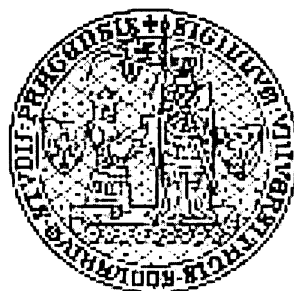


UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA ORGANICKÉ A JADERNÉ CHEMIE



Syntéza a reakce C^6 -substituovaných derivátů

2-hydroxy- a 2-amino-3-(purin-9-yl)propanové kyseliny

a příbuzných sloučenin

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Petra Doláková

Praha 2004

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením Doc. RNDr. Antonína Holého, DrSc., Dr.h.c., a že řádně cituji všechna převzatá data a skutečnosti.

V Praze dne 28. dubna 2004

A handwritten signature in black ink, reading "Petra Doláková", written over a horizontal dotted line.

Petra Doláková

Tato diplomová práce byla řešena jako součást výzkumného záměru č. 4055905 Ústavu organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky a byla finančně podporována Cíleným projektem Grantové agentury Akademie věd České republiky S4055109, mezinárodním programem MŠMT COST D.13.20 a zčásti Descartovou cenou Evropské unie.

Poděkování

Děkuji svému školiteli panu Doc. RNDr. Antonínu Holému, DrSc., Dr.h.c. za odborné vedení, množství cenných rad a každodenní ochotu a zájem, s nímž mou práci sledoval.

Dále bych chtěla vyjádřit své díky paní RNDr. Mileně Masojídkové za změření a interpretaci NMR spekter.

Děkuji RNDr. Ivanu Votrubovi, DrSc., RNDr. Zdeňku Zídkovi, DrSc. a skupině profesora De Clercq z Rega Institutu (Katolická univerzita Leuven, Belgie) za testování biologické aktivity látek.

Dále bych chtěla poděkovat ing. Daně Hockové, CSc., ing. Michalu Česnekovi a paní Běle Novákové za obětavou pomoc a vytvoření příjemného pracovního prostředí.

Seznam zkratek a symbolů

AMP	adenosin 5'-monofosfát
ATP	adenosin 5'-trifosfát
AZT	3'-azidothymidin
BH	heterocyklická báze (purin nebo pyrimidin)
bmim	1-butyl-3-methylimidazol
Bn	benzyl
bpy	1-butylpyridin
br	široký (broad) peak
cAMP	cyklický adenosin 3',5'-monofosfát
d	dublet
DABCO	1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktan
DBU	1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en (1,5-5)
DHPA	9-(2,3-dihydroxypropyl)adenin
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
FAD	flavinadenindinukleotid
Me	methyl
NAD ⁺	nikotinamidadenindinukleotid
NADP ⁺	nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NMO	<i>N</i> -methylmorfolin- <i>N</i> -oxid
p	pentet
Ph	fenyl
q	quartet
s	singlet
t	triplet

Obsah

1. Úvod.....	3
2. Přehled současného stavu problematiky	5
2.1. S-Adenosyl-L-homocystein hydrolasa a její inhibitory	5
2.1.1. 3-(Adenin-9-yl)-2-hydroxypropanová kyselina (AHPA)	6
2.1.1.1. Syntéza.....	7
2.1.1.2. Vliv modifikace purinové báze na biologickou aktivitu.....	8
2.2. Willardiin	8
2.3. Reakce purinů	10
2.4. Kondenzace karbonylových sloučenin s kyselinou malonovou a jejími deriváty	11
2.4.1. Kondenzace s kyselinou malonovou.....	13
2.4.2. Kondenzace s kyselinou kyanoctovou	13
2.4.3. Kondenzace 2-(adenin-9-yl)ethanalů a 2-(adenin-9-yl)propanalů s kyselinou malonovou	14
3. Cíle diplomové práce	16
4. Výsledky a diskuse	17
4.1. Syntéza C ⁶ -substituovaných derivátů 9-(2,2-diethoxyethyl)purinu a 2-amino-9-(2,2-diethoxyethyl)purinu	17
4.2. Kyanhydrinová syntéza.....	18
4.3. Streckerova syntéza	19
4.4. Knoevenagelova kondenzace C ⁶ -substituovaných 2-(purin-9-yl)ethanalů a příbuzných látek.....	22
4.4.1. Kondenzace C ⁶ -substituovaných 2-(purin-9-yl)ethanalů s kyselinou malonovou.....	22
4.4.2. Příprava výchozích látek pro kondenzace s kyselinou malonovou a kyanoctovou.....	23
4.4.3. Kondenzace s kyselinou malonovou a kyanoctovou ve vodném prostředí	28
5. Experimentální část.....	31
6. Závěr	65
7. Literatura.....	66

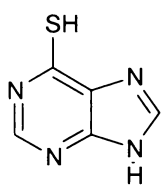
Biologie 2017

1. Úvod

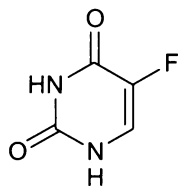
Nukleové kyseliny (NK) patří mezi nejrozšířenější přírodní makromolekulární látky. Funkce DNA spočívá v uchování a přenosu genetické informace, RNA se podílí na syntéze bílkovin. Složky nukleových kyselin – nukleotidy, nukleosidy a purinové a pyrimidinové báze – mají ještě další funkce v organismu: jsou součástí koenzymů (NAD^+ , NADP^+ , FAD či koenzymu A), slouží k přenosu energie (ATP, GTP) nebo zprostředkovávají transdukcii buněčných signálů pomocí cAMP, příp. cGMP¹.

Chemie složek nukleových kyselin se zabývá jejich strukturální modifikací (přípravou tzv. antimetabolitů). Antimetabolity mohou významným způsobem ovlivňovat děje v buňkách, čehož se využívá při terapii různých onemocnění. Některé z těchto látek vstupují díky své strukturální podobnosti k přirozenému substrátu do enzymových reakcí, které tak mohou inhibovat nebo vyvolají vznik modifikovaného produktu neschopného další metabolické přeměny. Antimetabolity mohou dále působit jako agonisté či antagonisté receptorů nebo se inkorporovat do NK a měnit jejich vlastnosti nebo funkci, případně zastavit růst řetězce při polymeraci. Na principu antimetabolitů jsou založena cytostatika, antivirotika, některé antiprotozoální preparáty nebo látky regulující metabolická onemocnění.

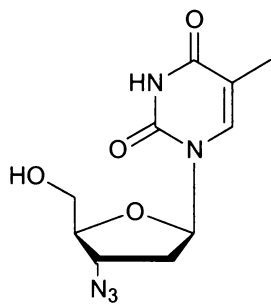
Z derivátů nukleobází používaných jako léčiva jsou to např. 6-sulfanylpurin (1) nebo 5-fluoruracil (2), které mají cytostatické účinky². Nukleosidové deriváty AZT (3) nebo didanosin (4) se používají v terapii HIV³, kde inhibují reversní transkripci virové RNA. Další skupinou léčiv jsou tzv. acyklická analoga nukleosidů, příkladem je acyklovir⁴ (5), široce používaný proti herpesvirům, a acyklická analoga nukleotidů. Jejich příkladem je adefovir (6), používaný pro léčbu hepatitidy B, nebo tenofovir (7), schválený pro léčbu AIDS (obr. 1)^{3,4}.



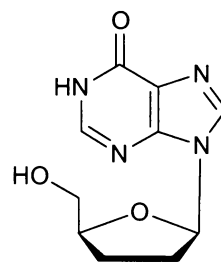
1



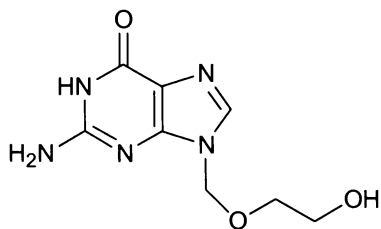
2



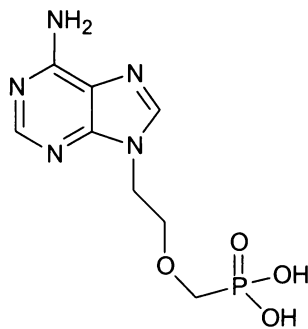
3



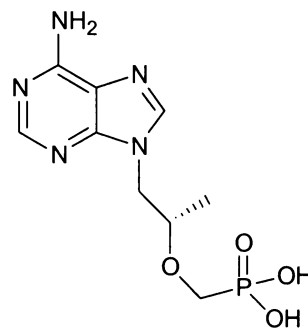
4



5



6



7

Obr. 1

2. Přehled současného stavu problematiky

2.1. S-Adenosyl-L-homocystein hydrolasa a její inhibitory

Jednou z nepřímých reakcí, která vyvolává antimetabolický účinek, je reakce katalyzovaná S-adenosyl-L-homocystein hydrolasou (SAH-hydrolasa). SAH-hydrolasa je klíčový enzym v regulaci transmethylačních reakcí, které využívají S-adenosylmethionin (SAM) jako zdroj methylové skupiny. Přenosem methylové skupiny ze SAM methyltransferasou na molekulu akceptoru vzniká S-adenosyl-L-homocystein (SAH). SAH-hydrolasa katalyzuje hydrolýzu SAH na adenosin (Ado) a L-homocystein (Hcy). Reakce je reverzibilní, její rovnováha je posunuta ve směru hydrolýzy, protože Ado a Hcy jsou dále metabolizovány. Inhibicí SAH-hydrolasy se hromadí SAH, který je velmi silným inhibitorem transmethylací. Blokováním methylačních reakcí dochází k tlumení rychle proliferujících systémů. Protivirový účinek je způsoben omezením tzv. cappingu, tj. methylací mRNA (schéma 1)^{5,6}.

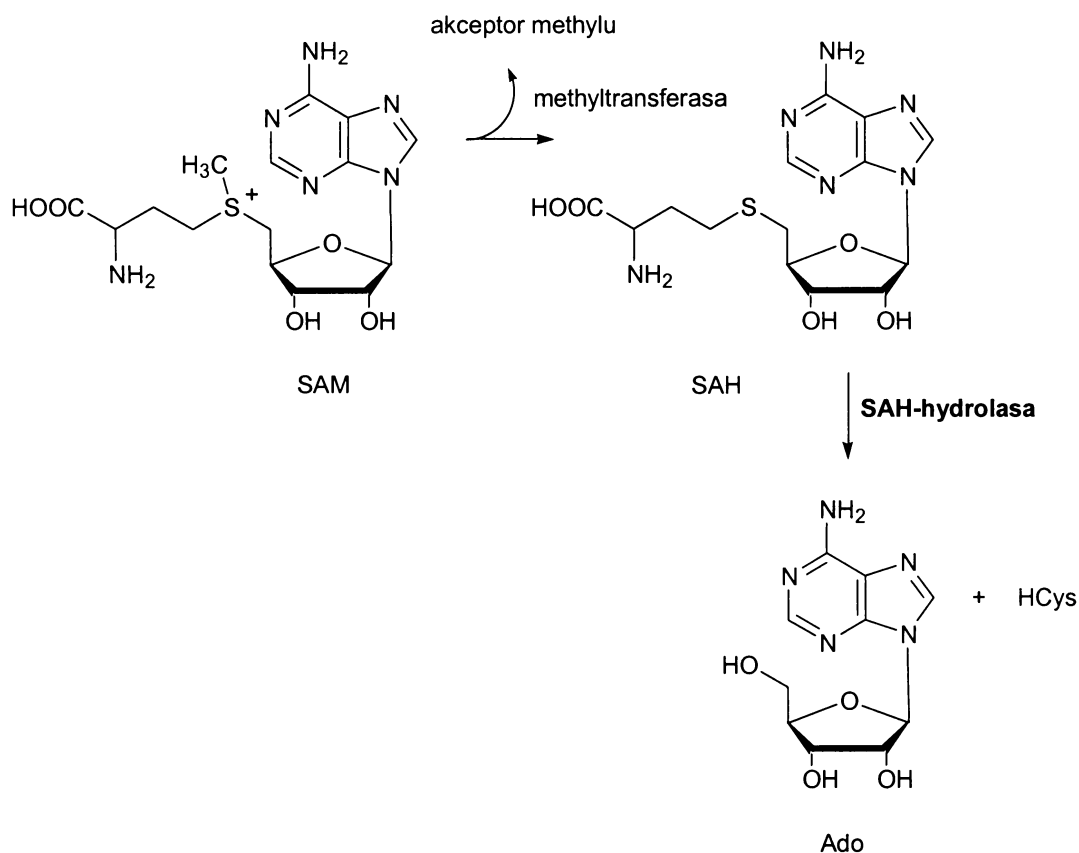
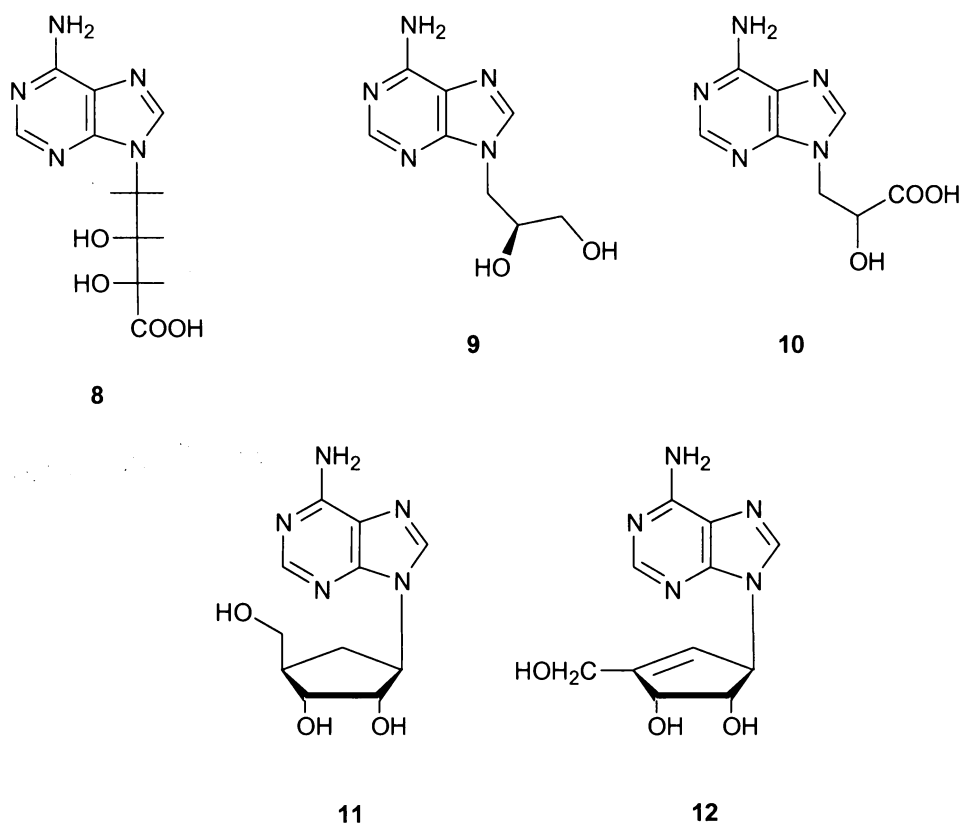


Schéma 1

K inhibitorům SAH-hydrolasy patří acyklické analogy adenosinu D-eritadenin^{5,7} (**8**) (izolovaný z jedlé japonské houby *Lentinus edodes shiitake*, houževnatec šitake), (*S*)-DHPA (**9**) a (*RS*)-AHPA (**10**). Z karbocyklických nukleosidů jsou to např. aristeromycin (**11**) a neplanocin A (**12**) (obr. 2)⁵.



Obr. 2

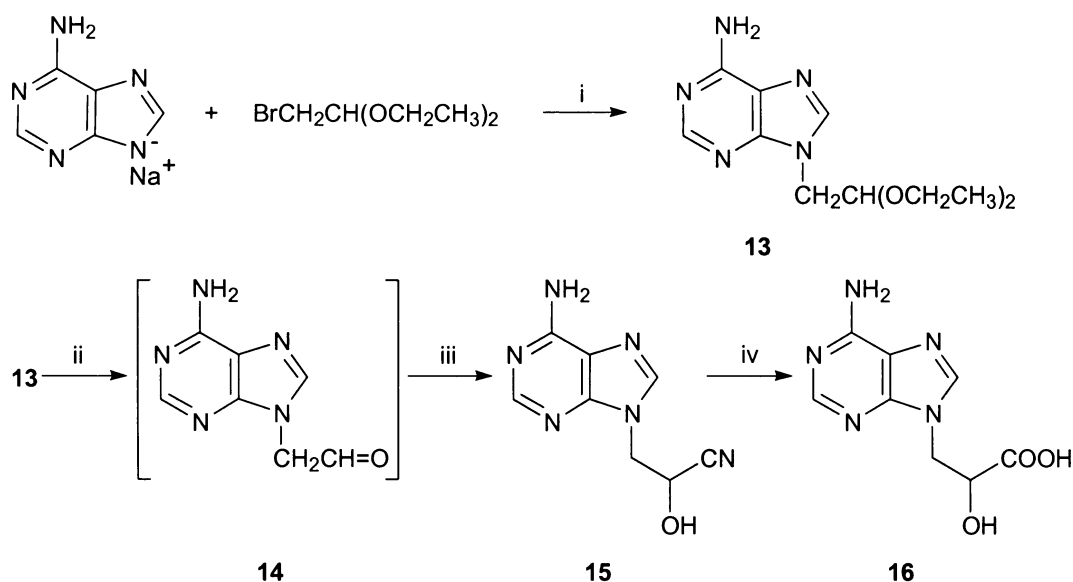
2.1.1. 3-(Adenin-9-yl)-2-hydroxypropanová kyselina (AHPA)

(*RS*)-3-(Adenin-9-yl)-2-hydroxypropanová kyselina (AHPA, **10**, obr. 2) je ireverzibilní inhibitor SAH-hydrolasy. Působí chemosterilizačně na některé druhy hmyzu⁸, zabraňuje diferenciaci kořenových buněk rostlin⁹ a má významné protivirové účinky proti širokému spektru DNA a RNA virů¹⁰. Z DNA virů jsou to zejména poxviry – vakcinie (kravské neštovice, virus se používá pro výrobu rekombinantních vakcín; při očkování může dojít ke vzniku závažného onemocnění¹¹) a variola (pravé neštovice, hrozba biologického terorizmu¹²), z RNA virů jsou to viry čeledi Paramyxoviridae (spalničky, příušnice) nebo Reoviridae. Protivirový účinek AHPA je zesílen převedením na alkylestery¹⁰. Esterifikace karboxylové skupiny zvyšuje

lipofilní charakter molekuly a tím umožňuje snazší průnik přes buněčnou membránu. V buňce následně dochází k hydrolyze esteru a uvolnění karboxylové kyseliny.

2.1.1.1. Syntéza

Syntéza¹³ AHPA vychází z 9-(2,2-diethoxyethyl)adeninu (**13**), který byl připraven reakcí sodné soli adeninu s diethylacetalem bromacetaldehydu v dimethylformamidu za zvýšené teploty. 9-(2,2-Diethoxyethyl)adenin (**13**) byl hydrolyzován na volný aldehyd **14** (stabilní pouze v kyselém a neutrálním prostředí vzhledem k možné autokondenzaci aldehydické skupiny s aminoskupinou adeninu), který byl působením kyanidu sodného v neutrálním prostředí převeden na kyanhydrin **15** a následně hydrolyzován na α -hydroxykyselinu **16** (schéma 2).



i) DMF, 100 °C; ii) H⁺; iii) NaCN; iv) H⁺.

Schéma 2

V nedávné době byla publikována syntéza opticky aktivních *N*⁶-substituovaných derivátů 3-(adenin-9-yl)-2-hydroxypropanové kyseliny **19** resp. **20**. Syntéza je založena na nukleofilním otevření chirálních esterů oxirankarboxylových kyselin **17** resp. **18** nukleobází v přítomnosti báze (NaH, Cs₂CO₃). Reakce probíhá regioselektivně za vzniku α -hydroxyesterů (schéma 3)¹⁴.

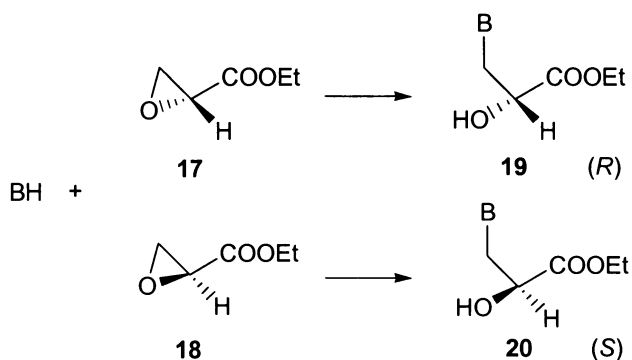
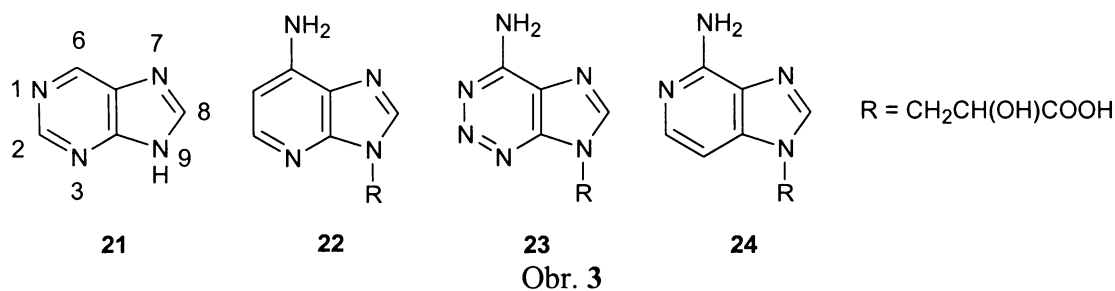


Schéma 3

2.1.1.2. Vliv modifikace purinové báze na biologickou aktivitu

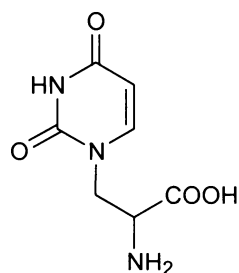
Pro testování závislosti biologické aktivity na struktuře látky byly připraveny deriváty AHPA s modifikovanou purinovou bází. Dusíkové atomy N^1 a N^3 purinu **21** byly nahrazeny methinovým seskupením¹⁵ a dále byla připravena tzv. 2-azaanaloga, kde uhlíkový atom v poloze 2 byl nahrazen dusíkem¹⁶. Syntéza těchto látek je stejná jako u AHPA, avšak vychází z již modifikované purinové báze. Protože 1-deazaderivát **22** neinhibuje SAH-hydrolasu, je atom dusíku v poloze 1 zřejmě nutný pro vazbu látky k enzymu; rovněž u 2-azaderivátu **23** vedla tato substituce ke snížení inhibice enzymu. Naopak 3-dezaanalog **24** inhiboval SAH-hydrolasu, z čehož plyne, že atom dusíku v poloze 3 není nutný pro vazbu k enzymu (obr. 3).



Obr. 3

2.2. Willardiin

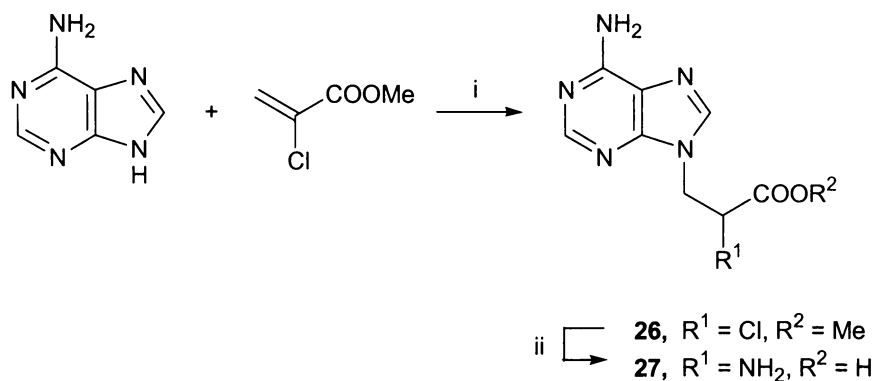
L- β -(Uracil-1-yl)alanin (willardiin, **25**, obr. 4) je přírodní látka, která byla nalezena v semenech akácie a mimózy¹⁷. Willardiin je tvořen pyrimidinovou bází substituovanou v poloze N^1 L-alaninem¹⁸.



25

Obr. 4

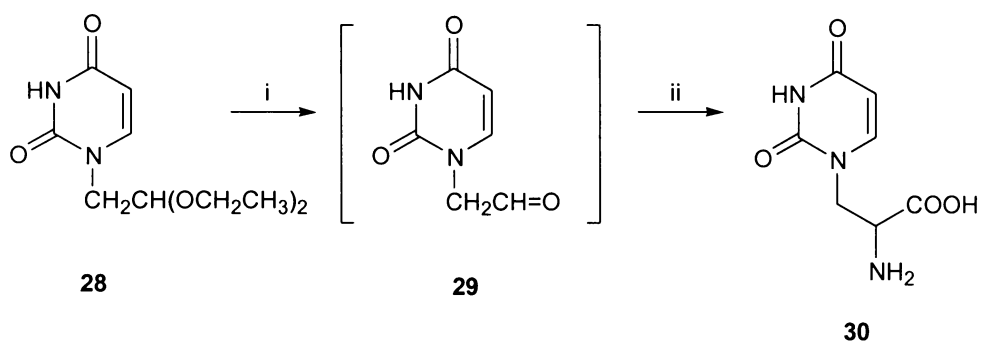
Ve studii zaměřené na přípravu látek s potenciálními biologickými účinky byly připraveny deriváty willardiinu, kde byl zaměněn uracil za další pyrimidinové a také purinové báze^{19,20,21}. Pro syntézu alaninových derivátů nebylo možno použít alkylation purinu α -aminokyselinou obsahující aktivovaný uhlík (např.: methylester 3-(*p*-toluensulfonyl)alaninu), protože jako hlavní produkt vznikal produkt eliminace, tedy dehydroalanin. Popsaná syntéza 3-(adenin-9-yl)-2-aminopropanové kyseliny (**27**) proto vycházela z Michaelovy adice methyl α -chlorakrylátu na adenin za vzniku derivátu **26**, který byl kyselou hydrolyzou a následnou amonolýzou vzniklé α -chlorkyseliny převeden na α -aminokyselinu **27** (schéma 4)^{18,22}.



i) 1. NaOMe; 2. H^+ ; ii) 1. H^+ ; 2. NH_3 .

Schéma 4

Jinou možností přípravy willardiinu a jeho derivátů je syntéza vycházející z 1-(2,2-diethoxyethyl)uracilu **28**, který byl získán cyklizací N-(2,2-diethoxyethyl)-N'-(3-ethoxyakryloyl)močoviny²³ nebo přímou alkylation uracilu diethylacetalem bromacetaldehydu^{20,24}. Kyselou hydrolyzou látky **28** byl získán volný aldehyd **29**, který poskytl Streckerovou reakcí α -aminokyselinu **30** (schéma 5). Výtěžky obou popsaných syntéz se pohybují okolo 50%.



i) H^+ ; ii) 1. NaCN, NH_4OH , 2. H^+

Schéma 5

2.3. Reakce purinů

Mnoho biologicky aktivních látek, derivátů nukleobází, nukleosidů a nukleotidů má ve své struktuře obsaženu chemicky modifikovanou nukleobázi. Jde např. o záměnu methylové skupiny za halogen, oxo za thio, hydroxy za sulfanyl, o aza a deazaderiváty a v neposlední řadě také o N^6 -substituci adeninových a 2,6-diaminopurinových derivátů²⁵.

Nejvhodnější metodou zavádění substituentů na purinový systém je nukleofilní substituce halogenderivátů²⁶. Na schématu 6 jsou znázorněny některé z možných reakcí 2,6-dichlorpurinu 31. Reakce s amoniakem, primárními nebo sekundárními aminy poskytuje výhradně produkt substituce v poloze 6 (32). Také bazická hydrolyza a reakce s thiomocovinou probíhá za vzniku 6-oxo resp. 6-sulfanylpurinu 33 resp. 34. Elektrofilní substitucí atomu dusíku v poloze 9 (např. převedením na ribosid resp. deoxyribosid, alkylací nebo acylací, 35) dojde k dostatečné aktivaci polohy 2, která teprve umožní nukleofilní substituci i v této poloze. Pro regioselektivní zavádění alkyl, alkenyl a aryl substituentů do poloh 2, 6 a 8 jsou důležité cross-coupling reakce²⁷.

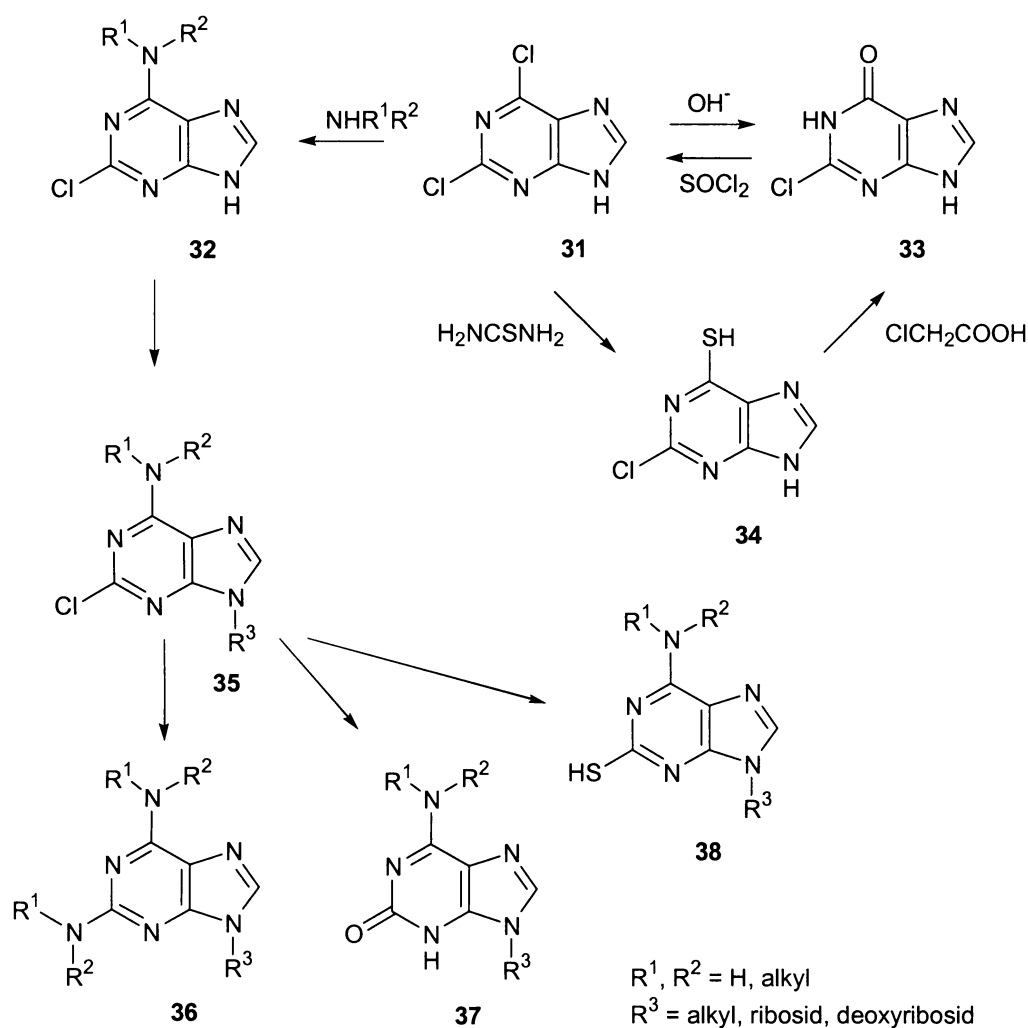


Schéma 6

2.4. Kondenzace karbonylových sloučenin s kyselinou malonovou a jejími deriváty

Kondenzace karbonylových sloučenin s malonovou kyselinou a jejími deriváty je velmi rozšířenou reakcí. Touto metodou byly připraveny i některé acyklické analogy nukleosidů^{7,13}.

Kyselina malonová a její deriváty se vyznačují velmi reaktivní methylenovou skupinou, která je schopna kondenzovat s aldehydy a ketony za vzniku derivátů kyseliny alkyliden- či arylidenmalonové **39** nebo nenasycených monokarboxylových kyselin **40**. Jako katalyzátory těchto reakcí se nejčastěji používají látky bazické povahy jako je amoniak, primární a sekundární aminy (tzv. Knoevenagelova kondenzace)^{28,29}. Jako rozpouštědlo a zároveň katalyzátor je možné také použít pyridin, což je označováno jako Doebnerova varianta. V přítomnosti amoniaku nebo

primárního aminu zpravidla dochází ke vzniku β -aminokyselin **41**, syntéza je označována jako Rhodinova. Na schématu 7 jsou znázorněny příklady kondenzací kyseliny malonové.

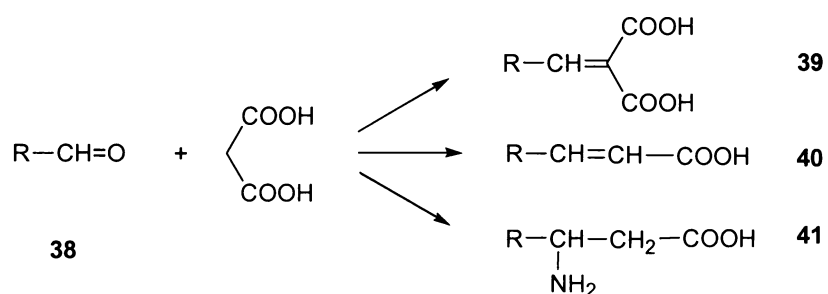
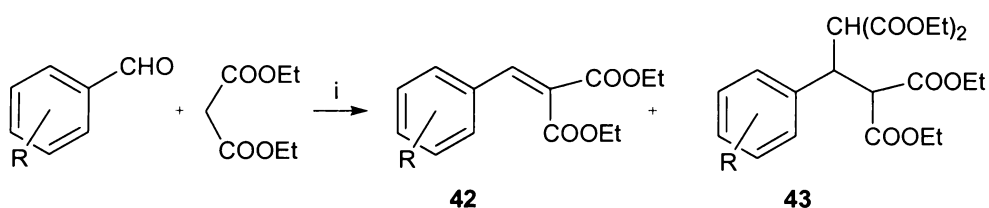


Schéma 7

Knoevenagelovu kondenzaci je také možné katalyzovat kyselinou octovou a jejími solemi^{30,31,32} nebo Lewisovými kyselinami. Z Lewisových kyselin je to např.: TiCl_4 , kondenzace probíhá snadno s aldehydy i některými ketony za vzniku α,β -nenasycených kyselin^{33,34}, nebo ZnCl_2 v acetanhydridu^{35,36}. Pro komplexy $[\text{bpy}]\text{Cl}\cdot x\text{AlCl}_3$ a $[\text{bmim}]\text{Cl}\cdot x\text{AlCl}_3$ byly popsány kondenzace substituovaného benzaldehydu s diethylmalonátem za vzniku esteru α,β -nenasycené dikarboxylové kyseliny **42** a produktu Michaelovy adice **43** (schéma 8)³⁷. Dalšími vhodnými katalyzátory pro Knoevenagelovu kondenzaci jsou komplexní hydridy ruthenia, např.: $\text{RuH}_2(\text{PPh}_3)_4$ ^{38,39,40}. Reakci je možné provádět i v heterogenním prostředí za katalýzy anorganickými látkami⁴¹.



i) $[\text{bpy}]\text{Cl}\cdot x\text{AlCl}_3$ nebo $[\text{bmim}]\text{Cl}\cdot x\text{AlCl}_3$

Schéma 8

U derivátů malonové kyseliny stoupá reaktivita methylenové skupiny od kyseliny malonové přes její poloestery, poloamidy a kyselinu kyanooctovou k diesterům, esteru kyseliny kyanooctové, kyanacetamidu a nitrilu malonové kyseliny. Kyselina malonová v přebytku silné báze nereaguje vůbec, neboť dochází k vytvoření

dvojnásobného karboxylátového aniontu, který znemožňuje disociaci methylenové skupiny^{28,42}.

Mechanismus⁴³ kondenzace diethylesteru kyseliny malonové s aldehydem za bazické katalýzy (*sek. amin*) je znázorněn na schématu 9.

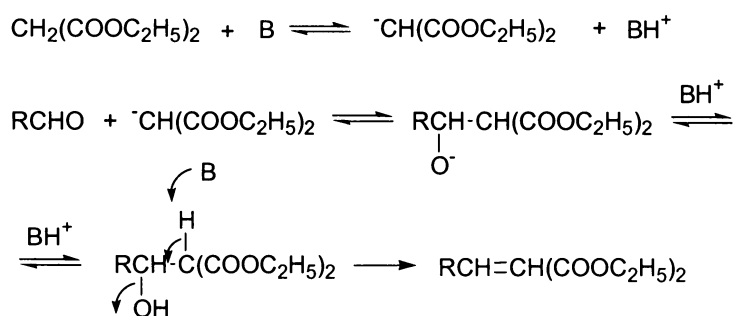


Schéma 9

2.4.1. Kondenzace s kyselinou malonovou

S kyselinou malonovou kondenzují v preparativním měřítku pouze aldehydy, ketony reagují zřídka a jen v malém výtěžku. S aromatickými aldehydy je možné provádět reakci bez katalyzátoru, čímž je vlastně umožněna kyselá katalýza samotnou kyselinou malonovou. Dále byly popsány kondenzace katalyzované kyselinou octovou nebo octanem amonným v kyselině octové probíhající zpravidla za vzniku α,β -nenasycených karboxylových kyselin.

Kondenzace s kyselinou malonovou nejnáze probíhají za podmínek bazické katalýzy amoniakem, primárními nebo sekundárními aminy. Za těchto podmínek byl popsán vznik α,β -nenasycených i β,γ -nenasycených⁴⁴ karboxylových kyselin nebo jejich směsí (zejména u alifatických aldehydů)⁴⁵.

Pokud reakce probíhá za chladu, získáme zpravidla dikarboxylovou kyselinu, za zvýšené teploty dochází k její dekarboxylaci²⁸.

2.4.2. Kondenzace s kyselinou kyanoctovou

Kyselina kyanoctová je reaktivnější než kyselina malonová a reaguje s aldehydy i ketony za vzniku alkylden- či arylidenkyanoctové kyseliny, k dekarboxylaci dochází méně často. Reakci je možno provádět bez katalyzátoru, katalyzovat kyselinou octovou, solemi organických kyselin s amoniakem, primárními

nebo sekundárními aminy. Byly také popsány reakce aldehydů s vodným roztokem sodné soli kyseliny kyanoctové v přítomnosti alkalického hydroxidu.

Při kondenzacích s kyselinou kyanoctovou byla také pozorována izomerizace dvojně vazby za vzniku β,γ -izomeru nebo směsi α,β a β,γ -izomerů (zejména u alifatických aldehydů a ketonů). V některých případech byla izolována směs *cis* a *trans* izomerů^{28,42}.

2.4.3. Kondenzace 2-(adenin-9-yl)ethanalů a 2-(adenin-9-yl)propanalů s kyselinou malonovou

V literatuře⁷ byla popsána reakce diethylacetalu 2-(adenin-9-yl)ethanalů (44) s kyselinou malonovou ve vodném prostředí za vzniku izomerní β,γ -nenasycené 4-(adenin-9-yl)but-3-enové kyseliny (46b) místo očekávané α,β -nenasycené karboxylové kyseliny 46a. Ve vodném prostředí nejprve dochází k hydrolyze acetalu za uvolnění aldehydu 45, katalyzátorem je samotná kyselina malonová, a pak ke kondenzaci a dekarboxylaci (schéma 10).

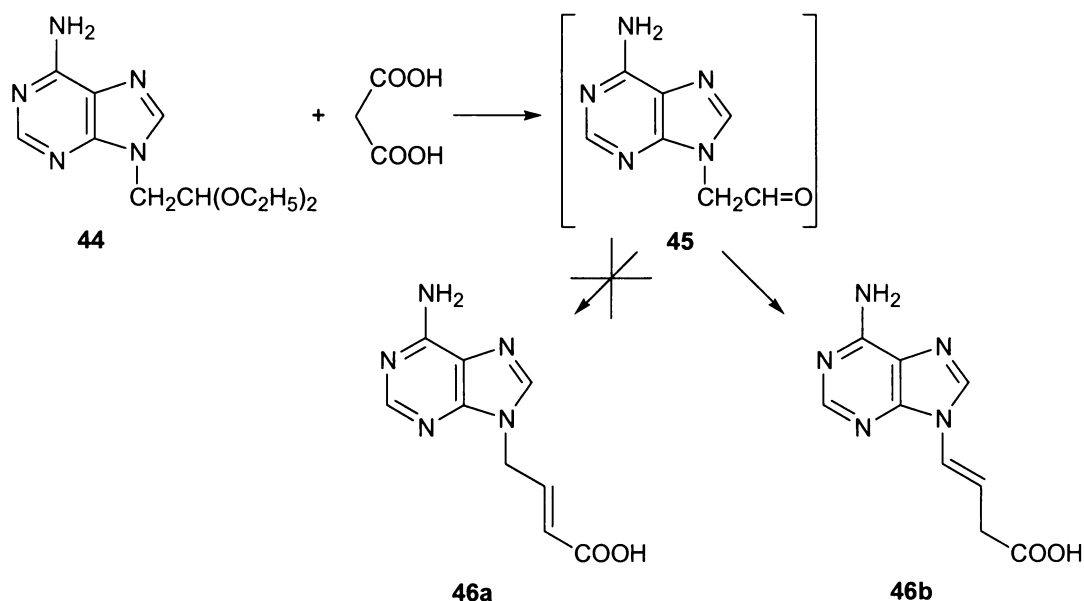


Schéma 10

Dále byla popsána¹³ reakce kyseliny malonové s diethylacetalem 2-(adenin-9-yl)propanalů (47), homologického k výše uvedenému 2-(adenin-9-yl)ethanalů (44), ve vodném prostředí za vzniku β -hydroxykyseliny 49 (schéma 11). Mechanismus izomerizace dvojně vazby v předchozím případě je proto v uvedené práci vysvětlován adicí vody na vzniklou dvojnou vazbu (α,β) a následnou β,γ -eliminací.

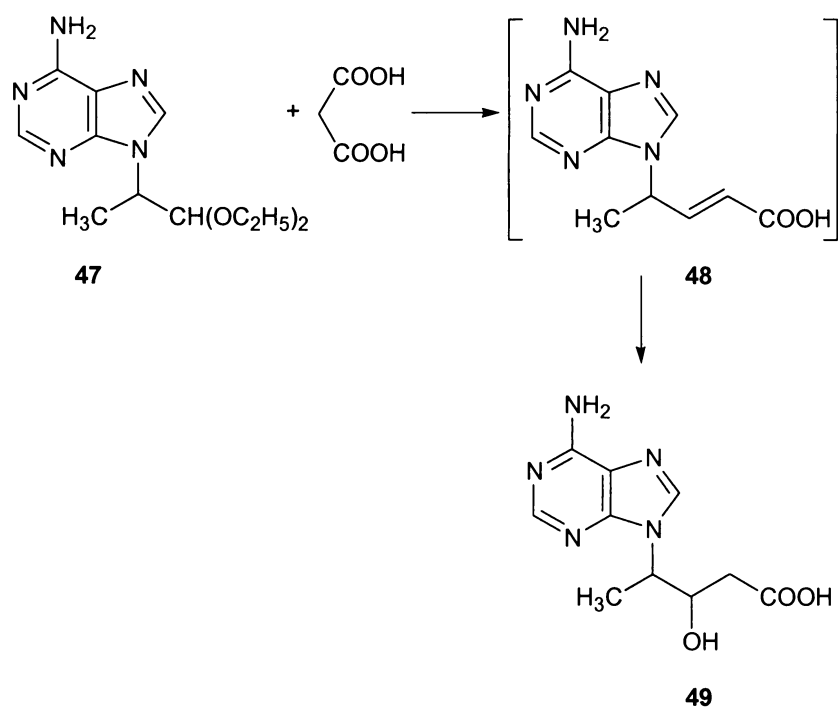


Schéma 11

3. Cíle diplomové práce

Cílem mé diplomové práce byla příprava nových derivátů:

1. 3-(adenin-9-yl)-2-hydroxypropanové kyseliny
2. 3-(adenin-9-yl)-2-aminopropanové kyseliny

nesoucích biologicky aktivních nukleobáze (N^6 -substituované báze, guanin, 6-sulfanylpurin apod.) a jejich esterů pro zjištění závislosti mezi strukturou a biologickou aktivitou těchto látek. Chtěli jsme také ověřit zda je inhibice S-adenosyl-L-homocystein hydrolasy jediným mechanismem biologického účinku a zda N^6 -substituované deriváty nemohou být substráty AMP-deaminázy a sloužit jako profarmaka AHPA.

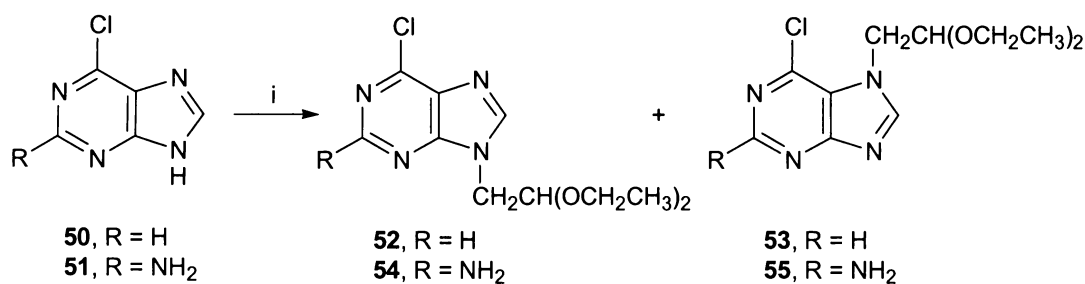
Ve druhé části své práce jsem se zabývala studiem reakce C^6 -substituovaného 2-(purin-9-yl)ethanalu a příbuzných látek s kyselinou malonovou a kyanoctovou ve vodném prostředí. Naším cílem bylo získat další informace o mechanismu této reakce.

Nově připravené látky byly testovány na cytostatickou, imunomodulační a protivirovou aktivitu.

4. Výsledky a diskuse

4.1. Syntéza C⁶-substituovaných derivátů 9-(2,2-diethoxyethyl)purinu a 2-amino-9-(2,2-diethoxyethyl)purinu

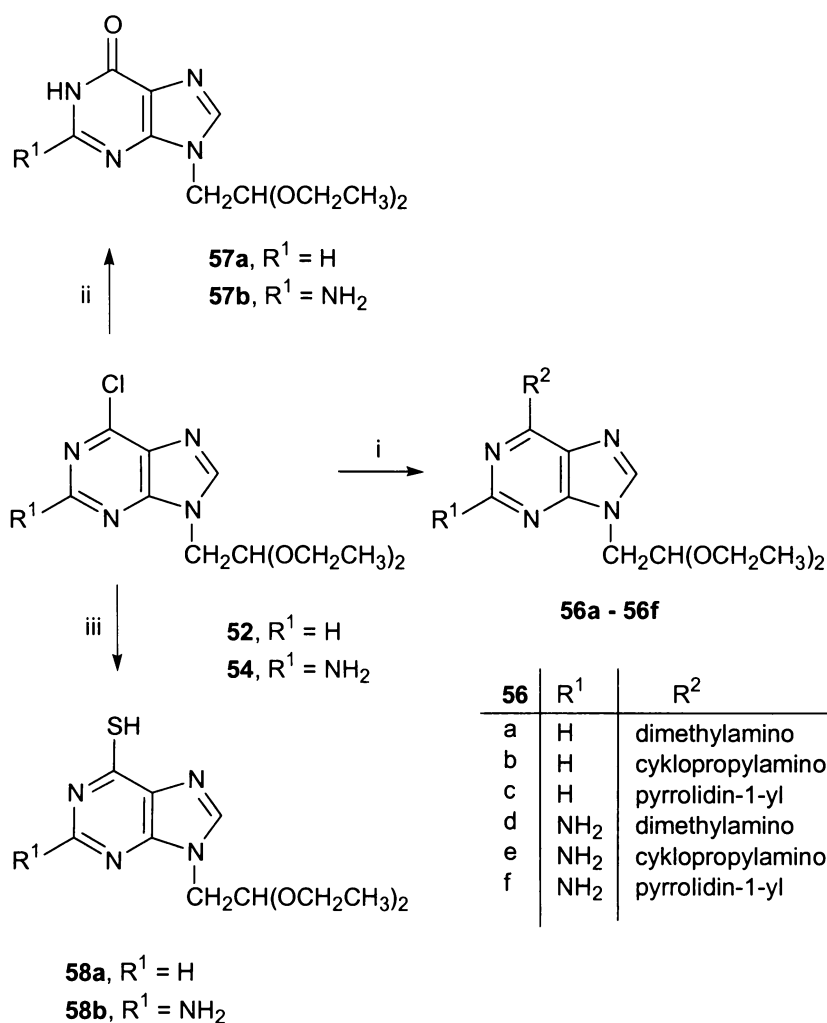
Při syntéze derivátů 2-hydroxypropanových a 2-aminopropanových kyselin jsem vycházela z 9-(2,2-diethoxyethyl)-6-chlorpurinu (**52**) a 2-amino-9-(2,2-diethoxyethyl)-6-chlorpurinu (**54**), které jsou snadno dostupné alkyací 6-chlorpurinu (**50**) resp. 2-amino-6-chlorpurinu (**51**) diethylacetalem bromacetaldehydu v DMF za přítomnosti báze (Cs₂CO₃ nebo NaH nebo DBU)¹³; nejlepší výtěžky jsem získala použitím Cs₂CO₃. Za těchto podmínek vzniká přednostně produkt N⁹ alkylace **52** a **54**, jako minoritní byl izolován N⁷ izomer **53** a **55** (schéma 12).



i) BrCH₂CH(OCH₂CH₃)₂, Cs₂CO₃, DMF, 100 °C.

Schéma 12

6-Dimethylamino analogy **56a** a **56d** byly připraveny reakcí 6-chlorderivátů **52** a **54** s dimethylamonium N,N-dimethylkarbamátem v acetonitrilu. Reakcí látek **52** a **54** s cyklopropylaminem nebo pyrrolidinem ve vřouícím ethanolu byly získány odpovídající N⁶-substituované deriváty **56b** a **56c**, **56e** a **56f**²⁵. Bazická hydrolýza 6-chlor derivátů **52** a **54** v přítomnosti DABCO poskytla derivát hypoxantinu **57a** a guaninu **57b**. 6-Sulfanyl deriváty **58a** a **58b** byly připraveny reakcí látek **52** a **54** s thiomčovinou (schéma 13)⁴⁶.



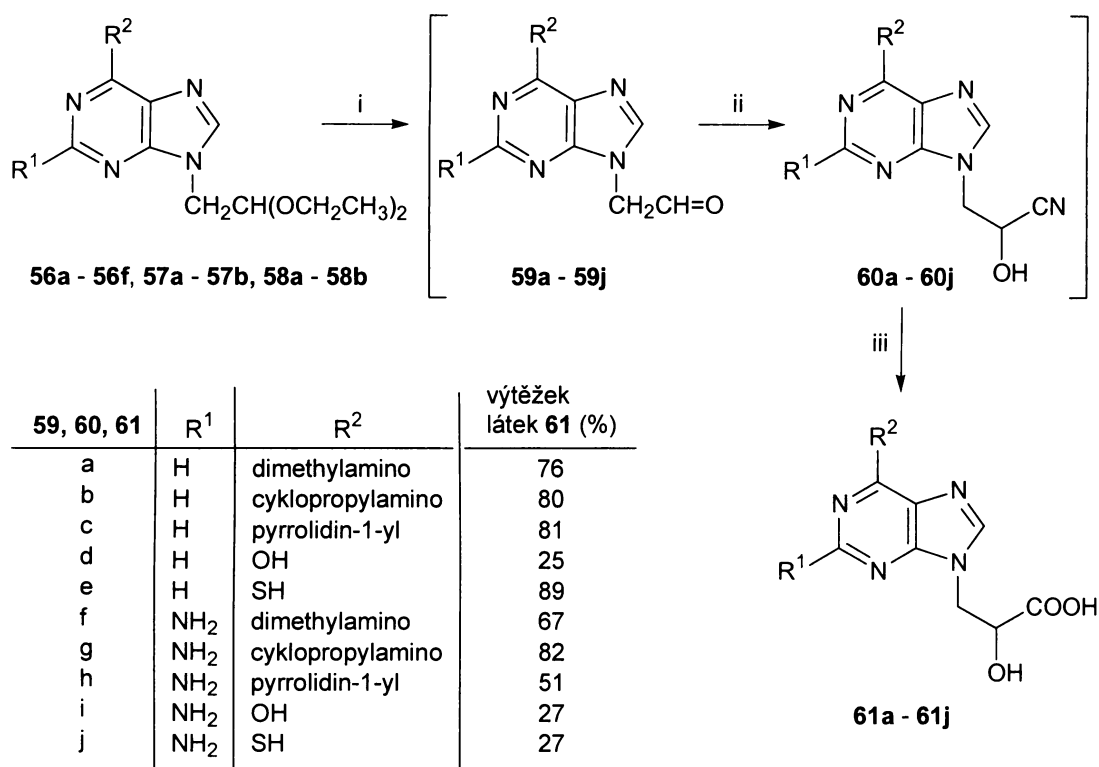
i) (CH₃)₂NH⁺(CH₃)₂NCOO⁻ nebo cyklopropylamin nebo pyrrolidin; ii) DABCO, OH⁻;
 iii) NH₂CSNH₂.

Schéma 13

4.2. Kyanhydrinová syntéza

Klíčovým krokem syntézy C⁶-substituovaných racemických 3-(purin-9-yl)-2-hydroxypropanových kyselin **61** je kyanhydrinová syntéza⁴⁷. Výhodou této reakce je provedení v jednom kroku bez nutnosti izolace meziproduktů. Připravené C⁶-substituované 9-(2,2-diethoxyethyl)puriny **56**, **57** a **58** byly hydrolyzovány zředěnou kyselinou chlorovodíkovou za zvýšené teploty na aldehyd **59**, po ochlazení reakční směsi na -5 °C byl přidán nadbytek kyanidu draselného a reakční směs byla okamžitě mírně okyselena kyselinou octovou (pH ~ 6) a míchána přes noc. Vzniklý kyanhydrin **60** byl hydrolyzován na karboxylovou kyselinu **61** přidávkem kyseliny chlorovodíkové do reakční směsi. Deionizovaná reakční směs byla čištěna

chromatografií na iontoměničích (anex). Přehled připravených látek a výtěžky jsou shrnuty v tabulce (schéma 14). Malý výtěžek u některých látek byl způsoben vznikem vedlejších produktů a také jejich velmi malou rozpustností, což působilo problémy při jejich izolaci.



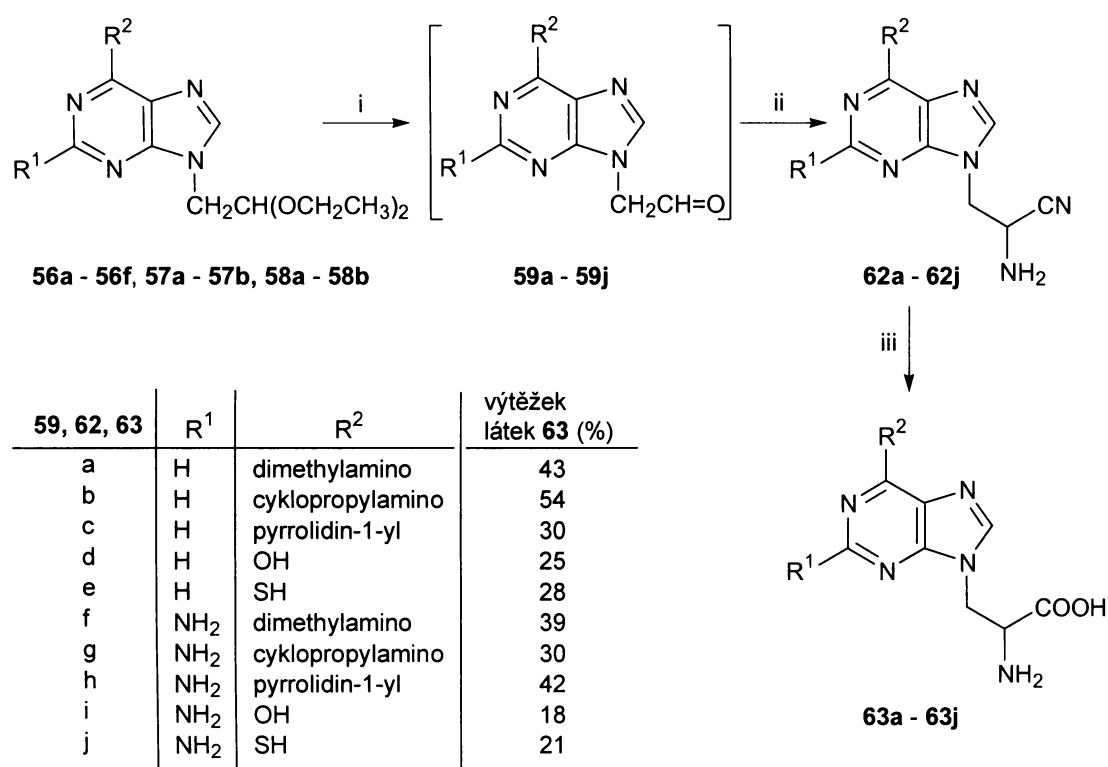
i) H⁺; ii) KCN; iii) H⁺.

Schéma 14

4.3. Streckerova syntéza

Dále jsem se zabývala přípravou C⁶-substituovaných derivátů 2-amino-3-(purin-9-yl)propanové kyseliny a 2-amino-3-(2-aminopurin-9-yl)propanové kyseliny 63, což jsou vlastně analoga připravených hydroxypropanových kyselin 61. Při jejich syntéze jsem vycházela z již uvedených C⁶-substituovaných 9-(2,2-diethoxyethyl)purinů 56, 57 a 58, které za podmínek Streckerovy reakce poskytly α-aminokyseliny^{48,49}. Kyselou hydrolyzou látek 56, 57 a 58 byl získán volný aldehyd 59, který reagoval s kyanidem draselným v přítomnosti chloridu amonného v 25% roztoku amoniaku za vzniku příslušného α-aminonitrilu propanové kyseliny 62. Reakční směs byla nejprve deionizována a poté hydrolyzována zředěnou

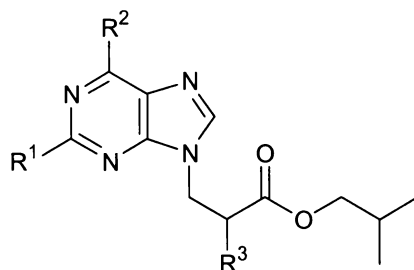
kyselinou chlorovodíkovou na karboxylovou kyselinu. Tento postup se ukázal vhodnější než postup použitý při syntéze hydroxypropanových kyselin **61**, protože pokud byl vzniklý α -aminonitril hydrolyzován bez předchozí deionizace, byly výtěžky α -aminokyselin velmi nízké (schéma 15). Výtěžky této syntézy byly celkově nižší v porovnání s kyanhydrinovou syntézou, protože při reakcích vznikaly ještě další produkty, pravděpodobně kvůli bazicitě reakční směsi a z toho plynoucí možné autokondenzaci aldehydů **59**.



i) H⁺; ii) KCN, NH₄OH, NH₄Cl; iii) H⁺.

Schéma 15

Z vybraných α -hydroxykyselin **61** a α -aminokyselin **63** byly pro biologické testy připraveny kyselí katalyzovanou esterifikací¹³ 2-methylpropyl estery **64** (obr. 5). Přehled připravených esterů je v tabulce 1.



64a - 64j

Obr. 5

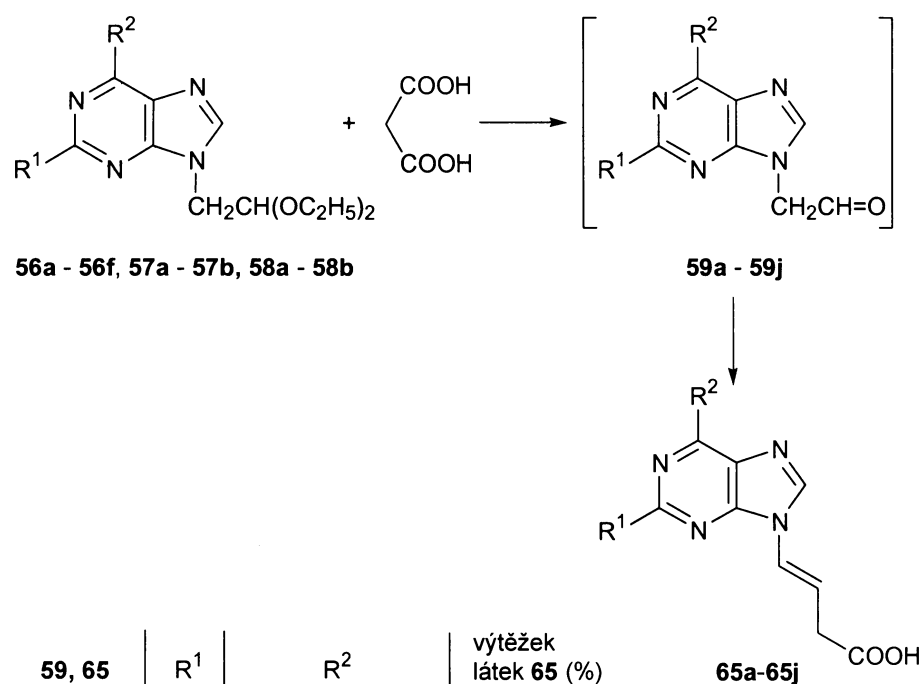
64	R^1	R^2	R^3
a	H	dimethylamino	OH
b	H	cyklopropylamino	OH
c	H	pyrrolidin-1-yl	OH
d	NH ₂	dimethylamino	OH
e	NH ₂	cyklopropylamino	OH
f	NH ₂	OH	OH
g	H	SH	OH
h	H	dimethylamino	NH ₂
i	H	cyklopropylamino	NH ₂
j	NH ₂	pyrrolidin-1-yl	NH ₂

Tabulka 1

4.4. Knoevenagelova kondenzace C⁶-substituovaných 2-(purin-9-yl)ethanalů a příbuzných látek

4.4.1. Kondenzace C⁶-substituovaných 2-(purin-9-yl)ethanalů s kyselinou malonovou

Stejně výchozí látky jako pro přípravu substituovaných α -hydroxy- a α -aminopropanových kyselin **61** a **63**, C⁶-substituované 9-(2,2-diethoxyethyl)puriny **56**, **57** a **58**, jsem použila i pro přípravu butenových kyselin **65** kondenzací s kyselinou malonovou ve vodném prostředí. Stejně jako u popsané reakce adeninového derivátu⁷ s kyselinou malonovou i při těchto reakcích vznikly pouze β,γ -nenасыенé butenové kyseliny, tedy látky s přesmyknutou dvojnou vazbou. Dvojně vazby mají *trans* konfiguraci. Konfigurace byla určena z velikosti interakčních konstant $J(1',2') \sim 14,5$ Hz. V některých případech byly vzniklé kyseliny natolik nerozpustné ve vodě, že vykristalizovaly přímo z reakční směsi (schéma 16).



59, 65	R ¹	R ²	výtěžek látek 65 (%)
a	H	dimethylamino	60
b	H	cyklopropylamino	70
c	H	pyrrolidin-1-yl	64
d	H	OH	59
e	H	SH	30
f	NH ₂	dimethylamino	54
g	NH ₂	cyklopropylamino	50
h	NH ₂	pyrrolidin-1-yl	35
i	NH ₂	OH	60
j	NH ₂	SH	42

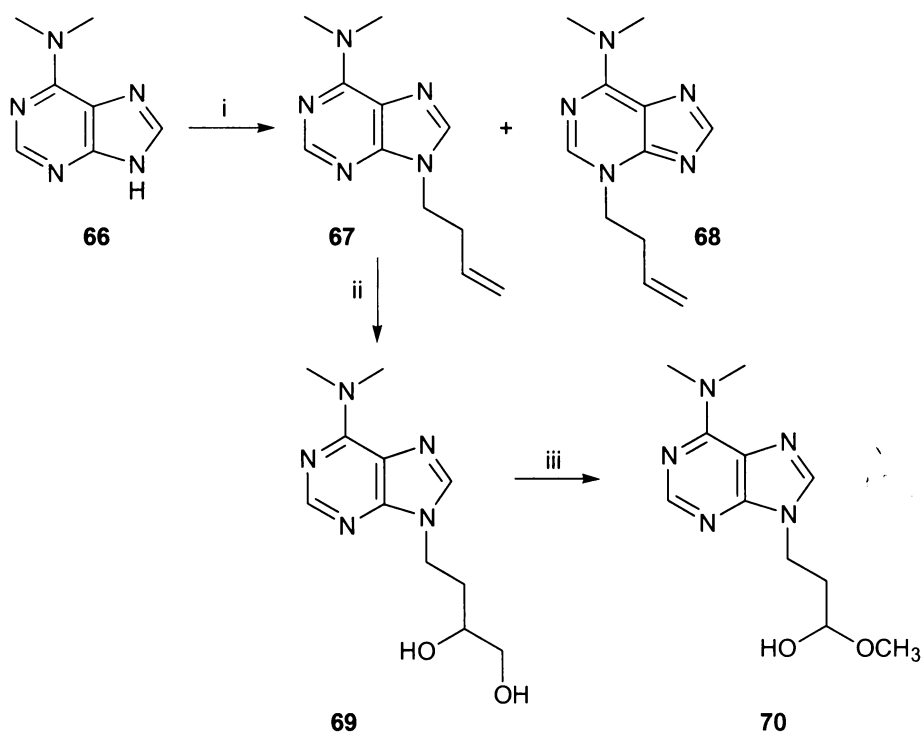
Schéma 16

Možným důvodem izomerizace dvojně vazby je konjugace π elektronů dvojně vazby s π -elektronovým systémem purinové báze. Tento předpoklad jsme chtěli dále prověřit a proto jsem připravila homologní 3-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]propanal a ketony 1-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]propan-2-on **75**, 3-benzyl-1-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]propan-2-on **83a** a 1-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]-3-fenylpropan-2-on **83b**. Dimethylamino skupinu jsme zvolili k substituci purinové báze v poloze 6 proto, abychom vyloučili možnou autokondenzaci aldehydu s aminoskupinou na purinové bázi. Připravené látky byly podrobeny reakcím s kyselinou malonovou a kyanoctovou ve vodném prostředí.

4.4.2. Příprava výchozích látek pro kondenzace s kyselinou malonovou a kyanoctovou

Při syntéze homologického 3-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]propanalu (**70**) jsem vycházela z 6-(dimethylamino)purinu (**66**), který jsem připravila reakcí 6-chlorpurinu s dimethylamonium N,N-dimethylkarbamátem v acetonitrilu. Alkylací 4-brombut-1-enem v DMF za přítomnosti báze (NaH) byl získán derivát **67**, jako minoritní zde vzniká N^3 -izomer **68**. Při alkylaci 6-chlorpurinu vzniká jako minoritní N^7 -izomer, vznik N^7 nebo N^3 izomeru závisí na substituci purinového jádra. Poloha izomerů byla stanovena pomocí ^{13}C NMR spekter. Porovnání posunů signálů uhlíků v ^{13}C NMR spektru jednotlivých dvojic izomerů (N^9 a N^7 nebo N^9 a N^3) je shrnuto v tabulce **2** na konci této kapitoly (str. 27).

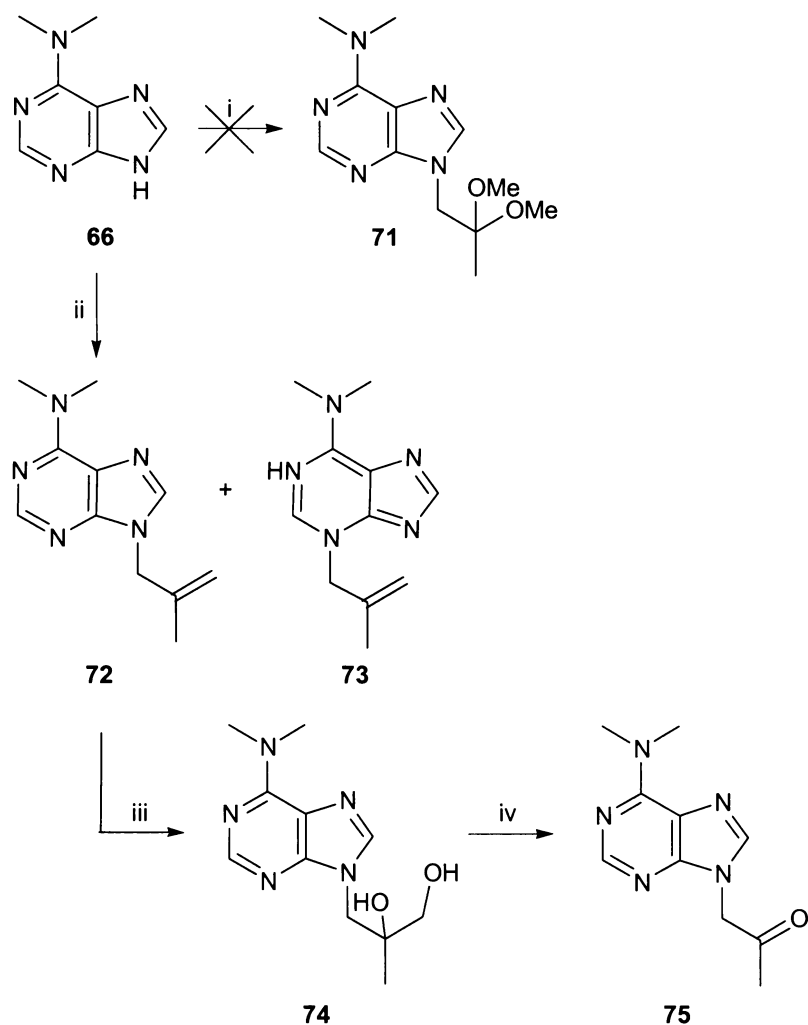
Dvojná vazba byla hydroxylována oxidem osmičelým v přítomnosti NMO⁵⁰ a vzniklý dihydroxyderivát **69** oxidován jodistanem sodným⁵¹ na propanal, který se při zpracování transformoval na methylhemiacetal **70** (schéma **17**).



i) 4-bromprop-1-en, DMF, NaH, 100 °C; ii) OsO₄, NMO; iii) 1. NaIO₄, dioxan, H₂O; 2. MeOH.

Schéma 17

1-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]propan-2-on (**75**) jsme chtěli připravit analogicky k syntéze látek **52** a **54**, tedy alkylací příslušné báze dimethylketalem bromacetonu za bazické katalýzy (NaH, Cs₂CO₃ nebo DBU) za zvýšené teploty (80 – 120 °C). Tato reakce však neprobíhá. Proto jsem připravila alkylací 6-(dimethylamino)purinu 3-brom-2-methylprop-1-enem v DMF za přítomnosti ekvivalentu báze (NaH) látku **72**. Jako minoritní produkt byl izolován *N*³-izomer **73**. Hydroxylací dvojně vazby oxidem osmičelým a následnou oxidací jodistanem sodným byl získán požadovaný derivát **75** (schéma 18).

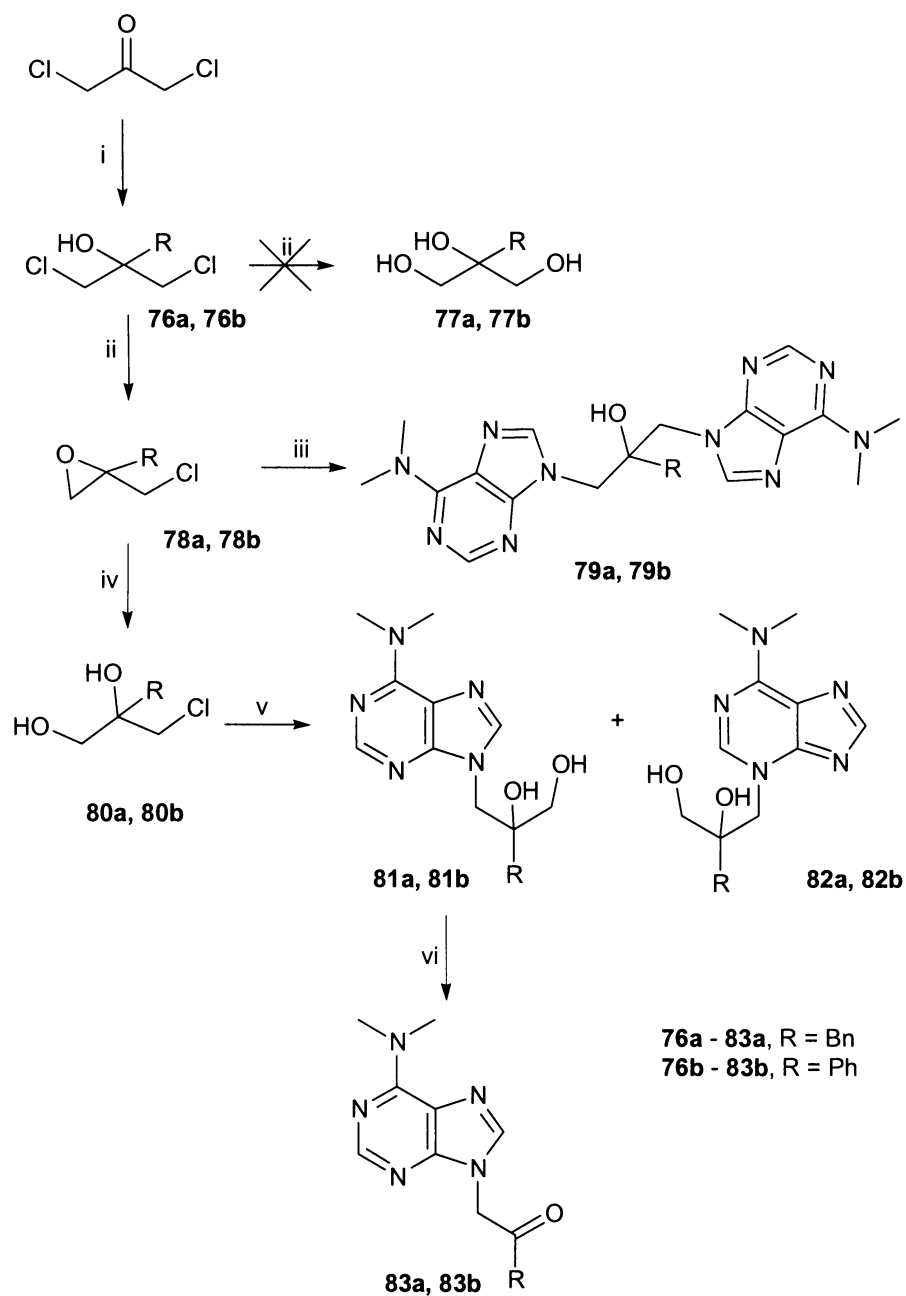


i) bromoaceton-dimethylketal, NaH, DMF, 120 °C; ii) 3-brom-2-methylprop-1-en, NaH, DMF, 80 °C; iii) OsO₄, NMO; iv) NaIO₄, dioxan, H₂O.

Schéma 18

Při syntéze 3-benzyl-1-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]propan-2-onu **83a** a 1-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]-3-fenylpropan-2-onu **83b** jsem vycházela z 1,3-dichloroacetonu. Reakcí s benzylmagnezium resp. fenylmagneziumchloridem byl získán hydroxyderivát **76**, který bazickou hydrolyzou vodným roztokem louhu poskytl substituovaný oxiran **78** místo očekávaného trihydroxyderivátu **77**⁵². V literatuře⁵³ byla popsána alkylace adeninu epichlorhydrinem za vzniku 9-(2,3-epoxypropyl)adeninu, avšak v tomto případě vznikl bisalkylovaný derivát **79** jako hlavní produkt reakce. Látka **79** přednostně vznikla i v případě použití nadbytku látky **78**. Bylo tedy nutné nejprve hydrolyzovat oxiranový kruh⁵⁴ na dihydroxyderivát **80**, který reakcí s 6-dimethylaminopurinem poskytl látku **81**, jako minoritní produkt byl

izolován N^3 -izomer **82**. Oxidací látky **81** jodistanem sodným byl získán derivát **83** (schéma 19).



i) RMgCl, Et₂O; ii) NaOH, H₂O; iii) 6-(dimethylamino)purin, NaH, DMF, 80 °C; iv) H⁺;
v) 6-(dimethylamino)purin, NaH, DMF, 80 °C; vi) NaIO₄.

Schéma 19

Posuny signálů uhlíků N^0 , N^7 a N^3 izomerů připravených látek v ^{13}C MNR spektru jsou uvedeny v tabulce 2 a jsou v souladu s literaturou^{55,56}. V porovnání se spektrem N^0 izomeru, ve spektru N^7 izomeru jsou signály C-4 a C-1' uhlíků posunuty směrem k slabšímu poli a signály C-5 a C-6 uhlíků naopak k silnějšímu poli, signál C-2 uhlíku zůstává prakticky neovlivněn. Ve spektru N^3 izomeru, v porovnání s N^0 izomerem, dochází k výraznému posunu signálu C-2 uhlíku směrem k silnějšímu poli a k posunu signálů C-8 a C-1' uhlíků k slabšímu poli, signál C-4 uhlíku je skoro neovlivněn.

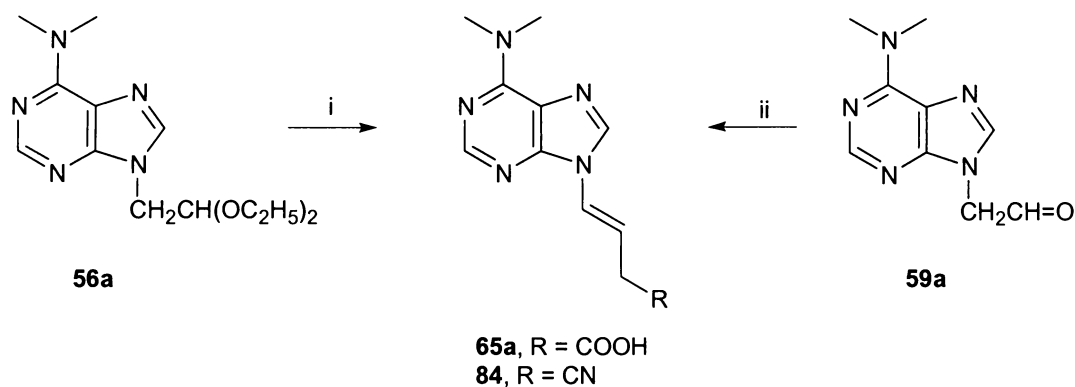
atom	C-2	C-4	C-5	C-6	C-8	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'
52	151,74	152,32	130,64	149,15	148,04	46,01	99,26	-	-
53	151,87	161,57	122,45	142,51	151,63	48,85	100,40	-	-
54	160,00	154,43	123,14	149,45	143,73	45,44	99,37	-	-
55	160,02	164,24	115,21	143,66	150,45	48,64	100,49	-	-
67	151,82	150,45	119,39	154,40	139,91	42,31	33,67	134,86	117,70
68	142,63	149,94	121,09	152,89	151,75	48,41	32,77	134,47	118,04
72	152,06	150,55	119,14	154,41	139,99	48,09	141,10	112,12	-
73	142,86	150,31	120,94	152,80	151,75	53,67	140,26	112,90	-
81a	151,72	150,97	118,82	154,44	141,18	49,28	73,99	63,16	-
82a	144,47	150,8	120,31	153,01	150,32	55,02	74,15	62,04	-
81b	151,57	150,83	118,61	154,31	140,71	49,75	76,17	67,26	-
82b	144,67	150,48	120,10	152,87	149,99	55,38	75,52	66,75	-

^{13}C NMR posuny uhlíků N^0 , N^7 a N^3 izomerů, měřeno v $\text{DMSO}-d_6$, posuny jsou uvedeny v ppm.

Tabulka 2

4.4.3. Kondenzace s kyselinou malonovou a kyanoctovou ve vodném prostředí

Jak již bylo uvedeno (kap. 4.4.1), kondenzací C^6 -substituovaných 9-(2,2-diethoxyethyl)purinů a 2-amino-9-(2,2-diethoxyethyl)purinů s kyselinou malonovou vzniká substituovaná β,γ -nenasyčená but-3-enová kyselina **65**. K izomerizaci dvojné vazby dochází i při kondenzaci 9-(2,2-diethoxyethyl)-6-(dimethylamino)purinu **56a** s kyselinou kyanoctovou ve vodném prostředí za vzniku but-3-ennitrilu **84**. Stejné produkty vznikají i při kondenzaci předem ochráněného aldehydu **59a** s kyselinou malonovou nebo kyanoctovou za stejných podmínek jako v předchozím případě (schéma 20). Reakcí aldehydu **59a** s kyselinou malonovou v bezvodném prostředí, jako rozpouštědlo byl použit pyridin, byla získána také látka **65a**. Pokusy o kondenzaci aldehydu **59a** s dalšími deriváty kyseliny malonové byly neúspěšné.

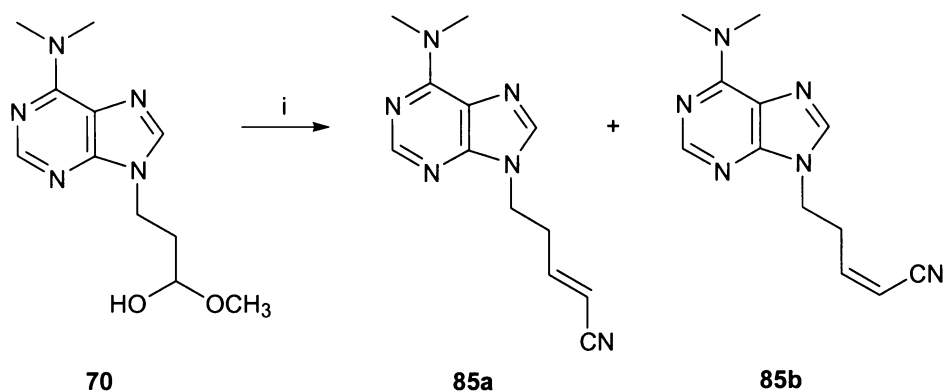


i) $\text{CH}_2(\text{COOH})_2$ nebo CNCH_2COOH , H_2O ; ii) $\text{CH}_2(\text{COOH})_2$ nebo CNCH_2COOH , H_2O nebo pyridin.

Schéma 20

Při reakci homologního methylhemiacetalu 3-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]propanalu (**70**) s kyselinou malonovou ve vodném prostředí vznikla směs několika látek, a to pouze v malém výtěžku. Vzniklé látky se nám však nepodařilo dostatečně charakterizovat.

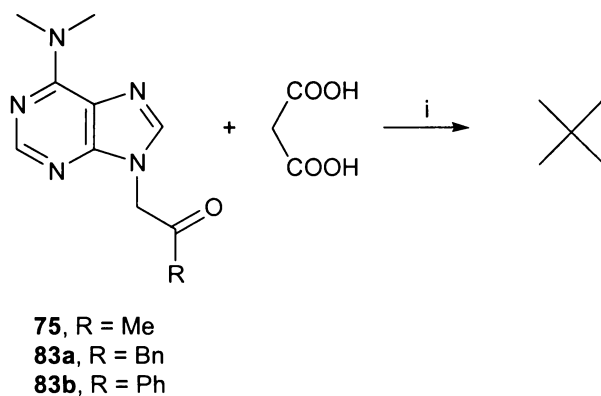
Kondenzací látky **70** s kyselinou kyanoctovou ve vodném prostředí vznikly deriváty pent-2-ennitrilu **85a** a **85b** (schéma 21). V tomto případě tedy nedošlo k izomerizaci dvojné vazby. Vznikla směs *trans* a *cis* izomerů v poměru 1,3:1 (stanoveno pomocí $^1\text{H NMR}$).



i) CNCH₂COOH, H₂O.

Schéma 21

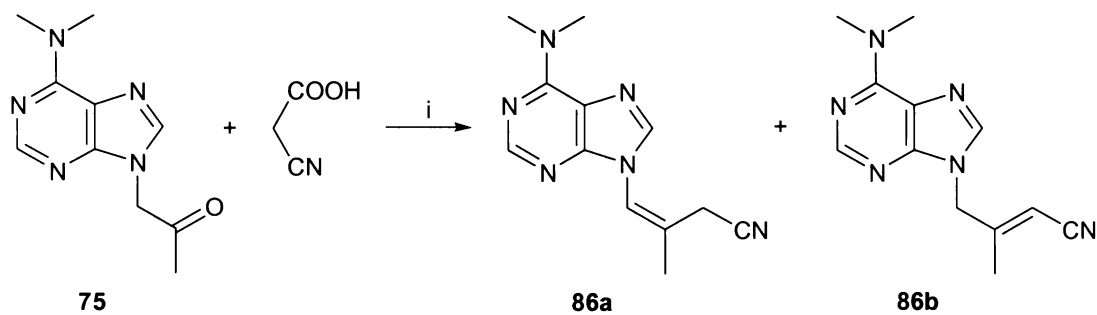
Působení kyseliny malonové a kyanoctové ve vodném prostředí byly také podrobeny připravené ketony **75**, **83a** a **83b**. Žádný z uvedených ketonů za těchto podmínek s kyselinou malonovou nereagoval (schéma 22).



i) H₂O.

Schéma 22

Reakcí 1-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]propan-2-onu (**75**) s kyselinou kyanoctovou, která je reaktivnější než kyselina malonová, byla získána směs látek **86a** a **86b** v celkovém výtěžku 48%. Izomery vznikly v poměru 3:2 (stanoveno pomocí ¹H NMR) a nerozdělily se ani pomocí HPLC (schéma 23).



i) H₂O.

Schéma 23

Ketony **83a** a **83b** za těchto podmínek nereagovaly ani s kyselinou kyanoctovou. Vyzkoušela jsem také bazicky katalyzované kondenzace těchto látek ve vodném prostředí (kat. K₂CO₃, 1 ekv.), ale ani za těchto podmínek reakce neprobíhala.

Tato studie nebyla dosud dokončena, reaktivita připravených aldehydů a ketonů bude dále studována.

5. Experimentální část

Rozpouštědla byla odpařována při 2 kPa a teplotě lázně v rozmezí 30-50 °C, látky byly sušeny při 2 kPa nad P₂O₅ přes noc. Body tání byly měřeny na přístroji Büchi Melting Point B-545 a jsou nekorigované. Analytická chromatografie na tenké vrstvě (TLC) byla prováděna na silikagelem potažených hliníkových foliích s fluorescentním indikátorem (Merk 60, F254) v soustavách S1 (chloroform-methanol 95:5), S2 (chloroform-methanol 9:1), S3 (ethylacetát-aceton-ethanol-voda 4:1:1:1), S4 (ethylacetát-petrolether 1:1) a S5 (ethylacetát-petrolether 4:1). Preparativní sypaná TLC byla prováděna na vrstvě silikagelu (18 x 45 x 0,5 cm) s fluorescentním indikátorem. Pro preparativní HPLC byla použita kolona plněná reversní fází C18 (10 µm) 17 x 250 mm, kolona byla eluována lineárním gradientem voda – methanol. Papírová chromatografie byla prováděna na papíře Whatman No. 3 MM při 40 V/cm po dobu 1 hodiny v 0,05 M roztoku triethylamonium hydrogenkarbonátu, pH 7,5; elektroforetické mobility jsou vztahovány k uridin 3'-fosfátu. Hmotnostní spektra byla měřena na spektrometru ZAB-EQ (VG Analytical), EI (energie elektronů 70eV), FAB (ionizace Xe, urychlující napětí 8 kV, jako matrice použita směs thioglycerolu a glycerolu (3:1) nebo bis(2-hydroxyethyl)disulfid). NMR spektra byla měřena na spektrometru Varian Unity 500 (¹H při 500 a ¹³C při 125,7 MHz), jako rozpouštědlo byl použit hexadeuteriodimethylsulfoxid (měření vztaženo k signálu rozpouštědla δ 2,50 ppm resp. 39,70 ppm) nebo D₂O + NaOD (pro měření ¹H spekter byl použit interní standard DSS a pro měření ¹³C spekter bylo měření vztaženo k signálu dioxanu δ 66,86 ppm). Chemické posuny jsou uvedeny v ppm, interakční konstanty (*J*) v Hz. UV spektra byla měřena na spektrofotometru UV-VIS Shimadzu 1240 v 0,01M HCl, pH 2; vlnové délky extrémů jsou uvedeny v nm a molární extinkční koeficienty v dm²mmol⁻¹.

Deionizace reakční směsi.

Roztok reakčních produktů ve vodě (20 – 25 ml) byl aplikován na kolonu Dowexu 50 X 8 (100 ml, v H⁺ cyklu). Kolona byla promývána (3 ml/min) vodou až do poklesu UV absorbce (254 nm) a kyselá reakce eluátu. Kolona byla následně promývána 2,5% roztokem amoniaku, UV absorbující eluát byl odpařen a dále zpracován.

Chromatografie na Dowexu 1 X 2.

Vzorek byl rozpuštěn ve vodě (10 – 15 ml), alkalizován vodným roztokem amoniaku na pH 9 - 10 a aplikován na sloupec Dowexu 1 X 2 (100 ml, v AcO⁻ cyklu). Kolona byla promývána vodou až do poklesu UV absorpce (254 nm) eluátu a poté lineárním gradientem kyseliny octové.

9-(2,2-Diethoxyethyl)-6-chlorpurin (52) a 7-(2,2-diethoxyethyl)-6-chlorpurin (53)

K roztoku látky **50** (7,7 g, 50 mmol) v DMF, byl přidán uhličitan cesný (8,1 g, 25 mmol) a za míchání přikapán bromacetaldehyd-diethylacetal (11,6 ml, 75 mmol). Směs byla zahřívána na 100 °C po 24 h za vyloučení vzdušné vlhkosti. Reakční směs byla za horka přefiltrována přes křemelinu, odpařena, odparek kodestilován s toluenem (3 x 50 ml) a ethanolem (2 x 50 ml). Odparek byl extrahován vroucím chloroformem (500 ml), přefiltrován přes křemelinu, odpařen a v methanolu (200 ml) naadsorbován na silikagel (150 ml). Směs byla chromatografována na sloupci silikagelu (600 ml) v soustavě ethylacetát – petrolether (1:2 → 1:1). Krystalizací ze směsi ethylacetát – petrolether bylo získáno 5,6 g (42%) bílých krystalů látky **52**, b.t. 85 °C, R_F = 0,66 (S1). FAB MS, m/z: 271 (100%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,79 (s, 1H, H-2); 8,62 (s, 1H, H-8); 4,89 (t, 1H, *J*(2',1') = 5,0, H-2'); 4,40 (d, 2H, *J*(1',2') = 5,0, H-1'); 3,64 a 3,45 (dq, 2H, *J*(CH₂, CH₃) = 7,1, *J*(gem) = 9,6, O-CH₂); 1,01 (t, 6H, *J*(CH₃,CH₂) = 7,1, CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 152,32 (C-4); 151,74 (C-2); 149,15 (C-6); 148,04 (C-8); 130,64 (C-5); 99,26 (C-2'); 62,59 (2C, O-CH₂); 46,01 (C-1'); 15,21 (2C, CH₃). Pro C₁₁H₁₅ClN₄O₂ (270,72) vypočteno: 48,80% C; 5,58% H; 13,10% Cl; 20,70% N; 11,82% O; nalezeno: 48,93% C; 5,60% H; 13,19% Cl; 20,60% N. Dalším promýváním kolony směsí ethylacetát – petrolether (1:1) a následnou krystalizací (ethylacetát – petrolether) byla izolována látka **53** (0,73 g, 5,5%), bílé krystaly, b.t. 60 °C, R_F = 0,54 (S1). FAB MS, m/z: 271 (100%, M+H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,78 (s, 1H, H-2); 8,72 (s, 1H, H-8); 4,82 (t, 1H, *J*(2',1') = 5,0, H-2'); 4,59 (d, 2H, *J*(1',2') = 5,0, H-1'); 3,64 a 3,42 (dq, 2H, *J*(CH₂, CH₃) = 7,1, *J*(gem) = 9,6, O-CH₂); 0,99 (t, 6H, *J*(CH₃,CH₂) = 7,1, CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 161,57 (C-4); 151,87 (C-2); 151,63 (C-8); 142,51 (C-6); 122,45 (C-5); 100,40 (C-2'); 63,23 (2C,O-CH₂); 48,85 (C-1'); 15,20 (2C, CH₃). Pro C₁₁H₁₅ClN₄O₂ (270,72) vypočteno: 48,80% C; 5,58% H; 13,10% Cl; 20,70% N; 11,82% O; nalezeno: 48,72% C; 5,54% H; 13,18% Cl; 20,54% N.

2-Amino-9-(2,2-diethoxyethyl)-6-chlorpurin (54)

a 2-amino-7-(2,2-diethoxyethyl)-6-chlorpurin (55)

Tyto látky byly připraveny z 2-amino-6-chlorpurinu **51** (8,5 g, 50 mmol) stejným postupem jako látky **52** a **53**. Sloupec silikagelu byl promýván chloroformem (1 l) a poté směsí chloroform – methanol (98:2). Krystalizací (ethylacetát – petrolether) byla získána látka **54** (8,5 g, 59%), bílé krystaly, b.t. 139,2 °C, $R_F = 0,54$ (S1). FAB MS, m/z: 286 (100%, M + H); 170 (14%, M – CH₂CH(OEt)₂). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,04 (s, 1H, H-8); 6,94 (s, 2H, NH₂); 4,80 (t, 1H, $J(2',1') = 5,4$, H-2'); 4,13 (d, 2H, $J(1',2') = 5,4$, H-1'); 3,63 a 3,42 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7,1$, $J(\text{gem}) = 9,6$, O-CH₂); 1,025 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7,1$, CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 160,00 (C-2); 154,43 (C-4); 149,45 (C-6); 143,73 (C-8); 123,14 (C-5); 99,37 (C-2'); 62,48 (2C, O-CH₂); 45,44 (C-1'); 15,28 (2C, CH₃). Pro C₁₁H₁₆ClN₅O₂ (285,73) vypočteno: 46,24% C; 5,64% H; 12,41% Cl; 24,51% N; 11,20% O; nalezeno: 46,22% C; 5,75% H; 12,25% Cl; 24,29% N. Dalším promýváním kolony byla izolována látka **55** (1,7 g, 12%), krystalizace ze směsi ethylacetát – petrolether, bílé krystaly, b.t. 163 °C, $R_F = 0,41$ (S1). FAB MS, m/z: 286 (100%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,28 (s, 1H, H-8); 6,64 (br s, 2H, NH₂); 4,76 (t, 1H, $J(2',1') = 5,4$, H-2'); 4,37 (d, 2H, $J(1',2') = 5,4$, H-1'); 3,63 a 3,39 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7,1$, $J(\text{gem}) = 9,6$, O-CH₂); 1,01 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7,1$, CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 164,24 (C-4); 160,02 (C-2); 150,45 (C-8); 143,66 (C-6); 115,21 (C-5); 100,49 (C-2'); 63,12 (2C, O-CH₂); 48,64 (C-1'); 15,27 (2C, CH₃). Pro C₁₁H₁₆ClN₅O₂Cl (285,73) vypočteno: 46,24% C; 5,64% H; 12,41% Cl; 24,51% N; 11,20% O; nalezeno: 46,32% C; 5,75% H; 12,42% Cl; 24,61% N.

9-(2,2-Diethoxyethyl)-6-(dimethylamino)purin (56a)

a 2-amino-9-(2,2-diethoxyethyl)-6-(dimethylamino)purin (56d)

K roztoku látky **52** nebo **54** (15 mmol) v acetonitrilu (120 ml) byl přikapán dimethylamonium N,N-dimethylkarbamát (5,8 ml, 45 mmol) a roztok byl zahříván k varu pod zpětným chladičem po dobu 30 min. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakční směs odpařena a kodestilována s ethanollem (2 x 50 ml). Odparek byl rozpuštěn v chloroformu (100 ml), vytřepán vodou (3 x 50 ml) a vodná fáze byla

vytřepána chloroformem (2 x 50 ml). Organické fáze byly spojeny, vysušeny síranem hořečnatým a odpařeny. Krystalizováno ze směsi ethylacetát – petrolether.

9-(2,2-Diethoxyethyl)-6-(dimethylamino)purin (56a). Výtěžek 4,54 g (95%) bílých krystalů látky **56a**, b.t. 65 °C, $R_F = 0,75$ (S1). FAB MS, m/z: 280 (100%, M + H); 164 (15%, 6-dimethylaminopurin + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 8,22 (s, 1H, H-2); 8,07 (s, 1H, H-8); 4,83 (t, 1H, $J(2',1') = 5,4$, H-2'); 4,23 (d, 2H, $J(1',2') = 5,4$, H-1'); 3,63 a 3,41 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7,1$, $J(\text{gem}) = 9,6$, O-CH₂); 3,44 (br s, 6H, N-CH₃); 1,02 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7,1$, CH₃). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 154,34 (C-6); 151,95 (C-2); 150,60 (C-4); 140,22 (C-8); 119,03 (C-5); 99,56 (C-2'); 62,36 (2C, O-CH₂); 45,40 (C-1'); 39,00 (br, N-CH₃); 38,00 (br, N-CH₃); 15,22 (2C, CH₃). Pro C₁₃H₂₁N₅O₂ (279,34) vypočteno: 55,90% C; 7,58% H; 25,07% N; 11,45% O; nalezeno: 55,74% C; 7,69% H; 24,91% N.

2-Amino-9-(2,2-diethoxyethyl)-6-(dimethylamino)purin (56d). Výtěžek 4,07 g (92%), bílé krystaly, b.t. 108 – 109 °C, $R_F = 0,86$ (S3). FAB MS, m/z: 295,2 (100%, M + H); 178,2 (20%, 2-amino-6-dimethylaminopurin). ^1H NMR (DMSO- d^6): 7,64 (s, 1H, H-8); 5,84 (br s, 2H, NH₂); 4,76 (t, 1H, $J(2',1') = 5,5$, H-2'); 4,04 (d, 2H, $J(1',2') = 5,5$, H-1'); 3,63 a 3,39 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7,0$, $J(\text{gem}) = 9,6$, O-CH₂); 3,37 (br s, 6H, N-CH₃); 1,04 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7,0$, CH₃). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 159,70 (C-2); 154,85 (C-6); 153,03 (C-4); 137,05 (C-8); 113,41 (C-5); 99,67 (C-2'); 62,31 (2C, O-CH₂); 45,08 (C-1'); 43,20 a 37,90 (N-CH₃); 15,35 (CH₃). Pro C₁₃H₂₂N₆O₂ (294,35) vypočteno: 53,05% C; 7,53% H; 28,55% N; 10,87% O; nalezeno: 53,00% C; 7,75% H; 28,51% N.

N⁶-Substituované 9-(2,2-diethoxyethyl)adeniny (56b, 56c) a 2,6-diamino-9-(2,2-diethoxyethyl)puriny (56e, 56f). Obecný postup.

Látka **52** (2,17 g, 8 mmol) respektive **54** (2,28 g, 8 mmol) byla rozpuštěna v ethanolu (80 ml), do reakční směsi byl přikapán příslušný amin (4 molární ekvivalenty) a roztok byl zahříván k varu pod zpětným chladičem po dobu 1 – 6 hodin. Reakční aparatura byla uzavřena trubičkou s natronovým vápnem. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC v soustavách S1 a S3. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakční směs odpařena a kodestilována s ethanolem (2 x 50 ml). Odparek rozpuštěný v chloroformu (50 ml) byl vytřepán vodou (2 x 50 ml) a vodná fáze byla vytřepána

chloroformem (2 x 50 ml). Organické fáze byly spojeny, vysušeny síranem hořečnatým a odpařeny. Byly připraveny tyto látky:

6-(Cyklopropylamino)-9-(2,2-diethoxyethyl)purin (56b). Krystalizováno ze směsi ethylacetát - petrolether, výtěžek 2,0 g (86%), bílé krystaly, b.t. 96,6 °C, $R_F = 0,46$ (S2). FAB MS, m/z: 292,1 (100%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 8,25 (br s, 1H, H-2); 8,05 (s, 1H, H-8); 7,89 (br s, 1H, NH); 4,84 (t, 1H, $J(2',1') = 5,4$, H-2'); 4,23 (d, 2H, $J(1',2') = 5,4$, H-1'); 3,63 a 3,41 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7,1$, $J(\text{gem}) = 9,6$, O-CH₂); 3,04 (m, 1H, N-CH); 1,02 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7,1$, CH₃); 0,72 a 0,61 (m, 2H, C-CH₂). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 155,65 (C-6); 152,56 (C-2); 149,50 (C-4); 141,28 (C-8); 118,91 (C-5); 99,61 (C-2'); 62,38 (2C, O-CH₂); 45,40 (C-1'); 27,88 (N-CH); 15,28 (2C, CH₃); 6,57 (2C, CH₂). Pro C₁₄H₂₁N₅O₂ (291,35) vypočteno: 57,72% C; 7,26% H; 24,04% N; 10,98% O; nalezeno: 57,63% C; 7,22% H; 23,96% N.

9-(2,2-Diethoxyethyl)-6-(pyrrolidin-1-yl)purin (56c). Krystalizováno z petroletheru, výtěžek 2,46 g (96%), bílé krystaly, b.t. 59 – 61 °C, $R_F = 0,56$ (S1). FAB MS, m/z: 306 (100%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 8,20 (s, 1H, H-2); 8,04 (s, 1H, H-8); 4,83 (t, 1H, $J(2',1') = 5,4$, H-2'); 4,22 (d, 2H, $J(1',2') = 5,4$, H-1'); 4,05 a 3,60 (m, 2H, N-CH₂); 3,63 a 3,41 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7,1$, $J(\text{gem}) = 9,6$, O-CH₂); 1,97 a 1,91 (m, 2H, C-CH₂); 1,025 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7,1$, CH₃). Pro C₁₅H₂₃N₅O₂ (305,38) vypočteno: 59,00% C; 7,59% H; 22,93% N; 10,48% O; nalezeno: 58,93% C; 7,74% H; 22,83% N.

2-Amino-6-(cyklopropylamino)-9-(2,2-diethoxyethyl)purin (56e). Krystalizováno ze směsi ethanol – ether, výtěžek 1,92 g (78%), bílé krystaly, b.t. 164 – 165 °C, $R_F = 0,49$ (S2). FAB MS, m/z: 307,1 (100%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 7,61 (s, 1H, H-8); 7,28 (br s, 1H, NH); 5,87 (br s, 2H, NH₂); 4,76 (t, 1H, $J(2',1') = 5,4$, H-2'); 4,03 (d, 2H, $J(1',2') = 5,4$, H-1'); 3,63 a 3,39 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7,1$, $J(\text{gem}) = 9,6$, O-CH₂); 3,03 (m, 1H, N-CH); 1,04 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7,1$, CH₃); 0,65 a 0,58 (m, 2H, C-CH₂). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 160,41 (C-2); 156,02 (C-6); 150,00 (C-4); 137,78 (C-8); 113,21 (C-5); 99,74 (C-2'); 62,32 (2C, O-CH₂); 45,06 (C-1'); 27,00 (N-CH); 15,34 (2C, CH₃); 6,55 (2C, CH₂). Pro C₁₄H₂₂N₆O₂ (306,37) vypočteno: 54,89% C; 7,24% H; 27,43% N; 10,44% O; nalezeno: 54,73% C; 7,37% H; 27,32% N.

2-Amino-9-(2,2-diethoxyethyl)-6-(pyrrolidin-1-yl)purin (56f). Krystalizováno ze směsi ethylacetát – petrolether, výtěžek 2,2 g, (88%), bílé krystaly, b.t. 110,4 °C,

$R_F = 0,88$ (S3), $R_F = 0,14$ (S4). FAB MS, m/z : 321,1 (100%, $M + H$). 1H NMR (DMSO- d^6): 7,61 (s, 1H, H-8); 5,80 (br s, 2H, NH_2); 4,76 (t, 1H, $J(2',1') = 5,5$, H-2'); 4,03 (d, 2H, $J(1',2') = 5,5$, H-1'); 3,96 a 3,55 (m, 2H, N- CH_2); 3,63 a 3,39 (dq, 2H, $J(CH_2, CH_3) = 7,1$, $J(gem) = 9,6$, O- CH_2); 1,89 (m, 4H, C- CH_2); 1,04 (t, 6H, $J(CH_3, CH_2) = 7,1$, CH_3). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 160,06 (C-2); 153,21 (C-6); 152,60 (C-4); 137,48 (C-8); 113,64 (C-5); 99,69 (C-2'); 62,28 (2C, O- CH_2); 48,20 a 47,00 (N- CH_2); 45,02 (C-1'); 25,15 a 24,00 (C- CH_2); 15,35 (2C, CH_3). Pro $C_{15}H_{24}N_6O_2$ (320,39) vypočteno: 56,23% C; 7,55% H; 26,23% N; 9,98% O; nalezeno: 56,06% C; 7,65% H; 25,97% N.

9-(2,2-Diethoxyethyl)hypoxanthin (57a)

Látka **52** (2,17 g, 8 mmol), uhličitan draselný (4,43 g, 32 mmol) a DABCO (1,8 g, 16 mmol) byly rozpuštěny ve vodě (25 ml) a roztok byl zahříván 2 h k varu pod zpětným chladičem. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakční směs zneutralizována přidávkem Dowexu 50 X 8, mírně zalkalizována (pH 8) a zfiltrována. Dowex 50 X 8 byl promyt vodou (200 ml) a 10% vodným roztokem amoniaku (200 ml). Filtrát byl odpařen. Odparek byl extrahován horkým ethylacetátem, filtrován, odpařen a zbytek byl chromatografován na sloupci silikagelu (ethylacetát – methanol 90:10). Krystalizací (ethylacetát – petrolether) bylo získáno 1,5 g (74%) bílých krystalů látky **57a**, b.t. 172,3 – 173,8 °C, $R_F = 0,51$ (S2). FAB MS, m/z : 253 (100%, $M + H$); 137 (53%, hypoxanthin + H). 1H NMR (DMSO- d^6): 7,85 (s, 1H, H-2); 7,60 (s, 1H, H-8); 4,74 (t, 1H, $J(2',1') = 5,6$, H-2'); 4,07 (d, 2H, $J(1',2') = 5,6$, H-1'); 3,62 a 3,39 (dq, 2H, $J(CH_2, CH_3) = 7,1$, $J(gem) = 9,6$, O- CH_2); 1,03 (t, 6H, $J(CH_2, CH_3) = 7,1$, CH_3). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 167,22 (C-6); 153,57 (C-2); 150,00 (C-4); 137,16 (C-8); 124,05 (C-5); 99,95 (C-2'); 62,26 (2C, O- CH_2); 45,33 (C-1'); 15,33 (2C, CH_3). Pro $C_{11}H_{16}N_4O_3$ (252,27) vypočteno: 52,37% C; 6,39% H; 22,21% N; 19,03% O; nalezeno: 52,15% C; 6,49% H; 21,90% N.

9-(2,2-Diethoxyethyl)guanin (57b)

Látka **54** (1,7 g, 6 mmol), uhličitan draselný (3,32 g, 24 mmol) a DABCO (1,34 g, 12 mmol) byly rozpuštěny ve vodě (20 ml) a míchány za varu pod zpětným chladičem

po dobu 1,5 h. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakční směs zneutralizována přidavkem Dowexu 50 X 8, slabě zalkalizována amoniakem a zfiltrována. Ionex byl promyt vodou (200 ml) a 2,5% vodným roztokem amoniaku (200 ml). Filtrát byl odpařen a odparek krystalizován z vody. Byla získána látka **57b** (1,21 g, 73%), b.t. 277,7 °C za rozkladu, $R_F = 0,75$ (S3). FAB MS, m/z: 268,2 (100%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 10,58 (s, 1H, NH); 7,60 (s, 1H, H-8); 6,46 (br s, 2H, NH₂); 4,73 (t, 1H, $J(2',1') = 5,4$, H-2'); 4,01 (d, 2H, $J(1',2') = 5,4$, H-1'); 3,63 a 3,39 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7,1$, $J(\text{gem}) = 9,6$, O-CH₂); 1,04 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7,1$, CH₃). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 157,01 (C-6); 153,77 (C-2); 151,54 (C-4); 138,06 (C-8); 116,35 (C-5); 99,78 (C-2'); 62,40 (2C, O-CH₂); 45,32 (C-1'); 15,31 (2C, CH₃). Pro C₁₁H₁₇N₅O₃.1/2H₂O (276,29) vypočteno: 47,82% C; 6,57% H; 25,35% N; 20,27% O; nalezeno: 47,73% C; 6,44% H; 25,16% N.

9-(2,2-Diethoxyethyl)-6-sulfanylpurin (**58a**)

Látka **52** (2,17 g, 8 mmol) a thiomocovina (1,9 g, 24 mmol) byly rozpuštěny v ethanolu (120 ml). Reakční směs byla za míchání zahřívána k varu pod zpětným chladičem po dobu 1,5 h a po ochlazení na laboratorní teplotu alkalizována triethylaminem. Vzniklý krystalický produkt byl odfiltrován, promyt ethanolem a etherem a vysušen. Výtěžek 1,85 g (86%), bílé krystaly, b.t. 241-243 °C za rozkladu, $R_F = 0,54$ (S2). FAB MS, m/z: 269,1 (100%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 13,75 (br s, 1H, SH); 8,215 (s, 1H, H-2); 8,21 (s, 1H, H-8); 4,82 (t, 1H, $J(2',1') = 5,3$, H-2'); 4,26 (d, 2H, $J(1',2') = 5,3$, H-1'); 3,62 a 3,43 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7,0$, $J(\text{gem}) = 9,6$, O-CH₂); 1,03 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7,0$, CH₃). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 175,95 (C-6); 145,17 (C-2); 144,48 (C-4); 143,69 (C-8); 134,81 (C-5); 99,53 (C-2'); 62,53 (2C, O-CH₂); 45,74 (C-1'); 15,26 (2C, CH₃). Pro C₁₁H₁₆N₄O₂S (268,33) vypočteno: 49,24% C; 6,01% H; 20,88% N; 11,92% O; 11,95% S; nalezeno: 49,03% C; 6,07% H; 20,73% N; 11,92% S.

2-Amino-9-(2,2-diethoxyethyl)-6-sulfanylpurin (**58b**)

Tato látka byla připravena z látky **54** (1,71 g, 6 mmol) podle postupu popsaného pro látku **58a**. Výtěžek 1,56 g (89%), bílé krystaly, netaje pod 300 °C, $R_F = 0,54$ (S2).

FAB MS, m/z: 284 (100%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 11,88 (s, 1H, SH); 7,80 (s, 1H, H-8); 6,81 (br s, 2H, NH₂); 4,75 (t, 1H, $J(2',1') = 5,2$, H-2'); 4,03 (d, 2H, $J(1',2') = 5,2$, H-1'); 3,63 a 3,41 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7,0$, $J(\text{gem}) = 9,6$, O-CH₂); 1,04 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7,0$, CH₃). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 175,01 (C-6); 153,19 (C-2); 148,22 (C-4); 141,13 (C-8); 128,06 (C-5); 99,57 (C-2'); 62,45 (2C, O-CH₂); 45,29 (C-1'); 15,32 (2C, CH₃). Pro C₁₁H₁₇N₅O₂S.1/2H₂O (292,35) vypočteno: 45,19% C; 6,21% H; 23,96% N; 13,68% O; 10,97% S; nalezeno: 45,02% C; 6,11% H; 23,77% N; 11,11% S.

C⁶-Substituované 2-hydroxy-3-(purin-9-yl)propanové kyseliny (61a – 61e) a 3-(2-aminopurin-9-yl)-2-hydroxypropanové kyseliny (61f – 61j). Obecný postup.

Odpovídající C⁶-substituovaný 9-(2,2-diethoxyethyl)purin (**56a – 56c** nebo **57a** resp. **58a**) nebo 2-amino-9-(2,2-diethoxyethyl)purin (**56d – 56f** nebo **57b** resp. **58b**) (6 mmol) byl suspendován ve vodě (30 ml) a byla přikapána konc. HCl (1,2 ml), reakční směs byla zahřívána po dobu 4 – 8 h na 60 °C. Po ochlazení na -5 °C (směs ledu s NaCl) byl přidán KCN (1,95 g, 30 mmol) a směs byla okamžitě okyselená kyselinou octovou na pH 6 – 6,5 a míchána při 0 °C 5 hodin a při laboratorní teplotě přes noc. Byla přidána konc. HCl (20 ml) a roztok byl zahříván k varu pod zpětným chladičem po dobu 6 h, ochlazen a odpařen. Odparek byl deionizován na Dowexu 50 X 8 (viz. výše) a přečištěn chromatografií na Dowexu 1 X 2 (viz. výše). Pokud nebude uvedeno jinak, kolona byla promývána gradientem kyseliny octové (2 l, 0 – 0,5 M). Produkt byl krystalizován z vody. Byly připraveny tyto látky:

3-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]-2-hydroxypropanová kyselina (61a).

Výtěžek 76%, světle hnědá látka, b.t. 232 °C za rozkladu, E_{Up} = 0,61. FAB MS m/z: 252 (70%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 12,90 (br s, 1H, COOH); 8,22 (s, 1H, H-2); 8,07 (s, 1H, H-8); 5,90 (br s, 1H, OH); 4,46 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3,9$, $J(\text{gem}) = 13,7$, H-1'a); 4,39 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3,9$, $J(2',1'b) = 8,2$, H-2'); 4,27 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8,2$, $J(\text{gem}) = 13,7$, H-1'b); 3,46 (br s, 6H, N-CH₃). UV: 268,20 (16,86), 234,50 (2,68), 210,00 (16,63). Pro C₁₀H₁₃N₅O₃.1/2H₂O (260,25) vypočteno: 46,15% C; 5,42% H; 26,91% N; 21,52% O; nalezeno: 46,11% C; 5,39% H; 26,69% N.

3-[6-(Cyklopropylamino)purin-9-yl]-2-hydroxypropanová kyselina (61b).

Krystalizováno ze směsi voda – aceton (8:2), výtěžek 80%, bílá látka, b.t. 245 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,50$. FAB MS, m/z: 264 (100%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 12,80 (br s, 1H, COOH); 8,24 (s, 1H, H-2); 8,04 (s, 1H, H-8); 7,90 (br s, 1H, NH); 5,90 (br s, 1H, OH); 4,46 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3,6$, $J(\text{gem}) = 13,7$, H-1'a); 4,40 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3,6$, $J(2',1'b) = 8,0$, H-2'); 4,27 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8,0$, $J(\text{gem}) = 13,7$, H-1'b); 3,05 (m, 1H, N-CH); 0,71 a 0,60 (m, 2H, C-CH₂). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 173,36 (C=O); 155,66 (C-6); 152,44 (C-2); 149,30 (C-4); 141,56 (C-8); 68,72 (C-2'); 46,39 (C-1'); 24,02 (N-CH); 6,64 (2C, CH₂). UV: 266,30 (10,46), 233,70 (1,39), 210,70 (9,79). Pro C₁₁H₁₃N₅O₃ (263,25) vypočteno: 50,19% C; 4,98% H; 26,60% N; 18,23% O; nalezeno: 49,86% C; 4,98% H; 26,47% N.

2-Hydroxy-3-[6-(pyrrolidin-1-yl)purin-9-yl]propanová kyselina (61c).

Výtěžek 81%, světle hnědá látka, b.t. 236 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,54$. FAB MS, m/z: 278 (48%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 12,80 (br s, 1H, COOH); 8,21 (s, 1H, H-2); 8,04 (s, 1H, H-8); 5,80 (br s, 1H, OH); 4,46 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3,9$, $J(\text{gem}) = 11,8$, H-1'a); 4,39 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3,9$, $J(2',1'b) = 8,1$, H-2'); 4,27 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8,1$, $J(\text{gem}) = 11,8$, H-1'b); 4,05 a 3,62 (m, 2H, N-CH₂); 1,97 a 1,93 (m, 2H, C-CH₂). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 173,28 (C=O); 152,42 (C-6); 152,01 (C-2); 150,08 (C-4); 141,10 (C-8); 119,30 (C-5); 68,67 (C-2'); 48,52 a 47,19 (N-CH₂); 46,33 (C-1'); 25,91 a 24,02 (C-CH₂). UV: 269,10 (17,62), 234,10 (2,15), 210,30 (15,74). Pro C₁₂H₁₅N₅O₃ (277,38) vypočteno: 51,98% C; 5,45% H; 25,26% N; 17,31% O; nalezeno: 51,90% C; 5,44% H; 25,02% N.

2-Hydroxy-3-(hypoxanthin-9-yl)propanová kyselina (61d). Kolona Dowexu 1 X 2 byla promyta kyselinou octovou (2 l, 0 – 1 M), poté byl ionex rozmíchán ve vroucí vodě (1 l), odfiltrován a rozmíchán v horké kyselině octové (1 l, 1,5 M) a odfiltrován. Filtráty byly spojeny a odpařeny, odparek byl krystalizován z vody. Bílé krystaly, výtěžek 25%, b.t. 112,6 °C, $E_{Up} = 0,72$. FAB MS, m/z: 225 (42%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 12,60 (br s, 1H, COOH); 12,30 (br s, 1H, NH); 8,05 (s, 1H, H-2); 7,99 (s, 1H, H-8); 5,90 (br s, 1H, OH); 4,44 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3,8$, $J(\text{gem}) = 13,7$, H-1'a); 4,37 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3,8$, $J(2',1'b) = 8,3$, H-2'); 4,26 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8,3$, $J(\text{gem}) = 13,7$, H-1'b). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 173,08 (C=O); 156,85 (C-6); 148,67 (C-4); 145,69 (C-2); 141,15 (C-8); 123,90 (C-5); 68,87 (C-2'); 46,66 (C-1'). UV: 248,80 (8,30). Pro C₈H₈N₄O₄·H₂O (242,18) vypočteno: 39,67% C; 4,16% H; 23,13% N; 33,03% O; nalezeno: 39,53% C; 4,23% H; 22,93% N.

2-Hydroxy-3-(6-sulfanylpurin-9-yl)propanová kyselina (61e). DMF (5 ml) byl přidán do reakční směsi pro zlepšení rozpustnosti. Krystalizací z vody byla získána žlutá látka, výtěžek 89%, b.t. 220 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,88$. FAB MS, m/z: 241 (100%, M + H). 1H NMR (DMSO- d^6): 13,74 (br s, 1H, SH); 12,50 (br s, 1H, COOH); 8,21 (s, 1H, H-2); 8,19 (s, 1H, H-8); 5,90 (br s, 1H, OH); 4,46 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3,9$, $J(gem) = 13,7$, H-1'a); 4,38 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3,9$, $J(2',1'b) = 8,2$, H-2'); 4,30 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8,2$, $J(gem) = 13,7$, H-1'b). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 175,90 (C-6); 173,08 (C=O); 145,11 (C-2); 144,47 (C-4); 143,88 (C-8); 134,99 (C-5); 68,72 (C-2'); 46,72 (C-1'). UV: 321,80 (21,25), 255,20 (0,036), 224,00 (8,44). Pro $C_8H_8N_4O_3S \cdot H_2O$ (258,24) vypočteno: 37,21% C; 3,90% H; 21,69% N; 24,78% O; 12,41% S; nalezeno: 37,59% C; 3,77% H; 21,74% N; 12,39% S.

3-[2-Amino-6-(dimethylamino)purin-9-yl]-2-hydroxypropanová kyselina (61f). Ionex byl po promytí kolony kyselinou octovou rozmíchán ve vroucí vodě (1 l) a odfiltrován. Voda byla odpařena a odparek krystalizován z vody. Byla získána bílá látka **61f**, výtěžek 67%, b.t. 272 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,47$. FAB MS, m/z: 267 (100%, M + H). 1H NMR (DMSO- d^6): 7,63 (s, 1H, H-8); 5,87 (br s, 2H, NH_2); 4,33 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3,9$, $J(2',1'b) = 8,4$, H-2'); 4,29 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3,9$, $J(gem) = 13,8$, H-1'a); 4,06 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8,4$, $J(gem) = 13,8$, H-1'b); 3,35 (br s, 6H, N- CH_3). UV: 291,90 (9,27), 272,50 (6,31), 256,50 (8,81). Pro $C_{10}H_{14}N_6O_3 \cdot H_2O$ (284,27) vypočteno: 42,25% C; 5,67% H; 29,56% N; 22,51% O; nalezeno: 42,16% C; 5,75% H; 29,20% N.

3-[2-Amino-6-(cyklopropylamino)purin-9-yl]-2-hydroxypropanová kyselina (61g). Bílá látka, výtěžek 82%, b.t. 258 - 260 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,45$. FAB MS, m/z: 279 (100%, M + H). 1H NMR (DMSO- d^6): 7,61 (s, 1H, H-8); 7,36 (br s, 1H, NH); 6,00 (br s, 1H, OH); 5,95 (br s, 2H, NH_2); 4,33 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3,8$, $J(2',1'b) = 8,4$, H-2'); 4,28 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3,8$, $J(gem) = 13,9$, H-1'a); 4,06 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8,4$, $J(gem) = 13,9$, H-1'b); 3,01 (m, 1H, N-CH); 0,65 a 0,57 (m, 2H, C- CH_2). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 173,59 (C=O); 160,11 (C-2); 155,97 (C-6); 150,00 (C-4); 138,21 (C-8); 113,32 (C-5); 68,91 (C-2'); 46,11 (C-1'); 28,45 (N-CH); 6,66 (2C, CH_2). UV: 295,30 (9,91), 272,10 (4,57), 255,60 (7,83). Pro $C_{11}H_{14}N_6O_3 \cdot 1/3H_2O$ (284,27) vypočteno: 46,48% C; 5,20% H; 29,56% N; 18,76% O; nalezeno: 46,54% C; 5,22% H; 29,73% N.

3-[2-Amino-6-(pyrrolidin-1-yl)purin-9-yl]-2-hydroxypropanová kyselina (61h). Ionex , po promytí kolony kyselinou, byl rozmíchán v horké vodě (1 l),

zfiltrován a filtrát odpařen. Odparek byl krystalizován z vody, byla získána bílá látka **61h**, výtěžek 51%, b.t. 275 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,44$. FAB MS, m/z: 293 (100%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 7,61 (s, 1H, H-8); 5,84 (br s, 2H, NH₂); 4,30 a 4,05 a 4,00 (m, 1H, H-1'a H-2'); 3,70 (m, 4H, N-CH₂); 1,90 (m, 4H, C-CH₂). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 173,49 (C=O); 159,87 (C-2); 153,20 (C-6); 152,40 (C-4); 137,82 (C-8); 113,78 (C-5); 68,85 (C-2'); 46,03 (C-1'). UV: 296,50 (13,20), 273,60 (7,02), 257,50 (10,41). Pro C₁₂H₁₆N₆O₃ (292,30) vypočteno: 49,31% C; 5,52% H; 28,75% N; 16,42% O; nalezeno: 49,04% C; 5,57% H; 28,60% N.

3-(Guanin-9-yl)-2-hydroxypropanová kyselina (61i). Kolona Dowexu 1 X 2 byla promyta gradientem kyseliny octové (2 l, 1 – 1,5 M). Bílá látka, výtěžek 27%, b.t. 292 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,66$. FAB MS, m/z: 240 (100%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 12,50 (br s, 1H, COOH); 10,60 (br s, 1H, NH); 7,61 (s, 1H, H-8); 6,49 (br s, 2H, NH₂); 5,90 (br s, 1H, OH); 4,31 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3,9$, $J(2',1'b) = 8,8$, H-2'); 4,25 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3,9$, $J(\text{gem}) = 13,9$, H-1'a); 4,04 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8,8$, $J(\text{gem}) = 13,9$, H-1'b). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 173,39 (C=O); 157,01 (C-6); 153,74 (C-2); 151,42 (C-4); 138,38 (C-8); 116,43 (C-5); 68,83 (C-2'); 46,14 (C-1'). UV: 278,50 (6,45), 253,80 (9,17), 226,60 (2,09), 197,50 (16,07). Pro C₈H₉N₅O₄·1/3H₂O (245,19) vypočteno: 39,19% C; 3,79% H; 28,56% N; 28,28% O; nalezeno: 39,30% C; 4,04% H; 28,18% N.

3-(2-Amino-6-sulfanylpurin-9-yl)-2-hydroxypropanová kyselina (61j). DMF (5 mL) byl přidán do reakční směsi pro zlepšení rozpustnosti. Kolona Dowexu 1 X 2 byla promyta kyselinou octovou, poté byl ionex rozmíchán ve vroucí vodě (1 l), odfiltrován a rozmíchán v horké kyselině octové (1 l, 1 M) a odfiltrován. Filtráty byly spojeny a odpařeny, odparek byl krystalizován z vody. Žluté krystaly, výtěžek 27%, b.t. 284 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,63$. FAB MS, m/z: 256 (10%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 12,90 (br s, 1H, SH); 11,88 (br s, 1H, COOH); 7,79 (s, 1H, H-8); 6,82 (br s, 2H, NH₂); 5,90 (br s, 1H, OH); 4,32 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3,9$, $J(2',1'b) = 8,7$, H-2'); 4,26 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3,9$, $J(\text{gem}) = 14,0$, H-1'a); 4,07 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8,7$, $J(\text{gem}) = 14,0$, H-1'b). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 174,95 (C-6); 173,24 (C=O); 153,15 (C-2); 148,14 (C-4); 141,37 (C-8); 128,20 (C-5); 68,60 (C-2'); 46,12 (C-1'). UV: 341,60 (6,78), 301,00 (1,38), 256,60 (5,25). Pro C₈H₉N₅O₃S·1/3H₂O (261,53) vypočteno: 36,78% C; 3,73% H; 26,81% N; 20,41% O; 12,27% S; nalezeno: 37,19% C; 3,70% H; 26,51% N; 12,11% S.

C^6 -Substituované 2-amino-3-(purin-9-yl)propanové kyseliny (63a – 63e)

a 2-amino-3-(2-aminopurin-9-yl)propanové kyseliny (63f – 63j). Obecný postup.

Odpovídající C^6 -substituovaný 9-(2,2-diethoxyethyl)purin (56a – 56c, 57a resp. 58a) nebo 2-amino-9-(2,2-diethoxyethyl)purin (56d – 55f, 57b resp. 58b) (4 mmol) byl suspendován ve vodě (25 ml) a byla přikapána konc. HCl (1,6 ml), reakční směs byla zahřívána po dobu 4 – 8 h na 80 °C. Po ochlazení na 0 °C byla reakční směs neutralizována NH₄OH (25%) a přidán roztok KCN (0,65 g, 10 mmol) a NH₄Cl (0,43 g, 8 mmol) v NH₄OH (12 ml, 25%). Směs byla míchána za laboratorní teploty přes noc a odpařena. Odparek byl rozpuštěn ve vodě, zneutralizován přídatkem Dowexu 50 X 8 a deionizována na koloně Dowexu 50 X 8 (viz. výše). K reakčním produktům bylo přidáno 10 ml HCl a roztok byl zahříván na 80 °C po dobu 5 h. Reakční směs byla deionizována na Dowexu 50 X 8 (viz. výše) a čištěna chromatografií na sloupci Dowexu 1 x 2 (viz výše), kolona byla promyta vodou (500 ml) a eluována gradientem kyseliny octové (2 l, 0 – 0,4 M). Byly připraveny tyto látky:

2-Amino-3-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]propanová kyselina (63a).

K reakční směsi byly přidány 3 ml DMF pro zlepšení rozpustnosti. Krystalizováno z vody, výtěžek 43%, bílé krystaly, b.t. 250 – 252 °C, E_{Up} = 0,45. FAB MS, m/z: 251 (100%, M + H). ¹H NMR (D₂O): 7,95 a 7,89 (2 x s, 2 x 1H, H-2 a H-8); 4,38 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 5,5$, $J(gem) = 14,2$, H-1'a); 4,20 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 7,6$, $J(gem) = 14,2$, H-1'b); 3,70 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 5,5$, $J(2',1'b) = 7,6$, H-2'). ¹³C NMR (D₂O): 179,06 (C=O); 153,91 (C-6); 151,55 (C-2); 149,07 (C-4); 140,30 (C-8); 118,41 (C-5); 56,08 (C-2'); 47,95 (C-1'); 38,80 (2C, N-CH₃). UV: 267,60 (16,52), 233,40 (2,78), 208,60 (16,98). Pro C₁₀H₁₄N₆O₂·H₂O (268,27) vypočteno: 44,77% C, 6,01% H, 31,33% N, 17,89% O; nalezeno: 44,68% C, 6,06% H, 31,18% N.

2-Amino-3-[6-(cyklopropylamino)purin-9-yl]propanová kyselina (63b).

Krystalizováno ze směsi voda-aceton (1:1), výtěžek 54%, bílá látka, b.t. 251 °C za rozkladu, E_{Up} = 0,59. FAB MS, m/z: 263 (75%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,24 (br s, 1H, H-2); 8,01 (s, 1H, H-8); 7,92 (br s, 1H, NH); 7,90 (br, 2H, NH₂); 4,60 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3,5$, $J(gem) = 14,6$, H-1'a); 4,37 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8,2$, $J(gem) = 14,6$, H-1'b); 3,76 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3,5$, $J(2',1'b) = 8,2$, H-2'); 3,05 (m, 1H, N-CH); 0,71 a 0,60 (2 x m, 2 x 2H, CH₂). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 167,56 (C=O); 155,70 (C-6); 152,30 (C-2); 149,50 (C-4); 141,33 (C-8); 119,38 (C-5); 54,18 (C-2'); 44,89 (C-1'); 23,98 (N-CH); 6,61, 2C (CH₂). UV: 266,50 (18,67), 232,70 (3,21), 208,60

(18,63). Pro $C_{11}H_{14}N_6O_2$ (262,27) vypočteno: 50,38% C, 5,38% H, 32,04% N, 12,20% O; nalezeno: 50,09% C, 5,42% H, 31,74% N.

2-Amino-3-[6-(pyrrolidin-1-yl)purin-9-yl]propanová kyselina (63c).

Krystalizováno z vody, výtěžek 30%, bílé krystaly, b.t. 248 – 249 °C, $E_{Up} = 0,56$. FAB MS, m/z: 277 (100%, M + H). 1H NMR (D_2O + NaOD): 7,92 (s, 1H, H-2); 7,85 (s, 1H, H-8); 4,38 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 5,5$, $J(gem) = 14,2$, H-1'a); 4,19 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 7,6$, $J(gem) = 14,7$, H-1'b); 3,70 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 5,5$, $J(2',1'b) = 7,6$, H-2'); 3,69 a 3,40 (2 x m, 2 x 2H, N-CH₂); 2,03 a 1,98 (2 x m, 2 x 2H, CH₂). ^{13}C NMR (D_2O + NaOD): 178,99 (C=O); 151,74 (C-6); 151,64 (C-2); 148,61 (C-4); 140,52 (C-8); 118,25 (C-5); 56,11 (C-2'); 48,93 a 47,90 (N-CH₂); 47,92 (C-1'); 25,57 a 23,73 (CH₂). UV: 269,10 (17,64), 232,80 (2,38), 208,70 (16,65). Pro $C_{12}H_{16}N_6O_2 \cdot H_2O$ (294,31) vypočteno: 48,97% C, 6,16% H, 28,55% N, 16,31% O; nalezeno: 48,82% C, 6,23% H, 28,31% N.

2-Amino-3-(hypoxantin-9-yl)propanová kyselina (63d).

Krystalizováno ze směsi voda-aceton (1:1), bílé krystaly, výtěžek 25%, b.t. 223 – 225 °C, $E_{Up} = 0,62$. FAB MS, m/z: 224 (64%, M + H). 1H NMR: (D_2O + NaOD): 8,14 (s, 1H, H-2); 7,90 (s, 1H, H-8); 4,40 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 5,6$, $J(gem) = 14,2$, H-1'a); 4,25 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 7,4$, $J(gem) = 14,2$, H-1'b); 3,74 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 5,6$, $J(2',1'b) = 7,4$, H-2'). ^{13}C NMR (D_2O + NaOD): 179,39 (C=O); 167,79 (C-6); 153,70 (C-2); 150,04 (C-4); 140,67 (C-8); 123,02 (C-5); 56,22 (C-2'); 47,91 (C-1'). UV: 248,80 (7,85). Pro $C_8H_9N_5O_3 \cdot 3/2 H_2O$ (241,24) vypočteno: 38,40% C, 4,83% H, 27,99% N, 28,77% O; nalezeno: 38,87% C, 4,87% H, 27,50% N.

2-Amino-3-(6-sulfanylpurin-9-yl)propanová kyselina (63e).

Krystalizací z vody s přidavkem kyseliny octové (pH 4) byly získány žluté krystaly, výtěžek 28%, b.t. 222 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,71$. FAB MS, m/z: 240,1 (12%, M + H). 1H NMR (D_2O + NaOD): 8,31 (s, 1H, H-2); 8,08 (s, 1H, H-8); 4,46 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 5,5$, $J(gem) = 14,4$, H-1'a); 4,30 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 7,3$, $J(gem) = 14,4$, H-1'b); 3,75 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 5,5$, $J(2',1'b) = 7,3$, H-2'). ^{13}C NMR (D_2O + NaOD): 179,31 (C-6); 177,23 (C=O); 150,92 (C-2); 146,28 (C-4); 143,01 (C-8); 135,27 (C-5); 56,18 (C-2'); 48,00 (C-1'). UV: 321,40 (9,86). Pro $C_8H_9N_5O_2S \cdot H_2O$ (257,26) vypočteno: 37,35% C; 4,31% H; 27,22% N; 18,66% O; 12,46% S; nalezeno: 37,86% C; 4,13% H; 27,57% N; 12,48% S.

2-Amino-3-[2-amino-6-(dimethylamino)purin-9-yl]propanová kyselina (63f).

K reakční směsi byly přidány 3 ml DMF pro zlepšení rozpustnosti. Krystalizace ze

směsi voda-aceton (1:1), výtěžek 39%, bílé krystaly, b.t. 243 – 244 °C, $E_{Up} = 0,30$. FAB MS, m/z: 266 (100%, M + H). ^1H NMR (D_2O): 7,58 (s, 1H, H-8); 4,278 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 5,4$, $J(\text{gem}) = 14,3$, H-1'a); 4,07 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 7,6$, $J(\text{gem}) = 14,3$, H-1'b); 3,67 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 5,4$, $J(2',1'b) = 7,6$, H-2'). ^{13}C NMR (D_2O): 179,35 (C=O); 159,29 (C-2), 154,79 (C-6); 151,55 (C-4); 138,09 (C-8); 113,32 (C-5); 56,06 (C-2'); 47,54 (C-1'); 38,40, 2C (N-CH₃). UV: 293,80 (10,09), 274,30 (7,28), 256,60 (10,34). Pro $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_7\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (283,29) vypočteno: 42,40% C, 6,05% H, 34,61% N, 16,94% O; nalezeno: 42,13% C, 6,11% H, 34,31% N.

2-Amino-3-[2-amino-6-(cyklopropylamino)purin-9-yl]propanová kyselina (63g). Krystalizováno ze směsi voda-aceton (1:1), výtěžek 30%, bílé krystaly, b.t. 252 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,48$. FAB MS, m/z: 278 (100%, M + H). ^1H NMR (D_2O): 7,69 (s, 1H, H-8); 4,33 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 5,4$, $J(\text{gem}) = 14,3$, H-1'a); 4,15 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 7,6$, $J(\text{gem}) = 14,3$, H-1'b); 3,73 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 5,4$, $J(2',1'b) = 7,6$, H-2'); 2,83 (m, 1H, N-CH); 0,92 a 0,70 (2 x m, 2 x 2H, CH₂). ^{13}C NMR (D_2O): 179,35 (C=O); 160,02 (C-2); 156,12 (C-6); 150,52 (C-4); 139,47 (C-8); 113,10 (C-5); 56,18 (C-2'); 47,58 (C-1'); 23,35 (N-CH); 6,74, 2C (CH₂). UV: 296,10 (12,15), 272,90 (6,79), 255,60 (10,97). Pro $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_7\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (295,29) vypočteno: 44,74 % C, 5,80% H, 33,20% N, 16,25% O; nalezeno: 45,14 % C, 5,85% H, 32,84% N.

2-Amino-3-[2-amino-6-(pyrrolidin-1-yl)purin-9-yl]propanová kyselina (63h). Krystalizací z vody byly získány bílé krystaly, výtěžek 42%, b.t. 245 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,33$. FAB MS, m/z: 292 (100%, M + H). ^1H NMR ($\text{D}_2\text{O} + \text{NaOD}$): 7,50 (s, 1H, H-8); 4,22 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 5,2$, $J(\text{gem}) = 14,2$, H-1'a); 4,00 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 7,8$, $J(\text{gem}) = 14,2$, H-1'b); 3,62 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 5,2$, $J(2',1'b) = 7,8$, H-2'); 3,62 a 3,33 (2 x m, 2 x 2H, N-CH₂); 1,93 a 1,87 (2 x m, 2 x 2H, CH₂). ^{13}C NMR ($\text{D}_2\text{O} + \text{NaOD}$): 179,29 (C=O); 159,46 (C-2); 152,71 (C-6); 150,94 (C-4); 138,30 (C-8); 113,31 (C-5); 56,10 (C-2'); 48,60 a 47,50 (N-CH₂); 47,55 (C-1'); 25,53 a 23,74 (CH₂). UV: 298,10 (13,02), 274,40 (7,06), 257,40 (10,86). Pro $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (309,32) vypočteno: 47,99% C, 6,04% H, 32,65% N, 13,32%O; nalezeno: 47,69% C, 6,05% H, 32,48% N.

2-Amino-3-(guanin-9-yl)propanová kyselina (63i). Krystalizováno z vody, výtěžek 18%, bílá látka, b.t. 230 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,54$. FAB MS, m/z: 239 (54%, M + H). ^1H NMR ($\text{D}_2\text{O} + \text{NaOD}$): 7,64 (s, 1H, H-8); 4,29 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 5,4$, $J(\text{gem}) = 14,4$, H-1'a); 4,12 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 7,4$, $J(\text{gem}) = 14,4$, H-1'b); 3,71

(dd, 1H, $J(2',1'a) = 5,4$, $J(2',1'b) = 7,4$, H-2'). ^{13}C NMR ($\text{D}_2\text{O} + \text{NaOD}$): 179,55 (C=O); 168,31 (C-6); 161,17 (C-2); 151,17 (C-4); 138,58 (C-8); 117,51 (C-5); 56,21 (C-2'); 47,60 (C-1'). UV: 278,00 (9,80), 253,80 (14,39), 226,40 (3,79), 197,60 (24,24). Pro $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_6\text{O}_3 \cdot 4/3 \text{H}_2\text{O}$ (262,20) vypočteno: 36,64% C, 4,87% H, 32,04% N, 26,44% O; nalezeno: 36,73% C, 5,17% H, 32,04% N.

2-Amino-3-(2-amino-6-sulfanylpurin-9-yl)propanová kyselina (63j).

Krystalizací z vody s přidavkem kyseliny octové (pH 4) byly získány nažloutlé krystaly, výtěžek 21%, b.t. 253 – 254 °C za rozkladu, $E_{\text{Up}} = 0,60$. FAB MS, m/z: 255,1 (13%, M + H). ^1H NMR ($\text{D}_2\text{O} + \text{NaOD}$): 7,70 (s, 1H, H-8); 4,30 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 5,4$, $J(\text{gem}) = 14,2$, H-1'a); 4,14 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 7,5$, $J(\text{gem}) = 14,2$, H-1'b); 3,70 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 5,4$, $J(2',1'b) = 7,5$, H-2'). ^{13}C NMR ($\text{D}_2\text{O} + \text{NaOD}$): 179,49 (C-6); 177,90 (C=O); 158,80 (C-2); 148,23 (C-4); 140,60 (C-8); 129,41 (C-5); 56,12 (C-2'); 47,60 (C-1'). UV: 342,20 (17,32), 294,60 (0,44), 261,00 (6,10), 241,60 (1,08), 207,80 (18,25). Pro $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_6\text{O}_2\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (272,28) vypočteno: 35,29% C; 4,44% H; 30,87% N; 17,63% O; 11,77% S; nalezeno: 34,91% C; 4,51% H; 30,64% N; 12,11% S.

2-Methylpropylestery C^6 -substituovaných 2-hydroxy-3-(purin-9-yl)propanových a 3-(2-aminopurin-9-yl)-2-hydroxypropanových kyselin (64a – 64g). Obecný postup.

K roztoku příslušné C^6 -substituované 2-hydroxy-3-(purin-9-yl)propanové kyseliny nebo 3-(2-aminopurin-9-yl)-2-hydroxypropanové kyseliny **61** (1,5 mmol) v 2-methylpropanolu (17 ml) byla přikapána koncentrovaná kyselina sírová (0,15 ml) a roztok byl zahříván k varu pod zpětným chladičem po dobu 3 – 5 h. Po ochlazení byl roztok mírně zalkalizován triethylaminem (pH 8) a odpařen. Byly připraveny tyto látky:

2-Methylpropylester 3-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]-2-hydroxypropanové kyseliny (64a). Krystalizací ze směsi voda – methanol (1:2) byly získány bílé krystaly látky **64a**, výtěžek 0,34 g (73%), b.t. 154 °C, $R_{\text{F}} = 0,41$ (S2). FAB MS, m/z: 308 (100%, M + H). ^1H NMR ($\text{DMSO}-d^6$): 8,20 (s, 1H, H-2); 8,06 (s, 1H, H-8); 6,03 (d, 1H, $J(\text{OH},2') = 6,0$, OH); 4,51 (ddd, 1H, $J(2',1'a) = 4,4$, $J(2',\text{OH}) = 6,0$, $J(2',1'b) = 7,7$, H-2'); 4,44 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 4,4$, $J(\text{gem}) = 13,9$, H-1'a); 4,33 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 7,7$, $J(\text{gem}) = 13,9$, H-1'b); 3,82 a 3,79 (2 x dd, 2 x 1H, $J(\text{CH}_2,\text{CH}) = 6,7$,

$J(\text{gem}) = 10,5$, O-CH₂); 3,42 (br, 6H, N-CH₃); 1,81 (sept, 1H, $J = 6,7$, CH); 0,83 a 0,825 (2 x d, 2 x 3H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}) = 6,7$, CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 171,77 (C=O); 154,41 (C-6); 151,89 (C-2); 150,48 (C-4); 140,54 (C-8); 119,19 (C-5); 70,53 (O-CH₂); 68,66 (C-2'); 46,22 (C-1'); 38,35 a 38,03 (N-CH₃); 27,32 (CH); 18,94 (CH₃). Pro C₁₄H₂₁N₅O₃ (307,35) vypočteno: 54,71% C, 6,89% H, 22,79% N, 15,62% O; nalezeno: 54,69% C, 7,08% H, 22,55% N.

2-Methylpropylester 3-[6-(cyklopropylamino)purin-9-yl]-2-hydroxypropanové kyseliny (64b). Krystalizací ze směsi methanol – petrolether byly získány bílé krystaly látky **64b**, výtěžek 82%, b.t. 125 °C, R_F = 0,73 (S2). FAB MS, m/z: 320 (100%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,23 (br s, 1H, H-2); 8,04 (s, 1H, H-8); 7,87 (br s, 1H, NH); 6,04 (d, 1H, $J(\text{OH}, 2') = 6,1$, OH); 4,53 (ddd, 1H, $J(2', 1'a) = 4,5$, $J(2', \text{OH}) = 6,1$, $J(2', 1'b) = 7,6$, H-2'); 4,45 (dd, 1H, $J(1'a, 2') = 4,5$, $J(\text{gem}) = 14,0$, H-1'a); 4,33 (dd, 1H, $J(1'b, 2') = 7,6$, $J(\text{gem}) = 14,0$, H-1'b); 3,82 a 3,79 (2 x dd, 2 x 1H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}) = 6,7$, $J(\text{gem}) = 10,5$, O-CH₂); 3,05 (m, 1H, N-CH); 1,80 (sept, 1H, $J = 6,7$, CH); 0,825 a 0,82 (2 x d, 2 x 3H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}) = 6,7$, CH₃); 0,71 a 0,60 (2 x m, 2H, CH₂). Pro C₁₅H₂₁N₅O₃ (319,36) vypočteno: 56,41% C, 6,63% H, 21,93% N, 15,03% O; nalezeno: 56,06% C, 6,75% H, 21,58% N.

2-Methylpropylester 3-[6-(pyrrolidin-1-yl)purin-9-yl]propanové kyseliny (64c). Krystalizací ze směsi voda – methanol byly získány bílé krystaly látky **64c**, výtěžek 59%, b.t. 132 – 134 °C, R_F = 0,72 (S2). FAB MS, m/z: 334 (100%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,19 (s, 1H, H-2); 8,03 (s, 1H, H-8); 6,03 (d, 1H, $J(\text{OH}, 2') = 6,0$, OH); 4,51 (ddd, 1H, $J(2', 1'a) = 4,4$, $J(2', \text{OH}) = 6,0$, $J(2', 1'b) = 7,7$, H-2'); 4,44 (dd, 1H, $J(1'a, 2') = 4,4$, $J(\text{gem}) = 14,00$, H-1'a); 4,33 (dd, 1H, $J(1'b, 2') = 7,7$, $J(\text{gem}) = 14,00$, H-1'b); 4,40 a 3,61 (2 x m, 2 x 2H, N-CH₂); 3,82 a 3,79 (2 x dd, 2 x 1H, $J = 6,7$ a 10,5, O-CH₂); 1,97 a 1,91 (2 x m, 2 x 2H, C-CH₂); 1,82 (sept, 1H, $J = 6,7$, CH); 0,84 a 0,835 (2 x d, 2 x 3H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}) = 6,7$, CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 171,78 (C=O); 152,66 (C-6); 152,28 (C-2); 152,14 (C-4); 140,96 (C-8); 119,33 (C-5); 70,53 (O-CH₂); 68,71 (C-2'); 48,43 a 46,90 (N-CH₂); 46,19 (C-1'); 27,33 (CH); 26,00 a 24,05 (C-CH₂); 18,94, 2C (CH₃). Pro C₁₆H₂₃N₅O₃ (333,39) vypočteno: 57,64% C, 6,95% H, 21,01% N, 14,40% O; nalezeno: 57,42% C, 6,97% H, 20,87% N.

2-Methylpropylester 3-[2-amino-6-(dimethylamino)purin-9-yl]-2-hydroxypropanové kyseliny (64d). Krystalizací ze směsi voda – methanol byly získány bílé krystaly látky **64d**, výtěžek 83%, b.t. 148 °C, R_F = 0,20 (S2). FAB MS, m/z: 323 (100%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 7,63 (s, 1H, H-8); 6,10 (br s, 1H, OH); 5,86

(br s, 2H, NH₂); 4,47 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 4,4$, $J(2',1'b) = 7,9$, H-2'); 4,26 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 4,4$, $J(\text{gem}) = 14,0$, H-1'a); 4,14 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 7,9$, $J(\text{gem}) = 14,0$, H-1'b); 3,83 a 3,81 (2 x dd, 2 x 1H, $J(\text{CH}_2,\text{CH}) = 6,7$, $J(\text{gem}) = 10,5$, O-CH₂); 3,35 (br s, 6H, N-CH₃); 1,81 (sept, 1H, $J = 6,7$, CH); 0,84 (d, 6H, $J(\text{CH}_3,\text{CH}) = 6,7$, CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 171,96 (C=O); 159,52 (C-2); 154,88 (C-6); 152,84 (C-4); 137,33 (C-8); 113,62 (C-5); 70,47 (O-CH₂); 68,79 (C-2'); 45,93 (C-1'); 37,80, 2C (N-CH₃); 27,37 (CH); 18,97, 2C (CH₃). Pro C₁₄H₂₂N₆O₃ (322,36) vypočteno: 52,16% C, 6,88% H, 26,07% N, 14,89% O; nalezeno: 52,15% C, 6,84% H, 25,88% N.

2-Methylpropylester 3-[2-amino-6-(cyklopropylamino)purin-9-yl]-2-hydroxypropanové kyseliny (64e). Čištěno pomocí preparativní TLC v soustavě methanol – chloroform (22% MeOH), krystalizace ze směsi voda – methanol. Bílé krystaly, výtěžek 66%, b.t. 153 °C, R_F = 0,53 (S2). FAB MS, m/z: 335 (100%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 7,60 (s, 1H, H-8); 7,29 (br s, 1H, NH); 6,09 (d, 1H, $J(\text{OH},2') = 6,2$, OH); 5,87 (br s, 2H, NH₂); 4,47 (m, 1H, H-2'); 4,26 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 4,4$, $J(\text{gem}) = 14,2$, H-1'a); 4,14 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 7,8$, $J(\text{gem}) = 14,2$, H-1'b); 3,83 a 3,81 (2 x dd, 2 x 1H, $J(\text{CH}_2,\text{CH}) = 6,7$, $J(\text{gem}) = 10,5$, O-CH₂); 3,02 (br, 1H, N-CH); 1,81 (sept, 1H, $J = 6,7$, CH); 0,83 (d, 6H, $J(\text{CH}_3,\text{CH}) = 6,7$, CH₃); 0,64 a 0,58 (2 x m, 2 x 2H, CH₂). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 171,98 (C=O); 160,27 (C-2); 156,08 (C-6); 151,0 (C-4); 135,05 (C-8); 113,42 (C-5); 70,47 (O-CH₂); 68,87 (C-2'); 45,95 (C-1'); 27,37 (CH); 24,0 (N-CH); 18,96 (2C, CH₃); 6,62 (2C, CH₂). Pro C₁₅H₂₂N₆O₃.1/3 H₂O (340,38) vypočteno: 52,93% C, 6,71% H, 24,69% N, 15,67% O; nalezeno: 53,00% C, 6,78% H, 24,65% N.

2-Methylpropylester 3-(guanin-9-yl)-2-hydroxypropanové kyseliny (64f). Čištěno pomocí preparativní TLC v soustavě methanol – chloroform (20% MeOH), krystalizace ze směsi ethanol – ether, bílé krystaly, výtěžek 58%, b.t. 230 – 231 °C za rozkladu, R_F = 0,50 (S3). FAB MS, m/z: 296,1 (35%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 10,58 (br s, 1H, NH); 7,60 (s, 1H, H-8); 6,45 (br s, 2H, NH₂); 6,02 (d, 1H, $J(\text{OH},\text{CH}) = 6,2$, OH); 4,44 (ddd, 1H, $J(2',1'a) = 4,6$, $J(2',\text{OH}) = 6,2$, $J(2',1'b) = 8,1$, H-2'); 4,22 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 4,6$, $J(\text{gem}) = 14,00$, H-1'a); 4,10 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8,1$, $J(\text{gem}) = 14,00$, H-1'b); 3,84 a 3,82 (2 x dd, 2 x 1H, $J = 6,7$ a 10,6, O-CH₂); 1,82 (sept, 1H, $J = 6,7$, CH); 0,84 (d, 6H, $J(\text{CH}_3,\text{CH}) = 6,7$, CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 171,84 (C=O); 156,95 (C-2); 153,68 (C-6); 151,40 (C-4); 138,295 (C-8); 116,50 (C-5); 70,50 (O-CH₂); 68,79 (C-2'); 45,93 (C-1'); 27,37 (CH); 18,93, 2C (CH₃). Pro

$C_{12}H_{17}N_5O_4H_2O$ (313,31) vypočteno: 46,00% C, 6,11% H, 22,35% N, 25,53% O; nalezeno: 45,66% C, 5,94% H, 22,21% N.

2-Methylpropylester 2-hydroxy-3-(6-sulfanylpurin-9-yl)propanové kyseliny (64g). Čištěno pomocí preparativní TLC v soustavě methanol – chloroform (20% MeOH), krystalizace ze směsi voda - methanol, bílé krystaly, výtěžek 71%, b.t. 203 – 204 °C, $R_F = 0,69$ (S2). FAB MS, m/z: 297,1 (100%, M + H). 1H NMR (DMSO- d^6): 13,74 (br s, 1H, SH); 8,27 (br s, 2H, H-2 a H-8); 6,09 (d, 1H, $J(OH,2') = 5,8$, OH); 4,53 (m, 1H, H-2'); 4,48 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 4,0$, $J(gem) = 13,9$, H-1'a); 4,37 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 7,4$, $J(gem) = 13,9$, H-1'b); 3,85 a 3,81 (2 x dd, 2 x 1H, $J = 6,7$ a 10,6, O-CH₂); 1,82 (sept, 1H, $J = 6,7$, CH); 0,84 a 0,835 (2 x d, 2 x 3H, $J(CH_3,CH) = 6,7$, CH₃). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 175,17 (C-6); 171,57 (C=O); 145,0 (C-4); 144,76 (C-2); 143,87 (C-8); 134,35 (C-5); 70,68 (O-CH₂); 68,61 (C-2'); 46,71 (C-1'); 27,36 (CH); 18,96, 2C (CH₃). Pro $C_{12}H_{16}N_4O_3S \cdot H_2O$ (314,36) vypočteno: 45,85% C, 5,77% H, 17,82% N, 20,36% O, 10,20% S; nalezeno: 45,76% C, 5,75% H, 17,57% N, 10,08% S.

2-Methylpropylestery C^6 -substituovaných 2-amino-3-(purin-9-yl)propanových a 2-amino-3-(2-aminopurin-9-yl)propanových kyselin (64h – 64j). Obecný postup.

K roztoku příslušné C^6 -substituované 2-amino-3-(purin-9-yl)propanové kyseliny nebo 2-amino-3-(2-aminopurin-9-yl)propanové kyseliny **63** (1,2 mmol) v 2-methylpropanolu (15 ml) byla přikapána koncentrovaná kyselina sírová (0,14 ml) a roztok byl zahříván k varu pod zpětným chladičem po dobu 3 – 5 h. Po ochlazení byl roztok mírně zalkalizován triethylaminem (pH 8) a odpařen. Odparek rozpuštěný v ethylacetátu byl promyt nasyceným roztokem chloridu sodného (3 x 60 ml), vodná fáze byla promyta ethylacetátem, organické fáze byly spojeny a vysušeny síranem hořečnatým. Čištěno preparativní TLC v soustavě methanol – chloroform (10% MeOH). Krystalizováno ze směsi ethylacetát – petrolether. Byly připraveny tyto látky:

2-Methylpropylester 2-amino-3-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]propanové kyseliny (64h). Světle hnědé krystaly, výtěžek 58%, b.t. 95-96 °C, $R_F = 0,41$ (S2). FAB MS, m/z: 307,2 (100%, M + H). 1H NMR (DMSO- d^6): 8,23 a 8,08 (2 x s, 2 x 1H, H-2 a H-8); 4,67 (t, 1H, $J(2',1') = 5,0$, H-2'); 4,63 (d, 2H, $J(1',2') = 5,0$, H-1'); 3,89 a 3,79 (2 x dd, 2 x 1H, $J(CH_2,CH) = 6,7$, $J(gem) = 10,5$, O-CH₂); 3,38 (br s, 8H,

NH₂ a N-CH₃); 1,76 (sept, 1H, CH); 0,80 a 0,79 (2 x d, 2 x 3H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}) = 6,7$, CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 167,52 (C=O); 154,18 (C-6); 152,02 (C-2); 150,52 (C-4); 140,01 (C-8); 118,82 (C-5); 72,08 (O-CH₂); 51,65 (C-2'); 43,0 (C-1'); 40,0 (N-CH₃); 27,13 (CH); 18,82 (2C, CH₃). Pro C₁₄H₂₂N₆O₂·H₂O (324,38) vypočteno: 51,84% C, 7,46% H, 25,91% N, 14,80% O; nalezeno: 51,92% C, 7,32% H, 25,65% N.

2-Methylpropylester 2-amino-3-[6-(cyklopropylamino)purin-9-yl]propanové kyseliny (64i). Nažloutlý olej, výtěžek 62%, R_F = 0,45 (S2). FAB MS, m/z: 319,2 (100%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,26 (br s, 1H, H-2); 8,06 (s, 1H, H-8); 8,0 (br, 1H, NH); 4,62 (m, 3H, H-1' a H-2'); 3,89 a 3,79 (2 x dd, 2 x 1H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}) = 6,7$, $J(\text{gem}) = 10,5$, O-CH₂); 3,38 (br s, NH₂); 3,00 (m, 1H, N-CH); 1,75 (sept, 1H, CH); 0,79 a 0,78 (2 x d, 2 x 3H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}) = 6,7$, CH₃); 0,73 a 0,60 (2 x m, 2 x 2H, CH₂). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 167,97 (C=O); 155,83 (C-6); 152,62 (C-2); 149,0 (C-4); 141,08 (C-8); 119,31 (C-5); 72,05 (O-CH₂); 51,89 (C-2'); 43,20 (C-1'); 27,17 (N-CH); 18,88 a 18,82 (CH₃); 24,13 a 6,65, 2C (CH₂). Pro C₁₅H₂₂N₆O₂·1/2H₂O (327,38) vypočteno: 55,03 % C, 7,08% H, 25,67% N, 12,22% O; nalezeno: 55,18 % C, 7,28% H, 25,56% N.

2-Methylpropylester 2-amino-3-[2-amino-6-(pyrrolidin-1-yl)purin-9-yl]propanové kyseliny (64j). Nažloutlé krystaly, výtěžek 66%, b.t. 124-125 °C, R_F = 0,31 (S2). FAB MS, m/z: 348,1 (85%, M+ H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 7,61 (s, 1H, H-8); 5,79 (br s, 2H, NH₂); 4,20 (dd, 1H, $J(1'a, 2') = 6,0$, $J(\text{gem}) = 13,9$, H-1'a); 4,08 (dd, 1H, $J(1'b, 2') = 7,3$, $J(\text{gem}) = 13,9$, H-1'b); 3,87 (dd, 1H, $J(2', 1'a) = 6,0$, $J(2', 1'b) = 7,3$, H-2'); 3,90 a 3,55 (2 x m, 2 x 1H, N-CH₂); 3,79 a 3,75 (2 x dd, 2 x 1H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}) = 6,7$, $J(\text{gem}) = 10,5$, O-CH₂); 1,90 (m, 4H, CH₂); 1,78 (sept, 1H, CH); 0,81 a 0,808 (2 x d, 2 x 3H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}) = 6,7$, CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 173,04 (C=O); 159,91 (C-2); 153,25 (C-6); 152,50 (C-4); 137,64 (C-8); 113,91 (C-5); 70,60 (O-CH₂); 53,77 (C-2'); 48,14 a 46,97 (N-CH₂); 45,93 (C-1'); 27,31 (CH); 25,70 a 24,30 (CH₂); 18,99 a 18,94 (CH₃). Pro C₁₆H₂₅N₇O₂·1/2H₂O (356,42) vypočteno: 53,92 % C, 7,35% H, 27,51% N, 11,22% O; nalezeno: 53,63 % C, 7,30% H, 27,16% N.

N⁶-Substituované 4-(adenin-9-yl)but-3-enové kyseliny (65a – 65c). Obecný postup.

Směs C⁶-substituovaného 9-(2,2-diethoxyethyl)purinu (59a – 59c) (2 mmol) a malonové kyseliny (8 mmol) ve vodě (15 ml) byla zahřívána k varu pod zpětným chladičem po dobu 24 – 32 h. Průběh reakce byl sledován na TLC (S1) a pomocí papírové elektroforézy. Po vymizení veškeré výchozí látky byla reakční směs ochlazena na laboratorní teplotu a vzniklý krystalický produkt odfiltrován, promyt vodou a etherem a vysušen. Byly připraveny tyto látky:

4-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]but-3-enová kyselina (65a). Bílé krystaly, výtěžek 0,28 g (60%), b.t. 222,8 °C, E_{Up} = 0,57. FAB MS, m/z: 248 (50%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 12,43 (br s, 1H, COOH); 8,46 (s, 1H, H-2); 8,25 (s, 1H, H-8); 7,20 (dt, 1H, *J*(1',2') = 14,5, *J*(1',3') = 1,3, H-1'); 6,63 (dt, 1H, *J*(2',1') = 14,5, *J*(2',3') = 7,4, H-2'); 3,24 (dd, 2H, *J*(3',2') = 7,4, *J*(3',1') = 1,3, H-3'); 3,37 (br s, 6H, CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 172,64 (C=O); 154,36 (C-6); 152,49 (C-2); 149,44 (C-4); 137,48 (C-8); 123,19 (C-1'); 119,62 (C-5); 113,70 (C-2'); 43,50 a 37,55 (N-CH₃); 35,12 (C-3'). UV: 268,20 (18,59), 239,6 (20,60). Pro C₁₁H₁₃N₅O₂ (247,26) vypočteno: 53,44% C; 5,30% H; 28,32% N; 12,94% O; nalezeno: 53,33% C; 5,37% H; 28,15% N.

4-[6-(Cyklopropylamino)purin-9-yl]but-3-enová kyselina (65b). Světle žluté krystaly, výtěžek 0,36 g (70%), b.t. 239 °C za rozkladu, E_{Up} = 0,52. FAB MS, m/z: 260 (28%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 12,47 (br s, 1H, COOH); 8,44 (s, 1H, H-2); 8,30 (s, 1H, H-8); 8,01 (br s, 1H, N-H); 7,20 (dt, 1H, *J*(1',2') = 14,5, *J*(1',3') = 1,3, H-1'); 6,66 (dt, 1H, *J*(2',1') = 14,5, *J*(2',3') = 7,4, H-2'); 3,24 (dd, 2H, *J*(3',2') = 7,4, *J*(3',1') = 1,3, H-3'); 3,02 (m, 1H, N-CH); 0,73 a 0,62 (m, 2H, C-CH₂). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 172,66 (C=O); 156,02 (C-6); 153,14 (C-2); 149,50 (C-4); 138,74 (C-8); 123,41 (C-1'); 119,62 (C-5); 113,63 (C-2'); 35,15 (C-3'); 27,00 (N-CH); 6,61 (C-CH₂). UV: 265,50 (12,00), 239,10 (13,92). Pro C₁₂H₁₃N₅O₂ (259,27) vypočteno: 55,59% C; 5,05% H; 27,01% N; 12,34% O; nalezeno: 55,33% C; 5,17% H; 27,39% N.

4-[6-(Pyrrolidin-1-yl)purin-9-yl]but-3-enová kyselina (65c). Bílé krystaly, výtěžek 0,37 g (64%), b.t. 213 °C za rozkladu, E_{Up} = 0,58. FAB MS, m/z: 274 (18%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 12,45 (br s, 1H, COOH); 8,42 (s, 1H, H-2); 8,24 (s, 1H, H-8); 7,20 (dt, 1H, *J*(1',2') = 14,5, *J*(1',3') = 1,3, H-1'); 6,64 (dt, 1H, *J*(2',1') =

14,5, $J(2',3') = 7,4$, H-2'); 4,01 a 3,62 (m, 2H, N-CH₂); 3,24 (dd, 2H, $J(3',2') = 7,4$, $J(3',1') = 1,3$, H-3'); 1,95 a 1,91 (m, 2H, C-CH₂). ¹³C NMR: 172,68 (C=O); 152,90 (C-2); 152,62 (C-6); 149,12 (C-4); 137,99 (C-8); 123,30 (C-1'); 119,80 (C-5); 113,53 (C-2'); 48,64 a 47,21 (N-CH₂); 35,14 (C-3'); 25,96 a 23,90 (C-CH₂). UV: 269,10 (14,73), 240,40 (14,64). Pro C₁₃H₁₅N₅O₂·2H₂O (309,31) vypočteno: 50,48% C; 6,19% H; 22,64% N; 20,69% O; nalezeno: 50,77% C; 6,23% H; 22,64% N.

4-(Hypoxanthin-9-yl)but-3-enová kyselina (65d)

Roztok látky **57a** (1,13 g, 4,5 mmol) a malonové kyseliny (1,89 g, 18 mmol) ve vodě (30 ml) byl zahříván k varu pod zpětným chladičem po dobu 24 h a ochlazen na laboratorní teplotu. Vyloučený krystalický produkt byl odfiltrován, promyt vodou a acetonem. Rekrytalizací z vody bylo získáno 0,59 g (59%) bílých krystalů látky **65d**, b.t. 294 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,63$. FAB MS, m/z: 221 (55%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 12,47 (br s, 2H, COOH a N-H); 8,42 (s, 1H, H-2); 8,11 (s, 1H, H-8); 7,16 (dt, 1H, $J(1',2') = 14,5$, $J(1',3') = 1,5$, H-1'); 6,58 (dt, 1H, $J(2',1') = 14,5$, $J(2',3') = 7,4$, H-2'); 3,25 (dd, 2H, $J(3',2') = 7,4$, $J(3',1') = 1,5$, H-3'). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 172,49 (C=O); 156,69 (C-6); 147,35 (C-4); 146,43 (C-2); 138,13 (C-8); 124,67 (C-5); 122,99 (C-1'); 115,00 (C-2'); 35,00 (C-3'). UV: 224,80 (13,18). Pro C₉H₈N₄O₃ (220,19) vypočteno: 49,09% C; 3,66% H; 25,45% N; 21,80% O; nalezeno: 48,97% C; 3,65% H; 25,28% N.

4-(6-Thiopurin-9-yl)but-3-enová kyselina (65e)

Roztok látky **58a** (1,9 g, 7 mmol) a malonové kyseliny (3 g, 28 mmol) ve vodě (40 ml) byl zahříván k varu po dobu 5 h. Reakční směs byla odpařena a deionizována na sloupci Dowexu 50 X 8 (viz. výše) a čištěna na sloupci Dowexu 1 X 2 (viz. výše). Kolona byla promývána vodou (500 ml), gradientem kyseliny octové (2 l, 0 – 1 M) a kyselinou mravenčí (500 ml, 1 M). Krystalizací z vody bylo získáno 0,52 g (30%) látky **65e**. Žlutá látka, b.t. 225 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,86$. FAB MS, m/z: 237 (45%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 13,90 (br s, 1H, SH); 12,50 (br s, 1H, COOH); 8,62 (s, 1H, H-2); 8,25 (s, 1H, H-8); 7,18 (dt, 1H, $J(1',2') = 14,5$, $J(1',3') = 1,5$, H-1'); 6,61 (dt, 1H, $J(2',1') = 14,5$, $J(2',3') = 7,4$, H-2'); 3,26 (dd, 2H, $J(3',2') = 7,4$, $J(3',1') = 1,5$, H-3'). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 176,18 (C-6); 172,46 (C=O); 145,80 (C-2); 143,02

(C-4); 140,83 (C-8); 135,61 (C-5); 122,68 (C-1'); 115,79 (C-2'); 35,00 (C-3'). UV: 321,80 (21,63), 276,20 (4,17), 219,60 (17,58). Pro $C_9H_8N_4O_2S \cdot 2/3H_2O$ (248,27) vypočteno: 43,54% C; 3,79% H; 22,57% N; 17,19% O; 12,91% S; nalezeno: 43,37% C; 3,69% H; 22,77% N; 13,09% S.

***N*⁶-Substituované 4-(2,6-diaminopurin-9-yl)but-3-enové kyseliny (65f – 65h). Obecný postup.**

Směs *C*⁶-substituovaného 2-amino-9-(2,2-diethoxyethyl)purinu (**56d – 56f**, 6 mmol) a kyseliny malonové (24 mmol) ve vodě (35 ml) bylo zahříváno k varu pod zpětným chladičem po dobu 19 – 25 h, průběh reakce byl sledován na TLC (S2) a pomocí elektroforézy. Reakční směs byla odpařena, deionizována na Dowexu 50 X 8 (viz. výše) a čištěna na koloně Dowexu 1 X 2 (viz. výše), kolona byla promývána gradientem kyseliny octové (2 l, 0 – 0,5 M), následná krystalizace z vody poskytla tyto látky:

4-[2-Amino-6-(dimethylamino)purin-9-yl]but-3-enová kyselina (65f). Bílá látka, výtěžek 0,95 g (54%), b.t. 241 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,47$. FAB MS, m/z: 263 (100%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 12,30 (br s, 1H, COOH); 8,06 (s, 1H, H-8); 7,00 (dt, 1H, $J(1',2') = 14,5$, $J(1',3') = 1,2$, H-1'); 6,44 (dt, 1H, $J(2',1') = 14,5$, $J(2',3') = 7,4$, H-2'); 6,00 (br s, 2H, NH₂); 3,36 (br s, 6H, N-CH₃); 3,18 (dd, 2H, $J(3',2') = 7,4$, $J(3',1') = 1,2$, H-3'). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 172,74 (C=O); 159,68 (C-2); 154,62 (C-6); 151,83 (C-4); 134,09 (C-8); 123,39 (C-1'); 113,86 (C-5); 111,90 (C-2'); 40,29 a 37,90 (N-CH₃); 35,22 (C-3'). UV: 295,50 (10,88). 233,80 (21,94). Pro $C_{11}H_{14}N_6O_2$ (262,27) vypočteno: 50,38% C; 5,38% H; 32,04% N; 12,20% O; nalezeno: 50,21% C; 5,35% H; 31,92% N.

4-[2-Amino-6-(cyklopropylamino)purin-9-yl]but-3-enová kyselina (65g). Bílá látka, krystalizováno ze směsi voda-aceton, výtěžek 0,9 g (50%), b.t. 247 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,41$. FAB MS, m/z: 275 (55%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 12,43 (br s, 1H, COOH); 8,18 (s, 1H, H-8); 7,50 (br s, 3H, N-H); 7,00 (d, 1H, $J(1',2') = 14,4$, H-1'); 6,49 (dt, 1H, $J(2',1') = 14,4$, $J(2',3') = 7,4$, H-2'); 3,19 (d, 2H, $J(3',2') = 7,4$, H-3'); 2,95 (m, 1H, N-CH); 0,80 a 0,68 (2 x m, 2 x 2H, C-CH₂). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 172,63 (C=O); 157,5 (C-2); 153,00 (C-6); 149,99 (C-4); 123,14 (C-1'); 113,26 (C-5); 112,84 (C-2'); 35,19 (C-3'); 24,11 (N-CH); 7,08 (2C, CH₂). UV:

295,70 (10,85), 233,80 (21,04). Pro $C_{12}H_{14}N_6O_2 \cdot 3/2H_2O$ (301,30) vypočteno: 47,84% C; 5,69% H; 27,89% N; 18,58% O; nalezeno: 48,15% C; 5,33% H; 27,76% N.

4-[2-Amino-6-(pyrrolidin-1-yl)purin-9-yl]but-3-enová kyselina (65h). Bílá látka, krystalizováno ze směsi voda-ethanol, výtěžek 0,6 g (35%), b.t. 259 °C, $E_{Up} = 0,39$. FAB MS, m/z: 289 (100%, M + H). 1H NMR (DMSO- d^6): 12,40 (br s, 1H, COOH); 8,01 (s, 1H, H-8); 7,00 (dt, 1H, $J(1',2') = 14,5$, $J(1',3') = 1,0$, H-1'); 6,44 (dt, 1H, $J(2',1') = 14,5$, $J(2',3') = 7,1$, H-2'); 5,92 (br s, 2H, NH₂); 3,95 a 3,55 (2 x m, 2 x 2H, N-CH₂); 3,17 (d, 2H, $J(3',2') = 7,1$, H-3'); 1,91 (m, 4H, C-CH₂). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 172,78 (C=O); 160,27 (C-2); 153,13 (C-6); 151,54 (C-4); 134,48 (C-8); 123,51 (C-1'); 114,14 (C-5); 111,61 (C-2'); 48,60 a 47,50 (N-CH₂); 35,25 (C-3'); 25,50 a 25,0 (C-CH₂). UV: 298,50 (12,96), 234,10 (21,57). Pro $C_{13}H_{16}N_6O_2 \cdot 1/2H_2O$ (297,32) vypočteno: 52,52% C; 5,76% H; 28,27% N; 13,45% O; nalezeno: 52,79% C; 5,73% H; 28,17% N.

4-(Guanin-9-yl)but-3-enová kyselina (65i)

Tato kyselina byla připravena stejným postupem jako látka **65d** z látky **57b** (1,2 g, 4,5 mmol), bílá látka, výtěžek 0,63 g (60%), b.t. 306 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,52$. FAB MS, m/z: 236 (40%, M + H). 1H NMR (DMSO- d^6): 12,45 (br s, 1H, COOH); 10,71 (s, 1H, N-H); 8,02 (s, 1H, H-8); 6,93 (dt, 1H, $J(1',2') = 14,5$, $J(1',3') = 1,5$, H-1'); 6,56 (br s, 2H, NH₂); 6,41 (dt, 1H, $J(2',1') = 14,5$, $J(2',3') = 7,4$, H-2'); 3,17 (dd, 2H, $J(3',2') = 7,4$, $J(3',1') = 1,5$, H-3'). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 172,69 (C=O); 156,85 (C-6); 154,11 (C-2); 150,31 (C-4); 135,08 (C-8); 123,19 (C-1'); 117,06 (C-5); 113,03 (C-2'); 35,17 (C-3'). UV: 270,20 (7,65), 214,20 (15,76). Pro $C_9H_9N_5O_3$ (235,20) vypočteno: 45,96% C; 3,86% H; 29,78% N; 20,41% O; nalezeno: 45,61% C; 3,89% H; 29,74% N.

4-(2-Amino-6-thiopurin-9-yl)but-3-enová kyselina (65j)

Tato látka byla připravena stejným postupem jako látka **65e** z látky **58b** (0,98 g, 7 mmol). Krystalizací z vody bylo získáno 0,76 g (42%) žlutých krystalů, b.t. 259 °C za rozkladu, $E_{Up} = 0,67$. FAB MS, m/z: 252 (15%, M + H). 1H NMR (DMSO- d^6): 12,48 (br s, 1H, COOH); 12,01 (s, 1H, SH); 8,21 (s, 1H, H-8); 6,94 (dt, 1H, $J(1',2') = 14,5$, $J(1',3') = 1,0$, H-1'); 6,88 (br s, 2H, NH₂); 6,46 (dt, 1H, $J(2',1') = 14,5$, $J(2',3') =$

7,4, H-2'); 3,19 (dd, 2H, $J(3',2') = 7,4$, $J(3',1') = 1,0$, H-3'). ^{13}C NMR (DMSO- d_6): 175,30 (C-6); 172,55 (C=O); 153,43 (C-2); 146,80 (C-4); 138,13 (C-8); 128,65 (C-5); 122,84 (C-1'); 113,86 (C-2'); 35,14 (C-3'). UV: 342,20 (19,98), 300,00 (2,14), 267,80 (7,62). Pro $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_5\text{O}_2\text{S}\cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ (260,27) vypočteno: 41,53% C; 3,87% H; 26,91% N; 15,37% O; 12,32% S; nalezeno: 41,87% C; 3,83% H; 26,53% N; 12,43% S.

6-(Dimethylamino)purin (66)

K roztoku 6-chlorpurinu (4,65 g, 30 mmol) v acetonitrilu (200 ml) byl přikapán dimethylamonium N,N-dimethylkarbamát (7,68 ml, 60 mmol) a reakční směs byla zahřívána k varu pod zpětným chladičem po dobu 1 h. Vyloučená krystalická látka byla odfiltrována, promyta ethanolem a etherem a vysušena. Krystalizací matečného louhu ze směsi ethanol – ether byl získán další podíl látky **66**. Výtěžek 4,60 g (95%), b.t. 264 °C, $R_f = 0,67$ (S3), 0,36 (S2). EI MS: 163,1 (32%, M). ^1H NMR (DMSO- d_6): 12,95 (br s, 1H, NH); 8,17 (s, 1H, H-2); 8,08 (s, 1H, H-8); 3,44 (br s, 6H, N-CH₃). Pro $\text{C}_7\text{H}_9\text{N}_5$ (163,18) vypočteno: 51,52% C, 5,56% H, 42,92% N; nalezeno: 51,24% C, 5,58% H, 42,65% N.

4-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]but-1-en (67)

a 4-[6-(dimethylamino)purin-3-yl]but-1-en (68)

K roztoku látky **66** (3 g, 18 mmol) v DMF (90 ml) byl za míchání přidán hydrid sodný (0,9 g, 18 mmol) a po 30 min přikapán 4-bromprop-1-en (2,4 ml, 22 mmol), reakční směs byla zahřívána na 60 °C po dobu 9 h, poté byla odpařena a k destilována s toluenem (2 x 100 ml) a ethanolem (2 x 100 ml). Odparek byl extrahován horkým chloroformem, přefiltrován přes křemelinu a odpařen. Chromatografií na sloupci silikagelu v soustavě methanol – chloroform (0 – 5% MeOH) bylo získáno 3,38 g (84%) látky **67**, nažloutlý olej, $R_f = 0,88$ (S2). FAB MS, m/z: 218 (80%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d_6): 8,20 (s, 1H, H-2); 8,12 (s, 1H, H-8); 5,76 (ddt, 1H, $J(3',2') = 6,8$, $J(3',4') = 9,7$, a 17,8, H-3'); 4,97 (m, 2H, H-4'); 4,22 (t, 2H, $J(1',2') = 7,0$, H-1'); 3,45 (br, 6H, N-CH₃); 2,56 (qt, 2H, $J(2',4') = 1,3$, $J(2',1') = J(2',3') = 6,8$, H-2'). ^{13}C NMR (DMSO- d_6): 154,40 (C-6); 151,82 (C-2); 150,45 (C-4); 139,91 (C-8); 134,86 (C-3'); 119,39 (C-5); 117,70 (C-4'); 42,31 (C-1'); 38,00 (N-

CH₃); 33,67 (C-2'). Pro C₁₁H₁₅N₅ (217,27) vypočteno: 60,81% C; 6,96% H; 32,23% N; nalezeno: 60,46% C; 7,00% H; 32,01% N. Další elucí kolony byla získána světle žlutá krystalická látka **68**, výtěžek 0,5 g (12%), b.t. 143 - 144 °C, R_F = 0,69 (S2). FAB MS, m/z: 218 (100%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,35 (s, 1H, H-2); 7,75 (s, 1H, H-8); 5,80 (ddt, 1H, *J*(3',2') = 6,8, *J*(3',4') = 10,3, a 17,1, H-3'); 4,99 (ddt, 1H, *J*(*cis*-4',2') = 1,2, *J*(gem) = 1,9, *J*(*cis*-4',3') = 10,3, *cis*-H-4'); 4,94 (ddt, 1H, *J*(*trans*-4',2') = 1,6, *J*(gem) = 1,9, *J*(*trans*-4',3') = 17,1, *trans*-H-4'); 4,37 (t, 2H, *J*(1',2') = 6,9, H-1'); 3,84 a 3,26 (2 x br s, 2 x 3H, N-CH₃); 2,56 (qt, 2H, *J*(2',4') = 1,4, *J*(2',1') = *J*(2',3') = 6,8, H-2'). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 152,89 (C-6); 151,75 (C-8); 149,94 (C-4); 142,63 (C-2); 134,47 (C-3'); 121,09 (C-5); 118,04 (C-4'); 48,41 (C-1'); 39,06 a 37,50 (N-CH₃); 32,77 (C-2').

4-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]butan-1,2-diol (**69**)

K roztoku látky **67** (3,1 g, 14,27 mmol) ve směsi dioxan – voda (130 ml, 10:3) byl za míchání přidán NMO (3,34 g, 28,54 mmol) a přikapán roztok oxidu osmičelého v *tert*-butanolu (35 ml, 0,02 M). Reakční směs byla míchána 4 h za laboratorní teploty, poté byl přilít allylalkohol (4 ml), po 5 min byl přilít nasycený vodný roztok chloridu sodného a směs byla extrahována chloroformem (3 x 100 ml). Organická fáze byla vysušena síranem hořečnatým, odpařena a čištěna chromatografií na koloně silikagelu v soustavě methanol – chloroform (0 – 10% MeOH). Krystalizováno ze směsi ethylacetát – petrolether, bílé krystaly, výtěžek 2,86 g (80%), b.t. 119 °C, R_F = 0,23 (S2). FAB MS, m/z: 252 (100%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,20 (s, 1H, H-2); 8,12 (s, 1H, H-8); 4,78 (d, 1H, *J*(OH,3') = 6,8, OH); 4,55 (dd, 1H, *J*(OH,4') = 5,1 a 6,1, OH); 4,28 (ddd, 1H, *J*(1'a,2') = 5,1 a 8,4, *J*(gem) = 13,6, H-1'a); 4,20 (dt, 1H, *J*(1'b,2') = 7,7, *J*(gem) = 13,6, H-1'b); 3,45 (br, 6H, N-CH₃); 3,36 (m, 1H, H-3'); 3,32 (dt, 1H, *J*(4'a,3') = *J*(4'a,OH) = 5,4, *J*(gem) = 11,0, H-4'a); 3,22 (dt, 1H, *J*(4'b,3') = *J*(4'b,OH) = 5,8, *J*(gem) = 11,0, H-4'b); 2,01 a 1,68 (2 x m, 2 x 1H, H-2'). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 154,43 (C-6); 151,83 (C-2); 150,43 (C-4); 139,97 (C-8); 119,48 (C-5); 68,70 (C-3'); 65,92 (C-4'); 40,38 (C-1'); 39,0 a 38,35 (N-CH₃); 33,74 (C-2').

3-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]propanal-methylhemiacetal (70)

K roztoku látky **69** (2,6 g, 10 mmol) ve směsi dioxan – voda (180 ml, 5:13) byl za chlazení ledem přidán jodistan sodný (4,28 g, 20 mmol) a reakční směs byla míchána 1 h při 0 °C. Roztok byl zahuštěn na poloviční objem a extrahován chloroformem (6 x 50 ml), organická fáze byla sušena síranem hořečnatým a odpařena. Přidáním methanolu byla látka převedena na methylhemiacetal **70**, nažloutlý olej, výtěžek 2,55 g (98%), $R_F = 0,37$ (S2). FAB MS, m/z: 252,2 (10%, M + H); 234,2 (10%, M + H – H₂O); 220,2 (100%, M + H – MeOH); 164,1 (35%, 6-(dimethylamino)purin + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,20 (s, 1H, H-2); 8,10 (s, 1H, H-8); 6,20 (br s, 1H, OH); 4,40 (t, 1H, $J(3',2') = 5,6$, H-3'); 4,19 (t, 2H, $J(1',2') = 7,3$, H-1'); 3,45 (br s, 6H, N-CH₃); 3,20 (s, 3H, O-CH₃); 2,01 (m, 2H, H-2'). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 154,41 (C-6); 151,83 (C-2); 150,42 (C-4); 139,91 (C-8); 119,45 (C-5); 95,62 (C-3'); 53,66 (OCH₃); 39,58 (C-1'); 38,0 (2C, N-CH₃); 36,52 (C-2'). Pro C₁₁H₁₇N₅O₂ (251,29) vypočteno: 52,58% C; 6,82% H; 27,87% N; 12,73% O; nalezeno: 52,32% C; 6,96% H; 27,48% N.

3-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]-2-methylprop-1-en (72)

a 3-[6-(dimethylamino)purin-3-yl]-2-methylprop-1-en (73)

K roztoku látky **66** (3 g, 18 mmol) v DMF (72 ml) byl za míchání přidán hydrid sodný (0,72 g, 18 mmol) a po 30 min byl přikapán 3-brom-2-methylprop-1-en (3,1 ml, 30 mmol). Reakční směs byla zahřívána na 80 °C po dobu 15 h, odpařena, k destilována toluenem (2 x 100 ml) a ethanolem (2 x 100 ml). Odparek byl rozpuštěn v horkém chloroformu (300 ml), přefiltrován přes křemelinu a odpařen. Čištěno chromatografií na koloně silikagelu v soustavě methanol – chloroform (0 – 2% MeOH). Krystalizováno ze směsi ether – petrolether (1:1).

3-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]-2-methylprop-1-en (72). Výtěžek 1,75 g (43%), b.t. 70 - 71 °C, $R_F = 0,43$ (S2). FAB MS, m/z: 218 (100%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,20 (s, 1H, H-2); 8,10 (s, 1H, H-8); 4,85 a 4,51 (2 x br s, 2 x 1H, CH₂=); 4,72 (br s, 2H, N-CH₂); 3,45 (br, 6H, N-CH₃); 1,67 (br s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 154,41 (C-6); 152,06 (C-2); 150,55 (C-4); 141,10 (C-2'); 139,99 (C-8); 119,14 (C-5); 112,12 (CH₂=); 48,09 (N-CH₂); 38,50 a 37,50 (N-CH₃); 20,00 (CH₃). Pro C₁₁H₁₅N₅ (217,27) vypočteno: 60,81% C, 6,96% H, 32,23% N; nalezeno: 60,70% C, 6,90% H, 32,06% N.

3-[6-(dimethylamino)purin-7-yl]-2-methylprop-1-en (73). Výtěžek 0,47 g (12%), b.t. 127 °C, $R_F = 0,13$ (S2). FAB MS, m/z: 218 (100%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 8,34 (s, 1H, H-2); 7,73 (s, 1H, H-8); 4,90 a 4,61 (2 x br s, 2 x 1H, $\text{CH}_2=$); 4,48 (br s, 2H, N- CH_2); 3,85 a 3,28 (2 x br s, 2 x 3H, N- CH_3); 1,70 (br s, 3H, CH_3). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 152,80 (C-6); 151,75 (C-8); 150,31 (C-4); 142,86 (C-2); 140,26 (C-2'); 120,94 (C-5); 112,90 ($\text{CH}_2=$); 53,67 (N- CH_2); 39,02 a 37,54 (N- CH_3); 20,11 (CH_3). Pro $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_5$ (217,27) vypočteno: 60,81% C, 6,96% H, 32,23% N; nalezeno: 60,56% C, 6,95% H, 32,01% N.

3-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]-2-methylpropan-1,2-diol (74)

Připraveno z látky **72** (1,74 g, 8 mmol), postupem popsaným pro látku **69**. Výtěžek 1,85 g (92%), nažloutlý olej, $R_F = 0,38$ (S2). FAB HRMS, pro $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_2$ vypočteno 252,1460, nalezeno 252,1422. ^1H NMR (DMSO- d^6): 8,20 (s, 1H, H-2); 8,03 (s, 1H, H-8); 5,05 (t, 1H, $J(\text{OH}, 3') = 6,0$, OH); 4,87 (s, 1H, OH); 4,21 a 4,05 (2 x d, 2 x 1H, $J(\text{gem}) = 14,2$, H-1'); 3,45 (br, 6H, N- CH_3); 3,18 (d, 2H, $J(3', \text{OH}) = 6,0$, H-3'); 0,93 (s, 3H, CH_3). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 154,43 (C-6); 151,76 (C-2); 150,97 (C-4); 141,00 (C-8); 118,79 (C-5); 72,13 (C-2'); 67,25 (C-3'); 49,59 (C-1'); 39,80 a 38,10 (N- CH_3); 22,44 (CH_3).

1-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]propan-2-on (75)

K roztoku látky **74** (1,9 g, 7,6 mmol) ve směsi dioxan – voda (140 ml, 10:4) byl za míchání a chlazení ledem přidán jodistan sodný (3,25 g, 15,2 mmol) a reakční směs byla míchána 1 h při laboratorní teplotě. Směs byla zahuštěna na 100 ml a extrahována ethylacetátem (3 x 80 ml) a pak ještě chloroformem (3 x 80 ml), organické fáze byly vysušeny síranem hořečnatým, odpařeny a odparky byly spojeny. Krystalizováno ze směsi ethylacetát – petrolether. Výtěžek 1,27 g (77%), b.t. 155 – 157 °C, $R_F = 0,42$ (S2). FAB MS, m/z: 220 (100%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d^6): 8,17 (s, 1H, H-2); 8,01 (s, 1H, H-8); 5,17 (s, 2H, N- CH_2); 3,43 (br, 6H, N- CH_3); 2,23 (s, 3H, CH_3). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 201,92 (C=O); 154,42 (C-6); 152,02 (C-2); 150,67 (C-4); 140,10 (C-8); 118,90 (C-5); 52,12 (N- CH_2); 38,06 (2C, N- CH_3); 27,17 (CH_3). Pro $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}$ (219,25) vypočteno: 54,78% C, 5,98% H, 31,94% N; 7,30% O; nalezeno: 54,54% C, 5,95% H, 31,79% N.

2-Benzyl-1,2-epoxy-3-chlorpropan (78a) a 1,2-epoxy-3-chlor-2-fenylpropan (78b)

1,5 M roztok benzylmagnezium chloridu (0,2 mol) resp. fenylmagnezium chloridu (0,2 mol) v tetrahydrofuranu (130 ml) byl ochlazen na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (EtOH – suchý led) a pod argonovou atmosférou byl během 1 h přikapán roztok 1,3-dichloracetonu (21 g, 0,17 mol) v etheru (170 ml), poté byla reakční směs míchána 2 h při $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. K reakční směsi byl přidán roztok NH_4Cl (30 g) ve vodě (100 ml), roztok byl přefiltrován přes křemelinu a obě fáze odděleny. Vodná fáze byla vytřepána etherem (3 x 150 ml), organické fáze spojeny, vysušeny síranem hořečnatým a odpařeny. Byl získán bezbarvý olej ke kterému byl za chlazení ledem pomalu přilít roztok NaOH (20 g) ve vodě (170 ml), reakční směs byla míchána přes noc a 8h při $60\text{ }^{\circ}\text{C}$. Roztok byl nasycen chloridem sodným a extrahován etherem. Ether byl vysušen síranem hořečnatým, odpařen a odparek byl přečištěna chromatografií na sloupci silikagelu v soustavě toluen – ethylacetát (1 – 3% EtOAc).

2-Benzyl-1,2-epoxy-3-chlorpropan (78a). Bezbarvý olej, výtěžek 16,5 g (54%), $R_F = 0,85$ (S5). $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): 7,32 – 7,25 (m, 5h, arom H); 3,67 a 3,51 (2 x d, 2 x 1H, $J(\text{gem}) = 11,6$, CH_2); 3,14 a 2,87 (2 x d, 2 x 1H, $J(\text{gem}) = 14,2$, CH_2); 2,83 a 2,79 (2 x d, 2 x 1H, $J(\text{gem}) = 4,8$, O- CH_2). $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6): 136,10, 129,72 (2C), 128,56 (2C), 126,94 (arom.); 58,89 (kvart. C); 51,79 (CH_2); 48,08 (CH_2Cl); 37,26 (CH_2Ph).

1,2-Epoxy-2-feny-3-chlorpropan (78b). Bezbarvý olej, výtěžek 12,44 g (44%), $R_F = 0,72$ (S5). $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): 7,45 (d, 2H) a 7,40 (t, 2H) a 7,33 (t, 1H, arom. H); 4,54 a 3,84 (2 x d, 2 x 1H, $J(\text{gem}) = 12,2$, $\text{CH}_2\text{-Cl}$); 3,25 a 2,90 (2 x d, 2 x 1H, $J(\text{gem}) = 5,1$, O- CH_2). $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6): 137,04, 128,48 (2C), 128,10, 126,31 (2C, arom.); 59,32 (kvart. C); 56,07 (O- CH_2); 48,67 (CH_2Cl).

2-Benzyl-1,3-bis-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]propan-2-ol (79a)

K roztoku látky **66** (5 g, 30 mmol) v DMF (100 ml) byl přidán hydrid sodný (1,2 g, 30 mmol) a směs byla zahřívána na $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 30 min, poté byla přikapána látka **78a** (7,12 g, 39 mmol). Reakční směs byla zahřívána na $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 16 h, odpařena, kodestilována s toluenem (2 x 100 ml) a ethanolem (2 x 100 ml). Odparek byl chromatografován na koloně silikagelu v soustavě chloroform – methanol (0 – 5% MeOH) a následně krystalizována ze směsi ethylacetát – petrolether. Bylo získáno

3,28 g (23%) látky **79a**, bílé krystaly, b.t. 204 – 206 °C, $R_F = 0,64$ (S2). FAB MS, m/z: 473,3 (50%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d_6): 8,19 (s, 2H, H-2); 8,02 (s, 2H, H-8); 7,30 – 7,10 (m, 5H, arom.); 6,00 (s, 1H, OH); 4,15 (2 x d, 4H, $J(\text{gem}) = 14,4$, N-CH₂); 3,40 (br; 12 H, N-CH₃); 2,70 (s, 2H, CH₂Ph). ^{13}C NMR (DMSO- d_6): 154,33 (2C, C-6); 151,74 (2C, C-2); 150,89 (2C, C-4); 140,72 (2C, C-8); 135,89, 130,85 (2C), 128,13 (2C) a 126,61 (arom.); 118,86 (2C, C-5); 73,31 (C-O); 49,71 (2C, N-CH₂); 42,40 (CH₂Ph); 37,15 (N-CH₃). Pro C₂₄H₂₈N₁₀O (472,52) vypočteno: 61,00% C; 5,97% H; 29,64% N; 3,39% O; nalezeno: 60,83% C; 6,11% H; 29,34% N.

1,3-Bis-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]-2-fenylpropan-2-ol (79b)

K roztoku látky **66** (2 g, 12 mmol) v DMF (40 ml) byl přidán hydrid sodný (0,48 g, 12 mmol) a směs byla zahřívána na 60 °C po dobu 30 min, poté byla přikapána látka **78b** (1 g, 6 mmol). Reakční směs byla zahřívána na 90 °C po dobu 10 h, odpařena, kodestilována s toluenem (2 x 100 ml) a ethanolem (2 x 100 ml). Odparek byl chromatografován na koloně silikagelu v soustavě chloroform – methanol (0 – 5% MeOH) a následně krystalizován ze směsi ethylacetát – petrolether. Výtěžek 1,19 g (22%), b.t. 231 °C, $R_F = 0,66$ (S2). FAB MS, m/z: 459,1 (60%, M + H). ^1H NMR (DMSO- d_6): 8,16 (s, 2H, H-2); 7,89 (s, 2H, H-8); 7,45 (d, 2H) a 7,16 (t, 2H) a 7,11 (t, 1H, arom.); 6,80 (s, 1H, OH); 4,73 a 4,24 (2 x d, 2 x 2H, $J(\text{gem}) = 14,4$, N-CH₂); 3,80 (s, 12H, N-CH₃). ^{13}C NMR (DMSO- d_6): 154,22 (2C, C-6); 151,65 (2C, C-2); 150,73 (2C, C-4); 140,44 (2C, C-8); 140,81, 128,01 (2C), 127,56 a 125,98 (2C, arom.); 118,56 (2C, C-5); 76,48 (C-O); 51,25 (2C, N-CH₂); 38,00 (4C, N-CH₃). Pro C₂₃H₂₆N₁₀O (458,52) vypočteno: 60,25% C; 5,72% H; 30,55% N; 3,49% O; nalezeno: 59,94% C; 5,69% H; 30,13% N.

2-Substituovaný 3-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]propan-1,2-diol (81a, 81b) a 3-[6-(dimethylamino)purin-3-yl]propan-1,2-diol (82a, 82b)

K látce **78a** nebo **78b** (30 mmol) v *terc*-butanolu (50 ml) byla za míchání přilita kyselina sírová (100 ml, 0,5 M) a směs byla míchána 1 h za laboratorní teploty. Poté byl přilit nasycený roztok chloridu sodného (150 ml) a směs byla extrahována ethylacetátem (3 x 150 ml), organická fáze byla vysušena síranem hořečnatým, odpařena a vysušena za vakua. Byl získán bezbarvý olej, který byl přidán k roztoku

látky **66** (2,5 g, 15 mmol) a hydridu sodného (3,6 g, 18 mmol) v DMF (50 ml). Reakční směs byla zahřívána na 100 °C po dobu 32 – 40 h, odpařena, kodestilována s toluenem (2 x 100 ml) a ethanolem (2 x 100 ml). Odparek byl chromatografován na koloně silikagelu v soustavě chloroform – methanol (0 – 5% MeOH). Látky byly krystalizovány ze směsi ethylacetát – petrolether.

2-Benzyl-3-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]propan-1,2-diol (81a). Výtěžek 1,5 g (31%), bílé krystaly, b.t. 158 – 160 °C, $R_F = 0,49$ (S2). FAB MS, m/z: 328,2 (100%, M + H). $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d^6): 8,21 (s, 1H, H-2); 8,03 (s, 1H, H-8); 7,25 (m, 4H, arom.); 7,20 (m, 1H, arom.); 5,15 (dd, 1H, $J(\text{OH}, \text{CH}_2) = 5,4$ a 6,2, OH); 4,94 (s, 1H, OH); 4,26 a 4,12 (2 x d, 2 x 1H, $J(\text{gem}) = 14,2$, N-CH₂); 3,45 (br, 6 H, N-CH₃); 2,98 (dd, 1H, $J(\text{CH}, \text{OH}) = 6,2$, $J(\text{gem}) = 11,2$) a 2,92 (dd, 1H, $J(\text{CH}, \text{OH}) = 5,4$, $J(\text{gem}) = 11,2$, O-CH₂); 2,82 a 2,63 (2 x d, 2 x 1H, $J(\text{gem}) = 13,4$, CH₂Ph). $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d^6): 154,44 (C-6); 151,72 (C-2); 150,97 (C-4); 141,18 (C-8); 137,10, 130,90 (2C), 127,86 (2C) a 126,19 (arom.); 118,82 (C-5); 73,99 (C-O); 63,16 (O-CH₂); 49,28 (N-CH₂); 40,99 (CH₂Ph); 38,02 (N-CH₃). Pro C₁₇H₂₁N₅O₂ (327,38) vypočteno: 62,37% C; 6,47% H; 21,39% N; 9,77% O; nalezeno: 62,42% C; 6,46% H; 21,26% N.

2-Benzyl-3-[6-(dimethylamino)purin-3-yl]propan-1,2-diol (82a). Výtěžek 0,68 g (14%), bílé krystaly, b.t. 214 °C, $R_F = 0,37$ (S2). FAB MS, m/z: 328,1 (100%, M + H). $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d^6): 8,19 (s, 1H, H-2); 7,76 (s, 1H, H-8); 7,28 (m, 4H, arom.); 7,21 (m, 1H, arom.); 6,04 (br, 1H, OH); 5,22 (s, 1H, OH); 4,55 a 4,08 (2 x d, 2 x 1H, $J(\text{gem}) = 14,1$, N-CH₂); 3,84 a 3,28 (2 x s, 2 x 3H, N-CH₃); 2,89 (dd, 1H, $J(\text{CH}, \text{OH}) = 5,0$, $J(\text{gem}) = 12,0$) a 2,64 (br d, 1H, $J(\text{CH}, \text{OH}) = 2,0$, $J(\text{gem}) = 12,0$, O-CH₂); 2,93 a 2,73 (2 x d, 2 x 1H, $J(\text{gem}) = 13,4$, CH₂Ph). $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d^6): 153,01 (C-6); 150,80 (C-4); 150,32 (C-8); 144,47 (C-2); 136,89, 131,00 (2C), 127,93 (2C) a 126,30 (arom.); 120,31 (C-5); 74,15 (C-O); 62,04 (O-CH₂); 55,02 (N-CH₂); 41,29 (CH₂Ph); 37,66 (2C, N-CH₃). Pro C₁₇H₂₁N₅O₂ (327,17) vypočteno: 62,37% C; 6,47% H; 21,39% N; 9,77% O; nalezeno: 62,34% C; 6,48% H; 21,17% N.

3-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]-2-fenylpropan-1,2-diol (81b). Výtěžek 1,6 g (34%), bílé krystaly, b.t. 159 – 160 °C, $R_F = 0,49$ (S2). FAB MS, m/z: 314,2 (100%, M + H). $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d^6): 8,17 (s, 1H, H-2); 7,89 (s, 1H, H-8); 7,49 (d, 2H) a 7,24 (t, 2H) a 7,17 (t, 1H, arom.); 5,74 (s, 1H, OH); 5,30 (t, 1H, $J(\text{OH}, \text{CH}_2) = 6,0$, OH); 4,58 a 4,51 (2 x d, 2 x 1H, $J(\text{gem}) = 14,4$, N-CH₂); 3,52 (dd, 1H, $J(\text{CH}, \text{OH}) = 6,5$, $J(\text{gem}) = 11,2$) a 3,47 (dd, 1H, $J(\text{CH}, \text{OH}) = 5,6$, $J(\text{gem}) = 11,2$, O-CH₂); 3,40 (br, 6H, N-CH₃). $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d^6): 154,31 (C-6); 151,57 (C-2); 150,83 (C-4);

143,00, 127,83 (2C), 127,03, 126,13 (2C, arom.); 140,71 (C-8); 118,61 (C-5); 76,17 (C-O); 67,26 (O-CH₂); 49,75 (N-CH₂); 38,05 (2C, N-CH₃). Pro C₁₆H₁₉N₅O₂ (313,36) vypočteno: 61,33% C; 6,11% H; 22,35% N; 10,21% O; nalezeno: 61,14% C; 6,10% H; 22,29% N.

3-[6-(Dimethylamino)purin-3-yl]-2-fenylpropan-1,2-diol (82b). Výtěžek 0,25 g (5%), bílé krystaly, b.t. 212 °C, R_F = 0,38 (S2). FAB MS, m/z: 314,1 (100%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,23 (s, 1H, H-2); 7,80 (s, 1H, H-8); 7,60 (d, 2H) a 7,32 (t, 2H) a 7,24 (t, 1H, arom.); 6,30 (br, 2H, OH); 4,85 a 4,50 (2 x d, 2 x 1H, *J*(gem) = 14,2, N-CH₂); 3,83 a 3,26 (2 x br s, 2 x 3H, N-CH₃); 3,38 a 3,23 (2 x d, 2 x 1H, *J*(gem) = 11,6, O-CH₂). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 152,87 (C-6); 150,48 (C-4); 149,99 (C-8); 144,67 (C-2); 143,63, 127,96 (2C), 127,22, 126,08 (2C, arom.); 120,10 (C-5); 75,52 (C-O); 66,75 (O-CH₂); 55,38 (N-CH₂); 39,17 a 37,64 (N-CH₃). Pro C₁₆H₁₉N₅O₂ (313,36) vypočteno: 61,33% C; 6,11% H; 22,35% N; 10,21% O; nalezeno: 61,00% C; 6,08% H; 21,63% N.

3-Benzyl-1-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]propan-2-on (83a)

a 1-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]-3-fenylpropan-2-on (83b)

Tyto látky byly připraveny podle postupu popsaneho pro látku **75** z látky **81a** resp.

81b.

3-Benzyl-1-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]propan-2-on (83a). Krystalizace ze směsi ethylacetát – petrolether, bílé krystaly, výtěžek 96%, b.t. 139 – 140 °C, R_F = 0,66 (S2). FAB MS, m/z: 296,1 (100%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,17 (s, 1H, H-2); 8,02 (s, 1H, H-8); 7,33 (m, 2H) a 7,25 (m, 3H, arom.); 5,27 (s, 2H, N-CH₂); 3,47 (s, 2H, CH₂Ph); 3,45 (br s, 6H, N-CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 201,67 (C=O); 154,41 (C-6); 152,04 (C-2); 150,66 (C-4); 140,43 (C-8); 133,95, 129,98 (2C), 128,58 (2C) a 127,87 (arom.); 118,87 (C-5); 51,51 (N-CH₂); 45,92 (CH₂Ph); 38,45 (2C, N-CH₃). Pro C₁₆H₁₇N₅O (295,34) vypočteno: 65,07% C; 5,80% H; 23,71% N; 5,42% O; nalezeno: 64,87% C; 5,75% H; 23,47% N.

1-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]-3-fenylpropan-2-on (83b). Krystalizace ze směsi ethanol – ether, bílé krystaly, výtěžek 92%, b.t. 149 °C, R_F = 0,75 (S2). FAB MS, m/z: 282,3 (100%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,17 (s, 1H, H-2); 8,12 (s, 1H, H-8); 8,11 (d, 2H), 7,74 (t, 1H) a 7,61 (t, 2H, arom.); 5,88 (s, 2H, N-CH₂); 3,45 (br,

6H, N-CH₃). Pro C₁₅H₁₅N₅O (281,32) vypočteno: 64,04% C; 5,37% H; 24,89% N; 5,69% O; nalezeno: 63,71% C; 5,38% H; 24,62% N.

4-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]but-3-enitril (84)

Metoda A. Roztok látky **56a** (2 g, 7,2 mmol) a kyseliny kyanoctové (2,72 g, 32 mmol) ve vodě (60 ml) byl zahříván k varu pod zpětným chladičem po dobu 12 h, reakční směs byla odpařena, kódestilována ethanolem (2 x 100 ml) a čištěna chromatografií na sloupci silikagelu v soustavě chloroform – methanol (0 – 10 % MeOH).

Metoda B. K roztoku látky **56a** (2 g, 7,2 mmol) ve vodě (30 ml) byla přidána koncentrovaná kyselina chlorovodíková (1 ml), reakční směs byla zahřáta k varu, ochlazená na laboratorní teplotu a zneutralizována přidáním Dowexu 1 x 2 (v OH⁻ cyklu). Ionex byl odfiltrován, roztok byl odpařen, kódestilován ethanolem (3 x 100 ml) a odparek vysušen za vakua. Byla získána látka **59a**, která byla podrobena výše popsané reakci (metoda A) s kyselinou kyanoctovou za vzniku látky **84**.

Krystalizováno ze směsi ethylacetát - petrolether. Bílé krystaly, výtěžek 69% (metoda A), 58% (metoda B), b.t. 243 – 245 °C, R_F = 0,52 (S2). FAB MS, m/z: 229 (100%, M + H). ¹H NMR (DMSO-*d*⁶): 8,47 (s, 1H, H-2); 8,21 (s, 1H, H-8); 7,37 (dt, 1H, *J*(1',3') = 1,6, *J*(1',2') = 14,4, H-1'); 6,65 (dt, 1H, *J*(2',3') = 6,2, *J*(2',1') = 14,4, H-2'); 3,61 (dd, 2H, *J*(3',1') = 1,6, *J*(3',2') = 6,2, H-3'); 3,54 (br s, 6H, N-CH₃). ¹³C NMR (DMSO-*d*⁶): 156,28 (C-6); 153,32 (C-2); 148,81 (C-4); 139,10 (C-8); 124,64 (C-1'); 119,21 (CN); 118,58 (C-5); 109,48 (C-2'); 38,45 (2C, N-CH₃); 17,63 (C-3'). Pro C₁₁H₁₂N₆ (228,26) vypočteno: 57,88% C; 5,30% H; 36,82% N; nalezeno: 57,75% C; 5,42% H; 36,58% N.

4-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]but-3-enová kyselina (65a)

Metoda A. Viz. výše (str. 50).

Metoda B. Roztok látky **59a** (0,1 g, 0,49 mmol) a kyseliny malonové (0,2 g, 2 mmol) ve vodě (3,5 ml) byl zahříván k varu pod zpětným chladičem po dobu 12 h. Po ochlazení reakční směsi na laboratorní teplotu byl odfiltrován krystalický produkt, promyt vodou a ethanolem a vysušen. Výtěžek 47%.

Metoda C. Roztok látky **59a** (0,5 g, 2,5 mmol) a kyseliny malonové (0,25 g, 2,5 mmol) v pyridinu (0,2 ml, 2,5 mmol) byl zahříván na 90 °C po dobu 8 h. Po ochlazení

na laboratorní teplotu byla reakční směs odpařena, kódestilována toluenem (3 x 50 ml) a ethanolem (3 x 50 ml). Krystalizací odparku z vody byla získána látka **65a**, výtěžek 52%.

5-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]pent-2-ennitril (85)

Roztok látky **70** (0,51 g, 2 mmol) a kyseliny kyanoctové (1,1 g, 12 mmol) ve vodě (13 ml) byl zahříván k varu pod zpětným chladičem po dobu 7 h. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakční směs deionizována na Dowexu 50 X 8 (viz výše) a čištěna na sloupci silikagelu v soustavě methanol – chloroform (0 – 5% MeOH). Výtěžek 180 mg (37%), $R_F = 0,7$ (S2). FAB MS, m/z : 243,1 (100%, M + H). Poměr *trans* a *cis* izomeru 1,3:1.

Trans-5-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]pent-2-ennitril (**85a**). ^1H NMR (DMSO- d^6): 8,21 (s, 1H, H-2); 8,14 (s, 1H, H-8); 6,83 (dt, 1H, $J(3',2') = 7,1$, $J(3',4') = 16,3$, H-3'); 5,68 (dm, 1H, $J(4',2') = 1,2$, $J(4',3') = 16,3$, H-4'); 4,30 (t, 2H, $J(1',2') = 6,7$, H-1'); 3,45 (br, 6H, N-CH₃); 2,77 (qd, 2H, $J(2',4') = 1,2$, $J(2',1') = J(2',3') = 6,2$, H-2'). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 154,40 (C-6); 152,80 (C-3'); 151,96 (C-2); 150,36 (C-4); 139,69 (C-8); 119,37 (C-5); 115,98 (CN); 101,99 (C-4'); 41,21 (C-1'); 32,18 (C-2').

Cis-5-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]pent-2-ennitril (**85b**). ^1H NMR (DMSO- d^6): 8,21 (s, 1H, H-2); 8,12 (s, 1H, H-8); 6,63 (dt, 1H, $J(3',2') = 7,6$, $J(3',4') = 11,0$, H-3'); 5,65 (dm, 1H, $J(4',2') = 1,0$, $J(4',3') = 11,0$, H-4'); 4,35 (t, 2H, $J(1',2') = 6,5$, H-1'); 3,45 (br, 6H, N-CH₃); 2,90 (br q, 2H, H-2'). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 154,38 (C-6); 151,96 (C-2); 151,45 (C-3'); 150,43 (C-4); 139,69 (C-8); 119,37 (C-5); 117,75 (CN); 102,17 (C-4'); 41,32 (C-1'); 33,18 (C-2').

Pro C₁₂H₁₄N₆ (242,28) vypočteno: 59,49% C; 5,82% H; 34,69% N; nalezeno: 59,42% C; 5,82% H; 34,57% N.

4-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]-3-methylbut-3-ennitril (86a)

a 4-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]-3-methylbut-2-ennitril (86b)

Roztok látky **75** (0,1 g, 0,46 mmol) a kyseliny kyanoctové (0,24 g, 2,8mmol) ve vodě (3 ml) byl zahříván v reakční zkuševce po dobu 48 h na 120 °C. Reakční směs byla odpařena, rozpuštěna v methanolu a dělena na desce silikagelu v soustavě methanol – chloroform (7% MeOH) a pomocí HPLC. Byla získána směs izomerů **86a** a **86b**

v poměru 3:2, výtěžek 105 mg (95%), $R_F = 0,69$ (S2). FAB MS, m/z: 243 (100%, M + H).

4-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]-3-methylbut-3-ennitril (86a). ^1H NMR (DMSO- d^6): 8,26 (s, 1H, H-2); 8,22 (s, 1H, H-8); 6,97 (q, 1H, $J(1',\text{CH}_3) = 1,5$, H-1'); 4,97 (s, 2H, H-3'); 3,50 (br, 6H, N-CH₃); 1,83 (d, 3H, $J(\text{CH}_3,1') = 1,5$, CH₃). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 159,91 (C-6); 152,46 (C-2); 150,44 (C-4); 138,89 (C-8); 126,89 (C-2'); 119,12 (C-1'); 118,09 (C-5); 116,07 (CN); 23,89 (C-3'); 18,87 (CH₃).

4-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]-3-methylbut-2-ennitril (86b). ^1H NMR (DMSO- d^6): 8,21 (s, 1H, H-2); 8,14 (s, 1H, H-8); 5,78 (q, 1H, $J(3',\text{CH}_3) = 1,5$, H-3'); 5,09 (s, 2H, H-1'); 3,50 (br, 6H, N-CH₃); 1,98 (d, 3H, $J(\text{CH}_3,3') = 1,5$, CH₃). ^{13}C NMR (DMSO- d^6): 158,92 (C-6); 154,47 (C-4); 152,28 (C-2); 139,87 (C-8); 119,19 (C-2'); 118,68 (C-5); 116,81 (CN); 96,42 (C-3'); 47,80 (C-1'); 16,44 (CH₃).

Pro C₁₂H₁₄N₆ (242,28) vypočteno: 59,49% C; 5,82% H; 34,69% N; nalezeno: 59,18% C; 5,88% H; 34,36% N.

6. Závěr

V rámci mé diplomové práce jsem připravila nové C^6 -substituované racemické deriváty 3-(adenin-9-yl)-2-hydroxypropanové kyseliny z 9-(2,2-diethoxyethyl)purinů **56**, **57** a **58** kyanhydrinovou syntézou. Vybrané látky byly převedeny na 2-methylpropylestery pro zvýšení lipofilního charakteru molekuly. Ukázalo se, že substituce purinové báze vedla ke ztrátě biologické aktivity.

Dále jsem připravila C^6 -substituované racemické deriváty 3-(adenin-9-yl)-2-aminopropanové kyseliny Streckerovou syntézou a 2-methylpropylestery vybraných kyselin. Testy na protivirovou aktivitu zatím nebyly dokončeny.

U některých připravených látek byla zjištěna imunomodulační aktivita (viz. Příloha k diplomové práci).

Připravené C^6 -substituované 9-(2,2-diethoxyethyl)puriny **56**, **57** a **58** byly dále podrobeny reakci s kyselinou malonovou ve vodném prostředí. Ukázalo se, že substituce purinové báze nemá na tuto reakci vliv. U všech látek došlo k izomerizaci dvojně vazby za vzniku β,γ -nenasycené kyseliny **65**, stejně jako u popsané reakce adeninového derivátu. K izomerizaci dvojně vazby došlo i při reakci s kyselinou kyanoctovou za stejných podmínek. Reakce homologního propanalu s kyselinou malonovou ve vodném prostředí neprobíhala, avšak při reakci s kyselinou kyanoctovou vznikl pent-2-enitril **86** jako jediný produkt. V tomto případě k izomerizaci dvojně vazby nedošlo. Připravené ketony **75** a **83** za těchto podmínek s kyselinou malonovou nereagují. S kyselinou kyanoctovou reagoval pouze 1-[6-(dimethylamino)purin-9-yl]propan-2-on (**75**) za vzniku směsi but-2-enitrilu a but-3-enitrilu v poměru 2:3, jako majoritní tedy vzniká produkt s izomerizovanou dvojnou vazbou. Na základě těchto zjištění se dá předpokládat, že k izomerizaci dvojně vazby dochází z důvodu konjugace vazby s π -elektronovým systémem purinu.

7. Literatura

1. Voet D., Voetová J. G.: *Biochemie*, Victoria Publishing, a.s., Praha 1995.
2. Veselý J.: *Chemie a léčiva*, kap. 2: Cytostatika, učební text UOCHB, Praha 1989.
3. Holý A.: *Časopis lékařů českých* **2001**, 140, 583.
4. Holý A.: *Current Pharmaceutical Design* **2003**, 9, 2567.
5. De Clercq E.: *Biochemical Pharmacology* **1987**, 36, 2567.
6. Holý A., Votruba I., Merta A., De Clercq E., Jelínek R., Sláma K., Beneš K., Melichar O.: *Biological Methylation and Drug Design*, Borchard R.R., Creveling C.R., Ueland P.M., Eds.; Humana Press: Clifton, 1986, 397.
7. Holý A., Votruba I., De Clercq E.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1982**, 47, 1392.
8. Sláma K., Holý A.: *Acta entomol. Bohemoslov.* **1988**, 85, 94.
9. Beneš K., Holý A., Melichar O., Rosenberg I.: *Biol. Plant.* **1984**, 26, 144.
10. De Clercq E., Holý A.: *J. Med. Chem.* **1985**, 28, 282.
11. Bray M.: *Antiviral Research* **2003**, 58, 101.
12. Henderson D. A.: *Science* **1999**, 283, 1279.
13. Holý A.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1984**, 49, 2148.
14. Krečmerová M., Buděšínský M., Masojídková M., Holý A.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2003**, 68, 931.
15. Dvořáková H., Holý A., Votruba I., Masojídková M.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1993**, 58, 629.
16. Hocková D., Masojídková M., Buděšínský M., Holý A.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1995**, 60, 224.
17. Patneau D.K., Mayer M.L., Jane D.E., Watkins J.C.: *J. Neurosc.* **1992**, 12, 595.
18. Nollet A.J.H., Pandit U.K.: *Tetrahedron* **1969**, 25, 5983.
19. Nollet A. J. H., Hunting C. M., Pandit U. K.: *Tetrahedron* **1969**, 25, 5971.
20. Doel M. T., Jones A. S. Taylor N.: *Tetrahedron Letters* **1969**, 27, 2285.
21. Lidak M. Ju., Sluke Ja., Schvachkin Yu. P.: *Khim. Geterosikl. Soedin.* **1968**, 5, 955.
22. Holý A.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1978**, 43, 3444.
23. Dewar J. H., Shaw. G.: *J. Chem. Soc.* **1962**, 583.
24. Martinez A.P., Lee W.W.: *J. Org. Chem.* **1965**, 30, 317.

25. Holý A., Tloušťová E., Votruba I., Masojídková M.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2001**, 66, 1545.
26. Townsend L. B.: *Chemistry of Nucleosides and Nucleotides, Volume 1*, Plenum Press, New York 1988.
27. Hocek M.: *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 245.
28. Plešek J., Zobáčová A.: *Preparativní reakce v organické chemii, díl V: Aldolisace a příbuzné reakce*, Praha 1960, NČSAV a citace tam uvedené.
29. McCluskey A., Robinson P.J., Hill T., Scott J.L., Edwards J.K.: *Tetrahedron Letters* **2002**, 42, 3117.
30. Popp F.D., Catala A.: *J. Org. Chem.* **1961**, 26, 2738.
31. Jimonet P., Ribeill Y., Bohme G.A., Boireau A., Chev e M., Damour D., Doble A., Genevois-Borella A., Herman F., Imperato A., Guern S., Manfr e F., Pratt J., Rnadle J.C.R., Stutzmann J.M., Mignani S.: *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 2371.
32. Schonfeld F., Troshutz R.: *Heterocycles* **2001**, 55, 1679.
33. Lehnert W.: *Tetrahedron* **1973**, 29, 635.
34. Nicholas J., Olah G.A., Prakash G.K.: *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 11205.
35. Edwards P.D., Andisik D.W., Strimpler A.M., Gomes B., Tuthill P.A.: *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1112.
36. Bie D.A., Geurtsen B., Berg I.E., Plas H.C.: *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 3209.
37. Harjani J.R., Mara S.J., Salunkhe M.M.: *Tetrahedron Letters* **2002**, 43, 1127.
38. Naota T., Taki H., Mizuno M., Murashi S.: *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 5954.
39. Murashi S., Naota T., taki H., Mizuno M., Takaya G., Komiya S., Mizuho Y., Oyasato N., Hiraoka M., Hirano M., Fukuoda A.: *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 12436.
40. Murahashi S., Take K., Naota T., Takaya H.: *Synlett* **2000**, 7, 1016.
41. Sebti S., Smahi A., Solhy A.: *Tetrahedron Letters* **2002**, 43, 1813 a citace tam uvedené.
42. Jones G.: *Organic Reactions*, Chapter 2: The Knoevenagel Condensation, **1967**, 15, 204 a citace tam uvedené.
43. Svoboda J.: *Organická synt za I*, skriptum VŠCHT, Praha 2000.
44. Bulugahapitiya P., Landais Y., Parra-Rapado L., Planchenault D., Weber V.: *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 1630.
45. Yamaka H., Yokoyama M., Sakamoto T., Shiraishi T., Sagi M., Mizugaki M.: *Heterocycles* **1983**, 20, 1541.

46. Holý A., Günter J., Dvořáková H., Masojídková M., Andrei G., Snoeck R., Balzarini J., De Clercq E.: *J. Med. Chem* **1999**, 42, 2064.
47. Doláková P., Masojídková M., Holý A.: *Nucleos. Nucleot. Nucl. Acids* **2003**, 22, 2145.
48. Adediran S.A., Cabaret D., Drouillat B., Pratt R. F., Wakselman M.: *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9, 1175.
49. Shuto S., Ono S., Imoto H., Yoshii K., Matsuda A.: *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 3507.
50. Fujiwara K., Amano A., Tokiwano T., Murai A.: *Tetrahedron* **2000**, 56, 1065.
51. Holý A.: *Collet. Czech. Chem. Commun.* **1979**, 44, 593.
52. Holý A.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1989**, 54, 248.
53. Raić-Malić S., Grdiša M., Pavelic K., Mintas M.: *Eur. J. Med. Chem* **1999**, 34, 405.
54. Morita M., Motoki K., Akimito K., Natori T., Sakai T., Sawa E., Yamaji K., Koezuka Y., Kobayashi E., Fukushima H.: *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 2176.
55. Chenon M.T., Pugmire R. J., Grant D. M., Panzica R. P., Townsend L. B.: *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 4627.
56. Thorpe C. M., Coburn W. C., Montgomery J. A.: *J. Magn. Res.* **1974**, 15, 98.

Abstrakt

Alkylací 6-chlorpurinu a 2-amino-6-chlorpurinu diethylacetalem bromacetaldehydu byl připraven 9-(2,2-diethoxyethyl)-6-chlorpurin (**52**) a příslušný derivát 2-amino-6-chlorpurinu **54**. Reakcí těchto látek s primárními nebo sekundárními aminy byly připraveny N^6 -substituované deriváty 9-(2,2-diethoxyethyl)adeninu a -2,6-diaminopurinu **56**. Bazickou hydrolyzou 6-chlorderivátů **52** a **54** byl získán derivát hypoxanthinu **57a** a guaninu **57b**, reakcí s thiomčovinou 6-sulfanyl analoga **58**. Takto připravené látky byly kyanhydrinovou resp. Streckerovou syntézou převedeny na příslušné C^6 -substituované 2-amino- a 2-hydroxy-3-(purin-9-yl)propanové kyseliny. Vybrané kyseliny byly pro zvýšení průniku do buněk převedeny na 2-methylpropylestery. Reakcí acetalů **56**, **57** a **58** s kyselinou malonovou ve vodném prostředí byly získány odpovídající 4-(purin-9-yl)but-3-enové kyseliny, tedy látky s izomerizovanou dvojnou vazbou.

Klíčová slova: puriny; substituce purinů; alkylace purinů; acyklické nukleosidy; 2-amino-3-(purin-9-yl)propanové kyseliny; 2-hydroxy-3-(purin-9-yl)propanové kyseliny; malonová kyselina.

Abstract

Alkylation of 6-chloropurine and 2-amino-6-chloropurine with bromoacetaldehyde diethyl acetal afforded 6-chloro-9-(2,2-diethoxyethyl)purine (**52**) and its 2-amino congener **54**. Treatment of compounds **52** and **54** with primary and secondary amines gave the N^6 -substituted 9-(2,2-diethoxyethyl)adenines and -2,6-diaminopurines **56**. Hydrolysis of compound **52** or **54** resulted in hypoxanthine **57a** and/or guanine **57b** derivatives, while their reaction with thiourea led to 6-sulfanylpurine and 2-amino-6-sulfanylpurine compounds **58**. Compounds **56**, **57** and **58** afforded C^6 -substituted 2-amino- and 2-hydroxy-3-(purin-9-yl)propanoic acids under the conditions of cyanohydrine and Strecker synthesis, respectively. Selected carboxylic acids were converted to their 2-methylpropyl esters. Reaction of compounds **56**, **57** and **58** with malonic acid in aqueous solution gave exclusively the products of isomerization, i.e. C^6 -substituted 4-(purin-9-yl)but-3-enoic acids.

Keywords: Purines; Purine Substitution; Purine Alkylation; Acyclic Nucleosides; 2-Amino-3-(purin-9-yl)propanoic Acids; 2-Hydroxy-3-(purin-9-yl)propanoic Acids; Malonic Acid.

Příloha k diplomové práci

Petra Doláková

Seznam příloh:

1. Biologická aktivita látek.
2. Publikovaná práce: Doláková P., Masojídková M., Holý A.: *Nucleos. Nucleot. Nucl.* **2003**, 22, 1245.

Biologická aktivita látek

RNDr. Zdeněk Zídek, DrSc.

Imunobiologická aktivita látek byla vyšetřena v podmínkách *in vitro*. Byly sledovány některé reakce buněk, které mají prokazatelný vztah k imunitě infekčních onemocnění:

- a) produkce oxidu dusnatého (NO), který má virostatické účinky
- b) sekrece chemokinů RANTES (CCL5) a MIP-1 α (CCL3), které inhibují průniku HIV do buněk

Z hlediska mechanismu biologických účinků látek byla rovněž testována možná úloha adenosinových receptorů.

Metody:

Testy byly provedeny na peritoneálních makrofágách získaných z inbredních myší C57BL/6. Byly kultivovány v kompletním médiu RPMI-1640 (2×10^6 /ml), a to po dobu 24 hodin (stanovení NO), nebo 5 hodin (stanovení chemokinů).

Produkce NO, odrážející aktivitu inducibilní NO syntázy (iNOS), byla určena stanovením koncentrace nitritů v kultivačním médiu. Pro tento účel bylo použito Griessovo reagens. Buňky byly kultivovány v přítomnosti látek samotných, nebo současně v přítomnosti známých imunostimulátorů, tj. interferonu- γ (IFN- γ), bakteriálního lipopolysacharidu (LPS), nebo IFN- γ +LPS.

Sekrece chemokinů byla stanovena metodou ELISA. Buňky byly kultivovány pouze v přítomnosti látek samotných.

Koncentrace produktů byly v obou případech analyzovány spektrofotometricky.

Účast purinoceptorů byla ověřena pomocí aplikace následujících antagonistů adenosinových receptorů (AR) a P2 purinoceptorů:

antagonista	receptor(y)	
specifický	A ₁	8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine (CPX)
specifický	A _{2a}	8-(3-chlorostyryl)caffeine
specifický	A _{2b}	isalloxazine = benzo[g]pteridine-2,4(1H,3H)-dione

specifický	A ₃	3-ethyl 5 benzyl 2-methyl-6-phenyl-4-phenylethynyl-1,4-(±)-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate
nespecifický	A ₁ , A _{2a} , A _{2b} , A ₃	(9-Chloro-2-[2-furyl][1,2,4]triazolol[1,5-c]quinazolin-5-amine)
nespecifický	A ₁ , A _{2a} , A _{2b} , A ₃	8-[4-[[[2-aminoethyl]amino]carbonyl]methyl]oxy]-phenyl]-1,3-diproylxanthine
nespecifický	P2: X ₁ ,X ₂ ,X ₃ ,X ₅ ,Y ₂	Suramin
nespecifický	P2: X ₃ ,X ₅ ,Y ₁ ,Y ₄	pyridoxal-phosphate-6-azophenyl-2',4'-disulphonic acid

Antagonisti byly podány 15 min před aplikací testovaných látek, a to v konečné koncentraci 40 μ M.

Výsledky

Některé látky, především ze skupiny aminokyselin **63**, zvyšují produkci NO, primárně aktivovanou interferonem γ (Fig. 1, 2a, 2b). Samy o sobě produkci NO nestimulují a ani neovlivňují účinek LPS nebo efekt IFN+LPS (nedokumentováno). Nejúčinnější byly 2-amino-3-(2-amino-6-sulfanylpurin-9-yl)propanová kyselina (**63j**), 2-amino-3-(guanin-9-yl)propanová kyselina (**63i**) a 2-amino-3-[2-amino-6-(dimethylamino)purin-9-yl]propanová kyselina (**63f**).

Předběžné výsledky naznačují, že některé látky stimulují sekreci chemokinů RANTES a MIP-1 α (Fig. 3, 4)

Imunobiologický účinek je zřejmě závislý na aktivaci A₁ adenosinových receptorů a blíže nespecifikovaných P2 purinoceptorů (Fig. 5a-5e).

Závěr

Některé z testovaných látek mají imunostimulační a imunomodulační účinky. Efekt je závislý na aktivaci purinergního receptorového systému.

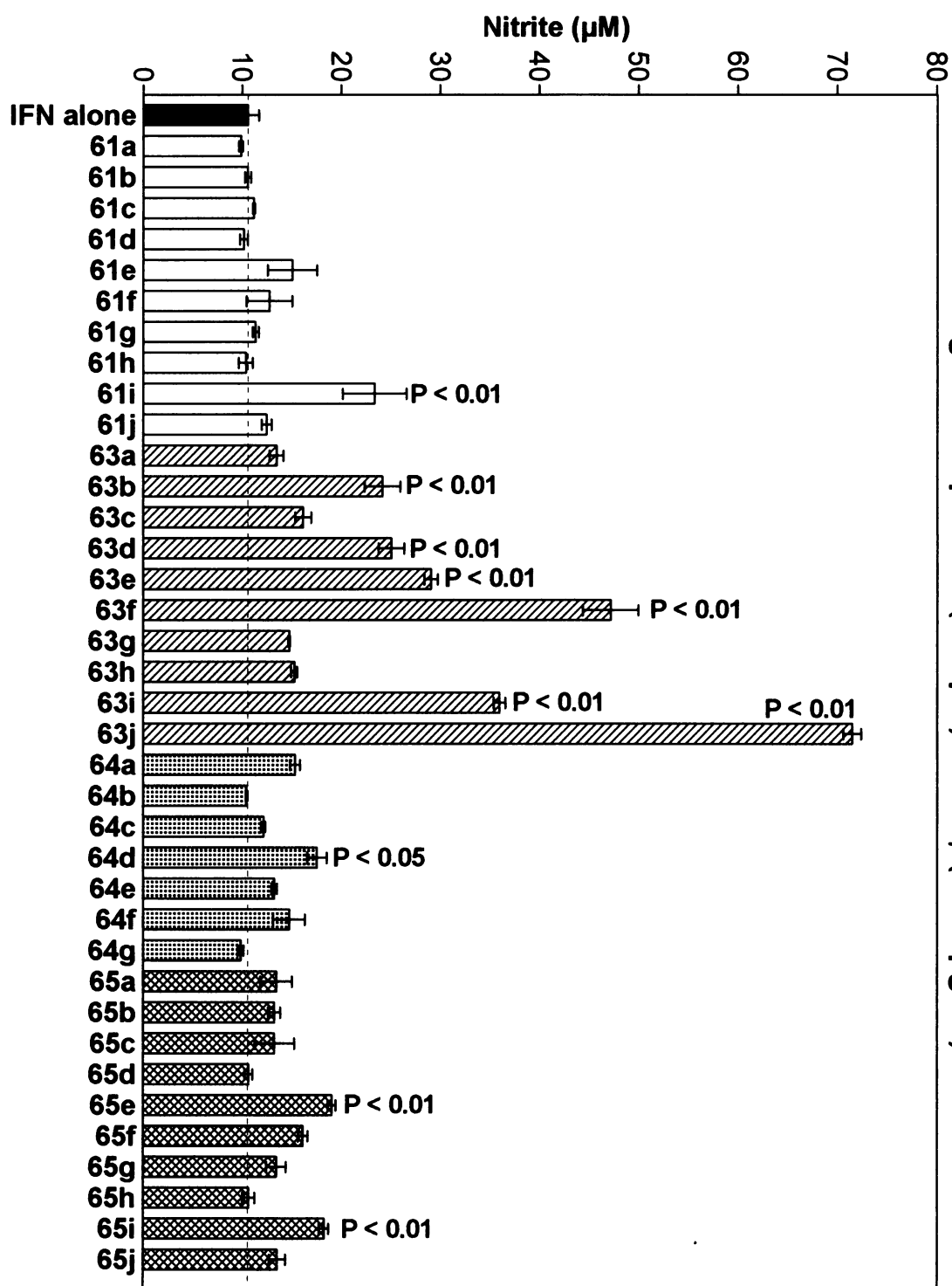


Fig. 1. Compounds (100 μM) + IFN- γ (1000 pg/ml)

Fig. 2a. In the presence of IFN- γ (1000 pg/mL)

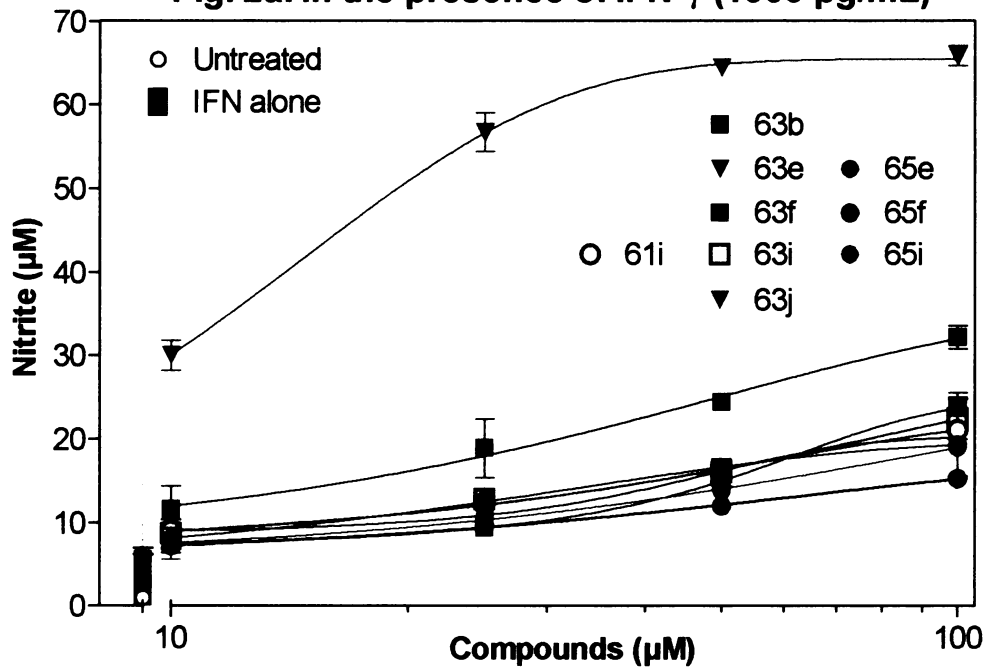


Fig. 2b. In the presence of IFN- γ (1000 pg/mL)

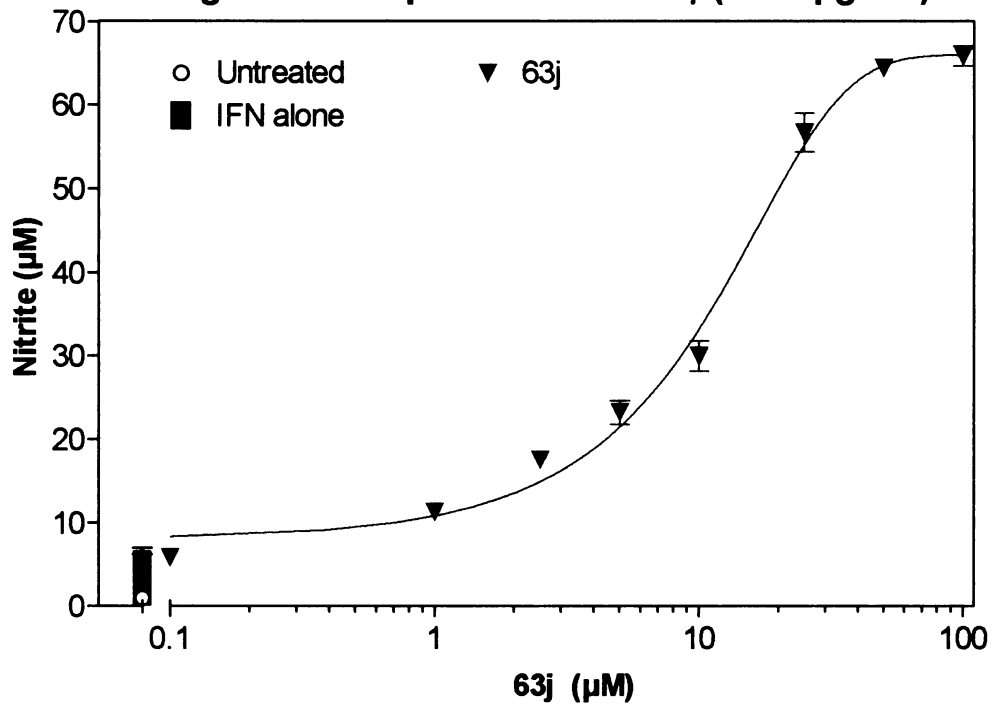


Fig. 3. Secretion of MIP-1 α
mouse M ϕ ; 5-h culture

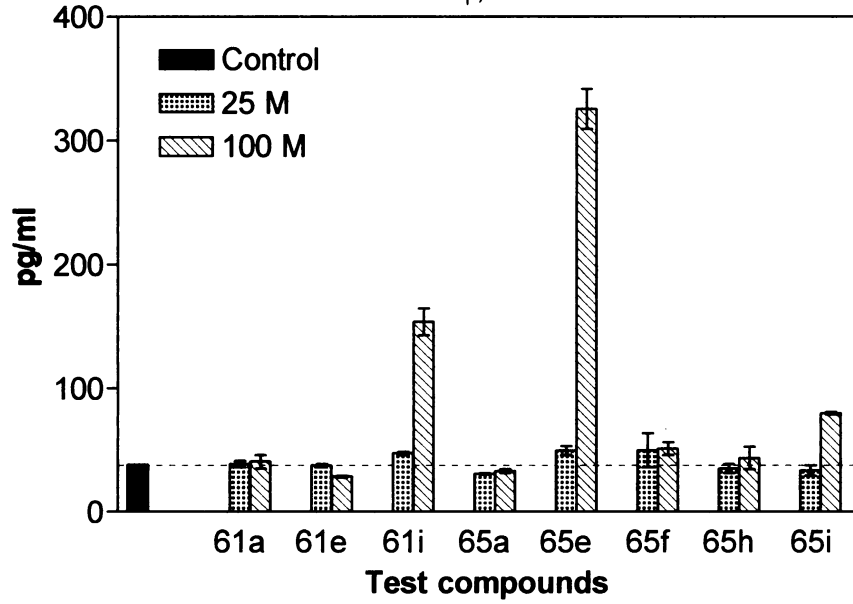
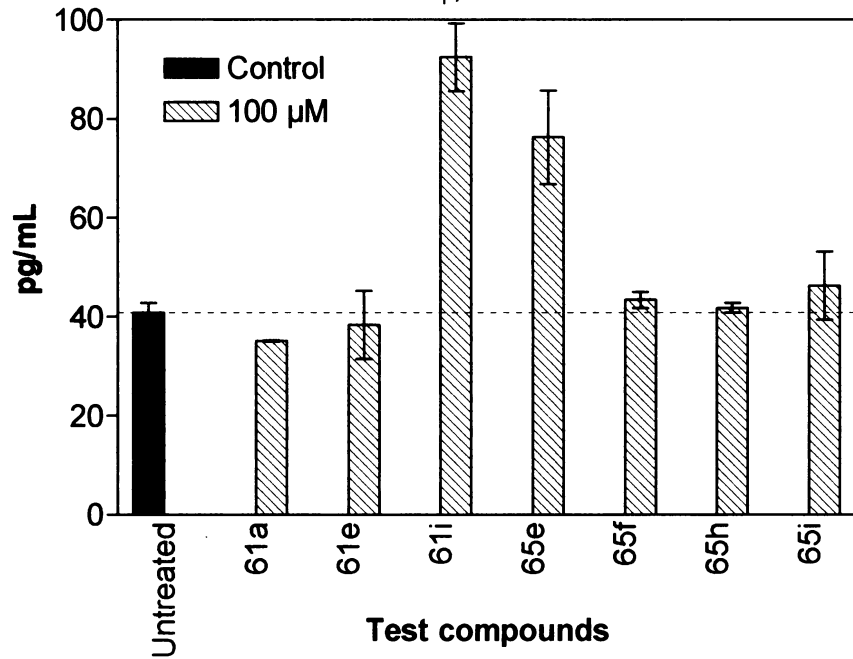
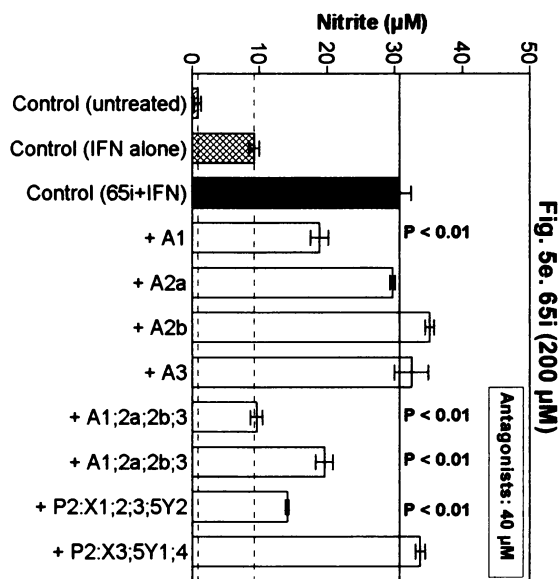
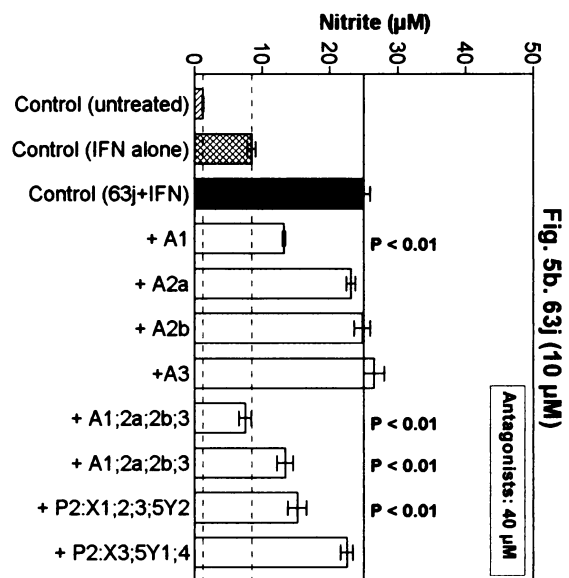
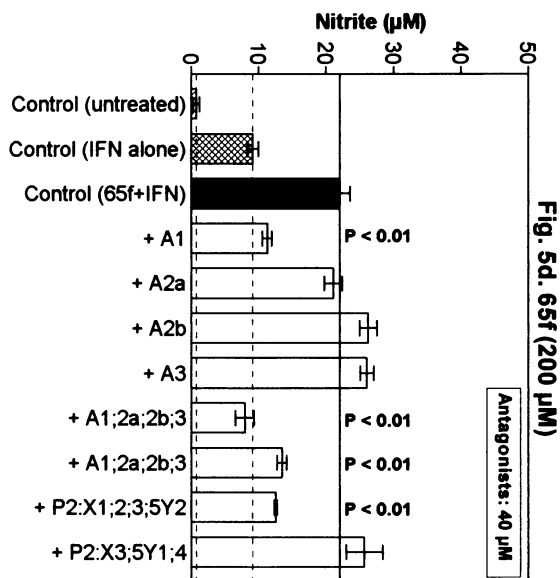
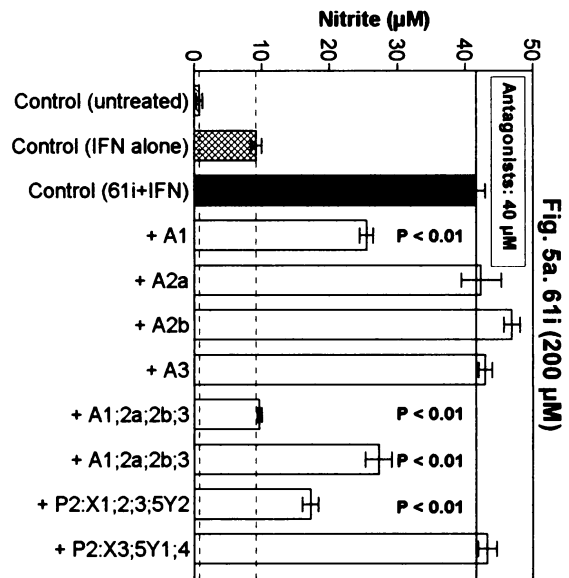
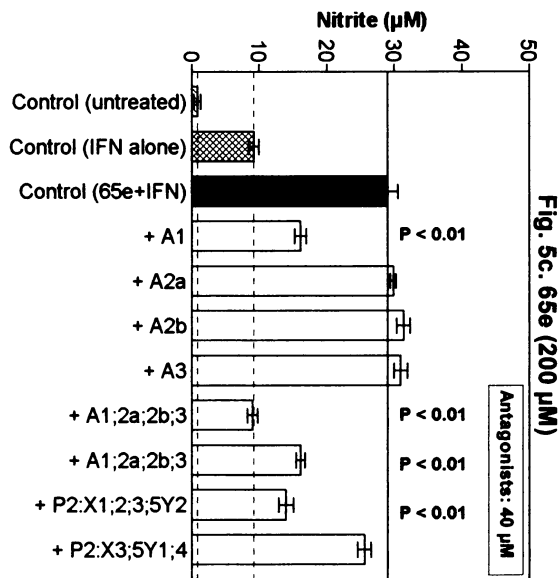


Fig. 4. Secretion of RANTES
mouse M ϕ ; 5-h culture





Synthesis of Base Substituted 2-Hydroxy-3-(purin-9-yl)-propanoic Acids and 4-(Purin-9-yl)-3-butenoic Acids[#]

Petra Doláková,[‡] Milena Masojídková, and Antonín Holý*

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Praha, Czech Republic

ABSTRACT

Alkylation of 6-chloropurine and 2-amino-6-chloropurine with bromoacetaldehyde diethyl acetal afforded 6-chloro-9-(2,2-diethoxyethyl)purine (**3a**) and its 2-amino congener (**3b**). Treatment of compounds **3** with primary and secondary amines gave the N⁶-substituted adenines (**5a–5c**) and 2,6-diaminopurines (**5d–5f**). Hydrolysis of **3** resulted in hypoxanthine (**6a**) and guanine (**6b**) derivatives, while their reaction with thiourea led to 6-sulfanylpurine (**7a**) and 2-amino-6-sulfanylpurine (**7b**) compounds. Treatment with diluted acid followed by potassium cyanide treatment and acid hydrolysis afforded 6-substituted 3-(purin-9-yl)- and 3-(2-aminopurin-9-yl)-2-hydroxypropanoic acids (**8–10**). Reaction of compounds **3** with malonic acid in aqueous solution gave exclusively the product of isomerisation, 6-substituted 4-(purin-9-yl)-3-butenoic acids (**15**).

Key Words: Purines; Purine alkylation; Acyclic nucleosides; Malonic acid; 3-(Purin-9-yl)-2-hydroxypropanoic acids.

[#]In honor and celebration of the 70th birthday of Professor Leroy B. Townsend.

[‡]Part of the Diploma Thesis (P.D.), Faculty of Sciences, Charles University Prague (Czech Republic).

*Correspondence: Antonín Holý, Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, 6 Dejvice, Praha 16610, Czech Republic; Fax: 4202 220183560; E-mail: Holy@uochb.cas.cz.



INTRODUCTION

3-(Adenin-9-yl)-2-hydroxypropanoic acid (AHPA) (**1a**) is a powerful inactivator of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase.^[1] Hence it is endowed with a capacity to interfere with proliferating cells and systems which require massive SAM-mediated methylation reactions catalyzed by methyl transferases.^[2] Thus, it manifested strong chemosterilizing effect on certain insects,^[3] on differentiation of plant root cells^[4] and, also, an antiviral effect directed against minus stranded RNA viruses and poxviruses. The antiviral activity was enhanced by esterification, which increased the lipophilic character and penetrability of the compounds through the cell membranes.^[5] 2-Methylpropyl ester of AHPA (**1b**) was selected as the optimum candidate for detailed investigation.^[6] Its activity against vaccinia virus was higher compared to the parent acid, which formed therefrom in the cell pool by cytosolic enzymes. As expected, the target for AHPA action was the capping process (methylation of 5'-end-guanine of viral mRNA).^[7]

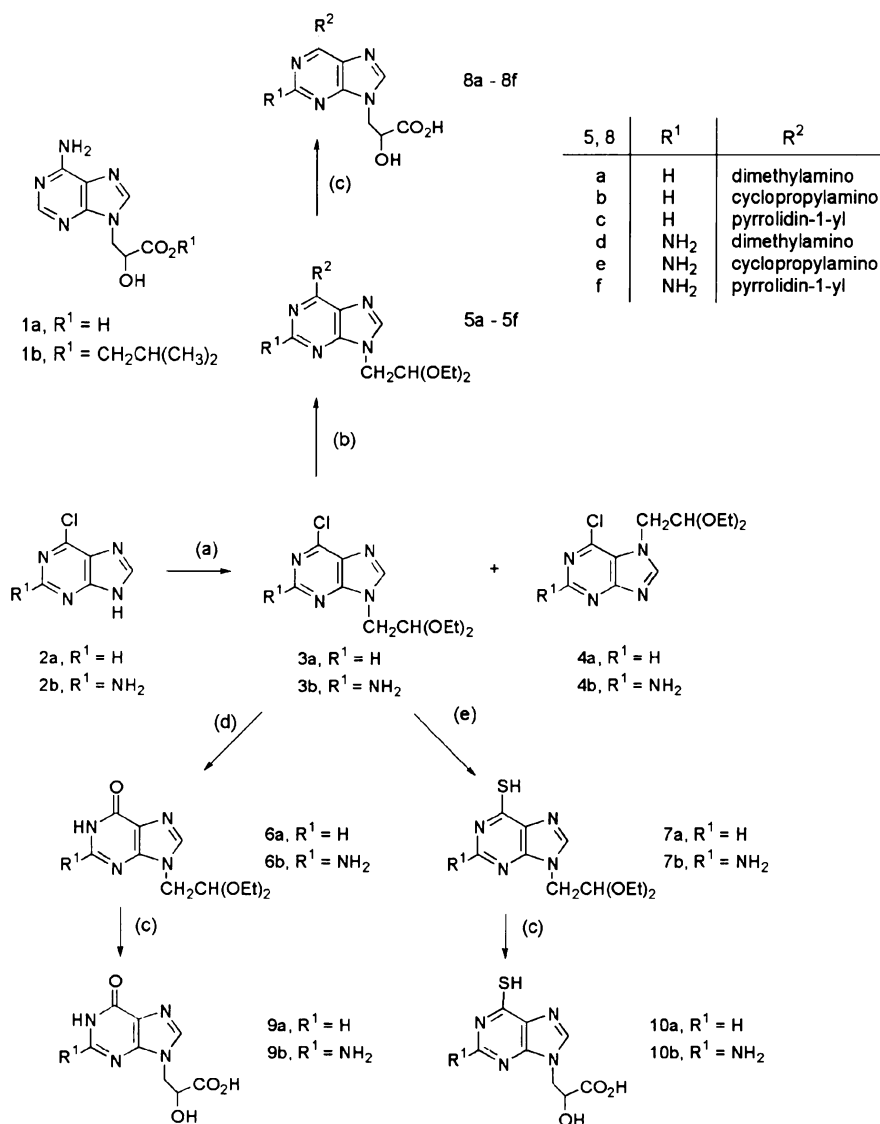
With the growing interest in compounds active against poxviruses we decided to look more closely on the structure~activity relationship in this field to find out whether there is not any additional mechanism of antiviral action besides the above-mentioned inhibition of methylation.

RESULTS

This article describes synthesis of racemic base-modified 3-(purin-9-yl)-2-hydroxypropanoic acids, mainly 6-substituted purine and 2-aminopurine derivatives. Recently, we have prepared several optically active compounds of this type by enantioselective synthesis based on the alkylation of the bases with chiral oxiranecarboxylic acid esters.^[8] In the present case, we are applying the cyanohydrin synthesis from the appropriate 2-(purin-9-yl)ethanals, under the conditions used for the original preparation of AHPA and its congeners.^[9] The two key-compounds, the 6-chloropurine (**3a**) and the 2-amino-6-chloropurine (**3b**) derivatives were synthesized by treatment of the respective purine base with bromoacetaldehyde diethyl acetal in the presence of NaH, Cs₂CO₃ or DBU in DMF. Under these conditions, the alkylation was directed predominantly to the N9 position. The thus obtained key-intermediates (**3a**) and (**3b**) were treated with the appropriate amine solution (dimethylamine was replaced with dimethylammonium N,N-dimethylcarbamate). The N6-substituted 9-(2,2-diethoxyethyl) adenines (**5a–5c**) or 2,6-diaminopurines (**5d–5f**) were isolated and fully characterized. The DABCO-catalyzed alkaline hydrolysis of the 6-chloro derivatives (**3a**) and (**3b**) gave hypoxanthine (**6a**) and guanine derivative (**6b**), while their treatment with thiourea afforded the 6-sulfanylpurine (**7a**) and 2-amino-6-sulfanylpurine (**7b**) derivatives.^[10]

To perform the cyanohydrin synthesis, the 2,2-diethoxyethyl derivatives (**5a–5f**, **6a–6b**, **7a–7b**) were first heated with dilute inorganic acid to form the free aldehydes and the reaction mixtures were treated directly with KCN at neutral pH. Subsequent hydrolysis with dilute HCl afforded the base-modified 2-hydroxy-3-(purin-9-yl)propanoic acids (**8a–8f**, **9a–9b**, **10a–10b**). The deionized reaction products were finally purified by anion exchange chromatography (Sch. 1).





Scheme 1. (a) BrCH₂CH(OEt)₂, Cs₂CO₃/DMF, 100°C; (b) R₁R₂NH or R₁NH₂, [(CH₃)₂NH⁺(CH₃)₂N-COO⁻]; (c) (1) H⁺, (2) KCN (3) H⁺; (d) DABCO, aq. K₂CO₃; (e) thiourea.

In our earlier article,^[9] we have discovered that the treatment of 9-(2,2-diethoxyethyl)adenine (**11a**) with malonic acid in boiling aqueous solution does not afford the expected 4-(adenin-9-yl)-2-butenoic acid (**12**) but gives exclusively the isomeric 4-(adenin-9-yl)-3-butenoic acid (**13**). We have postulated the mechanism of this

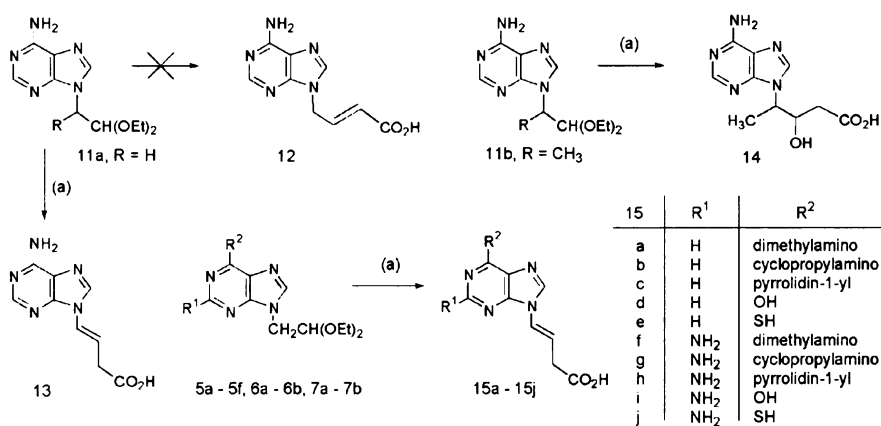


isomerisation based on addition of water to the primary reaction product and its subsequent elimination in either direction. It was considered plausible that the markedly low water solubility of compound (13) could shift this equilibrium in favor of this isomer. This speculation was supported by the fact that the homologue, 2-(adenin-9-yl)-1,1-diethoxypropane (11b) gives with malonic acid in water the postulated intermediate, 4-(adenin-9-yl)-3-hydroxypropanoic acid (14) as the only reaction product. Having in hand the above series of 2,2-diethoxyethyl purines (5a–5f, 6a–6b, 7a–7b) we have further investigated this reaction. However, in all cases examined solely the 6-substituted 4-(purin-9-yl)-3-butenoic acids (15a–15j) were obtained, disregarding the solubility of the product in the course of the reaction. Removal of excess malonic acid and final purification were performed by ion exchange chromatography.

Untypical formation of β,γ -unsaturated acids from malonic acid and aldehydes was already described in the literature.^[11] However, in all such cases the reaction was performed in non-aqueous solvents in the presence of the tertiary base or, in the neat tertiary base. Thus, to explain the formation of the β,γ -unsaturated acids from 2,2-diethoxyethyl purines and malonic acid in water we are suggesting the above water addition-elimination mechanism. The driving force of this reaction could well be the formation of the enamine product with extended π -orbital overlap involving the heteroaromatic system (Sch. 2).

In conclusion, we have synthesized a series of base-substituted 2-hydroxy-3-(purin-9-yl)propanoic acids by cyanohydrin synthesis from 3-(purin-9-yl)ethanals. The latter compounds were obtained by transformations of 9-(2,2-diethoxyethyl)-6-chloropurine or 2-amino-6-chloropurine prepared by alkylation of the bases with bromoacetaldehyde diethyl acetal. The 2,2-diethoxyethyl derivatives give with aqueous malonic acid 6-substituted 4-(purin-9-yl)-3-butenoic acids.

The biological examination of these compounds is not yet finished. However, we have not encountered in this group any compound with prominent cytostatic activity and/or antiviral activity against vaccinia virus.



Scheme 2. (a) CH₂(COOH)₂, H₂O reflux.



EXPERIMENTAL

Unless otherwise stated, solvents were evaporated at 40°C/2 kPa and compounds were dried overnight at 2 kPa over P₂O₅. Melting points were determined on a Büchi Melting Point B-545 apparatus and are uncorrected. TLC was performed on plates of kieselgel 60 F254 (Merck) in systems S1 (chloroform-methanol 95:5), S2 (chloroform-methanol 9:1), S3 (ethyl acetate-acetone-ethanol-water 4:1:1:1) and S4 (ethyl acetate-petroleum ether 1:1). Paper electrophoresis was performed on a Whatman No. 3 MM paper at 40 V/cm for 1 h in 0.05 M triethylammonium hydrogencarbonate, pH 7.5; the electrophoretic mobilities were referenced to uridine 3'-phosphate. NMR spectra were measured on an FT NMR spectrometer Varian UNITY 500 (¹H at 500 MHz and ¹³C at 125.7 MHz) in dimethyl sulfoxide-*d*₆. Chemical shifts (δ ppm) and coupling constants (*J*, Hz) were obtained by the first-order analysis of the spectra. Mass spectra were measured on a ZAB-EQ (VG Analytical) spectrometer using FAB (ionization by Xe, accelerating voltage 8 kV, glycerol matrix).

General Methods

Deionization of the Reaction Mixture. The solution of reaction products in water (20–25 mL) was applied on a column of Dowex 50 \times 8 (100 mL, H⁺ form), and the column was washed with water until the drop of the UV absorption (254 nm) and acid reaction of the eluate. The standard elution rate was 3 mL/min. Elution was continued with 10% ammonia, and the UV-absorbing eluate was collected and evaporated.

Purification by Column Chromatography on Dowex 1 \times 2. Unless stated otherwise, 100 mL columns of Dowex 1 \times 2 (acetate form) were used. The sample was dissolved in water (20–25 mL), alkalified with concentrated aqueous ammonia to pH 9–9.5, and applied on the column. Elution with water (3 mL/min) was continued until the drop of the initial UV absorption (254 nm) of the eluate. The column was then eluted with a linear gradient of acetic acid.

6-Chloro-9-(2,2-diethoxyethyl)purine (3a) and 6-Chloro-7-(2,2-diethoxyethyl)purine (4a). To the stirred mixture of (2a) (7.7 g, 50 mmol) and cesium carbonate (8.1 g, 25 mmol) in DMF (150 mL) was added bromoacetaldehyde diethylacetal (11.6 mL, 75 mmol). The mixture was heated under stirring at 100°C for 24 h with exclusion of moisture. The reaction mixture was filtered while hot through Celite, taken down at 50°C/13 Pa and codistilled with toluene (3 \times 50 mL) and ethanol (2 \times 50 mL). The residue was extracted with boiling chloroform (500 mL), filtered through Celite and evaporated. The residue in methanol (200 mL) was treated with silica gel (150 mL), evaporated and applied on a column of silica gel (600 mL) in ethyl acetate-petroleum ether mixture (1:2). The column was eluted with ethyl acetate-petroleum ether mixture (1:2–1:1). The crystallization from ethyl acetate-petroleum ether afforded 5.6 g (42%) of compound (3a), white crystals, mp 85°C, R_F = 0.66 (S1). ¹H NMR: 8.79 (s, 1H, H-2); 8.62 (s, 1H, H-8); 4.89 (t, 1H, *J*(2',1') = 5.0, H-2'); 4.40 (d, 2H,



$J(1',2')=5.0$, H-1'); 3.64 and 3.45 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3)=7.1$, $J(\text{gem})=9.6$, O-CH₂); 1.01 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2)=7.1$, CH₃). ¹³C NMR: 152.32 (C-4); 151.74 (C-2); 149.15 (C-6); 148.04 (C-8); 130.64 (C-5); 99.26 (C-2'); 62.59 (2C, O-CH₂); 46.01 (C-1'); 15.21 (2C, CH₃). FAB MS, m/z: 271.2 [M + H]. For C₁₁H₁₅N₄O₂Cl calcd: C, 48.80; H, 5.58; N, 20.70; Cl, 13.10; O, 11.82%; found: C, 48.93; H, 5.60; N, 20.60; Cl, 13.19; O, 11.68%. Further elution of the column with ethyl acetate-petroleum ether (1:1) gave, after crystallization from ethyl acetate-petroleum ether, compound (4a) (0.73 g, 5.5%), white crystals, mp = 60°C, R_F = 0.54. ¹H NMR: 8.78 (s, 1H, H-2); 8.72 (s, 1H, H-8); 4.82 (t, 1H, $J(2',1')=5.0$, H-2'); 4.59 (d, 2H, $J(1',2')=5.0$, H-1'); 3.64 and 3.42 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3)=7.1$, $J(\text{gem})=9.6$, O-CH₂); 0.99 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2)=7.1$, CH₃). ¹³C NMR: 161.57 (C-4); 151.87 (C-2); 151.63 (C-8); 142.51 (C-6); 122.45 (C-5); 100.40 (C-2'); 63.23 (2C, O-CH₂); 48.85 (C-1'); 15.20 (2C, CH₃). FAB MS, m/z: 271 [M + H]. For C₁₁H₁₅N₄O₂Cl calcd: C, 48.80; H, 5.58; N, 20.70; Cl, 13.10; O, 11.82%; found: C, 48.72; H, 5.54; N, 20.54; Cl, 13.18; O, 12.02%.

2-Amino-6-chloro-9-(2,2-diethoxyethyl)purine (3b) and 2-Amino-6-chloro-7-(2,2-diethoxyethyl)purine (4b). These compounds were prepared from 2-amino-6-chloropurine (2b) (8.5 g, 50 mmol) by the same procedure as compounds (3a) and (4a). The silica gel column was eluted with chloroform (1 L) and then with chloroform-methanol mixture (98:2). The crystallization from ethyl acetate-petroleum ether afforded 8.5 g (59%) of compound (3b), white crystals, mp = 139.2°C, R_F = 0.54 (S1). ¹H NMR: 8.04 (s, 1H, H-8); 6.94 (s, 2H, NH₂); 4.80 (t, 1H, $J(2',1')=5.4$, H-2'); 4.13 (d, 2H, $J(1',2')=5.4$, H-1'); 3.63 and 3.42 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3)=7.1$, $J(\text{gem})=9.6$, O-CH₂); 1.025 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2)=7.1$, CH₃). ¹³C NMR: 160.00 (C-2); 154.43 (C-4); 149.45 (C-6); 143.73 (C-8); 123.14 (C-5); 99.37 (C-2'); 62.48 (2C, O-CH₂); 45.44 (C-1'); 15.28 (2C, CH₃). FAB MS, m/z: 286 [M + H]. For C₁₁H₁₆N₅O₂Cl calcd: C, 46.24; H, 5.64; N, 24.51; Cl, 12.41; O, 11.20%; found: C, 46.22; H, 5.75; N, 24.29; Cl, 12.25; O, 11.49%. Further elution of the column, and crystallization from ethyl acetate-petroleum ether, afforded 1.7 g (12%) of compound (4b), white crystals, mp = 163°C, R_F = 0.41 (S1). ¹H NMR: 8.28 (s, 1H, H-8); 6.64 (brs, 2H, NH₂); 4.76 (t, 1H, $J(2',1')=5.4$, H-2'); 4.37 (d, 2H, $J(1',2')=5.4$, H-1'); 3.63 and 3.39 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3)=7.1$, $J(\text{gem})=9.6$, O-CH₂); 1.01 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2)=7.1$, CH₃). ¹³C NMR: 164.24 (C-4); 160.02 (C-2); 150.45 (C-8); 143.66 (C-6); 115.21 (C-5); 100.49 (C-2'); 63.12 (2C, O-CH₂); 48.64 (C-1'); 15.27 (2C, CH₃). FAB MS, m/z: 286 [M + H]. For C₁₁H₁₆N₅O₂Cl calcd: C, 46.24; H, 5.64; N, 24.51; Cl, 12.41; O, 11.20%; found: C, 46.32; H, 5.75; N, 24.61; Cl, 12.42; O, 10.90%.

9-(2,2-Diethoxyethyl)-6-(dimethylamino)purine (5a). The solution of compound (3a) (4.1 g, 15 mmol) and dimethylammonium N,N-dimethylcarbamate (5.8 mL, 45 mmol) in acetonitrile (120 mL) was refluxed for 0.5 h with exclusion of moisture. The mixture was evaporated and the residue codistilled with ethanol (2 × 50 mL). The residue was dissolved in chloroform (100 mL) and washed with water (3 × 50 mL) and the water was washed with chloroform (2 × 50 mL). Organic phase was dried with MgSO₄ and evaporated. The crystallization from ethyl acetate-petroleum ether afforded 4.54 g (95%) of compound (5a), white crystals, mp = 65°C,



$R_F = 0.75$ (S1). ^1H NMR: 8.22 (s, 1H, H-2); 8.07 (s, 1H, H-8); 4.83 (t, 1H, $J(2',1') = 5.4$, H-2'); 4.23 (d, 2H, $J(1',2') = 5.4$, H-1'); 3.63 and 3.41 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.1$, $J(\text{gem}) = 9.6$, O-CH₂); 3.44 (brs, 6H, N-CH₃); 1.02 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7.1$, CH₃). ^{13}C NMR: 154.34 (C-6); 151.95 (C-2); 150.60 (C-4); 140.22 (C-8); 119.03 (C-5); 99.56 (C-2'); 62.36 (2C, O-CH₂); 45.40 (C-1'); 39.00 (br, N-CH₃); 38.00 (br, N-CH₃); 15.22 (2C, CH₃). FAB MS, m/z : 280 [M + H]. For C₁₃H₂₁N₅O₂ calcd: C, 55.90; H, 7.58; N, 25.07; O, 11.45%; found: C, 55.74; H, 7.69; N, 24.91; O, 11.66%.

2-Amino-9-(2,2-diethoxyethyl)-6-(dimethylamino)purine (5d). This compound was prepared from compound (3b) (4.3 g, 15 mmol) by the procedure described for compound (5a). Yield 4.07 g (92%), white crystals, $mp = 108\text{--}109^\circ\text{C}$, $R_F = 0.86$ (S3). ^1H NMR: 7.64 (s, 1H, H-8); 5.84 (brs, 2H, NH₂); 4.76 (t, 1H, $J(2',1') = 5.5$, H-2'); 4.04 (d, 2H, $J(1',2') = 5.5$, H-1'); 3.63 and 3.39 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.0$, $J(\text{gem}) = 9.6$, O-CH₂); 3.37 (brs, 6H, N-CH₃); 1.04 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7.0$, CH₃). ^{13}C NMR: 159.70 (C-2); 154.85 (C-6); 153.03 (C-4); 137.05 (C-8); 113.41 (C-5); 99.67 (C-2'); 62.31 (2C, O-CH₂); 45.08 (C-1'); 43.20 and 37.90 (N-CH₃); 15.35, 2C (CH₃). FAB MS, m/z : 295.2 [M + H]. For C₁₃H₂₂N₆O₂ calcd: C, 53.05; H, 7.53; N, 28.55; O, 10.87%; found: C, 53.00; H, 7.75; N, 28.51; O, 10.74%.

***N*⁶-Substituted 6-Amino-9-(2,2-diethoxyethyl)purines and 2,6-Diamino-9-(2,2-diethoxyethyl)purines.** *General procedure.* A mixture of compound (3a) (2.17 g, 8 mmol) [for preparation of *N*⁶-substituted 6-amino-9-(2,2-diethoxyethyl)purines] or compound (3b) (2.28 g, 8 mmol) [for preparation of *N*⁶-substituted 2,6-diamino-9-(2,2-diethoxyethyl)purines], ethanol (80 mL) and primary or secondary amine (4 equivalents) was refluxed for 1–6 h with exclusion of moisture. The course of the reaction was checked with TLC in systems S1 and S3. After completion, the mixture was evaporated and the residue codistilled with ethanol (2 × 50 mL). The residue was dissolved in chloroform (50 mL), washed with water (2 × 50 mL) and the water was washed with chloroform (2 × 50 mL). Organic phase was dried with MgSO₄ and evaporated. The following compounds were prepared by this procedure:

6-(Cyclopropylamino)-9-(2,2-diethoxyethyl)purine (5b). Crystallized from ethyl acetate-petroleum ether, yield 2.0 g (86%) of white crystals, $mp = 96.6^\circ\text{C}$, $R_F = 0.46$ (S2). ^1H NMR: 8.25 (brs, 1H, H-2); 8.05 (s, 1H, H-8); 7.89 (brs, 1H, NH); 4.84 (t, 1H, $J(2',1') = 5.4$, H-2'); 4.23 (d, 2H, $J(1',2') = 5.4$, H-1'); 3.63 and 3.41 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.1$, $J(\text{gem}) = 9.6$, O-CH₂); 3.04 (m, 1H, N-CH); 1.02 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7.1$, CH₃); 0.72 and 0.61 (m, 2H, C-CH₂). ^{13}C NMR: 155.65 (C-6); 152.56 (C-2); 149.50 (C-4); 141.28 (C-8); 118.91 (C-5); 99.61 (C-2'); 62.38 (2C, O-CH₂); 45.40 (C-1'); 27.88 (N-CH); 15.28 (2C, CH₃); 6.57 (2C, CH₂). FAB MS, m/z : 292.1 [M + H]. For C₁₄H₂₁N₅O₂ calcd: C, 57.72; H, 7.26; N, 24.04; O, 10.98%; found: C, 57.63; H, 7.22; N, 23.96; O, 11.19%.

9-(2,2-Diethoxyethyl)-6-(pyrrolidin-1-yl)purine (5c). Crystallized from petroleum ether, yield 2.46 g (96%), white crystals, $mp = 59\text{--}61^\circ\text{C}$, $R_F = 0.56$ (S1). ^1H NMR: 8.20 (s, 1H, H-2); 8.04 (s, 1H, H-8); 4.83 (t, 1H, $J(2',1') = 5.4$ (H-2')); 4.22 (d, 2H, $J(1',2') = 5.4$, H-1'); 4.05 and 3.60 (m, 2H, N-CH₂); 3.63 and 3.41



(dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.1$, $J(\text{gem}) = 9.6$, O-CH₂); 1.97 and 1.91 (m, 2H, C-CH₂); 1.025 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7.1$, CH₃). FAB MS, m/z : 306 [M + H]. For C₁₅H₂₃N₅O₂ calcd: C, 59.00; H, 7.59; N, 22.93; O, 10.48; found: C, 58.93; H, 7.74; N, 22.83; O, 10.50%.

2-Amino-6-(cyclopropylamino)-9-(2,2-diethoxyethyl)purine (5e). Crystallized from ethanol-ether, yield 1.92 g (78%), white crystals, mp = 164.2°C, R_F = 0.49 (S2). ¹H NMR: 7.61 (s, 1H, H-8); 7.28 (brs, 1H, NH); 5.87 (brs, 2H, NH₂); 4.76 (t, 1H, $J(2',1') = 5.4$, H-2'); 4.03 (d, 2H, $J(1',2') = 5.4$, H-1'); 3.63 and 3.39 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.1$, $J(\text{gem}) = 9.6$, O-CH₂); 3.03 (m, 1H, N-CH); 1.04 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7.1$, CH₃); 0.65 and 0.58 (m, 2H, C-CH₂). ¹³C NMR: 160.41 (C-2); 156.02 (C-6); 150.00 (C-4); 137.78 (C-8); 113.21 (C-5); 99.74 (C-2'); 62.32 (2C, O-CH₂); 45.06 (C-1'); 27.00 (N-CH); 15.34 (2C, CH₃); 6.55 (2C, CH₂). FAB MS, m/z : 307.1 [M + H]. For C₁₄H₂₂N₆O₂ calcd: C, 54.89; H, 7.24; N, 27.43; O, 10.44%; found: C, 54.73; H, 7.37; N, 27.32; O, 10.58%.

2-Amino-9-(2,2-diethoxyethyl)-6-(pyrrolidin-1-yl)purine (5f). Crystallized from ethyl acetate-petroleum ether, yield 2.2 g (88%) of white crystals, mp = 110.4°C, R_F = 0.88 (S3), R_F = 0.14 (S4). ¹H NMR: 7.61 (s, 1H, H-8); 5.80 (brs, 2H, NH₂); 4.76 (t, 1H, $J(2',1') = 5.5$, H-2'); 4.03 (d, 2H, $J(1',2') = 5.5$, H-1'); 3.96 and 3.55 (m, 2H, N-CH₂); 3.63 and 3.39 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.1$, $J(\text{gem}) = 9.6$, O-CH₂); 1.89 (m, 4H, C-CH₂); 1.04 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7.1$, CH₃). ¹³C NMR: 160.06 (C-2); 153.21 (C-6); 152.60 (C-4); 137.48 (C-8); 113.64 (C-5); 99.69 (C-2'); 62.28 (2C, O-CH₂); 48.20 and 47.00 (N-CH₂); 45.02 (C-1'); 25.15 and 24.00 (C-CH₂); 15.35 (2C, CH₃). FAB MS, m/z : 321.1 [M + H]. For C₁₅H₂₄N₆O₂ calcd: C, 56.23; H, 7.55; N, 26.23; O, 9.98%; found: C, 56.06; H, 7.65; N, 25.97; O, 10.32%.

9-(2,2-Diethoxyethyl)hypoxanthine (6a). The solution of (3a) (2.17 g, 8 mmol), K₂CO₃ (4.43 g, 32 mmol) and DABCO (1.8 g, 16 mmol) in water (25 mL) was stirred at reflux for 2 h, neutralized by addition of Dowex 50 × 8, alkalified with 10% ammonia and filtered. The resin was washed with water (200 mL) and 10% ammonia (200 mL). The filtrate was evaporated. The residue was extracted with boiling ethyl acetate, filtered, evaporated and applied on a silica gel column. The column was eluted with ethyl acetate-methanol (90:10). The crystallization from ethyl acetate-petroleum ether afforded 1.5 g (74%) of compound (6a), white solid, mp = 172.3–173.8°C, R_F = 0.51 (S2). ¹H NMR: 7.85 (s, 1H, H-2); 7.60 (s, 1H, H-8); 4.74 (t, 1H, $J(2',1') = 5.6$, H-2'); 4.07 (d, 2H, $J(1',2') = 5.6$, H-1'); 3.62 and 3.39 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.1$, $J(\text{gem}) = 9.6$, O-CH₂); 1.03 (t, 6H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.1$, CH₃). ¹³C NMR: 167.22 (C-6); 153.57 (C-2); 150.00 (C-4); 137.16 (C-8); 124.05 (C-5); 99.95 (C-2'); 62.26 (2C, O-CH₂); 45.33 (C-1'); 15.33 (2C, CH₃). FAB MS, m/z : 253 [M + H]. For C₁₁H₁₆N₄O₃ calcd: C, 52.37; H, 6.39; N, 22.21; O, 19.03%; found: C, 52.15; H, 6.49; N, 21.90; O, 19.46%.

9-(2,2-Diethoxyethyl)guanine (6b). The compound (3b) (1.7 g, 6 mmol), K₂CO₃ (3.32 g, 24 mmol) and DABCO (1.34 g, 12 mmol) were dissolved in water (20 mL) and stirred at reflux for 1.5 h, neutralized with Dowex 50 × 8, alkalified with 10% ammonia and filtered. The resin was washed with water (200 mL) and 10% ammonia



(200 mL). The filtrate was evaporated. The crude product was crystallized from water to afford 1.21 g (73%) of compound (**6b**), white solid, mp = 277.7°C (dec.), R_F = 0.75 (S3). ^1H NMR: δ 10.58 (s, 1H, NH); 7.60 (s, 1H, H-8); 6.46 (brs, 2H, NH₂); 4.73 (t, 1H, $J(2',1') = 5.4$, H-2'); 4.01 (d, 2H, $J(1',2') = 5.4$, H-1'); 3.63 and 3.39 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.1$, $J(\text{gem}) = 9.6$, O-CH₂); 1.04 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7.1$, CH₃). ^{13}C NMR: δ 157.01 (C-2); 153.77 (C-6); 151.54 (C-4); 138.06 (C-8); 116.35 (C-5); 99.78 (C-2'); 62.40 (2C, O-CH₂); 45.32 (C-1'); 15.31 (2C, CH₃). FAB MS, m/z: 268.2 [M + H]. For C₁₁H₁₇N₅O₃·1/2H₂O calcd: C, 47.82; H, 6.57; N, 25.35; O, 20.27%; found: C, 47.73; H, 6.44; N, 25.16; O, 20.67%.

9-(2,2-Diethoxyethyl)-6-sulfanylpurine (7a). A solution of compound (**3a**) (2.17 g, 8 mmol) and thiourea (1.9 g, 24 mmol) in ethanol (120 mL) was stirred at reflux for 1.5 h, cooled and made basic with triethylamine. The crystalline product was filtered, washed with ethanol and ether and dried. Yield 1.85 g (86%), white crystals, mp = 241–243°C (dec.), R_F = 0.54 (S2). ^1H NMR: δ 13.75 (brs, 1H, SH); 8.215 (s, 1H, H-2); 8.21 (s, 1H, H-8); 4.82 (t, 1H, $J(2',1') = 5.3$, H-2'); 4.26 (d, 2H, $J(1',2') = 5.3$, H-1'); 3.62 and 3.43 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.0$, $J(\text{gem}) = 9.6$, O-CH₂); 1.03 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7.0$, CH₃). ^{13}C NMR: δ 175.95 (C-6); 145.17 (C-2); 144.48 (C-4); 143.69 (C-8); 134.81 (C-5); 99.53 (C-2'); 62.53 (2C, O-CH₂); 45.74 (C-1'); 15.26 (2C, CH₃). FAB MS, m/z: 269.1 [M + H]. For C₁₁H₁₆N₄O₂S calcd: C, 49.24; H, 6.01; N, 20.88; O, 11.92; S, 11.95%; found: C, 49.03; H, 6.07; N, 20.73; O, 12.25%; S, 11.92%.

2-Amino-9-(2,2-diethoxyethyl)-6-sulfanylpurine (7b). This compound was prepared from compound (**3b**) (1.71 g, 6 mmol) according to the above described procedure for compound (**7a**). Yield 1.56 g (89%) of white crystals, not melting below 300°C, R_F = 0.54 (S2). ^1H NMR: δ 11.88 (s, 1H, SH); 7.80 (s, 1H, H-8); 6.81 (brs, 2H, NH₂); 4.75 (t, 1H, $J(2',1') = 5.2$, H-2'); 4.03 (d, 2H, $J(1',2') = 5.2$, H-1'); 3.63 and 3.41 (dq, 2H, $J(\text{CH}_2, \text{CH}_3) = 7.0$, $J(\text{gem}) = 9.6$, O-CH₂); 1.04 (t, 6H, $J(\text{CH}_3, \text{CH}_2) = 7.0$, CH₃). ^{13}C NMR: 175.01 (C-6); 153.19 (C-2); 148.22 (C-4); 141.13 (C-8); 128.06 (C-5); 99.57 (C-2'); 62.45 (2C, O-CH₂); 45.29 (C-1'); 15.32 (2C, CH₃). FAB MS, m/z: 284 [M + H]. For C₁₁H₁₇N₅O₂S·1/2H₂O calcd: C, 45.19; H, 6.21; N, 23.96; O, 13.68; S, 10.97%; found: C, 45.02; H, 6.11; N, 23.77; O, 13.99; S, 11.11%.

***N*⁶-Substituted 3-(6-Aminopurin-9-yl)-2-hydroxypropanoic acids and 3-(2,6-Diaminopurin-9-yl)-2-hydroxypropanoic Acids.** *General procedure.* A mixture of *N*⁶-substituted 6-amino- or 2,6-diamino-9-(2,2-diethoxyethyl)purine (**5–7**) (6 mmol), water (30 mL) and conc. hydrochloric acid (1.2 mL) was heated for 4–8 h at 60°C until the reaction was complete (S2). After cooling to –5°C (ice-salt mixture), potassium cyanide (1.95 g, 30 mmol) was added under stirring, the mixture was rapidly adjusted to pH 6–6.5 with acetic acid and stirred at 0°C for 5 h and at room temperature overnight. Concentrated hydrochloric acid (20 mL) was added, the mixture was refluxed for 6 h, cooled, and evaporated. The residue was deionized on Dowex 50 × 8 (see above), and purified by Dowex 1 × 2 column chromatography (see above). Unless otherwise stated, the column was eluted with gradient of acetic



acid (2 L, 0–0.5 M). The crude product was crystallized from water. The following compounds were prepared by this procedure:

3-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]-2-hydroxypropanoic Acid (8a). Pale brown solid, yield 76%, mp = 232°C (dec.), E_{Up} = 0.61. 1H NMR: 12.90 (brs, 1H, COOH); 8.22 (s, 1H, H-2); 8.07 (s, 1H, H-8); 5.90 (brs, 1H, OH); 4.46 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3.9$, $J(gem) = 13.7$, H-1'a); 4.39 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3.9$, $J(2',1'b) = 8.2$, H-2'); 4.27 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8.2$, $J(gem) = 13.7$, H-1'b); 3.46 (brs, 6H, N-CH₃). FAB MS m/z: 252 [M + H]. For C₁₀H₁₃N₅O₃·1/2H₂O calcd: C, 46.15; H, 5.42; N, 26.91; O, 21.52%; found: C, 46.11; H, 5.39; N, 26.69; O, 21.81%.

3-[6-(Cyclopropylamino)purin-9-yl]-2-hydroxypropanoic Acid (8b). Crystallized from water-acetone mixture, white solid, yield 80%, mp = 245°C (dec.), E_{Up} = 0.50. 1H NMR: 12.80 (brs, 1H, COOH); 8.24 (s, 1H, H-2); 8.04 (s, 1H, H-8); 7.90 (brs, 1H, NH); 5.90 (brs, 1H, OH); 4.46 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3.6$, $J(gem) = 13.7$, H-1'a); 4.40 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3.6$, $J(2',1'b) = 8.0$, H-2'); 4.27 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8.0$, $J(gem) = 13.7$, H-1'b); 3.05 (m, 1H, N-CH); 0.71 and 0.60 (m, 2H, C-CH₂). ^{13}C NMR: 173.36 (C=O); 155.66 (C-6); 152.44 (C-2); 149.30 (C-4); 141.56 (C-8); 68.72 (C-2'); 46.39 (C-1'); 24.02 (N-CH); 6.64 (2C, CH₂). FAB MS m/z: 264 [M + H]. For C₁₁H₁₃N₅O₃ calcd: C, 50.19; H, 4.98; N, 26.60; O, 18.23%; found: C, 49.86; H, 4.98; N, 26.47; O, 18.69%.

2-Hydroxy-3-[6-(pyrrolidin-1-yl)purin-9-yl]propanoic Acid (8c). Pale brown solid, yield 81%, mp = 236°C (dec.), E_{Up} = 0.54. 1H NMR: 12.80 (brs, 1H, COOH); 8.21 (s, 1H, H-2); 8.04 (s, 1H, H-8); 5.80 (brs, 1H, OH); 4.46 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3.9$, $J(gem) = 13.8$, H-1'a); 4.39 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3.9$, $J(2',1'b) = 8.1$, H-2'); 4.27 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8.1$, $J(gem) = 13.8$, H-1'b); 4.05 and 3.62 (m, 2H, N-CH₂); 1.97 and 1.93 (m, 2H, C-CH₂). ^{13}C NMR: 173.28 (C=O); 152.42 (C-6); 152.01 (C-2); 150.08 (C-4); 141.10 (C-8); 119.30 (C-5); 68.67 (C-2'); 48.52 and 47.19 (N-CH₂); 46.33 (C-1'); 25.91 and 24.02 (C-CH₂). FAB MS m/z: 278 [M + H]. For C₁₂H₁₅N₅O₃ calcd: C, 51.98; H, 5.45; N, 25.26; O, 17.31%; found: C, 51.90; H, 5.44; N, 25.02; O, 17.64%.

3-[2-Amino-6-(dimethylamino)purin-9-yl]-2-hydroxypropanoic Acid (8d). The resin, after the elution by acetic acid, was stirred with boiling water (1 L), filtered and the water was evaporated. The residue was crystallized from water to afford white solid, yield 67%, mp = 272°C (dec.), E_{Up} = 0.47. 1H NMR: 7.63 (s, 1H, H-8); 5.87 (brs, 2H, NH₂); 4.33 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3.9$, $J(2',1'b) = 8.4$, H-2'); 4.29 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3.9$, $J(gem) = 13.8$, H-1'a); 4.06 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8.4$, $J(gem) = 13.8$, H-1'b); 3.35 (brs, 6H, N-CH₃). FAB MS m/z: 267 [M + H]. For C₁₀H₁₄N₆O₃·H₂O calcd: C, 42.25; H, 5.67; N, 29.56; O, 22.51%; found: C, 42.16; H, 5.75; N, 29.20; O, 22.89%.

3-[2-Amino-6-(cyclopropylamino)purin-9-yl]-2-hydroxypropanoic Acid (8e). White solid, yield 82%, mp = 258 – 260°C (dec.), E_{Up} = 0.45. 1H NMR: 7.61 (s, 1H, H-8); 7.36 (brs, 1H, NH); 6.00 (brs, 1H, OH); 5.95 (brs, 2H, NH₂); 4.33 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3.8$, $J(2',1'b) = 8.4$, H-2'); 4.28 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3.8$, $J(gem) = 13.9$,



H-1'a); 4.06 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8.4$, $J(\text{gem}) = 13.9$, H-1'b); 3.01 (m, 1H, N-CH); 0.65 and 0.57 (m, 2H, C-CH₂). ¹³C NMR: 173.59 (C=O); 160.11 (C-2); 155.97 (C-6); 150.00 (C-4); 138.21 (C-8); 113.32 (C-5); 68.91 (C-2'); 46.11 (C-1'); 28.45 (N-CH); 6.66 (2C, CH₂). FAB MS *m/z*: 279 [M+H]. For C₁₁H₁₄N₆O₃·1/3H₂O calcd: C, 46.48; H, 5.20; N, 29.56; O, 18.76%; found: C, 46.54; H, 5.22; N, 29.73; O, 18.51%.

3-[2-Amino-6-(pyrrolidin-1-yl)purin-9-yl]-2-hydroxypropanoic Acid (8f). The Dowex 1 × 2 resin, after the elution with acetic acid, was stirred with boiling water (1 L), filtered and the filtrate evaporated. The crude product was crystallized from water. White solid, yield 51%, mp = 275°C (dec.), E_{Up} = 0.44. ¹H NMR: 7.61 (s, 1H, H-8); 5.84 (brs, 2H, NH₂); 4.30 and 4.05 and 4.00 (m, 1H, H-1' and H-2'); 3.70 (m, 4H, N-CH₂); 1.90 (m, 4H, C-CH₂). ¹³C NMR: 173.49 (C=O); 159.87 (C-2); 153.20 (C-6); 152.40 (C-4); 137.82 (C-8); 113.78 (C-5); 68.85 (C-2'); 46.03 (C-1'). FAB MS *m/z*: 293 [M+H]. For C₁₂H₁₆N₆O₃ calcd: C, 49.31; H, 5.52; N, 28.75; O, 16.42%; found: C, 49.04; H, 5.57; N, 28.60; O, 16.79%.

2-Hydroxy-3-[hypoxanthin-9-yl]propanoic Acid (9a). The Dowex 1 × 2 column was eluted with gradient of acetic acid (2 L, 0–1 M). The resin was then stirred with boiling water (1 L), filtered and stirred with hot acetic acid (1 L, 1.5 M). The aqueous solutions were joined, evaporated and the residue has crystallized from water. White crystals, yield 25%, mp = 112.6°C, E_{Up} = 0.72. ¹H NMR: 12.60 (brs, 1H, COOH); 12.30 (brs, 1H, NH); 8.05 (s, 1H, H-2); 7.99 (s, 1H, H-8); 5.90 (brs, 1H, OH); 4.44 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3.8$, $J(\text{gem}) = 13.7$, H-1'a); 4.37 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3.8$, $J(2',1'b) = 8.3$, H-2'); 4.26 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8.3$, $J(\text{gem}) = 13.7$, H-1'b). ¹³C NMR: 173.20 (C=O); 156.85 (C-6); 148.67 (C-4); 145.69 (C-2); 141.15 (C-8); 123.90 (C-5); 68.87 (C-2'); 46.66 (C-1'). FAB MS *m/z*: 225 [M+H]. For C₈H₈N₄O₄·H₂O calcd: C, 39.67; H, 4.16; N, 23.13; O, 33.03; found: C, 39.53; H, 4.23; N, 22.93; O, 33.31%.

3-[Guanin-9-yl]-2-hydroxypropanoic Acid (9b). The Dowex 1 × 2 column was eluted with gradient of acetic acid (2 L, 0–1.5 M). White solid, yield 27%, mp = 292°C (dec.), E_{Up} = 0.66. ¹H NMR: 12.50 (brs, 1H, COOH); 10.60 (brs, 1H, NH); 7.61 (s, 1H, H-8); 6.49 (brs, 2H, NH₂); 5.90 (brs, 1H, OH); 4.31 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3.9$, $J(2',1'b) = 8.8$, H-2'); 4.25 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3.9$, $J(\text{gem}) = 13.9$, H-1'a); 4.04 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8.8$, $J(\text{gem}) = 13.9$, H-1'b). ¹³C NMR: 173.39 (C=O); 157.01 (C-2); 153.74 (C-6); 151.42 (C-4); 138.38 (C-8); 116.43 (C-5); 68.83 (C-2'); 46.14 (C-1'). FAB MS *m/z*: 240 [M+H]. For C₈H₉N₅O₄·1/3H₂O calcd: C, 39.19; H, 3.79; N, 28.56; O, 28.28; found: C, 39.30; H, 4.04; N, 28.18; O, 28.48%.

2-Hydroxy-3-[6-sulfanylpurin-9-yl]propanoic Acid (10a). DMF (5 mL) was added to the reaction mixture to improve solubility. Crystallization from water afforded yellow solid, yield 89%, mp = 220°C (dec.), E_{Up} = 0.88. ¹H NMR: 13.74 (brs, 1H, SH); 12.50 (brs, 1H, COOH); 8.21 (s, 1H, H-2); 8.19 (s, 1H, H-8); 5.90 (brs, 1H, OH); 4.46 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3.9$, $J(\text{gem}) = 13.7$, H-1'a); 4.38 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3.9$, $J(2',1'b) = 8.2$, H-2'); 4.30 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8.2$, $J(\text{gem}) = 13.7$, H-1'b). ¹³C NMR: 175.90 (C-6); 173.08 (C=O); 145.11 (C-2); 144.47 (C-4); 143.88



(C-8); 134.99 (C-5); 68.72 (C-2'); 46.72 (C-1'). FAB MS m/z : 241 [M + H]. For $C_8H_8N_4O_3S \cdot H_2O$ calcd: C, 37.21; H, 3.90; N, 21.69; O, 24.78; S, 12.41%; found: C, 37.59; H, 3.77; N, 21.74; O, 24.51; S, 12.39%.

3-[2-Amino-6-sulfanylpurin-9-yl]-2-hydroxypropanoic Acid (10b). DMF (5 mL) was added to the reaction mixture to improve solubility. The resin was, after the elution by acetic acid, stirred with boiling water (1 L), filtered and then stirred with hot acetic acid (1 L, 1 M) and filtered. Water and acetic acid were evaporated. The residue has crystallized from water to afford yellow solid, yield 27%, mp = 284°C (dec.), E_{Up} = 0.63. 1H NMR: 12.90 (brs, 1H, SH); 11.88 (brs, 1H, COOH); 7.79 (s, 1H, H-8); 6.82 (brs, 2H, NH_2); 5.90 (brs, 1H, OH); 4.32 (dd, 1H, $J(2',1'a) = 3.9$, $J(2',1'b) = 8.7$, H-2'); 4.26 (dd, 1H, $J(1'a,2') = 3.9$, $J(gem) = 14.0$, H-1'a); 4.07 (dd, 1H, $J(1'b,2') = 8.7$, $J(gem) = 14.0$, H-1'b). ^{13}C NMR: 174.95 (C-6); 173.24 (C=O); 153.15 (C-2); 148.14 (C-4); 141.37 (C-8); 128.20 (C-5); 68.60 (C-2'); 46.12 (C-1'). FAB MS m/z : 256 [M + H]. For $C_8H_9N_5O_3S \cdot 1/3H_2O$ calcd: C, 36.78; H, 3.73; N, 26.81; O, 20.41; S, 12.27%; found: C, 37.19; H, 3.70; N, 26.51; O, 20.49; S, 12.11%.

N^6 -Substituted 4-(6-Aminopurin-9-yl)-3-butenic Acids. General procedure. A mixture of N^6 -substituted 6-amino-9-(2,2-diethoxyethyl)purine (**5a–5c**) (2 mmol) and malonic acid (8 mmol) in water (15 mL) was stirring at reflux for 24–32 h. The course of the reaction was checked by TLC in S1 and by electrophoresis. The reaction mixture was cooled to r.t. and the crystalline product was filtered, washed with water and ether and dried over P_2O_5 . The following compounds were prepared:

4-[6-(Dimethylamino)purin-9-yl]-3-butenic Acid (15a). White crystals, yield 0.28 g (60%), mp = 222.8°C, E_{Up} = 0.57. 1H NMR: 12.43 (brs, 1H, COOH); 8.46 (s, 1H, H-2); 8.25 (s, 1H, H-8); 7.20 (dt, 1H, $J(1',2') = 14.5$, $J(1',3') = 1.3$, H-1'); 6.63 (dt, 1H, $J(2',1') = 14.5$, $J(2',3') = 7.4$, H-2'); 3.24 (dd, 2H, $J(3',2') = 7.4$, $J(3',1') = 1.3$, H-3'); 3.37 (brs, 6H, CH_3). ^{13}C NMR: 172.64 (C=O); 154.36 (C-6); 152.49 (C-2); 149.44 (C-4); 137.48 (C-8); 123.19 (C-1'); 119.62 (C-5); 113.70 (C-2'); 43.50 and 37.55 (N- CH_3); 35.12 (C-3'). FAB MS, m/z : 248 [M + H]. For $C_{11}H_{13}N_5O_2$ calcd: C, 53.44; H, 5.30; N, 28.32; O, 12.94%; found: C, 53.33; H, 5.37; N, 28.15; O, 13.15%.

4-[6-(Cyclopropylamino)purin-9-yl]-3-butenic Acid (15b). Pale yellow crystals, yield 0.36 g (70%), mp = 239°C (dec.), E_{Up} = 0.52. 1H NMR: 12.47 (brs, 1H, COOH); 8.44 (s, 1H, H-2); 8.30 (s, 1H, H-8); 8.01 (brs, 1H, N-H); 7.20 (dt, 1H, $J(1',2') = 14.5$, $J(1',3') = 1.3$, H-1'); 6.66 (dt, 1H, $J(2',1') = 14.5$, $J(2',3') = 7.4$, H-2'); 3.24 (dd, 2H, $J(3',2') = 7.4$, $J(3',1') = 1.3$, H-3'); 3.02 (m, 1H, N-CH); 0.73 and 0.62 (m, 2H, C- CH_2). ^{13}C NMR: 172.66 (C=O); 156.02 (C-6); 153.14 (C-2); 149.50 (C-4); 138.74 (C-8); 123.41 (C-1'); 119.62 (C-5); 113.63 (C-2'); 35.15 (C-3'); 27.00 (N-CH); 6.61 (C- CH_2). FAB MS, m/z : 260 [M + H]. For $C_{12}H_{13}N_5O_2$ calcd: C, 55.59; H, 5.05; N, 27.01; O, 12.34%; found: C, 55.33; H, 5.17; N, 27.39; O, 12.11%.

4-[6-(Pyrrolidin-1-yl)purin-9-yl]-3-butenic Acid (15c). White crystals, yield 0.37 g (64%), mp = 213°C (dec.), E_{Up} = 0.58. 1H NMR: 12.45 (brs, 1H, COOH); 8.42 (s, 1H, H-2); 8.24 (s, 1H, H-8); 7.20 (dt, 1H, $J(1',2') = 14.5$, $J(1',3') = 1.3$,



H-1'); 6.64 (dt, 1H, $J(2',1')=14.5$, $J(2',3')=7.4$, H-2'); 4.01 and 3.62 (m, 2H, N-CH₂); 3.24 (dd, 2H, $J(3',2')=7.4$, $J(3',1')=1.3$, H-3'); 1.95 and 1.91 (m, 2H, C-CH₂). ¹³C NMR: 172.68 (C=O); 152.90 (C-2); 152.62 (C-6); 149.12 (C-4); 137.99 (C-8); 123.30 (C-1'); 119.80 (C-5); 113.53 (C-2'); 48.64 and 47.21 (N-CH₂); 35.14 (C-3'); 25.96 and 23.90 (C-CH₂). FAB MS, m/z: 274 [M+H]. For C₁₃H₁₅N₅O₂·2H₂O calcd: C, 50.48; H, 6.19; N, 22.64; O, 20.69%; found: C, 50.77; H, 6.23; N, 22.64; O, 20.36%.

4-(Hypoxanthin-9-yl)-3-butenic Acid (15d). The mixture of compound (6a) (1.13 g, 4.5 mmol) and malonic acid (1.89 g, 18 mmol) in water (30 mL) was refluxed for 24 h and cooled to r.t. The crystalline product was filtered, washed with water and acetone. Recrystallization from water afforded 0.59 g (59%) of white solid, mp = 294°C (dec.), E_{Up} = 0.63. ¹H NMR: 12.47 (brs, 2H, COOH and N-H); 8.42 (s, 1H, H-2); 8.11 (s, 1H, H-8); 7.16 (dt, 1H, $J(1',2')=14.5$, $J(1',3')=1.5$, H-1'); 6.58 (dt, 1H, $J(2',1')=14.5$, $J(2',3')=7.4$, H-2'); 3.25 (dd, 2H, $J(3',2')=7.4$, $J(3',1')=1.5$, H-3'). ¹³C NMR: 172.49 (C=O); 156.69 (C-6); 147.35 (C-4); 146.43 (C-2); 138.13 (C-8); 124.67 (C-5); 122.99 (C-1'); 115.00 (C-2'); 35.00 (C-3'). FAB MS, m/z: 221 [M+H]. For C₉H₈N₄O₃ calcd: C, 49.09; H, 3.66; N, 25.45; O, 21.80%; found: C, 48.97; H, 3.65; N, 25.28; O, 22.10%.

4-(6-Sulfanylpurin-9-yl)-3-butenic Acid (15e). The solution of compound (7a) (1.9 g, 7 mmol) and malonic acid (3 g, 28 mmol) in water (40 mL) was refluxed for 5 h. The reaction mixture was evaporated and deionized on a column of Dowex 50 × 8 (see above). The crude solid was dissolved in water (10 mL), alkalinized with ammonia and applied on a column of Dowex 1 × 2 (acetate form). The column was eluted with water (500 mL), gradient of acetic acid (2 L, 0–1 M) and then with formic acid (500 mL, 1 M). The UV absorbing fraction of the last eluate was evaporated and codistilled with water (3 × 50 mL). The crystallization from water afforded 0.52 g (30%) of compound (15e). Yellow solid, mp = 225°C (dec.), E_{Up} = 0.86. ¹H NMR: 13.90 (brs, 1H, SH); 12.50 (brs, 1H, COOH); 8.62 (s, 1H, H-2); 8.25 (s, 1H, H-8); 7.18 (dt, 1H, $J(1',2')=14.5$, $J(1',3')=1.5$, H-1'); 6.61 (dt, 1H, $J(2',1')=14.5$, $J(2',3')=7.4$, H-2'); 3.26 (dd, 2H, $J(3',2')=7.4$, $J(3',1')=1.5$, H-3'). ¹³C NMR: 176.18 (C-6); 172.46 (C=O); 145.80 (C-2); 143.02 (C-4); 140.83 (C-8); 135.61 (C-5); 122.68 (C-1'); 115.79 (C-2'); 35.00 (C-3'). FAB MS, m/z: 237 [M+H]. For C₉H₈N₄O₂S·2/3H₂O calcd: C, 43.54; H, 3.79; N, 22.57; O, 17.19; S, 12.91%; found: C, 43.37; H, 3.69; N, 22.77; O, 17.08; S, 13.09%.

N⁶-Substituted 4-(2,6-Diaminopurin-9-yl)-3-butenic Acids. General procedure. A mixture of N⁶-substituted 2,6-diamino-9-(2,2-diethoxyethyl)purine (5f–5h) (6 mmol) and malonic acid (24 mmol) in water (35 mL) was refluxed for 19–25 h, the course of the reaction was checked on TLC (S2) and by electrophoresis. The reaction mixture was evaporated, deionized on Dowex 50 × 8 (see above). The crude product was purified by Dowex 1 × 2 column chromatography (see above), the column was eluted with gradient of acetic acid (2 L, 0–0.5 M). The UV absorbing eluate was evaporated and codistilled with water (3 × 50 mL). The subsequent



crystallization afforded these compounds:

4-[2-Amino-6-(dimethylamino)purin-9-yl]-3-butenic Acid (15f). White solid, crystallized from water, yield 0.95 g (54%), mp = 241°C (dec.), $E_{Up} = 0.47$. 1H NMR: 12.30 (brs, 1H, COOH); 8.06 (s, 1H, H-8); 7.00 (dt, 1H, $J(1',2') = 14.5$, $J(1',3') = 1.2$, H-1'); 6.44 (dt, 1H, $J(2',1') = 14.5$, $J(2',3') = 7.4$, H-2'); 6.00 (brs, 2H, NH₂); 3.36 (brs, 6H, N-CH₃); 3.18 (dd, 2H, $J(3',2') = 7.4$, $J(3',1') = 1.2$, H-3'). ^{13}C NMR: 172.74 (C=O); 159.68 (C-2); 154.62 (C-6); 151.83 (C-4); 134.09 (C-8); 123.39 (C-1'); 113.86 (C-5); 111.90 (C-2'); 40.29 and 37.90 (N-CH₃); 35.22 (C-3'). FAB MS, m/z: 263 [M + H]. For C₁₁H₁₄N₆O₂ calcd: C, 50.38; H, 5.38; N, 32.04; O, 12.20%; found: C, 50.21; H, 5.35; N, 31.92; O, 12.52%.

4-[2-Amino-6-(cyclopropylamino)purin-9-yl]-3-butenic Acid (15g). White solid, crystallized from water-acetone mixture, yield 0.9 g (50%), mp = 247°C (dec.), $E_{Up} = 0.41$. 1H NMR: 12.43 (brs, 1H, COOH); 8.18 (s, 1H, H-8); 7.50 (brs, 3H, N-H); 7.00 (d, 1H, $J(1',2') = 14.4$, H-1'); 6.49 (dt, 1H, $J(2',1') = 14.4$, $J(2',3') = 7.4$, H-2'); 3.19 (d, 2H, $J(3',2') = 7.4$, H-3'); 2.95 (m, 1H, N-CH); 0.80 and 0.68 (m, 2H, C-CH₂). ^{13}C NMR: 172.63 (C=O); 157.5 (C-2); 153.00 (C-6); 149.99 (C-4); 123.14 (C-1'); 113.26 (C-5); 112.84 (C-2'); 35.19 (C-3'); 24.11 (N-CH); 7.08 (2C, CH₂). FAB MS, m/z: 275 [M + H]. For C₁₂H₁₄N₆O₂·3/2H₂O calcd: C, 47.84; H, 5.69; N, 27.89; O, 18.58%; found: C, 48.15; H, 5.33; N, 27.76; O, 18.76%.

4-[2-Amino-6-(pyrrolidin-1-yl)purin-9-yl]-3-butenic Acid (15h). White solid, crystallized from water-ethanol mixture, yield 0.6 g (35%), mp = 259°C, $E_{Up} = 0.39$. 1H NMR: 12.40 (brs, 1H, COOH); 8.01 (s, 1H, H-8); 7.00 (dt, 1H, $J(1',2') = 14.5$, $J(1',3') = 1.0$, H-1'); 6.44 (dt, 1H, $J(2',1') = 14.5$, $J(2',3') = 7.1$, H-2'); 5.92 (brs, 2H, NH₂); 3.95 and 3.55 (m, 2H, N-CH₂); 3.17 (d, 2H, $J(3',2') = 7.1$, H-3'); 1.91 (m, 4H, C-CH₂). ^{13}C NMR: 172.78 (C=O); 160.27 (C-2); 153.13 (C-6); 151.54 (C-4); 134.48 (C-8); 123.51 (C-1'); 114.14 (C-5); 111.61 (C-2'); 48.60 and 47.50 (N-CH₂); 35.25 (C-3'); 25.50 and 25.0 (C-CH₂). FAB MS, m/z: 289 [M + H]. For C₁₃H₁₆N₆O₂·1/2H₂O calcd: C, 52.52; H, 5.76; N, 28.27; O, 13.45%; found: C, 52.79; H, 5.73; N, 28.17; O, 13.31%.

4-(Guanin-9-yl)-3-butenic Acid (15i). This compound was prepared by the same procedure as compound (15d) from compound (6b) (1.2 g, 4.5 mmol), white solid, yield 0.63 g (60%), mp = 306°C (dec.), $E_{Up} = 0.52$. 1H NMR: 12.45 (brs, 1H, COOH); 10.71 (s, 1H, N-H); 8.02 (s, 1H, H-8); 6.93 (dt, 1H, $J(1',2') = 14.5$, $J(1',3') = 1.5$, H-1'); 6.56 (brs, 2H, NH₂); 6.41 (dt, 1H, $J(2',1') = 14.5$, $J(2',3') = 7.4$, H-2'); 3.17 (dd, 2H, $J(3',2') = 7.4$, $J(3',1') = 1.5$, H-3'). ^{13}C NMR: 172.69 (C=O); 156.85 (C-2); 154.11 (C-6); 150.31 (C-4); 135.08 (C-8); 123.19 (C-1'); 117.06 (C-5); 113.03 (C-2'); 35.17 (C-3'). FAB MS, m/z: 236 [M + H]. For C₉H₉N₅O₃ calcd: C, 45.96; H, 3.86; N, 29.78; O, 20.41%; found: C, 45.61; H, 3.89; N, 29.74; O, 20.76%.

4-(2-Amino-6-sulfanylpurin-9-yl)-3-butenic Acid (15j). This compound was prepared from compound (7b) (0.98 g, 7 mmol) by the same procedure as the compound (15e). Crystallization from water afforded 0.76 g (42%) of yellow solid, mp = 259°C (dec.), $E_{Up} = 0.67$. 1H NMR: 12.48 (brs, 1H, COOH); 12.01 (s, 1H, SH);



8.21 (s, 1H, H-8); 6.94 (dt, 1H, $J(1',2') = 14.5$, $J(1',3') = 1.0$, H-1'); 6.88 (brs, 2H, NH₂); 6.46 (dt, 1H, $J(2',1') = 14.5$, $J(2',3') = 7.4$, H-2'); 3.19 (dd, 2H, $J(3',2') = 7.4$, $J(3',1') = 1.0$, H-3'). ¹³C NMR: 175.30 (C-6); 172.55 (C=O); 153.43 (C-2); 146.80 (C-4); 138.13 (C-8); 128.65 (C-5); 122.84 (C-1'); 113.86 (C-2'); 35.14 (C-3'). FAB MS, m/z: 252 [M + H]. For C₉H₉N₅O₂S.1/2H₂O calcd: C, 41.53; H, 3.87; N, 26.91; O, 15.37; S, 12.32%; found: C, 41.87; H, 3.83; N, 26.53; O, 15.34; S, 12.43%.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was performed as a part of research project # 4055905 of the Institute of Organic Chemistry and Biochemistry. It was supported by the Programme of Targeted Projects of the Academy of Sciences of the Czech Republic (# S4055109), by the René Descartes Prize-2001 of the European Commission, by COST programme 13.20 of the Ministry of Education of the Czech Republic and by Gilead Sciences (Foster City, CA, USA). The authors' thanks are due to Professor E. De Clercq and his group in the Rega Institute, Katholic University Leuven (Belgium) for the evaluation of antiviral activity, to Dr. I. Votruba of the Institute of Organic Chemistry and Biochemistry for the estimation of cytostatic activity and to the staff of the mass spectrometry and analytical departments of this Institute (Head, K. Ubik) for elemental analyses and measuring of mass spectra.

REFERENCES

1. Holý, A.; Votruba, I.; De Clercq, E. Structure-activity studies on open-chain analogues of nucleosides: inhibition of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase and antiviral activity. 2. Acid open-chain analogues. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1985**, *50*, 262–279.
2. Holý, A.; Votruba, I.; Merta, A.; De Clercq, E.; Jelinek, R.; Sláma, K.; Beneš, K.; Melichar, O. Biological consequences of S-adenosyl-L-homocysteinase inhibition by acyclic adenosine analogs. In *Biological Methylation and Drug Design*; Borhardt, R.R., Creveling, C.R., Ueland, P.M., Eds.; Humana Press: Clifton, 1986; 397–408.
3. Sláma, K.; Holý, A. Sterilization of *Pyrrhocoris apterus* by open-chain nucleoside analogues: Dose-response and structure-activity relationship. *Acta entomol. Bohemoslov.* **1988**, *85*, 94–106.
4. Beneš, K.; Holý, A.; Melichar, O.; Rosenberg, I. The effect of some 9-substituted adenine derivatives on the development of seedling roots of broad bean. *Biol. plant.* **1984**, *26*, 144–150.
5. De Clercq, E.; Holý, A. Alkyl esters of 3-adenin-9-yl-2-hydroxypropanoic acid: A new class of broad-spectrum antiviral agents. *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 282–287.
6. Schuster, G.; Holý, A. Inhibitory effects of 9-(2,3-dihydroxypropyl)adenine and 3-(adenin-9-yl)-2-hydroxypropanoic acid 2-methylpropylester on potato virus X replication. *Antiviral Res.* **1988**, *9*, 329–334.



7. Votruba, I.; Hasobe, M.; Holý, A.; Borchardt, R.T. 2-Methylpropyl ester of 3-(adenin-9-yl)-2-hydroxypropanoic acid. Mechanism of antiviral action in vaccinia virus-infected L929 cells. *Biochem. Pharmacol.* **1990**, *39*, 1573–1580.
8. Krečmerová, M.; Buděšínský, M.; Masojdková, M.; Holý, A. Synthesis of optically active N⁶-alkyl derivatives of (2R)-3-(adenin-9-yl)-2-hydroxypropanoic acid and related compounds. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2003**, *68*, 931–950.
9. Holý, A. Preparation and synthetic utilization of 3-(adenin-9-yl)-2-hydroxyalkanoic acids and their derivatives. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1984**, *49*, 2148–2166.
10. (a) Holý, A.; Votruba, I.; Tloušť'ová, E.; Masojdková, M. Synthesis and cytostatic activity of N-[2-(phosphonmethoxy)alkyl] derivatives of N⁶-substituted adenines, 2,6-diaminopurines and related compounds. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2001**, *66*, 1545–1592; (b) Holý, A.; Günter, J.; Dvořáková, H.; Masojdková, M.; Andrei, G.; Snoeck, R.; Balzarini, J.; De Clercq, E. Structure–antiviral activity relationship in the series of pyrimidine and purine N-[2-(phosphonmethoxy)ethyl] nucleotide analogues. 1. Derivatives substituted at the carbon atoms of the base. *J. Med. Chem.* **1999**, *42* (12), 2064–2086.
11. (a) Yamanaka, H.; Yokoyama, M.; Sakamoto, T.; Shiraishi, T.; Sagi, M.; Mizugaki, M. Influence of heteroaromatic amines to Knoevenagel condensation. *Heterocycles* **1983**, *20* (8), 1541–1544; (b) Bulugahapitiya, P.; Landais, Y.; Parra-Papado, L.; Planchenault, D.; Weber, V. A stereospecific access to allylic systems using rhodium(II)-vinyl carbenoid insertion into Si-H, O-H, and N-H bonds. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 1630–1641.

Received July 25, 2003

Accepted August 29, 2003

