

# ABSTRAKT

---

Modifikované složky nukleových kyselin (nukleotidy, nukleosidy, nukleobáze) vykazují celou řadu biologických účinků, jako jsou antivirové, cytostatické, antimikrobiální nebo antioxidační. Spousta z nich je úspěšně využívána v klinické praxi, např. jako léky proti HIV nebo hepatitidě typu B. Prvním předpokladem pro studium biologických vlastností je správné určení chemické struktury a konformace studovaných látek. Pro tento účel se nejčastěji používá nukleární magnetická rezonanční (NMR) spektroskopie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií.

NMR spektroskopii mohou být studovány také fyzikálně-chemické vlastnosti, např. konformační změny, tautomerní formy, protonační místa, acidobazické vlastnosti, nekovalentní interakce, izotopové výměny nebo interakce s biomolekulami. Podobně jako v roztocích lze použít NMR spektroskopii pro studium složek nukleových kyselin (NACs) i v pevné fázi. Tato metoda našla své uplatnění po velkém rozmachu výpočetní chemie během posledních desetiletí. Různé struktury v pevné fázi (polymorfni formy) nebo dynamiku těchto látek lze studovat NMR spektroskopii v pevné fázi v kombinaci s kvantově-chemickými výpočty.

V této práci jsem se zabývala určením struktury a fyzikálně-chemických vlastností modifikovaných NACs pomocí NMR spektroskopie v kapalně, ale i v pevné fázi v kombinaci s DFT výpočty NMR parametrů. Pro stanovení struktury jsem použila 1D a 2D NMR experimenty, také jsem stanovila konfiguraci a konformaci studovaných látek. Během této strukturní analýzy byla u některých purinových derivátů zaznamenána možnost špatného přiřazení NMR signálů, proto byla vyvinuta nová metoda pro jejich spolehlivé přiřazení. Tato metoda je založena na porovnání naměřených a vypočtených heteronukleárních interakčních konstant. Stejný přístup založený na kombinaci experimentálních a vypočtených dat byl použit pro vývoj nové metody, která umožnila predikovat preferované tautomerní formy purinových derivátů v roztoku.

Vodíková vazba, která je pro život nezbytná, může být studována NMR spektroskopii velmi podrobně. Studovali jsme nitrosopyrimidinové deriváty s pevnými vodíkovými vazbami, které stabilizují dva konformery, které se liší pouze orientací nitroso skupiny. Zkoumali jsme rovnovážné složení směsi rotamerů v závislosti na pyrimidinové substituci. Z teplotní závislosti byly stanoveny rotační bariéry nitroso skupiny. V některých případech bylo možné oba rotamery od sebe oddělit kolonovou chromatografií už při laboratorní teplotě. Čistota obou rotamerů byla potvrzena NMR spektroskopii v pevné fázi a X-ray analýzou. Z naměřené kinetiky interkonverze rotamerů byly stanoveny rotační bariéry kolem jednoduché C5-NO vazby. Experimentální hodnoty byly podpořeny DFT výpočty.

Celá řada biologicky aktivních látek není schopna projít přes buněčnou membránu, proto se připravují lipofilnější deriváty (proléčiva). Jsou navrhovány tak, aby se v buňce působením vnitrobuněčných enzymů uvolnila aktivní látka. Studovali jsme, zda by nově připravený

fosforamidátový derivát mohl fungovat jako proléčivo, zda bude štěpen karboxypeptidasou v předpokládané metabolické dráze. Tato enzymová degradace byla studována  $^{31}\text{P}$  NMR spektroskopii. Výchozí fosforamidát má na atomu fosforu chirální centrum, vzniknou dva diastereoismery, které lze pozorovat jako dva signály v  $^{31}\text{P}$  NMR spektru. Po několika hodinách enzymové reakce byl pozorován pouze jeden signál, což znamená, že u konečného produktu zaniklo chirální centrum. Stejně produkty byly získány chemickou hydrolýzou výchozího fosforamidátu triethylaminem a navržená chemická struktura byla potvrzena  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a 2D NMR experimenty.

Struktura látek v pevné fázi ovlivňuje jejich biologické účinky a informace o jejich polymorfní struktuře je nezbytná pro patentní řízení. Pro zkoumání polymorfních krystalů byla v této práci použita  $^{13}\text{C}$  NMR spektra měřená v pevné fázi pod magickým úhlem (CP-MAS NMR). Připravila jsem modelové krystaly tří farmaceuticky a průmyslově využívaných látek a charakterizovala jsem je NMR spektroskopii v pevné fázi. Dále byla měřena Ramanova spektra a struktura polymorfních krystalů byla ověřena X-ray analýzou. Tato data byla doplněna DFT výpočty.

Při studiu biologických účinků se studované látky obvykle rozpouští v DMSO, kde zůstávají někdy i dlouhou dobu. Pozorovali jsme barevné změny roztoků 5-aminopyrimidinových derivátů v DMSO. Sledovali jsme tyto přeměny NMR a UV/Vis spektroskopii a navržené struktury barevných produktů byly ověřeny sledem chemických reakcí.