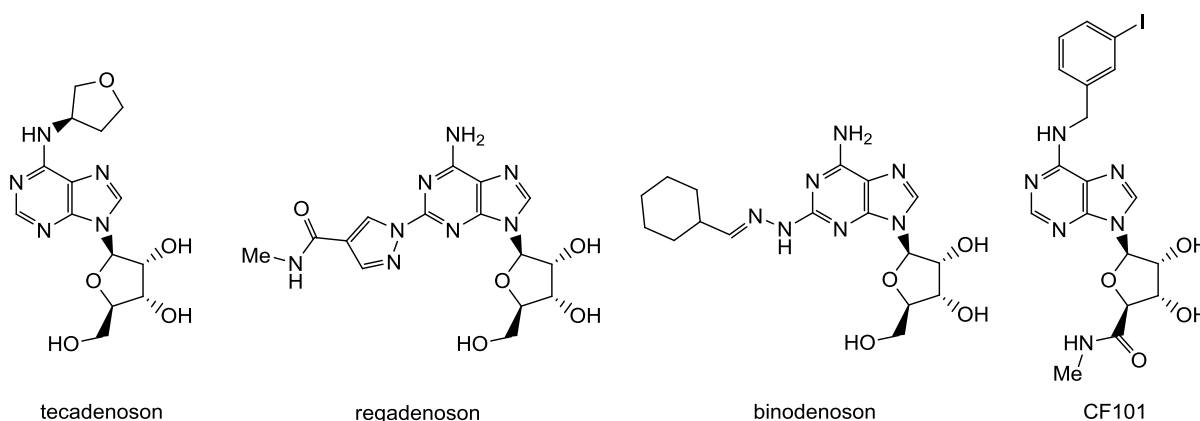
* Vazebná afinita ligandu.

** Záchvatová rychlá srdeční arytmie.

nichž navozuje zrychlení krevního toku do srdce a udržuje ho po dobu trvání skenu myokardiální perfuze (MPI SPECT)*.^{125,130} Vedle adenosinu vykazuje regadenoson nižší afinitu vůči A_{2A} AR, ale na druhou stranu může až stonásobně zvýšit myokardiální průtok krve.¹²⁵

V závěru třetí fáze klinických studií se nachází další agonista A_{2A} AR, binodenoson, jehož vazebná afinita k receptoru byla stanovena na 270 nM.¹³¹ Výsledky experimentálního posouzení jeho účinnosti a bezpečnosti při srdeční ischemii ovšem nebyly dosud vyhodnoceny a zveřejněny.^{104,132}

Specifickým agonistou A₃ AR (K_i = 1,8 nM) je pak látka s označením CF101, genericky známá jako IB-MECA. Vykazuje diferenciální účinek na nádorové a zdravé buňky. Při klinických testech na myších inhiboval růst různých nádorových buněk a potlačil rozvoj melanomů, karcinomů tlustého střeva a prostaty.^{122,133,134} Strukturální vzorce výše komentovaných agonistů jsou zobrazeny na Obrázku 13.



Obrázek 13: Agonisté adenosinového receptoru.

Adenosinové receptory jsou atraktivním cílem pro výzkum terapeutických účinků v široké škále onemocnění, jako je astma, Parkinsonova choroba, hypoxie (nedostatek kyslíku v organismu) a mnoho dalších.

Purinové sloučeniny se celkově staly také středobodem vývoje genetické terapie, biologických sond a moderní technologie sekvenování DNA, jejichž prostřednictvím se rovněž daří proniknout do molekulárních mechanismů chemické karcinogeneze a oprav DNA.^{135,136}

3.2 Přírodní purinové deriváty

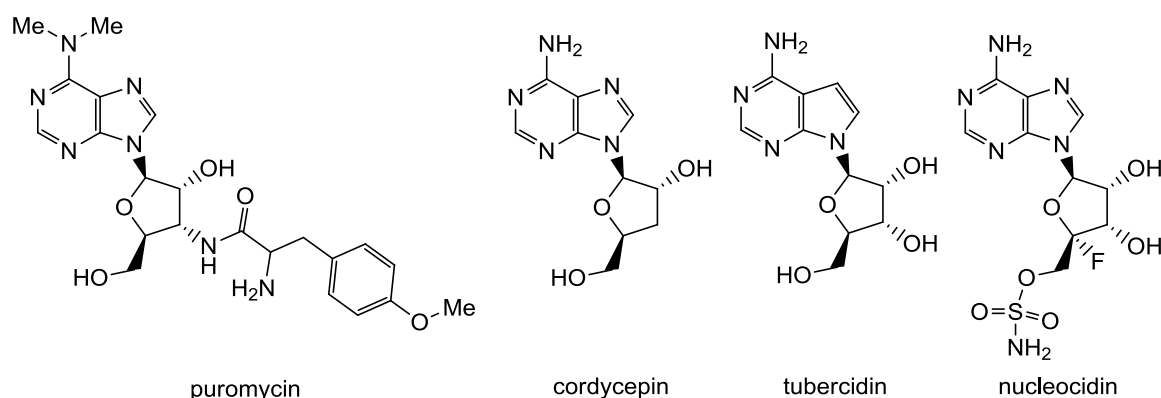
Mikroorganismy, rostlinné a živočišné tkáně byly odjakživa zdrojem přírodních nukleosidů, které nejsou součástí nukleových kyselin. Právě naopak, v buňkách se vyskytují ve volné podobě. Drtivou většinu těchto sloučenin představují antibiotika.^{137,109}

* Zobrazování srdečního průtoku zátěžovou jednofotonovou emisní tomografií.

3.2.1 Antibiotika

Původním smyslem slova antibiotikum bylo označení přírodní látky produkované mikroorganismy, která svým účinkem ovlivňovala růst jiných mikroorganismů. Pro syntetické sloučeniny se používal pojem chemoterapeutikum, časem se však vnímání tohoto rozdílu vytratilo.^{138,108}

Nukleosidová antibiotika slouží zejména jako důležitý nástroj ke zkoumání mechanismů biochemických reakcí. Primárně se jedná o biosyntézu nukleových kyselin a proteinů. Dnes je známo více než dvacet nukleosidových antibiotik, v nichž aglykonovou (necukernou) složku tvoří purinová nebo pyrimidinová báze.^{109,137} Některá přírodní antibiotika jsou uvedena na Obrázku 14.



Obrázek 14: Vybraná přírodní nukleosidová antibiotika.

Puromycin vykazuje antimikrobiální aktivitu vůči bakterii *Bacillus subtilis* ($MIC = 20 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)* a působí mimo jiné také jako inhibitor proteosyntézy.¹³⁹ Zde jeho mechanismus účinku spočívá v napodobení struktury aminokyseliny tyrosinu, neumožňuje tedy další růst polypeptidového řetězce, což vede k ukončení elongace a předčasnému uvolnění syntetizovaného proteinu.⁷¹

Cordycepin byl poprvé izolován z houby *Cordyceps militaris* a bývá jako příměs používán v tradiční čínské medicíně. Má antikoagulační účinky ($IC_{50} = 500 \mu\text{M}$)** a vykazuje i cytostatickou aktivitu vůči ALL ($IC_{50} = 50,4 \mu\text{M}$).^{140,141}

Tubercidin, neboli 7-deazaadenosin, je cytostatické antibiotikum ($GIC_{50} = 0,011 \mu\text{M}$ ***) získané z bakterie *Streptomyces tubercidicus*, které disponuje antifungálními a tuberkulostatickými vlastnostmi ($K_i = <2 \text{ nM}$, $IC_{50} = 10 \mu\text{M}$).^{142,143}

Vzácným příkladem přírodní látky obsahující kovalentně vázaný atom fluoru je nucleocidin, antibiotikum produkované bakterií *Streptomyces calvus*.¹⁴⁴ Byl testován

* MIC = minimální inhibiční koncentrace – nejnižší koncentrace chemické látky, která inhibuje viditelný růst mikroorganismu po inkubaci přes noc.

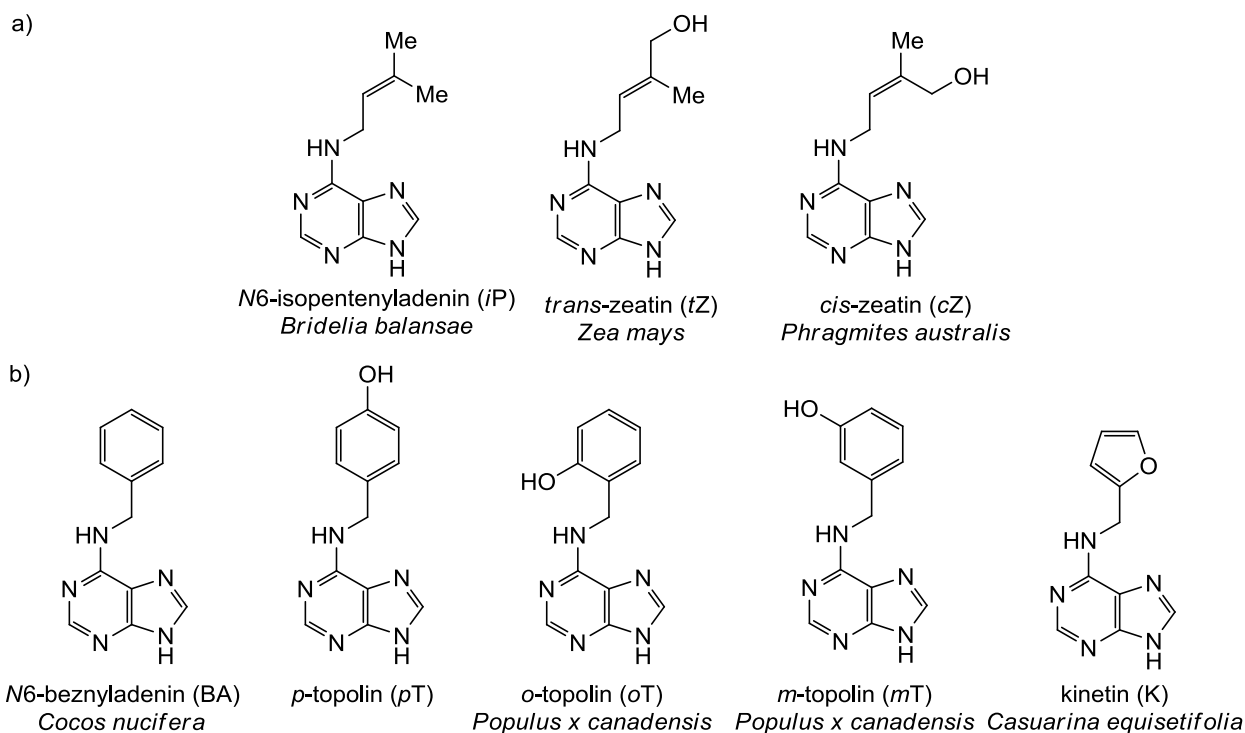
** IC_{50} = poloviční inhibiční koncentrace – taková koncentrace účinné látky, při které dochází k 50% inhibici růstu nebo aktivity daného cíle (mikroorganismus, nádorové buňky).

*** GIC_{50} = poloviční růstová inhibiční koncentrace – koncentrace účinné látky, při které dochází k 50% inhibici růstu životaschopných buněk.¹³⁸

jako potenciální léčivo proti infekci HIV, naneštěstí se však ukázalo, že je extrémně toxický vůči neinfikovaným buňkám, což vylučuje jeho aplikaci v klinické praxi.¹⁴⁵

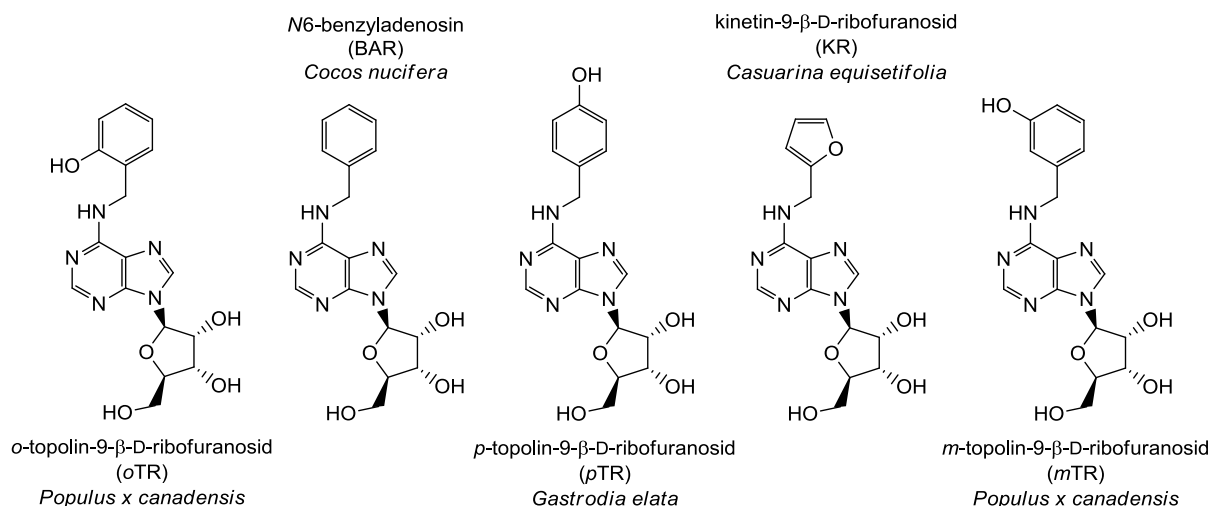
3.2.2 Cytokininy

Pod názvem cytokininy je zahrnuta skupina rostlinných hormonů a bioregulátorů, které mnohostranně ovlivňují růst a vývoj rostlin. Endogenní cytokininy stimulují buněčné dělení, fotomorfogenezi, vznik chloroplastů, biosyntézu pigmentů, regulují růst kořenů, výhonků a celkovou stavbu rostliny.¹⁴⁶ Přirozeně se vyskytující cytokininy jsou relativně jednoduché *N*6-substituované adeninové deriváty¹⁴⁷ a odborná literatura je dělí na isoprenoidní (Obrázek 15a) a „aromatické“ (Obrázek 15b). Zatímco isoprenoidní cytokininy se vyskytují téměř ve všech rostlinách, „aromatické“ byly zatím identifikovány v rostlinné říši jen v omezené míře a několik z nich bylo objeveno až po přípravě jejich syntetických obdůb.¹⁴⁸



Obrázek 15: Isoprenoidní (a) a „aromatické“ cytokininy (b).

V mnohem nižších koncentracích než volné cytokininy existují v rostlinách také jejich ribosidy (Obrázek 16).¹⁴⁸ Například nejhojnější *o*-topolin-9- β -D-ribofuranosid se v topolových listech za rozbřesku vyskytuje až v mikromolárních koncentracích. Podle autory provedených výzkumů záleží hladina tohoto cytokininu jak na světelných podmínkách, tak na stupni rozvinutosti listu.¹⁴⁹



Obrázek 16: „Aromatické“ cytokininové ribosidy.^{150,151}

Dříve se mělo za to, že glykosidové konjugáty cytokininů (nesoucí v poloze 9 purinového kruhu ribosu nebo glukosu) jsou jen transportní, zásobní a především neaktivní formy.¹⁵² Avšak na bázi hlavní funkce těchto fytohormonů se zrodil předpoklad, že by stejně tak, jak ovlivňují růst a diferenciaci buněk u rostlin, mohly totéž vykonávat i u živočichů. Následně byly u těchto látek skutečně prokázány antiproliferační* účinky na živočišné nádorové buňky¹⁴⁷, kdy se v mnohých případech ribosidy ukázaly být dokonce aktivnější než jejich neglykosidové protějšky. Vzájemné porovnání antiproliferační aktivity výše komentovaných cytokininů (Obrázek 15 a 16) je uvedeno v Tabulce 2.^{148,153}

Tabulka 2: Antiproliferační aktivita cytokininů a jejich ribosidů vyjádřená v IC₅₀.

Cytokinin (zkratka)	IC ₅₀ [μM]					
	CEM	HL60	K562	MCF7	HeLa	BJ
iP	92,0	>166	150,0	>166	>166	>166
iPR	1,7	0,7	5,2	6,9	5,5	2,5
tZ	>166	>166	>166	>166	>166	>166
tZR	>166	95,9	>166	>166	>166	>166
cZ	>166	>166	>166	>166	>166	>166
cZR	18,8	7,9	>166	>166	42,3	55,2
mT	>166	>166	140,0	>166	>166	>166
mTR	>166	24,0	>166	>166	>166	3,9
oT	118,0	78,0	>166	>166	120,0	>166
oTR	0,5	0,6	2,4	3,1	2,1	1,5
pT	>166	123,0	>166	>166	>166	>166

* Tlumící růst či množení buněk.¹⁰⁴

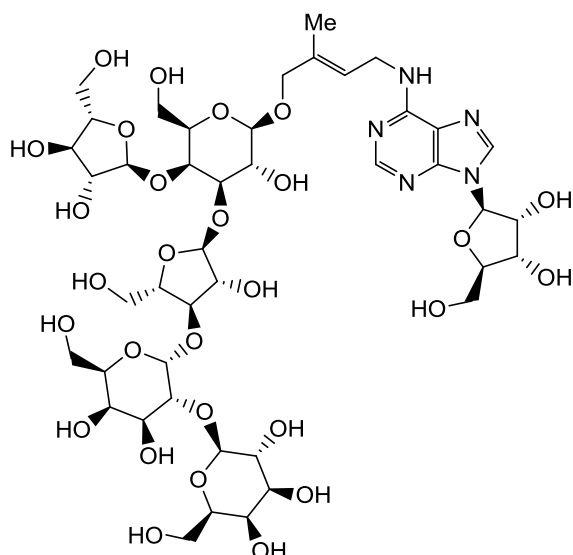
Cytokinin (zkratka)	IC ₅₀ [μM]					
	CEM	HL60	K562	MCF7	HeLa	BJ
<i>p</i> TR	>166	7,5	>166	>166	>166	15,3
BA	>166	>166	140,0	>166	>166	>166
BAR	1,3	0,9	5,9	3,7	1,9	1,7
K	155,0	>166	>166	>166	>166	>166
KR	1,6	0,8	10,5	4,3	4,3	2,1

Pozn.: zkratky použitých buněčných linií: CEM – T-lymfocytární leukemie, HL60 – promyelocytární leukemie, K562 – chronická myeloidní leukemie, MCF7 – karcinomu prsu, HeLa – karcinomu děložního čípku, BJ – lidských fibroblastů z předkožky; >166 = 166 μM – nejvyšší použitá koncentrace

U některých cytokininových ribosidů byla zjišťována také afinita vůči adenosinovému receptoru A_{2A} (ZR K_i = 2,9 μM, KR K_i = 17 μM, *p*-TR K_i = 10 μM). *p*-Topolin-9-β-D-ribofuranosid prokázal shodnou vazebnou odezvu i vůči receptoru A₃ AR. Kromě toho, že je *p*-TR schopný aktivovat adenosinové receptory, dokáže také blokovat adenosinový přenašeč ENT-1 (rovnovážný nukleosidový transportér, *Equilibrative Nucleoside Transporter*). Objev této současné duální funkce *p*-TR odstartoval velmi přínosnou strategii v léčbě Huntingtonovy choroby, vzácného neurodegenerativního onemocnění mozku.^{154–157}

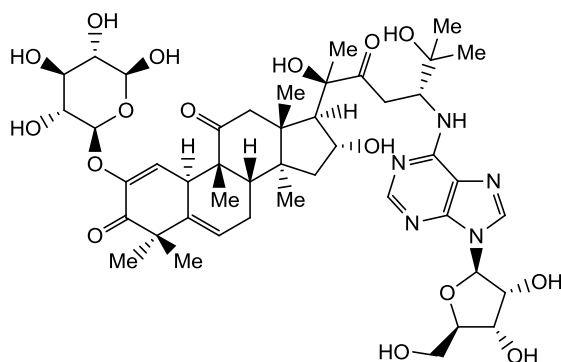
Velmi neobvyklým přírodním cytokininem je sloučenina 14-*O*-{3-*O*-[β-D-galaktopyranosyl-(1→2)-α-D-galaktopyranosyl-(1→3)-α-L-arabinofuranosyl]-4-*O*-(α-L-arabinofuranosyl)-β-D-galaktopyranosyl}-*trans*-zeatin-9-β-D-ribofuranosid, triviálně nazývaná anglickým výrazem „gazer“ (Obrázek 17), která byla izolována z tekutého endospermu kokosovníku ořechoplodého (*Cocos nucifera*).¹⁵⁸ Bylo prokázáno, že cytokininová aktivita gazeru se v rostlinných buňkách projevuje až po hydrolýze na zeatin. Zejména vzhledem k jeho několikanásobně vyšší rozpustnosti ve vodě se pravděpodobně opravdu jedná výhradně o významnou transportní či prekurzorovou formu zeatinu.

Jako jedna z mála zkoušek, které byly pro tuto sloučeninu provedeny, je stanovení jeho optimální koncentrace pro aktivitu podporující růst kalusové kultury tabáku. Zjištěná hodnota 5 μM je v porovnání s kinetin-9-β-D-ribofuranosidem sice o řád nižší, na druhou stranu však vykazuje o řád vyšší aktivitu než 1,3-difenyльмоčovina náležící do skupiny cytokininů příbuzných močovině.¹⁵⁹



Obrázek 17: Strukturní vzorec gazeru.

Z chemického hlediska je stejně tak neobvyklým glykosidem machilaminosid B (Obrázek 18), který již nepatří do skupiny cytokininů. Tento triterpenový alkaloid odvozený od základního skeletu kukurbitacinu¹⁶⁰ byl izolován z kmenové kůry stromu *Machilus Yaoshansis* rostoucího v provincii Guangxi v Číně.¹⁶¹



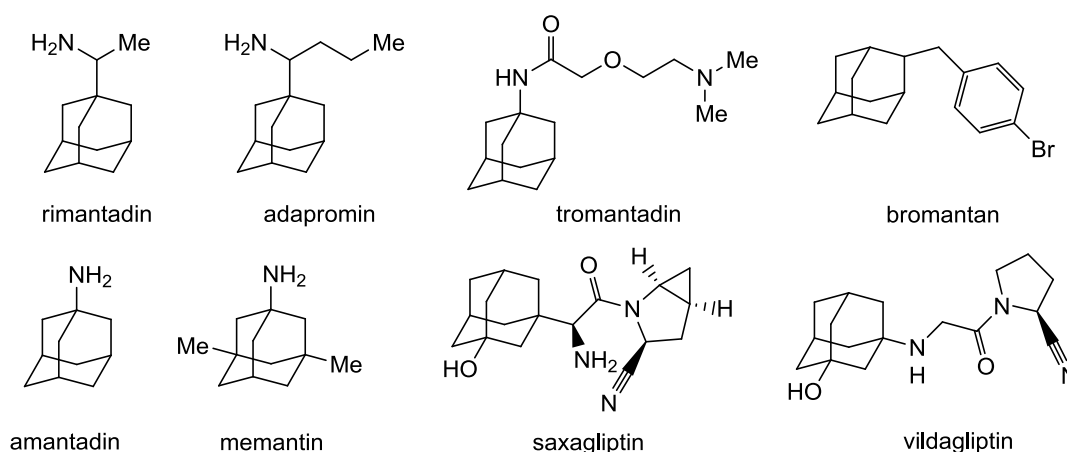
Obrázek 18: Strukturní vzorec machilaminosidu B.

Machilaminosid B vykazuje neselektivní cytotoxickou aktivitu vůči několika lidským nádorovým buněčným liniím způsobujícími kupříkladu rakovinu vaječníků (A2780), tlustého střeva (HCT-8), jater (Bel-7402), žaludku (BGC-823) anebo plic (A549) v rozmezí 0,3–0,8 μM . Stejně tak byla u této sloučeniny zjištěna schopnost inhibovat sekreci proteinu TNF- α (faktor nádorové nekrosy α , *Tumor Necrosis Factor Alpha*) v koncentraci 0,5 μM .¹⁶²

4 PURINOVÉ NUKLEOSIDY S ADAMANTANOVÝM SKELETEM

4.1 Adamantanová léčiva

Množství derivátů adamantanu využívaných v současné medicíně jen potvrzuje, jak velkým přínosem objevení tohoto klecového uhlovodíku bylo.^{163,164} Přední postavení v tomto oboru zaujímá zejména skupina jednoduchých derivátů adamantanu v klinické praxi aplikovaných při léčbě různých typů chřipkových onemocnění a infekcí. Mezi nejvýznamnější zástupce se řadí rimantadin,¹⁶⁵ adapromin,¹⁶⁶ tromantadin,¹⁶⁷ bromantan či amantadin. Poslední dvě jmenované látky bývají navíc používány i při léčbě Parkinsonovy choroby nebo alespoň k potlačení některých jejích symptomů jako je ztuhlost, třas nebo nekontrolované svalové pohyby.^{168–171} Bromantan pak může mimo jiné vystupovat jako ne zcela typický psychostimulant a anxyolitikum pro pacienty trpící nervovou slabostí.¹⁷² Pro paliativní léčbu středně závažné až těžké formy dalšího z civilizačních onemocnění neurodegenerativního charakteru, a to demence Alzheimerova typu, byl úspěšně zaveden memantin (3,5-dimethyladamantan-1-amin).¹⁷³ Do třídy orálních hypoglykemik pak náleží adamantanové analogy používané v klinické praxi pod názvy saxagliptin a vildagliptin. Jedná se o inhibitory enzymu dipeptidylpeptidasy 4 (DPP-4), který má zásadní význam v metabolismu glukosy.^{174,175} Strukturální vzorce všech výše jmenovaných léčiv jsou uvedeny na Obrázku 19.



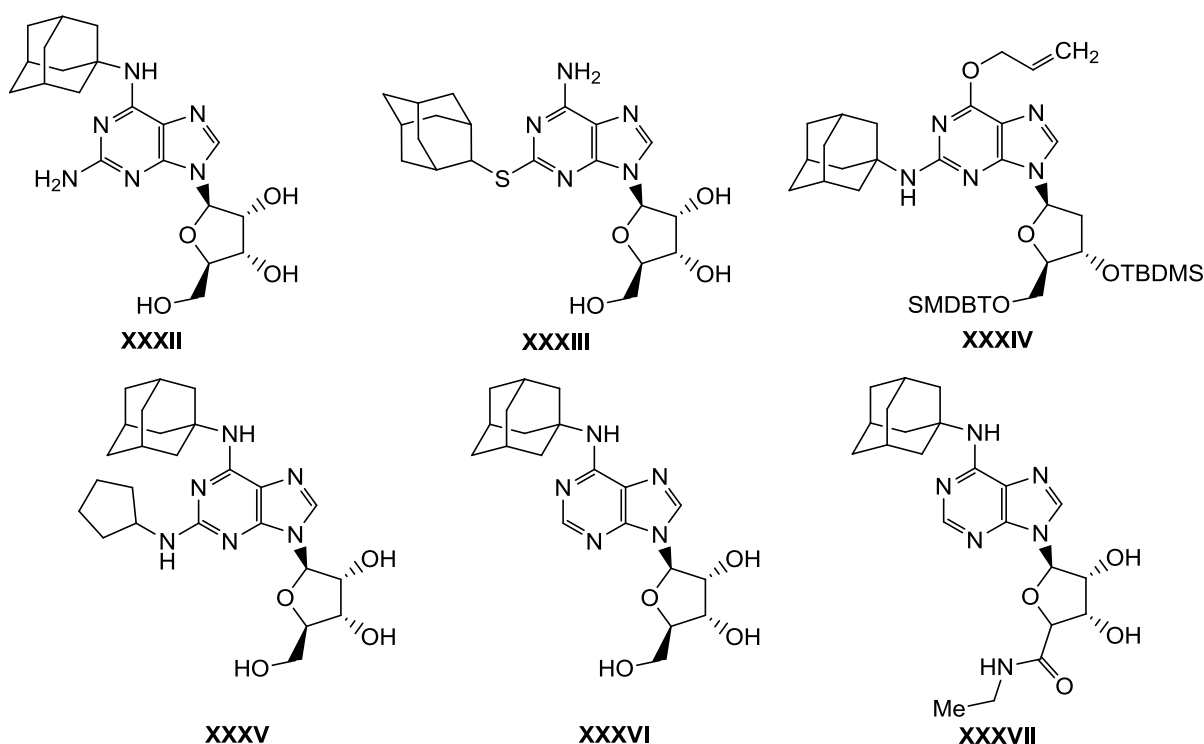
Obrázek 19: Deriváty adamantanu uvedené na farmaceutickém trhu.

Aktivita vůči virům však není jediným opodstatněním, proč jsou adamantanové deriváty tak vyhledávány a proč se neustále pracuje na rozšiřování jejich řad. Posledních pár desetiletí nachází adamantan stále častěji své uplatnění také coby hostující molekula v odvětví supramolekulární chemie. Cílená komplexace vhodných makrocyclů s adamantanem navázaným na biologicky aktivní molekule může mimo jiné ovlivňovat její rozpustnost ve vodném prostředí živého organismu,^{176–178} na což opět velmi ochotně slyší zejména farmaceutický průmysl.

4.2 Adamantan v purinových nukleosidech

Rešeršní průzkum související s problematikou řešenou v této práci prokázal, že do současnosti bylo připraveno jen několik málo purinových nukleosidů obsahujících adamantanový skelet. Strukturální vzorce dotyčných sloučenin jsou znázorněny na Obrázku 20.^{179–184}

U sloučenin **XXXV–XXXVII** byla vedle syntézy samotné studována a také potvrzena biologická aktivita. Nukleosid **XXXV** vykazuje antiprotozoální účinky vůči *Trypanosoma brucei rhodesiense* způsobující východoafrickou akutní formu spavé nemoci ($IC_{50} = 34,1 \mu M$)¹⁸² a sloučenina **XXXVI** aktivuje adenosinový receptor A_1 laboratorních krys ($K_i = 73 \text{ nM}$).¹⁸³ Téměř o 15 let později byla obdobná schopnost potvrzena i u látky **XXXVII** ovšem tentokrát vůči savčím A_1 AR receptorům ($EC_{50} = 4,0 \mu M$).¹⁸⁴



Obrázek 20: Dosud připravené adamantylované purinové nukleosidy.

Uvedené hodnoty biologické aktivity nukleosidů na bázi adamantanu však nelze v kontextu jiných známých nukleosidů považovat za příliš významné. Příčinou může být přílišná blízkost adamantanového skeletu k purinovému kruhu a z toho plynoucí sterické bránění purinového skeletu. Toto těsné sousedství pak může vést například k nemožnosti navázání inhibitoru do aktivního místa buněčného cíle (např. enzymu). Z tohoto důvodu je nasnadě upravení struktury obdobných sloučenin tak, aby vzdálenost adamantylových substituentů byla od purinového jádra větší.

* EC_{50} = poloviční účinná koncentrace – koncentrace účinné látky, která po specifikované době expozice vyvolá odpověď v polovině mezi základní linií a maximem.

Naše výzkumná skupina se již několik let věnuje syntéze nových sloučenin nesoucích adamantanový motiv, kdy jako vhodné pro zavedení na purinový skelet se jeví aromatické aminy na bázi adamantanu, jejichž syntéza a schopnost vytvářet supramolekulární komplexy s β -cyklodextrinem (β -CD) byly popsány v dříve publikovaných pracích.¹⁸⁵

Zabudováním adamantylového zbytku do struktury vybrané sloučeniny dochází ke zvýšení její lipofility, v důsledku čehož může dojít ke zlepšení její schopnosti projít buněčnou membránou,¹⁸⁶ což představuje neodmyslitelnou nutnost pro účinnost léčiv v živých organismech. Na základě těchto znalostí a s velkým potenciálem byla připravena sada originálních 2,6,9-trisubstituovaných purinů, jež v poloze C2 purinového skeletu nesly atom chloru anebo zbytek aminoalkoholu (3-aminopropan-1-olu), v poloze C6 pak výše zmíněné aromatické aminy na bázi adamantanu a konečně poloha N9, stejně jako u roscovitinu, byla obsazena nepříliš objemným nepolárním propan-2-ylovým substituentem.¹⁸⁷

Přestože následné testování biologické aktivity přineslo pozitivní výsledky, značně jej zkomplikovala omezená rozpustnost připravených sloučenin v polárním prostředí. Právě zde bylo efektivně využito schopnosti nových látek tvořit inkluzní komplexy s β -CD, kdy došlo k prokazatelnému zlepšení rozpustnosti, a to bez negativního dopadu na biologickou aktivitu.

Výše uvedené úspěchy nás motivovali ještě rozvinout zkoumanou problematiku a rozhodli jsme se propan-2-yl na N9 nahradit polárnějším cukerným „alkoholem“ za získání přírodě bližších nukleosidů.

5 CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Impulzem pro sepsání předkládané práce nejen o glykosylačních metodách vedoucích k purinovým nukleosidům bylo navázat na studii zabývající se syntézou a studiem biologické aktivity 2,6,9-trisubstituovaných purinů nesoucích ve své molekule adamantanový motiv.

Na základě poznatků získaných během rešeršního průzkumu byla vytvořena předběžná posloupnost reakcí, které bude nutné v rámci plánované multikrokové syntézy provést, stejně jako následně experimentálně ověřit ony vybrané metody pro přípravu jednotlivých komponent, a sice výchozích sloučenin, modelových purinových derivátů a adamantylem modifikovaných purinů.

Série optimalizačních reakcí na modelových sloučeninách by měla vést k nalezení použitelných glykosylačních podmínek, aby pak jejich prostřednictvím a vzájemnou kompletací předchystaných stavebních jednotek mohly být úspěšně obdrženy tzv. prekurzory nukleosidů. Odblokováním těchto prekurzorů budou pak získány finální 6-substituované a 2,6-disubstituované purinové nukleosidy s případnou možností dalších modifikací na purinové bázi.

Závěrečným krokem bude u připravených látek provedena kompletní charakterizace pomocí metod strukturní analýzy a také screening a vyhodnocení jejich případné biologické aktivity na vybraných buněčných cílech.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6 PŘÍSTROJE A METODY INSTRUMENTÁLNÍ ANALÝZY A DALŠÍ VYBAVENÍ

Teploty tání (t_f) byly měřeny na Koflerově bloku a nejsou korigovány.

Elementární analýzy (EA) prvků C, H, N byly zjišťovány na přístroji Flash EA 1112 Automatic Elemental Analyzer od firmy Thermo Fischer Scientific.

Retenční faktory (R_f) byly určeny pomocí chromatografie na tenké vrstvě (TLC) za použití destiček typu TLC Silica gel 60F₂₅₄ (Merck KgaA). Jako mobilní fáze byly používány následující směsi v objemových poměrech (v:v) – soustava **a**: CHCl₃:EtOAc (7:3); soustava **b**: CHCl₃:MeOH (5:1); soustava **c**: CHCl₃:MeOH (8:1); soustava **d**: CHCl₃:MeOH (12:1); soustava **e**: CHCl₃:EtOH (19:1); soustava **f**: CHCl₃:EtOH (4:1); soustava **g**: PE:EtOAc (1:1); soustava **h**: PE:EtOAc (8:1); soustava **i**: EtOAc:MeOH (9:1).

Spektra nukleární magnetické rezonance (NMR) byla měřena na přístroji Bruker Avance III 500 při frekvenci 500,13 MHz (¹H) a 125,77 MHz (¹³C) a jako interní standard bylo používáno rozpouštědlo: pro ¹H δ (reziduální DMSO-*d*₅) = 2,50 ppm; pro ¹³C δ (DMSO-*d*₆) = 39,52 ppm. Při interpretaci protonových spekter bylo použito následujících zkratk: s = singlet, d = dublet, dd = dublet dubletů, ddd = dublet dubletů dubletů, t = triplet, m = multiplet.

Infračervená spektra (IR) byla měřena na spektrometru Nicolet iS10 FTIR nebo FTIR Bruker ALPHA-T v podobě KBr tablet. Vyhodnocení spekter bylo provedeno pomocí zkratk pro intenzitu absorpčního pásu: w = slabá, m = střední, s = silná; případně pro jeho šířku: b = široký pás. Hodnoty vlnočtu jsou uvedeny v cm⁻¹.

Kvantitativní analýza některých reakčních směsí byla provedena pomocí plynového chromatografu Shimadzu GCMS-QP2010 spojeného s kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem. Bližší specifikace parametrů měření: chromatografická kolona Equity-1 (30 m; 0,32 mm; 1 μ m); nosný plyn: helium (konstantní průtok 203 cm³·s⁻¹); teplotní program: 100 °C/7 min, 25 °C/min zvýšení na teplotu 250 °C, která byla držena patřičně dlouhou dobu; teplota nástřiku: 250 °C; iontový zdroj: 200 °C, 70 eV. Během analýzy hmotnostních spekter byly brány v úvahu signály s relativním zastoupením alespoň 5 %, což neplatilo pro molekulové ionty. Charakterizace vybraných fragmentů pozorovaných v hmotnostních spektrech je uváděna v závorce za hodnotou *m/z*.

Na hmotnostním spektrometru s iontovou pastí amaZon X (Bruker Daltonics) vybaveném elektrosprejovým ionizačním zdrojem byly prováděny ESI-IT-MS analýzy. Veškerá měření byla provedena jak v pozitivním, tak v negativním skenovacím módu. Do iontového zdroje byly vzorky přiváděny v podobě roztoku MeOH:H₂O (1:1, v:v) o koncentraci 0,5 μ g·ml⁻¹ kovovou kapilárou při konstantním průtoku 3 μ l·min⁻¹. Ostatní parametry: napětí na kapiláře: -4,2 kV; teplota sušícího plynu (220 °C); průtok sušícího plynu (6 dm³·min⁻¹); tlak rozprašovacího plynu (55,16 kPa). Jako sušící a rozprašovací plyn byl použit dusík. Případné další parametry byly optimalizovány během jednotlivých experimentů. Tandemová

hmotnostní spektra byla po izolaci příslušného iontu měřena pomocí kolizí indukované disociace (CID). Jako kolizní plyn bylo použito helium.

Difrakční analýza monokrystalů pomocí Röntgenova záření byla provedena na difraktometru Kuma KM-4-CCD, struktura byla následně řešena v programu SHELXS97 a graficky zpracována pomocí programu ORTEP-3 na Ústavu chemie, Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně, pod vedením doc. Mgr. Marka Nečase, Ph.D.

Reaktanty 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranosa (Sigma Aldrich), 2,6-dichlor-9*H*-purin (ApliChem) a trimethylsilyl trifluoromethansulfonát (Sigma Aldrich), silylační činidlo *N,O*-bis(trimethylsilyl)acetamid (Sigma Aldrich) a použitá rozpouštědla byly zakoupeny z komerčních zdrojů a před jejich použitím nebyly dále upravovány ani čištěny.

7 MULTIKROKOVÁ SYNTÉZA PURINOVÝCH NUKLEOSIDŮ, CHARAKTERISTIKA ZÍSKANÝCH SLOUČENIN A TESTY BIOLOGICKÉ AKTIVITY

7.1 Příprava aromatických aminů na bázi adamantanu

Aromatické aminy na bázi adamantanu byly připraveny dle pracovních postupů vytvořených, optimalizovaných a publikovaných naší výzkumnou skupinou.¹⁸⁵

7.1.1 Nitrace (1-adamantyl)(fenyl)methanonu

Nitrace byla provedena ve dvouplášťovém reaktoru (50 cm³) napojeném na externí chladicí systém a předem vychlazeném na teplotu -15 °C. Do takto nachystaného reaktoru bylo nadávkováno 10 cm³ acetanhydridu. Po vytemperování acetanhydridu na požadovanou teplotu byl velmi pomalým přikapáváním nitrační směsí (4,1 cm³ kyseliny dusičné a 0,2 cm³ kyseliny sírové) připraven „*in situ*“ acetylnitrát. Během postupného přidávání směsi kyselin nesměla teplota v reaktoru přesáhnout 10 °C. Po přidání celého množství nitrační směsí (do 60 minut) byl do reaktoru postupně dávkován (cca 20 minut) předem připravený roztok (1-adamantyl)(fenyl)methanonu (1,01 g, 4,16 mmol) ve 3 cm³ acetanhydridu. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC, jež po 30–60 minutách od přidání veškeré výchozí látky indikovala její spotřebování. Reakční směs byla nalita na 100 cm³ ledové tříště a po jejím roztátí byla vodná vrstva extrahována 8 × 20 cm³ diethyletheru. Spojené organické podíly byly promývány 1,16M roztokem uhličitanu draselného, dokud se uvolňoval oxid uhličitý, a pak sušeny nad bezvodým síranem sodným nejméně 48 hodin. Surový produkt byl získán odpařením rozpouštědla na rotační vakuové odparce (RVO).

Název (číslo): (1-adamantyl)(4-nitrofenyl)methanon (**1**)

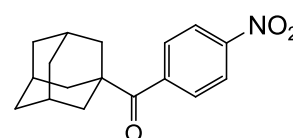
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava **h**)

Vzhled: bezbarvý krystalický prášek

Výtěžek: 364 mg (31 %)

Teplota tání: 118–128 °C

Retenční faktor: 0,36 soustava **h**



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,66–1,72 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,89–1,90 (m, 6H, CH₂(Ad)), 2,02 (m, 3H, CH(Ad)), 7,73 (d, *J* = 8,80 Hz, 2H, Ph), 8,27 (d, *J* = 8,85 Hz, 2H, Ph) ppm. **¹³C NMR** (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 27,8 (3CH₂(Ad)), 36,3 (3CH(Ad)), 38,4 (3CH₂(Ad)), 46,7 (C(Ad)), 123,7 (2CH(Ph)), 128,3 (2CH(Ph)), 145,8 (C(Ph)), 148,4 (C(Ph)), 209,4 (PhCOAd) ppm.

IR (KBr): 2907 (s), 2851 (s), 1689 (s), 1600 (m), 1522 (s), 1454 (m), 1347 (s), 1273 (m), 1242 (m), 990 (m), 856 (s), 829 (m), 809 (m), 713 (m), 696 (m) cm⁻¹.

GC-EI-MS (*t*_R = 22,89 min), *m/z* (%): 44 (35), 67 (71), 73 (39), 79 (69), 81 (86), 91 (36), 93 (37), 95 (100), 105 (24), 106 (8), 107 (96), 129 (60), 135 (Ad, 40), 145 (66), 285 (M⁺, 12).

EA C₁₇H₁₉NO₃: vypočteno: C 71,56 %; H 6,71 %; N 4,91 %
nalezeno: C 71,35 %; H 6,74 %; N 4,82 %

Název (číslo): (1-adamantyl)(3-nitrofenyl)methanon (**2**)

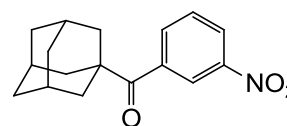
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava **h**)

Vzhled: bezbarvý krystalický prášek

Výtěžek: 341 mg (29 %)

Teplota tání: 81–82 °C

Retenční faktor: 0,29 soustava **h**



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,67–1,73 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,93–1,94 (m, 6H, CH₂(Ad)), 2,03 (m, 3H, CH(Ad)), 7,76 (t, *J* = 7,90 Hz, 1H, Ph), 8,01 (d, *J* = 8,05 Hz, 1H, Ph), 8,25 (s, 1H, Ph), 8,33 (d, 1H, *J* = 6,85 Hz, Ph) ppm. **¹³C NMR** (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 27,3 (CH₂(Ad)), 35,8 (CH(Ad)), 39,3 (CH₂(Ad)), 46,3 (C(Ad)), 121,4 (CH(Ph)), 124,7 (CH(Ph)), 130,0 (CH(Ph)), 133,0 (CH(Ph)), 140,2 (C(Ph)), 147,4 (C(Ph)), 207,3 (PhCOAd) ppm.

IR (KBr): 2961 (bs), 2849 (bs), 1749 (m), 1664 (s), 1611 (m), 1528 (s), 1453 (m), 1349 (s), 1279 (w), 1231 (m), 1000 (m), 903 (w), 803 (w), 711 (m), 674 (w) cm⁻¹.

GC-MS (*t_R* = 0,36 min), *m/z* (%): 41 (13), 43 (10), 55 (10), 57 (6), 60 (5), 67 (9), 69 (5), 73 (6), 77 (9), 79 (22), 81 (7), 91 (7), 93 (19), 104 (5), 107 (11), 135 (Ad, 100), 136 (AdH, 11), 285 (M⁺, 1).

EA C₁₇H₁₉NO₃: vypočteno: C 71,56 %; H 6,71 %; N 4,91 %
nalezeno: C 71,62 %; H 6,74 %; N 4,83 %

7.1.2 Redukce nitroketonů na aminoketony

Do roztoku vzniklého rozpuštěním příslušného (1-adamantyl)(nitrofenyl)ketonu (2,27 mmol) v 65 cm³ methanolu bylo přidáno 13 cm³ kyseliny chlorovodíkové (1:1, *v:v*) a první dávka jemného práškového železa (281,5 mg, 3,02 mmol). Reakční směs byla přivedena k varu, refluxována a průběh reakce byl pravidelně sledován pomocí TLC. Vždy po spotřebování jedné dávky železa byla přidána další (~3,02 mmol) do okamžiku, kdy TLC indikovala doreagování výchozí látky. Poté byla reakční směs zneutralizována 5% roztokem hydroxidu sodného (~50 cm³) a vzniklý vodný podíl byl extrahován 9 × 20 cm³ diethyletheru. Spojené organické podíly byly promyty nasyceným roztokem chloridu sodného (3 × 10 cm³) a sušeny nad síranem sodným. Po odpaření rozpouštědla na RVO byl získán surový produkt.

Název (číslo): (1-adamantyl)(4-aminofenyl)methanon (**3**)

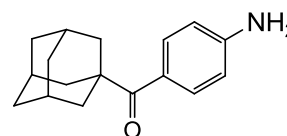
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava **g**)

Vzhled: nažloutlý krystalický prášek

Výtěžek: 494 mg (85 %)

Teplota tání: 81–87 °C

Retenční faktor: 0,49 soustava **g**



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,70–1,76 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,97–1,98 (m, 6H, CH₂(Ad)), 2,02 (m, 3H, CH(Ad)), 5,81 (s, 2H, NH₂), 6,53 (d, *J* = 8,65 Hz, 2H, Ph), 7,67 (d, *J* = 8,70 Hz, 2H, Ph) ppm. **¹³C NMR** (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 27,7 (CH₂(Ad)), 36,4 (CH(Ad)), 38,6 (CH₂(Ad)), 46,6 (C(Ad)), 122,9 (CH(Ph)), 128,1 (CH(Ph)), 143,5 (C(Ph)), 148,4 (C(Ph)), 209,3 (PhCOAd) ppm.

IR (KBr): 3463 (bs), 2902 (s), 2848 (s), 1629 (s), 1594 (s), 1562 (s), 1513 (m), 1452 (m), 1320 (m), 1270 (s), 1241 (s), 1172 (s), 987 (m), 836 (m), 611 (m) cm⁻¹.

GC-MS (t_R = 23,37 min), *m/z* (%): 41 (6), 65 (13), 77 (5), 79 (11), 92 (13), 93 (10), 120 (100), 121 (8), 135 (Ad, 12), 255 (M⁺, 6).

EA C₁₇H₂₁NO: vypočteno: C 79,96 %; H 8,29 %; N 5,49 %
nalezeno: C 80,12 %; H 8,15 %; N 5,58 %

Název (číslo): (1-adamantyl)(3-aminofenyl)methanon (**4**)

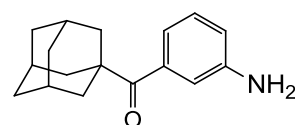
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava **g**)

Vzhled: bezbarvý krystalický prášek

Výtěžek: 452 mg (78 %)

Teplota tání: 95–102 °C

Retenční faktor: 0,46 soustava **g**



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,66–1,72 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,89–1,90 (m, 6H, CH₂(Ad)), 2,01 (m, 3H, CH(Ad)), 5,21 (s, 2H, NH₂), 6,63 (d, 1H, *J* = 1,95 Hz, Ph), 6,65 (d, 1H, *J* = 2,00 Hz, Ph), 6,72 (s, 1H, Ph), 7,04 (t, *J* = 7,75 Hz, 1H, Ph) ppm.

¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 27,8 (CH₂(Ad)), 36,2 (CH(Ad)), 38,7 (CH₂(Ad)), 46,8 (C(Ad)), 121,9 (CH(Ph)), 125,1 (CH(Ph)), 129,9 (CH(Ph)), 133,6 (CH(Ph)), 143,6 (C(Ph)), 146,8 (C(Ph)), 207,2 (PhCOAd) ppm.

IR (KBr): 3473 (bs), 2900 (s), 2850 (s), 1662 (s), 1625 (s), 1592 (s), 1492 (m), 1446 (s), 1320 (s), 1295 (m), 1218 (s), 1178 (m), 991 (m), 792 (m), 647 (m) cm⁻¹.

GC-MS (t_R = 21,36 min), *m/z* (%): 41 (11), 55 (9), 65 (23), 67 (9), 77 (8), 79 (31), 81 (6), 92 (29), 93 (34), 107 (11), 120 (17), 135 (Ad, 100), 136 (AdH, 9), 227 (6), 255 (M⁺, 20).

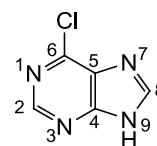
EA C₁₇H₂₁NO: vypočteno: C 79,96 %; H 8,29 %; N 5,49 %
nalezeno: C 79,82 %; H 8,17 %; N 5,62 %

7.2 Chlorace hypoxanthinu

6-Chlor-9*H*-purin (**5**) byl připraven modifikovaným postupem převzatým z literatury.¹⁸⁸ Hypoxanthin (200 mg, 1,47 mmol) byl rozmíchán v dimethylanilinu (DMA; 2,3 cm³, 0,2 mmol) za vzniku smetanové suspenze, k níž byl na ledové lázni při teplotě 0 °C pomalu přikapáván fosforyl chlorid (15 cm³). Po přidání celého množství fosforyl chloridu byla reakční směs přivedena k varu a refluxována pod ochrannou argonovou atmosférou za postupného viditelného rozpouštění hypoxanthinu. Reakce, během níž došlo ke změně barvy reakční směsi z původně zelenožluté na tmavě červenou, byla monitorována pomocí TLC a ukončena po spotřebování výchozí látky. Po ochlazení bylo z reakční směsi na RVO odpařeno

co největší množství fosforyl chloridu a získaný temně zelený olej byl nalit na ledovou tříšť (cca 80 cm³). Po roztátí ledu byla směs zneutralizována přidávkem vodného amoniaku (9 cm³), čímž došlo opět ke změně barvy, a to na tmavě modrou vlivem uvolnění krystalové violeti (C.I. 42 555, CAS 548-62-9). Vodná fáze byla extrahována 3 × 5 cm³ chloroformu právě z důvodu odstranění violeti a následně odpařena na RVO. Nažloutlý krystalický odparek byl za horka opakovaně promýván acetonitrilem, dokud TLC neindikovala vymytí veškerého produktu z anorganického podílu. Zfiltrované a spojené acetonitrilové extrakty byly odpařeny na RVO za obdržení surového produktu coby žlutého krystalického prášku.

Název (číslo): 6-chlor-9*H*-purin (**5**)
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava **b**)
Vzhled: žlutý krystalický prášek
Výtěžek: 187 mg (82 %)
Teplota tání: 212–214 °C
Retenční faktor: 0,42 soustava **b**



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 8,44 (s, 1H, C²H), 8,63 (d, 1H, *J* = 6,51 Hz, C⁸H) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): 129,3 (C), 145,3 (C), 147,9 (C), 151,8 (C), 153,8 (C) ppm.

IR (KBr): 3064 (m), 2934 (m), 2804 (m), 1604 (m), 1573 (s), 1549 (m), 1445 (m), 1390 (s), 1325 (s), 1285 (s), 1234 (m), 988 (m), 850 (m), 693 (m), 604 (m) cm⁻¹.

DI-EI-MS (200 °C, 70 eV): 40 (6), 42 (6), 43 (23), 44 (21), 45 (40), 46 (13), 51 (6), 52 (13), 60 (19), 64 (11), 65 (29), 66 (7), 67 (8), 73 (28), 74 (7), 85 (10), 92 (36), 99 (13), 119 (100), 120 (7), 135 (11), 147 (6), 154 (97), 155 (7), 156 (30) *m/z* (%).

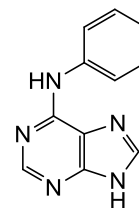
ESI-MS (poz) *m/z* (%): 193,1 [M(³⁵Cl)+K⁺]⁺ (24), 177,1 [M(³⁵Cl)+Na⁺]⁺ (19), 155,1 [M(³⁵Cl)+H⁺]⁺ (100). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 153,0 [M(³⁵Cl)-H⁺]⁻ (100).

EA C₅H₃ClN₄: vypočteno: C 38,86 %; H 1,96 %; N 36,25 %
nalezeno: C 38,52 %; H 2,14 %; N 36,38 %

7.3 Nukleofilní substituce atomu chloru v poloze C6 purinového skeletu

6-Chlor-9*H*-purin (**5**) (202 mg, 1,30 mmol) byl rozpuštěn v 10 cm³ propan-2-olu, do vzniklého roztoku byl přidán příslušný aromatický amin ve dvoumolárním přebytku a reakční směs byla přivedena k varu. Po 15–45 minutách byl pozorován vznik nažloutlé sraženiny a reakční směs byla nadále refluxována dokud TLC neindikovala spotřebování veškeré výchozí látky. Suspenze byla ochlazená na laboratorní teplotu, žlutá sraženina odfiltrována a několikrát promyta ledovým propan-2-olem pro důkladné vymytí přebytečného volného aminu.¹⁸⁹

Název (číslo): *N*-fenyl-9*H*-purin-6-amin (**9**)
Purifikace: krystalizace (MeOH / CHCl₃)
Vzhled: žlutý krystalický prášek
Výtěžek: 265 mg (96 %)
Teplota tání: 288–290 °C
Retenční faktor: 0,41 soustava c



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 7,22 (t, 1H, *J* = 7,25 Hz, Ph), 7,45 (t, 2H, *J* = 7,35 Hz, Ph), 7,92 (d, 2H, *J* = 7,67 Hz, Ph), 8,75 (s, 1H, C²H), 8,83 (d, 1H, C⁸H), 11,65 (s, 1H, C⁶NH) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 121,3 (CH(Ph)), 124,8 (CH(Ph)), 128,9 (CH(Ph)), 137,7 (C(Ph)), 143,3 (C), 148,4 (C), 149,6 (C) ppm.

IR (KBr): 3104 (s), 2976 (s), 2613 (m), 1652 (s), 1617 (s), 1594 (s), 1500 (s), 1440 (s), 1390 (s), 1216 (m), 908 (w), 754 (m), 686 (m), 615 (m), 590 (m) cm⁻¹.

DI-EI-MS (200 °C, 70 eV): 43 (6), 44 (17), 50 (6), 51 (22), 52 (5), 53 (6), 65 (18), 66 (11), 76 (5), 77 (33), 78 (5), 92 (17), 93 (7), 103 (8), 104 (7), 105 (6), 129 (7), 156 (8), 210 (100), 211 (54), 212 (7) *m/z* (%).

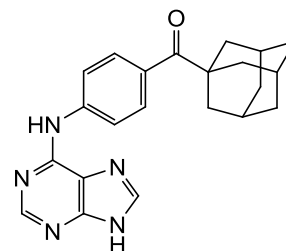
ESI-MS (poz) *m/z* (%): 212,2 [M+H]⁺ (100). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 210,1 [M-H]⁻ (100).

EA C₁₁H₉N₅: vypočteno: C 62,55 %; H 4,29 %; N 33,16 %
nalezeno: C 62,57 %; H 4,11 %; N 33,06 %

Sloučeniny **10** a **11** byly rovněž připraveny z 6-chlor-9*H*-purinu (**5**) o výchozích navážkách 268 mg (1,73 mmol) a 271 mg (1,75 mmol).

Název (číslo): (1-adamantyl){4-[(9*H*-purin-6-yl)amino]fenyl}methanon (**10**)

Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava c)
Vzhled: žlutý krystalický prášek
Výtěžek: 624 mg (96 %)
Teplota tání: 317–318 °C
Retenční faktor: 0,50 soustava c



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,72 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,97 (m, 6H, CH₂(Ad)), 2,02 (m, 3H, CH(Ad)), 7,78 (d, 2H, *J* = 7,35 Hz, Ph), 8,04 (d, 2H, *J* = 7,35 Hz, Ph), 8,77 (s, 1H, C²H), 8,88 (s, 1H, C⁸H), 11,65 (s, 1H, C⁶NH) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 27,6 (CH₂(Ad)), 36,0 (CH(Ad)), 38,6 (CH₂(Ad)), 46,1 (C(Ad)), 113,2 (CH(Ph)), 119,9 (CH(Ph)), 128,8 (CH(Ph)), 133,7 (C(Ph)), 140,4 (C), 143,1 (C), 149,0 (C), 149,3 (C), 149,5 (C), 206,7 (PhCOAd) ppm.

IR (KBr): 2904 (s), 2850 (m), 1628 (s), 1589 (s), 1533 (m), 1479 (s), 1411 (m), 1358 (m), 1323 (m), 1273 (m), 1238 (s), 1174 (m), 929 (w), 750 (w), 644 (w) cm⁻¹.

ESI-MS (poz) *m/z* (%): 747,2 [2·M+H]⁺ (5), 412,2 [M+K]⁺ (4), 396,3 [M+Na]⁺ (9), 374,3 [M+H]⁺ (100). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 781,3 [2·M+Cl]⁻ (14), 745,3 [2·M-H]⁻ (7), 408,2 [M+Cl]⁻ (20), 372,2 [M-H]⁻ (100).

EA C₂₂H₂₃N₅O: vypočteno: C 70,76 %; H 6,21 %; N 18,75 %
nalezeno: C 70,42 %; H 5,93 %; N 18,86 %

Název (číslo): (1-adamantyl){3-[(9*H*-purin-6-yl)amino]fenyl}methanon
(11)

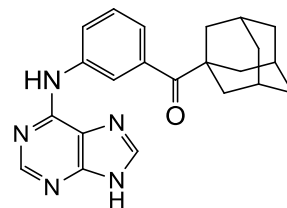
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava c)

Vzhled: nažloutlý krystalický prášek

Výtěžek: 596 mg (91 %)

Teplota tání: 309–315 °C

Retenční faktor: 0,47 soustava c



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,72 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,97 (m, 6H, CH₂(Ad)), 2,03 (m, 3H, CH(Ad)), 7,36 (d, 1H, *J* = 6,45 Hz, Ph), 7,50 (t, 1H, *J* = 1,35 Hz, Ph), 8,10 (d, 1H, *J* = 7,05 Hz, Ph), 8,27 (s, 1H, Ph), 8,73 (s, 1H, C²H), 8,81 (s, 1H, C⁸H), 11,62 (s, 1H, C⁶NH) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 27,5 (CH₂(Ad)), 35,9 (CH(Ad)), 38,5 (CH₂(Ad)), 46,2 (C(Ad)), 113,3 (CH(Ph)), 119,4 (CH(Ph)), 122,6 (CH(Ph)), 122,9 (CH(Ph)), 128,8 (CH(Ph)), 137,8 (C(Ph)), 139,1 (C), 143,0 (C), 148,9 (C), 149,1 (C), 149,8 (C), 208,0 (PhCOAd) ppm.

IR (KBr): 2906 (s), 2852 (m), 1666 (s), 1574 (s), 1496 (s), 1433 (s), 1387 (m), 1346 (m), 1269 (m), 1250 (m), 1211 (m), 1128 (w), 997 (w), 784 (w), 611 (w) cm⁻¹.

ESI-MS (poz) *m/z* (%): 747,3 [2·M+H⁺]⁺ (5), 412,2 [M+K⁺]⁺ (5), 396,3 [M+Na⁺]⁺ (8), 374,3 [M+H⁺]⁺ (100). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 781,3 [2·M+Cl⁻]⁻ (14), 745,3 [2·M-H⁺]⁻ (9), 408,2 [M+Cl⁻]⁻ (31), 372,2 [M-H⁺]⁻ (100).

EA C₂₂H₂₃N₅O: vypočteno: C 70,76 %; H 6,21 %; N 18,75 %
nalezeno: C 70,94 %; H 6,39 %; N 18,55 %

Látky **12**, **13** a **14** byly syntetizovány obdobným postupem, ovšem z komerčního 2,6-dichlor-9*H*-purinu o navážkách 200 mg (1,06 mmol), 70 mg (0,37 mmol) a 60 mg (0,32 mmol).

Název (číslo): *N*-fenyl-2-chlor-9*H*-purin-6-amin (**12**)

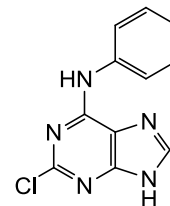
Purifikace: krystalizace (CHCl₃)

Vzhled: žlutý krystalický prášek

Výtěžek: 247 mg (95 %)

Teplota tání: 322–329 °C

Retenční faktor: 0,52 soustava c



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 7,08 (t, 1H, *J* = 7,35 Hz, Ph), 7,36 (t, 2H, *J* = 7,45 Hz, Ph), 7,84 (d, 2H, *J* = 7,80 Hz, Ph), 8,29 (d, 1H, C⁸H), 10,12 (s, 1H, C⁶NH), 13,25 (s, 1H, N⁹H) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 121,5 (CH(Ph)), 123,8 (CH(Ph)), 129,0 (CH(Ph)), 139,4 (C(Ph)), 141,5 (C), 152,2 (C), 152,6 (C) ppm.

IR (KBr): 3040 (m, b), 2782 (m, b), 1634 (s), 1561 (s), 1496 (s), 1434 (s), 1254 (s), 1177 (m), 1102 (m), 960 (m), 938 (m), 730 (m), 684 (m), 611 (m), 557 (m) cm⁻¹.

ESI-MS (poz) *m/z* (%): 268,0 [M(³⁵Cl)+Na⁺]⁺ (69), 246,0 [M(³⁵Cl)+H⁺]⁺ (100). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 243,8 [M(³⁵Cl)-H⁺]⁻ (100).

EA C₁₁H₈ClN₅: vypočteno: C 53,78 %; H 3,28 %; N 28,51 %
nalezeno: C 53,68 %; H 3,26 %; N 28,40 %

Název (číslo): (1-adamantyl){4-[(2-chlor-9H-purin-6-yl)amino]fenyl} methanon (13)

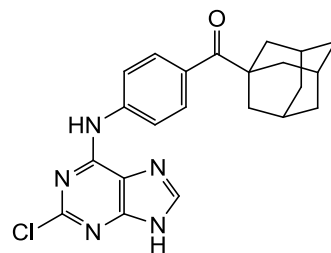
Purifikace: krystalizace (MeOH) / sloupcová chromatografie (soustava d)

Vzhled: bezbarvý krystalický prášek

Výtěžek: 123 mg (94 %)

Teplota tání: 292–298 °C

Retenční faktor: 0,30 soustava d



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,70–1,76 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,98 (m, 6H, CH₂(Ad)), 2,03 (m, 3H, CH(Ad)), 7,75 (d, 2H, *J* = 6,45 Hz, Ph), 7,98 (d, 2H, *J* = 6,45 Hz, Ph), 8,33 (s, 1H, C⁸H), 10,46 (s, 1H, C⁶NH), 13,38 (s, 1H, N⁹H) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 27,7 (CH₂(Ad)), 36,0 (CH(Ad)), 38,7 (CH₂(Ad)), 46,0 (C(Ad)), 119,5 (CH(Ph)), 128,8 (CH(Ph)), 132,4 (CH(Ph)), 140,4 (C(Ph)), 141,5 (C), 142,9 (C), 149,0 (C), 149,2 (C), 149,5 (C), 206,3 (PhCOAd) ppm.

IR (KBr): 2906 (s), 2850 (m), 1649 (m), 1626 (m), 1585 (s), 1572 (s), 1533 (m), 1460 (s), 1412 (w), 1321 (s), 1236 (s), 1174 (m), 930 (m), 805 (w), 627 (m) cm⁻¹.

ESI-MS (poz) *m/z* (%): 853,1 [2·M(³⁵Cl)+K⁺]⁺ (5), 837,2 [2·M(³⁵Cl)+Na⁺]⁺ (33), 446,1 [M(³⁵Cl)+K⁺]⁺ (63), 430,1 [M(³⁵Cl)+Na⁺]⁺ (100), 408,1 [M(³⁵Cl)+H⁺]⁺ (18).

ESI-MS (neg) *m/z* (%): 813,1 [2·M(³⁵Cl)-H⁺]⁻ (8), 406,1 [M(³⁵Cl)-H⁺]⁻ (100).

EA C₂₂H₂₂ClN₅O: vypočteno: C 64,78 %; H 5,44 %; N 17,17 %
nalezeno: C 64,75 %; H 5,19 %; N 17,47 %

Název (číslo): (1-adamantyl){3-[(2-chlor-9H-purin-6-yl)amino]fenyl} methanon (14)

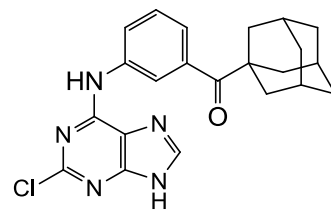
Purifikace: krystalizace (*i*-PrOH) / sloupcová chromatografie (soustava d)

Vzhled: žlutý krystalický prášek

Výtěžek: 136 mg (90 %)

Teplota tání: 332–338 °C

Retenční faktor: 0,44 soustava d



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,73 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,99 (m, 6H, CH₂(Ad)), 2,04 (m, 3H, CH(Ad)), 7,21 (d, 1H, *J* = 7,65 Hz, Ph), 7,43 (t, 1H, *J* = 7,90 Hz, Ph), 7,91 (d, 1H, *J* = 6,55 Hz, Ph), 8,32 (s, 1H, Ph), 8,34 (s, 1H, C⁸H), 10,35 (s, 1H, C⁶NH), 13,35 (s, 1H, N⁹H) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 27,5 (CH₂(Ad)), 35,9 (CH(Ad)), 38,5 (CH₂(Ad)), 46,1 (C(Ad)), 119,2 (CH(Ph)), 122,1 (CH(Ph)), 122,6 (CH(Ph)), 128,6 (CH(Ph)), 138,3 (C(Ph)), 138,9 (C(Ph)), 152,0 (C), 208,3 (PhCOAd) ppm.

IR (KBr): 3345 (s), 2901 (m), 1662 (m), 1627 (s), 1583 (s), 1480 (m), 1430 (m), 1391 (w), 1348 (m), 1310 (s), 1243 (m), 1108 (w), 952 (m), 788 (m), 638 (w) cm⁻¹.

ESI-MS (poz) *m/z* (%): 837,2 [2·M(³⁵Cl)+Na⁺]⁺ (14), 446,1 [M(³⁵Cl)+K⁺]⁺ (38), 430,1 [M(³⁵Cl)+Na⁺]⁺ (100), 408,1 [M(³⁵Cl)+H⁺]⁺ (26). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 813,1 [2·M(³⁵Cl)-H⁺]⁻ (9), 406,0 [M(³⁵Cl)-H⁺]⁻ (100).

EA C₂₂H₂₂ClN₅O: vypočteno: C 64,78 %; H 5,44 %; N 17,17 %
nalezeno: C 64,54 %; H 5,42 %; N 17,36 %

7.4 Redukce karbonylové skupiny u purinových derivátů 10 a 11

Purinový derivát **10** (250 mg, 0,67 mmol) byl rozmíchán ve 4 cm³ ethanolu. K nažloutlé suspenzi ochlazené v ledové lázni na 0 °C byl jednorázově přidán tetrahydridboritan sodný (31 mg, 0,83 mmol) a reakční směs byla dále intenzivně míchána za laboratorní teploty, dokud TLC neindikovala spotřebování výchozí látky, k čemuž došlo v průběhu dalších 24 hodin.¹⁸⁵ Po ukončení reakce byla směs opatrně zneutralizována cca 6 cm³ kyseliny chlorovodíkové (1M vodný roztok) za vzniku bezbarvé sraženiny, kterou bylo možné odfiltrovat přes fritu. Pevný podíl byl ještě několikrát promyt vodou a následně přečištěn sloupcovou chromatografií za obdržení bezbarvého krystalického prášku.

Název (číslo): (1-adamantyl){4-[(9*H*-purin-6-yl)amino]fenyl}methanol (**15**)

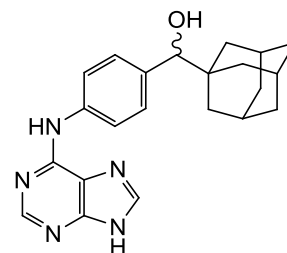
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava c)

Vzhled: bezbarvý krystalický prášek

Výtěžek: 223 mg (88 %)

Teplota tání: >320 °C

Retenční faktor: 0,40 soustava c



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,41–1,53 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,60 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,91 (m, 3H, CH(Ad)), 4,07 (s, 1H, PhCHOHAd), 7,28 (d, 2H, *J* = 8,40 Hz, Ph), 7,82 (d, 2H, *J* = 8,40 Hz, Ph), 8,70 (s, 1H, C²H), 8,74 (s, 1H, C⁸H), 11,38 (s, 1H, C⁶NH) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 27,7 (CH₂(Ad)), 36,7 (CH(Ad)), 36,8 (CH₂(Ad)), 37,8 (C(Ad)), 80,3 (CHOH), 120,0 (CH(Ph)), 128,1 (CH(Ph)), 136,2 (C(Ph)), 138,9 (C(Ph)), 143,0 (C), 148,6 (C), 149,8 (C) ppm.

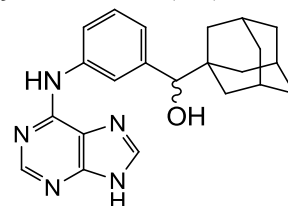
IR (KBr): 2903 (s), 2847 (m), 1652 (s), 1606 (s), 1511 (s), 1436 (s), 1387 (s), 1223 (m), 1126 (m), 1034 (m), 842 (m), 776 (m), 613 (m), 542 (m), 490 (w) cm⁻¹.

ESI-MS (poz) *m/z* (%): 376,3 [M+H]⁺ (100). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 410,2 [M+K]⁻ (16), 374,2 [M-H]⁻ (100).

EA C₂₂H₂₃N₅O: vypočteno: C 70,38 %; H 6,71 %; N 18,65 %
nalezeno: C 70,40 %; H 6,58 %; N 18,98 %

Sloučenina **16** byla připravena shodným postupem z purinu **11** o navážce 300 mg (0,80 mmol).

Název (číslo):	(1-adamantyl){3-[(9 <i>H</i> -purin-6-yl)amino]fenyl}methanol (16)
Purifikace:	sloupcová chromatografie (soustava c)
Vzhled:	bezbarvý krystalický prášek
Výtěžek:	280 mg (93 %)
Teplota tání:	262–267 °C
Retenční faktor:	0,34 soustava c



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,43–1,53 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,62 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,91 (m, 3H, CH(Ad)), 4,07 (s, 1H, PhCHOHAd), 7,08 (d, 1H, *J* = 7,65 Hz, Ph), 7,36 (t, 1H, *J*₁ = 7,75 Hz, *J*₂ = 15,55 Hz, Ph), 7,71 (s, 1H, Ph), 7,83 (d, 1H, *J* = 9,00 Hz, Ph), 8,73 (s, 1H, C²H), 8,78 (s, 1H, C⁸H), 11,49 (s, 1H, C⁶NH) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 27,8 (CH₂(Ad)), 36,7 (CH(Ad)), 36,8 (CH₂(Ad)), 37,9 (C(Ad)), 80,6 (CHOH), 119,8 (CH(Ph)), 121,0 (CH(Ph)), 124,5 (CH(Ph)), 127,4 (CH(Ph)), 136,5 (C(Ph)), 143,3 (C), 143,5 (C), 148,3 (C), 148,4 (C), 149,7 (C) ppm.

IR (KBr): 2902 (s), 2847 (m), 1652 (s), 1603 (s), 1496 (s), 1432 (s), 1391 (s), 1296 (m), 1221 (m), 1126 (w), 1035 (m), 891 (w), 792 (m), 776 (m), 611 (w) cm⁻¹.

ESI-MS (poz) *m/z* (%): 376,3 [M+H]⁺ (100). ESI-MS (neg) *m/z* (%): 410,2 [M+K]⁻ (24), 374,3 [M-H]⁻ (100).

EA C₂₂H₂₃N₅O: vypočteno: C 70,38 %; H 6,71 %; N 18,65 %
nalezeno: C 70,77 %; H 6,69 %; N 18,79 %

7.5 Použité glykosylační metody

Hilbertova–Johnsonova glykosylace⁴¹ (Metoda A)

K bezbarvé suspenzi *N*-fenyl-9*H*-purin-6-aminu (**9**, 50 mg, 0,24 mmol) a komerčně dostupné 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranosy (363 mg, 0,72 mmol) v 5 cm³ bezvodého acetonitrilu byl přes pryžové těsnící septum pomocí injekční stříkačky jednorázově přidán trimethylsilyl trifluoromethansulfonát (TMSOTf; 0,09 cm³, 0,48 mmol). Suspenze se ihned rozpustila a vzniklý lehce nažloutlý roztok byl míchán pod ochrannou argonovou atmosférou po dobu 4–6 hodin při laboratorní teplotě. Jakmile TLC indikovala spotřebování výchozí látky, byla reakce ukončena přidávkem vody (cca 5 cm³) a směs byla míchána dalších 15 minut. Vodný podíl byl extrahován 7 × 10 cm³ ethyl-acetátu. Spojené organické podíly byly promyty 2 × 10 cm³ nasyceného roztoku chloridu sodného, přes noc sušeny nad síranem sodným a poté odpařeny na RVO do sucha. Surový produkt měl po odpaření vzhled nahnědlé krystalické pěny.

Vorbrüggenova glykosylace¹⁹¹ (Metoda B)

Do kapkové baňky o objemu 25 cm³ se suspenzí sloučeniny **9** (50 mg, 0,24 mmol) ve 3 cm³ bezvodého acetonitrilu bylo přes gumové těsnící septum pomocí injekční stříkačky jednorázově přidáno silylační činidlo *N,O*-bis(trimethylsilyl)-acetamid (BSA; 0,10 cm³, 0,48 mmol), načež došlo k okamžitému rozpuštění výchozí látky. Reakční směs byla zahřáta na teplotu 75 °C a takto míchána po dobu 6 hodin. Po uplynutí daného času byla dále do reakce pomalu přidána chráněná ribofuranosa (121 mg, 0,24 mmol) předem rozpuštěná v 1 cm³ bezvodého acetonitrilu a TMSOTf (0,04 cm³, 0,24 mmol). Reakční směs byla míchána za stávajících podmínek ještě další 2–3 hodiny, ovšem od přidavku triflátu byl již průběh reakce sledován pomocí TLC do spotřebování výchozí látky. Poté byla reakční směs ochlazena na laboratorní teplotu, zředěna přidavkem vody (cca 10 cm³) a míchána dalších 15 minut. Vodný podíl byl extrahován 9 × 10 cm³ ethyl-acetátu. Spojené organické podíly byly promyty 2 × 10 cm³ nasyceného roztoku chloridu sodného, přes noc sušeny nad síranem sodným a poté odpařeny na RVO do sucha. Surový produkt měl po odpaření vzhled nahnědlé krystalické pěny.

Název (číslo): *N*-fenyl-9-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranos-1-yl)-9*H*-purin-6-amin (**17**)

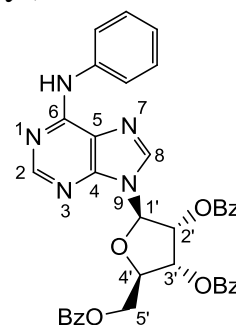
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava e)

Vzhled: bezbarvá krystalická pěna

Výtěžek: 83 mg (54 %, metoda A)
28 mg (18 %, metoda B)

Teplota tání: 75–83 °C

Retenční faktor: 0,68 soustava e



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 4,67–4,70 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 4,81–4,84 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 4,89 (ddd, 1H, *J*₁ = 4,30 Hz, *J*₂ = 9,50 Hz, C^{4'}H(Rib)), 6,31 (dd, 1H, *J*₁ = 5,95 Hz, *J*₂ = 11,90 Hz, C^{3'}H(Rib)), 6,55 (dd, 1H, *J*₁ = 5,00 Hz, *J*₂ = 10,65 Hz, C^{2'}H(Rib)), 6,63 (d, 1H, *J* = 4,40 Hz, C^{1'}H(Rib)), 7,06 (t, 1H, *J* = 7,35 Hz, Ph), 7,34 (t, 2H, *J* = 7,65 Hz, Ph), 7,45–7,50 (m, 6H, Bz), 7,63–7,68 (m, 3H, Bz), 7,89–7,96 (m, 6H, Bz), 8,00 (d, 2H, *J* = 7,05 Hz, Ph), 8,32 (s, 1H, C²H), 8,57 (s, 1H, C⁸H), 9,96 (s, 1H, C⁶NH) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 63,2 (CH(Rib)), 70,7 (CH(Rib)), 73,1 (CH(Rib)), 79,2 (CH(Rib)), 86,5 (CH(Rib)), 120,4 (CH(Ph)), 121,0 (CH(Ph)), 122,8 (CH(Ph)), 128,3 (CH(Bz)), 128,5 (CH(Ph)), 128,6 (CH(Bz)), 128,7 (CH(Bz)), 129,2 (CH(Bz)), 129,3 (CH(Bz)), 133,4 (C(Bz)), 133,8 (C(Bz)), 133,9 (C(Bz)), 139,4 (C), 141,2 (C), 149,1 (C), 152,2 (C), 164,5 (CO(Bz)), 164,6 (CO(Bz)), 165,4 (CO(Bz)) ppm.

IR (KBr): 3348 (w, b), 3059 (w), 2926 (w), 1727 (s), 1622 (s), 1583 (s), 1477 (m), 1374 (m), 1268 (s), 1178 (m), 1122 (s), 1026 (m), 751 (w), 710 (s), 645 (w) cm⁻¹.

ESI-MS (poz) *m/z* (%): 694,2 [M+K⁺]⁺ (5), 678,3 [M+Na⁺]⁺ (12), 656,3 [M+H⁺]⁺ (100). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 654,2 [M-H⁺]⁻ (100).

EA C₃₇H₂₉N₅O₇: vypočteno: C 67,78 %; H 4,46 %; N 10,68 %
nalezeno: C 67,90 %; H 4,42 %; N 10,78 %

Sloučeniny **20** a **21** byly získány výše popsanou metodou **A** z látek **10** o navážce 102 mg (0,27 mmol) a **11** o navážce 101 mg (0,27 mmol).

Název (číslo): (1-adamantyl){4-[(9-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranos-1-yl)-9*H*-purin-6-yl)amino]fenyl}methanon (**20**)

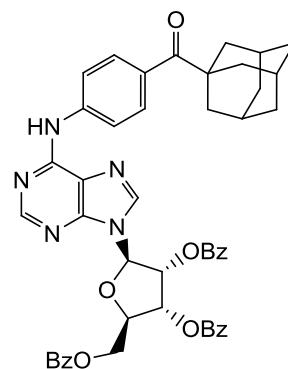
Purifikace: sloupcová chromatografie
(soustava **a**)

Vzhled: bezbarvá krystalická pěna

Výtěžek: 164 mg (73 %)

Teplota tání: 103–113 °C

Retenční faktor: 0,47 soustava **a**



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,68–1,75 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,98 (m, 6H, CH₂(Ad)), 2,02 (m, 3H, CH(Ad)), 4,66–4,69 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 4,81–4,84 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 4,89 (ddd, 1H, $J_1 = 1,70$ Hz, $J_2 = 5,80$ Hz, $J_3 = 8,25$ Hz, C^{4'}H(Rib)), 6,31 (dd, 1H, $J_1 = 6,15$ Hz, $J_2 = 11,95$ Hz, C^{3'}H(Rib)), 6,55 (dd, 1H, $J_1 = 4,60$ Hz, $J_2 = 5,80$ Hz, C^{2'}H(Rib)), 6,65 (d, 1H, $J = 4,25$ Hz, C^{1'}H(Rib)), 7,44–7,52 (m, 6H, Bz), 7,63–7,68 (m, 3H, Bz), 7,77 (d, 2H, $J = 8,85$ Hz, Ph), 7,89–8,01 (m, 6H, Bz), 8,06 (d, 2H, $J = 8,90$ Hz, Ph), 8,37 (s, 1H, C²H), 8,62 (s, 1H, C⁸H), 10,32 (s, 1H, C⁶NH) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 27,7 (CH₂(Ad)), 36,0 (CH(Ad)), 38,8 (CH₂(Ad)), 46,0 (C(Ad)), 61,5 (CH(Rib)), 70,7 (CH(Rib)), 73,1 (CH(Rib)), 85,4 (CH(Rib)), 86,6 (CH(Rib)), 119,5 (CH(Ph)), 120,7 (CH(Ph)), 123,2 (CH(Ph)), 128,5 (CH(Ph)), 128,7 (C(Bz)), 128,8 (C(Bz)), 128,9 (C(Bz)), 129,3 (CH(Bz)), 129,4 (CH(Bz)), 133,5 (C(Bz)), 133,9 (C(Bz)), 134,0 (C(Bz)), 141,8 (C), 149,4 (C), 151,0 (C), 152,0 (C), 152,2 (C), 164,7 (CO (Bz)), 164,9 (CO (Bz)), 165,6 (CO (Bz)), 208,2 (PhCOAd) ppm.

IR (KBr): 2905 (s), 2851 (s), 1729 (s), 1655 (w), 1605 (m), 1580 (s), 1473 (m), 1370 (m), 1270 (s), 1176 (m), 1121 (m), 1094 (m), 1026 (m), 987 (w), 711 (s) cm⁻¹.

ESI-MS (poz) *m/z* (%): 856,3 [M+K⁺]⁺ (6), 840,3 [M+Na⁺]⁺ (16), 818,4 [M+H⁺]⁺ (100). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 816,3 [M-H⁺]⁻ (100).

EA C₄₈H₄₃N₅O₈: vypočteno: C 70,49 %; H 5,30 %; N 8,56 %
nalezeno: C 70,66 %; H 5,27 %; N 8,41 %

Název (číslo): (1-adamantyl){3-[(9-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranos-1-yl)-9*H*-purin-6-yl)amino]fenyl}methanon (**21**)

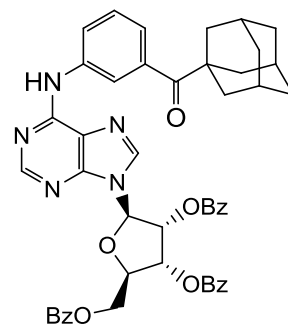
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava **a**)

Vzhled: bezbarvá krystalická pěna

Výtěžek: 130 mg (59 %)

Teplota tání: 94–105 °C

Retenční faktor: 0,50 soustava **a**



$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ 1,69–1,71 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$), 1,96–1,98 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$), 2,03 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$), 4,65–4,69 (m, 1H, $\text{C}^5\text{H}(\text{Rib})$), 4,81–4,84 (m, 1H, $\text{C}^5\text{H}(\text{Rib})$), 4,89 (ddd, 1H, $J_1 = 3,65$ Hz, $J_2 = 8,25$ Hz, $\text{C}^4\text{H}(\text{Rib})$), 6,31 (dd, 1H, $J_1 = 5,85$ Hz, $J_2 = 11,95$ Hz, $\text{C}^3\text{H}(\text{Rib})$), 6,56 (dd, 1H, $J_1 = 4,60$ Hz, $J_2 = 10,40$ Hz, $\text{C}^2\text{H}(\text{Rib})$), 6,65 (d, 1H, $J = 4,55$ Hz, $\text{C}^1\text{H}(\text{Rib})$), 7,22 (d, 1H, $J = 6,45$ Hz, Ph), 7,37–7,57 (m, 6H, Bz), 7,63 (t, 1H, $J = 1,25$ Hz, Ph), 7,64–7,71 (m, 3H, Bz), 7,86–8,01 (m, 6H, Bz), 8,10 (d, 1H, $J = 7,05$ Hz, Ph), 8,30 (s, 1H, Ph), 8,38 (s, 1H, C^2H), 8,60 (s, 1H, C^8H), 10,23 (s, 1H, C^6NH) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ 28,1 ($\text{CH}_2(\text{Ad})$), 36,5 ($\text{CH}(\text{Ad})$), 39,1 ($\text{CH}_2(\text{Ad})$), 46,7 ($\text{C}(\text{Ad})$), 63,3 ($\text{CH}(\text{Rib})$), 70,7 ($\text{CH}(\text{Rib})$), 73,1 ($\text{CH}(\text{Rib})$), 82,9 ($\text{CH}(\text{Rib})$), 86,5 ($\text{CH}(\text{Rib})$), 119,9 ($\text{CH}(\text{Ph})$), 121,1 ($\text{CH}(\text{Ph})$), 123,2 ($\text{CH}(\text{Ph})$), 128,5 ($\text{CH}(\text{Ph})$), 129,0 ($\text{CH}(\text{Bz})$), 129,1 ($\text{CH}(\text{Bz})$), 129,2 ($\text{CH}(\text{Bz})$), 129,3 ($\text{CH}(\text{Bz})$), 129,5 ($\text{CH}(\text{Bz})$), 129,7 ($\text{CH}(\text{Bz})$), 129,8 ($\text{C}(\text{Ph})$), 130,0 ($\text{C}(\text{Ph})$), 134,0 ($\text{C}(\text{Bz})$), 134,4 ($\text{C}(\text{Bz})$), 134,5 ($\text{C}(\text{Bz})$), 139,1 (C), 139,5 (C), 142,1 (C), 149,8 (C), 152,7 (C), 164,5 ($\text{CO}(\text{Bz})$), 164,7 ($\text{CO}(\text{Bz})$), 165,4 ($\text{CO}(\text{Bz})$), 208,1 (PhCOAd) ppm.

IR (KBr): 2905 (s), 2851 (m), 1728 (s), 1667 (w), 1621 (m), 1602 (m), 1580 (s), 1474 (m), 1371 (m), 1270 (s), 1177 (m), 1122 (m), 1026 (m), 998 (w), 711 (s) cm^{-1} .

ESI-MS (poz) m/z (%): 856,3 [$\text{M}+\text{K}^+$] $^+$ (7), 840,3 [$\text{M}+\text{Na}^+$] $^+$ (19), 818,4 [$\text{M}+\text{H}^+$] $^+$ (100). **ESI-MS** (neg) m/z (%): 816,3 [$\text{M}-\text{H}^+$] $^-$ (100).

EA $\text{C}_{48}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_8$: vypočteno: C 70,49 %; H 5,30 %; N 8,56 %
nalezeno: C 70,68 %; H 5,42 %; N 8,48 %

Chráněný nukleosid **18** byl získán glykosylací sloučeniny **12** metodou **A** s navázkou 50 mg (0,20 mmol) i metodou **B** s navázkou 60 mg (0,24 mmol).

Název (číslo): *N*-fenyl-2-chlor-9-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranos-1-yl)-9*H*-purin-6-amin (**18**)

Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava **e**)

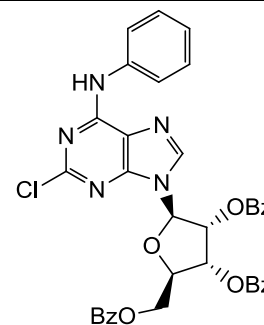
Vzhled: bezbarvá krystalická pěna

Výtěžek: 71 mg (51 %, metoda **A**)

164 mg (97 %, metoda **B**)

Teplota tání: 105–113 °C

Retenční faktor: 0,57 soustava **e**



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 4,68–4,71 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 4,79–4,82 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 4,90 (ddd, 1H, *J*₁ = 4,25 Hz, *J*₂ = 9,65 Hz, C^{4'}H(Rib)), 6,24 (dd, 1H, *J*₁ = 6,05 Hz, *J*₂ = 10,95 Hz, C^{3'}H(Rib)), 6,37 (dd, 1H, *J*₁ = 5,15 Hz, *J*₂ = 10,55 Hz, C^{2'}H(Rib)), 6,60 (d, 1H, *J* = 4,30 Hz, C^{1'}H(Rib)), 7,12 (t, 1H, *J* = 7,20 Hz, Ph), 7,37 (t, 2H, *J* = 7,15 Hz, Ph), 7,45–7,48 (m, 6H, Bz), 7,61–7,67 (m, 3H, Bz), 7,83 (d, 2H, *J* = 7,65 Hz, Ph), 7,91–7,96 (m, 6H, Bz), 8,58 (s, 1H, C⁸H), 10,39 (s, 1H, C⁶NH) ppm. **¹³C NMR** (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 63,4 (CH(Rib)), 67,1 (CH(Rib)), 70,9 (CH(Rib)), 75,05 (CH(Rib)), 79,7 (CH(Rib)), 119,2 (CH(Ph)), 121,4 (CH(Ph)), 123,6 (CH(Ph)), 128,4 (CH(Bz)), 128,5 (CH(Ph)), 128,6 (CH(Bz)), 128,7 (CH(Bz)), 129,2 (CH(Bz)), 129,3 (CH(Bz)), 129,5 (CH(Bz)), 129,7 (CH(Bz)), 133,5 (C(Bz)), 133,9 (C(Bz)), 134,6 (C(Bz)), 141,4 (C), 152,2 (C), 152,5 (C), 163,7 (CO(Bz)), 164,4 (CO(Bz)), 165,3 (CO(Bz)) ppm.

IR (KBr): 3338 (w, b), 3061 (w, b), 1728 (s), 1623 (s), 1581 (s), 1498 (s), 1452 (s), 1316 (s), 1268 (s), 1178 (m), 1121 (s), 1094 (s), 1026 (m), 941 (w), 710 (s) cm⁻¹.

EA C₃₇H₂₈ClN₅O₇: vypočteno: C 64,40 %; H 4,09 %; N 10,15 %
nalezeno: C 64,56 %; H 4,18 %; N 10,09 %

Látky **22** a **23** byly připraveny pouze postupem uvedeným v metodě **B** z výchozích sloučenin **13** o navážce 92 mg (0,72 mmol) a **14** o navážce 60 mg (0,14 mmol).

Název (číslo): (1-adamantyl){4-[(2-chlor-9-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranos-1-yl)-9*H*-purin-6-yl)amino]fenyl}methanon (**22**)

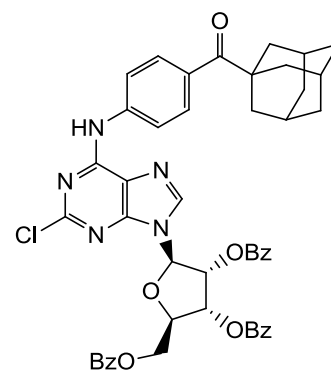
Purifikace: sloupcová chromatografie
(soustava **a**)

Vzhled: bezbarvá krystalická pěna

Výtěžek: 171 mg (89 %)

Teplota tání: 117–124 °C

Retenční faktor: 0,54 soustava **a**



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,69–1,75 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,96–1,98 (m, 6H, CH₂(Ad)), 2,03 (m, 3H, CH(Ad)), 4,6–4,71 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 4,80–4,83 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 4,90 (ddd, 1H, *J*₁ = 4,85 Hz, *J*₂ = 9,45 Hz, C^{4'}H(Rib)), 6,24 (dd, 1H, *J*₁ = 5,95 Hz, *J*₂ = 11,50 Hz, C^{3'}H(Rib)), 6,37 (dd, 1H, *J*₁ = 4,60 Hz, *J*₂ = 5,95 Hz, C^{2'}H(Rib)), 6,61 (d, 1H, *J* = 4,40 Hz, C^{1'}H(Rib)), 7,45–7,49 (m, 6H, Bz), 7,63–7,69 (m, 3H, Bz), 7,75 (d, 2H, *J* = 8,85 Hz, Ph), 7,92 (d, 2H, *J* = 7,20 Hz, Ph), 7,94–7,96 (m, 6H, Bz), 8,63 (s, 1H, C⁸H), 10,65 (s, 1H, C⁶NH) ppm. **¹³C NMR** (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 27,6 (CH₂(Ad)), 35,9 (CH(Ad)), 38,7 (CH₂(Ad)), 46,0 (C(Ad)), 63,3 (CH(Rib)), 70,7 (CH(Rib)), 73,5 (CH(Rib)), 79,4 (CH(Rib)), 86,3 (CH(Rib)), 119,6 (CH(Ph)), 120,0 (CH(Ph)), 128,3 (CH(Ph)), 128,6 (CH(Bz)), 128,7 (CH(Bz)), 128,7 (CH(Bz)), 129,2 (CH(Bz)), 129,3 (CH(Bz)), 129,4 (CH(Bz)), 132,9 (C(Ph)), 133,8 (C(Bz)), 133,9 (C(Bz)), 141,0 (C), 141,5 (C), 150,4 (C), 152,2 (C), 152,6 (C), 164,5 (CO(Bz)), 164,6 (CO(Bz)), 165,4 (CO(Bz)), 206,4 (PhCOAd) ppm.

IR (KBr): 2905 (s), 2851 (s), 1729 (s), 1604 (m), 1574 (s), 1506 (w), 1452 (m), 1317 (m), 1270 (s), 1176 (m), 1120 (m), 1094 (m), 1026 (m), 987 (w), 711 (s) cm^{-1} .

EA $\text{C}_{48}\text{H}_{42}\text{ClN}_5\text{O}_8$: vypočteno: C 67,64 %; H 4,97 %; N 8,22 %
nalezeno: C 67,33 %; H 5,02 %; N 8,45 %

Název (číslo): (1-adamantyl){3-[(2-chlor-9-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranos-1-yl)-9*H*-purin-6-yl)amino]fenyl}methanon (**23**)

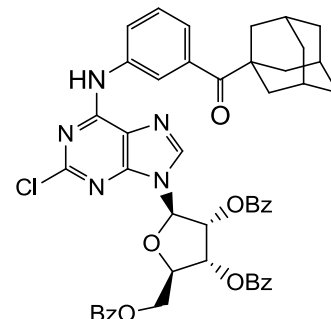
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava **g**)

Vzhled: nažloutlá krystalická pěna

Výtěžek: 101 mg (81 %)

Teplota tání: 95–106 °C

Retenční faktor: 0,40 soustava **g**



^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ 1,68–1,70 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$), 1,98 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$), 2,02 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$), 3,67–3,71 (m, 1H, $\text{C}^5\text{H}(\text{Rib})$), 3,79–3,82 (m, 1H, $\text{C}^5\text{H}(\text{Rib})$), 4,90 (ddd, 1H, $J_1 = 4,90$ Hz, $J_2 = 9,45$ Hz, $\text{C}^4\text{H}(\text{Rib})$), 6,24 (dd, 1H, $J_1 = 5,80$ Hz, $J_2 = 11,90$ Hz, $\text{C}^3\text{H}(\text{Rib})$), 6,37 (dd, 1H, $J_1 = 4,60$ Hz, $J_2 = 5,80$ Hz, $\text{C}^2\text{H}(\text{Rib})$), 6,61 (d, 1H, $J = 4,30$ Hz, $\text{C}^1\text{H}(\text{Rib})$), 7,24 (d, 1H, $J = 7,65$ Hz, Ph), 7,44 (t, 1H, $J = 8,25$ Hz, Ph), 7,45–7,49 (m, 6H, Bz), 7,60–7,67 (m, 3H, Bz), 7,90 (d, 1H, $J = 10,7$ Hz, Ph), 7,91 (m, 6H, Bz), 8,32 (s, 1H, Ph), 8,62 (s, 1H, C^8H), 10,62 (s, 1H, C^6NH) ppm. **^{13}C NMR** (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ 27,6 ($\text{CH}_2(\text{Ad})$), 35,9 ($\text{CH}(\text{Ad})$), 38,5 ($\text{CH}_2(\text{Ad})$), 46,2 ($\text{C}(\text{Ad})$), 63,3 ($\text{CH}(\text{Rib})$), 70,7 ($\text{CH}(\text{Rib})$), 73,7 ($\text{CH}(\text{Rib})$), 79,4 ($\text{CH}(\text{Rib})$), 86,3 ($\text{CH}(\text{Rib})$), 119,5 ($\text{CH}(\text{Ph})$), 119,8 ($\text{CH}(\text{Ph})$), 123,1 ($\text{CH}(\text{Ph})$), 128,4 ($\text{CH}(\text{Ph})$), 128,5 ($\text{CH}(\text{Ph})$), 128,6 ($\text{CH}(\text{Bz})$), 128,7 ($\text{CH}(\text{Bz})$), 128,8 ($\text{CH}(\text{Bz})$), 129,0 ($\text{CH}(\text{Bz})$), 129,2 ($\text{CH}(\text{Bz})$), 129,4 ($\text{CH}(\text{Bz})$), 133,5 ($\text{C}(\text{Bz})$), 133,9 ($\text{C}(\text{Bz})$), 134,0 ($\text{C}(\text{Bz})$), 138,0 ($\text{C}(\text{Ph})$), 138,8 ($\text{C}(\text{Ph})$), 141,4 (C), 152,5 (C), 152,7 (C), 164,5 ($\text{CO}(\text{Bz})$), 164,6 ($\text{CO}(\text{Bz})$), 165,4 ($\text{CO}(\text{Bz})$), 208,2 (PhCOAd) ppm.

IR (KBr): 2905 (s), 2851 (m), 1728 (s), 1669 (m), 1623 (s), 1575 (s), 1452 (s), 1316 (s), 1270 (s), 1177 (m), 1121 (s), 1094 (s), 1070 (s), 788 (w), 711 (s) cm^{-1} .

EA $\text{C}_{48}\text{H}_{42}\text{ClN}_5\text{O}_8$: vypočteno: C 67,64 %; H 4,97 %; N 8,22 %
nalezeno: C 67,33 %; H 5,08 %; N 8,49 %

7.6 Odstranění chránících skupin z prekurzorů finálních nukleosidů

K chráněnému nukleosidu **17** (203 mg, 0,3 mmol) bylo přidáno 10 cm^3 methanolu za vzniku bezbarvé suspenze, do níž byl přidán 1M methoxid sodný (0,06 cm^3 , 0,06 mmol). Vzniklá reakční směs byla za laboratorní teploty intenzívně míchána po dobu 16 hodin. Po této době TLC indikovala nepřítomnost výchozí látky a přebytečné rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO za obdržení bezbarvého krystalického surového produktu.¹⁹¹

Název (číslo): *N*-fenyl-9-β-D-ribofuranos-1-yl-9*H*-purin-6-amin (**24**)

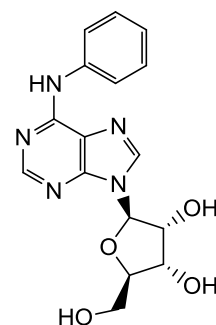
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava **f**)

Vzhled: bezbarvý krystalický prášek

Výtěžek: 82 mg (77 %)

Teplota tání: 196–198 °C

Retenční faktor: 0,40 soustava **f**



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 3,58–3,62 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 3,69–3,74 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 4,00 (ddd, 1H, *J*₁ = 3,14 Hz, *J*₂ = 6,65 Hz, C^{4'}H(Rib)), 4,20 (dd, 1H, *J*₁ = 4,35 Hz, *J*₂ = 7,86 Hz, C^{3'}H(Rib)), 4,66 (dd, 1H, *J*₁ = 5,65 Hz, *J*₂ = 10,79 Hz, C^{2'}H(Rib)), 5,22 (d, 1H, *J* = 3,85 Hz, C^{3'}HOH(Rib)), 5,30 (dd, 1H, *J*₁ = 4,55 Hz, *J*₂ = 10,10 Hz, C^{5'}H₂OH(Rib)) 5,49 (d, 1H, *J* = 6,10 Hz, C^{2'}HOH(Rib)), 5,98 (d, 1H, *J* = 5,75 Hz, C^{1'}H(Rib)), 7,06 (t, *J* = 7,30 Hz, 1H, Ph), 7,34 (t, *J* = 7,65 Hz, 2H, Ph), 7,94 (d, *J* = 7,95 Hz, 2H, Ph), 8,41 (s, 1H, C²H), 8,53 (s, 1H, C⁸H), 9,91 (s, 1H, C⁶NH) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 61,6 (CH(Rib)), 70,6 (CH(Rib)), 73,7 (CH(Rib)), 85,9 (CH(Rib)), 87,9 (CH(Rib)), 120,4 (CH(Ph)), 120,9 (CH(Ph)), 122,8 (CH(Ph)), 128,4 (CH(Ph)), 139,5 (C(Ph)), 140,7 (C), 149,4 (C), 151,9 (C), 152,2 (C) ppm.

IR (KBr): 3334 (m, b), 2922 (m), 1627 (s), 1588 (s), 1499 (s), 1480 (s), 1441 (m), 1376 (m), 1234 (m), 1099 (m), 791 (w), 749 (m), 691 (m), 669 (m), 638 (m) cm⁻¹.

ESI-MS (poz) *m/z* (%): 366,0 [M+Na⁺]⁺ (9), 344,1 [M+H⁺]⁺ (100). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 685,1 [2·M-H⁺]⁻ (95), 341,9 [M-H⁺]⁻ (100).

EA C₁₆H₁₇N₅O₄: vypočteno: C 55,97 %; H 4,99 %; N 20,40 %
nalezeno: C 55,73 %; H 5,02 %; N 20,38 %

Nukleosidy **25** a **26** byly získány výše uvedeným postupem odchráněním sloučenin **20** o navážce 140 mg (0,17 mmol) a **21** o navážce 144 mg (0,18 mmol).

Název (číslo): (1-adamantyl){4-[(9-β-D-ribofuranos-1-yl-9*H*-purin-6-yl)amino]fenyl} methanon (**25**)

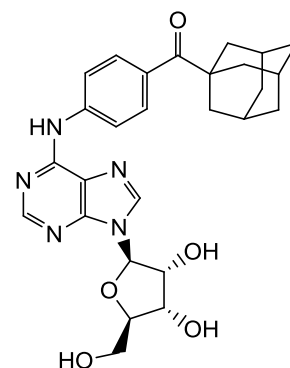
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava **c**)

Vzhled: bezbarvý krystalický prášek

Výtěžek: 80 mg (92 %)

Teplota tání: 145–155 °C

Retenční faktor: 0,28 soustava **c**



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,69–1,75 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,98–1,99 (m, 6H, CH₂(Ad)), 2,03 (m, 3H, CH(Ad)), 3,56–3,61 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 3,69–3,73 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 3,99 (ddd, 1H, *J*₁ = 3,65 Hz, *J*₂ = 7,10 Hz, C^{4'}H(Rib)), 4,19 (ddd, 1H, *J*₁ = 4,80 Hz, *J*₂ = 8,15 Hz, C^{3'}H(Rib)), 4,65 (dd, 1H, *J*₁ = 5,95 Hz, *J*₂ = 11,05 Hz,

C^2H (Rib)), 5,23 (d, 1H, $J = 4,80$ Hz, C^3HOH (Rib)), 5,27 (dd, 1H, $J_1 = 4,90$ Hz, $J_2 = 6,65$ Hz, C^5H_2OH (Rib)) 5,52 (d, 1H, $J = 6,15$ Hz, C^2HOH (Rib)), 5,98 (d, 1H, $J = 6,00$ Hz, C^1H (Rib)), 7,77 (d, 2H, $J = 8,90$ Hz, Ph), 8,09 (d, 2H, $J = 8,90$ Hz, Ph), 8,48 (s, 1H, C^2H), 8,61 (s, 1H, C^8H), 10,30 (s, 1H, C^6NH) ppm. ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ 27,7 (CH_2 (Ad)), 36,0 (CH (Ad)), 38,8 (CH_2 (Ad)), 46,0 (C (Ad)), 61,5 (CH (Rib)), 70,5 (CH (Rib)), 73,7 (CH (Rib)), 85,9 (CH (Rib)), 87,9 (CH (Rib)), 119,4 (CH (Ph)), 120,7 (CH (Ph)), 128,9 (CH (Ph)), 131,7 (CH (Ph)), 141,2 (C (Ph)), 142,3 (C), 149,7 (C), 151,9 (C), 152,2 (C), 206,1 ($PhCOAd$) ppm.

IR (KBr): 3397 (s, b), 2905 (s), 2851 (s), 1628 (s), 1606 (s), 1581 (s), 1474 (s), 1414 (m), 1370 (m), 1272 (m), 1238 (s), 1175 (m), 1083 (m), 987 (w), 750 (m) cm^{-1} .

ESI-MS (poz) m/z (%): 528,2 [$M+Na^+$] $^+$ (8), 506,2 [$M+H^+$] $^+$ (100). **ESI-MS** (neg) m/z (%): 1045,3 [$2 \cdot M+Cl^-$] $^-$ (8), 1009,4 [$2 \cdot M-H^+$] $^-$ (12), 540,1 [$M+Cl^-$] $^-$ (37), 504,2 [$M-H^+$] $^-$ (100).

EA $C_{27}H_{31}N_5O_5$: vypočteno: C 64,14 %; H 6,18 %; N 13,85 %
nalezeno: C 64,15 %; H 6,33 %; N 13,54 %

Název (číslo): (1-adamantyl){3-[(9- β -D-ribofuranos-1-yl-9H-purin-6-yl)amino]fenyl} methanon (**26**)

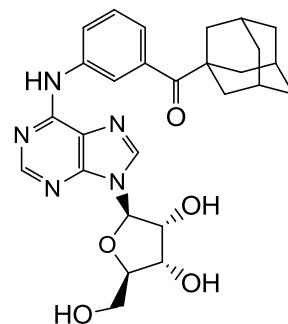
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava c)

Vzhled: bezbarvý krystalický prášek

Výtěžek: 84 mg (94 %)

Teplota tání: 120–130 $^{\circ}C$

Retenční faktor: 0,34 soustava c



1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ 1,71–1,72 (m, 6H, CH_2 (Ad)), 1,98–1,99 (m, 6H, CH_2 (Ad)), 2,04 (m, 3H, CH (Ad)), 3,56–3,61 (m, 1H, C^5H (Rib)), 3,68–3,73 (m, 1H, C^5H (Rib)), 3,99 (ddd, 1H, $J_1 = 3,65$ Hz, $J_2 = 7,35$ Hz, C^4H (Rib)), 4,18 (dd, 1H, $J_1 = 3,35$ Hz, $J_2 = 4,55$ Hz, C^3H (Rib)), 4,64 (dd, 1H, $J_1 = 6,15$ Hz, $J_2 = 11,35$ Hz, C^2H (Rib)), 5,24 (d, 1H, $J = 4,90$ Hz, C^3HOH (Rib)), 5,28 (dd, 1H, $J_1 = 4,90$ Hz, $J_2 = 6,70$ Hz, C^5H_2OH (Rib)), 5,51 (d, 1H, $J = 6,10$ Hz, C^2HOH (Rib)), 5,98 (d, 1H, $J = 6,10$ Hz, C^1H (Rib)), 7,22 (d, 1H, $J = 7,65$ Hz, Ph), 7,41 (t, 1H, $J = 7,95$ Hz, Ph), 8,15 (d, 1H, $J = 8,25$ Hz, Ph), 8,36 (s, 1H, Ph), 8,43 (s, 1H, C^2H), 8,59 (s, 1H, C^8H), 10,19 (s, 1H, C^6NH) ppm. ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ 28,1 (CH_2 (Ad)), 36,5 (CH (Ad)), 39,1 (CH_2 (Ad)), 46,7 (C (Ad)), 62,0 (CH (Rib)), 71,0 (CH (Rib)), 74,2 (CH (Rib)), 86,4 (CH (Rib)), 88,3 (CH (Rib)), 119,8 (CH (Ph)), 121,1 (CH (Ph)), 122,0 (CH (Ph)), 123,0 (CH (Ph)), 128,9 (C (Ph)), 139,2 (C (Ph)), 139,7 (C), 141,4 (C), 150,0 (C), 152,3 (C), 152,5 (C), 208,7 ($PhCOAd$) ppm.

IR (KBr): 3347 (s, b), 2906 (s), 2851 (m), 1625 (s), 1602 (s), 1577 (s), 1478 (s), 1432 (m), 1372 (m), 1331 (m), 1296 (m), 1227 (m), 1084 (m), 998 (m), 755 (m) cm^{-1} .

ESI-MS (poz) m/z (%): 528,2 $[M+Na^+]^+$ (5), 506,2 $[M+H^+]^+$ (100). **ESI-MS** (neg) m/z (%): 1045,3 $[2 \cdot M+Cl^-]^-$ (6), 1009,3 $[2 \cdot M-H^+]^-$ (11), 540,1 $[M+Cl^-]^-$ (22), 504,1 $[M-H^+]^-$ (100).

EA $C_{27}H_{31}N_5O_5$: vypočteno: C 64,14 %; H 6,18 %; N 13,85 %
nalezeno: C 64,03 %; H 6,47 %; N 13,74 %

Sloučeniny **27–29** byly obdrženy stejným postupem po odchránění sloučenin **18** s navážkou 289 mg (0,42 mmol), **22** z navážky 260 mg (0,30 mmol) a **23** o navážce 282 mg (0,33 mmol).

Název (číslo): *N*-fenyl-2-chlor-9- β -D-ribofuranos-1-yl-9*H*-purin-6-amin (**27**)

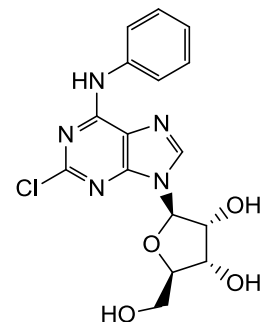
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava **i**)

Vzhled: smetanový krystalický prášek

Výtěžek: 151 mg (95 %)

Teplota tání: 160–162 °C

Retenční faktor: 0,42 soustava **i**



1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ 3,57–3,60 (m, 1H, C^5H (Rib)), 3,68–3,71 (m, 1H, C^5H (Rib)), 3,98 (ddd, 1H, $J_1 = 3,55$ Hz, $J_2 = 7,20$ Hz, C^4H (Rib)), 4,17 (dd, 1H, $J_1 = 4,00$ Hz, $J_2 = 8,25$ Hz, C^3H (Rib)), 4,56 (dd, 1H, $J_1 = 5,35$ Hz, $J_2 = 10,65$ Hz, C^2H (Rib)), 5,08 (d, 1H, $J = 1,70$ Hz, C^3HOH (Rib)), 5,37 (m, 1H, C^5H_2OH (Rib)) 5,47 (d, 1H, $J = 4,60$ Hz, C^2HOH (Rib)), 5,90 (d, 1H, $J = 5,80$ Hz, C^1H (Rib)), 7,10 (t, $J = 7,30$ Hz, 1H, Ph), 7,36 (t, $J = 7,60$ Hz, 2H, Ph), 7,83 (d, $J = 7,95$ Hz, 2H, Ph), 8,56 (s, 1H, C^8H), 10,34 (s, 1H, C^6NH) ppm. ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ 61,3 (CH(Rib)), 70,3 (CH(Rib)), 73,8 (CH(Rib)), 85,7 (CH(Rib)), 87,5 (CH(Rib)), 119,2 (CH(Ph)), 121,4 (CH(Ph)), 123,6 (CH(Ph)), 128,5 (CH(Ph)), 138,7 (C(Ph)), 140,7 (C), 150,5 (C), 152,5 (C) ppm.

IR (KBr): 3336 (bm), 2926 (m), 1627 (s), 1584 (s), 1498 (s), 1458 (m), 1351 (m), 1318 (s), 1233 (m), 1121 (m), 1082 (m), 1048 (m), 749 (m), 691 (m), 631 (m) cm^{-1} .

ESI-MS (poz) m/z (%): 416,0 $[M(^{35}Cl)+K^+]^+$ (21), 400,0 $[M(^{35}Cl)+Na^+]^+$ (100), 378,1 $[M(^{35}Cl)+H^+]^+$ (92). **ESI-MS** (neg) m/z (%): 753,0 $[2 \cdot M(^{35}Cl)-H^+]^-$ (27), 411,9 $[M(^{35}Cl)+Cl^-]^-$ (54), 375,9 $[M(^{35}Cl)-H^+]^-$ (100).

EA $C_{16}H_{16}ClN_5O_4$: vypočteno: C 50,87 %; H 4,27 %; N 18,54 %
nalezeno: C 51,14 %; H 4,06 %; N 18,93 %

Název (číslo): (1-adamantyl){4-[(2-chlor-9-β-D-ribofuranos-1-yl-9H-purin-6-yl)amino]fenyl}methanon (**28**)

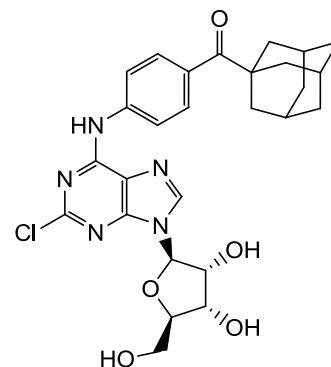
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava c)

Vzhled: bezbarvý krystalický prášek

Výtěžek: 149 mg (91 %)

Teplota tání: 130–138 °C

Retenční faktor: 0,34 soustava c



$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ 1,70–1,76 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$), 1,98 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$), 2,03 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$), 3,56–3,61 (m, 1H, $\text{C}^5\text{H}(\text{Rib})$), 3,67–3,71 (m, 1H, $\text{C}^5\text{H}(\text{Rib})$), 3,99 (ddd, 1H, $J_1 = 3,85$ Hz, $J_2 = 7,65$ Hz, $\text{C}^4\text{H}(\text{Rib})$), 4,17 (dd, 1H, $J_1 = 4,90$ Hz, $J_2 = 8,55$ Hz, $\text{C}^3\text{H}(\text{Rib})$), 4,56 (dd, 1H, $J_1 = 5,65$ Hz, $J_2 = 10,80$ Hz, $\text{C}^2\text{H}(\text{Rib})$), 5,04 (dd, 1H, $J_1 = 5,65$ Hz, $J_2 = 11,1$ Hz, $\text{C}^5\text{H}_2\text{OH}(\text{Rib})$), 5,21 (d, 1H, $J = 5,05$ Hz, $\text{C}^3\text{HOH}(\text{Rib})$), 5,51 (d, 1H, $J = 4,45$ Hz, $\text{C}^2\text{HOH}(\text{Rib})$), 5,92 (d, 1H, $J = 5,20$ Hz, $\text{C}^1\text{H}(\text{Rib})$), 7,75 (d, 2H, $J = 7,60$ Hz, Ph), 7,96 (d, 2H, $J = 7,65$ Hz, Ph), 8,61 (s, 1H, C^8H), 10,61 (s, 1H, C^6NH) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ 27,6 ($\text{CH}_2(\text{Ad})$), 36,0 ($\text{CH}(\text{Ad})$), 38,7 ($\text{CH}_2(\text{Ad})$), 46,0 ($\text{C}(\text{Ad})$), 61,2 ($\text{CH}(\text{Rib})$), 70,2 ($\text{CH}(\text{Rib})$), 73,8 ($\text{CH}(\text{Rib})$), 85,7 ($\text{CH}(\text{Rib})$), 87,5 ($\text{CH}(\text{Rib})$), 119,5 ($\text{CH}(\text{Ph})$), 119,9 ($\text{CH}(\text{Ph})$), 128,6 ($\text{CH}(\text{Ph})$), 132,8 ($\text{C}(\text{Ph})$), 141,2 (C), 150,8 (C), 152,1 (C), 152,2 (C), 206,5 (PhCOAd) ppm.

IR (KBr): 3349 (bs), 2906 (s), 2851 (s), 1629 (s), 1606 (s), 1574 (s), 1508 (m), 1459 (s), 1321 (m), 1237 (m), 1175 (m), 1125 (m), 1084 (m), 987 (w), 750 (m) cm^{-1} .

ESI-MS (poz) m/z (%): 1101,4 [$2 \cdot \text{M}(^{35}\text{Cl}) + \text{Na}^+$] $^+$ (13), 578,2 [$\text{M}(^{35}\text{Cl}) + \text{K}^+$] $^+$ (49), 562,2 [$\text{M}(^{35}\text{Cl}) + \text{Na}^+$] $^+$ (100), 540,2 [$\text{M}(^{35}\text{Cl}) + \text{H}^+$] $^+$ (72). **ESI-MS** (neg) m/z (%): 574,0 [$\text{M}(^{35}\text{Cl}) + \text{Cl}^-$] $^-$ (42), 538,1 [$\text{M}(^{35}\text{Cl}) - \text{H}^+$] $^-$ (80), 406,0 [$\text{M}(^{35}\text{Cl}) - \text{H}^+ - \text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4$] $^-$ (100).

EA $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{ClN}_5\text{O}_5$: vypočteno: C 60,05 %; H 5,60 %; N 12,97 %

nalezeno: C 59,86 %; H 5,81 %; N 12,72 %

Název (číslo): (1-adamantyl){3-[(2-chlor-9-β-D-ribofuranos-1-yl-9H-purin-6-yl)amino]fenyl}methanon (**29**)

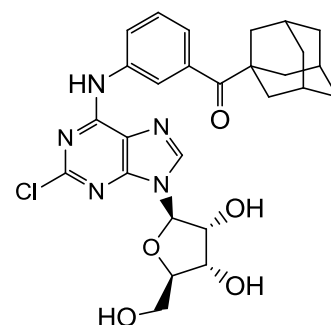
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava c)

Vzhled: bezbarvý krystalický prášek

Výtěžek: 155 mg (87 %)

Teplota tání: 144–151 °C

Retenční faktor: 0,36 soustava c



$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ 1,69–1,74 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$), 1,99 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$), 2,04 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$), 3,57–3,61 (m, 1H, $\text{C}^5\text{H}(\text{Rib})$), 3,67–3,72 (m, 1H, $\text{C}^5\text{H}(\text{Rib})$), 3,98 (ddd, 1H, $J_1 = 3,85$ Hz, $J_2 = 7,5$ Hz, $\text{C}^4\text{H}(\text{Rib})$), 4,17 (dd, 1H,

$J_1 = 4,55$ Hz, $J_2 = 8,55$ Hz, $C^3H(\text{Rib})$), 4,56 (dd, 1H, $J_1 = 5,50$ Hz, $J_2 = 10,95$ Hz, $C^2H(\text{Rib})$), 5,04 (dd, 1H, $J_1 = 5,65$ Hz, $J_2 = 11,15$ Hz, $C^5H_2OH(\text{Rib})$), 5,21 (d, 1H, $J = 5,05$ Hz, $C^3HOH(\text{Rib})$), 5,50 (d, 1H, $J = 6,10$ Hz, $C^2HOH(\text{Rib})$), 5,91 (d, 1H, $J = 5,80$ Hz, $C^1H(\text{Rib})$), 7,23 (d, 1H, $J = 7,80$ Hz, Ph), 7,44 (t, 1H, $J = 7,93$ Hz, Ph), 7,91 (d, 1H, $J = 8,40$ Hz, Ph), 8,32 (s, 1H, Ph), 8,59 (s, 1H, C^8H), 10,54 (s, 1H, C^6NH) ppm. ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ 27,5 ($CH_2(\text{Ad})$), 35,9 ($CH(\text{Ad})$), 38,5 ($CH_2(\text{Ad})$), 46,1 ($C(\text{Ad})$), 61,2 ($CH(\text{Rib})$), 70,3 ($CH(\text{Rib})$), 73,8 ($CH(\text{Rib})$), 85,7 ($CH(\text{Rib})$), 87,5 ($CH(\text{Rib})$), 119,3 ($CH(\text{Ph})$), 119,6 ($CH(\text{Ph})$), 122,4 ($CH(\text{Ph})$), 122,9 ($CH(\text{Ph})$), 128,6 ($C(\text{Ph})$), 138,0 ($C(\text{Ph})$), 138,8 (C), 141,0 (C), 150,6 (C), 152,3 (C), 208,2 (PhCOAd) ppm.

IR (KBr): 3355 (bs), 2906 (s), 2852 (m), 1626 (s), 1601 (s), 1574 (s), 1454 (m), 1319 (s), 1273 (m), 1227 (m), 1174 (w), 1120 (m), 1084 (m), 1051 (m), 754 (m) cm^{-1} .

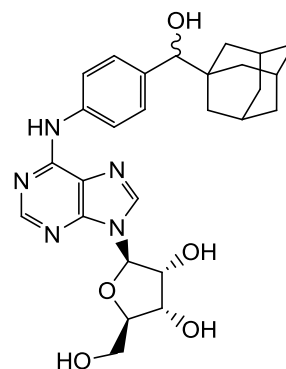
ESI-MS (poz) m/z (%): 578,2 [$M(^{35}Cl)+K^+$] $^+$ (10), 562,2 [$M(^{35}Cl)+Na^+$] $^+$ (27), 540,2 [$M(^{35}Cl)+H^+$] $^+$ (100). **ESI-MS** (neg) m/z (%): 1077,2 [$2 \cdot M(^{35}Cl)-H^+$] $^-$ (12), 574,1 [$M(^{35}Cl)+Cl^-$] (10), 538,1 [$M(^{35}Cl)-H^+$] $^-$ (100).

EA $C_{27}H_{30}ClN_5O_5$: vypočteno: C 60,05 %; H 5,60 %; N 12,97 %
nalezeno: C 60,03 %; H 5,66 %; N 12,85 %

7.7 Redukce karbonylové skupiny u sloučenin 25, 26, 28 a 29

Sloučeniny **30–33** byly připraveny postupem popsáním v kapitole 7.4 z výchozích nukleosidů **25** o navážce 61 mg (0,12 mmol), **26** o navážce 59 mg (0,12 mmol), **28** o navážce 92 mg (0,17 mmol) a **29** o navážce 90 mg (0,17 mmol).

Název (číslo):	(1-adamantyl){4-[(9- β -D-ribofuranosyl-9H-purin-6-yl)amino]fenyl} methanol (30)
Purifikace:	sloupcová chromatografie (soustava b)
Vzhled:	bezbarvý krystalický prášek
Výtěžek:	51 mg (82 %)
Teplota tání:	145–156 °C
Retenční faktor:	0,43 soustava b



1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ 1,40–1,42 (m, 3H, $CH_2(\text{Ad})$), 1,51–1,53 (m, 3H, $CH_2(\text{Ad})$), 1,59–1,63 (m, 6H, $CH_2(\text{Ad})$), 1,91 (m, 3H, $CH(\text{Ad})$), 3,56–3,60 (m, 1H, $C^5H(\text{Rib})$), 3,68–3,72 (m, 1H, $C^5H(\text{Rib})$), 3,99 (ddd, 1H, $J_1 = 3,44$ Hz, $J_2 = 6,79$ Hz, $C^4H(\text{Rib})$), 4,02 (d, 1H, $J = 3,81$ Hz, PhCHOAd), 4,18 (dd, 1H, $J_1 = 4,43$ Hz, $J_2 = 8,09$ Hz, $C^3H(\text{Rib})$), 4,64 (dd, 1H, $J_1 = 5,65$ Hz, $J_2 = 11,29$ Hz, $C^2H(\text{Rib})$), 4,93 (d, 1H, $J = 4,12$ Hz, PhCHOAd), 5,18 (d, 1H, $J = 4,58$ Hz, $C^3HOH(\text{Rib})$), 5,27 (dd, 1H, $J_1 = 5,49$ Hz, $J_2 = 10,99$ Hz, $C^5H_2OH(\text{Rib})$) 5,45 (d, 1H, $J = 6,10$ Hz, $C^2HOH(\text{Rib})$), 5,96 (d, 1H, $J = 5,95$ Hz, $C^1H(\text{Rib})$), 7,17 (d, 2H, $J = 8,39$ Hz, Ph), 7,82 (d, 2H, $J = 8,39$ Hz, Ph), 8,38 (s, 1H, C^2H), 8,52 (s, 1H, C^8H), 9,86 (s, 1H, C^6NH) ppm. ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ 27,8 ($CH_2(\text{Ad})$), 36,7 ($CH(\text{Ad})$),

36,8 (CH₂(Ad)), 37,9 (C(Ad)), 61,5 (CH(Rib)), 70,5 (CH(Rib)), 73,6 (CH(Rib)), 80,5 (PhCHOHAd), 85,8 (CH(Rib)), 87,8 (CH(Rib)), 119,9 (CH(Ph)), 120,3 (CH(Ph)), 127,7 (CH(Ph)), 136,9 (C(Ph)), 137,8 (C(Ph)), 140,5 (C), 149,2 (C), 151,9 (C), 152,2 (C) ppm.

IR (KBr): 3354 (bs), 2904 (s), 2848 (s), 1627 (s), 1586 (s), 1511 (s), 1478 (s), 1420 (m), 1374 (m), 1296 (m), 1234 (m), 1125 (m), 1084 (m), 1029 (m), 742 (m) cm⁻¹.

ESI-MS (poz) *m/z* (%): 508,3 [M+H]⁺ (100). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 1013,4 [2·M-H]⁻ (16), 542,1 [M+Cl]⁻ (21), 506,2 [M-H]⁻ (100).

EA C₂₇H₃₃N₅O₅: vypočteno: C 63,89 %; H 6,55 %; N 13,80 %
nalezeno: C 63,63 %; H 6,36 %; N 13,91 %

Název (číslo): (1-adamantyl){3-[(9-β-D-ribofuranos-1-yl-9*H*-purin-6-yl)amino]fenyl} methanol (**31**)

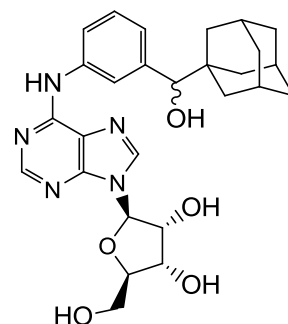
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava **b**)

Vzhled: bezbarvý krystalický prášek

Výtěžek: 53 mg (90 %)

Teplota tání: 130–145 °C

Retenční faktor: 0,52 soustava **b**



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,42–1,45 (m, 3H, CH₂(Ad)), 1,51–1,53 (m, 3H, CH₂(Ad)), 1,61–1,64 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,91 (m, 3H, CH(Ad)), 3,56–3,60 (m, 1H, C⁵H(Rib)), 3,68–3,72 (m, 1H, C⁵H(Rib)), 3,98 (ddd, 1H, *J*₁ = 3,51 Hz, *J*₂ = 7,02 Hz, C⁴H(Rib)), 4,02 (d, 1H, *J* = 3,97 Hz, PhCHOHAd), 4,18 (dd, 1H, *J*₁ = 4,58 Hz, *J*₂ = 8,09 Hz, C³H(Rib)), 4,64 (dd, 1H, *J*₁ = 5,95 Hz, *J*₂ = 11,29 Hz, C²H(Rib)), 5,00 (d, 1H, *J* = 3,97 Hz, PhCHOHAd), 5,18 (d, 1H, *J* = 4,73 Hz, C³HOH(Rib)), 5,26 (dd, 1H, *J*₁ = 4,88 Hz, *J*₂ = 6,56 Hz, C⁵H₂OH(Rib)), 5,46 (d, 1H, *J* = 6,10 Hz, C²HOH(Rib)), 5,96 (d, 1H, *J* = 5,95 Hz, C¹H(Rib)), 6,93 (d, 1H, *J* = 7,63 Hz, Ph), 7,23 (t, 1H, *J* = 7,78 Hz, Ph), 7,70 (s, 1H, Ph), 7,84 (d, 1H, *J* = 9,00 Hz, Ph), 8,36 (s, 1H, C²H), 8,52 (s, 1H, C⁸H), 9,86 (s, 1H, C⁶NH) ppm. **¹³C NMR** (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 28,3 (CH₂(Ad)), 37,2 (CH(Ad)), 37,3 (CH₂(Ad)), 38,5 (C(Ad)), 62,0 (CH(Rib)), 71,0 (CH(Rib)), 74,1 (CH(Rib)), 81,5 (PhCHOHAd), 86,3 (CH(Rib)), 88,3 (CH(Rib)), 119,9 (CH(Ph)), 120,8 (CH(Ph)), 121,5 (CH(Ph)), 123,1 (CH(Ph)), 127,3 (C(Ph)), 138,7 (C(Ph)), 141,0 (C), 143,4 (C), 149,8 (C), 152,3 (C), 152,7 (C) ppm.

IR (KBr): 3330 (bs), 2904 (s), 2846 (m), 1628 (s), 1581 (s), 1477 (s), 1375 (m), 1304 (m), 1225 (m), 1111 (m), 1084 (m), 1043 (m), 795 (m), 731 (m), 644 (m) cm⁻¹.

ESI-MS (poz) *m/z* (%): 546,2 [M+K]⁺ (13), 530,3 [M+Na]⁺ (16), 508,3 [M+H]⁺ (100). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 1049,3 [2·M+Cl]⁻ (7), 1013,4 [2·M-H]⁻ (6), 542,1 [M+Cl]⁻ (71), 506,2 [M-H]⁻ (100).

EA C₂₇H₃₃N₅O₅: vypočteno: C 63,89 %; H 6,55 %; N 13,80 %
nalezeno: C 63,33 %; H 6,74 %; N 14,05 %

Název (číslo): (1-adamantyl){4-[(2-chlor-9-β-D-ribofuranos-1-yl-9H-purin-6-yl)amino]fenyl}methanol (**32**)

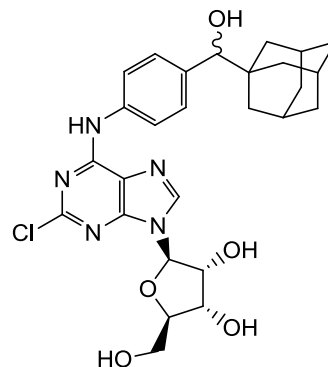
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava c)

Vzhled: bezbarvý krystalický prášek

Výtěžek: 79 mg (86 %)

Teplota tání: 138–142 °C

Retenční faktor: 0,28 soustava c



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,40–1,43 (m, 3H, CH₂(Ad)), 1,51–1,53 (m, 3H, CH₂(Ad)), 1,59–1,63 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,91 (m, 3H, CH(Ad)), 3,57–3,59 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 3,67–3,70 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 3,97 (ddd, 1H, *J*₁ = 3,66 Hz, *J*₂ = 7,32 Hz, C^{4'}H(Rib)), 4,03 (d, 1H, *J* = 3,05 Hz, PhCHOHAd), 4,16 (dd, 1H, *J*₁ = 3,81 Hz, *J*₂ = 7,93 Hz, C^{3'}H(Rib)), 4,55 (dd, 1H, *J*₁ = 5,19 Hz, *J*₂ = 10,68 Hz, C^{2'}H(Rib)), 4,96 (d, 1H, *J* = 3,81 Hz, PhCHOHAd), 5,04 (d, 1H, C^{3'}HOH(Rib)), 5,22 (dd, 1H, C^{5'}H₂OH(Rib)) 5,51 (d, 1H, C^{2'}HOH(Rib)), 5,89 (d, 1H, *J* = 5,80 Hz, C^{1'}H(Rib)), 7,20 (d, 2H, *J* = 8,39 Hz, Ph), 7,73 (d, 2H, *J* = 8,39 Hz, Ph), 8,54 (s, 1H, C⁸H), 10,29 (s, 1H, C⁶NH) ppm. **¹³C NMR** (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 28,3 (CH₂(Ad)), 37,2 (CH(Ad)), 37,3 (CH₂(Ad)), 38,4 (C(Ad)), 61,8 (CH(Rib)), 70,8 (CH(Rib)), 74,3 (CH(Rib)), 80,9 (PhCHOHAd), 86,2 (CH(Rib)), 87,9 (CH(Rib)), 119,6 (CH(Ph)), 120,6 (CH(Ph)), 128,3 (CH(Ph)), 137,5 (C(Ph)), 138,4 (C), 141,2 (C), 151,0 (C), 152,9 (C), 153,0 (C) ppm.

IR (KBr): 3387 (bs), 2905 (s), 2848 (s), 1626 (s), 1582 (s), 1511 (m), 1465 (m), 1348 (m), 1317 (s), 1233 (m), 1122 (m), 1084 (m), 1048 (m), 756 (w), 632 (m) cm⁻¹.

ESI-MS (poz) *m/z* (%): 580,2 [M(³⁵Cl)+K⁺]⁺ (19), 564,2 [M(³⁵Cl)+Na⁺]⁺ (100), 542,2 [M(³⁵Cl)+H⁺]⁺ (90). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 1117,2 [2·M(³⁵Cl)-Cl]⁻ (12), 1081,2 [2·M(³⁵Cl)-H⁺]⁻ (7), 576,2 [M(³⁵Cl)+Cl]⁻ (100), 540,1 [M(³⁵Cl)-H⁺]⁻ (84).

EA C₂₇H₃₂ClN₅O₅: vypočteno: C 59,83 %; H 5,95 %; N 12,92 %

nalezeno: C 59,45 %; H 5,61 %; N 12,54 %

Název (číslo): (1-adamantyl){3-[(2-chlor-9-β-D-ribofuranos-1-yl-9H-purin-6-yl)amino]fenyl}methanol (**33**)

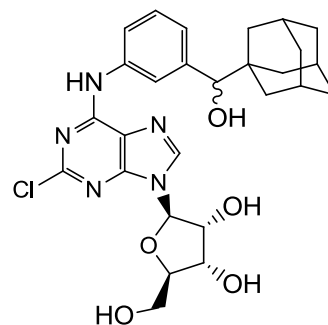
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava c)

Vzhled: bezbarvý krystalický prášek

Výtěžek: 73 mg (80 %)

Teplota tání: 170–174 °C

Retenční faktor: 0,22 soustava c



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,44–1,46 (m, 3H, CH₂(Ad)), 1,52–1,54 (m, 3H, CH₂(Ad)), 1,61–1,66 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,92 (m, 3H, CH(Ad)), 3,55–3,60 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 3,66–3,70 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 3,97 (ddd, 1H, *J*₁ = 3,81 Hz, *J*₂ = 7,48 Hz, C^{4'}H(Rib)), 4,02 (d, 1H, *J* = 3,97 Hz, PhCHOHAd), 4,16 (dd, 1H, *J*₁ = 4,73 Hz,

$J_2 = 8,54$ Hz, $C^3H(\text{Rib})$), $4,54$ (dd, 1H, $J_1 = 5,49$ Hz, $J_2 = 10,83$ Hz, $C^2H(\text{Rib})$), $5,01$ (d, 1H, $J = 4,12$ Hz, PhCHOHAd), $5,05$ (d, 1H, $J = 5,65$ Hz, $C^3H_2OH(\text{Rib})$), $5,20$ (dd, 1H, $J = 5,04$ Hz, $C^5HOH(\text{Rib})$), $5,50$ (d, 1H, $J = 6,10$ Hz, $C^2HOH(\text{Rib})$), $5,89$ (d, 1H, $J = 5,80$ Hz, $C^1H(\text{Rib})$), $6,98$ (d, 1H, $J = 7,63$ Hz, CH(Ph)), $7,26$ (t, 1H, $J = 7,78$ Hz, Ph), $7,59$ (d, 1H, $J = 7,93$ Hz, Ph), $7,67$ (s, 1H, Ph), $8,54$ (s, 1H, C^8H), $10,31$ (s, 1H, C^6NH) ppm. ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ 27,8 (CH₂(Ad)), 36,7 (CH(Ad)), 36,8 (CH₂(Ad)), 37,9 (C(Ad)), 61,2 (CH(Rib)), 70,3 (CH(Rib)), 73,8 (CH(Rib)), 80,9 (PhCHOHAd), 85,7 (CH(Rib)), 87,4 (CH(Rib)), 119,1 (CH(Ph)), 119,9 (CH(Ph)), 121,8 (CH(Ph)), 123,5 (CH(Ph)), 126,9 (C(Ph)), 137,2 (C(Ph)), 140,6 (C), 142,9 (C), 150,5 (C), 152,3 (C), 152,6 (C) ppm.

IR (KBr): 3346 (bs), 2904 (s), 2849 (m), 1627 (s), 1578 (s), 1459 (m), 1352 (m), 1317 (m), 1222 (m), 1125 (m), 1086 (m), 1046 (m), 787 (w), 730 (m), 632 (m) cm^{-1} .

ESI-MS (poz) m/z (%): 1121,4 [$2 \cdot M(^{35}\text{Cl}) + K^+$] $^+$ (13), 1105,4 [$2 \cdot M(^{35}\text{Cl}) + Na^+$] $^+$ (25), 1083,3 [$2 \cdot M(^{35}\text{Cl}) + H^+$] $^+$ (7), 580,2 [$M(^{35}\text{Cl}) + K^+$] $^+$ (37), 564,2 [$M(^{35}\text{Cl}) + Na^+$] $^+$ (61), 542,2 [$M(^{35}\text{Cl}) + H^+$] $^+$ (100). ESI-MS (neg) m/z (%): 1081,3 [$2 \cdot M(^{35}\text{Cl}) - H^+$] $^-$ (8), 576,1 [$M(^{35}\text{Cl}) + Cl^-$] $^-$ (22), 540,1 [$M(^{35}\text{Cl}) - H^+$] $^-$ (100).

EA $C_{27}H_{32}ClN_5O_5$: vypočteno: C 59,83 %; H 5,95 %; N 12,92 %
nalezeno: C 59,56 %; H 6,25 %; N 12,68 %

7.8 Nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze C2

Ke sloučenině **27** (166 mg, 0,44 mmol) byl přidán 3-aminopropan-1-ol (267 μl , 3,52 mmol). Během několika minut vznikla kašovitá směs, která byla intenzivně míchána při teplotě 160 °C pod inertní argonovou atmosférou. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC až do spotřebování výchozí látky. Reakční směs olejovité konzistence byla ochlazená na laboratorní teplotu, během čehož zatuhla v nemíchatelnou hmotu. K reakční směsi bylo přidáno 5 cm^3 chloroformu, což mělo vést k jejímu rozmíchání či rozpuštění. To se ovšem podařilo až po přidavku několika kapek methanolu. Organický podíl byl následně 5 \times promyt destilovanou vodou, 5 cm^3 nasyceného roztoku chloridu sodného a sušen nad síranem sodným. Po odpaření na RVO byl získán surový produkt v podobě oranžového oleje.

Název (číslo): 3-{[6-(fenyl)amino]-9-(β -D-ribofuranos-1-yl)-9H-purin-2-yl]amino}propan-1-ol
(**34**)

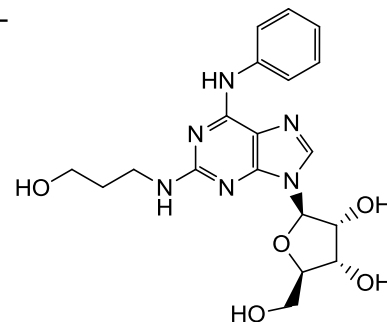
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava **b**)

Vzhled: nažloutlý krystalický prášek

Výtěžek: 159 mg (86 %)

Teplota tání: 130–136 °C

Retenční faktor: 0,38 soustava **b**



1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ 1,73 (m, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3,35–3,53 (m, 4H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3,54–3,58 (m, 1H, $C^5H(\text{Rib})$), 3,64–3,68 (m, 1H,

C^5H (Rib)), 3,92 (ddd, 1H, $J_1 = 4,00$ Hz, $J_2 = 7,50$ Hz, C^4H (Rib)), 4,16 (dd, 1H, $J_1 = 4,60$ Hz, $J_2 = 8,10$ Hz, C^3H (Rib)), 4,45 (dd, 1H, $J_1 = 5,20$ Hz, $J_2 = 10,25$ Hz, C^2H (Rib)), 4,61 (dd, 1H, C^5H_2OH (Rib)), 5,07 (m, 1H, $C^2NH(CH_2)_3OH$), 5,12 (d, 1H, $J = 4,70$ Hz, C^3HOH (Rib)), 5,38 (d, 1H, $J = 6,10$ Hz, C^2HOH (Rib)), 5,79 (d, 1H, $J = 5,95$ Hz, C^1H (Rib)), 6,58 (m, 1H, C^2NH), 6,98 (t, 1H, $J = 7,70$ Hz, Ph), 7,28 (t, 2H, $J = 7,50$ Hz, Ph), 8,02 (d, 2H, $J = 7,60$ Hz, Ph), 8,05 (s, 1H, C^8H), 9,38 (s, 1H, C^6NH) ppm. ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ 38,6 (CH_2), 58,9 (CH), 61,7 (CH(Rib)), 70,6 (CH(Rib)), 73,1 (CH(Rib)), 85,3 (CH(Rib)), 87,0 (CH(Rib)), 114,0 (CH(Ph)), 120,1 (CH(Ph)), 121,8 (CH(Ph)), 128,3 (CH(Ph)), 136,8 (C(Ph)), 140,3 (C), 151,7 (C), 152,1 (C), 159,1 (C) ppm.

IR (KBr): 3354 (bs), 2927 (m), 2871 (m), 1616 (s), 1585 (s), 1525 (m), 1498 (s), 1441 (m), 1315 (m), 1252 (m), 1120 (m), 1082 (m), 1055 (m), 783 (m), 750 (m) cm^{-1} .

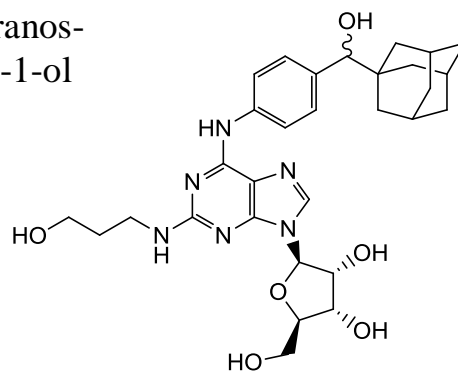
ESI-MS (poz) m/z (%): 439,1 [$M+Na^+$] $^+$ (8), 417,2 [$M+H^+$] $^+$ (100). **ESI-MS** (neg) m/z (%): 831,3 [$2 \cdot M-H^+$] $^-$ (94), 451,0 [$M+Cl^-$] $^-$ (24), 415,0 [$M-H^+$] $^-$ (100).

EA $C_{16}H_{17}N_5O_4$: vypočteno: C 55,97 %; H 4,99 %; N 20,40 %
nalezeno: C 55,73 %; H 5,02 %; N 20,38 %

Sloučeniny **35** a **36** byly připraveny postupem uvedeným výše z výchozích látek **32** o navážce 61 mg (0,11 mmol) a **33** o navážce 49 mg (0,09 mmol).

Název (číslo): 3-[[6-(fenyl)amino]-9-(β -D-ribofuranos-1-yl)-9H-purin-2-yl]amino}propan-1-ol
(**35**)

Purifikace: ---
Vzhled: nažloutlý velmi viskózní olej
Výtěžek: 13 mg (25 %)
Teplota tání: ---
Retenční faktor: 0,31 soustava i



1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ 1,51 (m, 3H, CH_2 (Ad)), 1,41 (m, 3H, CH_2 (Ad)), 1,58–1,63 (m, 6H, CH_2 (Ad)), 1,72 (m, 2H, $NHCH_2CH_2CH_2OH$), 1,91 (m, 3H, CH(Ad)), 3,40–3,56 (m, 4H, $NHCH_2CH_2CH_2OH$), 3,57–3,60 (m, 1H, C^5H (Rib)), 3,63–3,68 (m, 1H, C^5H (Rib)), 3,91 (ddd, 1H, $J_1 = 6,00$ Hz, $J_2 = 15,15$ Hz, C^4H (Rib), 4,00 (d, 1H, $J = 5,40$ Hz, PhCHOHAd), 4,15 (m, 1H, C^3H (Rib)), 4,43 (dd, 1H, $J_1 = 6,30$ Hz, $J_2 = 12,3$ Hz, C^2H (Rib)), 4,57 (m, 1H, PhCHOHAd), 4,88 (d, 1H, $J = 5,15$ Hz, C^3HOH (Rib)), 5,04 (m, 1H, $C^2NH(CH_2)_3OH$), 5,10 (m, 1H, C^5H_2OH (Rib)), 5,35 (d, 1H, $J = 7,75$ Hz, C^2HOH (Rib)), 5,78 (d, 1H, $J = 7,45$ Hz, C^1H (Rib)), 6,56 (m, 1H, C^2NH), 7,12 (d, 2H, $J = 10,85$ Hz, Ph), 7,91 (d, 2H, $J = 10,9$ Hz, Ph), 8,03 (s, 1H, C^8H), 9,32 (s, 1H, C^6NH) ppm.

ESI-MS (poz) m/z (%): 603,3 [$M+Na^+$] $^+$ (9), 581,3 [$M+H^+$] $^+$ (100). **ESI-MS** (neg) m/z (%): 1159,5 [$2 \cdot M-H^+$] $^-$ (7), 615,1 [$M+Cl^-$] $^-$ (69), 579,2 [$M-H^+$] $^-$ (100).

Název (číslo): 3-[[6-(fenyl)amino]-9-(β-D-ribofuranos-1-yl)-9H-purin-2-yl]amino}propan-1-ol (36)

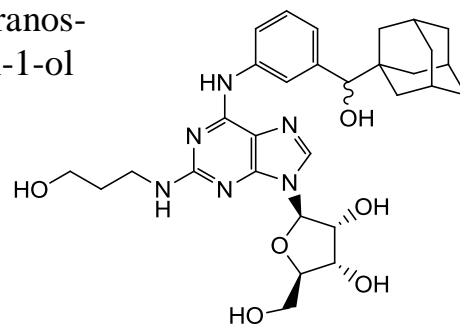
Purifikace: ---

Vzhled: žlutý velmi viskózní olej

Výtěžek: 57 mg (87 %)

Teplota tání: ---

Retenční faktor: 0,37 soustava i



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,43 (m, 3H, CH₂(Ad)), 1,52 (m, 3H, CH₂(Ad)), 1,62 (m, 6H, CH₂(Ad)), 1,73 (m, 2H, NHCH₂CH₂CH₂OH), 1,91 (m, 3H, CH(Ad)), 3,35–3,49 (m, 4H, NHCH₂CH₂CH₂OH), 3,54–3,57 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 3,63–3,68 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 3,91 (ddd, 1H, *J*₁ = 5,15 Hz, *J*₂ = 14,30 Hz, C^{4'}H(Rib)), 4,01 (d, 1H, *J* = 4,60 Hz, PhCHOHAd), 4,14 (m, 1H, C^{3'}H(Rib)), 4,44 (dd, 1H, *J*₁ = 6,30 Hz, *J*₂ = 12,90 Hz, C^{2'}H(Rib)), 4,58 (m, 1H, PhCHOHAd), 4,95 (d, 1H, *J* = 5,15 Hz, C^{3'}HOH(Rib)), 5,07 (m, 2H, C^{5'}H₂OH(Rib)+C²NH(CH₂)₃OH), 5,35 (d, 1H, *J* = 7,75 Hz, C^{2'}HOH(Rib)), 5,78 (d, 1H, *J* = 7,70 Hz, C^{1'}H(Rib)), 6,40 (m, 1H, C²NH), 6,86 (d, 1H, *J* = 9,05 Hz, Ph), 7,18 (t, 1H, *J* = 9,75 Hz, Ph), 7,83 (s, 1H, Ph), 7,90 (d, 1H, *J* = 7,75 Hz, Ph), 8,04 (s, 1H, C⁸H), 9,32 (s, 1H, C⁶NH) ppm.

ESI-MS (poz) *m/z* (%): 603,3 [M+Na⁺]⁺ (12), 600,3 [2·M+H⁺+K⁺]⁺ (9), 581,3 [M+H⁺]⁺ (100). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 1159,5 [2·M-H⁺]⁻ (23), 615,1 [M+Cl⁻]⁻ (39), 579,2 [M-H⁺]⁻ (100).

7.9 Charakterizace neočekávaných produktů

Guanin (100 mg, 0,66 mmol) byl rozmíchán v dimethylformamidu (DMF; 2 cm³) za vzniku smetanové suspenze, do které byl při teplotě 0 °C (na ledové lázni) pomalu přikapáván fosforyl chlorid (10 cm³). Po přidání veškerého množství fosforyl chloridu byla reakční směs přivedena k varu a refluxována. Ihned po začátku refluxu došlo k rozpuštění suspenze a vzniku černého roztoku. Reakce byla sledována pomocí TLC a ukončena po spotřebování výchozí látky, což trvalo přibližně 30 minut. Po ochlazení byla reakční směs nalita na 100 cm³ ledové tříště, po jejímž rozpuštění byla zneutralizována přidávkem vodného amoniaku (80 cm³). Vodná vrstva byla následně odpařena na RVO a žlutý pevný odparek byl pak za horka opakovaně promýván acetonitrilem, dokud TLC neindikovala vymytí veškerého produktu z anorganického podílu. Zfiltrované a spojené acetonitrilové extrakty byly odpařeny na RVO za obdržení surového produktu coby žlutého krystalického prášku.

Název (číslo): *N*-(6-chlor-9H-purin-2-yl)formamid (6)

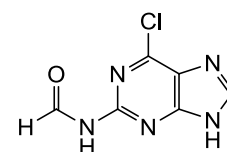
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava b)

Vzhled: žlutý krystalický prášek

Výtěžek: 77 mg (59 %)

Teplota tání: >350 °C

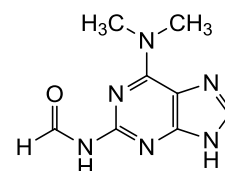
Retenční faktor: 0,36 soustava b



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 8,47 (s, 1H, C⁸H), 9,32 (d, 1H, *J* = 8,55 Hz, C²NHCOH), 11,09 (d, 1H, *J* = 9,45 Hz, C²NHCOH), 13,64 (s, 1H, N⁹H) ppm. **¹³C NMR** (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 145,0 (C), 152,4 (C), 159,8 (C), 163,1 (CO) ppm. **IR** (KBr): 3118 (bm), 2974 (m), 1697 (s), 1622 (s), 1581 (s), 1512 (s), 1441 (m), 1388 (s), 1292 (m), 1244 (s), 924 (m), 843 (m), 789 (m), 636 (m), 563 (w) cm⁻¹. **DI-EI-MS** (200 °C, 70 eV): 53 (29), 54 (14), 62 (6), 64 (6), 65 (9), 68 (7), 80 (7), 88 (6), 92 (13), 107 (25), 133 (11), 134 (100), 135 (6), 169 (73) *m/z* (%). **EA C₆H₄ClN₅O**: vypočteno: C 36,47 %; H 2,04 %; N 35,45 %
nalezeno: C 36,52 %; H 2,35 %; N 35,91 %

Do husté směsi guaninu (200 mg, 1,32 mmol), dichlormethanu (2 cm³) a DMF (0,4 cm³) vychlazené v ledové lázni na 0 °C byl pomalu přikapáván fosforyl chlorid (0,25 cm³) a získaná mléčná suspenze byla takto míchána jednu hodinu. Poté byla reakční směs refluxována při 40 °C, dokud byla na TLC pozorována výchozí látka.¹⁹² Ochlazená reakční směs byla nalita na 50 cm³ ledové tříště, po rozpuštění se objevila lepkavá sraženina, která se ovšem během neutralizace pomocí vodného amoniaku (10 cm³) rozpustila. Organická fáze byla oddělena od vodné, která byla ještě extrahována 5 × 10 cm³ chloroformu. Organické podíly byly spojeny, sušeny nad síranem sodným a odpařeny na RVO. Surový produkt měl vzhled nažloutlého oleje a jeho hmotnost činila pouhých 15 mg. Protože produkt pravděpodobně zůstával ve vodné fázi, bylo opět přistoupeno k odpaření vodného podílu na RVO a odparek byl opět extrahován za horka do acetonitrilu (5 × 10 cm³). Spojené acetonitrilové extrakty byly odpařeny na RVO za získání bezbarvého krystalického prášku.

Název (číslo): *N*-(6-(dimethylamino)-9*H*-purin-2-yl)formamid (**7**)
Purifikace: krystalizace (EtOH)
Vzhled: bezbarvé krystaly
Výtěžek: 114 mg (42 %)
Teplota tání: 290–295 °C
Retenční faktor: 0,56 soustava **b**



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 3,01 (s, 3H, C⁶NCH₃), 3,13 (s, 3H, C⁶NCH₃), 7,84 (s, 1H, C²NHCOH), 8,55 (s, 1H, C⁸H), 11,20 (s, 1H, C²NHCOH), 12,51 (s, 1H, N⁹H) ppm. **¹³C NMR** (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 34,5 (CH₃), 40,5 (CH₃), 156,7 (C), 157,6 (CO) ppm. **IR** (KBr): 3120 (bm), 1664 (s), 1626 (s), 1547 (s), 1431 (m), 1348 (s), 1245 (m), 1117 (m), 928 (m), 841 (m), 787 (m), 738 (w), 705 (w), 647 (w), 578 (w) cm⁻¹. **ESI-MS** (poz) *m/z* (%): 435,2 [2·M+Na⁺]⁺ (20), 413,2 [2·M+H⁺]⁺ (9), 245,1 [M+K⁺]⁺ (35), 229,2 [M+Na⁺]⁺ (100), 207,2 [M+H⁺]⁺ (95). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 205,1 [M-H⁺]⁻ (100). **EA C₈H₁₀N₆O**: vypočteno: C 46,60 %; H 4,89 %; N 40,76 %
nalezeno: C 46,45 %; H 4,88 %; N 40,97 %

Guanin (250 mg, 1,65 mmol), kyselina octová (6 cm³, 105 mmol) a anhydrid kyseliny octové (2 cm³, 21 mmol) byly smíchány za vzniku mléčné suspenze, která byla refluxována při 135 °C, a průběh reakce byl monitorován TLC. Asi po 7 hodinách se začala suspenze pomalu rozpouštět a ke spotřebování výchozí sloučeniny došlo celkem po 12 hodinách. Po ochlazení reakční směsi se vytvořila hustá bezbarvá sraženina, která byla odfiltrována a opakovaně důkladně promyta vodou.¹⁹³

Název (číslo): *N*-(6-oxo-9*H*-purin-2-yl)acetamid (**8**)

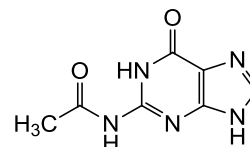
Purifikace: krystalizace (CHCl₃ / EtOH)

Vzhled: bezbarvý krystalický prášek

Výtěžek: 224 mg (70 %)

Teplota tání: 337–342 °C

Retenční faktor: 0,23 soustava **f**



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 2,16 (s, 3H, CH₃), 8,01 (s, 1H, C⁸H), 11,52 (s, 1H, C²NH), 12,01 (s, 1H, N¹H), 12,82 (s, 1H, N⁹H) ppm. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 23,7 (CH₃), 137,4 (C), 147,1 (C), 147,9 (C), 148,4 (C), 154,7 (C), 168,0 (CO), 173,3 (CO) ppm.

IR (KBr): 3158 (bs), 3045 (m), 1693 (s), 1667 (s), 1637 (s), 1568 (m), 1404 (s), 1375 (m), 1261 (m), 1246 (m), 1171 (m), 823 (m), 800 (m), 782 (m), 636 (m) cm⁻¹.

DI-EI-MS (200 °C, 70 eV): 41 (6), 42 (12), 43 (100), 44 (30), 45 (10), 53 (21), 54 (13), 55 (7), 58 (6), 69 (8), 81 (7), 108 (7), 109 (46), 110 (36), 134 (14), 135 (7), 151 (96), 152 (7), 193 (22) *m/z* (%).

ESI-MS (poz) *m/z* (%): 409,2 [2·M+Na⁺]⁺ (11), 387,2 [2·M+H⁺]⁺ (29), 216,1 [M+Na⁺]⁺ (9), 194,2 [M+H⁺]⁺ (100). **ESI-MS** (neg) *m/z* (%): 192,1 [M-H⁺]⁻ (100).

EA C₇H₇N₅O₂: vypočteno: C 43,53 %; H 3,65 %; N 36,26 %

nalezeno: C 43,38 %; H 3,81 %; N 36,31 %

Sloučenina **19** byla získána z látky **9** o navážce 50 mg (0,24 mmol) metodou **B** uvedenou v podkapitole 7.5.

Název (číslo): *N,N*-[(fenyl)(2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranos-1-yl)-(9-(2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranos-1-yl)-9*H*-purin-6-yl)]-amin (**19**)

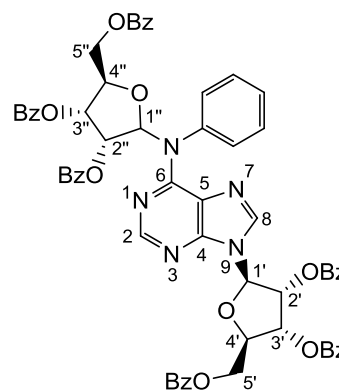
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava **e**)

Vzhled: žluté krystalické vločky/hrudky

Výtěžek: 31,2 mg (12 %)

Teplota tání: 218–224 °C

Retenční faktor: 0,66 soustava **e**



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 4,68 (m, 1H, C^{4''}H(Rib)), 4,76–4,83 (m, 4H, C^{5'}H+C^{5''}H((Rib)), 4,88 (m, 1H, C^{4'}H(Rib)), 5,98 (t, 1H, *J* = 6,15 Hz, C^{1'}H(Rib)), 6,25 (m, 2H, C^{3'}H+C^{3''}H(Rib)), 6,37 (m, 2H, C^{2'}H+C^{2''}H(Rib)), 6,91 (m, 1H, Ph), 7,00 (dd, 2H, *J*₁ = 1,2 Hz, *J*₂ = 8,35 Hz, Ph), 7,16 (m, 2H, Ph), 7,26 (d, 1H, *J* = 4,55 Hz, C^{1''}H(Rib)), 7,36–7,50 (m, 12H, Bz), 7,59–7,66 (m, 6H, Bz), 7,85–7,93 (m, 8H, Bz), 7,99–8,01 (m, 4H, Bz), 8,21 (s, 1H, C²H), 8,52 (s, 1H, C⁸H) ppm. **¹³C NMR** (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 63,3 (CH(Rib)), 64,0 (CH(Rib)), 70,3 (CH(Rib)), 70,6 (CH(Rib)), 72,7 (CH(Rib)), 75,1 (CH(Rib)), 78,6 (CH(Rib)), 79,2 (CH(Rib)), 88,0 (CH(Rib)), 91,3 (CH(Rib)), 112,8 (CH(Ph)), 122,0 (CH(Ph)), 122,8 (CH(Ph)), 128,0 (CH(Bz)), 128,3 (CH(Bz)), 128,4 (CH(Bz)), 128,5 (CH(Bz)), 128,6–128,7 (CH(Bz)), 129,2–129,3 (CH(Bz)), 133,2 (C(Bz)), 133,3 (C(Bz)), 133,4 (C(Bz)), 133,8 (C(Bz)), 133,8 (C(Bz)), 133,9 (C(Bz)), 139,2 (C(Ph)), 142,3 (C), 145,6 (C), 146,4 (C), 149,1 (C), 164,4 (CO(Bz)), 164,5 (CO(Bz)), 164,6 (CO(Bz)), 165,3 (CO(Bz)), 165,4 (CO(Bz)) ppm.

IR (KBr): 3062 (bw), 1728 (s), 1636 (s), 1601 (m), 1584 (m), 1517 (m), 1451 (m), 1316 (m), 1266 (s), 1178 (m), 1122 (s), 1094 (s), 1070 (m), 1025 (m), 709 (s) cm⁻¹.

DI-EI-MS (200 °C, 70 eV): 44 (39), 58 (17), 60 (5), 67 (11), 68 (7), 69 (100), 81 (51), 82 (6), 83 (11), 94 (6), 95 (28), 96 (10), 97 (31), 98 (7), 100 (12), 107 (9), 109 (17), 110 (6), 111 (23), 119 (6), 123 (9), 124 (7), 125 (15), 127 (6), 135 (6), 136 (12), 137 (16), 139 (9), 153 (5), 309 (13), 322 (10), 325 (28), 326 (6), 340 (6), 362 (5) *m/z* (%).

EA C₆₃H₄₉N₅O₁₄: vypočteno: C 68,78 %; H 4,49 %; N 6,37 %
nalezeno: C 68,56 %; H 4,46 %; N 6,22 %

Sloučeniny **37** a **38** byly připraveny z výchozích látek **28** o navážce 72 mg (0,13 mmol) a **29** o navážce 64 mg (0,12 mmol) postupem popsáním v podkapitole 7.8.

Název (číslo): 3-{[6-(fenyl)amino]-9-(β-D-ribofuranos-1-yl)-9*H*-purin-2-yl]amino}propan-1-ol
(**37**)

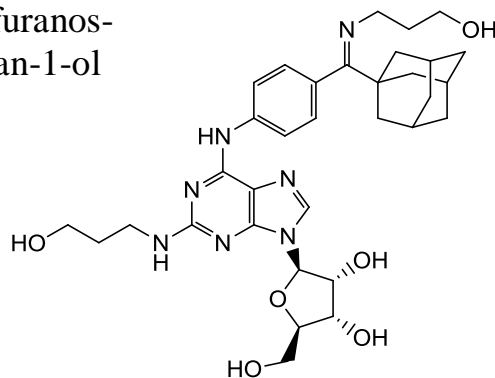
Purifikace: sloupcová chromatografie
(soustava **b**)

Vzhled: nažloutlá krystalická pěna

Výtěžek: 65 mg (87 %)

Teplota tání: 104–112 °C

Retenční faktor: 0,30 soustava **b**



¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 1,74 (m, 12H, CH₂(Ad)), 1,99 (m, 4H, NHCH₂CH₂CH₂OH+CNCH₂CH₂CH₂OH), 2,04 (m, 3H, CH(Ad)), 3,39–3,35 (m, 4H, C²NHCH₂CH₂CH₂OH+CNCH₂CH₂CH₂OH), 3,50–3,54 (m, 4H, C²NHCH₂CH₂CH₂OH+CNCH₂CH₂CH₂OH), 3,55–3,57 (m, 1H, C^{5'}H(Rib)), 3,63–3,68 (m, 1H, C^{5''}H(Rib)), 3,91 (ddd, 1H, *J*₁ = 3,80 Hz, *J*₂ = 11,40 Hz, C^{4'}H(Rib)), 4,15 (dd, 1H, *J*₁ = 4,30 Hz, *J*₂ = 12,20 Hz, C^{3'}H(Rib)), 4,46 (dd, 1H, *J*₁ = 5,20 Hz, *J*₂ = 10,25 Hz, C^{2'}H(Rib)), 4,60 (m, 1H, C^{3'}H(OH)(Rib)), 5,03 (m, 2H,

$C^2NH(CH_2)_3OH+CN(CH_2)_3OH$), 5,12 (d, 1H, $J = 4,70$ Hz, $C^5H_2OH(Rib)$), 5,37 (d, 1H, $J = 6,10$ Hz, $C^2HOH(Rib)$), 5,80 (d, 1H, $J = 6,10$ Hz, $C^1H(Rib)$), 6,71 (m, 1H, C^2NH), 7,72 (d, 2H, $J = 7,35$ Hz, Ph), 8,09 (s, 1H, C^8H), 8,13 (d, 2H, $J = 8,70$ Hz, Ph), 9,75 (s, 1H, C^6NH) ppm.

IR (KBr): 3378 (bs), 2906 (s), 2851 (m), 1631 (s), 1590 (s), 1516 (s), 1410 (m), 1272 (m), 1239 (s), 1175 (s), 1083 (s), 1053 (s), 987 (m), 786 (s), 750 (m) cm^{-1} .

Název (číslo): 3-[[6-(fenyl)amino]-9-(β -D-ribofuranos-1-yl)-9H-purin-2-yl]amino}propan-1-ol
(38)

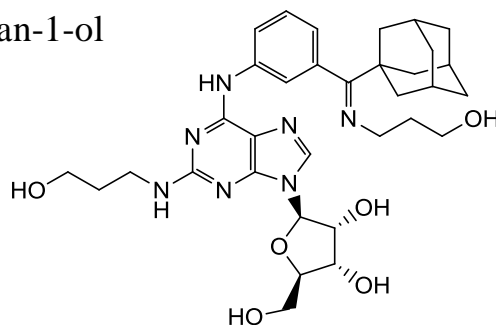
Purifikace: sloupcová chromatografie (soustava b)

Vzhled: nažloutlý tuhý olej

Výtěžek: 74 mg (87 %)

Teplota tání: 88–96 °C

Retenční faktor: 0,34 soustava b



1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ 1,72 (m, 12H, $CH_2(Ad)$), 1,95 (m, 4H, $NHCH_2CH_2CH_2OH+CNCH_2CH_2CH_2OH$), 2,03 (m, 3H, $CH(Ad)$), 3,32–3,37 (m, 4H, $C^2NHCH_2CH_2CH_2OH+CNCH_2CH_2CH_2OH$), 3,48–3,51 (m, 4H, $C^2NHCH_2CH_2CH_2OH+CNCH_2CH_2CH_2OH$), 3,53–3,57 (m, 1H, $C^5H(Rib)$), 3,64–3,66 (m, 1H, $C^5H(Rib)$), 3,91 (d, 1H, $J = 3,65$ Hz, $C^3H(Rib)$), 4,15 (m, 1H, $C^4H(Rib)$), 4,43 (m, 1H, $C^2H(Rib)$), 4,59 (m, 1H, $C^3HOH(Rib)$), 5,07 (m, 3H, $C^5H_2OH(Rib)+C^2NH(CH_2)_3OH+CN(CH_2)_3OH$), 5,37 (m, 1H, $C^2HOH(Rib)$), 5,79 (d, 1H, $J = 5,95$ Hz, $C^1H(Rib)$), 6,52 (m, 1H, C^2NH), 7,11 (d, 1H, $J = 8,25$ Hz, Ph), 7,34 (t, 1H, $J_1 = 8,00$ Hz, $J_2 = 15,90$ Hz, Ph), 8,08 (s, 1H, C^8H), 8,13 (s, 1H, Ph), 8,31 (s, 1H, Ph), 9,65 (s, 1H, C^6NH) ppm.

IR (KBr): 3383 (bs), 2907 (s), 2852 (m), 1630 (s), 1580 (s), 1529 (m), 1485 (s), 1412 (m), 1257 (m), 1121 (m), 1083 (s), 1053 (s), 902 (m), 787 (s), 737 (m) cm^{-1} .

7.10 Metodika studia biologické aktivity

Studium biologické aktivity připravených purinových ribonukleosidů *in vitro* bylo provedeno na Katedře experimentální biologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci pod vedením doc. RNDr. Vladimíra Kryštofa, Ph.D.

Pro testy cytotoxicity byly použity buněčné linie K562 (chronická myeloidní leukemie) a MV4;11 (akutní myeloidní leukemie) byly získány z Evropské sbírky ověřených buněčných kultur (ECACC – European Collection of Cell Cultures). Buněčné linie byly kultivovány v Dulbeccově modifikovaném Eaglově mediu obohaceném o 10% fetální hovězí sérum, penicilin ($100 U \cdot cm^{-3}$) a streptomycin ($100 \mu g \cdot cm^{-3}$) při 37 °C v prostředí 5% CO_2 . Pro testy životaschopnosti (viability) byly buňky nasazeny na 96jamkové destičky (5000 buněk na jamku) a po preinkubační době byly ošetřeny v triplicátech šesti různými dávkami každé připravené sloučeniny po dobu 72 hodin. Po ošetření byl na čtyři hodiny přidán

roztok resazurinu (Sigma-Aldrich) a fluorescence resorufinu vytvořeného v živých buňkách byla měřena při 544 nm/590 nm (excitace/emise) pomocí čtečky mikrodestiček Fluoroskan Ascent (Labsystems). Hodnota IC₅₀, koncentrace léčiva letální pro 50 % buněk, pak byla vypočtena z křivek dávka-odezva.¹⁹⁴

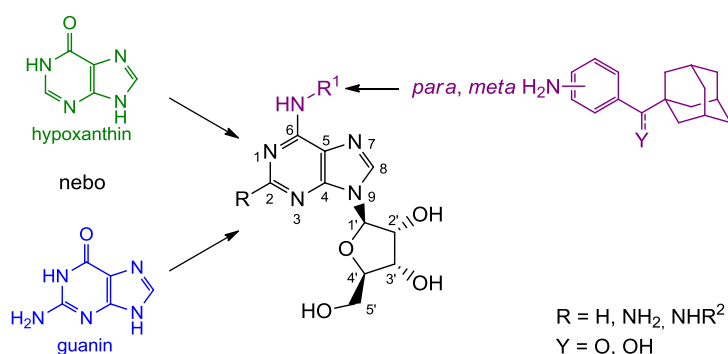
Inhibice enzymu AtCKX2, který byl vyprodukován v *Saccharomyces cerevisiae* podle publikovaného protokolu, byla zjišťována modifikovaným testem podle dříve publikované metody.¹⁹⁵ Všechny kroky pipetování byly provedeny na stanici pro manipulaci s kapalinami Opentrons II (Opentrons). Inhibice enzymu byla měřena na 384jamkových destičkách (Corning). Nejprve byly testované sloučeniny automaticky zředěny na čtyři cílové koncentrace, aby se vytvořily křivky závislé na koncentraci. 49 μ l reakční směsi (0,1 M pufr fosforečnanu draselného, 2,1 mM EDTA, 2,1 mg·ml⁻¹ BSA, 0,2 mM DCIP, pH 7,4) s enzymovým substrátem při saturační koncentraci (konečná koncentrace ve směsi: 45 μ M *iP* pro AtCKX2) bylo nanášeno na destičku, poté byl přidán 1 μ l testované sloučeniny. Nakonec bylo ke směsi přidáno 50 μ l enzymu a destička byla inkubována ve čtečce (BioTek™ Synergy™ H4) při 37 °C. Absorbance byla měřena každé 2 minuty po dobu 20 minut při 590 nm. Z lineární části (alespoň 5 měření) grafu byla vypočtena směrnice klesající koncentrace DCIP a normalizována na maximální rychlost enzymu (reakční směs se substrátem, ale bez potenciálního inhibitoru). Hodnoty IC₅₀ pro každou sloučeninu byly vypočteny pomocí vyhodnocovacího skriptu v Pythonu. Každá sloučenina byla testována v duplikátech na stejné destičce a testy pro každou sloučeninu byly opakovány alespoň dvakrát.¹⁹⁶

DISKUZE A VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

8 MULTIKROKOVÁ SYNTÉZA PURINOVÝCH RIBONUKLEOSIDŮ

Alfou a omegou této disertační práce bylo připravit ucelenou sérii nových 6-substituovaných a 2,6-disubstituovaných purinových ribonukleosidů obsahujících adamantanový skelet za účelem následného zkoumání jejich účinků vůči vybraným buněčným cílům.

Tyto dvě zmíněné skupiny nukleosidů měly vycházet z jednoduchých purinových derivátů za vzniku série látek s atomem vodíku v poloze C2 purinového kruhu a se substituovanou aminoskupinou na stejném místě. Poloha C6 byla zvolena pro obsazení substituenty nesoucími 1-adamantyl (Obrázek 21).

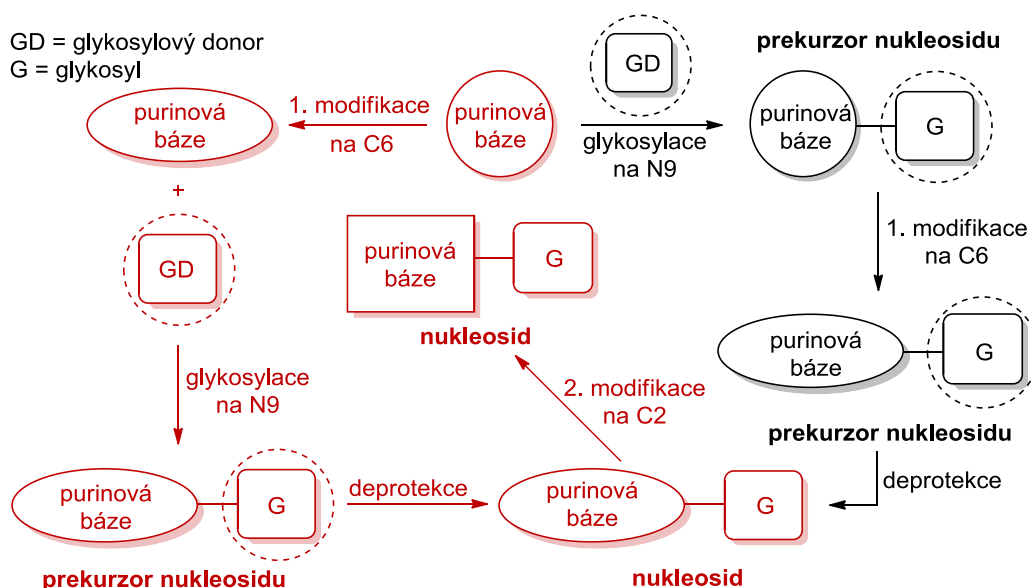


Obrázek 21: Obecná struktura připravovaných nukleosidů.

Každá vize na vytvoření dosud nepopsaných látek, které by v budoucnu mohly najít praktické využití, je doprovázena myšlenkou na to, aby syntetická cesta byla efektivní a časově i finančně co možná nejméně náročná.

Tvorba nukleosidů standardně čítá tři základní kroky a může se ubírat dvěma směry. Nejčastěji vypadá následovně: do polohy N9 purinové báze je zaveden zbytek z glykosylového donoru, jehož hydroxylové skupiny bývají zablokovány chránicími skupinami. Před i po samotném navázání glykosylu na danou sloučeninu, se řadí případné modifikace purinové báze, a ne vždy nutně na závěr dochází k odstranění chránících skupin z cukerné části a vzniku cílového nukleosidu.

K dosažení stanovených cílů jsme zvolili sled reakcí zvýrazněných na Obrázku 22 červenou barvou. V rámci tohoto postupu jsou vybrané purinové báze nejprve substituovány v poloze C6 deriváty adamantanu, následně glykosylovány ochráněným monosacharidem, z něhož jsou v dalším kroku chránicí skupiny odstraněny, a celá syntéza je ukončena druhou modifikací purinové báze další substitucí, tentokrát v poloze C2 purinového kruhu (tento krok se týká pouze 2,6-disubstituovaných purinových ribonukleosidů).



Obrázek 22: Obecné znázornění přípravy a možných modifikací nukleosidů.

8.1 Příprava adamantylových substituentů a dalších výchozích látek

8.1.1 Příprava aromatických aminů na bázi adamantanu

Ve studiích naší výzkumné skupiny zabývajících se vývojem nových sloučenin na bázi adamantanu se již několikrát objevila před lety vyvinutá syntéza různě „dlouhých“ 1-adamantyl(alkyl/aryl)aminů vycházející z adamantan-1-karboxylové kyseliny (Schéma 34).^{177,185,187}

Struktury těchto sloučenin, stejně jako syntetická cesta vedoucí k nim, byly navrženy mimo jiné na základě úvahy o jejich možné orientaci v aktivním místě cyklin-dependentních kinas (konkrétně heterodimerního komplexu CDK2/cyklin E), pro jejichž inhibici byly tyto „stavební bloky“ syntetizovány a posléze implementovány do polohy C6 purinového skeletu. Další důvody, pro něž jsou často využívány, byly blíže komentovány v kapitole 4.2 této práce (str. 46).

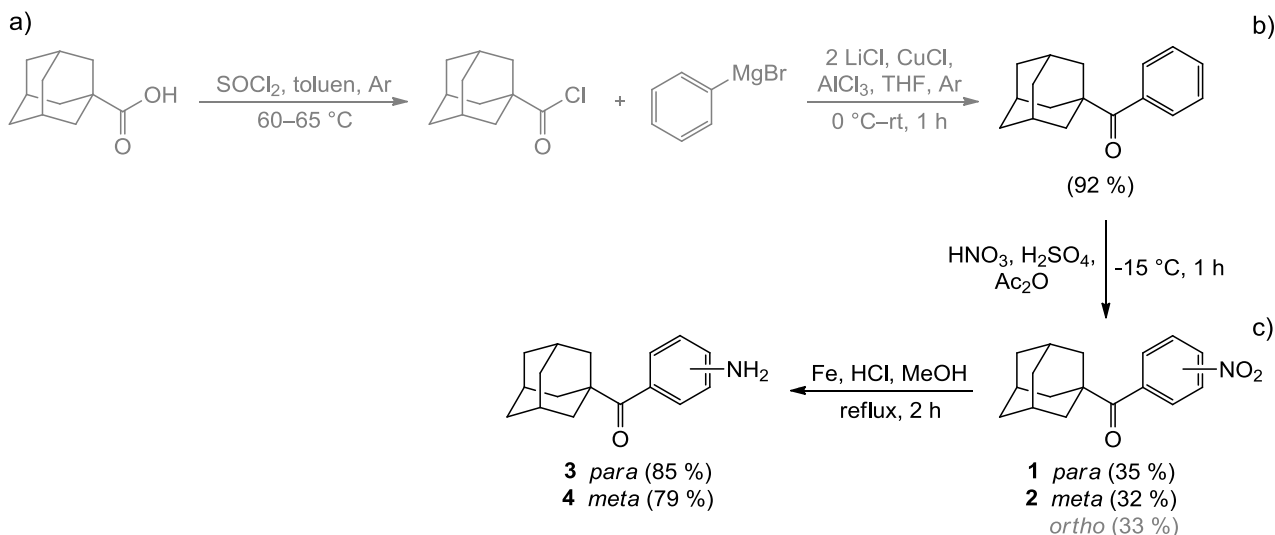
Jelikož z předchozích projektů realizovaných v naší výzkumné skupině zůstalo nevyužito větší množství 1-adamantyl(fenyl)methanonu, byla příprava potřebných sloučenin zahájena jeho nitrací, která je znázorněna na Schématu 34b.

Samotná elektrofilní aromatická substituce výchozího ketonu byla provedena ověřeným postupem za vzniku odpovídajících *ortho*, *meta* a *para* regioisomerů v přibližném poměru 1:1:1 (dle GC-MS). Pro oddělení jednotlivých isomerů bylo nutné provést několikanásobnou sloupcovou chromatografii s tím, že *ortho* derivát již v dalších syntézách nebyl využit. Důvodem byl předpoklad vzniku sterického bránění purinového skeletu uvažovaných sloučenin.

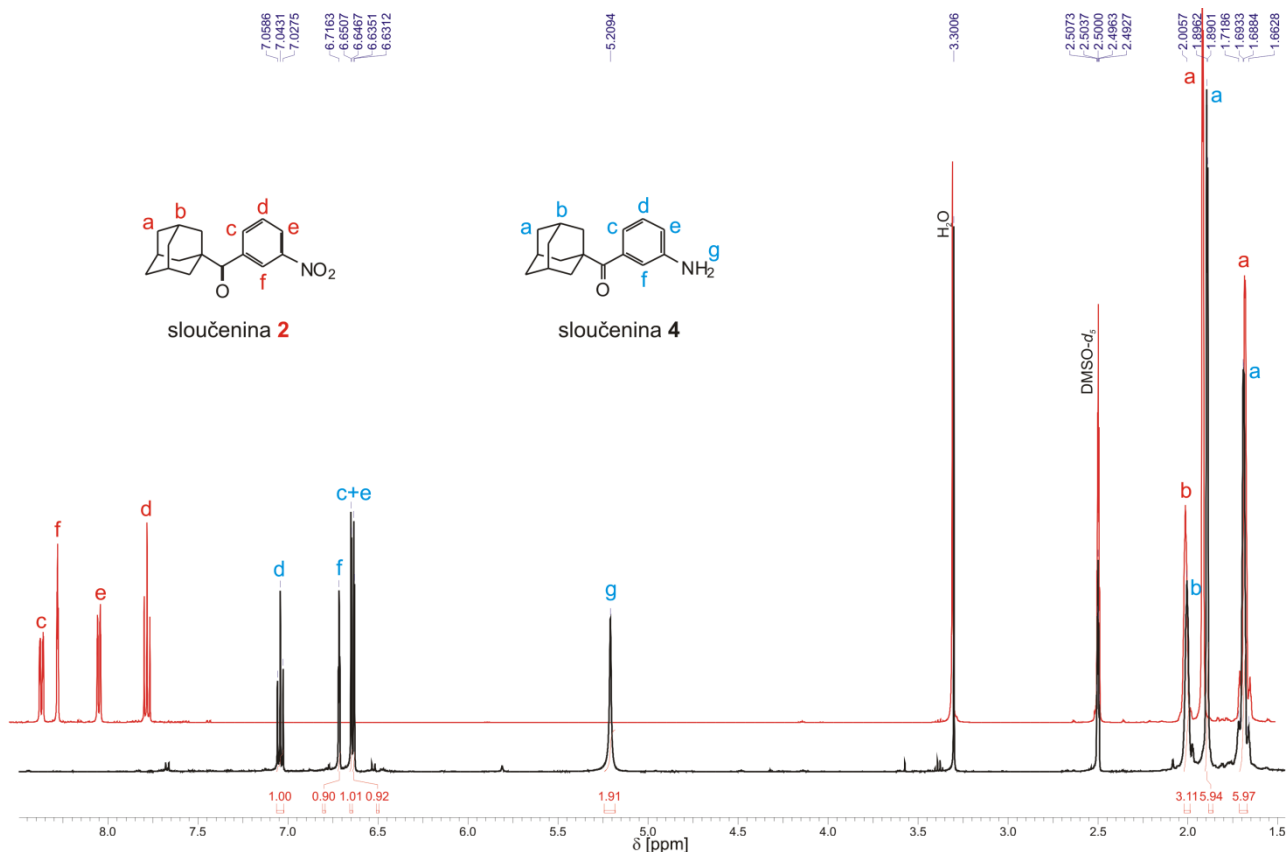
Následně byly 1-adamantyl(nitrofenyl)ketony **1** (*para*) a **2** (*meta*) podrobeny selektivní redukcí vodíkem (Schéma 34c) vznikajícím *in situ* z reakce práškového pentakarbonylového železa s kyselinou chlorovodíkovou v methanolu (1:1, v:v). Sloučeniny **3** a **4** byly po přečištění pomocí sloupcové chromatografie získány

ve vysokých výtěžcích a čistotě vhodné pro jejich použití v dalších reakcích. Struktura sloučenin **1–4** byla určena pomocí běžných spektrálních metod (IR, NMR, ESI-MS) s tím, že získaná spektra byla srovnána se spektry těchto látek připravených v naší výzkumné skupině v předcházejících letech.¹⁸⁵

Schéma 34



Na Obrázku 23 jsou zobrazena dvě ¹H NMR spektra poskytující srovnání *meta* nitroketonu **2** a *meta* aminoketonu **4**. Zatímco v ¹H NMR spektru sloučeniny **2** nebyl pozorován singlet v oblasti 5,21 ppm, odpovídající dvěma atomům vodíku pocházejícím z primární aminoskupiny umístěné v poloze *meta* aromatického kruhu, ve spektru sloučeniny **4** tento signál přítomen byl. To, spolu s výrazným posunem všech signálů H-atomů aromatického kruhu k vyššímu poli, indikuje úspěšně provedenou redukci nitroskupiny na skupinu aminovou.



Obrázek 23: ^1H NMR spektra sloučenin 2 a 4.

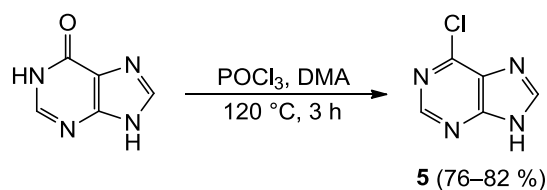
8.1.2 Chlorace hypoxanthinu a guaninu

Přestože jsou chlorderiváty purinu, které jsme pro syntézu námi uvažovaných látek potřebovali, komerčně dostupné, rozhodli jsme se vydat cestou jejich přípravy z dostupných prekurzorů, konkrétně hypoxanthinu a guaninu. Tyto se jeví jako ideální výchozí sloučeniny pro obě zamýšlené série ribonukleosidů splňující požadované podmínky substituce polohy C2 purinového jádra – hypoxanthin s atomem vodíku a guanin s primární aminoskupinou.

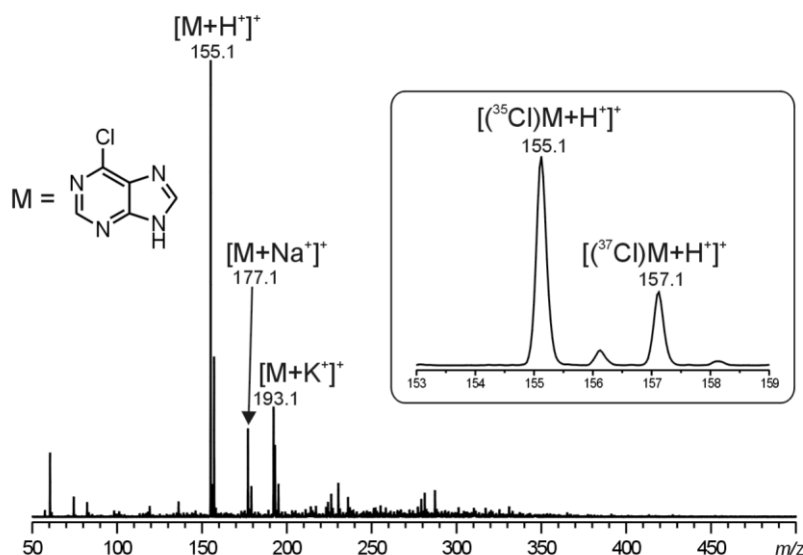
Aby však byly obě výše zmíněné výchozí sloučeniny použitelné i pro další syntetické kroky, bylo nejprve nutné provést nahrazení oxoskupiny na C6 purinového skeletu za atom chloru. V případě hypoxanthinu tento krok nečinil žádný větší problém. Po provedení modelové chlorace hypoxanthinu (v množství 200 mg výchozí látky) pomocí fosforyl chloridu v *N,N*-dimethylanilinu (DMA) byl získán požadovaný 6-chlor-9*H*-purin (**5**) ve výtěžku převyšujícím 80 %, stejně jako v publikaci,¹⁸⁸ z níž jsme postup převzali. Vhodnost reakčních podmínek byla následně potvrzena také při použití většího množství výchozí látky (1,5 g), i když byl uvažovaný produkt získán v o něco nižším výtěžku, a sice 76 % (Schéma 35).

Jedinou komplikací celého procesu bylo, že při neutralizaci reakční směsi vodným roztokem hydroxidu amonného docházelo k postupné tvorbě modrého zbarvení způsobeného vznikem krystalové violeti. Tu bylo však možné z vodného podílu odstranit extrakcí do chloroformu, a to bez obav ze ztráty produktu, jelikož 6-chlor-9*H*-purin je v chloroformu rozpustný jen velmi omezeně.

Schéma 35



Na Obrázku 24 je uvedeno ESI-MS spektrum prvního řádu 6-chlor-9*H*-purinu (**5**) získané v pozitivním skenovacím módu, v němž byly pozorovány tři významné signály. Ion protonované molekuly ($[M+H]^+$) o m/z 155,1 je doprovázen jeho sodným $[M+Na]^+$ a draselným $[M+K]^+$ aduktem. Dále dle vzhladu izotopologického klastru všech pozorovaných signálů je zjevné, že je ve struktuře sloučeniny **5** skutečně přítomen jeden atom chloru (vzájemný poměr iontů lišících se o 2 m/z je v přibližně 3:1, což odpovídá poměru izotopů ³⁵Cl a ³⁷Cl).

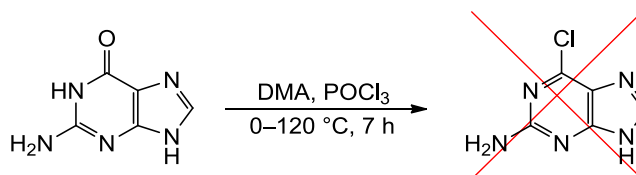


Obrázek 24: ESI-MS spektrum prvního řádu 6-chlor-9*H*-purinu.

Při aplikaci shodných reakčních podmínek pro chloraci guaninu se však, bohužel, podobný úspěch nekonal. Překážkou se ukázala být špatná rozpustnost guaninu v běžných organických rozpouštědlech, případně tvorba nežádoucích produktů.

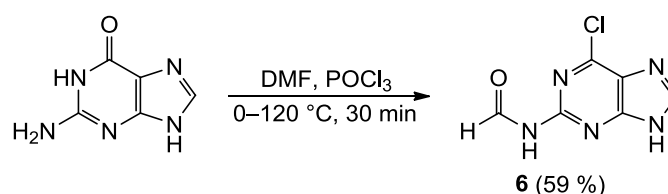
Byl-li jako rozpouštědlo, stejně jako v případě hypoxanthinu, použit *N,N*-dimethylanilin, nebyl na tenkovrstvé chromatografii (TLC), použité pro monitorování průběhu reakce, ani po 120 hodinách provádění reakce pozorován žádný náznak úbytku výchozího guaninu či vzniku jakýchkoliv nových látek (Schéma 36).

Schéma 36



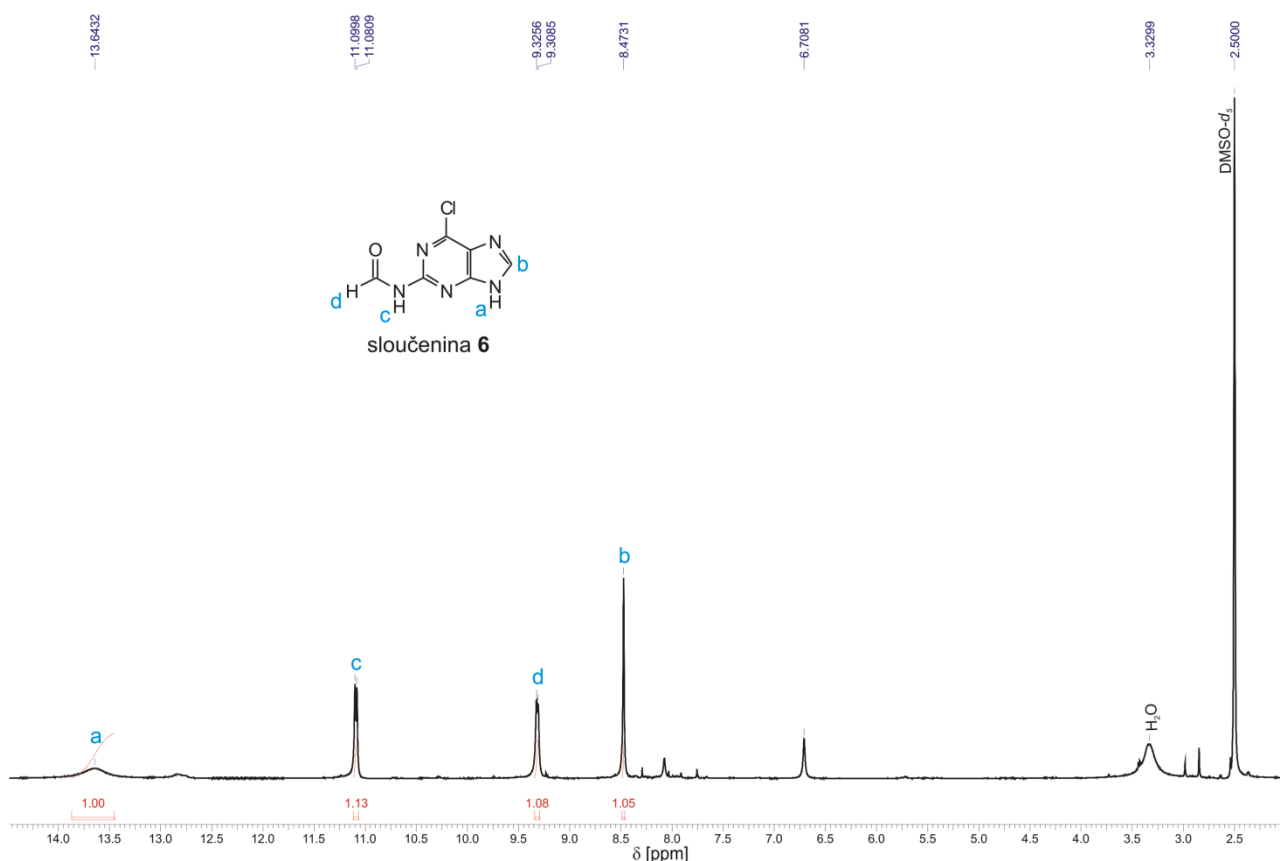
Z tohoto důvodu byl *N,N*-dimethylanilin nahrazen *N,N*-dimethylformamidem (DMF), přičemž již během 30 minut došlo ke spotřebování výchozí látky (Schéma 37). Po zpracování reakční směsi však bylo dle TLC zjevné, že v diskutované reakci vzniklo více sloučenin, z nichž bylo možné úspěšně izolovat pouze jednu. Na základě analýzy výsledků získaných pomocí hmotnostní spektrometrie s elektrosprejovou ionizací (ESI-MS) a ¹H a ¹³C NMR bylo navrženo, že se jedná o sloučeninu **6**, nikoliv o požadovaný 2-amino-6-chlor-9*H*-purin.

Schéma 37



V hmotnostním spektru prvního řádu získaného pomocí ESI-MS byl pozorován jedenkrát nabitý ion s hodnotou 198,2 *m/z*, což neodpovídá očekávanému produktu, jehož exaktní hmotnost činí 169,016 u. Vzhled molekulového klastru však naznačuje úspěšné navázání jednoho atomu chloru, jak je zjevné z přibližného poměru signálů 198 *m/z* a 200 *m/z* 3:1, který je, jak už bylo řečeno, pro izotopy ³⁵Cl (198 *m/z*) a ³⁷Cl (200 *m/z*) běžný.

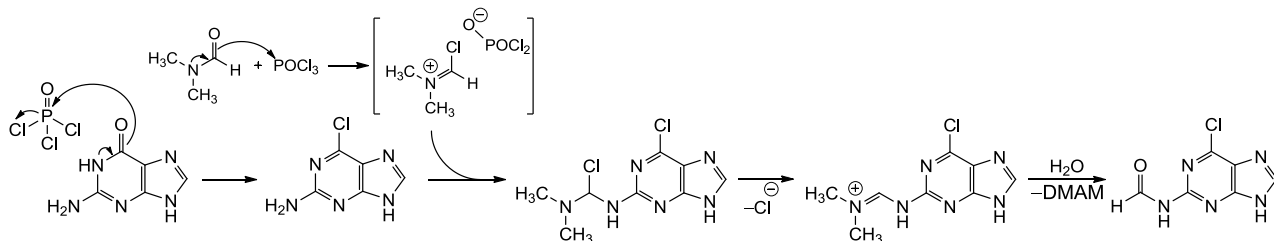
V ¹H NMR spektru vyizolované sloučeniny (Obrázek 25) nebyl, oproti očekávání, pozorován signál odpovídající primární aminoskupině v poloze C2 výchozího guaninu. Naopak byl ve spektru detekován signál v podobě dubletu s posunem 7,84 ppm náležící atomu vodíku ze vzniklého formamidu „NHCHO“, stejně jako další dublet o 11,20 ppm patřící atomu vodíku amidové skupiny „NHCHO“ na C2 purinového kruhu. Na základě těchto skutečností lze předpokládat, že struktura připravené látky skutečně odpovídá sloučenině **6**, nikoliv uvažovanému produktu.



Obrázek 25: ^1H NMR spektrum neočekávaného produktu 6.

Vznik formamidového purinového derivátu je možné vysvětlit Vilsmeierovou–Haackovou reakcí,¹⁹⁷ která spočívá v působení komplexu terciárního amidu, v našem případě DMF, s velkým přebytkem fosforyl chloridu na purinový derivát, jak je naznačeno ve Schématu 38. Navržený mechanismus znázorňuje jak již zmíněnou substituci oxoskupiny v poloze 6 guaninu atomem chloru, tak navázání chloriminiového kationtu, pocházejícího právě z reakce fosforyl chloridu a DMF, na primární aminoskupinu v poloze 2 vzniklého purinového chlorderivátu. Po odštěpení chloridového iontu za vytvoření dalšího iminiového kationtu dochází k hydrolýze a „ztrátě“ dimethylaminu, což vede ke vzniku sloučeniny 6. Bez bližšího zkoumání však nelze s jistotou říci, v jakém pořadí uvedený sled reakcí probíhá.

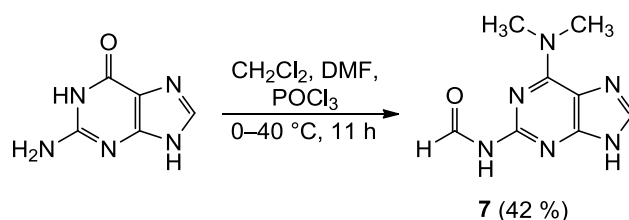
Schéma 38



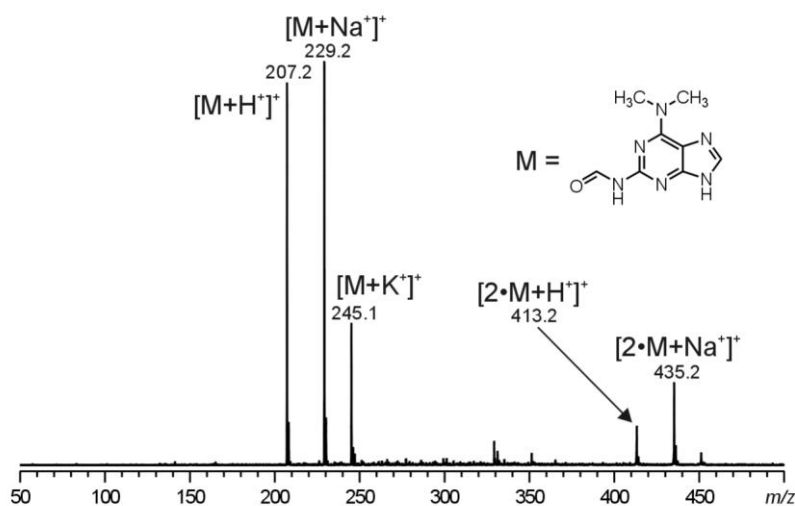
Tento nezdar vedl k aplikaci jiných, mírně modifikovaných, reakčních podmínek. Od předchozího postupu se lišily výrazně nižší teplotou reakční směsi a použitím směsi rozpouštědel dichlormethanu a DMF v poměru 6:1 (v:v). Přestože čínští autoři,

kterí publikovali popisovanou metodu pro chloraci guaninu,¹⁹² získali požadovaný produkt s výtěžkem 70 %, v našem případě tomu tak nebylo. Výchozí guanin byl za daných podmínek během 11 h přeměněn na další neočekávanou sloučeninu, a to na formamid **7**, jak je uvedeno na Schématu 39. Přestože bylo do reakční směsi přidáno podstatně menší množství DMF než v předešlých případech, došlo opět ke konverzi primární aminoskupiny v poloze C2 na amid. Současně však neproběhla chlorace polohy C6 jako tomu bylo u sloučeniny **6**, pravděpodobně z důvodu nízké teploty a malého množství fosforyl chloridu, nicméně byl do této pozice navázán uvolněný dimethylamin z DMF.

Schéma 39



Vzhled všech signálů v ESI-MS spektru (Obrázek 26) potvrdil, že v získané molekule není přítomný žádný atom chloru. Dominantními signály pozorovanými ve spektru prvního řádu byly sodný adukt $[\text{M}+\text{Na}^+]^+$ ($229\text{ }m/z$) a protonovaná molekula $[\text{M}+\text{H}^+]^+$ ($207\text{ }m/z$). Tyto byly doprovázeny jedenkrát nabitým iontem o m/z 245, který byl určen jako draselný adukt $[\text{M}+\text{K}^+]^+$. Ve spektru prvního řádu kladně nabitých iontů byly také pozorovány dva signály s hodnotou m/z přibližně dvakrát vyšší. Jedním z nich byl protonovaný dimer $[2\cdot\text{M}+\text{H}^+]^+$ a druhým jeho sodný adukt $[2\cdot\text{M}+\text{Na}^+]^+$.



Obrázek 26: ESI-MS spektrum prvního řádu neočekávaného produktu **7**.

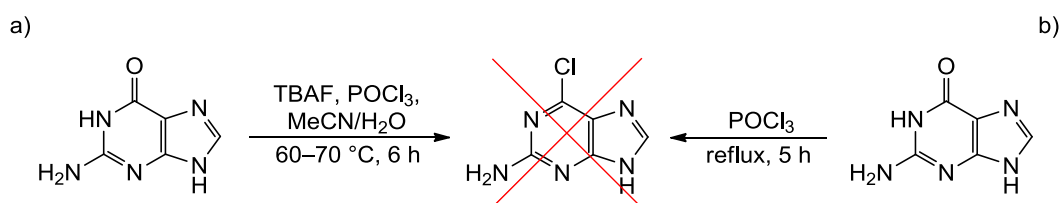
V alifatické oblasti ^1H NMR spektra sloučeniny **7** byly pozorovány dva singlety (3,01 a 3,13 ppm) odpovídající dvěma methylovým skupinám pocházejícím

ze zbytku dimethylaminu odštěpeného v průběhu reakce z DMF, jímž byla následně substituována oxoskupina v poloze C6 guaninu. Nutno podotknout, že v ^1H NMR spektru formamidu **6**, tyto signály pozorovány nebyly.

Další pokus o přípravu 2-amino-6-chlor-9*H*-purinu byl proveden dle postupu uvedeného v evropském patentu.¹⁹⁸ Za použití katalyzátoru fázového přenosu, konkrétně tetrabutylamonium-fluoridu (TBAF) v acetonitrilu s katalytickým množstvím vody (Schéma 40a) však ke vzniku požadované sloučeniny nedošlo, na TLC byla i po šesti hodinách pozorována pouze výchozí látka.

Stejně tomu bylo i v případě, kdy jsme testovali použití samotného fosforylchloridu s vyloučením rozpouštědla i báze (Schéma 40b). I tento experiment skončil neúspěchem, kdy pomocí TLC nebyl pozorován vznik žádného produktu.

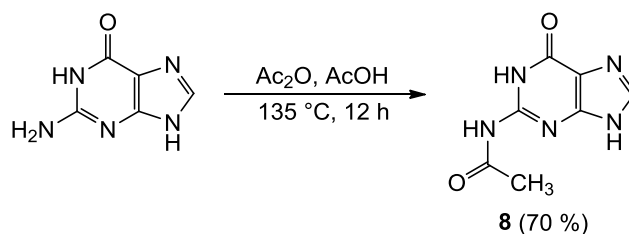
Schéma 40



Jelikož všechny výše uvedené pokusy o převedení guaninu na požadovaný chlor derivát nebyly úspěšné, ať už z důvodu vzniku nežádoucích produktů nebo proto, že k žádné reakci nedocházelo, rozhodli jsme se zavést chránicí skupinu na primární aminovou skupinu guaninu v poloze C2, která při minulých pokusech podléhala nežádoucím reakcím, a preventivně také na sekundární aminoskupinu v poloze 9, i když v jejím případě dosud k žádným nežádoucím reakcím nedocházelo.

Jedním z nejběžnějších způsobů chránění aminů spočívá v převedení na amid zavedením acetylových skupin. Přestože v původní studii,¹⁹³ odkud jsme podklady pro metodu získali, byly ochráněny obě aminoskupiny (tedy ty v polohách C2 i N9), námi modifikovaný guanin **8** vzniklý po 12hodinové reakci s vroucí směsí kyseliny octové a jejího anhydridu (Schéma 41) nesl acetyl pouze jeden, jak bylo prokázáno při charakterizaci získaného produktu pomocí ESI-MS a NMR analýz.

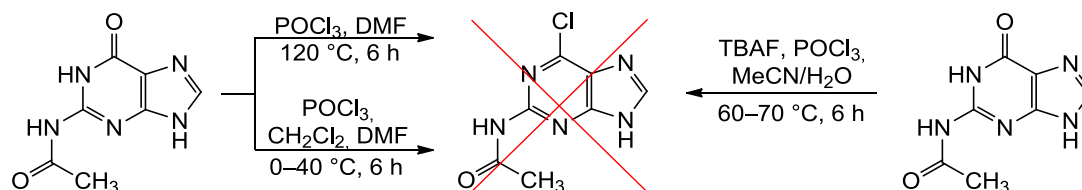
Schéma 41



Nicméně i přes tento částečný neúspěch bylo možné získaný produkt dále využít, jelikož byla ochráněna primární aminoskupina v poloze 2, která ochotně podléhala nežádoucím vedlejším reakcím ve výše popisovaných reakcích.

Následovaly tedy pokusy o převedení monoacetylovaného guaninu **8** na odpovídající 6-chlorderivát. Východí guanin **8** byl vystaven jak primárně použitým podmínkám, tedy působení vroucího roztoku fosforyl chloridu v DMF, tak podmínkám modifikovaným za použití směsi DCM:DMF (6:1, v:v) při teplotě 40 °C. Ovšem ani v jednom z pokusů nebyly po 6 hodinách v reakční směsi pozorovány jakékoliv změny. Proto byla ještě vyzkoušena reakce ve dvoufázové směsi TBAF a fosforyl chloridu, což však rovněž nevedlo k požadovanému výsledku. Všechny uvedené reakce jsou znázorněny na Schématu 42.

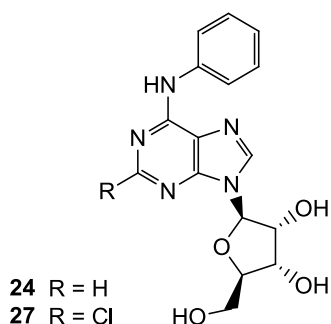
Schéma 42



Po opakovaných selháních výše popsaných metod jsme se rozhodli syntézu 2,6-disubstituovaných nukleosidů provádět z východího 2,6-dichlor-9*H*-purinu, který byl již dříve zakoupen od společnosti ApliChem. Oproti původně zamýšlené základní struktuře jedné připravované série látek tak došlo ke změně, kdy namísto aminové skupiny v poloze 2 purinového kruhu zde byl atom chloru s možností jeho budoucího nahrazení vhodným substituentem.

8.2 Příprava purinových derivátů a jejich glykosylace

Glykosylační reakce, přestože jsou léty ověřené a nesčetněkrát zopakované, málokdy probíhají dle prvotního předpokladu. Jejich úskalí byla diskutována již v kapitole 1 této práce (str. 10). Z tohoto důvodu, ještě než bylo přistoupeno k přípravě zamýšlených nukleosidů, v jejichž struktuře se měl vyskytovat adamantanový motiv, byly všechny zvolené reakční podmínky vycházející z dostupné literatury nejen pro glykosylace, ale i pro nukleofilní aromatické substituce purinového skeletu a další reakce, nejdříve vyzkoušeny s modelovým substituentem, kterým byl anilin. Takto byly připraveny sloučeniny **24** a **27** (Obrázek 27), které v poloze C6 purinového kruhu nesou sekundární aromatický amin, pocházející z anilinu, a v poloze C2 atom vodíku nebo atom chloru. Dalším důvodem, proč nebyla poloha C6 purinových derivátů rovnou obsazena aromatickými aminy s 1-adamantylem, byl fakt, že jsou tyto látky pro optimalizaci syntetické cesty příliš cenné. Byla-li pak aplikace reakčních podmínek vedoucí k látkám **24** a **27** úspěšná, následovalo jejich použití i při syntéze uvažovaných sloučenin obsahujících ve své molekule adamantanový skelet.



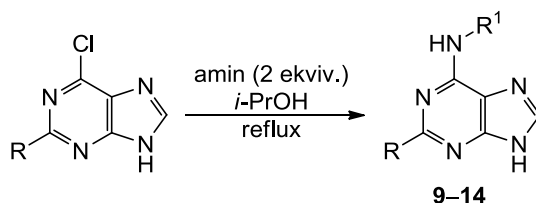
Obrázek 27: „Modelové“ nukleosidy nesoucí sekundární aromatický amin v poloze C6 purinového kruhu.

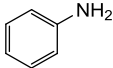

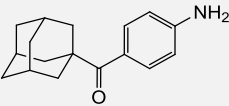
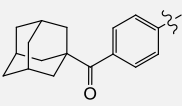
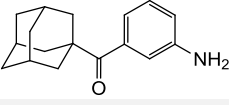
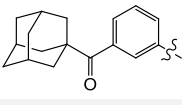
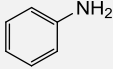

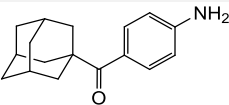
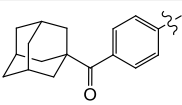
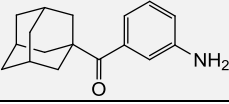
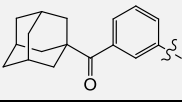
8.2.1 Nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze C6

Nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze C6 6-chlor-9*H*-purinu (**5**) a 2,6-dichlor-9*H*-purinu byla prováděna pomocí nadbytku aromatického aminu ve vroucím propan-2-olu.⁶⁸ Zvolené reakční podmínky vychází ze zkušeností nabytých v naší výzkumné skupině v uplynulých letech, kdy se tyto jeví při provádění tohoto typu reakce jako nejvhodnější.

Jak je uvedeno výše, pro ověření vhodnosti reakčních podmínek byly nejprve provedeny syntézy s modelovým substituentem, jímž byl anilin (Schéma 43, reakce 1 a 4). V obou případech došlo během několika hodin k vysrážení žlutého krystalického prášku, který bylo možné odfiltrovat za sníženého tlaku. Získané pevné podíly byly následně opakovaně promyty ledovým propan-2-olem (z důvodu odstranění nezreagovaného anilinu) a překrytalizovány ve směsi methanol/chloroform. Uvažované sloučeniny **9** a **12** byly získány ve vysokých výtěžcích a v dostatečné čistotě.

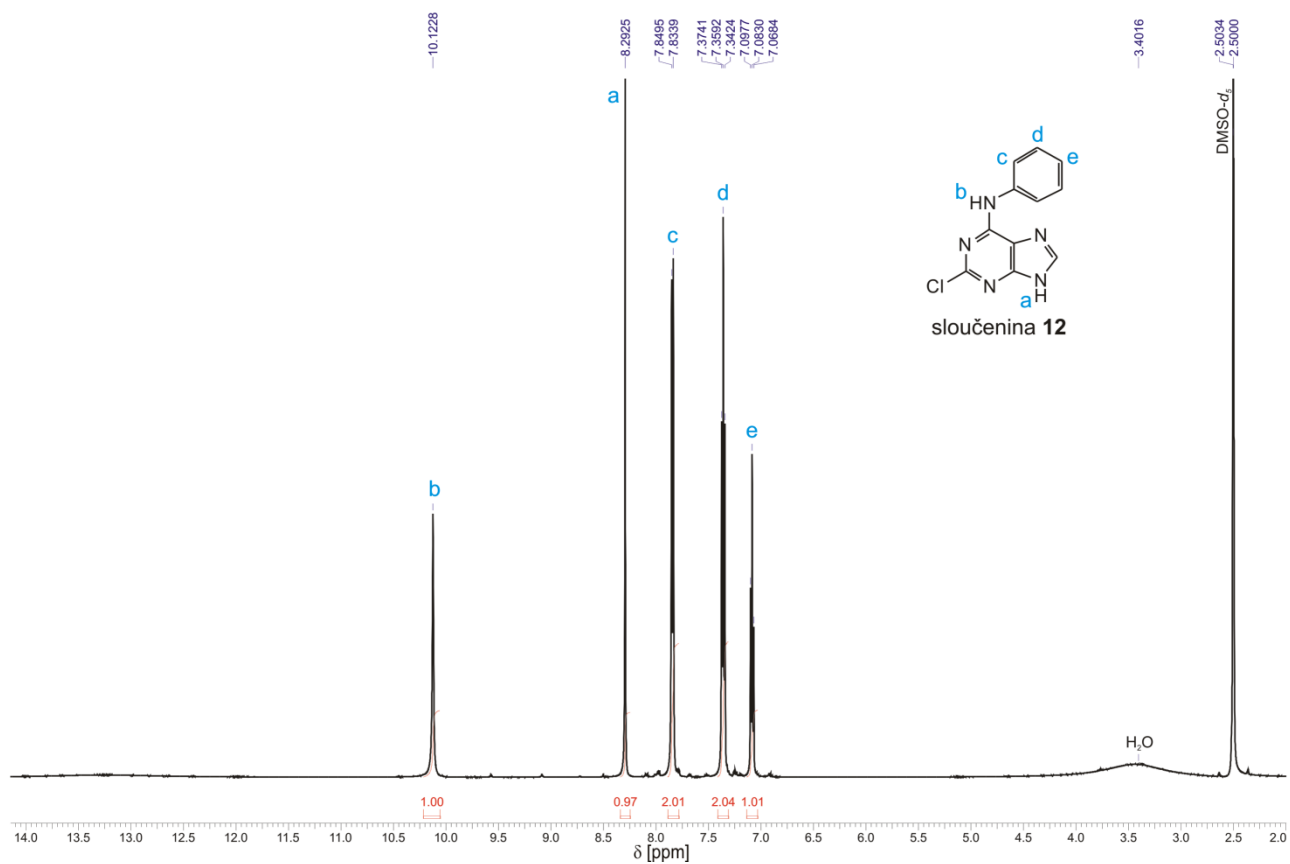
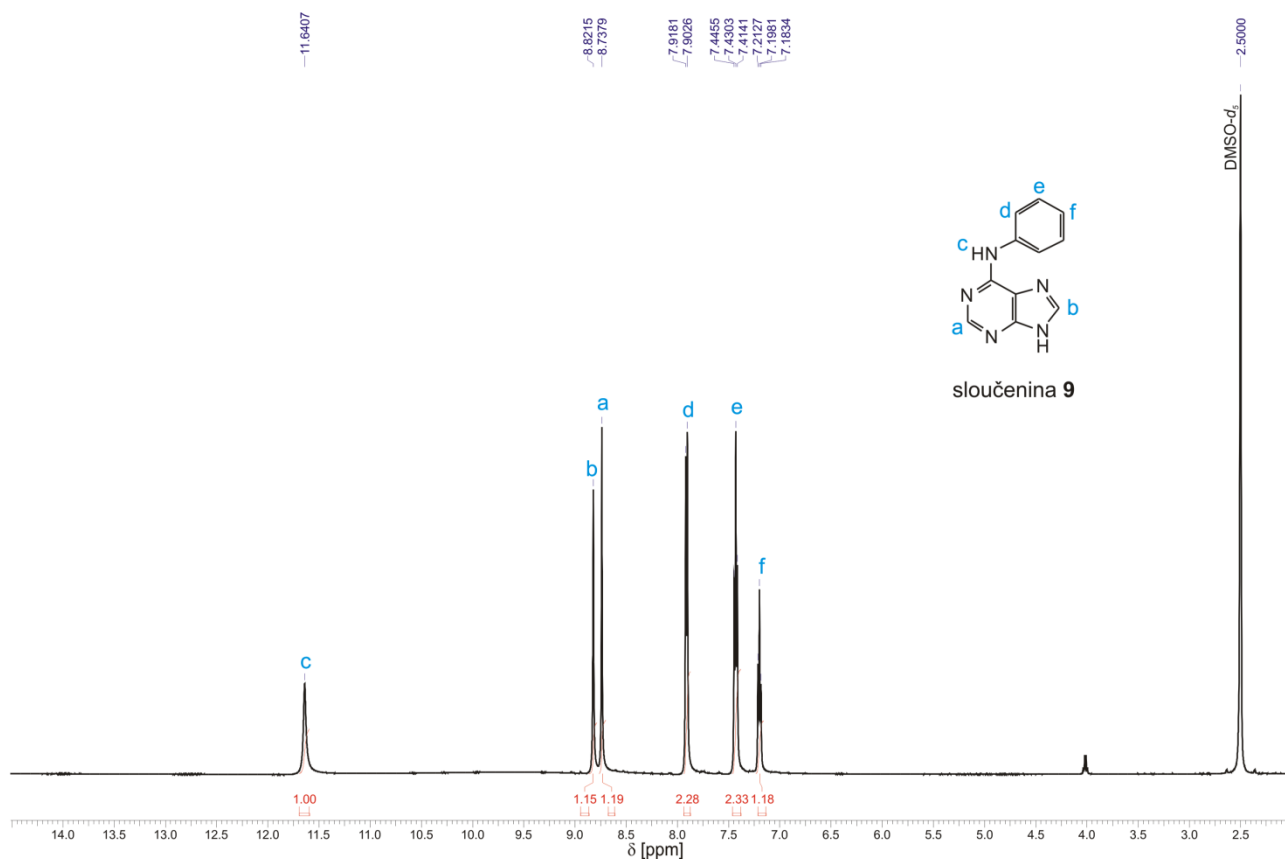
Schéma 43



Reakce	R	Amin	Reakční doba [h]	Produkt	R ¹	Výtěžek [%]
1	H		3	9		96
2	H		5	10		96
3	H		5	11		91
4	Cl		4	12		95
5	Cl		24	13		94
6	Cl		14	14		90

Struktura a čistota sloučenin **9** a **12** byla ověřena pomocí běžně používaných metod. Na Obrázku 28a je zobrazeno ¹H NMR spektrum sloučeniny **9**, v němž lze v oblasti 7,00–8,00 ppm pozorovat tři signály náležící atomům vodíku z fenylového zbytku. V oblasti 8,50–12,00 ppm se pak nachází signály odpovídající třem atomům vodíku z purinového kruhu. Naneštěstí nebyl ve spektru za daných podmínek (DMSO-*d*₆, 303 K) pozorován atom vodíku v poloze N9, který by se měl vyskytovat v oblasti 12,00–14,00 ppm. Tento signál nebyl pozorován ani ve směsi rozpouštědel CDCl₃:DMSO-*d*₆ v poměru 1:1. V samotném deuterovaném chloroformu pak měření nebylo možné provést, jelikož uvedená sloučenina není v chloroformu rozpustná.

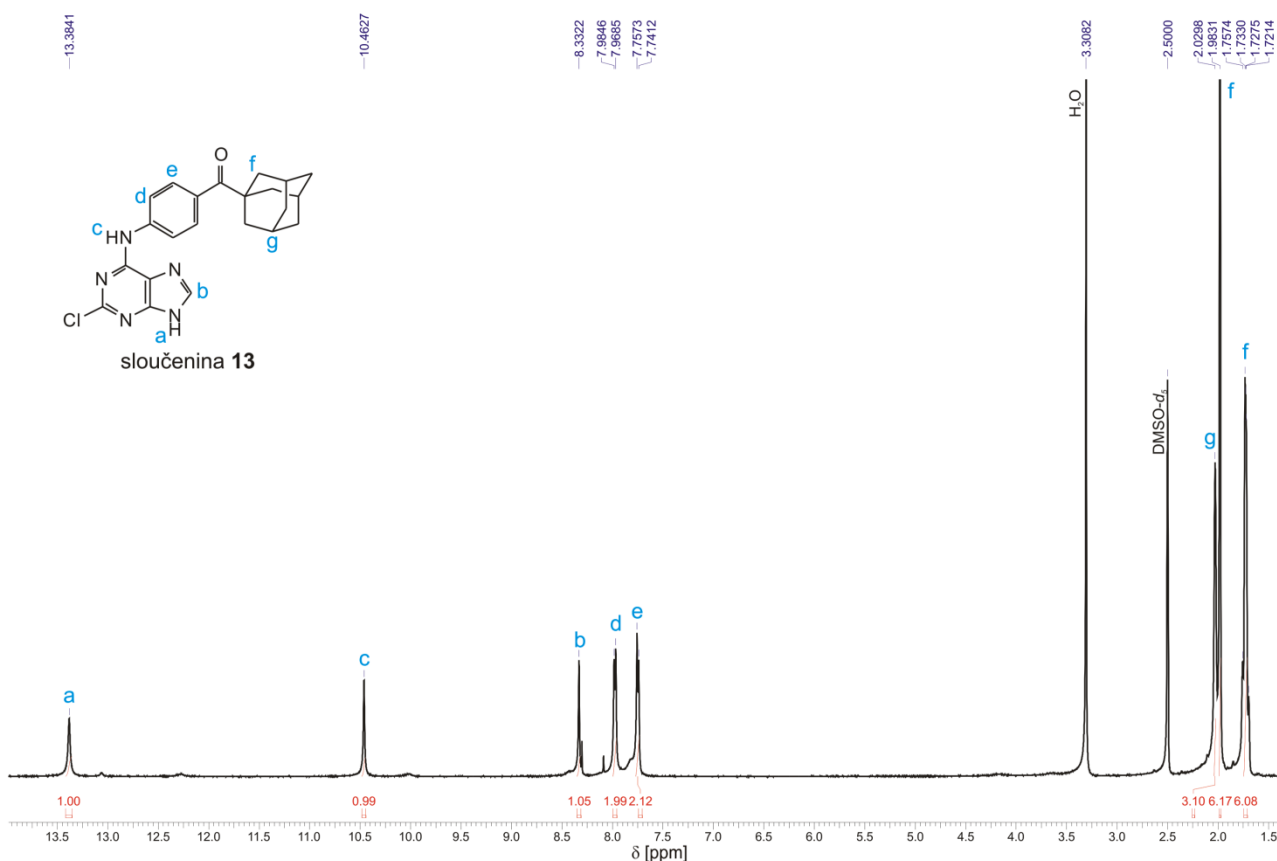
Obrázek 28b uvádí ¹H NMR spektrum sloučeniny **12**. Důležitým poznatkem je absence signálu odpovídajícímu atomu vodíku v poloze C2 (u sloučeniny **9** se jedná o signál **a** s posunem 8,74 ppm), který byl v molekule látky **12** nahrazen atomem chloru. V rozmezí hodnot 13,00–14,00 ppm je jistý náznak signálu, který by mohl korespondovat s přítomností jednoho atomu vodíku v poloze N9. Ve spektru ale tento „pík“ označen není, jelikož se nedá považovat za průkazný.



Obrázek 28: ^1H NMR spektra modelových purinových derivátů **9** (nahore) a **12** (dole).

Stejným způsobem byly do polohy 6 obou výchozích purinových derivátů zavedeny také 1-adamantyl(aminofenyl)ketony **3** a **4**. Reakce 2, 3, 5 a 6 (Schéma 43) proběhly rovněž bez komplikací a požadované sloučeniny byly izolovány ve vysokých výtěžcích (90–96 %). Jediným rozdílem oproti nukleofilní aromatické substituci atomu chloru na C6 prováděné s modelovým substituentem a výchozím 2,6-dichlor-9*H*-purinem se nakonec ukázal být delší reakční čas (14–24 h) nutný pro syntézu sloučenin **13** a **14**. Připravené sloučeniny byly, stejně jako ve shora uvedených případech, podrobeny charakterizaci pomocí spektrálních metod, jako je IR, ESI-MS či NMR.

Příklad ¹H NMR spektra je uveden na Obrázku 29. V alifatické části spektra (1,50–2,50 ppm) lze pozorovat sadu multipletů náležících atomům vodíku z adamantylového motivu. V pořadí další pár signálů v podobě dvou dubletů s chemickým posunem 7,98 a 7,75 ppm poskytují čtyři atomy vodíku z *para* substituovaného fenylu a zbývající dva singlety pak odpovídají atomům vodíku purinového skeletu nacházejícím se v polohách C⁸H (8,33 ppm) a C⁶NH (10,46 ppm). Na tomto místě je třeba zdůraznit, že ve spektru sloučenin **13** a **14** byl rovněž pozorován singlet odpovídající atomu vodíku N⁹H, kdy jeho chemický posun činil 13,38 ppm, resp. 13,35 ppm. ¹H NMR spektra sloučenin **10**, **11** a **14** jsou uvedena v Přílohách práce (Příloha 1a–c).



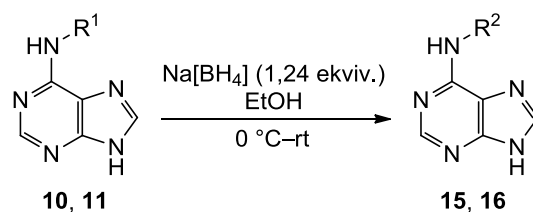
Obrázek 29: ¹H NMR spektrum sloučeniny **13**.

8.2.2 Redukce karbonylové skupiny u purinových derivátů s atomem vodíku v poloze C2

Příprava adamantylovaných substituentů uvedená na Schématu 34 (str. 83) zahrnuje také provedení redukce karbonylové skupiny, a to buď ihned na získaných nitroderivátech, nebo až na následně připravených aminoderivátech.¹⁸⁵ Nicméně, po zkušenostech nabytých Davidem Gergelou v rámci jeho diplomové práce²⁰⁴ zabývající se rovněž syntézou purinových derivátů s adamantylovým skeletem, kdy během zavádění „*para* aminoalkoholu“ do polohy 6 u 6-chlor-9*H*-purinu v propan-2-olu docházelo na adamantylovém substituentu k nežádoucí reakci a ke vzniku propyloxyderivátu, bylo rozhodnuto, že pořadí těchto dvou kroků bude změněno a redukce karbonylové skupiny bude provedena až po úspěšně provedené nukleofilní aromatické substituci purinových derivátů v poloze C6.

Jelikož tento typ reakce nebylo možné vyzkoušet na modelových látkách, bylo nejprve přistoupeno k redukcí karbonylových skupin purinů **10** a **11**. Obě výchozí sloučeniny byly rozmíchány v ethanolu a ke vzniklým nažloutlým suspenzím ochlazeným na 0 °C bylo přidáno odpovídající množství tetrahydridoboritanu sodného. Reakce následně probíhaly za laboratorní teploty a jejich průběh byl monitorován pomocí TLC (Schéma 44). V okamžiku spotřebování výchozí látky bylo přistoupeno ke zpracování reakčních směsí, přičemž v obou případech byl pozorován vznik bezbarvé sraženiny, která byla odfiltrována. Získané surové produkty byly následně přečištěny sloupcovou chromatografií. Požadované produkty pak byly získány v izolovaných výtěžcích 88 a 93 %.

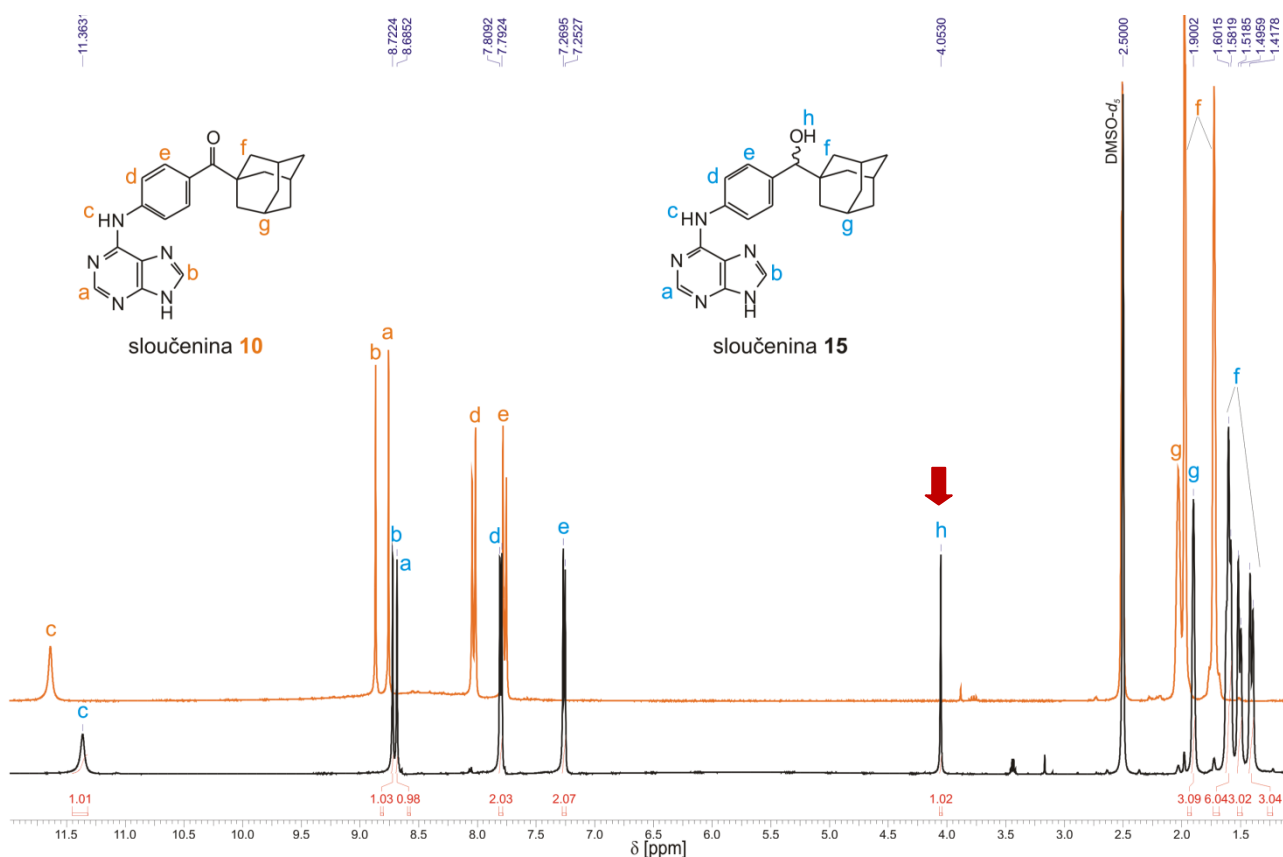
Schéma 44



Reakce	Výchozí sloučenina	R ¹	Reakční doba [h]	Produkt	R ²	Výtěžek [%]
1	10		22	15		88
2	11		24	16		93

Na Obrázku 30 jsou pro srovnání uvedena protonová NMR spektra výchozí sloučeniny **10** a požadovaného produktu **15**. Zdárné provedení redukce je patrné z přítomnosti signálu označeného písmenem **h** (sloučenina **15**) s chemickým posunem 4,05 ppm odpovídajícího atomu vodíku (CHOH) mezi adamantanem a benzenovým jádrem. Ve spektru by měl být ještě signál poskytovaný atomem

vodíku z nově vzniklé hydroxylové skupiny (CHOH) s posunem ~5 ppm. Ten ovšem pozorován nebyl. Pravděpodobně došlo k jeho rozšíření během chemické výměny s H₂O. Všechny ostatní signály byly, ve srovnání s výchozí látkou, mírně posunuty k nižším hodnotám chemického posunu.



Obrázek 30: Porovnání ¹H NMR spekter sloučenin 10 a 15.

8.2.3 Glykosylace

Komerčně dostupná 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranosa (dále v textu označovaná jako „chráněná ribosa“), zakoupená od společnosti Sigma Aldrich, představuje finančně dostupný monosacharidový prekurzor, který je zvláště užitečný při stereochemicky kontrolovaných syntézách. Prostřednictvím glykosylace byl 2,3,5-tri-*O*-benzoyl-β-D-ribofuranosyl napojen na atom dusíku v poloze 9 předpřipravených purinových akceptorů. Vzhledem k relativní vzácnosti používaných adamantylových reaktantů byly glykosylační podmínky opět nejprve testovány a optimalizovány na modelových purinech **9** a **12**.

Na základě rešerše se jako vhodné jevílo katalyzovat glykosylační reakce Lewisovými kyselinami (LK), konkrétně chloridem cínitým či trimethylsilyl-triflátem (TMSOTf), jichž bývá využíváno nejhojněji.^{199,200}

Optimalizace podmínek glykosylačních reakcí

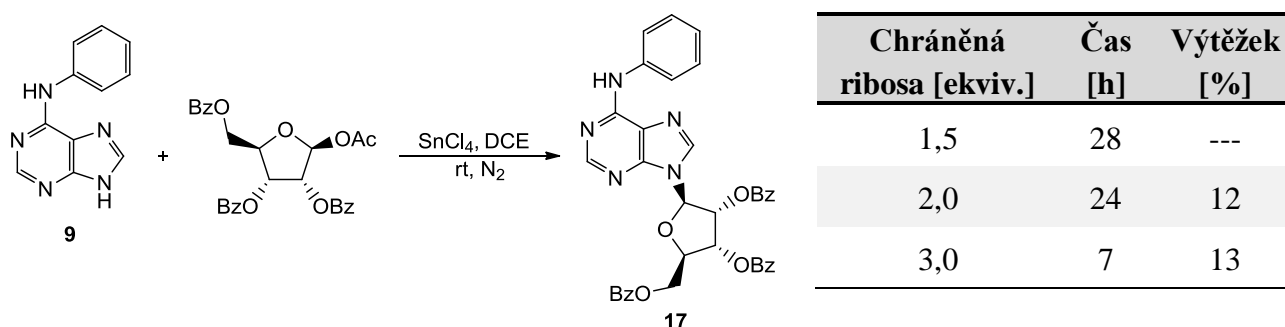
Na samotném počátku jsme zjišťovali, s jak velkým přebytkem monosacharidu bude potřeba do glykosylací vstupovat. Reakční podmínky, jakož i molární přebytek chráněné ribosy (vztažené vůči výchozímu purinu), která byla vložena do glykosylace katalyzované chloridem cíničitým, jsou uvedeny na Schématu 45.

Purin **9** byl za laboratorní teploty pod inertní dusíkovou atmosférou ponechán postupně reagovat s 1,5, 2,0 a 3,0 molárním přebytkem ribosy do spotřebování výchozí látky, nebo do té doby, dokud na TLC docházelo k jakýmkoliv viditelným změnám. V případě použití chráněné ribosy v 1,5 molárním nadbytku nedošlo ani po 28 hodinách ke spotřebování veškerého výchozího purinu (cca 50 % VL bylo získáno zpět během purifikace). I když bylo možné v reakční směsi (pomocí TLC) vedle dalších pěti látek o slabých intenzitách pozorovat i jednu výraznější skvrnu (jak se později ukázalo odpovídající předpokládanému produktu), nepodařilo se tuto látku úspěšně izolovat. Po navýšení přebytku chráněné ribosy na dva ekvivalenty byl již na TLC viditelný znatelnější úbytek výchozího purinu **9** (tentokrát nezreagovalo přibližně 30 % výchozí látky). Ze vzniklé směsi látek jsme však získali jen 12 % požadovaného produktu **17**. Výrazně odlišný výsledek pak poskytla reakce provedená se třemi ekvivalenty chráněné ribosy. TLC indikovala spotřebování výchozí látky již po 7 hodinách. Nicméně po zpracování (reakční směs byla zředěna vodou, vodná vrstva následně opakovaně extrahována ethyl-acetátem) a po přečištění surového produktu sloupcovou chromatografií jsme získali požadovaný produkt v celkovém výtěžku 13 %.

Tento nízký výtěžek mohl být dán buďto nevhodným zpracováním reakční směsi, jež měla vzhled mléčné suspenze vlivem přítomnosti chloridu cíničitého (nebo produktů jeho rozkladu vodou), což značně znesnadňovalo extrakci vodné fáze, nebo vznikajícími nečistotami v reakčních směsích, které však, vzhledem k nízkým intenzitám a těsnou blízkostí na TLC vrstvách, nebylo možné sloupcovou chromatografií rozdělit a izolovat. Předpokládáme, že by se mohlo jednat o deriváty výchozí chráněné ribosy, která byla působením aktivátoru zpřístupněna dalším přeměnám, jako jsou cyklizační reakce či vlastní glykosylace.

Protože ale poslední reakce proběhla relativně rychle, výchozí purin byl spotřebován, na TLC vrstvách bylo viditelné nadějně množství produktu, bylo rozhodnuto dále pokračovat v optimalizaci tohoto kroku s trojnásobným nadbytkem glykosylového donoru.

Schéma 45

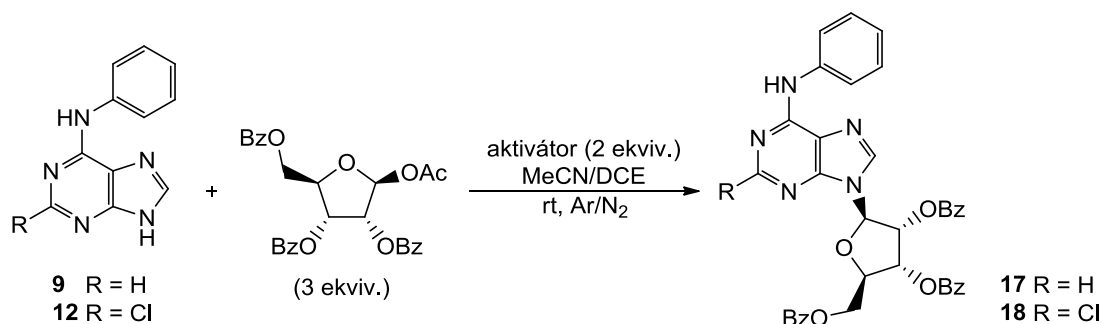


Následně tedy byla reakce purinového derivátu **9** s chloridem cíničitým a 3,0 molárními ekvivalenty chráněné ribosy provedena v jiném, pro tento typ reakcí často používaném rozpouštědle, a sice v acetonitrilu (Schéma 46, reakce 1 a 2). Zpracování reakčních směsí probíhalo stejně jako ve shora uvedených případech a bylo doprovázeno obdobnými obtížemi, v důsledku čehož se nám nepodařilo získat požadovaný produkt **17** ve výtěžku vyšším než 15 %. Tato skutečnost nás vedla ještě k otestování v literatuře objevené alternativy v podobě 1M chloridu cíničitého v dichlormethanu v kombinaci s acetonitrilem⁴⁸ (Schéma 46, reakce 3). Naneštěstí ani tato volba se neukázala jako správná, protože produkt v reakční směsi nevznikl ani po 53 hodinách.

Další glykosylace purinu **9** s třemi ekvivalenty chráněné ribofuranosy byly provedeny za katalýzy TMSOTf nejprve v dichlorethanu (Schéma 46, reakce 4), kdy byl na TLC pozorován postupný vznik produktu **17**, který se však s prodlužujícím se reakčním časem téměř ztrácel v přibývajícím množství vedlejších látek a v průběhu čištění se jej nepodařilo vůbec izolovat. Naopak při glykosylaci s TMSOTf v acetonitrilu výchozí derivát **9** ochotně zreagoval během 6 hodin a i přesto, že byla reakce opět doprovázena vznikem vedlejších produktů, se podařilo žádaný produkt **17** získat v 54% výtěžku (Schéma 46, reakce 5).

Ke glykosylaci druhé modelové sloučeniny **12** byla, na základě výše komentovaných reakcí, použita kombinace triflátu v acetonitrilu za laboratorní teploty pod inertní atmosférou. Po 5 hodinách byl veškerý výchozí purin spotřebován a po zpracování reakční směsi a následné purifikaci pomocí sloupcové chromatografie byla získána sloučenina **18** ve výtěžku 51 % (Schéma 46, reakce 6).

Schéma 46

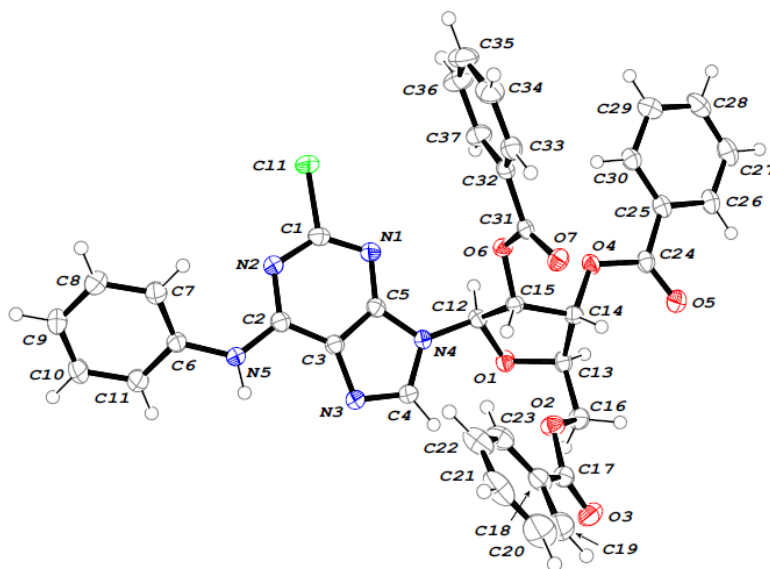


Reakce	Výchozí látka	Aktivátor	Rozpouštědlo	Čas [h]	Produkt	Výtěžek [%]
1	9	SnCl ₄	DCE	27	17	13
2	9	SnCl ₄	MeCN	8	17	15
3	9	1M SnCl ₄ /DCM	MeCN	53	---	---
4	9	TMSOTf	DCE	44	---	---
5	9	TMSOTf	MeCN	6	17	54
6	12	TMSOTf	MeCN	5	18	51

Jak je patrné z výsledků uvedených v tabulce u Schématu 46, glykosylační reakce provedené v dichlorethanu nevedly k žádanému cíli (reakce 4), případně poskytovaly požadovaný produkt ve velmi nízkém výtěžku (reakce 2). Po bližším prostudování literatury byl vyzkoušen a pro budoucí použití upřednostněn právě acetonitril. Dichlorethan totiž podporuje spíše vznik 1,2-*cis* glykosidů (α -anomerů), zatímco polárnější acetonitril je vhodnější pro přípravě námi preferovaných 1,2-*trans* glykosidů (β -anomerů). Při oněch reakcích totiž *in situ* vytvořený acyloxoniový kation zaujímá výhradně axiální orientaci umožňující stereoselektivní formaci ekvatoriálně substituovaného glykosidu. Tento postup pak zajišťuje získání 1,2-*trans* nukleosidů s dostatečnou stereoselektivitou i u takových glykosylových donorů, které nesou neúčastníci se substituent.⁹

Po přečištění surových směsí se nepodařilo vyizolovat, vyjma požadovaného produktu nebo nezreagované výchozí chráněné ribosy a VL, žádnou z vedlejších látek vznikajících v průběhu reakce, proto nám jejich struktura zůstává neznáma. Tento fakt byl dán tím, že podle TLC představovaly vedlejší produkty řadu v praxi nedělitelných směsí.

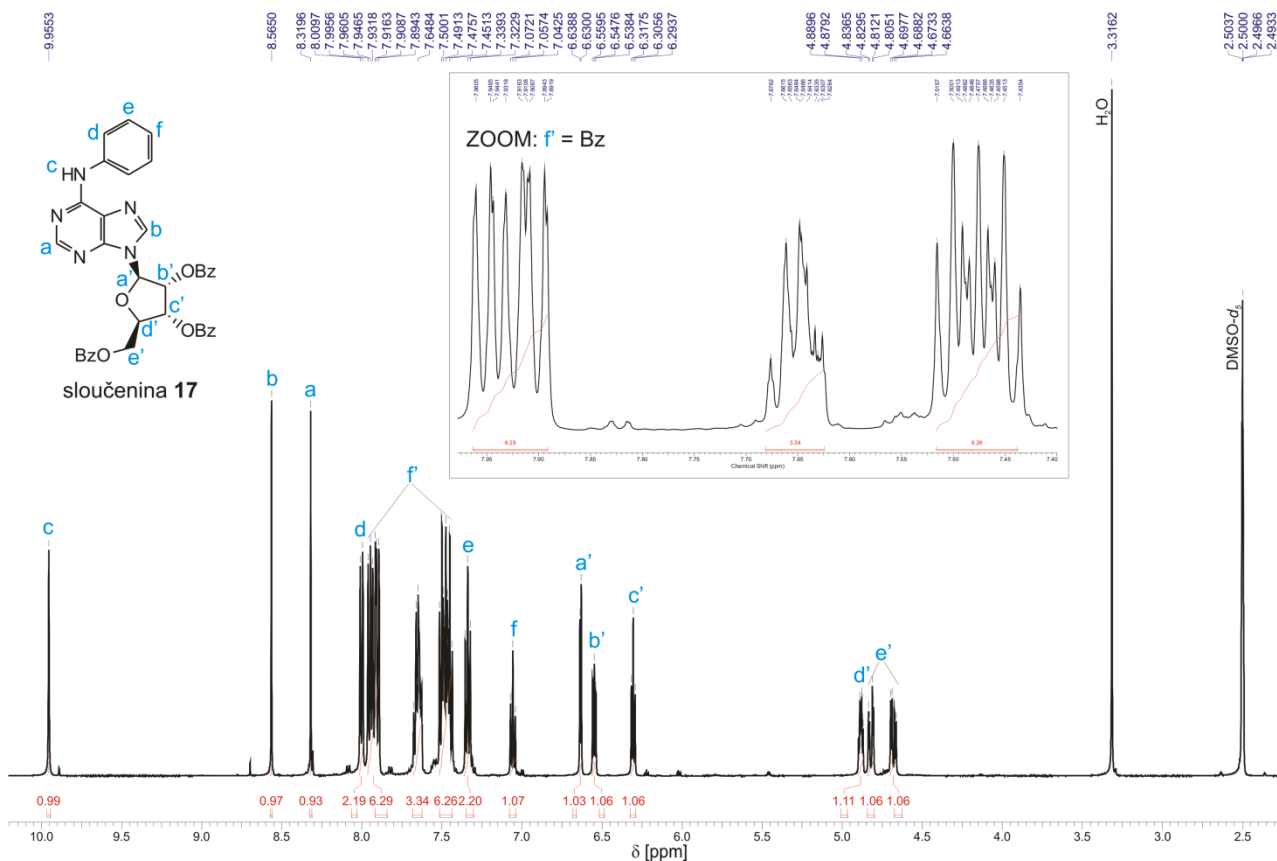
Struktura sloučeniny **17** byla potvrzena na základě výsledků získaných pomocí běžných spektrálních metod (IR, MS a NMR). Na tomto místě se jako vhodné jeví podotknout, že se rovněž podařilo vypěstovat monokrystal sloučeniny **17**, díky němuž bylo možné s jistotou potvrdit, vedle výsledků z 2D NMR analýz, že stereochemie sloučeniny odpovídá skutečně β -anomeru, jak je zřetelné z ORTEP diagramu na Obrázku 31.



Obrázek 31: ORTEP diagram sloučeniny **17**.

Informace potvrzující strukturu chráněného nukleosidu **17** nám pak podalo i ¹H NMR spektrum uvedené na Obrázku 32. Stejně jako u purinových derivátů **9–16**, odpovídají i u nukleosidů obvykle signály s nejvyššími hodnotami chemického posunu atomům vodíku z purinového skeletu. V případě látek s atomem vodíku

v poloze C2 se jedná o tři singlety v pořadí C⁶NH (c), C⁸H (b) a C²H (a). V oblasti od 7,00 do 8,00 ppm následuje méně přehledná oblast multipletových signálů (f') pocházejících z benzoylových chránících skupin na ribose (Obrázek 32, zoom). V této oblasti se rovněž nacházejí signály tři fenylových atomů vodíku (d, e a f). Zbývající část spektra (4,50–6,70 ppm) patří protonům z pentosového kruhu vlastní ribosy, po jednom atomu vodíku odpovídajícím C¹H (a'), C²H (b'), C³H (c'), C⁴H (d') a dva atomy vodíku pro C⁵H₂ (e').



Obrázek 32: ¹H NMR spektrum modelové sloučeniny 17.

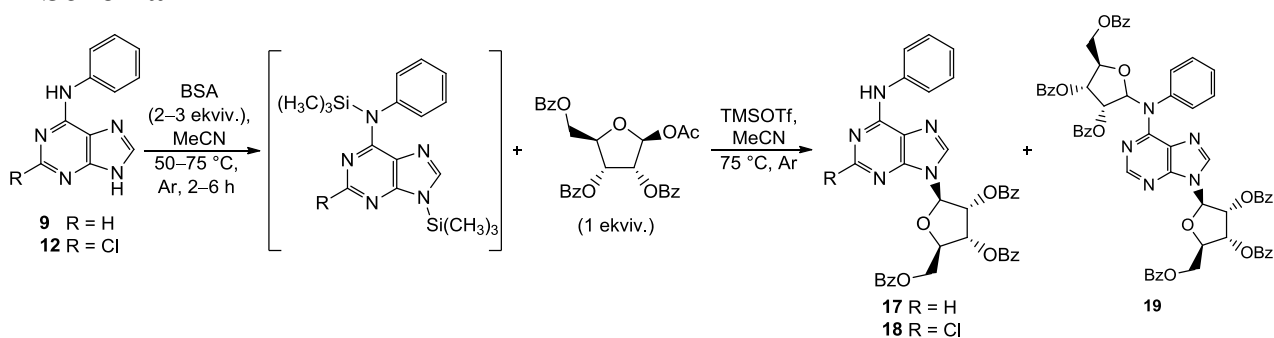
Glykosylace vedené přes silylované meziproducty

Vedle jednokrokových glykosylací s Lewisovými kyselinami jsou populární rovněž glykosylace vedené přes silylované báze, které jsou v literatuře vyzdvihovány zejména ze tří důvodů: i) jednoduše se připravují, ii) ochotně reagují s cukry v homogenních roztocích díky zvyšující se rozpustnosti a větší nukleofilitě a iii) poskytují meziproducty, které lze snadno převést na modifikované báze.²⁰¹ Ovšem mají nevýhodu spočívající v tom, že vyžadují práci za striktně bezvodých podmínek. Zpočátku bývaly také tyto reakce katalyzovány LK, časem však byly LK nahrazeny silylesterem silných kyselin, jako je mimo jiné i TMSOTf.²⁰²

Námi prováděná dvoukroková glykosylace se silylovým meziproductem je uvedena na Schématu 47.^{42,190} Bezprostředně před samotnou glykosylací byl v acetonitrilu vygenerován persilylovaný meziproduct ze sloučeniny 9 za použití silylačního činidla bis(trimethylsilyl)acetamidu (BSA). V acetonitrilu za běžných

podmínek nerozpustná výchozí látka vytvořila nažloutlou suspenzi, která se po přidání BSA téměř ihned rozpustila. Dalo by se předpokládat, že právě rozpuštění suspenze značí úspěšnou silylaci, ale protože se silylované látky v kontaktu se vzdušnou vlhkostí okamžitě rozkládají, nebylo možné tuto hypotézu spolehlivě ověřit. Nechali jsme tedy reakci probíhat 2 hodiny při 50 °C a teprve poté bylo do reakční směsi pomocí injekční stříkačky přes septum přidáno ekvimolární množství chráněné ribofuranosy a TMSOTf. Průběh reakce byl od této chvíle sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie, přičemž reakce byla ukončena po 19 hodinách, kdy na TLC nebyla viditelná výchozí látka (Schéma 47, reakce 1).

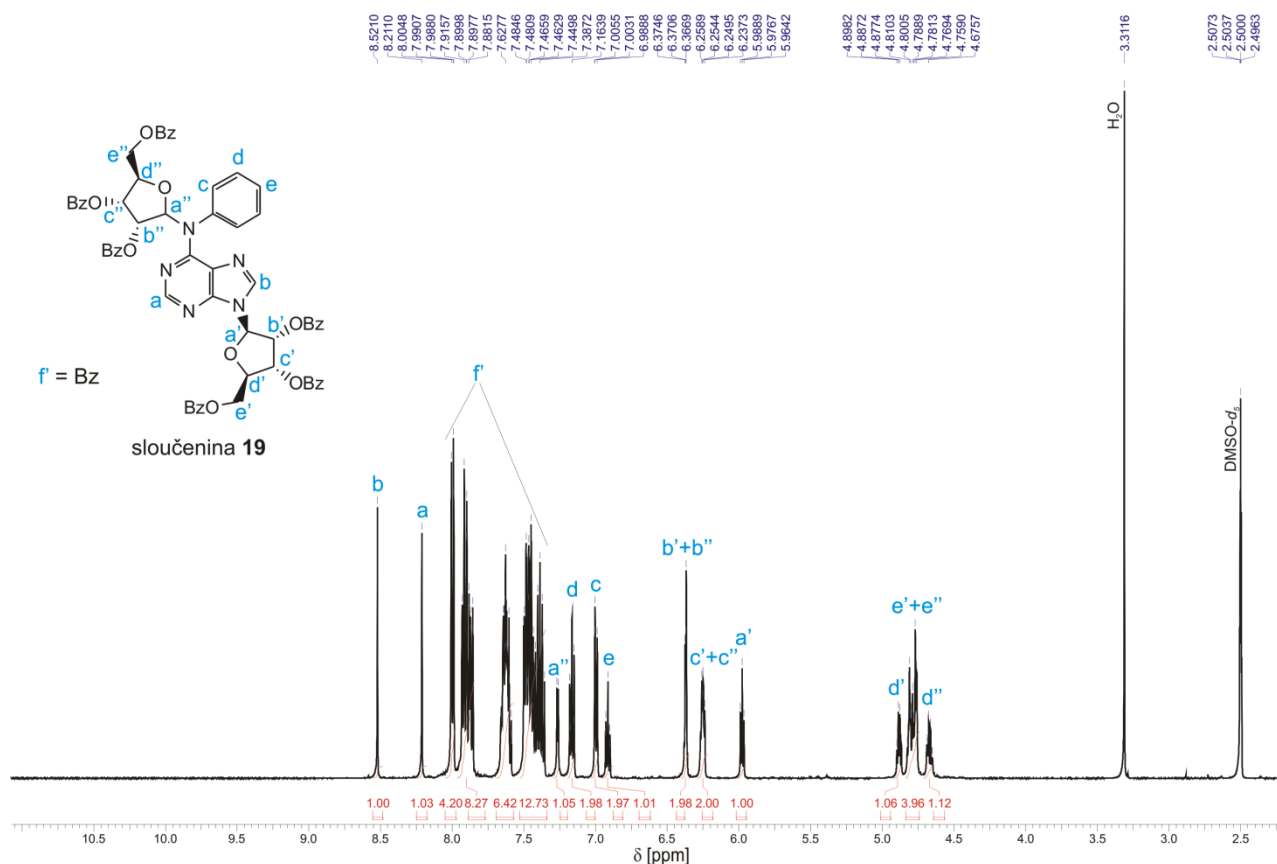
Schéma 47



Reakce	Vých. látka	BSA [ekviv.]	Silylace		Ribosa [ekviv.]	Čas [h]	Produkt	Výtěžek [%]
			Teplota [°C]	Čas [h]				
1	9	2,0	50	2	1,0	19	17 19	18 19
2	9	2,0	75	6	1,0	17	17 19	31 12
3	9	2,0	75	6	2,0	24	17 19	17 54
4	9	3,0	75	6	2,0	3	17 19	20 50
5	12	2,0	75	6	1,0	7	18	97

Po zpracování a přečištění surové reakční směsi byla uvažovaná sloučenina **17** získána v relativně nízkém výtěžku 18 %. Paralelně s tím byla, ve výtěžku 19 %, izolována sloučenina, jejíž struktura nám byla po určitou dobu neznáma. Na základě NMR a MS analýz bylo navrženo, že se jedná o látku **19**, jež je substituována dvěma cukernými zbytky, jedním v poloze 9 purinového skeletu a druhým velmi pravděpodobně na atomu dusíku v poloze C6 purinového kruhu.

Tento předpoklad byl následně potvrzen po bližším prozkoumání ¹H NMR spektra této sloučeniny (Obrázek 33), z něhož je jasně patrná absence signálu pro atom vodíku v poloze C⁶NH (~10,00 ppm). Naopak přebývají atomy vodíku jednoho pětičlenného monosacharidového kruhu v rozmezí od 4,50 do 7,30 ppm (označeny a”–e”) a rovněž je viditelná dvojnásobná, co do integrální intenzity, sada signálů náležící atomům vodíku z benzoylových skupin přítomných na obou ribosách (7,30–8,00 ppm, f”).



Obrázek 33: ^1H NMR spektrum neočekávaného koproduktu 19.

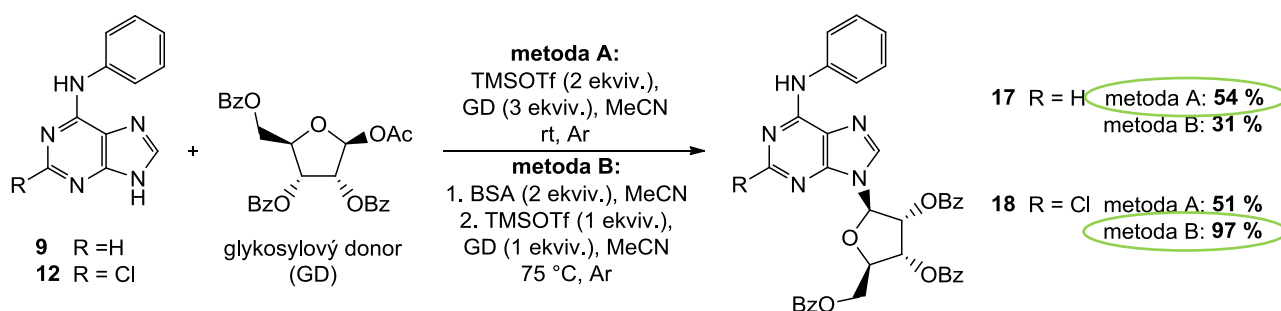
Ve Schématu 47 jsou uvedeny výsledky experimentů, které byly provedeny s cílem zvýšit výtěžek požadovaného produktu 17. Oproti prvnímu pokusu byla zvýšena teplota až k bodu varu acetonitrilu a doba silylace (1. krok) prodloužena na 6 hodin. Na základě předpokladu, že výchozí purin 9 bude po uvedené době již dostatečně silylován, bylo přidáno opět po jednom ekvivalentu ribosy a triflátu. Po 17 hodinách, kdy byla reakce ukončena, izolovaný výtěžek sloučeniny 17 skutečně vzrostl, a to na 31 %. Vzniklé množství sloučeniny 19 pokleslo a činilo jen 12 % (Schéma 47, reakce 2). Přesto nebyl výsledek tohoto experimentu uspokojivý, aby mohly být uvedené reakční podmínky použity pro přípravu dalších nukleosidů.

Z toho důvodu jsme přistoupili k otestování následujících dvou modifikací. V případě reakce označené ve Schématu 47 číslem 3 byl ve druhém kroku vložen dvojnásobný molární přebytek ribofuranosy. I když jsme počítali s tím, že vedlejší produkt bude vznikat ve větší míře, předpokládali jsme však, že rychleji bude vznikat požadovaná sloučenina 17 a k substituci na atomu dusíku v poloze 6 dojde až po obsazení polohy 9. Tento předpoklad se ovšem nepotvrdil. Látka 19 byla izolována ve výtěžku 54 %, zatímco výtěžek sloučeniny 17 činil pouhých 17 %. Ke zlepšení nevedla ani druhá zmíněná modifikace, a sice použití silylačního činidla BSA v třímolárním přebytku. Konečný výsledek této reakce (Schéma 47, reakce 4) se takřka shodoval s předcházejícím pokusem. Silylace výchozích látek je tudíž dostatečná a přidavek silylačního činidla výtěžek neovlivnil.

Pro srovnání jsme touto metodou provedli i glykosylaci purinu **12** za reakčních podmínek uvedených ve Schématu 47, reakce 2. Sloučenina **18** byla úspěšně vyizolována po sedmihodinové glykosylaci persilylovaného purinu v překvapivě vysokém výtěžku 97 %. Dle TLC došlo k úplnému zreagování výchozího purinu, jakož i do reakce vstupující chráněné ribofuranosy, a to bez prokazatelného vzniku vedlejších produktů.

Pro lepší přehlednost a snadnější orientaci je na Schématu 48 uvedeno srovnání nejspíše se jevíčích glykosylací pro přípravu budoucích adamantylovaných nukleosidů. Pro glykosylaci sloučenin s atomem vodíku v poloze 2 purinového skeletu (dále označovaná jako „H-řada“) byla vybrána jednokroková Hilbertova–Johnsonova glykosylace, zatímco pro přípravu nukleosidů s atomem chloru v poloze 2 („Cl-řada“) se jako vhodnější jevíla dvoukroková Vorbrüggenova glykosylace se silylovanými meziprodukty.

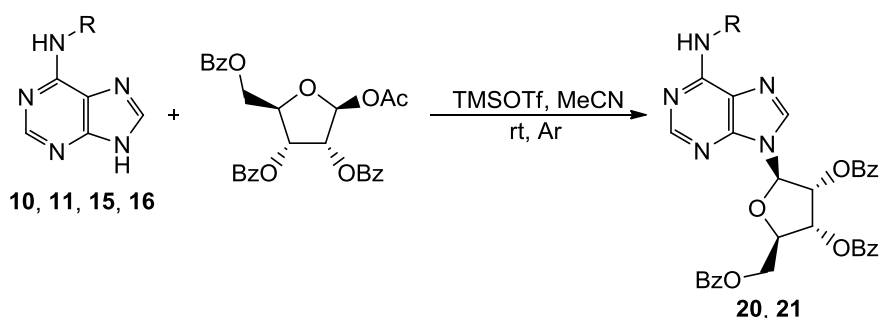
Schéma 48

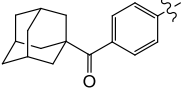
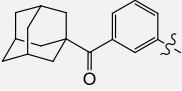
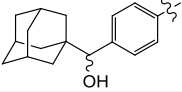
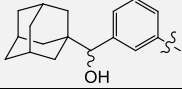


Glykosylace purinů substituovaných 1-adamantylem – „H-řada“

Sloučeniny **10** a **11** byly pak úspěšně glykosylovány pomocí jednokrokové Hilbertovy–Johnsonovy metody (Schéma 49), tzn. za použití TMSOTf jako aktivátoru a 3,0 ekvív. chráněné ribofuranosy v acetonitrilu za laboratorní teploty pod argonovou ochrannou atmosférou. V případě syntézy sloučeniny **20** došlo ke spotřebování výchozí látky již po 3 hodinách a požadovaný produkt se podařilo úspěšně vyizolovat v 73% výtěžku. Chráněný nukleosid **21** vznikal jednou tak dlouho, reakce byla ukončena až po 6 hodinách s konečným výtěžkem 59 %. Obě sloučeniny byly charakterizovány obvyklými spektrálními metodami a získány v čistotě vhodné pro jejich použití v dalších uvažovaných reakcích.

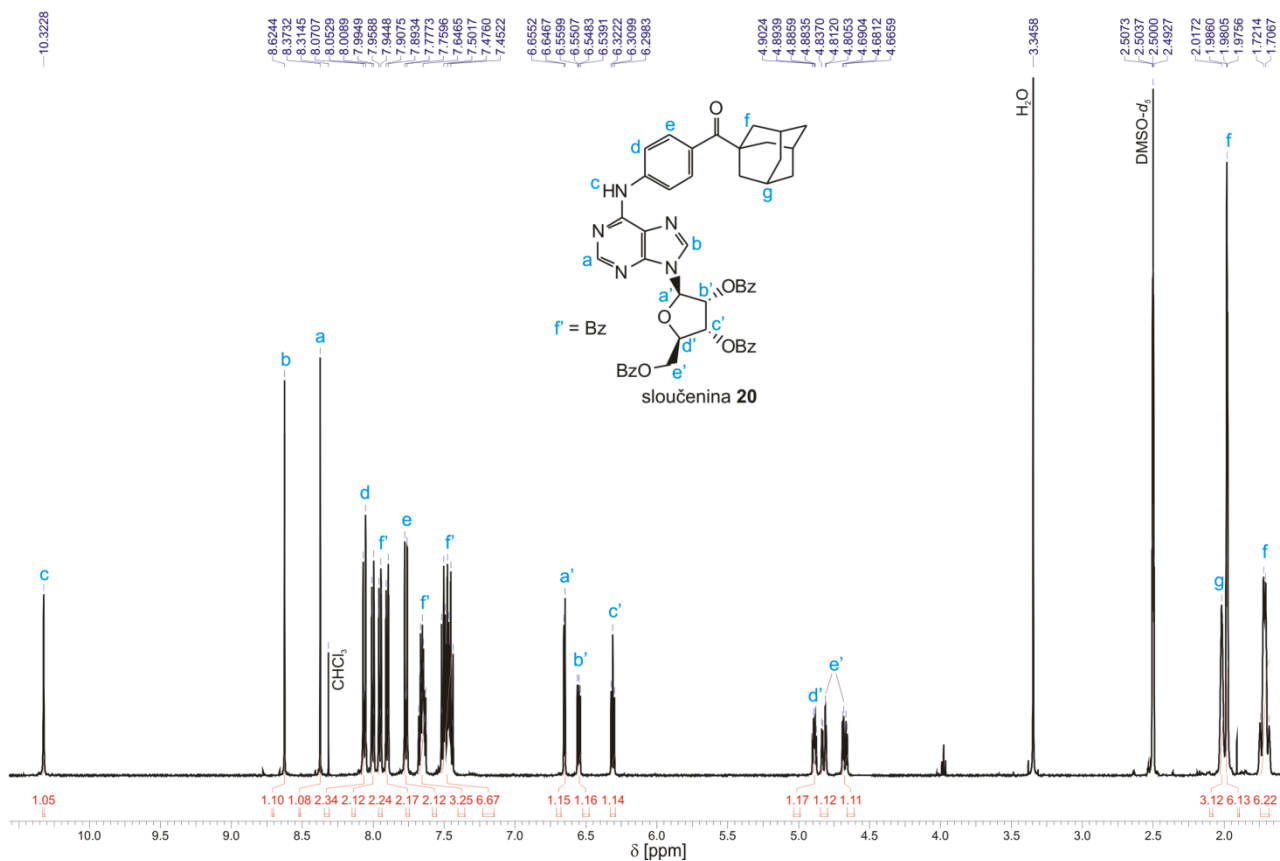
Schéma 49



Reakce	Výchozí sloučenina	R	Reakční doba [h]	Produkt	Výtěžek [%]
1	10		3	20	73
2	11		6	21	59
3	15		8	---	---
4	16		8	---	---

Stejné reakční podmínky byly aplikovány i pro glykosylaci látek **15** a **16** (Schéma 49, reakce 3 a 4), k přípravě uvažovaných sloučenin ovšem nevedly. Dle TLC došlo po 8 hodinách téměř ke kompletnímu zreagování výchozích sloučenin, z obou reakcí však byly obdrženy velmi komplikované a nepurifikovatelné směsi látek. Pravděpodobně díky přítomnosti dalšího reaktivního centra v podobě hydroxylové skupiny mezi benzenovým jádrem a 1-adamantylem docházelo k nežádoucím reakcím ve větší míře, než jsme původně předpokládali. Z tohoto důvodu bylo upuštěno od dalších experimentů, aby nedocházelo k plýtvání výchozími látkami, a redukce byla opětovně posunuta a naplánována až po odstranění chránících skupin z cukerné části.

Na Obrázku 34 je znázorněno ^1H NMR spektrum sloučeniny **20**, v němž je možné pozorovat analogické signály jako u chráněného nukleosidu **17**, a to zleva tři signály pocházející z purinového kruhu (**a–c**), dále pak multiplety z benzoylových skupin (**f'**) v kombinaci s atomy vodíku z *para* substituovaného benzenového kruhu (**e**, **d**), které jsou následovány protony z glykosylového zbytku (**a'–e'**). Navíc jsou však v alifatické oblasti spektra, v oblasti 1,71–2,01 ppm, viditelné tři signály pocházející z atomů vodíku adamantanového skeletu.

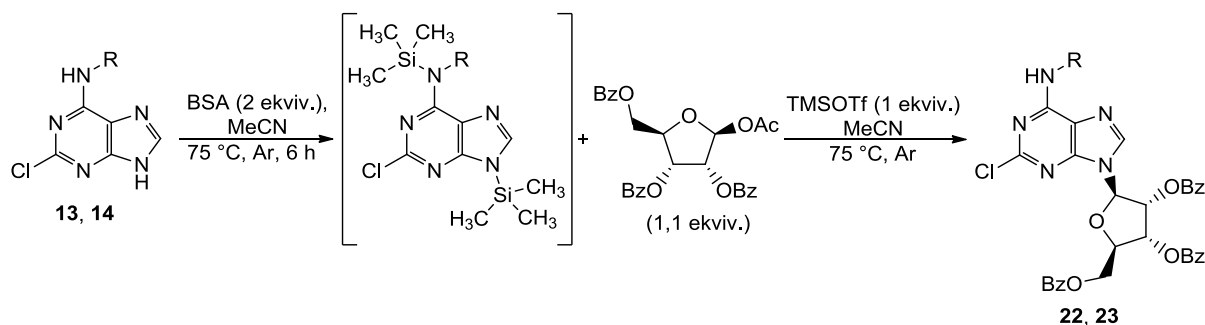


Obrázek 34: ^1H NMR spektrum chráněného adamantylovaného nukleosidu 20.

Glykosylace purinů substituovaných 1-adamantylem – „Cl-řada“

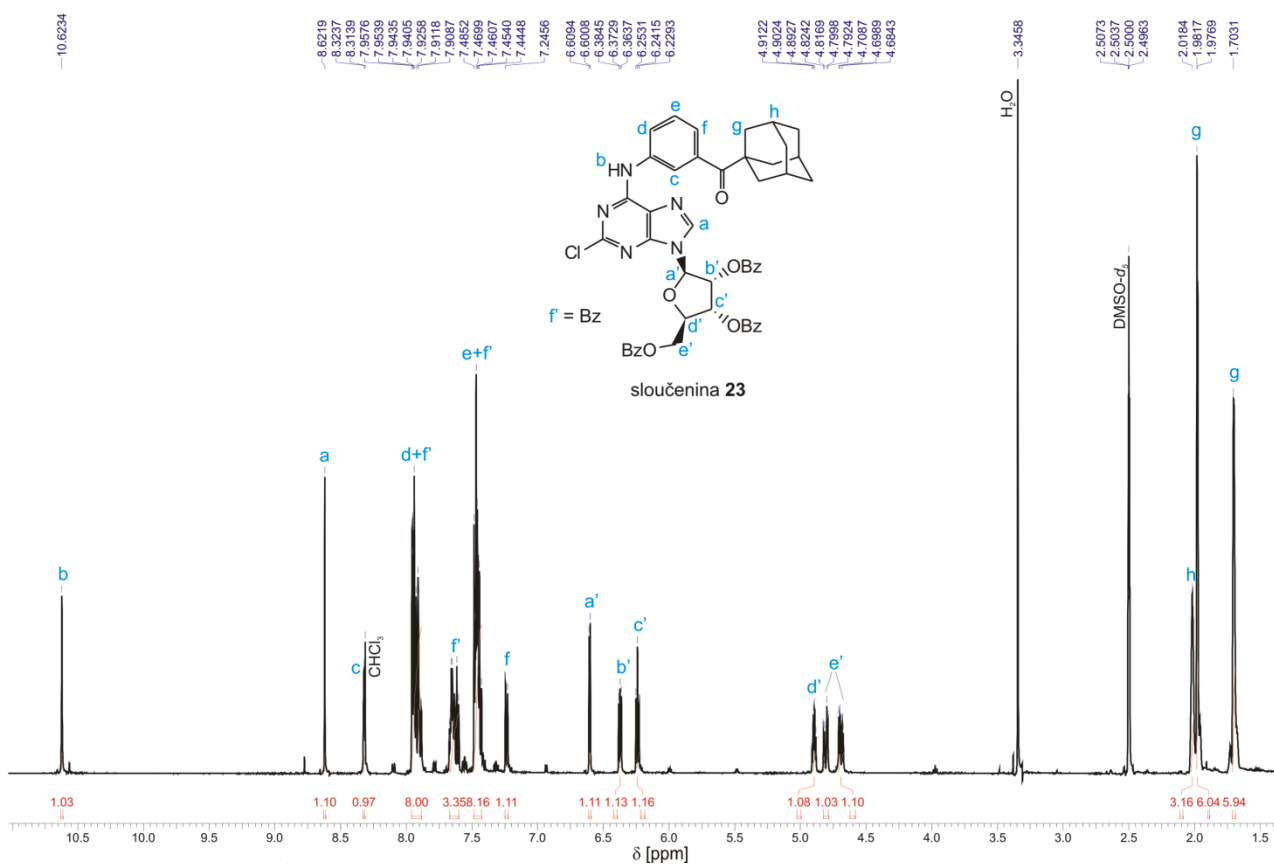
Glykosylace purinových derivátů **13** a **14** byla provedena Vorbrügenovou dvoukrokovou metodou, a to se stejně dobrými výsledky, jako tomu bylo u modelové sloučeniny **12**. Nutno podotknout, že podmínky provádění reakce bylo zapotřebí nepatrně modifikovat. Byl-li použit shodný postup jako v případě syntézy sloučeniny **12**, (2,0 ekvív. BSA v 1. kroku; 1,0 ekvív. chráněného cukru a 1,0 ekvív. triflátu ve 2. kroku), bylo na TLC zjevné spotřebování veškeré ribofuranosy, zatímco výchozí puriny byly stále ještě, i když v nevelkém množství, v reakční směsi přítomny. Proto jsme do dalších reakcí mírně navýšili přebytek chráněné ribofuranosy na 1,1 ekvivalentu (Schéma 50). Obě výchozí sloučeniny pak zcela zreagovaly a reakční směsi obsahovaly vedle samotných produktů jen velmi malé množství nečistot, které se daly bez větších obtíží odstranit pomocí sloupcové chromatografie. Izolované výtěžky chráněných nukleosidů **22** a **23** pak činily 89 % a 81 %.

Schéma 50



Výchozí sloučenina	R	Reakční doba [h]	Produkt	Výtěžek [%]
13		2	22	89
14		4	23	81

V ^1H NMR spektru sloučenina **23** (Obrázek 35) lze pozorovat v podstatě totožné posuny, jako tomu bylo v případě ^1H NMR spektra sloučeniny **20** (Obrázek 34). Jediným signifikantním rozdílem je absence singletu s chemickým posunem 8,37 ppm, který náleží atomu vodíku v poloze 2 purinového skeletu.



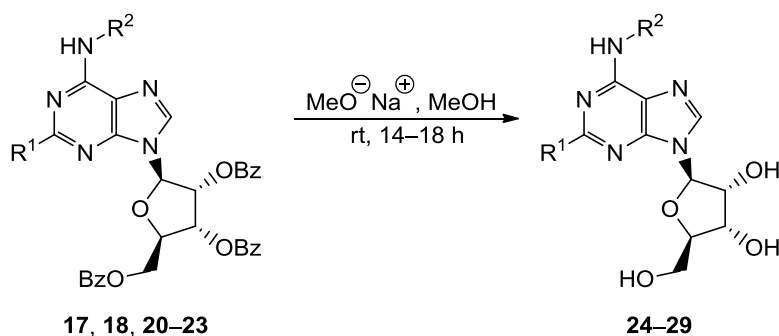
Obrázek 35: ^1H NMR spektrum chráněného adamantylovaného nukleosidu **23**.

8.3 Odchránění prekurzorů nukleosidů

Poslední krok nutný k získání uvažovaných nukleosidů spočíval v odstranění benzoylových chránících skupin z ribofuranosových hydroxylových skupin dosud připravených prekurzorů. Ze spousty v literatuře popsanych metod sloužících k odchránění byl vybrán nenáročný a efektivní postup využívající účinku methoxidu sodného.^{57,191,203}

Benzoylové chránící skupiny byly nejprve odstraněny z prekurzorů „modelových“ nukleosidů **17** a **18**, a to působením 1M methoxidu sodného v methanolu, přes noc, za laboratorní teploty (Schéma 51, reakce 1 a 4). Po ukončení reakcí bylo z reakčních směsí za vakua odpařeno rozpouštědlo a získané surové produkty byly následně dočištěny pomocí sloupcové chromatografie. Nukleosidy **24** a **27** byly získány ve vysokých výtěžcích 77 % a 95 %. Odchránění zbývajících nukleosidů **20**, **21**, **22** a **23**, obsahujících ve své molekule adamantanový motiv, proběhlo rovněž bez problémů, kdy uvažované sloučeniny byly získány ve výborných výtěžcích pohybujících se v rozmezí 87–94 % (Schéma 51, reakce 2, 3, 5 a 6).

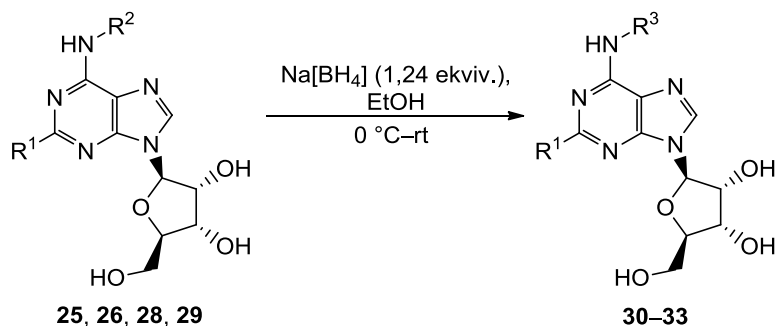
Schéma 51



Reakce	Výchozí sloučenina	R ¹	R ²	Reakční doba [h]	Produkt	Výtěžek [%]
1	17	H		17	24	77
2	20	H		18	25	92
3	21	H		17	26	94
4	18	Cl		14	27	95
5	22	Cl		16	28	90
6	23	Cl		16	29	87

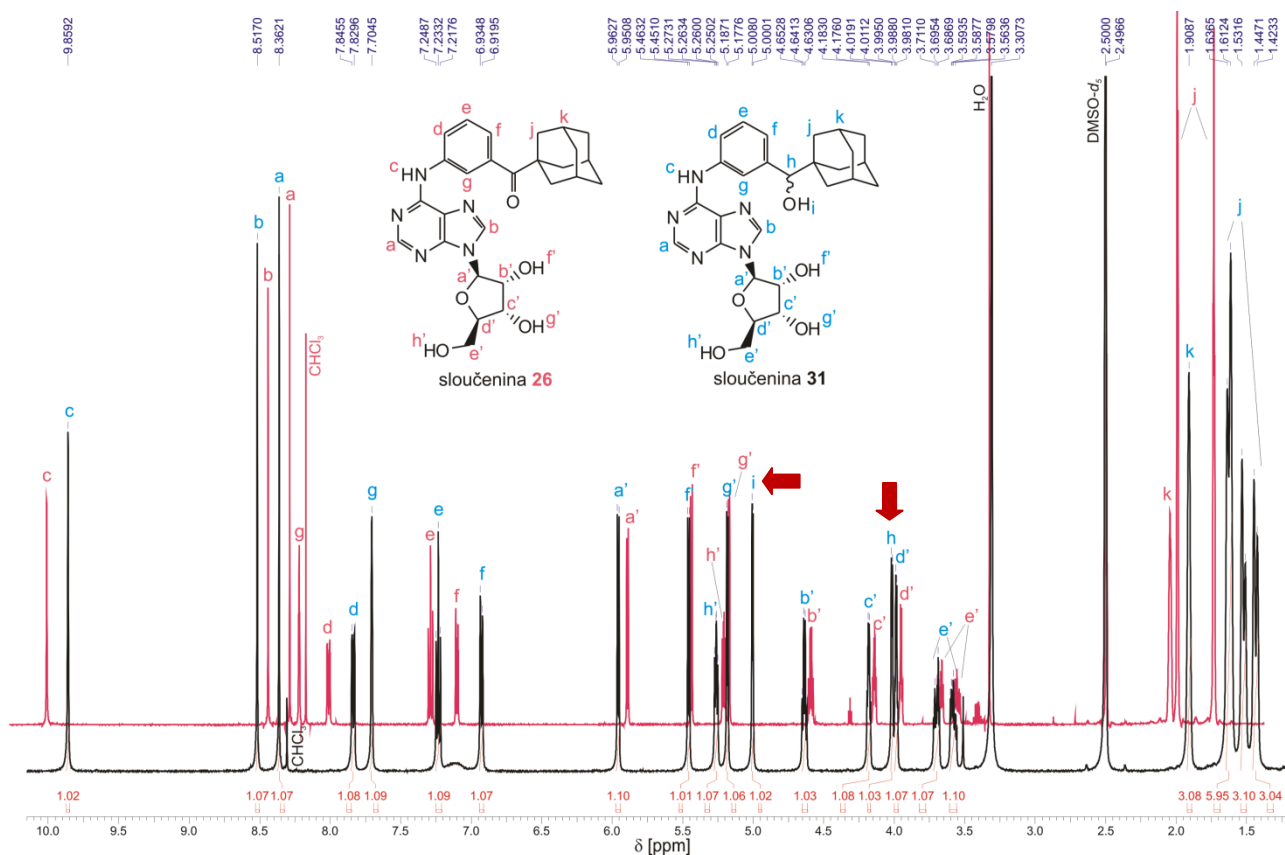
reakční směsi na laboratorní teplotu přibližně 24 hodin a výtěžky všech izolovaných produktů, po přečištění surových směsí sloupcovou chromatografií, se pohybovaly v rozmezí 80–90 % (Schéma 52, reakce 1–4).

Schéma 52



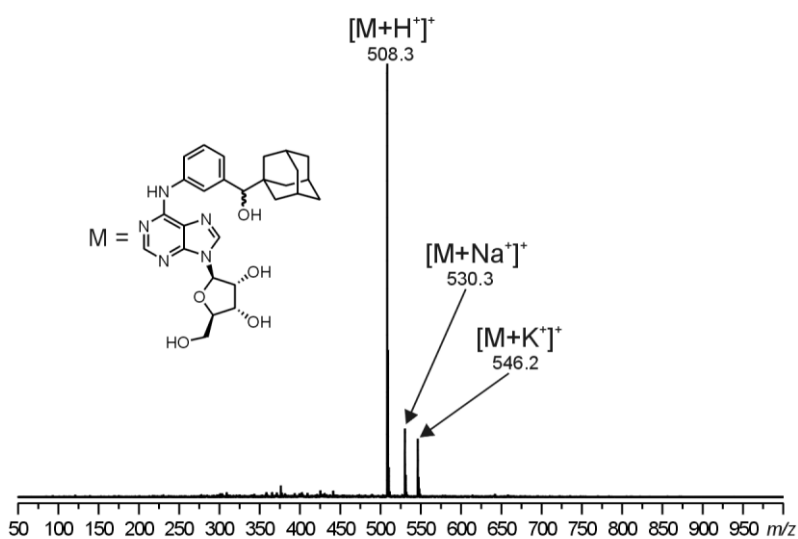
Reakce	Výchozí sloučenina	R ¹	R ²	Reakční doba [h]	Produkt	R ³	Výtěžek [%]
1	25	H		25	30		82
2	26	H		24	31		90
3	28	Cl		24	32		86
4	29	Cl		23	33		80

Úspěšnou přeměnu karbonylové skupiny a přítomnost nových signálů znázorňuje Obrázek 37 zachycující protonová spektra nukleosidů **26** a **31** získaná pomocí NMR. Červené šipky zvýrazňují ve spektru sloučeniny **31** diskutované dva nově vzniklé píky odpovídající dvěma atomům vodíku, z nichž jeden náleží hydroxylové skupině a druhý atomu uhlíku mezi benzenovým kruhem a 1-adamantylem.



Obrázek 37: Porovnání ^1H NMR spekter výchozí sloučeniny **26** a produktu **31**.

V ESI-MS spektru prvního řádu získaném v pozitivním skenovacím módu byl pozorován dominantní signál, jehož hodnota m/z 508 odpovídala protonované molekule požadovaného nukleosidu **31**. Tento ion byl doprovázen dalšími dvěma jedenkrát nabitými ionty, které byly určeny jako sodný $[\text{M}+\text{Na}^+]^+$ a draselný $[\text{M}+\text{K}^+]^+$ adukt.



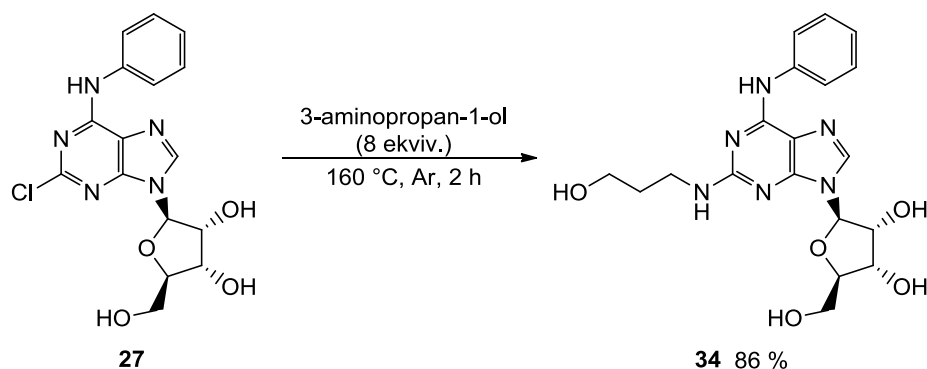
Obrázek 38: ESI-MS spektrum prvního řádu sloučeniny **31**.

8.5 Nukleofilní aromatická substituce atomu Cl v poloze C2

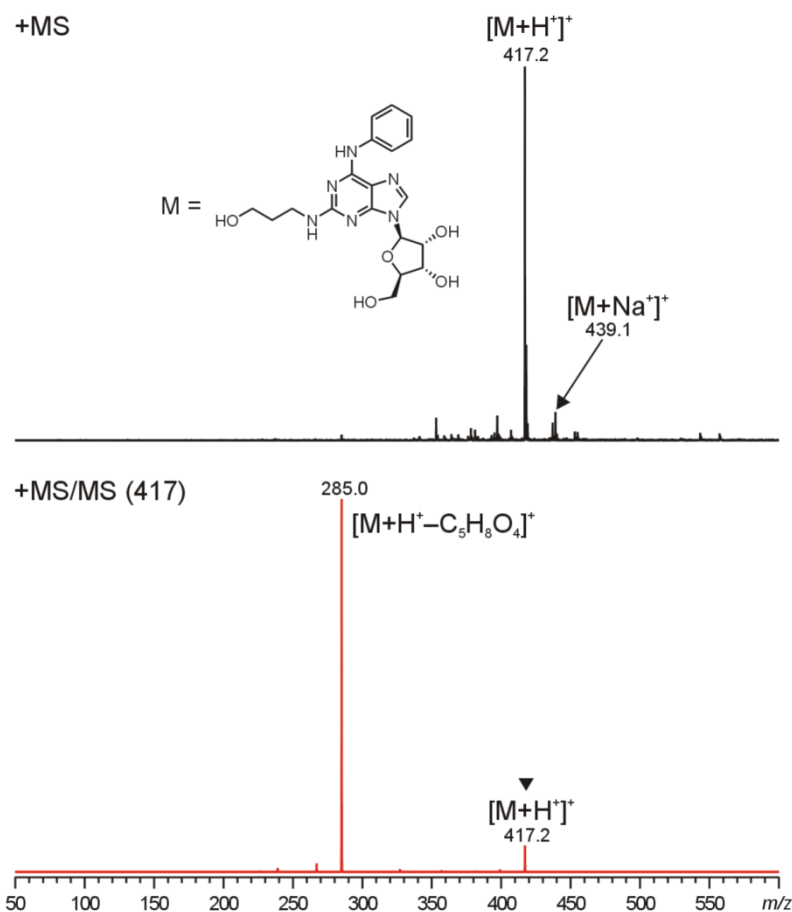
V závěrečném kroku měly být připraveny 2,6-diaminonukleosidy zavedením zbytku z 3-aminopropan-1-olu do polohy C2 purinového kruhu dosud stále obsazené atomem chloru u nukleosidů **27–29**, **32** a **33**. I v tomto případě byly reakční podmínky nejprve otestovány, a sice na nukleosidu **27**.

Už po 2 hodinách v osmimolárním přebytku 3-aminopropan-1-olu při teplotě 160 °C a pod ochrannou argonovou atmosférou indikovala TLC spotřebování výchozího nukleosidu (Schéma 53). Po zpracování reakční směsi jejím zředěním chloroformem se stopovým množstvím methanolu a několikerým promytím destilovanou vodou za účelem odstranění nezreagovaného 3-aminopropan-1-olu, bylo po odpaření organického rozpouštědla a přečištění sloupcovou chromatografií úspěšně izolováno 86 % požadovaného produktu, jehož struktura byla potvrzena pomocí obvyklých spektrálních metod (IR, ESI-MS, NMR).

Schéma 53



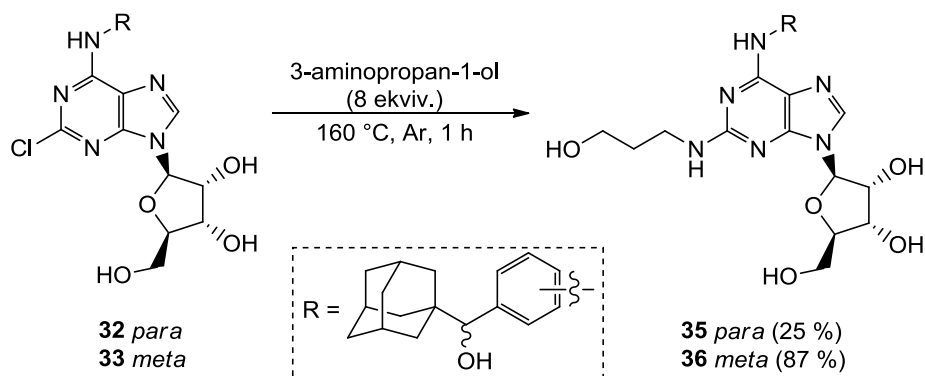
Na Obrázku 39 je zobrazeno hmotnostní spektrum prvního řádu připravené sloučeniny **34** získané pomocí ESI-MS. Ve spektru prvního řádu je možné pozorovat dominantní signál jedenkrát nabitý iontu o m/z 417 odpovídající protonované molekule ($[M+H]^+$), který je doprovázen sodným aduktem $[M+Na]^+$ (m/z 439). Po izolaci a následné fragmentaci (za podmínek kolizně indukované disociace) iontu m/z 417 byl pozorován vznik jediného produktového iontu o m/z 285. Z uvedeného je patrné, že v průběhu fragmentace došlo k rozštěpení vazby N9—C1' a z toho plynoucí neutrální ztrátě o hodnotě m/z 132 napovídající odštěpení deprotonované ribosy.



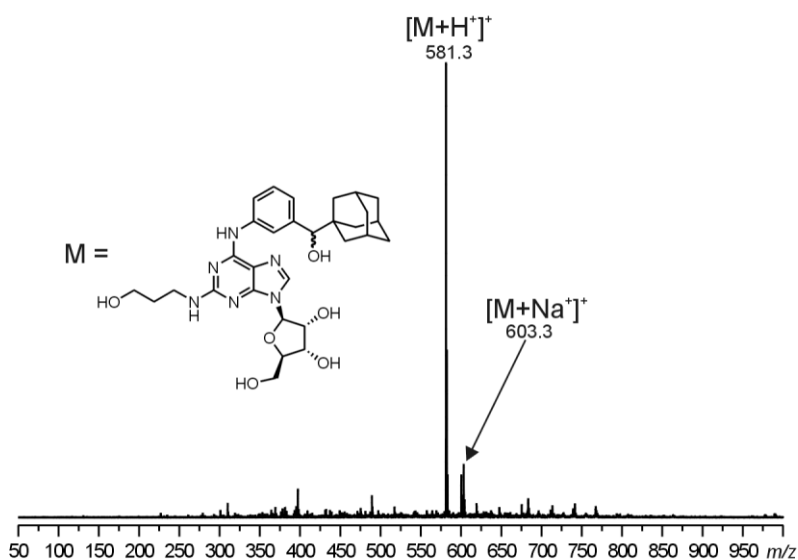
Obrázek 39: ESI-MS spektrum prvního řádu sloučeniny **34** (nahore); MS/MS spektrum izolovaného iontu o hodnotě m/z 417 (dole).

Reakční postup byl následně aplikován i na nukleosidy **32** a **33**, které mezi benzenovým jádrem a 1-adamantylem nesly hydroxylovou skupinu. Stejně jako v předešlém případě došlo, dle TLC, ke spotřebování výchozích látek již po 60 minutách (Schéma 54). Po zpracování obou reakčních směsí a odpaření chloroformu však byla získaná množství surových produktů velmi nízká, z čehož jsme usoudili, že látky by mohly i nadále zůstat ve vodném podílu. Obě vodné fáze byly proto okyseleny několika kapkami koncentrované kyseliny chlorovodíkové a znovu extrahovány chloroformem. Zatímco sloučeninu **36** se podařilo získat v izolovaném výtěžku 87 %, u sloučeniny **35** jsme tak úspěšní nebyli, a to i přesto, že byla provedena opakovaná extrakce vodných podílů pomocí ethyl-acetátu, coby polárnějšího rozpouštědla. Konečný výtěžek sloučeniny **35** tak činil pouhých 25 %.

Schéma 54



Na Obrázku 40 je znázorněno ESI-MS spektrum prvního řádu sloučeniny **36**, kde je viditelný opět jedenkrát nabitý ion o m/z 581 odpovídající protonované molekule, který je doprovázený signálem o 22 m/z větším, odpovídajícím jeho sodnému aduktu.



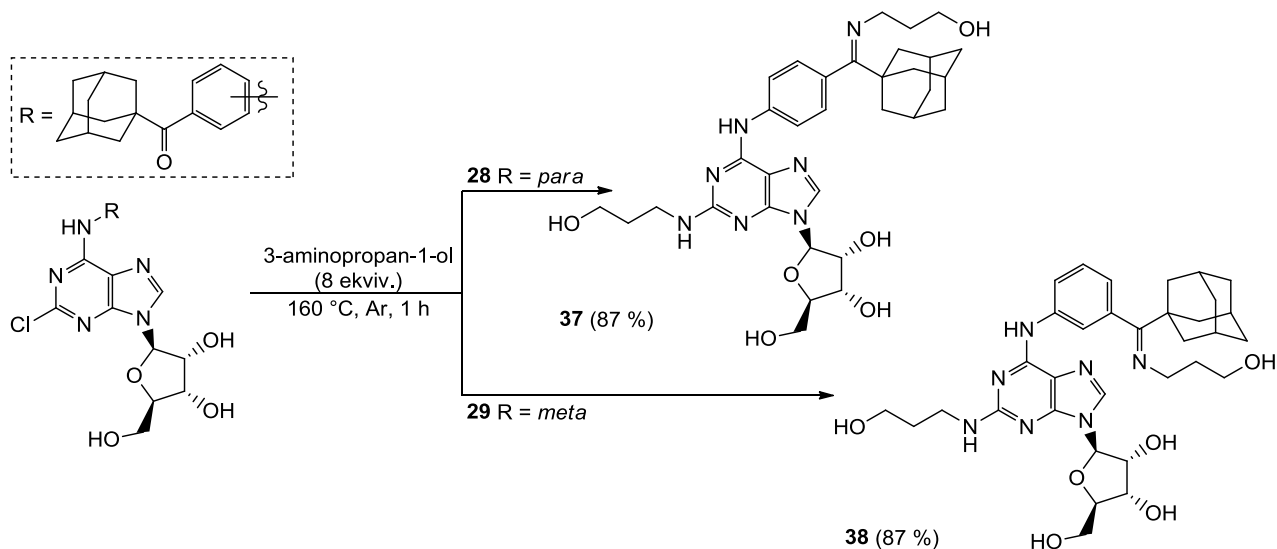
Obrázek 40: ESI-MS spektrum prvního řádu sloučeniny **36**.

V případě zbývajících dvou nukleosidů **28** a **29** obsahujících ve své struktuře 1-adamantyl(fenyl)keton neproběhly substituce zcela dle očekávání (Schéma 55). Přestože v jejich průběhu byly na TLC viditelné jen mizející výchozí látky a vznikající produkty, po zpracování se ukázalo, že surové produkty obsahují celkem dvě látky o výrazně různých intenzitách a s velmi podobnými retenčními faktory. Vzhledem k tomu, že obou látek bylo na počátku reakcí velmi malé množství, nebylo jejich dělení na sloupcové chromatografii vůbec jednoduché, přesto se po několikátém zopakování podařilo z každé směsi izolovat po jednom produktu.

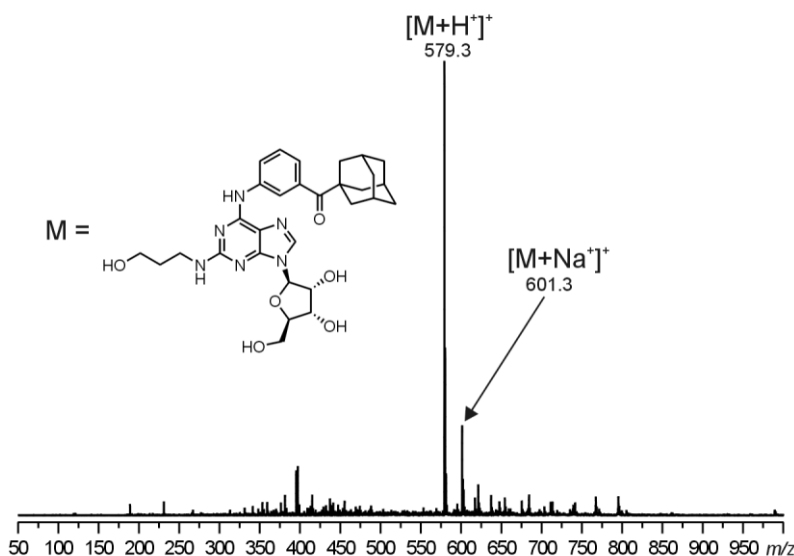
Původní studie²⁰⁵ se zmiňuje, že u podobných sloučenin docházelo při tomto typu reakcí ke vzniku nežádoucích látek, pravděpodobně iminů, které se ale nepodařilo izolovat a patřičně charakterizovat. Díky jejich navrženému mechanismu a následnému vlastnímu ověření struktur obdržovaných sloučenin pomocí NMR byla hypotéza o vzniku iminů v obou reakcích přeci jen podpořena (^1H NMR spektra

potvrdila přítomnost dvou uhlovodíkových řetězců se 6 atomy vodíků a dvou nových protonů z hydroxylových skupin) a dvě získané sloučeniny byly identifikovány jako iminy **37** a **38**.

Schéma 55



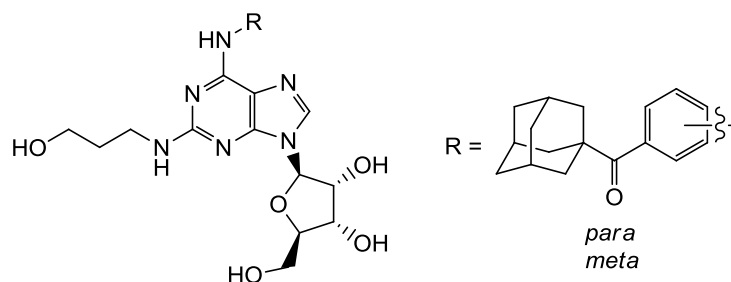
Že ale nejde o nutně konečnou podobu látek, nám odhalil výsledek z hmotnostní spektrometrie s elektrosprejovou ionizací (ESI-MS). Ve spektru prvního řádu nukleosidu **38** (Obrázek 41) byl v pozitivním skenovacím módu pozorovaný dominantní signál o m/z 579, který však neodpovídal hmotnosti obdrženého iminu.



Obrázek 41: ESI-MS spektrum prvního řádu sloučeniny **38**.

Po krátké úvaze jsme došli k závěru, že se jednalo o protonovaný molekulový ion původně požadované sloučeniny (Obrázek 42), jejíž exaktní hmotnost činí 578,285 u. Pravděpodobně během přípravy vzorků látek **37** a **38** pro potřeby ESI-MS analýzy došlo vlivem jejich rozpouštění a ředění ve směsi MeOH:H₂O (1:1,

v:v) k hydrolyze iminové skupiny zpět na oxoskupinu. Tento předpoklad však nebylo v našich silách experimentálně ověřit, a to z důvodu nedostatečného množství potřebných sloučenin. Ve spektru je rovněž viditelný signál o m/z 601 odpovídající sodnému aduktu původně požadovaného nukleosidu.



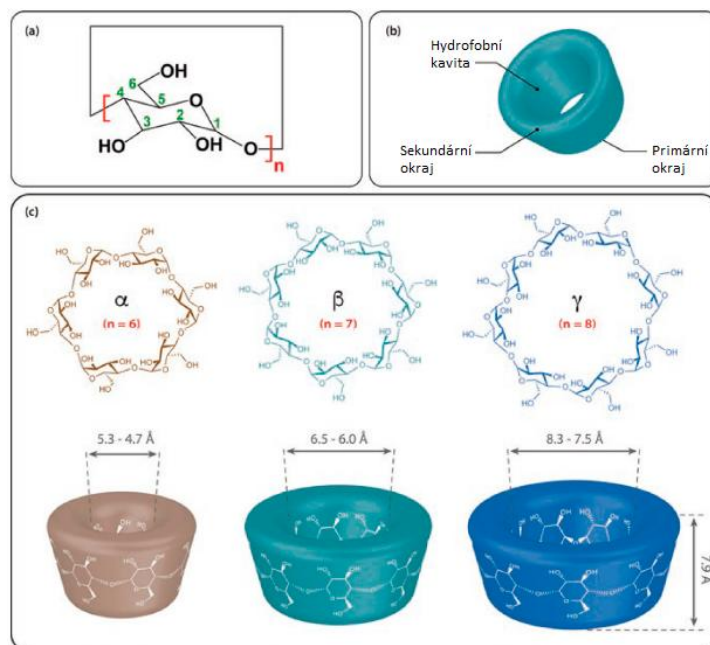
Obrázek 42: Očekávané produkty z reakce uvedené na Schématu 55.

9 STUDIUM TVORBY HOSTITEL–HOST KOMPLEXŮ PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN S β -CD

V návaznosti na výsledky nedávno publikované naší výzkumnou skupinou¹⁸⁷ byla u připravených nukleosidů cíleně studována jejich schopnost vytvářet supramolekulární komplexy s β -cyklodextrinem (β -CD). Podnětem pro tento počín bylo zlepšení farmakokinetických a farmakodynamických vlastností komplexovaných sloučenin pro jejich snadnější pohyb v biologickém prostředí. Jak bude dále řečeno, cyklodextriny (CDs) se k tomuto účelu využívají zcela běžně. Jelikož v této práci však dosud nebyly cyklodextriny jako takové blíže popsány, na následujících řádcích je shrnuta jejich základní charakteristika.

CDs jsou ve vodě rozpustné neredukující makrocyclické oligosacharidy složené z glukosových jednotek spojených α -(1 \rightarrow 4)glykosidovou vazbou. Molekuly cyklodextrinů mají hydrofilní vnější povrch (hydroxylové skupiny směřují ven ze struktury CD) a hydrofobní charakter uvnitř kavity, kde jsou umístěny atomy vodíku a kyslíku. CDs jsou vyhledávané pro jejich schopnost pojmout do své kavity, zcela nebo jen částečně, široké spektrum molekul, léčiva nevyjímaje. Tvorba inkluzního komplexu typu léčivo@ β -CD pak může mít pozitivní vliv na rozpustnost léčiva ve vodném prostředí a/nebo na jeho farmakologické vlastnosti.^{206,207}

Základními zástupci z rodiny cyklodextrinů jsou α -, β - a γ -CDs (Obrázek 43), sestávající ze šesti až osmi glukosových jednotek. Jednotlivé homology se liší velikostí jejich kavity a tudíž i schopností vázat různě objemné hostující molekuly.²⁰⁷

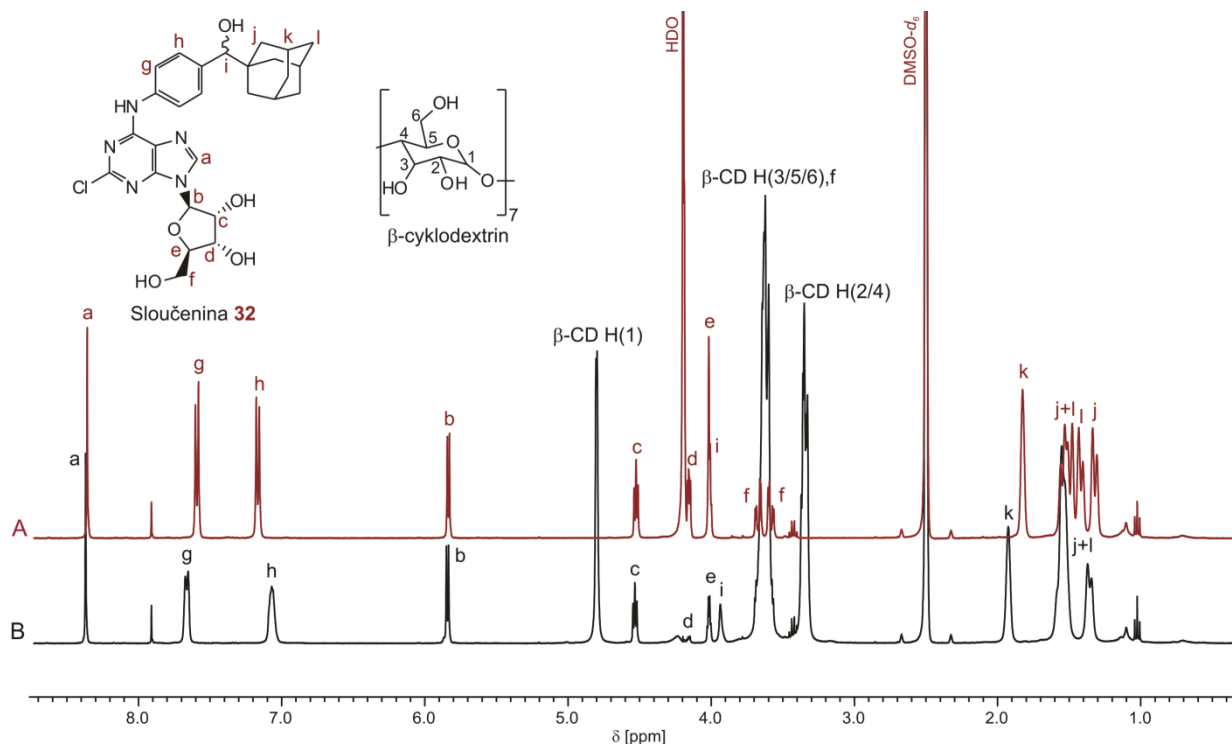


Obrázek 43: Celkový vzhled a složení cyklodextrinů: a) samostatná glukosová podjednotka; b) celkový tvar; c) tvar a chemická struktura α -, β - a γ -CD.²⁰⁸

Ze základních derivátů CDs je pro svou dostupnost, nízkou cenu a geometrické parametry pro tvorbu supramolekulárních komplexů pravděpodobně nejvíce

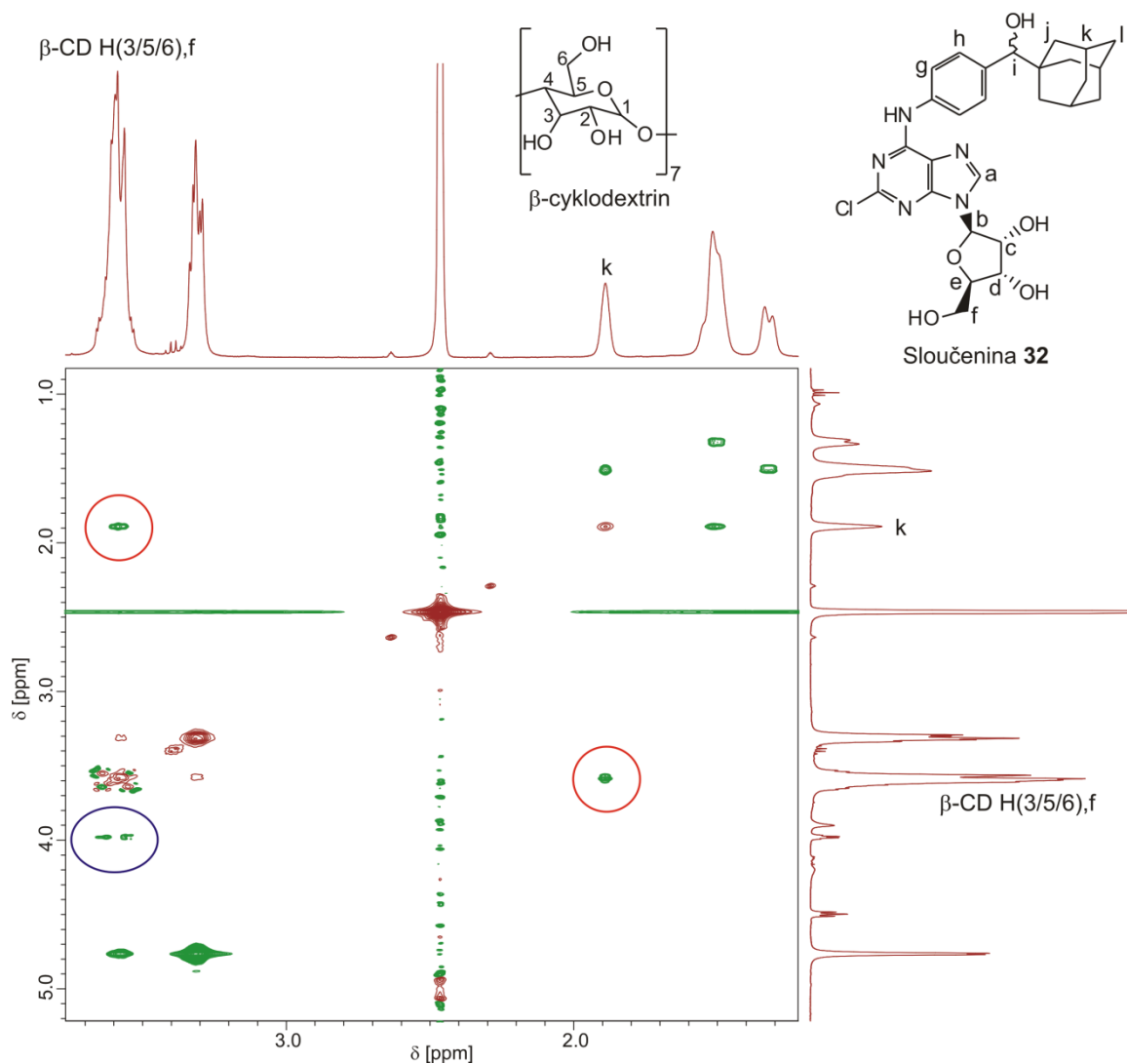
vyhledáván β -cyklodextrin, případně jeho deriváty s modifikovanými OH skupinami. Nejčastěji se používá jako hostitelská molekula ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu.²⁰⁹ A právě adamantanové deriváty tvoří s β -CD velmi silné inkluzní komplexy s hodnotami asociačních konstant (K_a) až 10^6 M^{-1} ,²¹⁰ protože adamantanový zbytek skvěle zapadá do kavity β -CD, v níž je pak (mimo jiné interakce jako hydrofobní efekt, případně H-můstky) vázán silným příspěvkem disperzních sil.^{211,212}

Pro demonstraci schopnosti připravených sloučenin tvořit inkluzní komplexy s β -CD byl zvolen nukleosid **32**. Na Obrázku 44 jsou uvedena dvě ^1H NMR spektra, měřená ve směsi $\text{DMSO-}d_6$: D_2O (2:1, v:v) při 303 K, 400 MHz, a to samotné sloučeniny **32** (linie A) a po přidavku přibližně 1,2 molárního ekvivalentu β -CD (linie B). Přítomnost předpokládaného komplexu nukleosidu **32** s β -CD naznačuje výrazná změna chemického posunu, která je patrná zejména u signálů náležících atomům vodíku z adamantanové klece (**j**, **i**, **k**). Všechny tyto signály změnily polohu směrem k vyšším hodnotám chemického posunu, což je typické pro adamantanový skelet (či jiné klecové uhlovodíky) nacházející se uvnitř dutiny β -CD. Přítomnost β -CD také ovlivňuje chemický posun aromatických signálů benzenového jádra a signálu skupiny CHOH spojující adamantanovou klec s benzenovým jádrem. Signál **g** se posunul k vyšším a signály **h** a **i** k nižším hodnotám chemického posunu. Naproti tomu chemické posuny signálů purinu a ribosy nebyly přidáním β -CD nijak ovlivněny, což rovněž naznačuje vznik supramolekulárního komplexu s adamantanovým substituentem v kavitě β -CD.



Obrázek 44: ^1H NMR spektrum sloučeniny **32** (A) a komplexu **32** s β -CD (B), spektrum B bylo získáno za využití presaturace signálu HDO.

Hypotézu, že se adamantan nachází uvnitř kavity β -CD, může podpořit i výsledek HH-ROESY experimentu, který dokáže identifikovat prostorově blízká jádra do vzdálenosti přibližně 6 Å. Ve výřezu 2D NMR spektra (Obrázek 45) lze pozorovat intermolekulární interakce mezi atomy vodíku ze skupin CH adamantanového skeletu (signál **k**) a vnitřními atomy vodíku z β -CD, H(3/5/6), které ovšem nejsou ve spektru rozlišený (vyznačeno v Obrázku 45 červenou barvou). Dále pak je ve spektru viditelná korelace fenylového atomu vodíku **g** rovněž s H(3/5/6) β -CD. Signály vnitřních H-atomů kavity β -CD, H(3/5/6), ovšem překrývají dva dublety dubletů (dd) náležející **f** atomům ribosy. Případná záměna intermolekulárních kontaktů s protony β -CD s intramolekulárními kontakty s atomy vodíku na ribose je ale velmi nepravděpodobná. Dle modelu sloučeniny **32** optimalizovaného pomocí MM2 (molekulová mechanika 2) činí vzdálenost mezi atomy **f** a **k** minimálně 10 Å. Navíc tvar cross-signálu neodpovídá charakteristickému tvaru pro dva dd, jak je možné srovnat s intramolekulárním cross-signálem mezi atomy ribosy **f** a **e** (ve spektru vyznačeno modrou barvou).



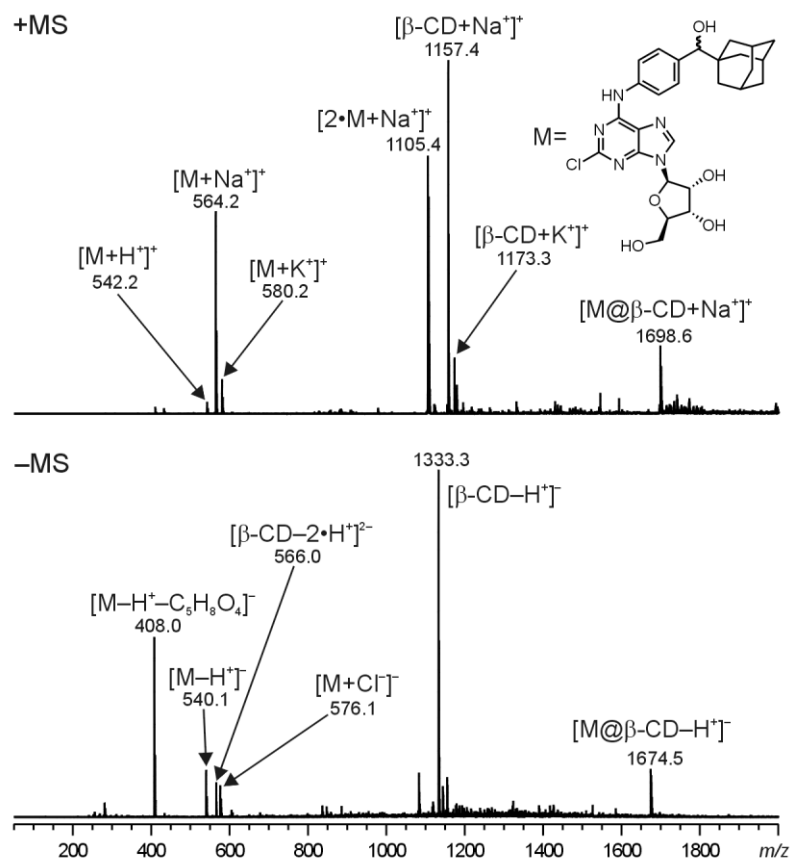
Obrázek 45: Výřez ROESY spektra směsi látky **32** s β -CD. Měřeno v DMSO- d_6 :D₂O (2:1, v:v) při 303 K, 400 MHz s použitím presaturace signálu HDO.

Kromě nukleární magnetické rezonance (prováděné v roztoku) byla schopnost nukleosidů **24–33** vytvářet supramolekulární komplexy s β -CD ověřena také v plynné fázi, konkrétně za použití hmotnostní spektrometrie s elektrosprejovou ionizací. Analyzovány byly ekvimolární směsi příslušného purinu a β -CD, kdy roztoky byly připravovány bezprostředně před realizací samotné analýzy. Cílem bylo zjistit, zda příslušné hostitel–host komplexy vznikají a pokud ano, jaká je jejich stechiometrie. V případě tvorby komplexů pak byla ověřena jejich stabilita, což bylo realizováno pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie za podmínek kolizně indukované disociace. Jednotlivé směsi byly analyzovány jak v pozitivním, tak v negativním skenovacím módu.

Ve spektrech prvního řádu získaných v kladném skenovacím módu byly pozorovány tři „série“ iontů. Ionty pocházející z molekuly hosta, ionty pocházející z molekuly hostitele a ionty, jejichž hodnota m/z odpovídala tvorbě komplexu typu hostitel–host. Hostující molekula byla zastoupena celkem čtyřmi ionty, jejichž hodnota m/z odpovídala protonované molekule ($[M+H]^+$), sodnému ($[M+Na]^+$) a draselnému ($[M+K]^+$) aduktu. Tyto ionty byly doprovázeny jedenkrát nabitým signálem, jehož hodnota m/z byla přibližně dvakrát vyšší, a který byl určen jako sodný adukt dimeru molekuly hosta ($[2\cdot M+Na]^+$). Ionty pocházející z hostitelské molekuly měly hodnotu m/z 1157 a 1173 a byly identifikovány jako sodný a draselný adukt β -CD. Posledním pozorovaným ve spektru byl jedenkrát nabitý ion, jehož hodnota m/z odpovídala sodnému aduktu komplexu tvořeného jednou molekulou hosta a jednou molekulou hostitele ($[M@\beta\text{-CD}+Na]^+$). Bohužel se v žádném z analyzovaných vzorků nepodařilo úspěšně provést izolaci a následnou fragmentaci tohoto iontu a není tak možné detailněji diskutovat o jeho chování v plynné fázi.

V případě záporné ionizace byly opět pozorovány tři „série“ signálů, které stejně jako ve výše uvedeném případě pocházely z molekuly hosta, hostitele a komplexu. Molekula hosta byla zastoupena třemi jedenkrát nabitými ionty, které byly určeny jako deprotonovaný ion molekuly nukleosidu **32** ($[M-H]^-$), chloridový adukt molekuly ($[M+Cl]^-$) a deprotonovaný ion hosta postrádající cukernou jednotku ($[M-H^+-C_5H_8O_4]^-$). Struktura tohoto iontu byla navržena pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie (MS/MS) iontu odpovídajícího deprotonované molekule, během níž tento ion vznikal. Můžeme tedy říci, že se jedná o produkt fragmentace v iontovém zdroji, což není v případě měkkých ionizačních technik (mezi něž se ESI počítá) děj úplně obvyklý. Hostitelská molekula byla zastoupena dvěma ionty, jedenkrát nabitým iontem o m/z 1133 ($[\beta\text{-CD}-H]^+$) a dvakrát nabitým iontem o m/z 566 odpovídajícím molekule β -CD bez dvou atomů vodíku ($[\beta\text{-CD}-2\cdot H]^2+$). Posledním pozorovaným byl ion, jehož hodnota m/z odpovídala deprotonovanému komplexu daného purinu a β -CD ($[M@\beta\text{-CD}-H]^+$).

Ilustrativní ESI-MS spektra směsi nukleosidu **32** s β -CD jsou znázorněna na Obrázku 46.



Obrázek 46: ESI-MS spektra prvního řádu ekvimolární směsi sloučeniny 32 a β -CD získaná v pozitivním a negativním skenovacím módu.

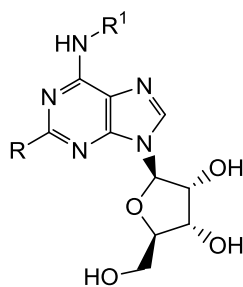
10 STUDIUM BIOLOGICKÉ AKTIVITY PURINOVÝCH NUKLEOSIDŮ

Biologická aktivita připravených látek byla testována ve spolupráci s Katedrou experimentální biologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci pod vedením doc. RNDr. Vladimíra Kryštofa, Ph.D. Konkrétně byly zkoumány purinové ribonukleosidy **24–33** (Obrázek 47). Testování bylo provedeno ve dvou úrovních. Jednak byl studován antiproliferační účinek sloučenin proti dvěma typům lidského hematologického nádorového onemocnění, a to vůči chronické myeloidní leukémii (K562) a akutní myeloidní leukémii (MV4;11). Následně bylo provedeno i testování na rostlinných systémech – schopnost inhibice enzymu cytokinin oxidasy/dehydrogenasy (CKX). Biologická odezva byla zjišťována jak u samotných nukleosidů, tak u jejich ekvimolárních směsí s β -CD.

10.1 Cytotoxicita

Výsledky testování antiproliferační aktivity jsou shrnuty v Tabulce 3 v hodnotách IC_{50} , kdy při této koncentraci dochází k 50% inhibici růstu nebo aktivity nádorových buněk. Implementací cukerného zbytku do polohy 9 purinového skeletu nesoucího 1-adamantylované substituenty se skutečně, v souladu s naším předpokladem, zlepšila do jisté míry rozpustnost připravených nukleosidů v polárním prostředí. Na druhou stranu komplexace testovaných látek s β -CD jejich biologický účinek nijak výrazně neovlivnila.

V případě antiproliferační aktivity vůči nádorové linii K562 nebyla zjištěna žádná odezva u sloučenin **24–27**, **29–31** a **33**. Jistá cytotoxicita, jejíž hodnoty se pohybovaly těsně pod hranicí maximální testovné koncentrace, byla potvrzena pouze u sloučenin **28** a **32**, obě s *para* adamantylovým substituentem v poloze C6 a atomem chloru v poloze C2. Výsledky testování proti druhému biologickému cíli, MV4;11, byly o něco pozitivnější. Nejvýraznější antiproliferační účinek, 12,3 μ M, byl prokázán u nukleosidu **32**, jenž má v poloze C6 *para* adamantylový substituent s karbonylovou skupinou mezi adamantylem a benzenovým kruhem a v poloze C2 atom chloru. Druhou nejvyšší hodnotu vykazoval právě nukleosid **28**, s hydroxylovou skupinou mezi benzenovým jádrem a adamantylem na substituentu v C6 a atomem chloru v poloze C2, a sice 16,6 μ M. Dále proti této linii aktivně účinkovaly také sloučeniny **26** a **29–31**.



Obrázek 47: Obecná struktura testovaných sloučenin.

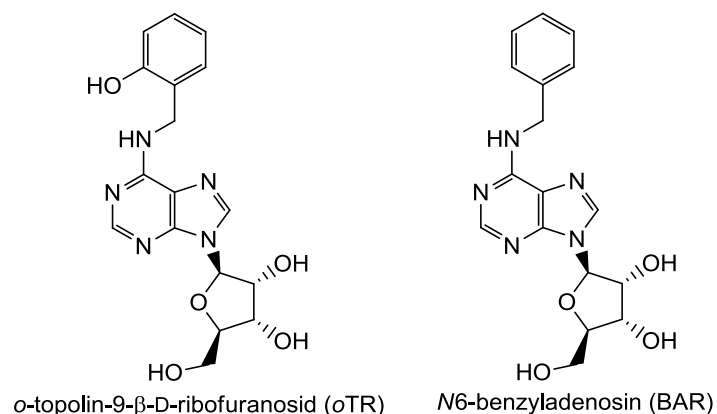
Tabulka 3: Antiproliferační aktivita nukleosidů **24–33** proti vybraným nádorovým liniím vyjádřená v IC₅₀.

Sloučenina	R	R ¹	IC ₅₀ [μM]	
			K562	MV4;11
24	H		>25	>25
β-CD·24			>25	>25
25	H		>25	>25
β-CD·25			>25	>25
26	H		>25	21,8 ± 5,6
β-CD·26			>25	24,6 ± 0,7
27	Cl		>25	>25
β-CD·27			>25	>25
28	Cl		21,4 ± 2,3	16,6 ± 7,6
β-CD·28			22,7 ± 3,2	21,2 ± 5,4
29	Cl		>25	23,8 ± 1,7
β-CD·29			>25	24,1 ± 1,3
30	H		>25	20,0 ± 7,1
β-CD·30			>25	24,4 ± 0,9
31	H		>25	18,8 ± 8,8
β-CD·31			>25	25,0 ± 0,0
32	Cl		23,4 ± 0,4	12,3 ± 3,9
β-CD·32			24,4 ± 0,8	18,5 ± 7,8
33	Cl		>25	>25
β-CD·33			>25	>25

Pozn.: zkratky použitých buněčných linií K562 – chronická myeloidní leukemie, MV4;11 – akutní myeloidní leukemie; >25 = 25 μM – nejvyšší použitá koncentrace

Získané hodnoty jsou bohužel mnohem vyšší než u „aromatických“ cytokininových ribosidů, u nichž byla rovněž testována antiproliferační aktivita vůči nádorovým liniím způsobujícím onemocnění krevtvořby.¹⁵³ Zejména vedle nejúčinnějších ribosylových forem cytokininů *o*-topolinu (*o*TR) a *N*6-benzyladeninu (BAR), je rozdíl celkem markantní (Obrázek 48). Hodnota IC₅₀ *o*TR proti buňkám K562 činí 2,40 μM, u BAR je o něco vyšší, 5,90 μM. Přestože přímo vůči nádorové linii MV4;11 tyto sloučeniny testovány nebyly, vykazují velmi výraznou aktivitu vůči buňkám promyelocytární leukemie (HL60) s IC₅₀ do 1 μM (Tabulka 2, str. 40).

S trochou nadsázky by se dalo říci, že ve srovnání s dosud připravenými adamantanem substituovanými purinovými nukleosidy, které jsou popsány v kapitole 4.2 této práce (str. 45), jsou naše výsledky cytotoxicity přinejmenším zajímavější a jen potvrzují, že námi připravené látky určitě nejsou bez potenciálu.



Obrázek 48: Cytokininové ribosidy s antiproliferační aktivitou.

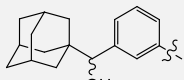
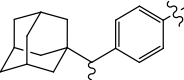
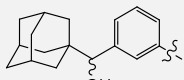
10.2 Inhibice enzymu CKX

U jednotlivých nukleosidů byla rovněž testována jejich interakce s klíčovým enzymem katabolismu cytokininů, a to s cytokinin oxidasou/dehydrogenasou (CKX), konkrétně pak s genem AtCKX2, kódujícím jednu z isoformů *Arabidopsis thaliana**. Jedná se o skupinu enzymů, která katalyzuje nevratnou degradaci cytokininů v jediném enzymatickém kroku oxidativním štěpením postranního řetězce za účelem udržení homeostázy cytokininů v organismu.^{213,214}

Tabulka 4: Inhibiční aktivita nukleosidů **24–33** proti CKX vyjádřená v IC₅₀, doplněná o rychlost odezvy enzymu při různých koncentracích.

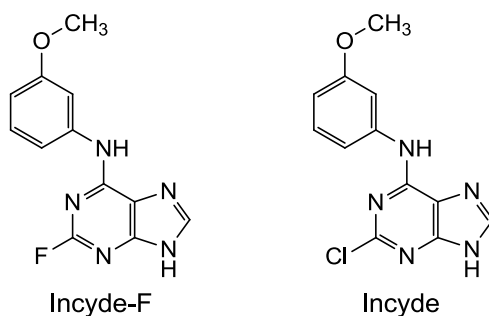
Sloučenina	R	R ¹	IC ₅₀ [μM]	Maximální rychlost enzymu [%]			
				100 μM	10 μM	1 μM	0,1 μM
24	H		4,41 · 10 ³	71,85±5,91	82,58±6,33	86,19±8,23	88,59±6,59
β-CD·24			3,51 · 10 ³	72,33±4,65	85,73±7,04	90,36±5,39	91,55±7,03
25	H		1,34 · 10 ⁵	98,99±8,75	84,39±7,74	85,97±7,72	88,95±8,27
β-CD·25			9,68 · 10 ⁵	93,44±5,98	91,14±6,01	90,11±6,45	91,84±5,43
26	H		6,77 · 10 ⁴	93,43±6,72	83,57±8,80	86,18±5,96	87,81±9,24
β-CD·26			4,61 · 10 ⁴	87,11±5,87	90,47±6,75	90,74±5,21	86,62±4,49
27	Cl		1,96 · 10 ²	56,91±5,65	85,39±6,76	91,28±6,16	92,86±9,13
β-CD·27			2,01 · 10 ²	57,43±4,40	85,22±5,97	92,93±4,49	91,34±5,77
28	Cl		8,58 · 10 ⁴	93,50±10,76	87,77±8,20	87,81±9,87	86,69±6,16
β-CD·28			7,21 · 10 ⁴	92,50±6,66	86,84±6,10	92,12±9,74	92,42±6,33
29	Cl		5,01 · 10 ⁴	89,44±6,60	86,59±8,42	85,88±6,78	86,41±7,79
β-CD·29			6,66 · 10 ⁴	90,22±6,91	91,14±5,41	90,09±4,71	89,12±10,05
30	H		4,02 · 10 ⁴	87,89±13,04	85,32±6,81	87,72±7,37	87,12±6,70
β-CD·30			4,37 · 10 ⁴	87,22±9,78	89,79±4,85	90,65±4,99	88,97±4,81

* *huseníček rolní*

Sloučenina	R	R ¹	IC ₅₀ [μM]	Maximální rychlost enzymu [%]			
				100 μM	10 μM	1 μM	0,1 μM
31	H		1,62 · 10 ⁵	97,83±7,19	90,21±6,84	87,39±8,16	89,85±6,15
β-CD·31			1,89 · 10 ⁴	82,40±9,11	92,87±4,79	91,41±4,39	93,69±7,17
32	Cl		3,76 · 10 ⁴	87,20±7,49	85,82±7,79	87,56±5,67	88,06±5,93
β-CD·32			4,48 · 10 ⁴	87,11±4,66	91,70±7,60	89,52±5,26	90,50±4,38
33	Cl		1,02 · 10 ⁵	95,09±8,58	87,69±6,49	87,10±5,89	89,21±5,92
β-CD·33			4,11 · 10 ⁴	87,37±5,89	94,61±5,98	93,30±5,36	92,84±6,63
Incyde-F	---	---	6,42 · 10 ⁻²	1,0±6,71	9,87±8,01	39,71±9,77	84,02±9,89
β-CD·Incyde-F	---	---	5,18 · 10 ⁻²	0,33±4,74	8,14±5,68	36,72±8,33	79,58±9,42

Testování vůči enzymu AtCKX2 bohužel neodhalilo žádné nové skutečně účinné inhibitory (Tabulka 4). V porovnání se standardem Incyde-F (Obrázek 49), jehož IC₅₀ činí 0,06 μM (resp. 0,05 μM v komplexu s β-CD), je aktivita našich testovaných purinových nukleosidů velmi nízká. Jako nejaktivnější se ukázala modelová sloučenina **27** substituovaná v poloze C6 fenylovým zbytkem a atomem chloru v poloze C2 s hodnotou IC₅₀ = 196 μM, což odpovídá o tři řády nižšímu účinku, než je právě účinek zmíněného standardu. Z adamantylovaných nukleosidů pak vykazuje nejvyšší účinnost sloučenina **31** v komplexu s β-CD, 189 · 10² μM. V několika případech mělo ředění látek s cyklodextrinem na jejich testovanou aktivitu pozitivní vliv a účinek posilovalo.

Po srovnání s daty v dostupné literatuře činil druhý nejsilnější inhibiční účinek vůči CKX ještě analog standardu, rovněž na Obrázku 49, a to 1,9 μM, který v poloze C2 purinového skeletu obsahuje atom chloru.^{215,216}



Obrázek 49: Inhibitory enzymu CKX.

Výsledky provedených testů včetně srovnání s literaturou potvrzují předpoklad, že cytokininové glykosidy, k nimž mají naše sloučeniny celkem blízko, v rostlinných organismech opravdu fungují především jako „neaktivní“ transportní formy a skutečná aktivita se projeví až po odbourání glykosylového zbytku. Naproti tomu v živočišných systémech byla prokázána jejich efektivita v podobě antiproliferačního účinku a coby agonistů adenosinového receptoru.^{153–157}

ZÁVĚR

Cílem předložené disertační práce bylo připravit sérii nových 6-substituovaných a 2,6-disubstituovaných purinových ribonukleosidů a provést jejich biologický screening.

Navržená multikroková syntéza, která byla úspěšně vyzkoušena a optimalizována během přípravy „modelových“ nukleosidů **24** a **27**, se ukázala být efektivní, účinná a dobře reprodukovatelná. Byly předpřipraveny základní komponenty v podobě substituentů pro obsazení polohy C6 (sada 1-adamantyl(fenyl)aminů) a výchozí látka pro řadu nukleosidů s atomem vodíku v poloze C2 purinového kruhu (6-chlor-9H-purin). Po několika neúspěšných pokusech o syntézu guaninu, určeného coby výchozí sloučenina pro druhou řadu nukleosidů s primární aminoskupinou v poloze C2 purinu, byl použit 2,6-dichlor-9H-purin již dříve zakoupený z komerčních zdrojů. Po substituci atomu chloru v poloze C6 obou výchozích purinů připravenými primárními aminy byla dalším krokem glykosylace získaných purinových derivátů, tedy implementace chráněného ribofuranosylu do polohy N9 purinového kruhu. Glykosylace byla provedena dvěma způsoby v závislosti na obsazenosti polohy C2: pro „řadu H“ byla zvolena jednokroková Hilbertova–Johnsonova glykosylace a pro „řadu Cl“ Vorbrüggenova glykosylace se silylovanými meziprodukty. Poslední krok k hotovým nukleosidům spočíval v odstranění chránících skupin z cukerného zbytku. Tato syntetická cesta byla pak doplněna dalšími modifikacemi purinové části zahrnujícími redukcí karbonylové skupiny u sloučenin **25**, **26**, **28** a **29** a nukleofilní substituci atomu chloru 3-aminopropan-1-olem v poloze C2 u nukleosidů **27–29**, **32** a **33**. Struktura všech získaných sloučenin byla navržena na základě výsledků získaných pomocí běžných spektrálních metod.

Připravené adamantylové nukleosidy byly použity pro tvorbu inkluzních komplexů s β -cyklodextrinem (β -CD) jakožto hostitelskou molekulou za účelem zlepšit jejich rozpustnost v polárním prostředí a prostudovat vliv přítomnosti makrocyklu na biologickou aktivitu. Biologická aktivita tak byla zkoumána nejen u samotných připravených sloučenin **24–33**, ale také u jejich komplexů s β -CD. Byl zjišťován účinek sloučenin proti dvěma typům lidského nádorového onemocnění, a sice vůči chronické myeloidní leukémii (K562) a akutní myeloidní leukémii (MV4;11). Nejsilnější cytotoxicitu o hodnotě 12,3 μ M prokázal nukleosid **28** proti buňkám MV4;11. Látka **28** společně se sloučeninou **32** projevíly odezvu vůči oběma nádorovým liniím. Obě mají zavedený *para* adamantylový substituent s oxo- nebo hydroxylovou skupinou mezi adamantylem a benzenovým kruhem v poloze C6 a oba obsahují v poloze C2 atom chloru. Naproti tomu sloučeniny **24**, **25**, **27** a **33** neúčinkovaly ani na jeden z testovaných cílů. Nutno zdůraznit, že mezi nimi byly oba modelové nukleosidy s fenylem v poloze C6 purinového kruhu. Naopak tomu bylo u testů na inhibici enzymu CKX, v nichž se jako nejúčinnější projevil právě modelový nukleosid **27** s atomem chloru v poloze C2 purinového kruhu.

Zbývající připravené nukleosidy **34–38** testům na biologickou aktivitu podrobeny nebyly, jelikož se nezdařilo připravit je v množství nezbytném pro realizaci strukturní analýzy i pro testování biologických účinků. V budoucnu by bylo žádoucí připravit tyto látky již optimalizovanou a ověřenou cestou v dostatečném množství. Jsme přesvědčeni, že přítomnost zbytku 3-aminopropan-1-olu v poloze C2 purinového kruhu skýtá velký potenciál jak pro zlepšení rozpustnosti, tak pro zesílení konečného biologického efektu.

Z obecného hlediska byla rozšířena řada biologicky aktivních nukleosidů nesoucích 1-adamantyl popsanych v kapitole 4.2. Přestože vzájemné srovnání jejich biologických účinků nelze objektivně provést, je zřejmé, že náš předpoklad o nutnosti dodržet jistou vzdálenost adamantanového skeletu od purinového jádra není zcela nesprávný. Kdyby byla rozpustnost námi připravených sloučenin ve vodném prostředí ještě o něco lepší, je možné, že se biologická aktivita prokáže i u dalších z testovaných nukleosidů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ¹ CHRISTENSEN, Helle M., Stefan OSCARSON a Henrik H. JENSEN. *Carbohydrate Research*, **2015**, 408, 51–95. DOI: 10.1016/j.carres.2015.02.007.
- ² RATNER, Daniel M., Edward R. MURPHY, Manish JHUNJHUNWALA, Daniel A. SNYDER, Klavs F. JENSEN a Peter H. SEEBERGER. *Chemical Communications*. **2005**, 403 (5), 578–580. DOI: 10.1039/B414503H.
- ³ CRICH, David. *Accounts of Chemical Research*. **2010**, 43 (8), 1144–1153. DOI: 10.1021/ar100035r.
- ⁴ WEIGNEROVÁ, Lenka, Eva RAJNOCHOVÁ-HERKOMMEROVÁ a Vladimír KRĚN. *Chemické Listy*. **1999**, 93, 781–787.
- ⁵ JENSEN, Knud J. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. **2002**, 20, 2219–2233. DOI: 10.1039/b110071h.
- ⁶ ZHU, Xiangminga Richard R. SCHMIDT. *Angewandte Chemie International Edition*. **2009**, 48, 1900–1934. DOI: 10.1002/anie.200802036.
- ⁷ WHITFIELD, Dennis M. *Carbohydrate Research*. **2015**, 403, 69–89. DOI: 10.1016/j.carres.2014.05.021.
- ⁸ RANADE, Sneha C. a Alexei V. DEMCHENKO. *Journal of Carbohydrate Chemistry*. **2013**, 32 (1), 1–43. DOI: 10.1080/07328303.2012.749264.
- ⁹ DEMCHENKO, Alexei V. Edited by. *Handbook of Chemical Glycosylation: Advances in Stereoselectivity and Therapeutic Relevance*. Weinheim: Wiley-VCH, 2008. ISBN 9783527317806.
- ¹⁰ MCMURRY, John. *Organic Chemistry*. 8th ed. Belmont, CA: Brooks/Cole, Cengage Learning, c2012. ISBN 0840054440.
- ¹¹ BOONS, Geert-Jan a Karl HALE. *Organic Synthesis with Carbohydrates*. Malden, MA U.S.A.: Blackwell Science, 2000. ISBN 0632045086.
- ¹² GUO, Jian a Xin-Shan YE. *Molecules*. **2010**, 15 (10), 7235–7265. DOI: 10.3390/molecules15107235.
- ¹³ SVOBODA, Jiří. *Organická syntéza I*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2000. ISBN 80-7080-385-1.
- ¹⁴ DAVIS, Benjamin G. a Antony J. FAIRBANKS. *Carbohydrate Chemistry*. New York: Oxford University Press, 2002. ISBN 0198558333.
- ¹⁵ GAO, Mingzhang, Yiwen CHEN, Songde TAN, Joseph H. REIBENSPIES a Ralph A. ZINGARO. *Heteroatom Chemistry*. **2008**, 19 (2), 199–206.
- ¹⁶ XIAO, Chuan, Chao SUN, Weiwei HAN, Feng PAN, Zhu DAN, Yu LI, Zhi-Guang SONG a Ying-Hua JIN. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. **2011**, 19, 7100–7110. DOI: 10.1016/j.bmc.2011.10.003.
- ¹⁷ a) CHRONOWSKA, Aleksandra, Estelle GALLIENNE, Cyril NICOLAS, Atsushi KATO, Isao ADACHI a Olivier R. MARTIN. *Tetrahedron Letters*. **2011**, 52, 6399–6402. DOI: 10.1016/j.tetlet.2011.09.065; b) BEHR, Jean-Bernard, Audrey ERARD a Georges GUILLERM. *European Journal of Organic Chemistry*. **2002**, 7, 1256–1262.

- 18 BAUTA, William E., Brian E. SCHULMEIER, Brian BURKE,
et al. Organic Process Research and Development. **2004**, 8, 889–896. DOI:
10.1021/op049884n.
- 19 MAITI, Munmun, Servaas MICHELSENS, Natalia DYUBANKOVA,
Mohitosh MAITI, Eveline LESCRIER, Arnout CEULEMANS a Piet
HERDEWIJN. *Chemistry – A European Journal.* **2012**, 18 (3), 857–868.
DOI: 10.1002/chem.201102279.
- 20 LEVY, Daniel E. a Péter FÜGEDI. *The Organic Chemistry of Sugars.* Boca
Raton: Taylor & Francis, 2006. ISBN 0824753550.
- 21 CUMPSTEY, Ian. *Organic and Biomolecular Chemistry.* **2012**, 10 (13), 2503–
2508. DOI: 10.1039/c2ob06696c.
- 22 BOHÉ, Luis a David CRICH. *Carbohydrate Research.* **2015**, 403, 48–59.
DOI: 10.1016/j.carres.2014.06.020.
- 23 HUANG, Min, Pascal RETAILLEAU, Luis BOHÉ a David CRICH. *Journal
of the American Chemical Society.* **2012**, 134 (36), 14746–14749. DOI:
10.1021/ja307266n.
- 24 YE, Wenjie, Debamita PAUL, Lina GAO *et al. PLoS ONE.* **2014**, 9 (12),
e115082. DOI: 10.1371/journal.pone.0115082.
- 25 VORBRÜGGEN, Helmut a Carmen RUH-POHLENZ. *Handbook of
Nucleoside Synthesis.* New York: Wiley, 2001. ISBN 0471093831.
- 26 CAMPBELL, Mary K. a Shawn O. FARRELL. *Biochemistry.* 8th ed.
Stamford: Cengage Learning, c2015. ISBN 978-1-285-42910-6.
- 27 ČERNÝ, Miloslav, Tomáš TRNKA a Miloš BUDĚŠÍNSKÝ. *Sacharidy.*
Praha: Česká společnost chemická, 2010. Chemické listy. ISBN
978-80-86238-81-4.
- 28 KNAPP, Spencer. *Chemical Reviews.* **1995**, 95 (6), 1859–1876. DOI:
10.1021/cr00038a006.
- 29 DAVOLL, John, Basil LYTHGOE a Alexander. R. TODD. *Journal of the
Chemical Society.* **1948**, 967–969.
- 30 DAVOLL, John, Basil LYTHGOE a Alexander. R. TODD *Journal of the
Chemical Society.* **1948**, 1685–1687.
- 31 HANESSIAN, Stephen. *Preparative Carbohydrate Chemistry.* New York:
Marcel Dekker, c1997. ISBN 0824798023.
- 32 ROGERS, Gordon T. a Tilo L. V. ULBRICHT. *Journal of the Chemical
Society.* **1968**, 1929–1933. DOI: 10.1039/J39680001929.
- 33 DAVOLL, John a Bertram LOWY. *Journal of the American Chemical
Society.* **1951**, 73 (4), 1650–1655. DOI: 10.1021/ja01148a071.
- 34 KAZIMIERCZUK, Zygmunt, Howard B. COTTAM, Ganapathi R.
REVANKAR a Roland K. ROBINS. *Journal of the American Chemical
Society.* **1984**, 106, 6379–6382.
- 35 DIEKMANN, Elke, Klaus FRIEDRICH a Hans-Günther FRITZ. *Journal für
praktische Chemie Chemiker-Zeitung.* **1993**, 335, 415–424.

- 36 MUKAIYAMA, Teruaki, Noriyuki HIRANO, Minoru NISHIDA a Hiromi
UCHIRO. *Chemistry Letters*. **1996**, 25, 99–100.
- 37 ZHONG, Minghong, Ireneusz NOWAK a Morris J. ROBINS. *Organic
Letters*. **2005**, 7 (21), 4601–4603. DOI: 10.1021/ol051573p.
- 38 NIEDBALLA, Ulrich a Helmut VORBRÜGGEN. *Angewandte Chemie
International Edition*. **1970**, 9, 461–462. DOI: 10.1002/anie.197004612.
- 39 NIEDBALLA, Ulrich a Helmut VORBRÜGGEN. *Journal of Organic
Chemistry*. **1974**, 39 (25), 3654–3660. DOI: 10.1021/jo00939a008.
- 40 VORBRÜGGEN, Helmut, Konrad KROLIKIEWICZ a Bärbel BENNUA.
Chemische Berichte. **1981**, 114, 1234–1255. DOI: 10.1002/cber.19811140404.
- 41 VORBRÜGGEN, Helmut. *Helvetica Chimica Acta*. **2011**, 94, 947–965.
- 42 BOOKSER, Brett C. a Nicholas B. RAFFAELE. *Journal of Organic
Chemistry*. **2007**, 72, 173–179. DOI: 10.1021/jo061885l.
- 43 SUN, Jianyun, Yanhui DOU, Haixin DING, Ruchun YANG, Qi SUN a Qiang
XIAO. *Marine Drugs*. **2012**, 10 (12), 881–889. DOI: 10.3390/md10040881.
- 44 BENNUA-SKALMOWSKI, Bärbel, Konrad KROLIKIEWICZ a Helmut
VORBRÜGGEN. *Tetrahedron Letters*. **1995**, 36 (43), 7845–7848. DOI:
10.1016/0040-4039(95)01667-7.
- 45 LITTLE, James L. *Journal of Chromatography A*. **1999**, 844, 1–22. DOI:
10.1016/S0021-9673(99)00267-8.
- 46 VORBRÜGGEN, Helmut a Bärbel BENNUA *Chemische Berichte*. **1981**, 114,
1279–1286. DOI: 10.1002/cber.19811140407.
- 47 UGARKAR, Bheemarao G., Angelo J. CASTELLINO, Jay M. DARE, Joseph J.
KOPCHO, James B. WIESNER, Juergen M. SCHANZER a Mark D.
ERION. *Journal of Medicinal Chemistry*. **2000**, 43 (15), 2894–2905. DOI:
10.1021/jm0000259.
- 48 UGARKAR, Bheemarao G., Angelo J. CASTELLINO, Jay S. DARE,
Michele RAMIREZ-WEINHOUSE, Joseph J. KOPCHO, Sanna ROSENGREN a
Mark D. ERION. *Journal of Medicinal Chemistry*. **2003**, 46 (22), 4750–4760.
DOI: 10.1021/jm030230z.
- 49 ZHANG, Hong-wang, Longhu ZHOU, Steven J. COATS, *et al.* *Bioorganic
and Medicinal Chemistry Letters*. **2011**, 21, 6788–6792. DOI:
10.1016/j.bmcl.2011.09.034.
- 50 ELDRUP, Anne B., Charles R. ALLERSON, C. Frank BENNETT, *et al.* *Journal
of Medicinal Chemistry*. **2004**, 47 (9), 2283–2295. DOI: 10.1021/jm030424e.
- 51 NAUŠ, Petr, Pavla PERLÍKOVÁ, Aurelie BOURDERIOUX,
et al. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. **2012**, 20 (17), 5202–5214. DOI:
10.1016/j.bmc.2012.07.003.
- 52 CHO, Aesop, Oliver L. SAUNDERS, Thomas BUTLER, *et al.* *Bioorganic
and Medicinal Chemistry Letters*. **2012**, 22 (8), 2705–2707. DOI:
10.1016/j.bmcl.2012.02.105.

- 53 MIZUNO, Yoshishisa, Kiyomi TSUCHIDA a Hajime TAMPO. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. **1984**, 32 (8), 2915–2924. DOI: 10.1248/cpb.32.2915.
- 54 MIKHAILOPULO Igor A. a Anatoly I. MIROSHNIKOV. *Acta Naturae*. **2010**, 2 (5), 36–58.
- 55 TUTTLE, Joel V., Margaret TISDALE a Thomas A. KRENITSKY. *Journal of Medicinal Chemistry*. **1993**, 36, 119–125. DOI: 10.1021/jm00053a015.
- 56 MIKHAILOPULO, Igor A. a Anatoly I. MIROSHNIKOV. *Mendeleev Communications*. **2011**, 21 (2), 57–68. DOI: 10.1016/j.mencom.2011.03.001.
- 57 TICHÝ, Michal, Radek POHL, Hao Ying XU, Yen-Liang CHEN, Fumiak YOKOKAWA, Pei-Yong SHI a Michal HOCEK. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. **2012**, 20 (20), 6123–6133. DOI: 10.1016/j.bmc.2012.08.021.
- 58 HASNÍK, Zbyněk, Radek POHL a Michal HOCEK. *Tetrahedron Letters*. **2010**, 51 (18), 2464–2466. DOI: 10.1016/j.tetlet.2010.02.167.
- 59 NAUŠ, Petr, Olga CALETKOVÁ, Pavla PERLÍKOVÁ, *et al.* *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. **2015**, 23 (23), 7422–7438. DOI: 10.1016/j.bmc.2015.10.040.
- 60 JOULE, John A. a Keith MILLS. *Heterocyclic chemistry*. 5th ed. Hoboken, N. J.: Wiley, c2009. ISBN 9781405133005.
- 61 LANVER, Andreas a Hans-Günther SCHMALZ. *Molecules*. **2005**, 10 (2), 508–515. DOI: 10.3390/10020508.
- 62 FU, Renzhong, Xianxiu XU, Qun DANG a Xu BAI. *The Journal of Organic Chemistry*. **2005**, 70 (26), 10810–10816. DOI: 10.1021/jo051873k.
- 63 WU, Tom Y. H., Peter G. SCHULTZ a Sheng DING. *Organic Letters*. **2003**, 5 (20), 3587–3590. DOI: 10.1021/ol035226w.
- 64 RAN, Chongzhao, Qing DAI a Ronald G. HARVEY. *The Journal of Organic Chemistry*. **2005**, 70 (9), 3724–3726. DOI: 10.1021/jo040284w.
- 65 CHANG, Young-Tae, Nathanael S. GRAY, Gustavo R. ROSANIA, Daniel P. SUTHERLIN, Soojin KWON, Thea C. NORMAN, Radhika SAROHIA, Maryse LEOST, Laurent MEIJER a Peter G. SCHULTZ. *Chemistry and Biology*. **1999**, 6 (6), 361–375. DOI: 10.1016/S1074-5521(99)80048-9.
- 66 LAUFER, Stefan A., David M. DOMEYER, Thomas R. F. SCIOR, Wolfgang ALBRECHT a Dominik R. J. HAUSER. *Journal of Medicinal Chemistry*. **2005**, 48 (3), 710–722. DOI: 10.1021/jm0408767.
- 67 STADERINI, Matteo, Maria Laura BOLOGNESI a J. Carlos MENÉNDEZ. *Advanced Synthesis and Catalysis*. **2015**, 357 (1), 185–195. DOI: 10.1002/adsc.201400674.
- 68 ZHANG, Chao a Kevan M. SHOKAT. *Tetrahedron*. **2007**, 63 (26), 5832–5838. DOI: 10.1016/j.tet.2007.02.089.
- 69 QU, Guirong, Suhui HAN, Zhiguang ZHANG, Mingwei GENG a Feng XUE. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. **2006**, 17 (5), 915–922. DOI: 10.1590/S0103-50532006000500015.

- ⁷⁰ STRAPPAGHETTI Giovannella, Stefano CORSANO, Roberta BARBARO, Antonio LUCACCHINI, Gino GIANNACCINI, Laura BETTI. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **1998**, 33, 501–508. DOI: 10.1016/S0223-5234(98)80050-0.
- ⁷¹ HOLÝ, Antonín. *Principy bioorganické chemie ve vývoji antivirotik a cytostatik*. Olomouc: Univerzita Palackého, 2004. ISBN 80-244-0855-4.
- ⁷² KORE, Anilkumar R., Bo YANG a Balasubramanian SRINIVASAN. *Current Organic Chemistry*. **2014**, 18 (16), 2072–2107. DOI: 10.2174/1385272819666140714174457.
- ⁷³ ŠILHÁR, Peter, Michal HOCEK, Radek POHL, Ivan VOTRUBA, I-hung SHIH, Eric MABERY a Richard MACKMAN. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. **2008**, 16 (5), 2329–2366. DOI:10.1016/j.bmc.2007.11.067.
- ⁷⁴ BOSCH, Lluís, Ionela CIALÎCU, Joaquim CANER, Xavier ARIZA, Anna M. COSTA, Montserrat TERRAZAS a Jaume VILARRASA. *Tetrahedron Letters*. **2012**, 53 (11), 1358–1362. DOI: 10.1016/j.tetlet.2012.01.012.
- ⁷⁵ WAN, Zhao-Kui, Eva BINNUN, Douglas P. WILSON a Jinbo LEE. *Organic Letters*. **2005**, 7 (26), 5877–5880. DOI: 10.1021/ol052424+.
- ⁷⁶ ELION, Getrude B., Elizabeth BURGI a George H. HITCHINGS. *Journal of the American Chemical Society*. **1952**, 74 (2), 411–414. DOI: 10.1021/ja01122a037.
- ⁷⁷ ROBINS, Morris J. a Bogdan UZNAŃSKI. *Canadian Journal of Chemistry*. **1981**, 59 (17), 2601–2607. DOI: 10.1139/v81-374.
- ⁷⁸ FRANCIS, John E., Randy L. WEBB, Geetha R. GHAI, Alan J. HUTCHISON, Michael A. MOSKAL, Reynalda de JESUS, Rina YOKOYAMA, Stephen L. ROVINSKI, Nicolina CONTARDO, Ronald DOTSON, Bryce BARCLAY, George A. STONE a Michael F. JARVIS. *Journal of Medicinal Chemistry*. **1991**, 34, 2570–2579. DOI: 10.1021/jm00112a035.
- ⁷⁹ BORCHERDING, David R., Nelsen L. LENTZ, Philip M. WEINTRAUB, Mark W. DUDLEY, Roberta SECREST, Philip R. KASTNER a Norton P. PEET. *Nucleosides and Nucleotides*. **1999**, 18 (10), 2175–2191. DOI: 10.1080/07328319908044874.
- ⁸⁰ ELZEIN, Elfatih, Rao KALLA, Xiaofen LI, *et al.* *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. **2007**, 17 (1), 161–166. DOI: 10.1016/j.bmcl.2006.09.065.
- ⁸¹ EL-TAYEB, Ali a Sabrina GOLLOS. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. **2013**, 21 (2), 436–447. DOI: 10.1016/j.bmc.2012.11.021.
- ⁸² RODENKO, Boris, Martin J. WANNER a Gerrit-Jan KOOMEN. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. **2002**, 10, 1247–1252. DOI: 10.1039/b201943d.
- ⁸³ ROSEMEYER, Helmut. *Chemistry and Biodiversity*. **2004**, 1, 361–401. DOI: 10.1002/cbdv.200490033.
- ⁸⁴ a) GONNELLA, Nina C. a John D. ROBERTS. *Journal of the American Chemical Society*. **1982**, 104 (11), 3162–3164. DOI: 10.1021/ja00375a038; b) SEČKÁŘOVÁ, Pavlína, Radek MAREK, Kateřina MALIŇÁKOVÁ, Erkki KOLEHMAINEN, Dana HOCKOVÁ, Michal HOCEK a Vladimír

- SKLENÁŘ. *Tetrahedron Letters*. **2004**, 45 (33), 6259–6263. DOI: 10.1016/j.tetlet.2004.06.088.
- ⁸⁵ KLENER, Pavel. *Nová protinádorová léčiva a léčebné strategie v onkologii*. Praha: Grada, 2010. ISBN 978-80-247-2808-7.
- ⁸⁶ *Velký lékařský slovník* [online]. ©Maxdorf 1998–2016 [cit. 2016-8-14]. Dostupné z: <http://lekarske.slovniky.cz/>
- ⁸⁷ NABHAN, Chadi, Ronald B. GARTENHAUS a Martin S. TALLMAN. *Leukemia Research*. **2004**, 28 (5), 429–442. DOI: 10.1016/j.leukres.2003.08.017.
- ⁸⁸ ADAM, Zdeněk, Marta KREJČÍ a Jiří VORLÍČEK. *Hematologie: přehled maligních hematologických nemocí*. Vyd. 2., doplněné a zcela přepracované. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-6772-7.
- ⁸⁹ ROBAK, Pawel a Tadeusz ROBAK. *Cancer Treatment Reviews*. **2013**, 39 (8), 851–861. DOI: 10.1016/j.ctrv.2013.03.006.
- ⁹⁰ KAY, Neil E., Susan M. GEYER, Timothy G. CALL, et al. *Blood*. **2007**, 109 (2), 405–411. DOI: 10.1182/blood-2006-07-033274.
- ⁹¹ TYLER, Peter C., Erika A. TAYLOR, Richard F. G. FRÖHLICH a Vern L. SCHRAMM. *Journal of the American Chemical Society*. **2007**, 129 (21), 6872–6879. DOI: 10.1021/ja0708363.
- ⁹² KING, Karen M. a Carol E. CASS. *Current Cancer Therapy Reviews*. **2008**, 4, 21–30. DOI: 10.2174/157339408783565501.
- ⁹³ ADAM, Zdeněk, et al. *Klinická Onkologie*. **2012**, 25 (4), 255–261.
- ⁹⁴ KALINICHENKO, Elena N. *Eurasian Chemico-Technological Journal*. **2015**, 15 (3), 189–194. DOI: 10.18321/ectj222.
- ⁹⁵ LINDEMALM, Synnöve, Jan LILJEMARK, Gunnar JULIUSSON, Rolf LARSSON a Freidoune ALBERTIONI. *Cancer Letters*. **2004**, 210 (2), 171–177. DOI: 10.1016/j.canlet.2004.03.007.
- ⁹⁶ WOODAHL, Erica L., Joanne WANG, Shelly HEIMFELD, Brenda M. SANDMAIER a Jeannine S. MCCUNE. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. **2009**, 63 (5), 959–964. DOI: 10.1007/s00280-008-0829-0.
- ⁹⁷ TSYBULSKAYA, Ilona, Tamara KULAK, Elena KALINICHENKO, Alexander BARANOVSKY, Svetlana BOGUSHEVICH, Marina GOLUBEVA a Boleslav KUZMITSKY. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. **2015**, 23 (13), 3287–3296. DOI: 10.1016/j.bmc.2015.04.059.
- ⁹⁸ MONTILLO, Marco, RICCI a TEDESCHI. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. **2009**, 5, 187–207. DOI: 10.2147/TCRM.S3688.
- ⁹⁹ BERG, Stacey L. et al. *Journal of Clinical Oncology*. **2005**, 23 (15), 3376–3382. DOI: 10.1200/JCO.2005.03.426.
- ¹⁰⁰ BRYCHTOVÁ, Yvona. *Remedia*. **2007**, 17, 628–632.
- ¹⁰¹ COOPER, Todd. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. **2007**, 3 (6), 1135–1141.

- ¹⁰² MCGREGOR, Bradley A., Alexander W. BROWN, Michael B. OSSWALD a Michael R. SAVONA. *American Journal of Hematology*. **2009**, 84 (4), 228–230. DOI: 10.1002/ajh.21365.
- ¹⁰³ ZHENCHUK, Anna, Koroush LOTFI, Gunnar JULIUSSON a Freidoun ALBERTIONI. *Biochemical Pharmacology*. **2009**, 78 (11), 1351–1359. DOI: 10.1016/j.bcp.2009.06.094.
- ¹⁰⁴ *Clinical Trials* [online]. ©U.S. National Library of Medicine 1993–2016 [cit. 2016-8-14]. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/>
- ¹⁰⁵ JIAO, Yuan-yuan, Xue-qing WANG, Wan-liang LU, Zhen-jun YANG a Qiang ZHANG. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2013**, 48 (1–2), 249–258. DOI: 10.1016/j.ejps.2012.10.026.
- ¹⁰⁶ FUSEK, Martin. *Biologická léčiva: teoretické základy a klinická praxe*. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-3727-0.
- ¹⁰⁷ KICSKA, G. A., L. LONG, H. HORIG, C. FAIRCHILD, P. C. TYLER, R. H. FURNEAUX, V. L. SCHRAMM a H. L. KAUFMAN. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **2001**, 98 (8), 4593–4598. DOI: 10.1073/pnas.071050798.
- ¹⁰⁸ HAMPL, František, Stanislav RÁDL a Jaroslav PALEČEK. *Farmakochemie*. Vyd. 3., upravené a rozšířené. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2015. ISBN 978-80-7080-875-7.
- ¹⁰⁹ SÁNCHEZ, Sergio A. a Arnold L. DEMAINE. *Antibiotics: Current Innovations and Future Trends*. Norfolk, U. K.: Caister Academic Press, 2015. ISBN 978-1-908230-54-6.
- ¹¹⁰ PRUVOST, Alain, Eugènia NEGREDO, Henri BENECH, Frédéric THEODORO, Jordi PUIG, Eulàlia GRAU, Elisabet GARCÍA, José MOLTÓ, Jacques GRASSI a Bonaventura CLOTET. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **2005**, 49 (5), 1907–1914.
- ¹¹¹ *Drugs.com* [online]. ©2000–2016 Drugs.com [cit. 2016-8-14]. Dostupné z: <https://www.drugs.com/>
- ¹¹² SIMS, Keri A. a Abigail M. WOODLAND. *Pharmacotherapy*. **2006**, 26 (12), 1745–1757. DOI: 10.1592/phco.26.12.1745.
- ¹¹³ NEVILLE, Andrew J., Sydney J. ZACH, Xiaofang WANG, Joshua J. LARSON, Abigail K. JUDGE, Lisa A. DAVIS, Jonathan L. VANNERSTROM a Paul H. DAVIS. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **2015**, 59 (12), 7161–7169. DOI: 10.1128/AAC.02009-15.
- ¹¹⁴ JAMES, Scott H., David W. KIMBERLIN a Richard J. WHITLEY. *Antiviral Research*. **2009**, 83 (3), 207–213. DOI: 10.1016/j.antiviral.2009.04.010.
- ¹¹⁵ SHEN, Wei, Jae-Seung KIM, Phillip E. KISH, *et al.* *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. **2009**, 19 (3), 792–796. DOI: 10.1016/j.bmcl.2008.12.031.
- ¹¹⁶ TAYLOR, Raymond, Pravin KOTIAN, Travis WARREN, Rekha PANCHAL *et al.* *Journal of Infection and Public Health*. **2016**, 9, 220–226. DOI: 10.1016/j.jiph.2016.04.002.

- ¹¹⁷ CLERCQ, Erik De a Hugh J. FIELD. *British Journal of Pharamcology*. **2006**, 147, 1–11. DOI: 10.1038/sj.bjp.0706446.
- ¹¹⁸ LÜLLMANN, Heinz, Klaus MOHR a Lutz HEIN. *Barevný atlas farmakologie*. Vyd. 3., české. Ilustroval Jürgen WIRTH. Praha: Grada, 2007. ISBN 978-80-247-1672-5.
- ¹¹⁹ CLERCQ, Erik De. *Antiviral Drug Strategies*. Weinheim: Wiley-VCH, c2011. Methods and principles in medicinal chemistry. Vyd. 50. ISBN 352763598X.
- ¹²⁰ ŠTORK, Jiří *et al.* *Dermatovenerologie*. Praha: Galén, c2008. ISBN 978-80-7262-371-6.
- ¹²¹ FEOKTISTOV, Igor a Italo BIAGGIONI. *Pharmacological Reviews*. **1997**, 49 (4), 381–402.
- ¹²² JACOBSON, Kenneth A. a Zhan-Guo GAO. *Nature Reviews Drug Discovery*. **2006**, 5 (3), 247–264. DOI: 10.1038/nrd1983.
- ¹²³ SHETH, Sandeep, Rafael BRITO, Debashree MUKHERJEA, Leonard RYBAK a Vickram RAMKUMAR. *International Journal of Molecular Sciences*. **2014**, 15 (2), 2024–2052. DOI: 10.3390/ijms15022024.
- ¹²⁴ SACHDEVA, Sakshi a Monika GUPTA. *Saudi Pharmaceutical Journal*. **2013**, 21 (3), 245–253. DOI: 10.1016/j.jsps.2012.05.011.
- ¹²⁵ AL JAROUDI, Wael a Ami E. ISKANDRIAN. *Journal of the American College of Cardiology*. **2009**, 54 (13), 1123–1130. DOI: 10.1016/j.jacc.2009.04.089.
- ¹²⁶ GAO, Zhenhai, Zhihe LI, Stephen P. BAKER, Robert D. LASLEY, Stephanie MEYER, Elfatih ELZEIN, Venkata PALLE, Jeff A. ZABLOCKI, Brent BLACKBURN a Luiz BELARDINELLI. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. **2003**, 305 (1), 225–231.
- ¹²⁷ LEPIST, Eve-Irene, Vijaya L. DAMARAJU, Jing ZHANG, *et al.* *Drug Metabolism and Disposition*. **2013**, 41 (4), 916–922. DOI: 10.1124/dmd.112.049858.
- ¹²⁸ CORINO, Valentina D. A., Fredrik HOLMQVIST, Luca T. MAINARDI a Pyotr G. PLATONOV. *Europace*. **2014**, 16 (4), 587–594. DOI: 10.1093/europace/eut251.
- ¹²⁹ DHALLA, Arvinder K., Mei-Yee WONG, Wei-Qun WANG, Italo BIAGGIONI a Luiz BELARDINELLI. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. **2006**, 316 (2), 695–702.
- ¹³⁰ CERQUEIRA, Manuel D. *The American Journal of Cardiology*. **2004**, 94 (2), 33–40. DOI: 10.1016/j.amjcard.2004.04.017.
- ¹³¹ EL-TAYEB, Ali a Sabrina GOLLOS. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. **2013**, 21 (2), 436–447. DOI: 10.1016/j.bmc.2012.11.021.
- ¹³² MURRAY, John J., John M. WEILER, Lawrence B. SCHWARTZ, *et al.* *Circulation: Cardiovascular Imaging*. **2009**, 2 (6), 492–498. DOI: 10.1161/CIRCIMAGING.108.817932.

- ¹³³ RATH-WOLFSON, Lea, *et al.* *Clinical and Experimental Rheumatology*. **2006**, 24, 400–406.
- ¹³⁴ VARANI, Katia, Fabrizio VINCENZI, Alberto TOSI, *et al.* *British Journal of Pharmacology*. **2010**, 160 (1), 101–115. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.00667.x.
- ¹³⁵ SNIADY, Adam, Matthew W. BEDORE a Timothy F. JAMISON. *Angewandte Chemie International Edition*. **2011**, 50 (9), 2155–2158. DOI: 10.1002/anie.201006440.
- ¹³⁶ HOCEK, Michal a Miroslav FOJTA. *Chemical Society Reviews*. **2011**, 40 (12), 5802–5814. DOI: 10.1039/c1cs15049a.
- ¹³⁷ SHABAROVA, Zoe A. a Alexey A. BOGDANOV. *Advanced Organic Chemistry of Nucleic Acids*. New York: VCH, c1994. ISBN 3527290214.
- ¹³⁸ VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. Vyd. 2. preprac. Brno: Neptun, 2005. ISBN 80-86850-00-5.
- ¹³⁹ TANAKA, Yukinori, Hideaki NANAMIYA, Koichi YANO, Koji KAKUGAWA, Fujio KAWAMURA a Kozo OCHI. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **2013**, 57 (4), 1948–1951. DOI: 10.1128/AAC.02604-12.
- ¹⁴⁰ KODAMA, Eiichi N., Ronald P. MCCAFFREY, Keisuke YUSA, Hiroaki MITSUYA, *et al.* *Biochemical Pharmacology*. **2000**, 59 (3), 273–281. DOI: 10.1016/S0006-2952(99)00325-1.
- ¹⁴¹ CHO, Hyun-Jeong, Jae Youl CHO, Man Hee RHEE a Hwa-Jin PARK. *European Journal of Pharmacology*. **2007**, 558 (1–3), 43–51. DOI: 10.1016/j.ejphar.2006.11.073.
- ¹⁴² BOURDERIOUX, Aurelie, Petr NAUŠ, Pavla PERLÍKOVÁ, *et al.* *Journal of Medicinal Chemistry*. **2011**, 54 (15), 5498–5507. DOI: 10.1021/jm2005173.
- ¹⁴³ LONG, Mary C. a William B. PARKER. *Biochemical Pharmacology*. **2006**, 71 (12), 1671–1682. DOI: 10.1016/j.bcp.2006.03.006.
- ¹⁴⁴ FLORINI, James R., Harris H. BIRD a Paul H. BELL. *The Journal of Biological Chemistry*. **1966**, 241 (5), 1091–1098.
- ¹⁴⁵ MAGUIRE, Anita R., Wei-Dong MENG, Stanley M. ROBERTS a Andrew J. WILLETTS. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. **1993**, 15, 1795–1808. DOI: 10.1039/P19930001795.
- ¹⁴⁶ NISLER, Jaroslav, Marek ZATLOUKAL, Igor POPA, Karel DOLEŽAL, Miroslav STRNAD a Lukáš SPÍCHAL. *Phytochemistry*. **2010**, 71 (7), 823–830. DOI: 10.1016/j.phytochem.2010.01.018.
- ¹⁴⁷ KOLYACHKINA, Svetlana V., Vitali I. TARAROV, Cyril S. ALEXEEV, *et al.* *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. **2011**, 76 (11), 1361–1378. DOI: 10.1135/cccc2011114.
- ¹⁴⁸ VISTOLI, Giulio, Andrea BRIZZOLARI, Elena FAIONI, Cristina RAZZARI a Enzo SANTANIELLO. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. **2014**, 24 (24), 5652–5655. DOI: 10.1016/j.bmcl.2014.

- 149 HORGAN, Ronald a Eroll W. HEWETT, *et al.* *Tetrahedron Letters*. **1973**, 30, 2827–2828. HORGAN, Ronald, Eroll W. HEWETT a kol. *Phytochemistry*. **1975**, 14, 1005–1008.
- 150 SÁENZ, Luis, Lyn H. JONES, Carlos OROPEZA, D. VLÁČIL a Miroslav STRNAD. *Plant Growth Regulation*. **2003**, 39 (3), 205–215. DOI: 10.1023/A:1022851012878.
- 151 ARCISZEWSKI, Jan, Frank MASSINO a Brian F. C. CLARK. *International Journal of Biological Macromolecules*. **2007**, 40 (3), 182–192. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2006.06.024.
- 152 a) HOYEROVÁ, Klára, Alena GAUDINOVÁ, Jiří MALBECK, Petre I. DOBREV, Tomáš KOCÁBEK, Blanka ŠOLCOVA, Alena TRÁVNÍČKOVÁ a Miroslav KAMÍNEK. *Phytochemistry*. **2006**, 67 (11), 1151–1159. DOI: 10.1016/j.phytochem.2006.03.010; b) DOLEŽAL, Karel, Miroslav STRNAD. *Živa*. **2017**, 4, 149–152.
- 153 VOLLER, Jiří, Marek ZATLOUKAL, René LENOBEL, *et al.* *Phytochemistry*. **2010**, 71 (11–12), 1350–1359. DOI: 10.1016/j.phytochem.2010.04.018.
- 154 CHOU, An-Hsun, Ying-Ling CHEN, Ching-Chi CHIU, *et al.* *Neuropharmacology*. **2015**, 99, 308–317. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2015.08.009.
- 155 HUANG, Nai-Kuei, Jung-Hsin LIN, Jiun-Tsai LIN, *et al.* *PLoS ONE*. **2011**, 6 (6), e20934. DOI: 10.1371/journal.pone.0020934.
- 156 LEE, Yi-Chao, Ying-Chen YANG, Chuen-Lin HUANG, *et al.* *PLoS ONE*. **2012**, 7 (6), e38865. DOI: 10.1371/journal.pone.0038865.
- 157 HUANG, Nai-Kuei, Yijuang CHERN, Jim-Min FANG, Chia-I LIN, Wan-Ping CHEN a Yun-Lian LIN. *Journal of Natural Products*. **2007**, 7 (4), 571–574. DOI: 10.1021/np0605182.
- 158 KOBAYASHI, Hisayoshi, Naoko MORISAKI, Yoshitaka TAGO, Yuichi HASHIMOTO, Shigeo IWASAKI, Emiko KAWACHI, Ryuji NAGATA a Koichi SHUDO. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. **1997**, 45 (2), 260–264.
- 159 SHUDO Koichi. *Yakugaku Zasshi*. **1994**, 114, 577–588.
- 160 ALGHASHAM, Abdullah. *International Journal of Health Sciences*. **2013**, 7 (1), 77–79.
- 161 LIU, Ming-Tao, Sheng LIN, Ying-Hong WANG, Wen-Yi HE, Shuai LI, Su-Juan WANG, Jong-Chun YANG a Jian-Gong SHI. *Organic Letters*. **2007**, 9 (1), 129–132. DOI: 10.1021/ol062725z.
- 162 ZHAO, Jie, Huan-Xing DING, Qiu-Yan SONG a Kun GAO. *Chemistry and Biodiversity*. **2011**, 8 (11), 1943–1957. DOI: 10.1002/cbdv.201000267.
- 163 a) WANKA, Lukas, Khalid IQBAL a Peter R. SCHREINER. *Chemical Review*. **2013**, 113, 3516–3604. DOI: 10.1021/cr100264t; b) WISHNOK, John S. *Journal of Chemical Education*. **1973**, 50 (11), 780–781; c) Adamantane – Basic information. *ChemicalBook.com* [online]. ©2017 ChemicalBook [cit. 2021-09-

- 20]. Dostupné z: https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalProperties-CB2194745_EN.html.
- ¹⁶⁴ VÍCHA, Robert a Milan POTÁČEK. *Chemické Listy*. **2004**, 98, 68–74.
- ¹⁶⁵ GOVORKOVA, Elena A., Hong-Bin FANG, Ming TAN a Robert G. WEBSTER. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **2004**, 48 (12), 4855–4863. DOI: 10.1128/AAC.48.12.4855-4863.2004.
- ¹⁶⁶ SPASOV, Aleksandr A., T. V. KHAMIDOVA, L. I. BUGAEVA a I. S. MOROZOV. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. **2000**, 34 (1), 1–7. DOI: 10.1007/BF02524549.
- ¹⁶⁷ ROSENTHAL, Ken S., Michael S. SOKOL, Robert L. INGRAM, R. SUBRAMANIAN a Raymond C. FORT. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **1982**, 22 (6), 1031–1036. DOI: 10.1128/aac.22.6.1031.
- ¹⁶⁸ BLANPIED, Thomas A., Richard J. CLARKE a Jon W. JOHNSON. *The Journal of Neuroscience*. **2005**, 25 (13), 3312–3322. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4262-04.2005.
- ¹⁶⁹ JING, Xianghong, Chunlong MA, Yuki OHIGASHI, Fernando A. OLIVEIRA, Theodore S. JARDETZKY, Lawrence H. PINTO a Robert A. LAMB. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **2008**, 105 (31), 10967–10972. DOI: 10.1073/pnas.0804958105.
- ¹⁷⁰ SONNBERG, Lynn. *The Complete Pill Guide: Everything You Need to Know about Generic and Brand-Name Prescription Drugs*. Barnes & Noble Publishing, 2003. ISBN 0-7607-4208-1.
- ¹⁷¹ Amantadine. *Drugs.com* [online]. ©2000–2022 Drugs.com [cit. 2021-3-15]. Dostupné z: <https://www.drugs.com/amantadine.html>.
- ¹⁷² GREKHOVA, T. V., R. R. GAINETDINOV, T. D. SOTNIKOVA, L. M. KRASNYYKH, V. S. KUDRIN, S. A. SERGEEVA a I. S. MOROZOV. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. **1995**, 119 (3), 302–304. DOI: 10.1007/BF02433415.
- ¹⁷³ Memantine. *Drugs.com* [online]. ©2000–2022 Drugs.com [cit. 2021-3-15]. Dostupné z: <https://www.drugs.com/monograph/memantine.html>.
- ¹⁷⁴ GERZON, Ivoert a Don KAU. *J. Med. Chem.* **1967**, 10 (2) 189–199.
- ¹⁷⁵ ROSENSTOCK, J. a B. ZINMAN. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. **2007**, 14 (2), 98–107.
- ¹⁷⁶ BABJAKOVÁ, Eva, Petra BRANNÁ, Magdalena KUCZYŃSKA, Michal ROUCHAL, Zdenka PRUCKOVÁ, Lenka DASTYCHOVÁ, Jan VÍCHA a Robert VÍCHA. *RSC Advances*. **2016**, 6, 105146–105153. DOI: 10.1039/C6RA23524G.
- ¹⁷⁷ ROUCHAL, Michal, Alena MATELOVÁ, Fabiana PIRES DE CARVALHO, Robert BERNAT, Dragan GRBIĆ, Ivo KUŘITKA, Martin BABINSKÝ, Radek MAREK, Richard ČMELÍK a Robert VÍCHA. *Supramolecular Chemistry*. **2013**, 25 (6), 349–361. DOI: 10.1080/10610278.2013.783916.

- 178 ČERNOCHOVÁ, Jarmila, Petra BRANNÁ, Michal ROUCHAL, Petr KULHÁNEK, Ivo KUŘITKA a Robert VÍCHA. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 13633–13637. DOI: 10.1002/chem.201201444.
- 179 KOCH, Klaus, Erich FAULAND, Kurt STACH, Max THIEL, Wolfgang SCHAUMANN a Karl DIETMANN. *N6-alkyl-adenosine derivatives and process for their preparation*. DIETMANN, Karl. *Boehringer Mannheim GmbH*. C07H19/16; (IPC1-7): A61K27/00. Patent DE1670265A1. Vydáno: 28. 1. 1971.
- 180 KIKUGAWA, Kiyomi, Hideo SUEHIRO a Akiji AOKI. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. **1977**, *25*, 2624–2637.
- 181 EDWARDS, Christine, Gernot BOCHE, Thomas STEINBRECHER a Susanne SCHEER. *Journal of Chemical Society, Perkin Trans. 1.* **1997**, 1887–1894. DOI: 10.1039/A604559F.
- 182 RODENKO, Boris, Alida M. VAN DER BURG, Martin J. WANNER, Marcel KAISER, Reto BRUN, Matthew GOULD, Harry P. DE KONING a Gerrit-Jan KOOMEN. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **2007**, *51* (11), 3796–3802. DOI: 10.1128/AAC.00425-07.
- 183 GAO, Zhan-Guo, Joshua B. BLAUSTEIN, Ariel S. GROSS, Neli MELMAN a Kenneth A. JACOBSON. *Biochemical Pharmacology*. **2003**, *65* (10), 1675–1684. DOI: 10.1016/S0006-2952(03)00153-9.
- 184 KNIGHT, Anthony, Jennifer L. HEMMINGS, Ian WINFIELD, Michele LEUENBERGER, Eugenia FRATTINI, Bruno G. FRENGUELLI, Simon J. DOWELL, Martin LOCHNER a Graham LADDS. *Journal of Medicinal Chemistry*. **2016**, *59* (3), 947–964. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b01402.
- 185 VÍCHA, Robert, Michal ROUCHAL, Zuzana KOZUBKOVÁ, Ivo KUŘITKA, Radek MAREK, Petra BRANNÁ a Richard ČMELÍK. *Supramolecular Chemistry*. **2011**, *23* (10), 663–677. DOI: 10.1080/10610278.2011.593628.
- 186 GAVRILOVA, N. A., T. A. FROLENKO, E. S. SEMICHENKO a G. A. SUBOCH. *Russian Journal of Organic Chemistry*. **2010**, *46* (5), 777–778. DOI: 10.1134/S1070428010050349.
- 187 ROUCHAL, Michal, Jana RUDOLFOVÁ, Vladimír KRYŠTOF, Veronika VOJÁČKOVÁ, Richard ČMELÍK a Robert VÍCHA. *International Journal of Molecular Science*. **2021**, *22*, 12675. DOI: 10.3390/ijms222312675.
- 188 TADDEI, David, Petr KILIAN, Alexandra M. Z. SLAWIN a J. Derek WOOLLINS. *Organic Biomolecular Chemistry*. **2004**, *2*, 665–670. DOI: 10.1039/B312629C.
- 189 ZHANGA Chao a Kevan M. SHOKAT. *Tetrahedron*. **2007**, *63*, 5832–5838. DOI: 10.1016/j.tet.2007.02.089.
- 190 LEE, Seongmin, Chayasith UTTAMAPINANT a Gregory L. VERDINE. *Organic Letters*. **2007**, *9* (24), 5007–5009. DOI: 10.1021/ol702222z.
- 191 HOCEK, Michal, Antonín HOLÝ, Hana DVOŘÁKOVÁ. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. **2002**, *67*, 325–335. DOI: 10.1135/cccc20020325.

- ¹⁹² LUO, Lei, Gourong CHEN, Yuanchao LI. *Heterocycles*. **2008**, 75 (11), 2803–2808. DOI: 10.3987/COM-08-11435.
- ¹⁹³ HU, Yu Lin, Qiang GE, Ming LU, Hong Fei LU. *Bulletin of Chemical Society of Ethiopia*. **2010**, 24 (3), 425–432. DOI: 10.4314/bcse.v24i3.60791.
- ¹⁹⁴ VYMĚTALOVÁ, Ladislava, Libor HAVLÍČEK, Antonín ŠTURC, Zuzana SKRÁŠKOVÁ, Radek JORDA, Tomáš POSPÍŠIL, Miroslav STRNAD a Vladimír KRYŠTOF. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2016**, 110, 291–30. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.01.011.
- ¹⁹⁵ a) FRÉBORTOVÁ Jitka, Petr GALUSZKA, Tomáš WERNER, Thomas SCHMÜLLING a Ivo FRÉBORT. *Biologia Plantarum*. **2007**, 51 (4), 673–682; b) FRÉBORT, Ivo, Marek ŠEBELA, Petr GALUSZKA, Tomáš WERNER, Thomas SCHMÜLLING a Pavel PEČ. *Analytical Biochemistry*. **2002**, 306, 1–7. DOI:10.1006/abio.2002.5670.
- ¹⁹⁶ NISLER, Jaroslav, Zuzana PĚKNÁ, Radka KONČITÍKOVÁ, Pavel KLIMEŠ, Alena KADLECOVÁ, Nino MURVANIDZE, Stefaan P. O. WERBROUCK, Lenka PLAČKOVÁ, David KOPEČNÝ, David ZALABÁK, Lukáš SPÍCHAL, Miroslav STRNAD. *Journal of Experimental Botany*. 2022, erac201. DOI:10.1093/jxb/erac201.
- ¹⁹⁷ BOLLYN, Marcus. *Organic Process Research & Development*. **2005**, 9, 982–996. DOI: 10.1021/op0580116. HASSNER, Alfred, Irishi NAMBOOTHIRI. *Organic Syntheses Based on Name Reactions – A Practical Guide to 750 Transformations (3rd Edition) – VILSMEIER Formylation Reagent*. Elsevier, 2012. eISBN 978-0-0809-6631-1. [cit. 2021-10-15]. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt009ID8R1/organic-synthesesbased/vilsmeier-formylation>.
- ¹⁹⁸ a) SMITHKLINE, Beecham. *The process for the preparation of 2-amino-6-chloropurine or a 2-acylated derivative therefor*. HANSON, John Christopher. *Novartis International Pharmaceutical Ltd. Patent Cooperation Treaty (PCT) – WO 92/13859, Patent CO7D473/40*. Vydáno: 7. 9. 1992; b) BRESSI, Jerome C. Jungwoo CHOE, Melinda T. HOUGH, Frederick S. BUCKNER, Wesley C. Van VOORHIS, Christophe L. M. J. VERLINDE, Wim G. J. HOL a Michael H. GELB. *Journal of Medicinal Chemistry*. **2000**, 43, 4135–4150. DOI: 10.1021/jm000287a.
- ¹⁹⁹ ZHONG, Minghong, Ireneusz NOWAK a Morris J. ROBINS. *Organic Letters*. **2005**, 7 (21), 4601–4603. DOI: 10.1021/ol051573p.
- ²⁰⁰ MCNAMARA, Dennis J., P. Dan COOK, Lois B. ALLEN, Mary J. KEHOE, Carolyn S. HOLLAND a Annette G. TEEPE. *Journal of Medicinal Chemistry*. **1990**, 33, 2006–2011.
- ²⁰¹ BLACKBURN, G. Michael, *et al.* *Nucleic acids in chemistry and biology*. Cambridge: RSC Publishing, c2006, ISBN 978-0-85404-654-6.
- ²⁰² LEE, Seongmin, Chayasith UTTAMAPINANT a Gregory L. VERDINE. *Org. Lett.* **2007**, 9 (24), 5007–5009. DOI: 10.1021/ol702222z.

- 203 a) WANG, Zerong. *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*. John Wiley & Sons, Inc. 2010, ISBN 978-0-471-70450-8; b) TICHÝ, Michal, Sabina SMOLEN, Eva TLOUŠŤOVÁ, Radek POHL, Tomáš OŽDIAN, Klára HEJTMÁNKOVÁ, Barbora LIŠKOVÁ, Soňa GURSKÁ, Petr DŽUBÁK, Marián HAJDÚCH a Michal HOCEK. *Journal of Medicinal Chemistry*. **2017**, *60*, 2411–2424. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b01766.
- 204 GERGELA, David. *Příprava 6,9-disubstituovaných purinů s adamantanovým skeletem*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013, 82 s. Vedoucí práce Rouchal, Michal.
- 205 ROUCHAL, Michal. *Cílená modifikace biologicky aktivních látek*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2011. Vedoucí práce Klásek, Antonín.
- 206 DARAKSHAN, Mohi a Nisar A. KHAN. *International Journal of Bioassays*. **2013**, *02* (08), 1174–1179.
- 207 CAL, Krzysztof a Katarzyna CENTKOWSKA. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. **2008**, *68*, 467–478. DOI: 10.1016/j.ejpb.2007.08.002.
- 208 LEE, Jae-ung, Sung-Sik LEE, Sungyul LEE a Han BINOH. *Molecules*. **2020**, *25*(18), 4048. DOI:10.3390/molecules25184048.
- 209 PRABU, Samikannu, Nozlana A. SAMAD, Nur A. AHMAD, Khairulazha JUMBRI, Muggundha RAOOV, Nurul Y. RAHIM, Kanagesan SAMIKANNU, Sharifah MOHAMAD. *Carbohydrate Research*. **2020**, *497*, 108138. DOI: 10.1016/j.carres.2020.108138.
- 210 a) ZATLOUKAL, Filip, Eva ACHBERGEROVÁ, David GERGELA, Michal ROUCHAL, Lenka DASTYCHOVÁ, Zdeňka PRUCKOVÁ, Robert VÍCHA. *Dyes and Pigments*. **2021**, *192*, 109420. DOI: 10.1016/j.dyepig.2021.109420; b) TOMEČEK Josef, Andrea ČABLOVÁ, Aneta HROMÁDKOVÁ, Jan NOVOTNÝ, Radek MAREK, Ivo DURNÍK, Petr KULHÁNEK, Zdeňka PRUCKOVÁ, Michal ROUCHAL, Lenka DASTYCHOVÁ, Robert VÍCHA. *Journal of Organic Chemistry*. **2021**, *86*, 4483–4496. DOI: 10.1021/acs.joc.0c02917.
- 211 CARRAZANA, Jorge, Aida JOVER, Francisco MEIJIDE, Victor H. SOTO a José V. TATO. *Journal of Physical Chemistry. B*, **2005**, *109*, 9719–9726. DOI: 10.1021/jp0505781.
- 212 REKHARSKY, Mikhail V. a Yoshihisa INOUE. *Chemicals Review*. **1998**, *98*, 1875–1917.
- 213 SCHMÜLLING, Thomas, Tomás WERNER, Michael RIEFLER, Eva KRUPKOVÁ, Isabel BARTRINA y MANNNS. *Journal of Plant Research*. **2003**, *116*, 241–252. DOI: 10.1007/s10265-003-0096-4.
- 214 RONG, Chenyu, Yuexin LIU, Zhongyuan CHANG, Ziyu LIU, Yanfeng DING, Chengqiang DING. *Journal of Experimental Botany*. **2022**, erac088. DOI: 10.1093/jxb/erac088.

- ²¹⁵ ZATLOUKAL, Marek, Markéta GEMROTOVÁ, Karel DOLEŽAL, Libor HAVLÍČEK, Lukáš SPÍCHAL, Miroslav STRNAD. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. **2008**, *16* (20), 9268–9275. DOI: 10.1016/j.bmc.2008.09.008.
- ²¹⁶ VAN VOORTHUIZEN, Matthew J., Jaroslav NISLER, Jiancheng SONG, Lukáš SPÍCHAL a Paula E. JAMESON. *Plants*. **2021**, *10* (39). DOI: 10.3390/plants10010039.

SEZNAM OBRÁZKŮ

- Obrázek 1: Obecné znázornění stereoisomerie glykosidů.
- Obrázek 2: Vybrané glykosylové donory používané od 2. pol. 20. století.
- Obrázek 3: Struktura adenosinu (nukleosid) a adenosinmonofosfátu (nukleotid).
- Obrázek 4: Nejběžnější reakce prováděné na adenosinu.
- Obrázek 5: Možné tautomery purinu.
- Obrázek 6: Interkonverze adenosindifosfátu (ADP) na adenosintrifosfát (ATP) a zpět.
- Obrázek 7: Deoxyribonukleosidová antileukemika.
- Obrázek 8: Arabinosylová cytostatika.
- Obrázek 9: Chemoterapeutika v klinických testech.
- Obrázek 10: Purinové inhibitory nukleosidové reverzní transkriptasy.
- Obrázek 11: Nukleosidová antivirotika.
- Obrázek 12: Acyklické nukleosidy.
- Obrázek 13: Agonisté adenosinového receptoru.
- Obrázek 14: Vybraná přírodní nukleosidová antibiotika.
- Obrázek 15: Isoprenoidní (a) a „aromatické“ cytokininy (b).
- Obrázek 16: „Aromatické“ cytokininové ribosidy.
- Obrázek 17: Strukturní vzorec gazeru.
- Obrázek 18: Strukturní vzorec machilaminosidu B.
- Obrázek 19: Deriváty adamantanu uvedené na farmaceutickém trhu.
- Obrázek 20: Dosud připravené adamantylované purinové nukleosidy.
- Obrázek 21: Obecná struktura připravovaných nukleosidů.
- Obrázek 22: Obecné znázornění přípravy a možných modifikací nukleosidů.
- Obrázek 23: ^1H NMR spektra sloučenin **2** a **4**.
- Obrázek 24: ESI-MS spektrum prvního řádu 6-chlor-9H-purinu.
- Obrázek 25: ^1H NMR spektrum neočekávaného produktu **6**.
- Obrázek 26: ESI-MS spektrum prvního řádu neočekávaného produktu **7**.
- Obrázek 27: „Modelové“ nukleosidy nesoucí sekundární aromatický amin v poloze C6 purinového kruhu.
- Obrázek 28: ^1H NMR spektra modelových purinových derivátů **9** (nahore) a **12** (dole).
- Obrázek 29: ^1H NMR spektrum sloučeniny **13**.
- Obrázek 30: Porovnání ^1H NMR spekter sloučenin **10** a **15**.
- Obrázek 31: ORTEP diagram sloučeniny **17**.
- Obrázek 32: ^1H NMR spektrum modelové sloučeniny **17**.
- Obrázek 33: ^1H NMR spektrum neočekávaného koproduktu **19**.
- Obrázek 34: ^1H NMR spektrum chráněného adamantylovaného nukleosidu **20**.
- Obrázek 35: ^1H NMR spektrum chráněného adamantylovaného nukleosidu **23**.
- Obrázek 36: Porovnání ^1H NMR spekter výchozí sloučeniny **22** a produktu **28** po odchránění glykosylové části.
- Obrázek 37: Porovnání ^1H NMR spekter výchozí sloučeniny **26** a produktu **31**.
- Obrázek 38: ESI-MS spektrum prvního řádu sloučeniny **31**.

Obrázek 39: ESI-MS spektrum prvního řádu sloučeniny **34** (nahore); MS/MS spektrum izolovaného iontu o hodnotě m/z 417 (dole).

Obrázek 40: ESI-MS spektrum prvního řádu sloučeniny **36**.

Obrázek 41: ESI-MS spektrum prvního řádu sloučeniny **38**.

Obrázek 42: Očekávané produkty z reakce uvedené na Schématu 55.

Obrázek 43: Celkový vzhled a složení cyklodextrinů: a) samostatná glukosová podjednotka; b) celkový tvar; c) tvar a chemická struktura α -, β - a γ -CD.

Obrázek 44: ^1H NMR spektrum sloučeniny **32** (A) a komplexu **32** s β -CD (B), ve spektru B byla použita presaturace signálu HDO.

Obrázek 45: Výřez spektra ROESY komplexu **32** s β -CD. Měřeno v $\text{DMSO-}d_6\text{:D}_2\text{O}$ (2:1, v:v) při 303 K, 400 MHz s použitím presaturace signálu HDO.

Obrázek 46: ESI-MS spektra prvního řádu ekvimolární směsi sloučeniny **32** a β -CD získaná v pozitivním a negativním skenovacím módu.

Obrázek 47: Obecná struktura testovaných sloučenin.

Obrázek 48: Modifikované purinové nukleosidy s antiproliferační aktivitou.

Obrázek 49: Inhibitory enzymu CKX.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

Ac	acetyl
ADA	adenosindeaminasa
ADP	adenosindifosfát
AIDS	syndrom získaného selhání imunity
ALL	akutní lymfocytární leukemie
AL	akutní leukemie
AML	akutní myelodní leukemie
AR	adenosinový receptor
ATP	adenosintrifosfát
Bn	benzyl
BOP	1- <i>H</i> -benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)fosfoniumhexafluor fosfát
BSA	<i>N,O</i> -bis(trimethylsilyl)acetamid
BSTFA	<i>N,O</i> -bis(trimethylsilyl)trifluoracetamid
Bu	butyl
Bz	benzoyl
CD	cyklodextrin
CDK-2	cyklin-dependentní kinasa
CID	kolizi indukovaná disociace
CKX	cytokinin oxidasa/dehydrogenasa
CL	chronická leukemie
CLL	chronická lymfocytární leukemie
DBU	1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en
DCE	dichlorethan
DCM	dichlormethan
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamin
DMA	<i>N,N</i> -dimethylanilin
DMAM	<i>N,N</i> -dimethylamin
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DPP-4	dipeptidylpeptidasa 4
EA	elementární analýza
EC ₅₀	poloviční účinná koncentrace
ECACC	European Collection of Cell Cultures
ENT	rovnovážný nukleosidový transportér
ESI-MS	hmotnostní spektrometrie s elektrosprejovou ionizací
Et	ethyl
EU	Evropská unie
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
GD	glykosylový donor
GIC ₅₀	poloviční růstová inhibiční koncentrace

HAART	vysoce účinné antiretrovirální terapie
HCL	vlasatobuněčná leukemie
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti
HMDS	hexamethyldisilazan
HMPA	hexamethylfosforamidu
IC ₅₀	poloviční inhibiční koncentrace
<i>i</i> -Pr	isopropyl
IR	infračervená spektroskopie
K _a	asociační konstanta
K _i	vazebná afinita ligandu
LK	Lewisovy kyseliny
Me	methyl
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MPI SPEC	skenování srdečního průtoku zátěžovou jednofotonovou emisní tomografií
MW	mikrovlnné záření
NMR	nukleární magnetická rezonance
NRTIs	inhibitory nukleosidové reverzní transkriptasy
NS	neúčastníci se skupina
OS	odstupující skupina
Phth	ftalimid
PNP	nukleosidfosforylasa
<i>p</i> -Tol	<i>para</i> -toluoyl
R _f	retenční faktor
RNA	ribonukleová kyselina
RVO	rotační vakuová odparka
TBAF	tetrabutylamonium-fluorid
TCS	trimethylchlorsilan
TDA-1	tris-[2-(2-methoxyethoxy)ethyl]amin
TEA	triethylamin
THF	tetrahydrofuran
TLC	tenkovrstvá chromatografie
TMSCl	trimethylsilylchlorid
TMSOTf	trimethylsilyltrifluormethansulfonát
TNF- α	faktor nádorové nekrosy α
TP	thymidinfosforylasa
t _f	teplota tání
UP	uridinfosforylasa
USA	Spojené státy americké
UV	ultrafialové záření
VL	výchozí látka

Buněčné nádorové linie:

A2780 vaječnicků

Bel-7402	jater
BGC-823	žaludku
BJ	lidských fibroblastů z předkožky
CEM	T-lymfocytární leukemie
HCT-8	tlustého střeva
HeLa	děložního čípku
HL60	promyelocytární leukemie
K562	chronická myeloidní leukemie
MCF7	prsu
MV4;11	akutní myeloidní leukemie

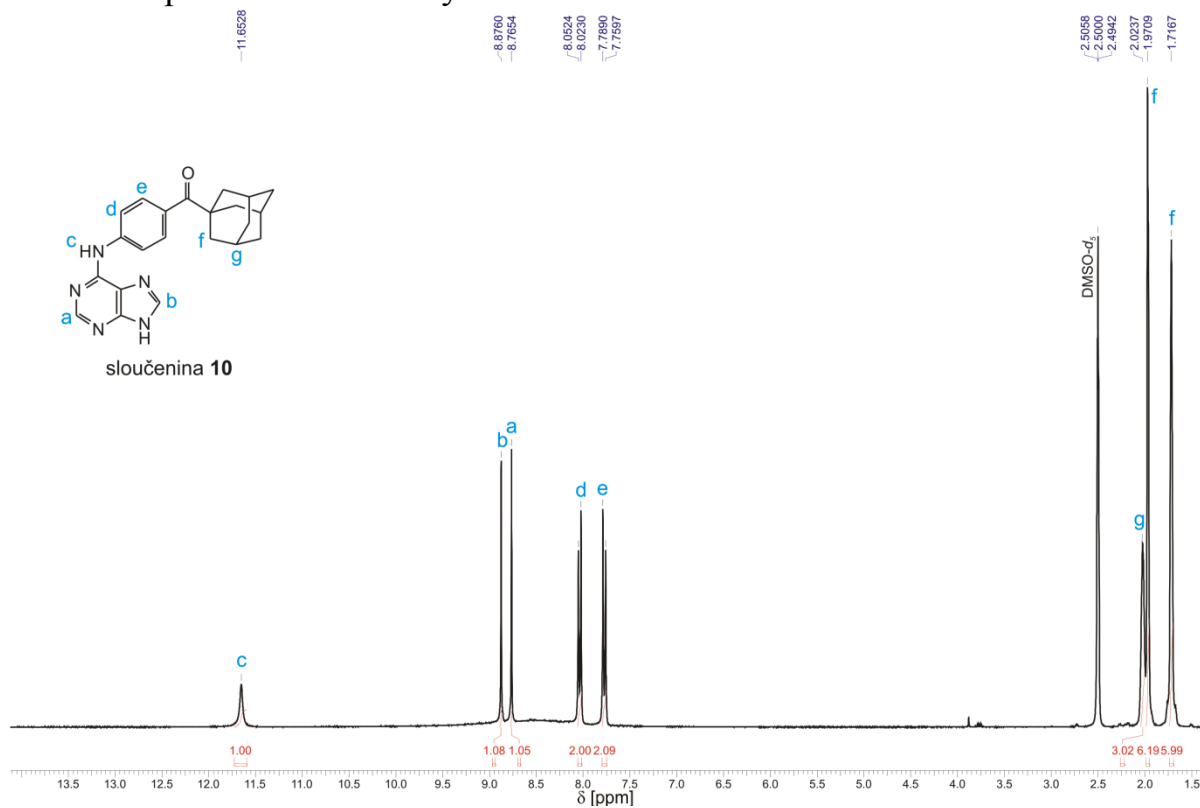
Cytokininy:

<i>iP</i>	<i>N</i> 6-isopentenyladenin
<i>tZ</i>	<i>trans</i> -zeatin
<i>cZ</i>	<i>cis</i> -zeatin
<i>mT</i>	<i>m</i> -topolin
<i>oT</i>	<i>o</i> -topolin
<i>pT</i>	<i>p</i> -topolin
BA	<i>N</i> 6-benzyladenin
K	kinetin
R	„cytokinin“-9-β-D-ribofuranosid

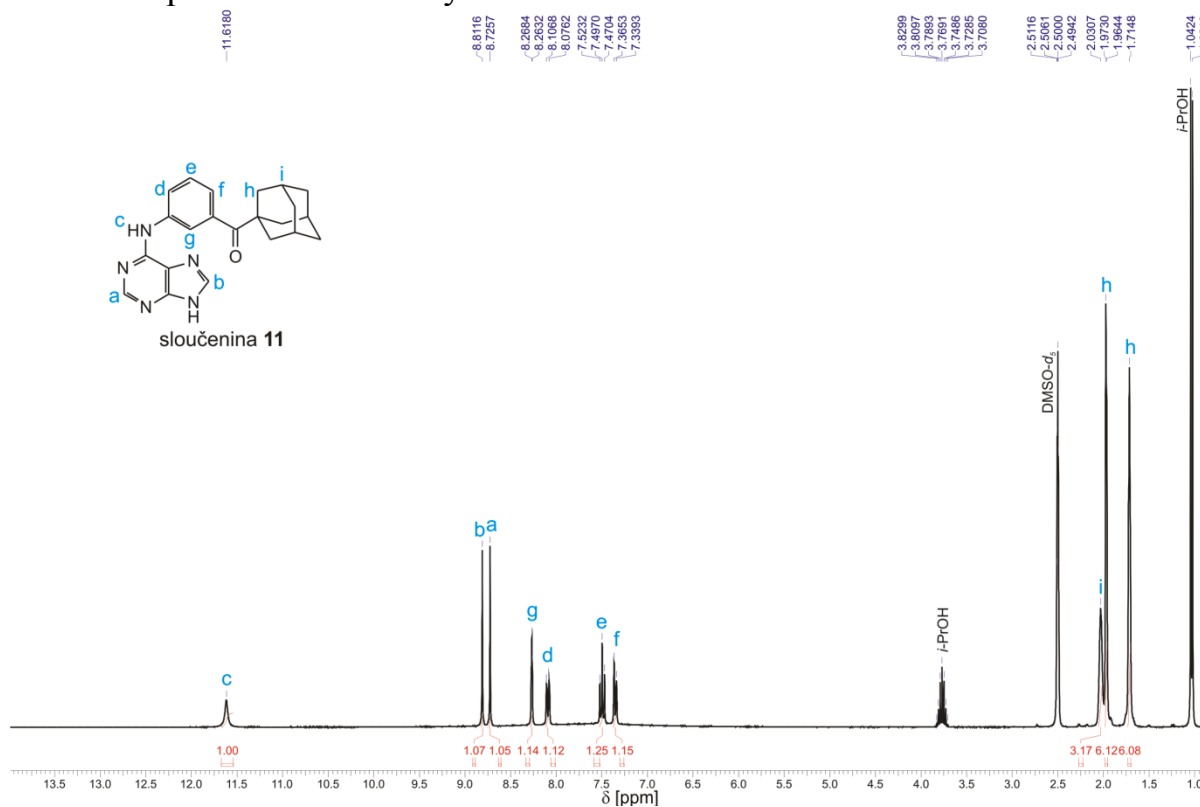
PŘÍLOHY

Příloha 1 – Protonová NMR spektra purinových derivátů **10**, **11** a **14**.

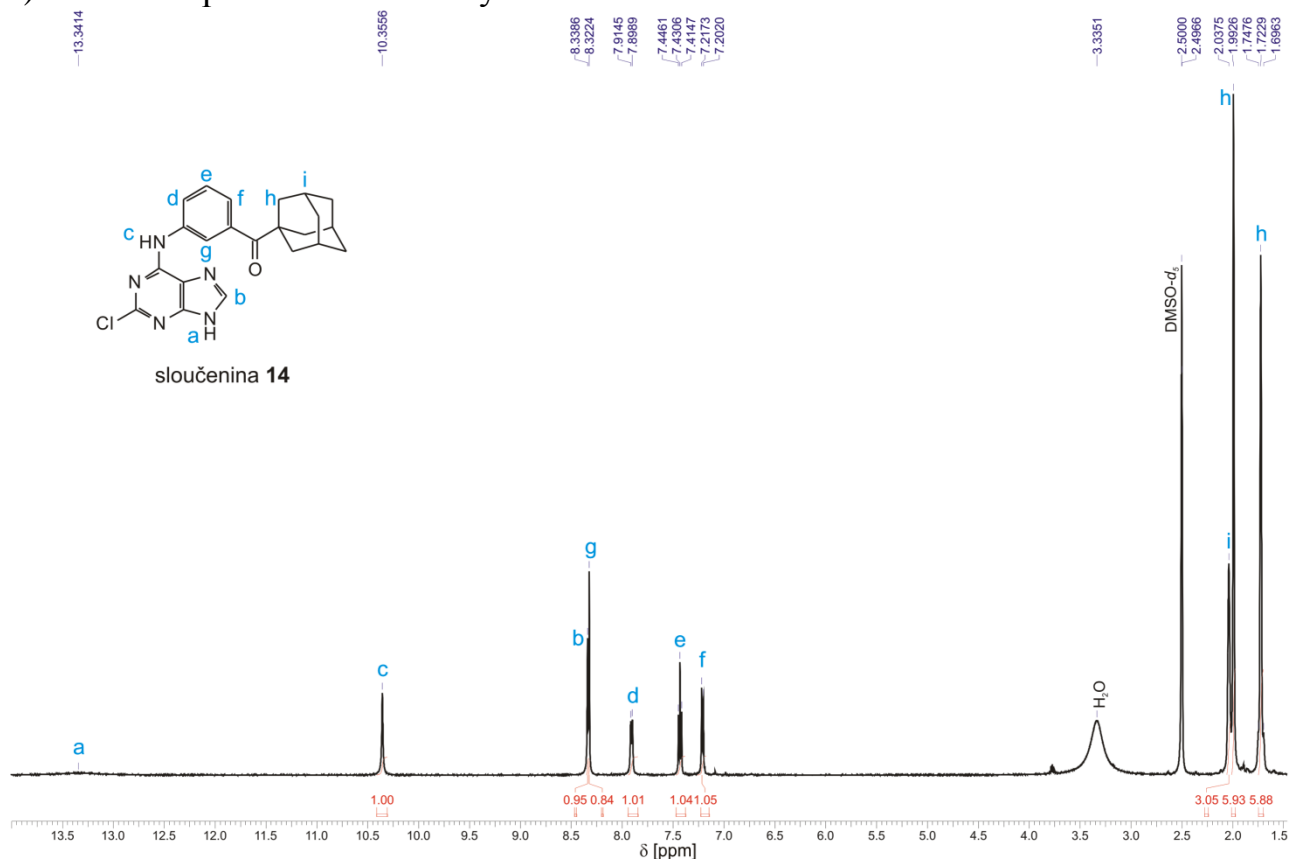
a) ^1H NMR spektrum sloučeniny **10**



b) ^1H NMR spektrum sloučeniny **11**



c) ^1H NMR spektrum sloučeniny **14**



CURRICULUM VITAE

Jméno a příjmení (rodné): Jana Rudolfová (Hermanová)
Datum a místo narození: 24. září 1986, Kroměříž
Bydliště: Zádveřice 516, 763 12 Zádveřice-Raková
Kontakt: email jana.rudolfova@centrum.cz

Zaměstnání:

2019–dosud Rodičovská dovolená
2017–2018 Laborantka, Oddělení kvality a jakosti, Jacobs Douwe Egberts, s.r.o., Valašské Meziříčí

Vzdělání:

2012–dosud UTB ve Zlíně, Fakulta technologická, doktorské studium, studijní obor: Technologie potravin, téma disertační práce: *Syntéza a studium biologických účinků purinových nukleosidů substituovaných 1-adamantylem.*
Únor–červen 2010 Abant İzzet Baysal Universitesi Gököy Kampüsü, Bolu (Turecko), Erasmus+ program.
2010–2012 UTB ve Zlíně, Fakulta technologická, navazující magisterské studium, studijní obor: Chemie potravin a bioaktivních látek. Ukončeno státní závěrečnou zkouškou.
2007–2010 UTB ve Zlíně, Fakulta technologická, bakalářské studium, studijní obor: Chemie a technologie potravin. Ukončeno státní závěrečnou zkouškou.
2006–2007 Jazyková škola *Hello*, Ostrava, pomaturitní studium anglického jazyka. Ukončeno osvědčením.
2002–2006 Gymnázium Ladislava Jaroše, Holešov. Ukončeno maturitní zkouškou.

Účelové publikace:

2016 HERMANOVÁ, Jana. *Syntéza a studium biologických účinků purinových nukleosidů substituovaných 1-adamantylem.* Pojednání ke státní doktorské zkoušce.
2012 HERMANOVÁ, Jana. *Příprava N9-glukosylovaných purinů.* Diplomová práce.
2010 HERMANOVÁ, Jana. *Stanovení kyselosti a vybraných chemických parametrů v obilovinách.* Bakalářská práce.

Účast na grantových projektech:

- 2016 Projekt Interní grantové agentury UTB ve Zlíně, **IGA/FT/2016/001** – *Multitopické ligandy pro pokročilé supramolekulární systémy*. (spoluřešitel)
- 2015 Projekt Interní grantové agentury UTB ve Zlíně, **IGA/FT/2015/005** – *Syntéza a charakterizace molekulárních komponent a studium vlastností souvisejících supramolekulárních systémů*. (spoluřešitel)
- 2014 Projekt Interní grantové agentury UTB ve Zlíně, **IGA/FT/2014/002** – *Multikomponentní supramolekulární systémy*. (hlavní řešitel projektu)
- 2013 Projekt Interní grantové agentury UTB ve Zlíně, **IGA/FT/2013/008** – *Syntéza a studium fyzikálně-chemických vlastností molekulárních komponent pro supramolekulární systémy na bázi adamantanu*. (spoluřešitel)

Publikační aktivity:

ROUCHAL, Michal, Jana RUDOLFOVÁ, Vladimír KRYŠTOF, Veronika VOJÁČKOVÁ, Richard ČMELÍK, Robert VÍCHA. *Adamantane-Substituted Purines and Their β -Cyclodextrin Complexes: Synthesis and Biological Activity*. *International Journal of Molecular Science*. **2021**, 22, 12675.

RUDOLFOVÁ, Jana, Vladimír KRYŠTOF, Robert VÍCHA a Michal ROUCHAL. *Adamantane-Substituted Purine Nucleosides: Synthesis, Host–Guest Complexes with β -Cyclodextrin and Biological Activity*. 2022, připravován.

Konferenční příspěvky:

HERMANOVÁ, Jana, Michal ROUCHAL, Robert VÍCHA: *Synthesis of Novel Purine Ribonucleosides Bearing Adamantane Moiety*. *15. Österreichische Chemietage*, Graz, Rakousko **2013**, PO-118.

HERMANOVÁ, Jana, Michal ROUCHAL, Robert VÍCHA: *Preparation of New Adamantylated Purine Ribonucleosides*. *16th Tetrahedron Symposium: Challenges in Bioorganic and Organic Chemistry*, Berlín, Německo **2015**, P2.103.

Absolvované kurzy a získané certifikáty:

- 2018 Kurz zdravotníka zotavovacích akcí (Kroměříž)
- 2017 Základní senzorické zkoušky (Valtice)
- 2016 Základní baristický seminář „Od keře až k espressu“ (Praha)

Členství v organizacích:

2018–2021 Junák – český skaut, z. s. (dobrovolník)

2012–2016 Česká společnost chemická (člen)

Jana Rudolfová

**Syntéza a studium biologických účinků purinových nukleosidů
substituovaných 1-adamantylem**

Synthesis and Study of Biological Activity of Purine Nucleosides Substituted
with 1-Adamantyl

Disertační práce

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně,
nám. T. G. Masaryka 5555, 760 01 Zlín

Náklad: 8

Sazba: Jana Rudolfová

Publikace neprošla jazykovou ani redakční úpravou.

2022