

Mikrovlnami asistovaná syntéza purinových sloučenin

Michal Luža

Bakalářská práce
2019



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Michal Luža**
Osobní číslo: **T16717**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Mikrovlnami asistovaná syntéza purinových sloučenin**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Provést literární rešerši a navrhnout vhodné syntetické strategie pro nukleofilní aromatickou substituci atomu chloru v poloze 2 a/nebo 6 pomocí mikrovlnami asistované syntézy.

II. Praktická část

1. Ověření proveditelnosti navržených postupů.
2. Provedení série reakcí s cílem připravit v literatuře doposud nepopsané deriváty purinu.
3. Připravené sloučeniny charakterizovat pomocí spektrálních metod.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] McMURRY, J. *Organická chemie*. Praha: VŠCHT, 2015. ISBN 3-527-31280-3.

[2] MANVAR, A., SHAH, A.: Microwave-assisted chemistry of purines and xanthes. An overview. *Tetrahedron*, 2013, 69, 8105-8127. ISSN: 0040-4020.

[3] ELGEMEIE, G., HAMED, M.: Microwave Synthesis of Guanine and Purine Analogs. *Current Microwave Chemistry*, 2014, 1, 155-176. ISSN: 2213-3364.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Michal Rouchal, Ph.D.**

Ústav chemie

Datum zadání bakalářské práce: **2. února 2019**

Termín odevzdání bakalářské práce: **15. května 2019**

Ve Zlíně dne 2. února 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Jiří Miček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno:

Obor:

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně

.....

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ABSTRAKT

Cílem bakalářské práce byla syntéza 2,6,9-trisubstituovaných purinů sestávající z alkylace do polohy N9 a následné nukleofilní aromatické substituce na C6 a C2. Jelikož je tato syntéza při použití konvenčního ohřevu relativně zdlouhavá (v řádu několika desítek hodin), bylo zájmem zkoumat možnost zkrácení této doby pomocí mikrovlnami asistované syntézy, díky níž by mohlo dojít ke značnému urychlení reakce (z hodin na minuty) za současného zvýšení výtěžků uvažovaných sloučenin.

Klíčová slova: 2,6,9-trisubstituované puriny, mikrovlnami asistovaná syntéza, nukleofilní aromatická substituce, spektrální metody

ABSTRACT

The aim of the thesis was to synthesize 2,6,9-trisubstituted purines consisting of alkylation to N9 position and subsequent nucleophilic aromatic substitutions at C6 and C2, respectively. Since this synthesis is relatively lengthy (by several dozens of hours) using conventional heating, base interest was to investigate the possibility of shortening this time using microwave assisted synthesis, which could greatly shorten the reaction time (from hours to minutes) while increasing yields of desired compounds.

Keywords: 2,6,9-trisubstituted purines, microwave assisted synthesis, nucleophilic aromatic substitution, spectral methods

Poděkování

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

Dále bych rád poděkoval Ing. Filipu Zatloukalovi a Petru Janovskému za rady a pomoc při práci v laboratoři, a také při vyhodnocování výsledků. Děkuji Ing. Hedě Surmové a Ing. Lence Trhlíkové za analyzování vzorků pomocí GC-MS. Nakonec bych rád poděkoval doc. Mgr. Robertu Víchovi, Ph.D. za analyzování vzorků na NMR.

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

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST.....	10
1 PURINY	11
1.1 STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA PURINU.....	12
1.2 PURINY V CHEMII LÉČIV	14
1.2.1 Inhibitory proteinových kináz	14
Inhibitory Cyklin-dependentních kináz	15
Inhibitory Janus kináz	16
Inhibitory Tyrosinkináz	16
2 MIKROVLNAMI ASISTOVANÁ SYNTÉZA.....	18
2.1 NUKLEOFILNÍ AROMATICKÁ SUBSTITUCE V POLOZE C2 A C6.....	18
II PRAKTICKÁ ČÁST	23
3 PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ	24
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	25
4.1 ALKYLACE 2,6-DICHLOR-9 <i>H</i> -PURINU.....	25
4.1.1 Nukleofilní aromatická substituce atomu chloru na C6 prováděná konvenčním způsobem.....	26
4.1.2 Mikrovlnami asistovaná nukleofilní aromatická substituce atomu chloru na C6	28
5 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	29
5.1 ALKYLACE 2,6-DICHLOR-9 <i>H</i> -PURINU.....	29
5.2 NUKLEOFILNÍ AROMATICKÁ SUBSTITUCE ATOMU CHLORU NA C6.....	32
5.2.1 Syntézy prováděné konvenčním způsobem	32
5.2.2 Mikrovlnami asistované syntézy	35
5.3 NUKLEOFILNÍ AROMATICKÁ SUBSTITUCE ATOMU CHLORU NA C2.....	37
ZÁVĚR	39
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	40
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	44
SEZNAM OBRÁZKŮ	45
SEZNAM TABULEK.....	46

ÚVOD

Purin představuje jeden z nejvýznamnějších a nejhojněji používaných strukturních motivů v medicíně. Jedná se o kondenzovaný heterocyklický systém vznikající spojením pyrimidinu a imidazolu. Široké množství purinových sloučenin, u nichž byla prokázána významná biologická aktivita, úzce souvisí s nepřeberným množstvím možností substituce tohoto heterocyklu, kdy zpravidla dochází k substitucím v polohách 2, 6, 8 a 9.

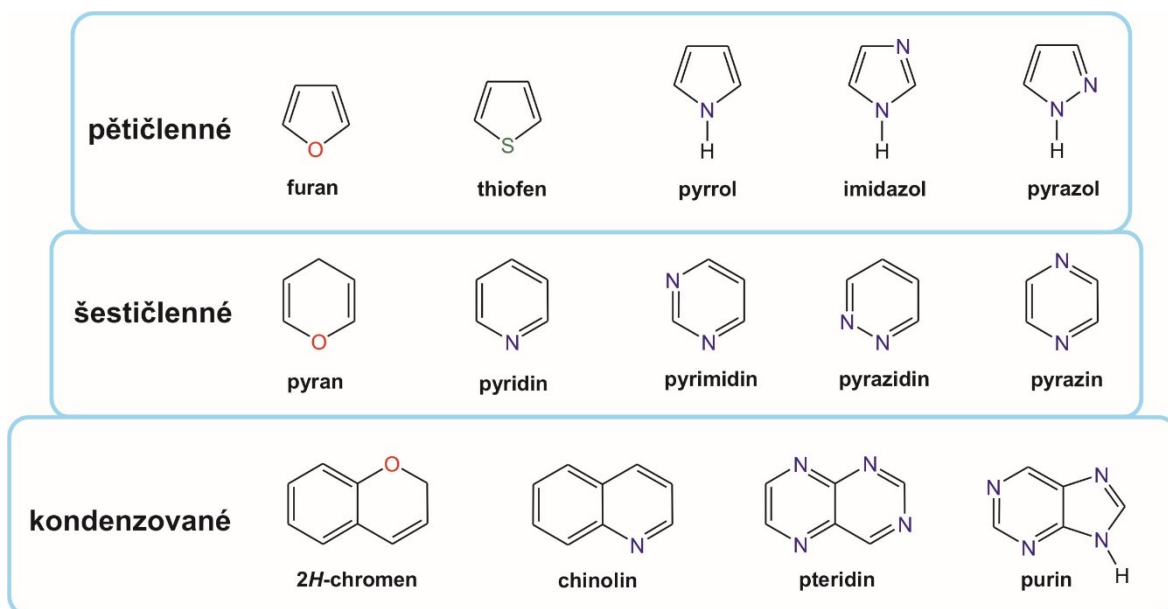
V teoretické části této bakalářské práce se první kapitola věnuje obecné charakteristice purinových sloučenin. Ve druhé kapitole, která se zabývá nukleofilní aromatickou substitucí, jsou popsány již provedené syntézy dle veřejně dostupných publikací, proces optimalizace a jejich výsledky jak pro substituci na C6, tak i C2, na kterém probíhá substituce atomu chloru značně neochotně.

V praktické části práce je podán výčet použitého přístrojového vybavení a následně jsou popsány postupy vedoucí k přípravě uvažovaných sloučenin, stejně jako výpis jejich spektrálních charakteristik. Hlavním bodem této části práce je kapitola, v níž jsou komentovány výsledky získané v průběhu řešení této problematiky. Jednotlivé diskuze jsou pro lepší přehlednost a snadnější orientaci pro čtenáře v samotném textu doplněny spektry získanými pomocí metod strukturní analýzy.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 PURINY

Puriny se řadí do skupiny heterocyklických sloučenin, které jsou podskupinou organických sloučenin odvozenou od cyklických uhlovodíků náhradou jednoho, nebo více uhlíkových atomů jiným, tzv. heteroatomem. Přítomnost heteroatomů zásadně ovlivňuje strukturu látek a jejich vlastnosti. Mezi nejběžněji se vyskytujícími heteroatomy patří dusík, kyslík, síra, nebo fosfor. Dle toho se takové heterocykly označují jako dusíkaté, kyslíkaté, sirsé atd. Nejčastěji se vyskytují pěti-, šesti- a vícečlenné heterocykly obsahující jeden nebo více heteroatomů v molekule. Na obrázku 1 jsou znázorněny strukturní vzorce vybraných heterocyklických sloučenin. [1, 2]



Obrázek 1: Strukturní vzorce vybraných heterocyklických sloučenin.

Obecně je pro vyjádření přítomnosti heteroatomu užíváno názvosloví podle Hantzche-Windmana tzv. „a“-předpon (Tabulka 1), nebo násobících „a“-předpon – jestliže je ve sloučenině více než jeden heteroatom. Toto systematické názvosloví se používá jen pro monocyklické sloučeniny, jejichž cyklus je tvořen méně než deseti atomy a jež obsahují jeden či více heteroatomů. Pro více než desetičlenné cykly je doporučováno užití substitučního názvosloví. Vedle již zmíněných typů názvosloví je hojně užíváno rovněž triviálního názvosloví, které značně zjednodušuje orientaci mezi dobře známými heterocyklickými sloučeninami. Číslování cyklů se provádí tak, aby měl heteroatom číslo 1

a pokud se v cyklu nachází více než jeden heteroatom, je třeba se řídit jejich vzájemnou nadřazeností v pořadí: $O > S > N > P$. [1,2,3]

Tabulka 1: „a“-předpony indikující přítomnost heteroatomů v heterocyklické sloučenině seřazené v sestupném pořadí nadřazenosti.

Heteroatom	Předpona	Heteroatom	Předpona
O	oxa	P	phospha
S	thia	As	arsa
Se	selena	Sb	stíba
Te	tellura	Bi	bisma
N	aza	Si	sil

Puriny patří mezi dusíkaté heterocykly nejvíce zastoupené v přírodě. Typickými příklady budiž adenin a guanin, dusíkaté báze nacházející se v RNA a DNA. Významné postavení si v chemickém, biologickém či medicíně výzkumu vydobily zejména purinové nukleosidy. Purinové deriváty představují skupinu látek, u nichž byla popsána široká škála biologických účinků. Jako příklad lze uvést induktory interferonů, tedy proteinů nespecifické imunity působících v obraně proti virům, inhibitory fosfodiesterázy, tedy enzymu rozkládajícímu cyklické nukleotidy, což nepřímo ovlivňuje řadu buněčných dějů, inhibitory sulfotransferázy, inhibitory přenosu nukleosidů. Ve své podstatě jsou puriny považovány za klíčovou heterocyklickou sloučeninu v životních procesech organismů. [4, 5]

1.1 Stručná charakteristika purinu

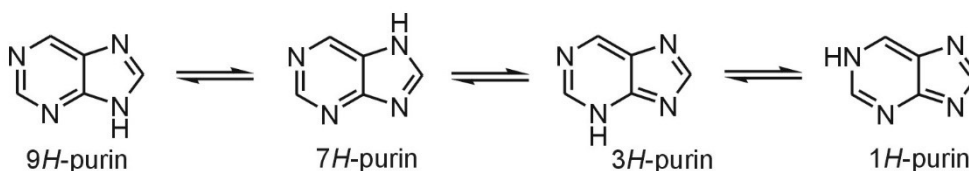
Triviálním názvem „purin“ byla uznána Mezinárodní unií pro čistou a užitou chemii (IUPAC, z angl. International Union of Pure and Applied Chemistry) sloučenina se systematickým názvem imidazo[4,5-*d*]pyrimidin.

Základem purinů je tedy sloučenina tvořící bicyklický systém, vzniklý vzájemnou kondenzací imidazolu a pyrimidinu (Obrázek 2). Důležitá je i specifikace polohy atomu vodíku v molekule purinové sloučeniny, např. již zmíněný 9*H*-purin. Tato kurzívou značená část názvu udává tedy umístění atomu vodíku na jednom ze čtyř dusíkových heteroatomů a je úzce spojena s tautomerní formou dané látky. [6, 7]



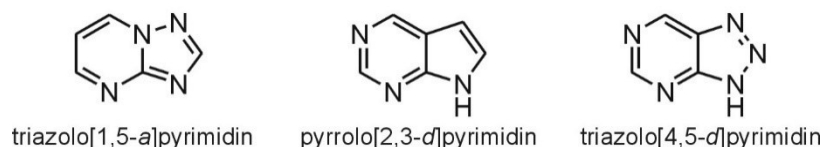
Obrázek 2: Struktura purinového skeletu.

Obecně se purin tedy vyskytuje ve čtyřech tautomerních formách (Obrázek 3), kdy nejběžnější a nejstabilnější z nich je právě *9H*-purin, jež tvoří ve vodných roztocích směs se *7H*-purin formou v téměř ekvimolárním množství. Dle dostupných informací se formu *1H*-purin a *3H*-purin doposud nepodařilo objevit. [6]



Obrázek 3: Možné tautomerní formy purinu.

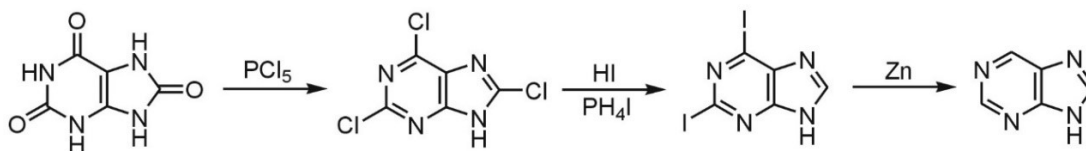
Purin se může vyskytovat také ve formě svých bioisosterů (Obrázek 4), které jsou strukturně podobné a vznikají záměnou funkčních skupin, nebo změnou uspořádání atomů v molekule. Lze se tak setkat se sloučeninami obsahujícími stejný počet atomů dusíku v molekule, jen s jiným uspořádáním, než je tomu u purinu (např. triazolo[1,5-*a*]pyrimidin nebo pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin), dále se sloučeninami obsahujícími méně než čtyři atomy dusíku v molekule (např. pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin, pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin nebo imidazo[4,5-*d*]pyrimidin) a v neposlední řadě s látkami nesoucími více než čtyři atomy dusíku v molekule (např. triazolo[4,5-*d*]pyrimidin). Tyto změny mají vliv jak na fyzikální, tak chemické vlastnosti látek (např. rozpustnost, hydrofobicita, elektrostatický potenciál) a umožňují dosažení lepší metabolické stability, optimalizace biologických vlastností, snížení nežádoucích účinků nebo zlepšení farmakologické aktivity příslušného bioisosteru, ve srovnání s derivátem obsahujícím purinový skelet. [8]



Obrázek 4: Vybrané bioisostery purinu.

První úspěšná syntéza purinu byla popsána v roce 1898 německým chemikem Emilem Fisherem, který izoloval kyselinu močovou z ledvinového kamene a tuto následně podrobil

reakci s chloridem fosforečným, za vzniku 2,6,8-trichlorpurinu. Ten byl následně převeden pomocí HI a PH_4I na 2,6-dijodpurin a zinkovým prachem redukován na nesubstituovaný 9H-purin (Obrázek 5). [5, 9]



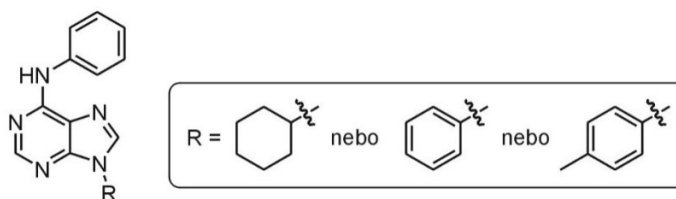
Obrázek 5: Schéma přípravy 9H-purinu německým chemikem Emilem Fisherem.

1.2 Puriny v chemii léčiv

Zájem vědeckých skupin zabývajících se syntézou a studiem biologické aktivity purinových derivátů není založen „jen“ na jejich biologickém významu (např. výše zmiňovaná přítomnost v RNA a DNA). Vychází také z širokých možností substituce tohoto heterocyklu v polohách 2, 6, 8 a 9, čímž lze připravovat nepřebernou škálu mono-, di-, tri- či tetrasubstituovaných purinových sloučenin. Ze všech doposud testovaných purinových látek byla největší účinnost pozorována právě u 2,6,9-trisubstituovaných purinů. [10]

1.2.1 Inhibitory proteinových kináz

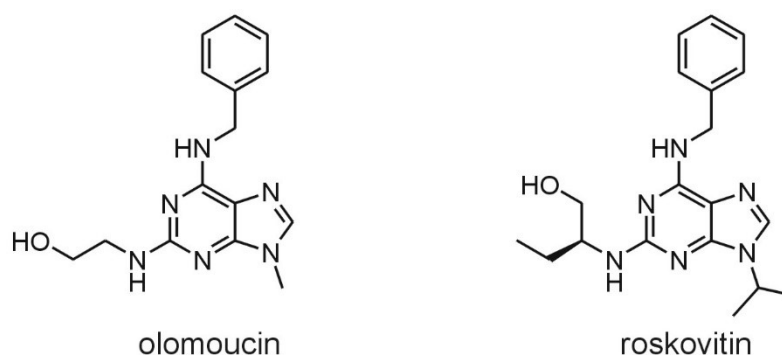
Silné a selektivní inhibitory proteinových kináz jsou cennými nástroji pro výzkum buněčných funkcí kináz. Vzhledem k nepřebernému množství těchto kináz a vysoce homologickým aktivním místům je těžké najít selektivní nízkomolekulární inhibitory pro jednu specifickou kinázu. Pro zajištění selektivity inhibitorů se jako vhodné jeví skloubení znalostí chemie a genetiky, což ve své práci demonstrovali Chao Zhang a Kevan M. Shokat z Howard Hughes Medical Institute. [11] Autoři přistoupili k modifikaci aktivního místa vybrané kinázy (Src tyrosinkinázy), čímž ji odlišili od všech ostatních přirozeně se vyskytujících kináz. Následně přistoupili k syntéze série 2,6-disubstituovaných purinů (Obrázek 6), jakožto nových selektivních nízkomolekulárních inhibitorů, které se neváží na přirozeně se vyskytující kinázy, ale představují silné inhibitory kinázy modifikované.



Obrázek 6: Strukturální vzorce selektivních inhibitorů Src tyrosinkinázy. [11]

Inhibitory Cyklin-dependentních kináz

Cyklin-dependentní kinázy (CDK) jsou serin/threonin kinázy hrající klíčovou roli v regulaci buněčného dělení. Jelikož bylo zjištěno, že v řadě typů nádorů nepracují tyto proteinkinázy správně (např. z důvodu abnormálně vysoké exprese cyklinů), staly se CDK zajímavým cílem pro medicínální chemiky zabývající se vývojem nízkomolekulárních inhibitorů proteinkináz s cílem zastavit nekontrolovatelnou buněčnou proliferaci. Na počátku zkoumání inhibitorů regulujících aktivitu CDK byl objeven purinový derivát nazvaný olomoucín (Obrázek 7) inhibující CDK1 a CDK2 s hodnotami IC_{50} nižšími než $10 \mu\text{M}$ (Tabulka 2). [12]



Obrázek 7: Strukturální vzorec Olomoucínu a Roskovitinu.

Strukturálními modifikacemi olomoucínu byla připravena široká škála sloučenin inhibujících CDK, z nichž na tomto místě se jako vhodné jeví zmínit roskovitin (Obrázek 7) inhibující CDK1, CDK2 či CDK5, který se nyní nachází v klinickém testování s cílem zavést jej do klinické praxe. V posledních letech počet sloučenin obsahujících purinový skelet, strukturálně odvozených od olomoucínu či roskovitinu, neustále narůstá, což přináší určitou naději, že bude objeven vysoce účinný inhibitor vykazující požadovanou selektivitu. Díky souvislosti genetických změn CDK a jejich regulátorů se vznikem nádorových buněk bylo, je a snad i nadále bude v zájmu medicínálních chemiků vyvíjet další a další generace chemoterapeutik, jež blokují progresi buněčného cyklu a vykazují silné protinádorové účinky nejen na buněčných liniích (*in vitro*), ale také *in vivo*. [12, 13]

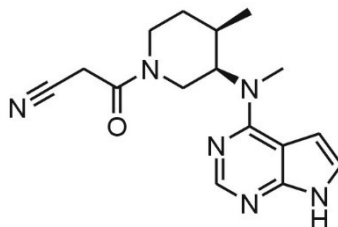
Tabulka 2: Hodnoty IC_{50} olomoucínu a roskovitinu vůči CDK. [12, 13]

Heterodimerní komplex	Olomoucín IC_{50} [μM]	Roskovitin IC_{50} [μM]
CDK1/cyklin B	7,0	0,65
CDK2/cyklinA	7,0	0,7
CDK2/cyklinE	10,0	0,1
CDK5/p25	–	0,20

Inhibitory Janus kináz

Skupina Janus kináz (JAK) - nереceptorových protein-tyrosin kináz je složena z JAK1, JAK2, JAK3 a TYK2 (tyrosin kináza-2). Každý z těchto proteinů obsahuje JAK homologní pseudokinázovou doménu (JH2) regulující sousední protein kinázovou doménu (JH1). JAK1/2 a TYK2 jsou všudypřítomně exprimovány, zatímco JAK3 lze najít převážně v hematopoetických buňkách. Skupina Janus kináz je regulována mnoha cytokiny včetně interleukinů, interferonů a hormonů, jako je například erythropoetin, trombopoetin a růstový hormon. Janus kinázy se podílejí na regulaci exprese tisíců proteinů. Špatná regulace vede k autoimunním poruchám, jako je revmatoidní artritida, ulcerózní kolitida a Crohnova choroba. [14, 15]

V roce 2012 byl schválen Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA, z angl. Food and Drug Administration) tofacitinib (Obrázek 8), jenž je perorálně podávaným lékem pro léčbu revmatoidní artritidy. Vyjma jeho nežádoucích účinků, kdy způsoboval pacientům zvýšení hladiny LDL a HDL cholesterolu a mírnou redukci krevních neutrofilů, byly jeho účinky definovány jako 70% snížení počtu citlivých a oteklých kloubů, snížení rychlosti sedimentace erytrocytů a bolesti. [14]



Obrázek 8: Strukturální vzorec Tofacitinibu.

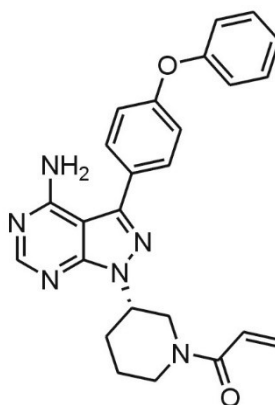
Dalším účinným inhibítorem JAK1 a JAK je také Momelotinib, což je derivát na bázi pyrimidinu, který prokázal účinnost u pacientů s primární a sekundární myelofibrózou (nádorové onemocnění kostní dřeně). Jeho účinnost projednává studie z roku 2017, [16] v níž byly zkoumány účinky zmíněné látky na osobách trpících primární polycytémií (nadměrný počet erytrocytů v krvi) a/nebo esenciální trombocytémií (nadměrná produkce krevních destiček). [17]

Inhibitory Tyrosinkináz

Fosforylace tyrosinu reguluje buněčné procesy, jako je buněčná proliferace, embryonální vývoj, transkripční aktivace, metabolismus, buněčná migrace, nebo funkce imunitního

systemu. Jako tyrosinkinázy jsou označovány proteiny vykonávající tuto fosforylaci, kdy katalyzují přenos γ fosfátu ATP na zbytky tyrosinu v proteinovém substrátu. Vzhledem k tomu, že tyrosinkinázy hrají důležitou roli v přenosu signálu, které zprostředkovávají četné buněčné procesy, jejich aktivita je obvykle přísně regulována. V minulosti se také ukázalo, že deregulovaná aktivita kináz hraje významnou roli v několika typech nádorových onemocnění (rakovina prsu, jater, plic), což z nich činí atraktivní cíl pro vývoj léčiv. Vývoj těchto ATP-kompetitivních inhibitorů zacílených na onkogenní tyrosinkinázy přinesl významný pokrok v léčbě již zmíněných onemocnění. [18, 19]

Jako příklad inhibitoru tyrosinkinázy lze uvést Ibrutinib (Obrázek 9), jehož základní strukturou je bioisoster purinu, jenž se používá k léčbě chronické lymfocytární leukémie (CLL). Jde o prvotní léčbu pacientů s CLL, kterým byla choroba nově diagnostikována. Bylo popsáno, že Ibrutinib dokáže snížit chemotaxi buněk CLL směrem k chemokinům CXCL12 a CXCL13 a inhibuje buněčnou adhezi po stimulaci na receptoru B-lymfocytů. [18, 20]



Obrázek 9: Strukturální vzorec Ibrutinibu.

2 MIKROVLNAMI ASISTOVANÁ SYNTÉZA

Mikrovlnné záření je široce používáno jako zdroj ohřevu v organické syntéze. Mikrovlnami asistovaná organická syntéza je známá od roku 1986 a její objev vedl ke znatelnému zlepšení organických syntéz díky mnoha výhodám:

1. rychlost reakcí – průběh syntéz v krátkém časovém intervalu,
2. reprodukovatelnost – zvýšení čistoty produktu, vynikající přenos energie,
3. produktivita a náklady – vyšší výtěžky produktů a snížení spotřeby rozpouštědel,
4. bezpečnost – možnost monitorování podmínek během reakce (teplota, tlak),
5. teplotní aspekt – možnost dosažení vysoké a homogenní teploty,
6. snížení negativního dopadu na životní prostředí.

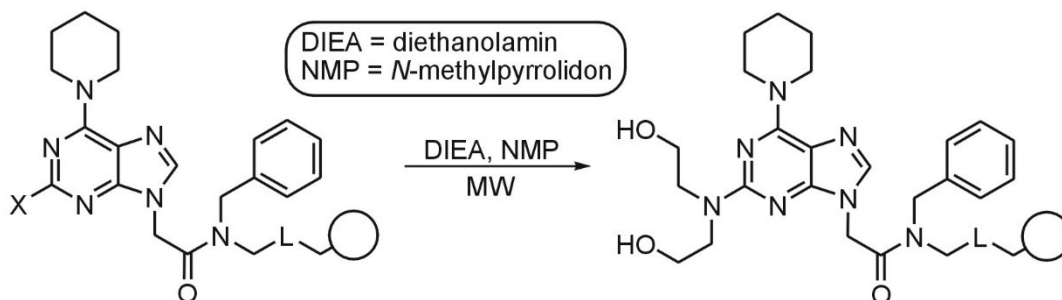
Mikrovlnné záření je formou elektromagnetické energie nízké frekvence nacházející se na konci elektromagnetického spektra. Mikrovlnný záhřev je značně efektivním procesem, díky přímé interakci s molekulami přítomnými v reakční směsi. To vede k prudkému nárůstu teploty a tím k urychlení reakce. [21, 22]

2.1 Nukleofilní aromatická substituce v poloze C2 a C6

Ve snaze objevit vysoce výkonnou metodu syntézy substituovaných purinů bylo zjištěno, že mikrovlnné záření značně zrychluje nukleofilní vytěsnění halogenů aminem z polohy C2 purinového skeletu. Nejobvyklejším problémem, který spojuje většinu publikací zabývajících se nukleofilní substitucí na C2, je dlouhá reakční doba. Bylo pozorováno, že použití mikrovlnného záření k zahřátí reakce jako alternativního způsobu záhřevu reakční směsi dramaticky snižuje reakční dobu a také ovlivňuje poměry a výtěžky produktu. Tento způsob byl aplikován na molekuly vázané na pryskyřici s pozitivními výsledky v porovnání s konvenčními zdroji tepla. [23]

Richardem E. Austinem, Christianem Waldruffem a Fahad Al-Obeidim bylo zjištěno, že povaha substituentu v poloze C6 ovlivňuje labilitu halogenu vázaného v poloze C2. Byly-li v poloze C6 navázány substituenty bohaté na elektrony (např. piperidiny) stával se purinový skelet méně náchylným k nukleofilnímu ataku, zatímco elektronově chudé substituenty tento trend obracely. [23]

Další části práce ukázaly, že jod jako substituent navázaný na C2 výchozí látky poskytoval vyšší hladinu konverze, než fluor a chlor (I>F>Cl). Na Obrázku 9 je uvedeno obecné schéma studované reakce, v Tabulce 3 pak další informace týkající se typu halogenu navázaného v poloze 2 výchozího purinu, výkon mikrovlnného reaktoru, reakční doba a výtěžek izolovaného produktu. [21, 23]

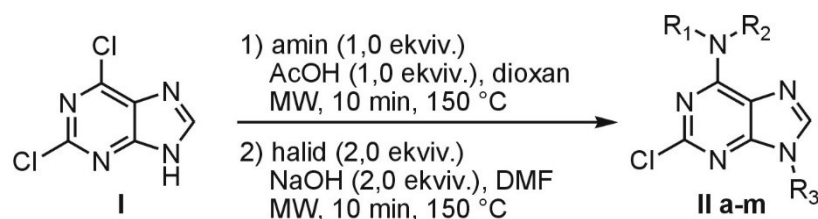


Obrázek 10: Příklad mikrovlnami asistované substituce halogenu na C2.

Tabulka 3: Vliv halogenových substituentů a podmínek reakce na výtěžek produktu. [23]

C-2 Halogen	Výkon MW (W)	Čas (min)	Výtěžek [%]
Cl	720	30	4
F	720	30	16
I	720	30	22
F	960	60	62
I	960	60	92

Vědci He Huang, Hong Liu, Kaixian Chen, a Hualiang Jiang byla popsána série mikrovlnami asistovaných syntéz za použití 2,6-dichlor-9*H*-purinu jakožto výchozí látky. Ta byla nejprve podrobena dvoustupňové mikrovlnami asistované syntéze zahrnující v prvním kroku substituci atomu chloru v poloze 6 různými aminy s následnou *N*-alkylací nebo *N*-arylací do polohy N9 pomocí různých organických halogenidů (Obrázek 10). [24]



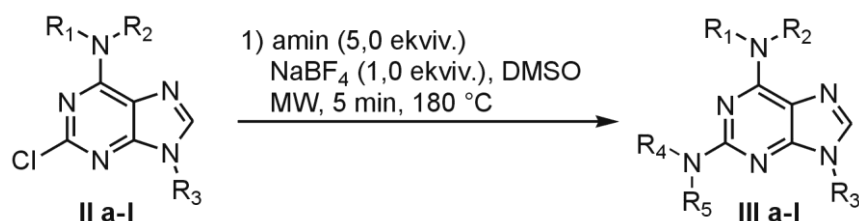
Obrázek 11: Obecné schéma mikrovlnami asistované S_NAr a *N*-alkylace/arylace. [24]

Tabulka 4: Vybrané aminy, příslušný halogen a výtěžek jejich reakce. [24]

Reakce	Amin	Organický halogen	Produkt	Výtěžek [%]
1	C ₆ H ₅ NH ₂	benzylbromid	IIa	80
2	4-MeC ₆ H ₄ NH ₂	benzylbromid	IIb	94
3	4-BrC ₆ H ₄ NH ₂	benzylbromid	IIc	88
4	3-F ₃ CC ₆ H ₄ NH ₂	benzylbromid	II d	47
5 ^a	4-NO ₂ C ₆ H ₄ NH ₂	benzylbromid	IIe	21
6	2-MeOC ₆ H ₄ NH ₂	benzylbromid	II f	92
7	3-MeOC ₆ H ₄ NH ₂	benzylbromid	II g	83
8	4-MeOC ₆ H ₄ NH ₂	benzylbromid	II h	94
9	4-MeOC ₆ H ₄ NH ₂	ethylbromid	II i	83
10	2-aminopropan	benzylbromid	II j	72
11	diethylamin	benzylbromid	II k	80
12	morpholin	benzylbromid	III	83
13	morpholin	ethylbromid	II m	81

^a Podmínky reakce: 180 °C, 20 min každý krok

Než bylo přistoupeno k realizaci nukleofilní aromatické substituce atomu chloru na C2, byla provedena série optimalizačních reakcí, kdy se nejideálnějším rozpouštědlem jevílo DMSO za současného přidání ekvimolárního množství NaBF₄ jako katalyzátoru, jenž dle zjištění autorů usnadňoval substituci atomu chloru na C2 a poskytoval produkty ve velmi vysokých výtěžcích. Po provedení optimalizace přistoupili autoři k syntéze nové série 2,6,9-trisubstituovaných purinů (Obrázek 12). [24]



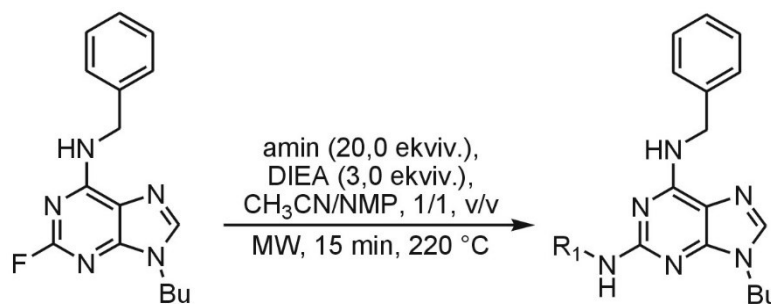
Obrázek 12: Mikrovlnami asistovaná S_NAr na C2 katalyzovaná NaBF₄. [24]

Jak je patrné z Tabulky 6, byly všechny připravené sloučeniny získány ve velmi vysokých výtěžcích 83–100 %. Jedinou výjimkou byla reakce, v níž byl jako aromatický amin použit 4-methylanilin, kdy výtěžek této reakce představoval pouze 18 %.

Tabulka 5: Výchozí látka a příslušný amin spolu s výtěžkem syntéz. [24]

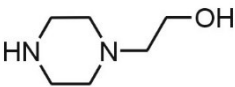
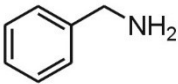
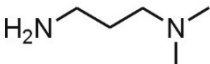

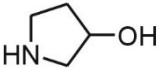
Reakce	Výchozí látka	Amin	Výtěžek [%]
1	IIa	morfolin	98
2	IIb	morfolin	97
3	IIc	morfolin	98
4	IId	morfolin	92
5	IIe	morfolin	100
6	IIf	morfolin	100
7	IIg	isopropylamin	87
8	IIh	diethylamin	86
9	IIi	piperazin	99
10	IIj	benzylamin	91
11	IIk	4-methoxybenzylamin	83
12	III	4-methylanilin	18

Amy G. Takvorian a Andrew P. Combs zkoumali ve své publikaci reakci 2-fluor-6-benzylamino-9-butylpurinu s několika aminy za podmínek uvedených na Obrázku 13. Po provedené optimalizaci se jako nejvhodnější rozpouštědlo jevila směs acetonitrilu a methylpyrrolidonu v poměru 1:1 (v:v), kdy nevznikal nechtěný vedlejší produkt s hydroxylovou skupinou na atomu uhlíku C2 purinového skeletu. Současně bylo aplikací obou rozpouštědel v poměru 1:1 dosaženo vyšších výtěžků než při použití těchto rozpouštědel samostatně. [25]

**Obrázek 13:** Mikrovlnami asistovaná substituce atomu fluoru na C2.

V případě reakcí s piperazinovými nebo primárními aminy (a–c) byly požadované produkty izolovány ve výtěžcích v rozmezí 90–95 %, ale za použití stericky bráněného primárního aminu (d) nebo jiného sekundárního aminu (e) byl pozorován pokles výtěžků na 50 %. Jelikož jsou tyto málo reaktivní substituenty v poloze C2 často obsaženy v mnoha inhibitech kináz, bylo pro tým vědců velmi důležité zvýšit výtěžky jejich produktů. [25]

Tabulka 6: Amin užitý pro substituci atomu chloru na C2 a následný výtěžek produktu. [25]

Reakce	Amin (H-NR ₃)	Produkt	Výtěžek [%]
1		a	95
2		b	90
3		c	90
4		d	50
5		e	50

V případě reaktantu 4 zkoumali autoři vliv koncentrace výchozí látky na velikost výtěžku. Závěrem bylo, že se zvýšení koncentrace z 0,06 M na 0,18 M jeví jako správný krok pro zvýšení výtěžku. Poté byla provedena ještě jedna reakce při koncentraci výchozí látky 0,36 M, čímž bylo dosaženo zvýšení výtěžku z původních 50 % na 89 %. [25]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ

Teploty tání (t_f) uvedené v bakalářské práci byly měřeny na Koflerově bloku a nejsou korigovány. Tenkovrstvá chromatografie (TLC) využívaná pro monitorování reakcí byla prováděna na deskách typu Alugram Sil G/UV₂₅₄ firmy Macherey-Nagel. Jako stacionární fáze pro sloupcovou chromatografii byl použit silikagel od firmy Macherey-Nagel a jako mobilní fáze byla použita směs chloroform/metanol v poměrech (8/1, v/v) jako systém a, ethyl-acetát/petrolether v poměru (4/1, v/v) jako systém b a ethyl-acetát/petrolether v poměru (1/1, v/v) jako systém c. Infračervená spektra (IR) byla měřena na přístroji Spektrometr FTIR ALPHA-T (Bruker) v podobě KBr tablet. Při výpisu spekter z IR byly použity následující zkratky charakterizující intenzitu absorpčních pásů: s (silná), m (střední), w (slabá), případně také šířku pásu: b (široký pás). Vodíková spektra z nukleární magnetické rezonance (¹H NMR) byla měřena na přístroji JEOL ECZ 400 při frekvenci 399,78 MHz a BRUKER ASCEND 500 s pracovní frekvencí 500,11 MHz. Inertními standardy byly rozpouštědla ¹H: $\delta(\text{reziduální CHCl}_3) = 7,27 \text{ ppm}$; $\delta(\text{DMSO-}d_5) = 2,50 \text{ ppm}$. Pro účel interpretace vodíkových spekter byly použity následující zkratky: s (singlet), d (dublet), t (triplet), m (multiplet). Kvalitativní analýza reakčních směsí a finálních látek byla provedena pomocí plynového chromatografu spojeného s hmotnostním spektrometrem vybaveným kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem (Shimadzu GC-MS QP2010). Plynový chromatograf byl vybaven kolonou EQUITY 1 (30 m × 0,32 mm × 1,0 μm). Pro analýzy byl zvolen následující teplotní program: 100 °C/7 min; 30 °C/min s teplotou nástřiku 250 °C. Nosný plyn: He, iontový zdroj: 200 °C, 70 eV. Všechny GC-MS analýzy byly provedeny za lineární konstantní rychlosti 52 cm/s. Ve výpisech signálů z hmotnostních spekter jsou uvedeny hodnoty signálů s relativním zastoupením nejméně 5 %, vyjma molekulových iontů. Hodnoty intenzit vybraných fragmentů jsou uvedeny v závorce za hodnotou m/z . Mikrovlnami asistované syntézy byly provedeny na mikrovlnném reaktoru Discovery SP od firmy CEM. Reakce byly prováděny v roztoku a za zvýšeného tlaku. Podmínky použité pro jednotlivé reakce, jsou popsány v diskuzní části této práce (kapitola 5).

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

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

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

Do baňky o objemu 50 cm³ byl navážen 2,6-dichlor-9*H*-purin 1 g (5,29 mmol), který byl následně rozpuštěn v 10 ml dimethylsulfoxidu. Vzniklý roztok byl zchlazen ve vodní lázni na teplotu 15 °C, poté bylo přidáno 1,1 g (7,34 mmol) K₂CO₃ a 1,32 cm³ (13,23 mmol) 2-jodpropanu v uvedeném pořadí. Reakce probíhala 8 hodin (monitorováno pomocí TLC) za nepřetržitého míchání a chlazení použitím ledu na teplotu 15–18 °C. Po ukončení reakce bylo do směsi přidáno asi 50 cm³ vody a směs byla extrahována v dělicí nálevce ethylacetátem. V horní části dělicí nálevky došlo k oddělení organického podílu, který byl převeden do kádinky, zatímco vodný podíl byl vrácen do děličky a dále promýván dalšími podíly ethylacetátu. Tento postup byl proveden šestkrát, kdy každá extrakce byla prováděna 15–20 cm³ ethyl-acetátu. Spojené organické podíly byly následně promyty nasyceným roztokem NaCl (2 × 20 cm³), sušeny nad síranem sodným a odpařeny na rotační vakuové odparce (RVO). Odpařením byl získán surový produkt v podobě žlutého krystalického prášku, který byl dále čištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, systém a), čímž došlo k oddělení vznikajících N7 a N9 isomerů.

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

Čistý N9 isomer byl získán v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 0,83 g (68 %); $t_r = 148\text{--}150$ °C; $R_f = 0,57$ (systém a).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1,57 (d, $J = 6,9$ Hz, 6H, CH(CH₃)₂); 4,83 (m, 1H, CH(CH₃)₂); 8,85 (s, 1H, NC⁸HN) ppm.

¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 21,7 (CH₃); 48,0 (CH); 130,7 (C); 146,6 (CH); 149,5 (C); 150,5 (C); 152,9 (C) ppm.

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

GC-EI-MS ($t_R = 14,1$ min): 40 (6), 41 (74), 42 (14), 43 (100), 47 (6), 53 (6), 64 (6), 65 (5), 73 (10), 92 (6), 99 (6), 153 (51), 155 (16), 179 (10), 188 (38), 189 (15), 190 (24), 191 (9), 215 (38), 217 (26), 230 (M⁺(³⁵Cl₂), 49), 232 (M⁺(³⁵Cl+³⁷Cl), 32), 230 (M⁺(³⁷Cl₂), 5) m/z (%).

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

Čistý N7 isomer byl získán v podobě bezbarvého krystalického prášku ve výtěžku 0,10 g (8 %); $t_r = 151-154$ °C; $R_f = 0,22$ (systém b).

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

^{13}C NMR (DMSO- d_6): δ 22,7 (CH_3); 49,7 (CH); 121,5 (C); 143,0 (CH); 149,6 (C); 150,7 (C); 163,2 (C) ppm.

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

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

4.1.1 Nukleofilní aromtická substituce atomu chloru na C6 prováděná konvenčním způsobem

Sloučenina **2a** (300 mg; 1,30 mmol) byla rozpuštěna v 7 cm^3 propan-2-olu ve 25 cm^3 baňce. Následně byl do vzniklého roztoku přidán příslušný amin ve dvoumolárním přebytku a reakční směs byla refluxována při 90 °C pod zpětným chladičem. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC. Po úplném zreagování výchozího purinu **2a** byla reakční směs naředěna destilovanou vodou a následně extrahována 6 \times 20 cm^3 ethyl-acetátu. Spojené organické podíly byly promyty 2 \times 20 cm^3 nasyceného roztoku chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Po odpaření rozpouštědla na RVO byl surový produkt purifikován sloupcovou chromatografií (silikagel, systém c).

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

Čistý produkt byl získán purifikací pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, systém c) v podobě žlutého krystalického prášku ve výtěžku 247 mg (79 %); $t_r = 118-120$ °C.

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 1,30 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H, NHCH_2CH_3); 1,57 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 3,72 (m, 2H, NHCH_2CH_3); 4,80 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 5,84 (s, 1H, NHCH_2CH_3); 7,76 (s, 1H, NC^8HN) ppm.

^{13}C NMR (DMSO- d_6): δ 15,1 (CH_3); 23,0 (CH_3); 36,0 (CH_2); 47,1 (CH); 119,0 (C); 137,6 (CH); 154,5 (C); 155,5 (C) ppm.

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

GC-EI-MS ($t_{\text{R}} = 15,3$ min): 40 (7), 41 (39), 42 (13), 43 (35), 44 (80), 53 (11), 54 (12), 55 (6), 62 (6), 65 (7), 66 (12), 67 (12), 68 (7), 80 (7), 91 (5), 92 (20), 93 (8), 106 (7), 107 (15), 108 (10), 118 (7), 119 (48), 120 (6), 133 (22), 134 (47), 146 (19), 153 (7), 154 (20), 155 (12), 156 (7), 160 (17), 161 (29), 162 (5), 169 (55), 170 (6), 171 (16), 182 (100), 183 (10), 184 (34), 196 (47), 197 (27), 198 (17), 199 (10), 211 (32), 213 (11), 224 (56), 225 (7), 226 (19), 239 ($\text{M}^+(\text{}^{35}\text{Cl})$, 89), 240 (13), 241 ($\text{M}^+(\text{}^{37}\text{Cl})$, 30) m/z (%).

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

Čistý produkt byl získán purifikací pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, systém c) v podobě žluto-hnědého krystalického prášku ve výtěžku 291 mg (78 %); $t_{\text{t}} = 118\text{-}120$ °C.

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 1,51 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 4,70 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 7,05 (t, $J = 7,9$ Hz, 2H, Ph); 7,32 (t, $J = 8,0$ Hz, 2H, Ph); 7,79 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, CHCH); 8,39 (s, 1H, CH); 10,19 (s, 1H, NH) ppm.

^{13}C NMR (DMSO- d_6): δ 22,6 (CH_3) 47,5 (CH) 119,7 (C) 121,8 (CH) 124,0 (CH) 129,0 (CH) 139,4 (C) 140,9 (C); 150,8 (C); 152,5 (C); 152,9 (C) ppm.

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

GC-EI-MS ($t_{\text{R}} = 24,9$ min): 41 (23), 43 (19), 51 (20), 65 (12), 76 (5), 77 (61), 78 (7), 92 (9), 102 (6), 103 (13), 104 (17), 129 (11), 141 (5), 156 (11), 182 (6), 183 (5), 209 (10), 210 (92), 211 (13), 244 (93), 245 (44), 246 (35), 247 (14), 252 (7), 286 (39), 287 ($\text{M}^+(\text{}^{35}\text{Cl})$, 100), 288 (29), 289 ($\text{M}^+(\text{}^{37}\text{Cl})$, 33), 290 (5) m/z (%).

4.1.2 Mikrovlnami asistovaná nukleofilní aromatická substituce atomu chloru na C6

Sloučenina **2a** (100 mg; 0,43 mmol) byla rozpuštěna v 8 cm³ ethanolu v 10 cm³ zkumavce určené pro mikrovlnné syntézy. K reakční směsi byl přidán 1,1 molární přebytek primárního aminu, s dvoumolárním přebytkem triethylaminu pro syntézu sloučeniny **3**, případně 2,0 molární přebytek příslušného aromatického aminu pro syntézu sloučeniny **4**. Zkumavka byla uzavřena speciálním septem a vložena do mikrovlnného reaktoru opatřeného teflonovou bezpečnostní nádobou. Reakce byla spuštěna přes software Synergy-D za následujících podmínek: tlak 21 bar, výkon 200 W, teplota 150 °C, čas 15 minut. Po dokončení reakce byla provedena zkouška pomocí TLC a reakční směs byla rovněž analyzována pomocí GC-MS. Po zchlazení reakční směsi byla tato naředěna destilovanou vodou a následně extrahována 6 × 20 cm³ ethyl-acetátu. Spojené organické podíly byly promyty 2 × 20 cm³ nasyceného roztoku chloridu sodného a sušeny nad síranem sodným. Po odpaření rozpouštědla na RVO byl surový produkt purifikován sloupcovou chromatografií (silikagel, systém c)

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

Čistý produkt byl získán purifikací pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, systém c) v podobě žlutého prášku ve výtěžku 97 mg (93 %); $t_r = 118\text{--}120$ °C.

Spektrální charakteristiky odpovídaly titulní sloučenině (viz kapitola 4.1.1, strana 26).

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

Čistý produkt byl získán purifikací pomocí sloupcové chromatografie (silikagel, systém c) v podobě žluto-hnědého krystalického prášku ve výtěžku 114 mg (94 %); $t_r = 118\text{--}120$ °C.

Spektrální charakteristiky odpovídaly titulní sloučenině (viz kapitola 4.1.1, strana 27).

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

V následující části bakalářské práce budou komentovány výsledky plynoucí z uskutečněné experimentální činnosti. Svou náplní zapadá tato práce do oblasti chemie purinových sloučenin, tedy oblasti, které je již řadu let věnována pozornost ve výzkumné skupině doc. Roberta Víchy. Primárním cílem předložené práce bylo ověřit možnost aplikace mikrovlnami asistované syntézy pro nukleofilní aromatickou substituci atomu chloru v poloze 6 a 2 purinového skeletu a srovnat výsledky dosažené pomocí mikrovlnami asistované syntézy s výsledky plynoucími ze syntéz provedených konvenčním způsobem. Cílem tedy nebylo a priori připravit sérii 2,6,9-trisubstituovaných purinů s doposud nepopsanou strukturou.

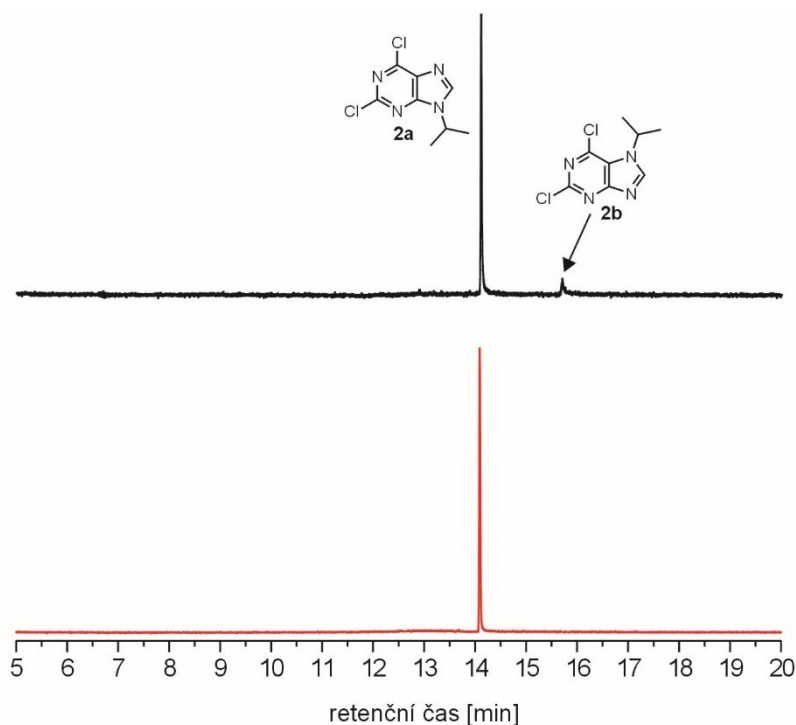
5.1 Alkylace 2,6-dichlor-9*H*-purinu

V prvním kroku bylo nezbytné provést alkylaci výchozího 2,6-dichlor-9*H*-purinu (**1**), kdy alkylačním činidlem byl 2-jodpropan. Jelikož se jedná o reakci, k níž již byl optimalizován postup, nebylo nutné reakční podmínky nikterak modifikovat. Výchozí purin **1** byl tedy ponechán reagovat s 2-jodpropanem v prostředí uhličitanu draselného jako báze a dimethylsulfoxidu jako rozpouštědla (Obrázek 14).



Obrázek 14: Alkylace 2,6-dichlor-9*H*-purinu (**1**).

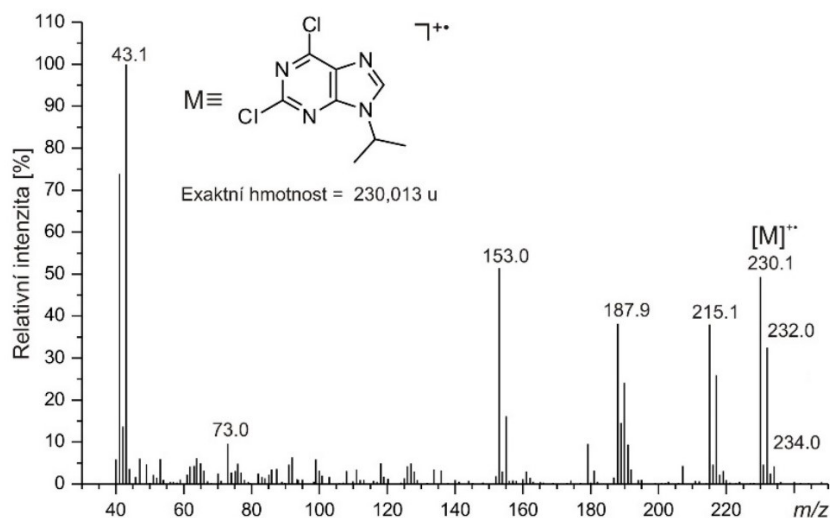
Reakční směs byla udržována při teplotě 15–18 °C z důvodu minimalizace tvorby nežádoucího N7 izomeru. Průběh reakce byl monitorován pomocí GC-MS, přičemž analýza provedená po 22 h poukazovala na spotřebování veškeré výchozí látky. V reakční směsi se, vyjma požadovaného N9 izomeru nacházel také N7 izomer, kdy jejich relativní zastoupení dle GC-MS činilo 90 %, resp. 10 % (Obrázek 15, černý chromatogram). Oba izomery byly vzájemně oddělení pomocí sloupcové chromatografie, přičemž následná GC-MS analýza frakce obsahující N9 derivát potvrdila, že purifikace byla úspěšná, jelikož v získaném chromatogramu nebyl N7 izomer detekován (Obrázek 15, červený chromatogram).



Obrázek 15: Výsledky GC-MS analýz po alkylationi 2,6-dichlor-9*H*-purinu (**1**).

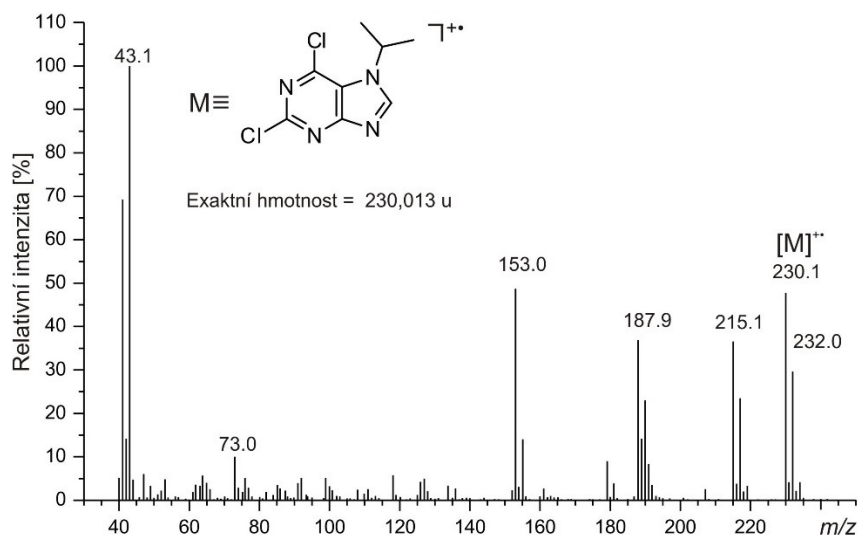
Struktura obou izomerů byla potvrzena pomocí běžně používaných metod strukturní analýzy, a sice hmotnostní spektrometrie a nukleární magnetické rezonance.

V EI-MS spektru sloučeniny **2a** byl, jako nejdůležitější, pozorován izotopický klastř obsahující signály o m/z 230, 232 a 234 v přibližném poměru 9:6:1 potvrzující přítomnost dvou atomů chloru v molekule.



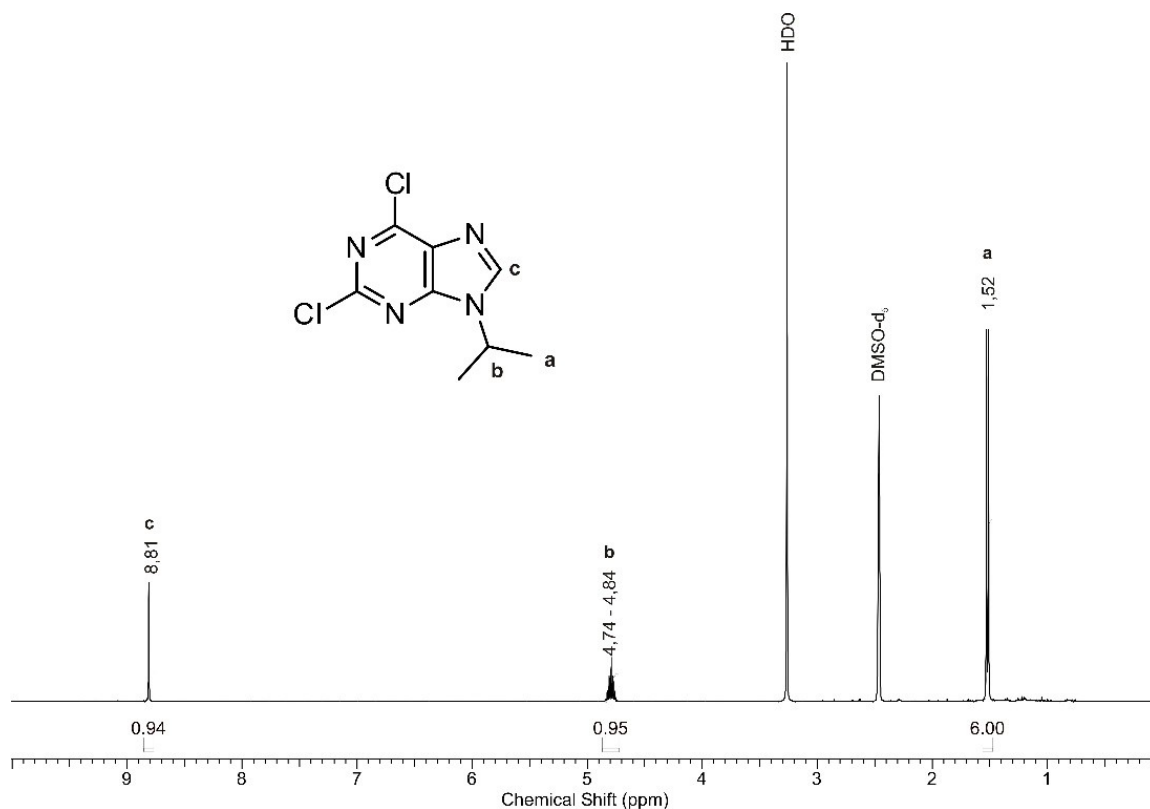
Obrázek 16: EI-MS spektrum sloučeniny **2a**.

Jak je patrné z Obrázku 17, na němž je uvedeno EI-MS spektrum N7 derivátu (sloučenina 2b), byly pozorovány signály o stejném m/z , jen s drobnými odlišnostmi týkajícími se relativní intenzity pozorovaných signálů.



Obrázek 17: EI-MS spektrum sloučeniny **2b**.

Struktura sloučenin **2a** a **2b** byla potvrzena rovněž pomocí ^1H NMR. Na Obrázku 18 je pro ilustraci uvedeno spektrum sloučeniny **2a**, kde je možné v alifatické oblasti pozorovat signál odpovídající methylové skupině propan-2-ylového substituentu, dále pak multiplet v oblasti 4,74–4,84 ppm odpovídající CH skupině z téhož substituentu. Posledním ve spektru pozorovaným signálem byl singlet určený jako atom vodíku C^8H nacházející se mezi dvěma atomy dusíku imidazolového kruhu purinového skeletu.



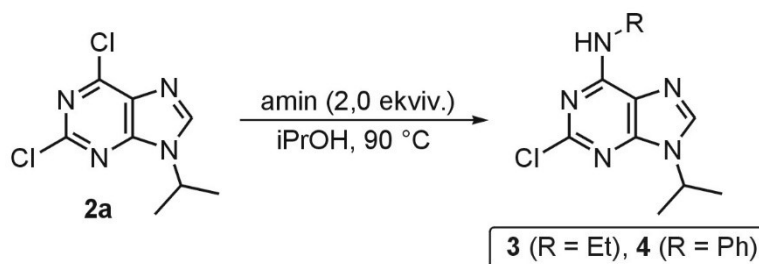
Obrázek 18: ^1H NMR spektrum sloučeniny **2a**.

5.2 Nukleofilní aromatická substituce atomu chloru na C6

V další části této bakalářské práce byla provedena série experimentů s cílem ověřit odlišnosti, jakými bude probíhat nukleofilní aromatická substituce atomu na C6 „klasickým“ konvenčním způsobem a za podmínek mikrovlnami asistované syntézy. Nejprve byly provedeny syntézy konvenčním způsobem, následované sérií experimentů provedených pomocí mikrovlnného reaktoru. Získané výsledky budou blíže komentovány v následujících dvou kapitolách.

5.2.1 Syntézy prováděné konvenčním způsobem

Jak je uvedeno výše, nejprve byla nukleofilní aromatická substituce atomu chloru na C6 uskutečněna konvenčním způsobem, kdy výchozí purin **2a** byl ponechán reagovat s příslušným primárním aminem (ethylamin, anilin) v propan-2-olu při teplotě 90 °C (Obrázek 19).



Obrázek 19: Obecné schéma S_NAr na C6 prováděných konvenčním způsobem.

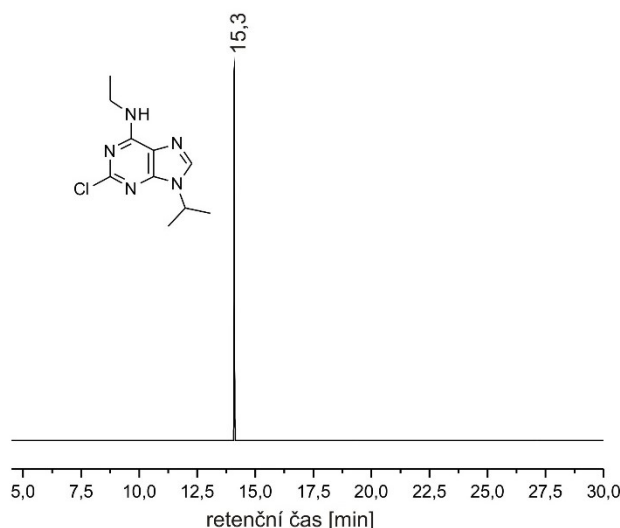
Jak je patrné z Tabulky 7, byl primární amin použit v dvoumolárním přebytku, kdy k úplnému zreagování výchozího purinu **2a** došlo po 48 hodinách (monitorováno pomocí GC-MS). Požadované produkty, tedy sloučeniny **3** a **4** byly po přečištění sloupcovou chromatografií získány v takřka stejných výtěžcích.

Tabulka 7: Podmínky provedených syntéz a množství výtěžku jejich produktů

Reakce	R	Amin	Čas [h]	Produkt	Výtěžek [%]
1	ethyl	2,0 ekv.	48	3	79
2	fenyl	2,0 ekv.	48	4	78

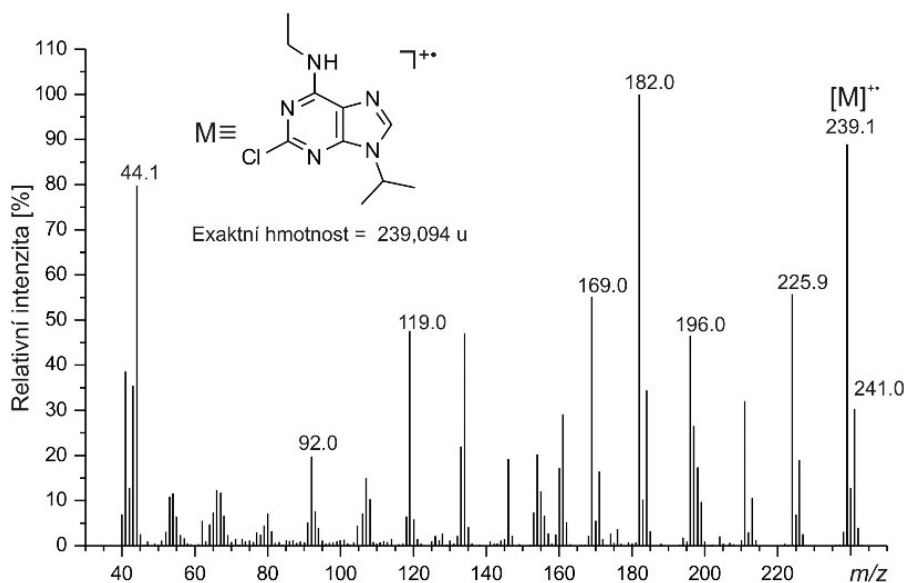
Jak je uvedeno výše, byla čistota sloučenin **3** a **4** potvrzena pomocí GC-MS, k určení struktury obou látek byla použita také nukleární magnetická rezonance.

Na Obrázku 20 je uveden chromatogram sloučeniny **3** získaný po přečištění pomocí sloupcové chromatografie. Z chromatogramu je patrné, že sloučeninu **3** lze označit za chromatograficky čistou, kdy pík odpovídající předmětné sloučenině byl pozorován v čase 15,3 minuty.



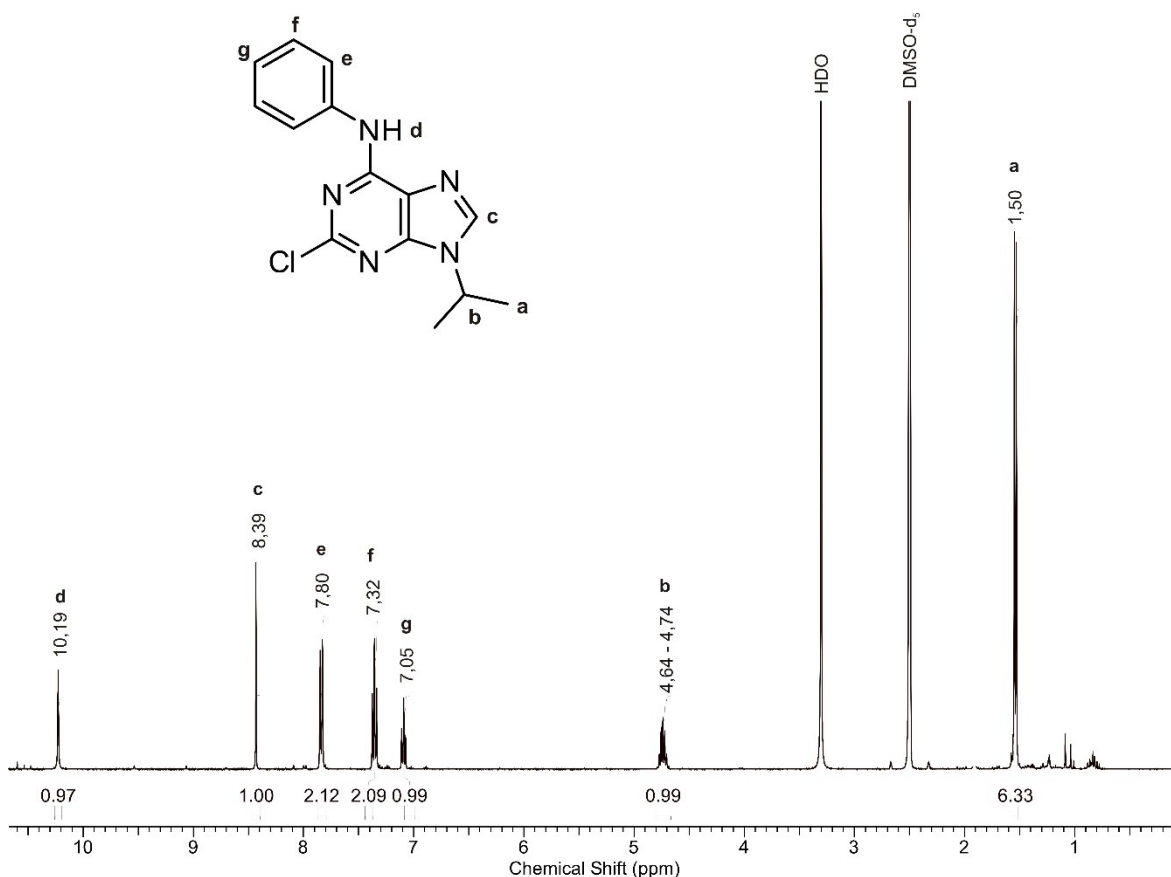
Obrázek 20: Výsledek GC-MS analýzy sloučeniny **3** po sloupcové chromatografii.

Součástí analýzy GC-MS je rovněž hmotnostní spektrum, z něhož lze poukazovat na strukturu příslušné sloučeniny. EI-MS spektrum purinu **3** je znázorněno na Obrázku 21. Ve spektru byl pozorován klaster sestávající ze signálů o m/z 239 a 241 odpovídajících exaktní hmotnosti předmětné sloučeniny. Navíc, vzájemný poměr obou signálů v přibližném poměru 3:1 budiž jednoznačným důkazem o přítomnosti jediného atomu chloru v molekule poukazujícího na úspěšně provedenou substituci atomu chloru na C6.



Obrázek 21: EI-MS spektrum sloučeniny **3**.

Struktura látek obsahujících na C6 sekundární amin byla potvrzena rovněž pomocí NMR. Ve vodíkovém spektru sloučeniny **4** uvedeném na Obrázku 21, byly pozorovány tři stejné signály jako v případě výchozího purinu **2a**. Ve srovnání s výchozí látkou, přibýly ve spektru sloučeniny **4** čtyři nové signály pocházející z aromatického aminu navázaného na C6 purinového skeletu. Tři signály určené jako atomy vodíku benzenového jádra byly pozorovány v oblasti 7,05–7,80 ppm, tedy v oblasti pro tento typ atomů vodíku typické. Posledním pozorovaným signálem byl singlet s chemickým posunem 10,19 ppm pocházející ze sekundární aminové skupiny navázané na C6.

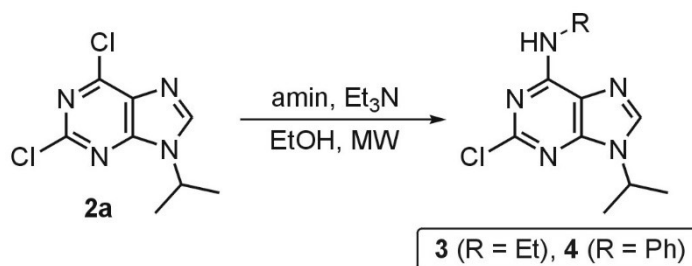


Obrázek 22: ^1H NMR spektrum sloučeniny 4.

5.2.2 Mikrovlnami asistované syntézy

Následovala série mikrovlnami asistovaných nukleofilních aromatických substitucí atomu chloru na C6 prováděná na v nedávné době pořízeném mikrovlnném reaktoru. Cílem bylo ověřit, zda použití tohoto typu syntézy zkrátí reakční dobu a jaký bude mít dopad na výtěžky, v nichž budou uvažované sloučeniny získány. Tato práce do jisté míry navazuje na diplomovou práci Venduly Tichavské, která se zabývala mikrovlnami asistované syntézy nové série 2,6-disubstituovaných purinů. V tomto případě bylo však cílem substituovat dva, nikoliv jen jeden atom chloru na purinovém skeletu.

Obecné schéma mikrovlnami asistovaných syntéz je uvedeno na Obrázku 23. Podmínky mikrovlnného reaktoru byly následující: teplota 150 °C, tlak 21 bar, výkon 200 W. Detailnější informace k provedeným experimentům, respektive podmínkám, při nichž byly jednotlivé reakce prováděny, jsou uvedeny v Tabulce 8.



Obrázek 23: Obecné schéma S_NAr na C6 prováděných pomocí mikrovlnami asistované syntézy.

Mikrovlnami asistované syntézy sloučeniny **3** se vzájemně lišily pouze časem, kdy nejlepšího izolovaného výtěžku bylo dosaženo při provádění reakce po dobu 15 minut, kdy byl požadovaný produkt získán ve výtěžku 93 % (Tabulka 8, reakce 1). Reakce byla prováděna v přítomnosti báze, a sice triethylaminu, který byl použit ve dvoumolárním přebytku. Tyto reakční podmínky se jevily jako výhodnější ve srovnání s těmi použitými při konvenčním způsobu, kdy byl ethylamin použit ve dvoumolárním přebytku za vyloučení báze, což znamenalo, že se v reakční směsi po zreagování výchozího purinu **2a** nacházelo značné množství ethylaminu, který musel být ze směsi odstraněn pomocí sloupcové chromatografie, což bylo relativně komplikací s ohledem na skutečnost nemožnosti pozorovat tuto látku pomocí TLC-UV. V případě použití triethylaminu bylo množství nezreagovaného ethylaminu v reakční směsi minimální.

Při syntéze sloučeniny **4** pomocí mikrovlnami asistované syntézy byl vyzkoušen postup jak s bázi, tak také bez ní. Byla-li použita báze, bylo nejlepšího výsledku dosaženo užitím báze v reakční směsi ve dvoumolárním přebytku (Tabulka 8, reakce 7), kdy reakční čas činil 20 minut. Ještě lepšího výsledku bylo dosaženo v případě použití dvoumolárního přebytku anilinu za vyloučení triethylaminu (Tabulka 8, reakce 6), kdy byl požadovaný produkt izolován ve výtěžku 94 %. Na rozdíl od ethylaminu, nepředstavoval nezreagovaný zbytek anilinu přítomného v reakční směsi žádný zásadní problém ve smyslu čištění produktu pomocí sloupcové chromatografie, poněvadž anilin může být detekován v jednotlivých frakcích získaných pomocí sloupcové chromatografie pomocí ozáření TLC destičky UV lampou.

Tabulka 8: Výčet provedených S_NAr na C6 pomocí mikrovlnami asistované syntézy.

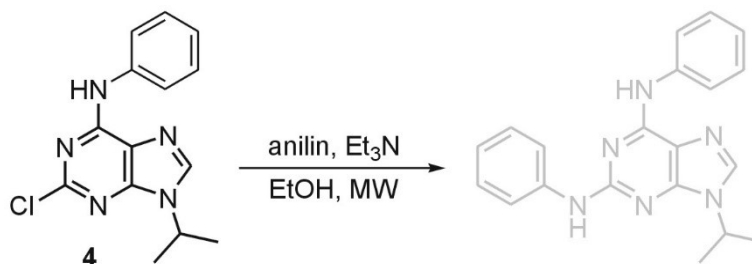
Reakce	R	Amin	Et ₃ N	Produkt	Výtěžek [%]
1 ^a	ethyl	1,1 ekv.	2,0 ekv.	3	93
2 ^b	ethyl	1,1 ekv.	2,0 ekv.	3	90
3 ^c	ethyl	1,1 ekv.	2,0 ekv.	3	78
4 ^a	fenyl	1,1 ekv.	1,1 ekv.	4	72
5 ^a	fenyl	2,0 ekv.	-	4	72
6 ^d	fenyl	2,0 ekv.	-	4	94
7 ^d	fenyl	1,1 ekv.	2,0 ekv.	4	86
8 ^a	fenyl	1,1 ekv.	2,0 ekv.	4	58

Podmínky reakce: ^at = 15 min.; ^bt = 10 min.; ^ct = 5 min.; ^dt = 20 min.

5.3 Nukleofilní aromatická substituce atomu chloru na C2

Posledním typem experimentu uskutečněným v rámci řešení této bakalářské práce, byly pokusy o nukleofilní aromatickou substituci atomu chloru na C2 purinového kruhu, který je obecně velmi málo reaktivní a provést jeho substituci za konvenčních podmínek je relativně obtížné.

Vyzkoušeny tedy byly pouze mikrovlnami asistované substituce atomu Cl na C2. Obecné schéma reakčních podmínek je uvedeno na Obrázku 24, přičemž parametry mikrovlnného reaktoru byly totožné s těmi použitými při S_NAr atomu chloru na C6.



Obrázek 24: Obecné schéma S_NAr na C6 prováděných pomocí mikrovlnami asistované syntézy.

Jak je patrné z Tabulky 9, byly provedeny celkem čtyři reakce, kdy ve třech byl výchozí látkou purin 4 a v jedné jedině 2-chlor-9H-purin získaný z laboratorních zásob (tato reakce není, z důvodu snadnější přehlednosti, zohledněna na Obrázku 24). Bohužel, ani jedna z provedených nevedla k požadovanému cíli. Reakční směs byla ihned po vytažení

zkumavky z mikrovlnného reaktoru analyzována pomocí TCL a GC-MS. Nicméně ani v jednom případě nebyl pozorován žádný posun ve smyslu vzniku jakéhokoliv produktu v reakční směsi.

Tabulka 9: Provedené reakce ve snaze o S_NAr chloru v poloze C2.

Reakce	Výchozí purin	Anilin	Et ₃ N	Čas [h]	Výtěžek [%]
1	4	1,1 ekv.	1,1 ekv.	40	-
2	4	2,0 ekv.	-	40	-
3	4	5,0 ekv.	-	40	-
4	2-chlor-9H-purin	2,0 ekv.	-	40	-

S ohledem na výše uvedené se jako vhodné jeví pokusit se nalézt takové podmínky, které zajistí substituci atomu chloru na C2, čemuž bude v následujících měsících věnována pozornost. Jako vhodné se jeví použití katalyzátoru, např. na bázi palladia či NaBH₄, jakožto katalyzátoru fázového přenosu.

ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo připravit sérii 2,6,9-trisubstituovaných purinů, kdy největší výzvou byla právě nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze C2 purinového skeletu, která za konvenčních podmínek probíhá relativně neochotně. Právě kvůli této skutečnosti bylo předmětem průzkumu užití mikrovlnami asistované syntézy, která by měla vést k usnadnění a urychlení již zmiňované reakce.

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

V další části byla provedena série nukleofilních aromatických substitucí atomu chloru v poloze C6 sloučeniny **2a** ethylaminem a anilinem za užití konvenčního záhřevu na 90 °C a výtěžky těchto reakcí, jakož i délka trvání reakce, byly porovnány s výtěžky sérií obdobných, nebo mírně pozměněných syntéz provedených pomocí mikrovlnného reaktoru. Výsledkem bylo značné zkrácení reakční doby z řádu hodin na minuty za současného zvýšení výtěžků sloučenin **3** a **4**.

V poslední části této práce bylo snahou přijít na vhodné podmínky mikrovlnami asistované syntézy, při kterých by probíhala nukleofilní aromatická substituce atomu chloru v poloze C2 sloučeniny **4**. Byla provedena série reakcí za proměnných podmínek, kdy nedošlo ke vzniku žádného produktu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KOLÁŘ, Karel, Milan KODÍČEK a Jiří POSPÍŠIL. *Chemie: pro gymnázia. 2., upr. a dopl.* vyd. Praha: SPN - pedagogické nakladatelství, **2005**, 128 s. ISBN 80-7235-283-0.
- [2] KOZMÍK, Václav. *Heterocyklické sloučeniny: Učební text pro výuku předmětu Organická chemie II.* Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, b.r. Dostupné také z https://uoch.vscht.cz/files/uzel/0006592/Heterocyklicke_slouceniny.pdf
- [3] JANEČKOVÁ, Anna. *Organická chemie: studijní text pro SPŠCH.* Vyd. 2. Ostrava: Pavel Klouda, **2001**. 160s ISBN 80-86369-04-8.
- [4] SHARMA, Sahil, Jagjeet SINGH, Ritu OJHA, Harbinder SINGH, Manpreet KAUR, P.M.S. BEDI a Kunal NEPALI, **2016**. Design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for purines as kinase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **112**, 298-346. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.02.018>. ISSN 0223-5234. Dostupné také z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523416300897>
- [5] MANVAR, Atul a Anamik SHAH, Microwave-assisted chemistry of purines and xanthines. *Tetrahedron*. **2013(69)**, 8105-8127. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tet.2013.06.034>. ISSN 0040-4020.
- [6] LISTER, John H. *Fused pyrimidines: purines part II.* London: John Miley & Sons, **1971**. 655 s. ISBN 04-713-8205-1.
- [7] SINGH, Rajbir. *Synthetic drugs.* 1st edition. New Delhi, India: Mittal Publications, **2002**. ISBN 81-7099-831X.
- [8] ŘEZNIČKOVÁ, Eva. *Pyrazolopyrimidinové inhibitory CDK: antiproliferační a proapoptotické vlastnosti.* Olomouc, **2010**. Diplomová práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Katedra buněčné biologie a genetiky. Vedoucí diplomové práce Radek Jorda
- [9] FISHER, Emil. Ueber das Purin und seine Methylderivate. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. Berlin. **1898(31)**, 2550-2574. DOI: <https://doi.org/10.1002/cber.18980310304>. ISSN 0365-9496

- [10] HAVLÍČEK, Libor. Syntetické inhibitory cyklin-dependentních kináz. Olomouc, **2004**. Habilitační práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta.
- [11] ZHANG, Chao a Kevan M. SHOKAT, Enhanced selectivity for inhibition of analog-sensitive protein kinases through scaffold optimization. *Tetrahedron*. **2007**(63), 5832-5838. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.02.089>. ISSN 0040-4020
- [12] VOGT, P.K. a S.I. REED, **2012**. Cyclin Dependent Kinase (CDK) *Inhibitors: Current Topics in Microbiology and Immunology*. Springer Berlin Heidelberg. ISBN 9783642719417. Dostupné také z: https://books.google.cz/books?id=XL_uCAAQBAJ
- [13] DEMANGE, Luc, Fatma Nait ABDELLAH, Olivier LOZACH, Yoan FERANDIN, Nohad GRESH, Laurent MEIJER a Hervé GALONS, **2013**. Potent inhibitors of CDK5 derived from roscovitine: Synthesis, biological evaluation and molecular modelling: Synthesis, biological evaluation and molecular modelling. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **23**(1), 125-131. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.10.141>. ISSN 0960-894X.
- [14] ROSKOSKI, Robert. Janus kinase (JAK) inhibitors in the treatment of inflammatory and neoplastic diseases. *Pharmacological Research*. **2016**(111), 784-803. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.07.038>. ISSN 1043-6618
- [15] VERSTOVSEK, Srdan, Stephane COURBY, Martin GRIESSHAMMER, Ruben A. MESA a další. A phase 2 study of momelotinib, a potent JAK1 and JAK2 inhibitor, in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Leukemia Research*. **2017**(60), 11-17. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2017.05.002>. ISSN 0145-2126
- [16] SENKEVITCH, Emilee a Scott DURUM, **2017**. The promise of Janus kinase inhibitors in the treatment of hematological malignancies. *Cytokine*. **98**, 33-41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.10.012>. ISSN 1043-4666. Dostupné také z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S104346661630552X>
- [17] FOCOSI, Daniele, ed., 2016. *Resistance to Tyrosine Kinase Inhibitors* [online]. 1. Switzerland: Springer International Publishing [cit. **2019-04-10**]. ISBN 978-3-319-46091-8. Dostupné z: <https://www.springer.com/la/book/9783319460901>

- [18] PONADER, Sabine, Shih-Shih CHEN, Joseph J. BUGGY, et al., **2012**. The Bruton tyrosine kinase inhibitor PCI-32765 thwarts chronic lymphocytic leukemia cell survival and tissue homing in vitro and in vivo. *Blood*. **119**(5), 1182. DOI: 10.1182/blood-2011-10-386417.
- [19] SHIN, S, J LEE, J KIM, M SHIN, J PARK a H KWON, **2015**. PCN35 - Real-World Analysis Of Tyrosin Kinase Inhibitor Treatemnt Patterns Among Patients With Chronic Myeloid Leukemia In Korea. *Value in Health*. **18**(7), A435. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jval.2015.09.1050>. ISSN 1098-3015.
- [20] BHATT, Valkal, Linh ALEJANDRO, Angela MICHAEL a Alex GANETSKY, **2014**. The Promising Impact of Ibrutinib, a Bruton's Tyrosine Kinase Inhibitor, for the Management of Lymphoid Malignancies. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. John Wiley, **34**(3), 303-314. DOI: 10.1002/phar.1366. ISSN 0277-0008. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1002/phar.1366>
- [21] ELGEMEIE, Galal a Mai HAMED, Microwave Synthesis of Guanine and Purine Analogs. *Current Microwave Chemistry*. **2014**(1), 155-176. DOI: 10.2174/2213335601666140417232548. ISSN 2213-3356.
- [22] MARTÍNEZ PALOU, Rafael, **2007**. Ionic Liquid and Microwave-Assisted Organic Synthesis: A “Green” and Synergic Couple: *A “Green” and Synergic Couple*. *Sociedad Química de México: J. Mex. Chem. Soc*, **51**(4). ISSN 1870-249X. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/26616991_Ionic_Liquid_and_Microwav_e-Assisted_Organic_Synthesis_A_Green_and_Synergic_Couple
- [23] AUSTIN, E. Richard, Christian WALDRAFF a Fahad AL-OBEIDI. Microwave assisted solid-phase synthesis of trisubstituted 2-(2,6-purin-9-yl)acetamides. *Tetrahedron*. **2005**(46), 2873-2875. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.02.130>. ISSN 0040-4039.
- [24] HUANG, He, Hong LIU, Kaixian CHEN a Hualiang JIANG, **2007**. Microwave-Assisted Rapid Synthesis of 2,6,9-Substituted Purines. *Journal of Combinatorial Chemistry*. American Chemical Society, **9**(2), 197-199. DOI: 10.1021/cc060155o. ISSN 1520-4766. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1021/cc060155o>

- [25] TAKVORIAN, Amy G. A Andrew P. COMBS, **2004**. Microwave-Assisted Organic Synthesis Using Minivials to Optimize and Expedite the Synthesis of Diverse Purine Libraries. *Journal of Combinatorial Chemistry*. American Chemical Society, **6**(2), 171-174. DOI: 10.1021/cc0340628. ISSN 1520-4766. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1021/cc0340628>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ATP	adenositrifosfát
CDK	cyklin-dependentní kináza
DMSO	dimethylsulfoxid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EI-MS	hmotnostní spektrometrie s elektronovou ionizací
GC-MS	hmotnostní analýza
HDL	vysokodenzitní lipoprotein
IC ₅₀	inhibiční koncentrace
IR	infračervená spektroskopie
LDL	nízkodenzitní lipoprotein
NMR	nukleární magnetické rezonance
RNA	ribonukleová kyselina
S _N Ar	nukleofilní aromatická substituce
TLC	chromatografie na tenké vrstvě

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Strukturní vzorce vybraných heterocyklických sloučenin.	11
Obrázek 2: Struktura purinového skeletu.	13
Obrázek 3: Možné tautomerní formy purinu.	13
Obrázek 4: Vybrané bioisostery purinu.	13
Obrázek 5: Schéma přípravy 9 <i>H</i> -purinu německým chemikem Emilem Fisherem..	14
Obrázek 6: Strukturní vzorce selektivních inhibitorů Src tyrosinkinázy. [11]	14
Obrázek 7: Strukturní vzorec Olomoucínu a Roskovitínu.	15
Obrázek 8: Strukturní vzorec Tofacitinibu.	16
Obrázek 9: Strukturní vzorec Ibrutinibu.	17
Obrázek 10: Příklad mikrovlnami asistované substituce halogenu na C2.	19
Obrázek 11: Obecné schéma mikrovlnami asistované S _N Ar a N-alkylace/arylace. [24]	19
Obrázek 12: Mikrovlnami asistovaná S _N Ar na C2 katalyzovaná NaBF ₄ . [24]	20
Obrázek 13: Mikrovlnami asistovaná substituce atomu fluoru na C2.	21
Obrázek 14: Alkylace 2,6-dichlor-9 <i>H</i> -purinu (1).	29
Obrázek 15: Výsledky GC-MS analýz po alkylaci 2,6-dichlor-9 <i>H</i> -purinu (1).	30
Obrázek 16: EI-MS spektrum sloučeniny 2a	30
Obrázek 17: EI-MS spektrum sloučeniny 2b	31
Obrázek 18: ¹ H NMR spektrum sloučeniny 2a	32
Obrázek 19: Obecné schéma S _N Ar na C6 prováděných konvenčním způsobem.	33
Obrázek 20: Výsledek GC-MS analýzy sloučeniny 3 po sloupcové chromatografii.	34
Obrázek 21: EI-MS spektrum sloučeniny 3	34
Obrázek 22: ¹ H NMR spektrum sloučeniny 4	35
Obrázek 23: Obecné schéma S _N Ar na C6 prováděných pomocí mikrovlnami asistované syntézy.	36
Obrázek 24: Obecné schéma S _N Ar na C6 prováděných pomocí mikrovlnami asistované syntézy.	37

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: „a“-předpony indikující přítomnost heteroatomů v heterocyklické sloučenině seřazené v sestupném pořadí nadřazenosti.....	12
Tabulka 2: Hodnoty IC ₅₀ olomoucínu a roskovitinu vůči CDK. [12, 13]	15
Tabulka 3: Vliv halogenových substituentů a podmínek reakce na výtěžek produktu. [23]	19
Tabulka 4: Vybrané aminy, příslušný halogen a výtěžek jejich reakce. [24].....	20
Tabulka 5: Výchozí látky a příslušný amin spolu s výtěžkem syntéz. [24]	21
Tabulka 6: Amin užitý pro substituci atomu chloru na C2 a následný výtěžek produktu. [25].....	22
Tabulka 7: Podmínky provedených syntéz a množství výtěžku jejich produktů	33
Tabulka 8: Výčet provedených S _N Ar na C6 pomocí mikrovlnami asistované syntézy.	37
Tabulka 9: Provedené reakce ve snaze o S _N Ar chloru v poloze C2.....	38