

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO–TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2020

Gabriela Perglová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko–technologická

Deriváty pyrimidinů a jejich biologické aplikace

Gabriela Perglová

Bakalářská práce

2020

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

**Pyrimidine derivatives and their biological
applications**

Gabriela Perglová

Bachelor thesis

2020

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Gabriela Perglová**
Osobní číslo: **C17376**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Téma práce: **Deriváty pyrimidinů a jejich biologické aplikace**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Proveďte literární rešerši příprav a využití push-pull derivátů pyrimidinu v biologických vědách.
2. Vhodným postupem připravte alespoň dva vybrané push-pull deriváty pyrimidinu.
3. Sepište závěrečnou práci.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. Filip Bureš, Ph.D.**
Ústav organické chemie a technologie

Konzultant bakalářské práce: **Ing. Michaela Fecková**
Ústav organické chemie a technologie

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2019**

Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2020**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2020

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 2020

Gabriela Perglová

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat Ing. Michaelle Feckové za odborné vedení, cenné rady, všestrannou pomoc a podporu při tvorbě této bakalářské práce. Rovněž za odborné vedení, podnětné rady a vstřícnost děkuji prof. Ing. Filipovi Burešovi Ph.D. Dále pak děkuji kolegům a přátelům z Oddělení organických materiálů, Ústavu organické chemie a technologie, Univerzity Pardubice za všestrannou pomoc a přátelské prostředí. V neposlední řadě velké díky patří mé rodině, příteli a přátelům za podporu v průběhu mého studia.

ANOTACE

Byla provedena literární rešerše na téma push-pull derivátů nesoucích pyrimidin jako akceptorní jednotku a jejich aplikací v biologických vědách. Vedle využití v organoelektronice, nelineární optice atd. nachází deriváty pyrimidinu své uplatnění i např. v oblasti biozobrazování či pH sond. Tato práce přehledně shrnuje jejich základní vlastnosti, obecné syntézy a příklady aplikací. Cílem experimentální části byla syntéza tří push-pull molekul odvozených od pyrimidinu s *N,N*-difenylamino donorní jednotkou, styrylovým π -konjugovaným můstkem a studium vlivu polohy amino skupiny vůči centrální heterocyklické jednotce na spektrální vlastnosti cílových derivátů. Všechny molekuly byly charakterizovány dostupnými analytickými technikami (NMR a MS spektroskopie), byly měřeny jejich absorpční a emisní vlastnosti a rovněž termické chování. Z výsledků měření byly vyvozeny základní vztahy mezi strukturou a jejich vlastnostmi.

KLÍČOVÁ SLOVA

Pyrimidin, push-pull chromofor, elektrondonor/akceptor, luminiscence, biozobrazování, dvoufotonová absorpce.

ANNOTATION

A literature search focusing on push-pull derivatives bearing pyrimidine accepting unit and their application in biological sciences has been performed. In addition to the use of pyrimidine derivatives in organic electronics, nonlinear optics, etc., pyrimidine derivatives were also utilized in bioimaging and pH-probes. This work clearly summarizes their fundamental properties, general syntheses, and examples of their applications. In the experimental part were synthesized three pyrimidine-based push-pull molecules with *N,N*-diphenylamino donor unit and styryl π -conjugated linker. Influence of the amino group positioning along the pyrimidine central core on the spectral properties of target chromophores has also been addressed. All molecules were characterized by available analytical techniques (NMR and MS spectroscopy) and their absorption/emission as well as thermal properties were recorded. Fundamental structure-property relationships were elucidated from the measured data.

KEYWORDS

Pyrimidine, push-pull chromophore, electron donor/acceptor, luminescence, bioimaging, two-photon absorption.

OBSAH

Seznam schémat, obrázků, tabulek a příloh.....	15
Seznam zkratk.....	18
ÚVOD.....	13
1. TEORETICKÁ ČÁST.....	15
1.1. Push-pull chromofory.....	15
1.2. Obecné syntézy push-pull chromoforů na bázi pyrimidinu.....	16
1.2.1. Kondenzační reakce vedoucí ke vzniku pyrimidinového kruhu.....	17
1.2.2. Funkcionalizace pyrimidinového skeletu.....	19
1.3. Luminiscence.....	23
1.4. Biozobrazování.....	24
1.5. Biologické aplikace.....	27
1.5.1. Fluorescenční sondy.....	27
1.5.2. 2PA fluorescenční sondy.....	28
1.5.3. pH sondy.....	29
2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	31
2.1. Obecné metody.....	31
2.2. Obecná metoda pro Suzukiho–Miyaurovu cross–couplingovou reakce.....	32
2.2.1. 2-Fenyl-4-methylpyrimidin (44).....	32
2.2.2. 2-Fenyl-4,6-dimethylpyrimidin (45).....	32
2.2.3. 2-Chloro-4-fenylpyrimidin (50).....	33
2.3. 4-Ethynyl- <i>N,N</i> -difenylanilin (51).....	33
2.4. Obecná metoda pro Knoevenagelovu kondenzaci.....	34
2.4.1. 2-Fenyl-4-[(4- <i>N,N</i> -difenylamino)styryl]pyrimidin (47).....	34
2.4.2. 2-Fenyl-4,6-bis[(4- <i>N,N</i> -difenylamino)styryl]pyrimidin (48).....	34
2.5. 2-[(4- <i>N,N</i> -Difenylamino)styryl]-4-fenylpyrimidin (52).....	35
3. VÝSLEDKY A DISKUZE.....	36
3.1. Syntéza cílových chromoforů.....	36
3.2. Strukturní analýza.....	38
3.2.1. Nukleární magnetická rezonance.....	39
3.2.2. HR-MALDI-MS.....	40
3.3. Fotofyzikální vlastnosti.....	41
3.4. Diferenční kompenzační kalorimetrie.....	44
4. ZÁVĚR.....	46
5. LITERATURA.....	48
PŘÍLOHY.....	52

Seznam schémat, obrázků, tabulek a příloh

Schéματα

Schéma 1 Reakce diketonu a N–C–N fragmentu modifikovanou Pinnerovou metodou.....	17
Schéma 2 Třísložková one–pot reakce vedoucí ke sloučeninám 7	17
Schéma 3 Syntéza sloučenin 11 reakční sekvencí: Sonogashirova C–C reakce a kondenzace vzniklého alkynonu s amidinem.	18
Schéma 4 Syntéza sloučenin 16 Knoevenagelovou kondenzací malonitrilu a aldehydu a následnou Michaelovou adicí amidinu katalyzovanou MgO.	18
Schéma 5 Příklady cross–couplingových reakcí 2–chlorpyrimidinu 17	21
Schéma 6 Selektivita reakce na 2,4,6–trichlorpyrimidinu vedoucí až k 2,4,6–trifenylypyrimidinu.....	22
Schéma 7 Obecná Knoevenagelova kondenzace.	22
Schéma 8 Knoevenagelova kondenzace vedoucí k 4,6–bis(4–bromostyryl)pyrimidinu.	23
Schéma 9 Protonace derivátu 39 vedoucí k naprotonovanému 40	30
Schéma 10 Syntéza cílových chromoforů 47 a 48	37
Schéma 11 Syntéza cílového chromoforu 52	38

Obrázky

Obrázek 1 Struktura a číslování pyrimidinového kruhu.....	13
Obrázek 2 Obecná struktura push–pull chromoforu.	15
Obrázek 3 Mechanismus cross–couplingové reakce katalyzované Pd–(0) komplexem.....	19
Obrázek 4 Perrinův–Jablonskiho diagram zářivých a nezářivých přechodů při fotoluminiscenci.....	23
Obrázek 5 Princip dvoufotonové absorpce. ^[50]	26
Obrázek 6 Fluorescenční sonda k detekci nebezpečných iontů.	27
Obrázek 7 Struktury fluorescenčních sond Res–Biot a Flu–Pht k detekci biothiolu a thiofenolu.	28
Obrázek 8 Struktura 2PA fluorescenční sondy na bázi pyrimidinu.	28
Obrázek 9 Struktura 2PA sondy založené na pyrimidin–2–isothiokyanátu.	29
Obrázek 10 Obrazy diferenciálního interferenčního kontrastu (a) a dvoufotonové fluorescenční mikroskopie (b) Hep G2 buněk inkubovaných s 2PA sondou po dobu 15 minut. ^[55]	29

Obrázek 11 Změna barvy roztoku látky 39 v CH ₂ Cl ₂ (A) (c = 0,9642 × 10 ⁻⁵ M): (A) neutrální roztok; po přidání 0,8 ekv. (B) a 50 ekv. (1S)-(+)-10-kafrsulfonové kyseliny (C). Snímek byl pořízen ve tmě po ozáření ruční UV lampou při 366 nm. ^[41]	30
Obrázek 12 Struktura multi-snímové sondy na bázi pyrimidinu.....	30
Obrázek 13 Struktury cílových chromoforů 47 , 48 a 52	36
Obrázek 14 Struktura cílového chromoforu 48	38
Obrázek 15 ¹ H NMR (CDCl ₃ , 25 °C, 500 MHz) spektrum chromoforu 48	39
Obrázek 16 ¹³ C NMR (CDCl ₃ , 25 °C, 500 MHz) spektrum chromoforu 48	40
Obrázek 17 HR-MALDI-MS spektra sloučeniny 48 : experimentální (nahore), predikovaná (dole), výřez spekter (vpravo).....	41
Obrázek 18 UV-Vis spektra (vlevo) a normalizovaná absorpční a emisní spektra (vpravo) cílových chromoforů 47 , 48 a 52 měřené v DCM, c=1×10 ⁻⁵ mol.l ⁻¹	42
Obrázek 19 Normalizovaná emisní spektra chromoforu 48 v různých aprotických rozpouštědlech.	43
Obrázek 20 Graf závislosti λ _{max(em)} vůči E _T (30) použitých rozpouštědel pro cílové sloučeniny.....	44
Obrázek 21 Termogramy cílových sloučenin 47 , 48 a 52 stanovené DSC metodou při skenovací rychlosti 3 °C/min pod inertní atmosférou N ₂	45

Tabulky

Tabulka 1 Indexy aromaticity I ₆ šestičlenných heterocyklů.....	13
Tabulka 2 Příklady akceptorních a donorních skupin s jejich Hammettovými substitučními konstantami σ _p . ^[9]	15
Tabulka 3 HR-MALDI-MS data cílových chromoforů 39 , 40 a 44	41
Tabulka 4 UV-Vis a fotoluminiscenční vlastnosti cílových chromoforů 39 , 40 a 44	42
Tabulka 5 Termální vlastnosti cílových chromoforů 39 , 40 a 44	44

Přílohy

Příloha 1 GC-MS spektrum meziprojektu 44	52
Příloha 2 GC-MS spektrum meziprojektu 45	53
Příloha 3 GC-MS spektrum meziprojektu 50	54
Příloha 4 GC-MS spektrum meziprojektu 51	55

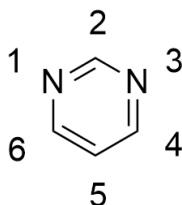
Příloha 5 ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 500 MHz) spektrum chromoforu 47	56
Příloha 6 ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 125 MHz) spektrum chromoforu 47	56
Příloha 7 HR-MALDI-MS spektrum chromoforu 47 , nalezené pro M^+ (nahore), kalkulované pro M^+ (dole).	57
Příloha 8 Normalizovaná emisní spektra a barva emise chromoforu 47 v různých aprotických rozpouštědlech.	58
Příloha 9 ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 400 MHz) spektrum chromoforu 48	59
Příloha 10 ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 125 MHz) spektrum chromoforu 48	59
Příloha 11 HR-MALDI-MS spektrum chromoforu 48 , nalezené pro M^+ (nahore), kalkulované pro M^+ (dole).	60
Příloha 12 Normalizovaná emisní spektra chromoforu 48 v různých aprotických rozpouštědlech.	61
Příloha 13 ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 400 MHz) spektrum chromoforu 52	62
Příloha 14 ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 125 MHz) spektrum chromoforu 52	62
Příloha 15 HR-MALDI-MS spektrum chromoforu 52 , nalezené pro M^+ (nahore), kalkulované pro M^+ (dole).	63
Příloha 16 Normalizovaná emisní spektra a barva emise chromoforu 52 v různých aprotických rozpouštědlech.	64

Seznam zkratek

1PA	jednofotonová absorpce
2PA	dvoufotonová absorpce
A	akceptor
APT	attached proton test
C-C reakce	cross-couplingová reakce
D	donor
DCM	dichlormethan
DSSC	barvívem senzibilizovaný solární článek
ESIPT	intramolekulární přenos protonů v excitovaném stavu
EtOAc	ethylacetát
FRET	Försterův přenos rezonanční energie
HEX	hexan
ICT	vnitřní přenos náboje
NIR	oblast světelného spektra blízko infra-červené oblasti
OFET	organický polem řízený tranzistor
OLED	organická světlo emitující dioda
OPVC	organická fotovoltaiická cela
PET	fotoindukovaný elektronový přenos
S-M	Suzukiho-Miyaurova reakce
TFA	trifenylamin

ÚVOD

Tato bakalářská práce se zaměřuje na syntézu a vlastnosti aryl(styryl)pyrimidinů. Pyrimidin, neboli 1,3-diazin, je nenasycený šestičlenný heterocyklus s dvěma atomy dusíku v polohách 1,3.^[1] Jeho struktura a číslování kruhu jsou uvedeny na *Obrázku 1*.



Obrázek 1 Struktura a číslování pyrimidinového kruhu.

Pyrimidin je formálně odvozen od benzenu záměnou methinových =CH– skupin za atomy dusíku, jejichž přítomnost v molekule významně ovlivňuje vlastnosti. Elektronegativnější atomy dusíku odtahují elektrony z cyklu, v polohách 2, 4 a 6 je snížena elektronová hustota, a tedy usnadněn nukleofilní atak.^[2] Volný elektronový pár atomu dusíku může být protonován nebo může koordinovat atomy a ionty kovů. Oproti pyridinu, jehož pK_a je 5,2, je pyrimidin s hodnotou pK_a 1,3 slabě bazický. Snížení bazicity je způsobeno elektronickými efekty druhého atomu dusíku v pyrimidinovém kruhu^[3] Dusíkaté šestičlenné heterocykly vykazují poměrně vysokou míru aromaticity, což z nich činí vhodnou stavební jednotku push-pull molekul. V porovnání s benzenovým jádrem, redistribuce elektronů v kruhu snižuje jejich aromaticitu, což dokazují nižší hodnoty indexů aromaticity I_6 pro heteroaromáty uvedené v *Tabulce 1*. Počet přítomných atomů dusíku v molekule neovlivňuje významně její aromaticitu, významnější se jeví jejich vzájemná poloha (pyridazin < pyrimidin < pyrazin). Můžeme tedy říci, že čím symetričtější molekula a umístění N atomů, tím je molekula aromatičtější.^[4]

Tabulka 1 Indexy aromaticity I_6 šestičlenných heterocyklů.

Heterocykl	I_6
benzen	100
pyrazin	88,8
pyridin	85,7
pyrimidin	84,3
pyridazine	78,9
pyran-4-thion	47,9
pyran-2-on	32,9

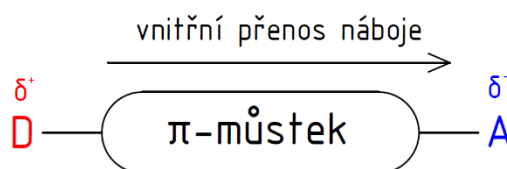
Pyrimidin je součástí velkého množství přírodních látek.^[5] Mezi nejznámější z nich patří thymin, cytosin a uracil – pyrimidinové dusíkaté báze, které jsou stavebními prvky nukleových kyselin a dalších látek nezbytných pro funkci buněk. Proto jsou mnohé pyrimidinové deriváty biologicky aktivní a využívají se ve farmaceutickém průmyslu jako léčiva^[6] či antibiotika^[7].

Díky všem vlastnostem, jimiž pyrimidin disponuje, je vhodným stavebním kamenem k syntézám chromoforů s přesně požadovanými vlastnostmi. I díky tomu je v dnešní organické syntéze pyrimidinu a jeho derivátům věnována značná pozornost.

1. TEORETICKÁ ČÁST

1.1. Push-pull chromofory

Obecně jsou push-pull chromofory sloučeniny složené ze dvou koncových jednotek spojených systémem π -konjugovaných vazeb. Obecná struktura tohoto uspořádání je zobrazena na *Obrázku 2*.



Obrázek 2 Obecná struktura push-pull chromoforu.

Terminální jednotky disponují elektronickými efekty, a to efektem indukčním ($-I/+I$) nebo mezomerním ($-M/+M$). Dle toho, zda daná jednotka do systému elektrony poskytuje, či je z něj čerpá, hovoříme o jednotce donorní (D), resp. akceptorní (A).^[8] Elektronické efekty substituentů lze do jisté míry hodnotit dle Hammetových σ_p substitučních konstant, které jsou pro vybrané donorní a akceptorní jednotky shrnuty v *Tabulce 2*.^[9] Pyrimidin, který má vysoce elektron-deficitní charakter, může být v takovýchto konjugovaných systémech použit jako akceptorní jednotka a tím zajistit intramolekulární přenos náboje. Probíhající ICT (ICT, z angl. *Intramolecular Charge Transfer*) po molekulární kostře může vyvolat luminiscenční vlastnosti.^[10]

Tabulka 2 Příklady akceptorních a donorních skupin s jejich Hammettovými substitučními konstantami σ_p .

Akceptor		Donor	
	σ_p		σ_p
NO ₂	0,78	NH ₂	-0,66
CN	0,66	NPh ₂	-0,22
Pyrimidin-4-yl	0,63	B(OH) ₃ ⁻	-0,44
Pyrimidin-2-yl	0,53	OH	-0,37
Pyridin-2-yl	0,17	Ferrocenyl	-0,18

Další důležitá součást push-pull molekul je π -konjugovaný můstek složený z kombinace násobných vazeb (dvojných a trojných vazeb), heteroaromátů a aromátů. Díky výše zmíněným elektronickým efektům substituentů dochází uvnitř molekuly k přenosu náboje a tím k polarizaci celé molekuly, vzniku dipólu a nového nízkoenergetického molekulového orbitalu.^[8] Push-pull molekuly mohou existovat v mnoha rozličných uspořádáních.

Nejběžnějším uspořádáním co do počtu větví, a tedy prostorového uspořádání celé molekuly, a počtu pólů jsou: (i) lineární D- π -A (dipolární), (ii) bipodální D- π -A- π -D nebo A- π -D- π -A (kvadrupolární) a (iii) tripodální (D- π)-₃-A nebo (A- π)-₃-D (oktupolární). Avšak je možné se setkat i s push-pull systémy uspořádanými do komplexnějších struktur např. H- a X-tvary.^[11]

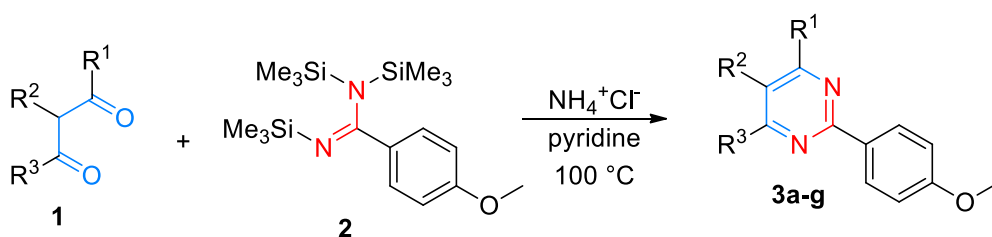
Pyrimidiny a jejich deriváty se využívají k syntézám rozšířených π -konjugovaných systémů s požadovanými vlastnostmi. Tyto sloučeniny většinou mají push-pull charakter a jejich vlastnosti se dají ladit připojením vhodných akceptorních a donorních substituentů.^[10] V podobě polovodičových tenkých vrstev nebo emisivních vrstev jsou obecně push-pull chromofory využívány v organické optoelektronice a elektronice,^[12] vodičích^[13] a fotovoltaice.^[14] Díky velkému rozvoji v těchto odvětvích a zároveň značnému prozkoumání anorganických materiálů, se chromofory využívají v technologii organických světlo emitujících diod (OLED, z angl. *Organic light-emitting diode*)^[15], organických fotovoltaických cel (OPVC, z angl. *Organic photovoltaic cell*)^[16] a barvivem senzibilizovaných solárních článků (DSSC, z angl. *Dye-Sensitized solar cells*).^[17] Dále se staly nezastupitelnými pro odvětví nelineární optiky,^[18] polem řízených organických tranzistorů (OFET, z angl. *Organic field-effect transistor*)^[19] nebo také v oblasti fotochromních a solvatochromních sond.^[20] Jejich absorpční a emisní vlastnosti se využívají v oblasti biozobrazování.^[21]

1.2. Obecné syntézy push-pull chromoforů na bázi pyrimidinu

V literárních zdrojích lze nalézt dva obecné způsoby přípravy konjugovaných derivátů pyrimidinů. Jedním z nich je syntéza pyrimidinové jednotky kondenzačními reakcemi. Při těchto reakcích dochází ke konstrukci heterocyklického jádra spojením jednotek nesoucích požadované substituenty.^[22] Druhý možný způsob se týká funkcionalizace pyrimidinového kruhu. Vychází z předem připraveného heterocyklu, na který jsou následně substituenty zavedeny v přesně daném pořadí.^[23] Výhodou druhého postupu syntézy je větší univerzálnost a využití snadno dostupných materiálů, jako jsou například halogen- (převážně ty, které obsahují chlor), amino- či methylderiváty. Zejména pro cross-couplingové (C-C) reakce jsou halogenderiváty pyrimidinu výbornými výchozími sloučeninami, v nichž snížená elektronová hustota na uhlících C2, C4 a C6 usnadňuje inserci palladia do vazby uhlík-halogen, a tedy není nutné reakce katalyzovat sofistikovanými a drahými katalyzátory.^[24]

1.2.1. Kondenzační reakce vedoucí ke vzniku pyrimidinového kruhu

Prvním příkladem kondenzační reakce vedoucí ke vzniku derivátů **3a–g** je Pinnerova metoda, jejíž podstatou je reakce mezi 1,3-dikarbonylovou sloučeninou **1**, která poskytuje tři atomy uhlíku, a amidinovým (N–C=N) fragmentem **2**. Tato reakce je však v hodná k přípravě relativně málo substituovaných pyrimidinů. V případě více substituovaných derivátů aplikace Pinnerovy metody vyžaduje delší reakční dobu a často vede ke špatným výtěžkům. Z tohoto důvodu jsou vyvíjeny její modifikace k syntéze tri- či tetra- substituovaných sloučenin. Jednou z modifikací je využití silyl-substituovaných amidinů, viz *Schéma 1*.^[22]



3a R¹ = Ph, R² = H, R³ = Ph (83 %)

3b R¹ = Me, R² = H, R³ = Me (89 %)

3c R¹ = 4-MeO-C₆H₄, R² = H, R³ = 4-MeO-C₆H₄ (74 %)

3d R¹ = 4-MeO-C₆H₄, R² = Pr, R³ = 4-MeO-C₆H₄ (42 %)

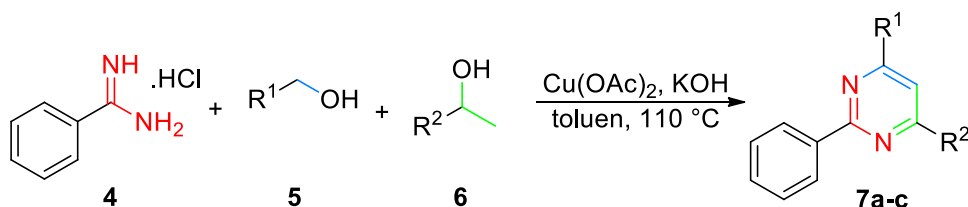
3e R¹ = 4-MeO-C₆H₄, R² = 4-MeO-C₆H₄, R³ = Pr (45 %)

3f R¹ = Me, R² = Et, R³ = Me (78 %)

3g R¹ = Me, R² = 4-MeO-C₆H₄, R³ = Pr (60 %)

Schéma 1 Reakce diketonu a N–C–N fragmentu modifikovanou Pinnerovou metodou.

Dalším příkladem kondenzační reakce je tříložková reakce vedoucí k derivátům **7a–c** (*Schéma 2*). Jedná se o přímou oxidačně-kopulační reakci katalyzovanou mědí mezi amidinhydrochloridem **4**, primárním alkoholem **5** a sekundárním alkoholem **6**. Výhodami reakce jsou dobrá tolerance funkčních skupin a jednoduché provedení, které nevyžaduje ochranu atmosféru inertního plynu, lze použít levný katalyzátor a které je šetrné k životnímu prostředí.^[25]



7a R¹ = 4-MeO-C₆H₄, R² = Ph (85 %)

7b R¹ = 4-MeO-C₆H₄, R² = 4-Me-C₆H₄ (79 %)

7c R¹ = Ph, R² = 4-EtO-C₆H₄ (83 %)

Schéma 2 Tříložková one-pot reakce vedoucí ke sloučeninám **7**.

Jednou z efektivních syntéz vedoucí k pyrimidinovým derivátům **11a–c** je cyklokondenzace chloridů kyselin **8** a terminálních alkynů **9** s amidinovými solemi **10** (Schéma 3). Jedná se o zajímavý přístup k syntéze, a to především z důvodu snadné *in situ* přípravy alkynonů Sonogashirovou cross-couplingovou reakcí chloridu kyseliny **8** s terminálními alkyny **9** a také kvůli spojení moderní metodiky cross-couplingové reakce a klasické Michaelovy adiční cyklokondenzace, která má stále významnou roli v průmyslové výrobě heterocyklických léčiv.^[26]

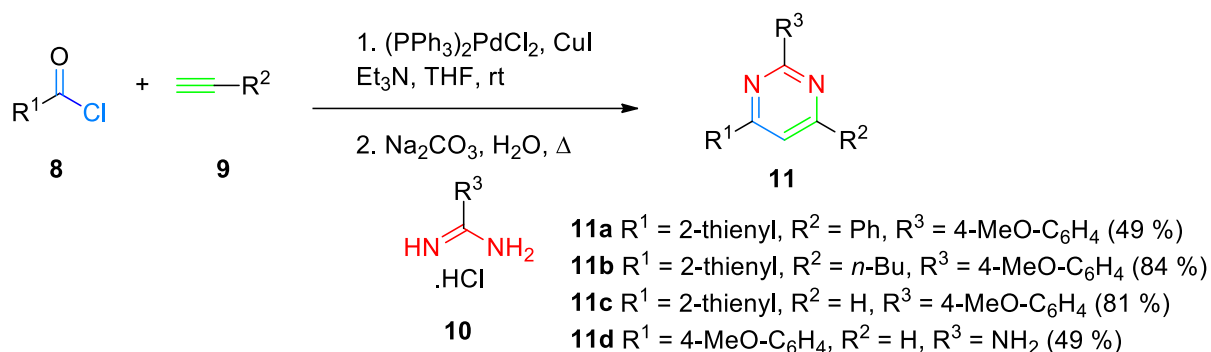


Schéma 3 Syntéza sloučenin **11** reakční sekvencí: Sonogashirova C-C reakce a kondenzace vzniklého alkynonu s amidinem.

Poslední z výčtu příkladů reakcí založených na principu kondenzace vedoucích k derivátům pyrimidinu, je reakce aldehydu **12** s malonnitrilem **13** za vzniku dikyanvinylového meziproductu **14** (Schéma 4). Ten v následujícím kroku reaguje s amidinem **15** za vzniku finálních produktů **16a** a **16b**. Jedná se o Knoevenagelovu kondenzaci a následnou Michaelovu adici v prostředí acetonitrilu za heterogenní katalýzy oxidem hořečnatým. Mezi výhody této syntézy patří jednoduchá příprava katalyzátoru, mírná reakční teplota, snadná regenerace a opětovné použití katalyzátoru, což je výhodné ekologicky i ekonomicky.^[27]

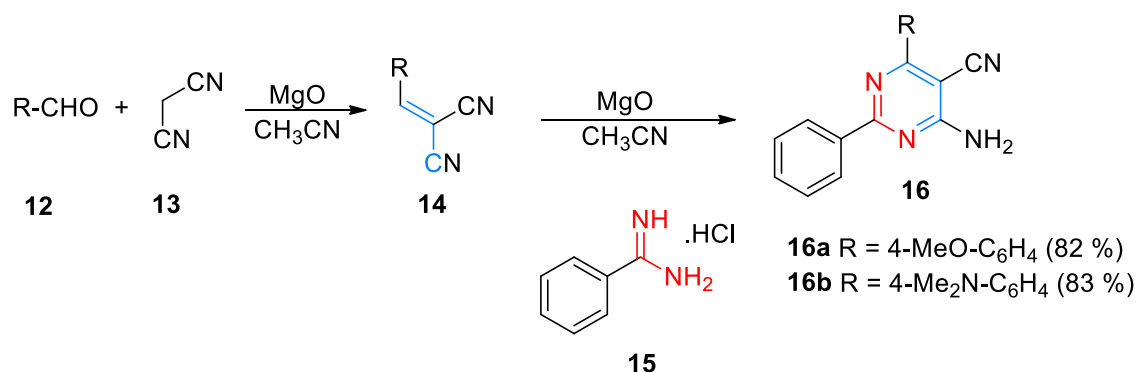
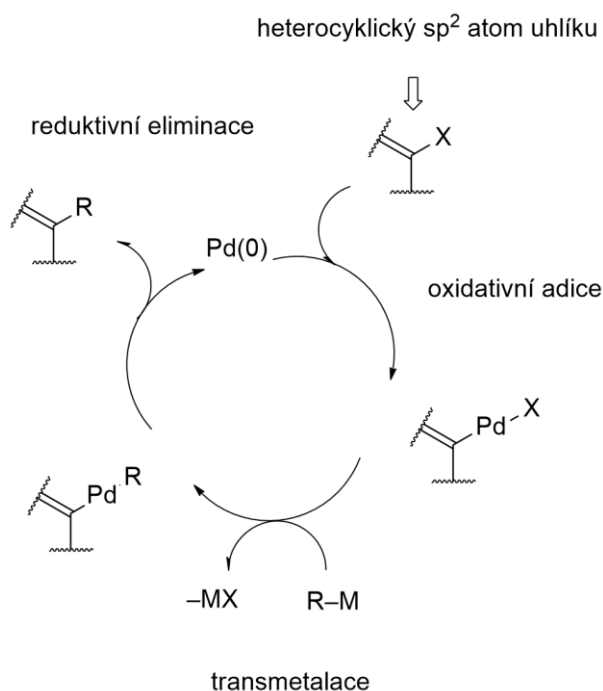


Schéma 4 Syntéza sloučenin **16** Knoevenagelovou kondenzací malonitrilu a aldehydu a následnou Michaelovou adicí amidinu katalyzovanou MgO.

1.2.2. Funkcionalizace pyrimidinového skeletu

Vedle klasické nukleofilní substituce, která má pro syntézu pyrimidinových push-pull derivátů jen limitovaný význam,^[28] jsou pro rozšiřování pyrimidinového kruhu do komplexnějších struktur často využívány cross-couplingové reakce nebo Knoevenagelova kondenzace. Při C-C reakcích dochází k vytvoření kovalentních vazeb uhlík-uhlík či uhlík-heteroatom, nejčastěji kyslík, dusík nebo síra. Pro tento typ reakcí je typická tolerance mnoha funkčních skupin a výběrem reakčních podmínek, jež jsou v porovnání s jinými typy reakcí mírné a lze dosáhnout skvělé stereo- či regioselektivity. Nejčastěji používanými katalyzátory jsou komplexy palladia,^[29] niklu,^[30] mědi^[31] atd. Mechanismus klasických cross-couplingových reakcí sestává ze tří kroků, oxidativní adice, transmetalace a redukční eliminace jak je schématicky zobrazeno na *Obrázku 3*. Během oxidativní adice dochází k vmezeření komplexu přechodného kovu do vazby mezi uhlíkem a heteroatomem a zvýšení oxidačního stavu centrálního atomu kovu. V transmetalacím kroku se přenáší uhlíkový zbytek z organokovového činidla na atom přechodného kovu. Nakonec probíhá redukční eliminace, ve které odstoupí komplex přechodného kovu a vzniká produkt. Oxidační stav atomu kovu se sníží a ten se opět vrací do katalytického cyklu.^[29] Dále bude věnována pozornost jen těm C-C reakcím, jejichž výsledkem je vznik nové vazby mezi dvěma atomy uhlíku. Jsou to např. Suzukiho-Miyaurova,^[32] Sonogashirova,^[33] Negishiho reakce^[34] atd.



Obrázek 3 Mechanismus cross-couplingové reakce katalyzované Pd-(0) komplexem.

Jednotlivé klasické C-C reakce se dělí podle použitého organokovového činidla v transmetalacním kroku. Reakce, kdy je v transmetalacním stupni použito Grignardovo činidlo, je označována jako **Kumadaova-Corriuova reakce**. Při této reakci se používají jako substráty alkyl-, akenyl- a arylhalogenidy za katalýzy komplexy niklu. Jedná se o první obecněji používanou cross-couplingovou reakci. Její výhodou je snadný průběh i za nízkých teplot, ovšem nevýhodou je omezená kompatibilita funkčních skupin s Grignardovými činidly.^{[29][35]} Jediná C-C reakce, v jejímž mechanismu není transmetalacní krok, a nespadá tedy mezi klasické C-C reakce, se nazývá **Mizorokiho-Heckova reakce**. Tato palladiem katalyzovaná reakce organohalogenidů probíhá v prostředí báze za vzniku substituovaných alkenů. Příkladem je reakce 2-chlorpyrimidinu **17** s 4-methoxystyrenem **18** zobrazená na *Schématu 5*.^{[36][37]} Další palladiem katalyzovanou reakcí je **Suzukiho-Miyauraova reakce** alkenyl- či arylboronových sloučenin s alkenyl- a arylhalogenidy elektrofilního charakteru. Výhodou této reakce je snadná dostupnost organoboranů, vysoká tolerance funkčních skupin a nízká toxicita vznikajících borátů. V průběhu reakce je přidávána báze, která aktivuje borany pro transmetalacní krok. Nejčastěji používanými katalyzátory jsou Pd(PPh₃)₄ a PdCl₂(PPh₃)₂ a celá reakce se běžně provádí ve směsích organických rozpouštědel s vodou. Příkladem je reakce halogenderivátu **17** s 4-methoxyfenylboronovou kyselinou **20**, *Schéma 5*.^{[29][32]} Nejčastěji používanou metodou zavádění trojných vazeb do struktur chromoforů je **Sonogashirova reakce**. Tato reakce probíhá v přítomnosti CuI (příp. CuBr), který *in situ* generuje z terminálního alkynu organokuprát, jenž slouží jako organokovové činidlo. Při této reakci se využívá palladiové katalýzy v aminových rozpouštědlech (např. NEt₂H, pyrrolidin, NEt₃) či v jejich směsích s organickými rozpouštědly. Výhodou Sonogashirovy reakce je dobrý průběh i při laboratorní teplotě. Příkladem je reakce sloučeniny **17** s 4-methoxyfenylacetylenem **22** uvedena ve *Schématu 5*.^{[33][29]} **Negishiho reakce** je dalším příkladem palladiem katalyzované reakce, ve které lze s výhodou použít širokého spektra halogenovaných substrátů i organozinečnatých nukleofilů. Touto reakcí je možné spojit alkany, alkeny, aromáty i heteroaromáty. Příkladem je syntéza biarylového derivátu **21**, *Schéma 5*.^[34] Další ze syntéz založených na principu cross-couplingových reakcí je **Stilleho reakce** stannanů s arylhalogenidy. Reakce se využívá k selektivnímu zavedení alkenů a arylů, protože alkylové zbytky podléhají transmetalaci z cínu jen velmi neochotně. Značnou nevýhodou Stilleho reakce je toxicita stannanů.^{[29][38]} Většina těchto reakcí však používá jako elektrofilů nestabilní organické halogenidy nebo trifláty s omezenou odolností v bazických podmínkách. Především tato poslední reakční podmínka může být nevýhodou ovlivňující reakce substrátů citlivých na bazické prostředí. Jako řešení se nabízí použití sirných derivátů v C-C reakcích, známé jako

Liebeskindova-Sroglova reakce. Její největší výhodou jsou snadno dostupné, stabilní výchozí sloučeniny a neutrální reakční podmínky. Příklad této reakce je uveden ve *Schématu 5*.^{[39][40]}

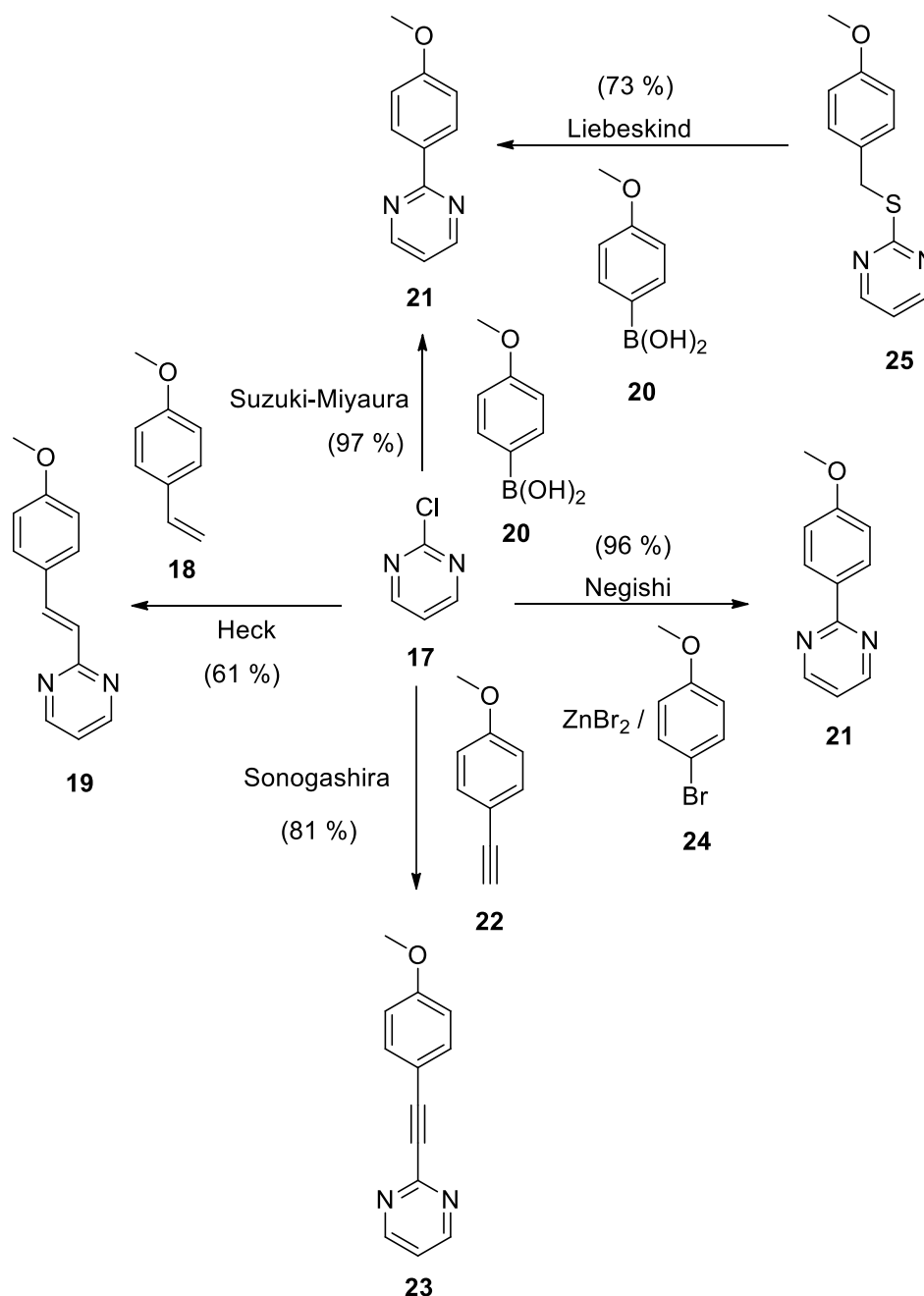


Schéma 5 Příklady cross-couplingových reakcí 2-chlorpyrimidinu 17.

Pozice 2, 4 a 6 pyrimidinového kruhu nejsou z pohledu chemických reakcí rovnocenné, a tedy u cross-couplingových i tradičních nukleofilních reakcí je pozorována selektivita nukleofilních ataků, a to v pořadí 4, 6 a 2. Tento fakt dává ze syntetického hlediska možnost přípravy široké škály přesně definovaných nesymetrických bipodálních a tripodálních derivátů. Příklad selektivity na pyrimidinovém kruhu je demonstrován na *Schématu 6*.^{[23][41]}

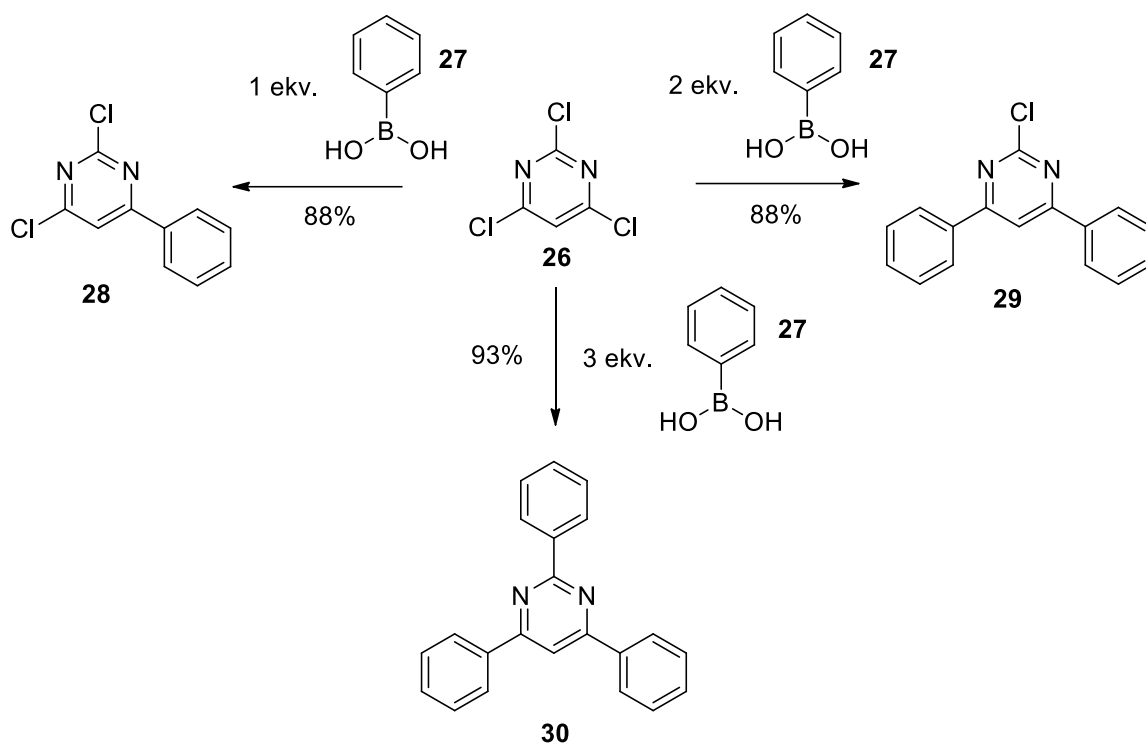


Schéma 6 *Selektivita reakce na 2,4,6–trichlorpyrimidinu vedoucí až k 2,4,6–trifenylpyrimidinu.*

Vedle C-C reakcí je velmi užitečnou syntetickou metodou **Knoevenagelova kondenzace**, jejíž obecný zápis je uveden ve *Schématu 7*. V průběhu této reakce vzniká dvojná vazba mezi karbonylovou skupinou a aktivovanou methylovou či methylenovou skupinou, která obsahující kyselé vodíky.^[42] Knoevenagelova kondenzace má obecné využití a je vhodná pro široké spektrum výchozích látek, protože ji lze provádět ve vodných i nevodných bazických, kyselých i neutrálních rozpouštědlech.

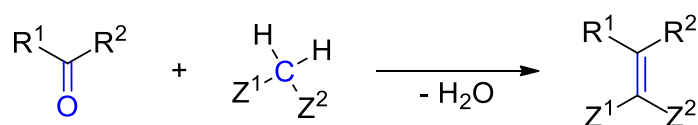


Schéma 7 *Obecná Knoevenagelova kondenzace.*

Kyselost vodíků je zvyšována přítomností elektronakceptorních substituentů Z^1 a Z^2 , např. CN, NO₂. Vliv pyrimidinového jádra zapříčiňuje zvýšení kyselosti vodíků C4 a C6 methylových skupin 4,6-dimethylpyrimidinu a řadí tím tuto molekulu mezi vhodné kandidáty pro Knoevenagelovu kondenzaci. Konkrétním příkladem Knoevenagelovy kondenzace je reakce 4,6-dimethylpyrimidinu s 4-bromobenzaldehydem za vzniku bromovaného produktu **33**, který může být dále rozšířen C-C reakcí, viz *Schéma 8*.^[43]

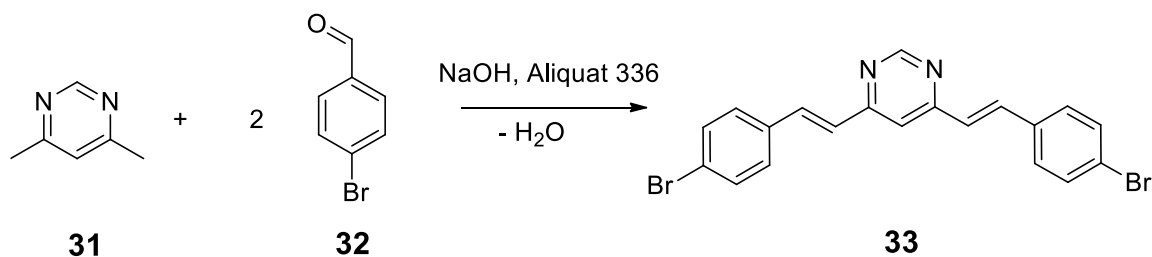
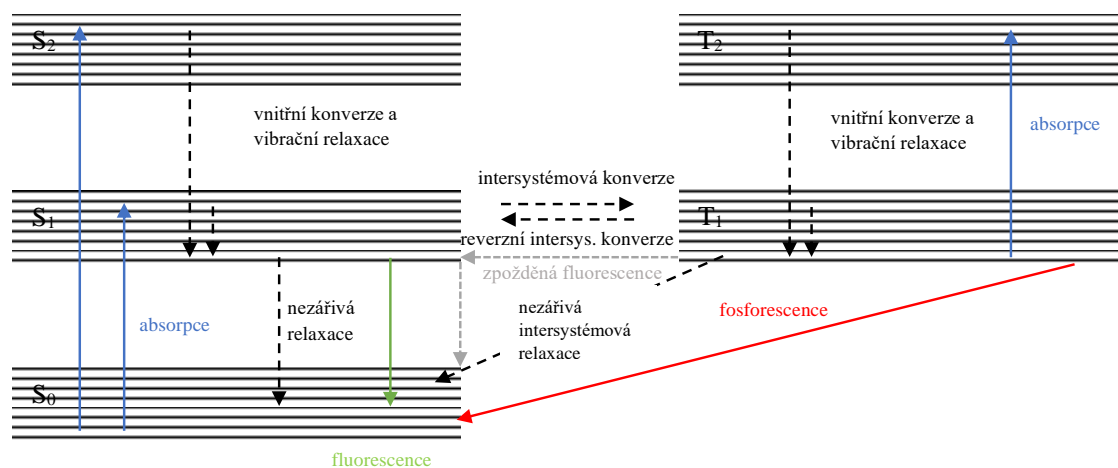


Schéma 8 Knoevenagelova kondenzace vedoucí k 4,6-bis(4-bromostyryl)pyrimidinu.

1.3. Luminiscence

Proces, kdy elektronicky excitovaná molekula vyzařuje fotony z ultrafialové, viditelné či infračervené oblasti spektra, se nazývá *luminiscence* (z latinského *lumen* = světlo).^[44] Luminiscenci lze rozřadit do několika kategorií podle způsobu excitace molekuly, např. biochemické procesy vedou k *bioluminiscenci*, ionizační záření (X-ray, α , β , γ) k *radioluminiscenci*, působení elektrického pole pak k *elektroluminiscenci* atd. V následujících kapitolách bude probírána *fotoluminiscence*, kde k excitaci molekuly dochází absorpcí světla. Po absorpci světla (fotonu) je molekula excitována do vyšších energetických hladin (S_1 , S_2 , $S_3\dots$), ze kterých se vrací na základní hladinu S_0 ztrátou energie zářivými nebo nezářivými pochody. Zářivými pochody označujeme *fluorescenci*, při které dochází k přechodu z S_1 hladiny (případně z vyšších S hladin), a *fosforescenci*, kdy molekula de-excituje z hladiny T_1 na základní hladinu S_0 . Přechod S_X-T_X , tzv. *intersystémová konverze*, je sice spinově zakázán, ale dochází k němu ve chvíli, kdy jsou si hladiny S_X a T_X energeticky blízké. V tomto případě může docházet i k obrácenému přechodu (T_X-S_X), tzv. *reverzní intersystémové konverzi*, a pokud tomuto přechodu následuje zářivá de-excitace S_1-S_0 , označuje se tento fenomén jako *zpožděná fluorescence*. Výše uvedené přechody jsou pro ilustraci schematicky uvedeny na Obrázku 4.



Obrázek 4 Perrinův-Jablonskiho diagram zářivých a nezářivých přechodů při fotoluminiscenci.

Energie emitovaného záření je dána jak strukturou samotné molekuly, tak vlastnostmi okolního prostředí. Tohoto faktu využívá analytická chemie v široké škále kvalitativních i kvantitativních analýz (např. detekce drog v kriminalistice, analýza koncentrace proteinů v potravinářském průmyslu, fluorescenční imunoeseje atd.) Velmi důležitým analytickým nástrojem jsou i tzv. fluorescenční sondy, které reagují na fyzikálně-chemické změny ve svém okolí a používají se od stanovení vlastností roztoků (pH, polarita, viskozita, ionty atd.) až po detekci přítomnosti specifických látek (radiace, výbušniny).^[45]

1.4. Biozobrazování

Obecně se pojem biozobrazování týká neinvazivních metod, které vizualizují biologické procesy a struktury v reálném čase. Biozobrazování lze použít ke studiu široké škály biologických vzorků od virů, buněk až po celé tkáně. Často se využívá k získání informací o trojrozměrné struktuře pozorovaného objektu, a to ve vysokém rozlišení a bez nutnosti fyzického zásahu zvenčí. V současnosti je známo mnoho biozobrazovacích technik, jako je např. radiografie, rentgenové a ultrazvukové zobrazování či zobrazování magnetickou rezonancí. Tyto techniky jsou zaměřené především na strukturální a anatomické zobrazení na úrovni tkání či orgánů, což je užitečné, ale k detekci, screeningu a následné léčbě nemocí je třeba rozšířit biozobrazování právě na úroveň buněčné a molekulární biologie, o což se starají optické metody např. laserová skenovací mikroskopie, fluorescenční mikroskopické metody, optická koherenční tomografie apod. Nadále bude v této kapitole věnována pozornost technikám využívající fotoluminiscenci. Při biozobrazování těmito technikami je nutné použít vhodné značkovací látky, které mají schopnost luminiscence a moderní mikroskopické vybavení.^[46]

Zjednodušeně lze obecný princip biozobrazování popsat jako charakteristickou interakci vybrané sondy se zkoumaným materiálem, jež po ozáření způsobí detekovatelnou změnu v emisním chování. Tyto změny se odehrávají ve viditelné nebo blízké červené (NIR, z angl. *Near Infra Red*) oblasti spektra. Typickými fluorescenčními sondami pro biozobrazování jsou fluorescenční proteiny, organická barviva nebo nanočástice. Většinu lze použít k zobrazování biologických makromolekul např. molekuly DNA, proteiny apod., na základě interakcí s vysokou afinitou typu akceptor-ligand či antigen-protilátka. Relativně obtížné je docílit citlivého a selektivního monitorování konkrétních iontů, aminokyselin, či malých neutrálních molekul v živých organismech. Příčinou je proměnlivost jejich nábojů, vazebných míst a koncentrací. K překonání těchto problémů se využívá látek s vysokou specifitou vůči zkoumanému systému. Ty jsou schopné tzv. host-hostitel interakcí, které způsobí změnu

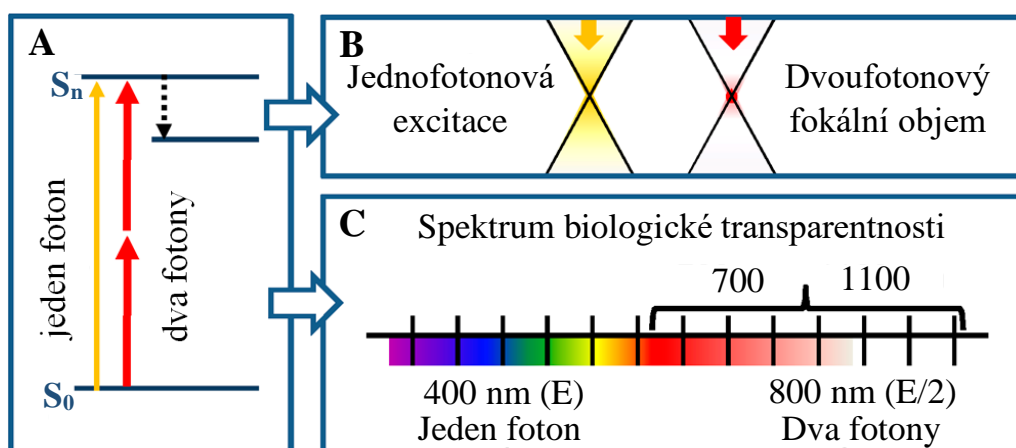
v emisních vlastnostech použité sondy. Rozlišujeme dva typy těchto interakcí. První typ je nekovalentní a reverzibilní interakce, kterou je možné za specifických podmínek přerušit. Indikátor je v tomto případě označován jako chemosenzor. Je-li vazebná interakce založena na nevratné chemické reakci, jedná se o druhý typ indikátoru nazývaný chemodozimetr.

Využívanými chemodozimetry jsou organické fluorofory. Je známo, že emisní vlastnosti těchto molekul lze ladit dle potřeby, a to různými způsoby. Jedním ze základních kritérií na vlastnosti fluorescenčních chemodozimetrů je jasně definovaná a detekovatelná změna emisního chování sondy po kontaktu s pozorovaným analytem (kvantový výtěžek fluorescence, její životnost a intenzita a vlnová délka). Prvním příkladem z možných způsobů ovlivňující emisní vlastnosti chemodozimetrů je rozsah jeho π -konjugovaného systému. Téměř všechny organické fluorescenční sloučeniny jsou aromatické. Změnou konjugovaného systému lze tedy obecně změnit emisní vlastnosti. Avšak nejčastějším mechanismem vedoucím ke změně emisních vlastností sond je tzv. fotoindukovaná změna vnitřního přenosu náboje. Většina známých chemodozimetrů jsou molekuly na bázi push-pull systémů s vnitřním přenosem náboje. Laděním D- π -A systému (změna D a A substituentů a rovněž složení a délka π -můstku) lze dosáhnout vyhovujících vlastností chemodozimetrů k biozobrazování. Dalšími mechanismy k ladění emisních vlastností sond jsou např. fotoindukovaný elektronový přenos (PET), Försterův přenos rezonanční energie (FRET), intramolekulární přenos protonů v excitovaném stavu (ESIPT) atd.^[47]

Základními překážkami optického biozobrazování jsou: vysoký rozptyl světla, autofluorescence a vysoká absorpce světla biologickým materiálem (hemoglobinem) ve střední části UV-Vis spektra. V *in-vivo* biozobrazování se tedy využívá především sond schopných excitace po ozáření fotony z NIR oblasti spektra (650–900 nm), kde dochází k nižší absorpci biologickým materiálem a tím pádem hlubšímu průniku do tkání. V závislosti na použité vlnové délce je tedy možné dosáhnout různých hloubek průniku. Lze říci, že čím jasnější emisní vlastnosti činidlo vykazuje, tím méně excitačního světla je zapotřebí. S tím souvisí i minimální ohřev látek, po kontaktu s tímto druhem světla, a jejich případná degradace. Dalšími požadovanými vlastnostmi, které by měl chemosenzor/dozimetr vhodný k biozobrazování mít, jsou např. fungování na principu zapnutí/vypnutí fluorescence, dobrá rozpustnost ve vodě, nízká cytotoxicita, vysoká selektivita, citlivost a rychlá odezva.^{[21][47]}

V posledních letech je pozornost věnována další kategorii metod a tou jsou nelineární optické metody. Jasnou výhodou použití nelineárních optických efektů je lepší prostorové

rozlišení.^[48] Dvoufotonová absorpce, patřící do této skupiny metod, je velký fenomén v oblasti biozobrazování. Při tomto jevu absorbuje molekula (atom či iont) dva fotony, což vede k jejímu vybuzení do excitovaného stavu, přičemž nárůst energie systému je roven součtu energií obou fotonů. Hlavní rozdíl mezi absorpcí jednoho fotonu (1PA) a absorpcí dvou fotonů (2PA) spočívá v tom, že 2PA zahrnuje současnou interakci dvou fotonů. Tím se zvyšuje s druhou mocninou intenzita světla, zatímco 1PA závisí na intenzitě světla lineárně. To je důvod, proč je 2PA pozorován pouze u intenzivních laserových paprsků, zejména pulzních laserů, které generují velmi vysokou okamžitou hustotu fotonů. Absorbované fotony pochází typicky z NIR spektrální oblasti a jsou schopny vybuzením molekuly do excitovaného stavu vyvolat intenzivní fluorescenci fluoroforu ve viditelné oblasti spektra. Díky tomuto jevu tedy k emisní odpovědi postačuje hluboko pronikající nízkoenergetické záření, a proto je s tak značnou oblibou v biozobrazování využíváno.^[49]



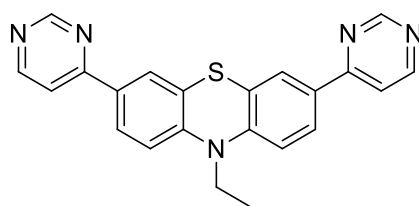
Obrázek 5 Princip dvoufotonové absorpce.^[50]

(A) Simultánní dvoufotonová absorpce; (B) Srovnání excitačního objemu 1PA vs 2PA; (C) Dvoufotonová absorpce umožňuje posunutí excitace UV–viditelných fluoroforů v NIR oblasti v rámci spektra biologické transparentnosti. Energie každého fotonu v rámci dvoufotonové absorpce je poloviční ($E/2$) ve srovnání s energií v klasické absorpci (E).

1.5. Biologické aplikace

1.5.1. Fluorescenční sondy

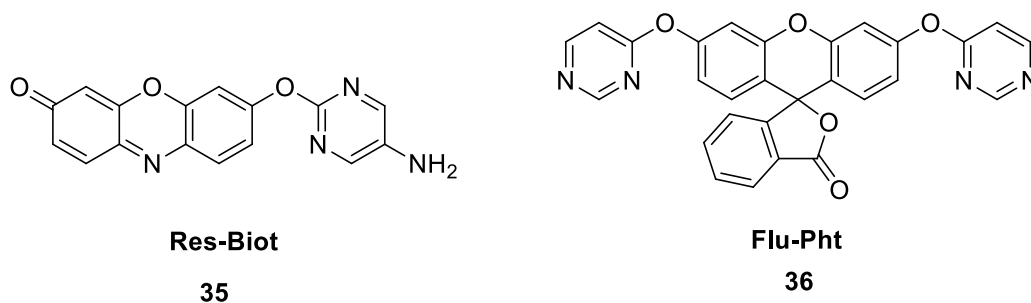
Fluorescenční sondy jsou obecně molekuly, které absorbují světlo o specifické vlnové délce a emitují světlo o jiné (většinou delší) vlnové délce. Používají se ke studiu biologických struktur, procesů, mechanismů atd. Tyto molekuly, také známé jako fluorofory, mají tři typy využití. Ty nejjednodušší jsou používány jako markery neboli poziční značky, např. při imunofluorescenčním značení, vitálním barvení organel apod. Jejich úlohou je pouze signalizovat přítomnost a umístění v systému spíše než odrážet vlastnosti prostředí. Druhý typ aplikace fluorescenčních sond zahrnuje připojení fluoroforu k makromolekule, která má být ze systému „vyčištěna“, pro snímání jejích konformačních změn. Třetí oblast využívající fluorescenci k pozorování je použití fluoroforů pro snímání membránového potenciálu a koncentrací malých molekul nebo iontů v organelách, buňkách nebo tkáních.^[51] Fluorescenční sondu založenou na třetím principu vyvinul Weng a kolektiv. Konkrétně se jedná o multifunkční fluorescenční sondu na bázi pyrimidin-4-yl derivátu PzDPM **34** (Obrázek 6) k detekci nebezpečných iontů (Hg^{2+} , Cu^{2+} , ClO^-) způsobující např. neurodegenerativní onemocnění, kardiovaskulární choroby či rakovinu.^[52]



34

Obrázek 6 Fluorescenční sonda k detekci nebezpečných iontů.

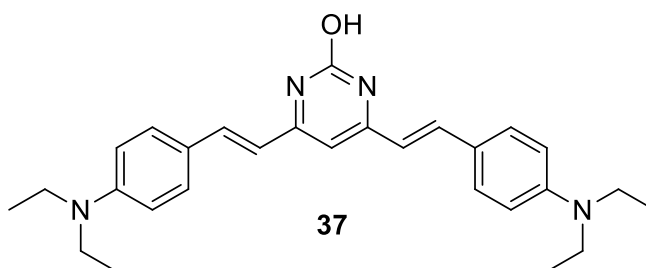
Také Xie a kolektiv syntetizovali fluorescenční sondy s pyrimidinovým motivem (Obrázek 7). Tyto deriváty odvozené od běžných fluorescenčních barviv jako je fluorescein (Flu-Pht) **36** či resorufin (Res-Biot) **35** je možné využít jako fluorescenční sondy pro biothiol a thiofenol v živých systémech. Po implementaci pyrimidinového kruhu do molekul fluorescenčních barviv je totiž možné využít specifické reakce mezi pyrimidinovou skupinou s detekovanými látkami.^[53]



Obrázek 7 *Struktury fluorescenčních sond Res-Biot a Flu-Pht k detekci biotiolua thiofenolu.*

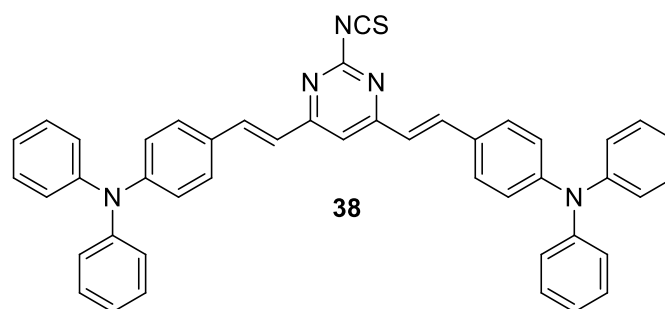
1.5.2. 2PA fluorescenční sondy

2PA aktivní materiály, jejichž obecné vlastnosti jsou popsány v kapitole 1.4., mají nezastupitelnou roli v oblasti biozobrazování. Obecně se předpokládá, že molekuly obsahující donorní a akceptorní substituenty spojené π -můstkem disponují dobrými 2PA vlastnostmi. Pyrimidin, jež vykazuje vysokou afinitu k elektronům a dobrou planaritu, je vhodným stavebním blokem při konstrukci těchto 2PA biozobrazovacích materiálů. Dále pak má pyrimidinový kruh vhodnou reaktivitu v polohách 4 a 6, které se mohou snadno podrobit reakci např. s aromatickým aldehydem, a tím na pyrimidinový kruh zavést vhodný substituent. To poskytuje velký potenciál pro vytvoření ideálních fluorescenčních sond s optimalizovanou reaktivitou a specifitou. Wang a kolektiv v důsledku těchto úvah syntetizovali řadu mono-, di- a hexa-rozvětvených derivátů pyrimidinu. Jeden z cílových derivátů **37** (Obrázek 8) vykazoval skvělé 2PA vlastnosti, nízkou cytotoxicitu a vysokou permeabilitu do živých buněk, což z něj činí ideální dvoufotonovou fluorescenční sondu.^[54]

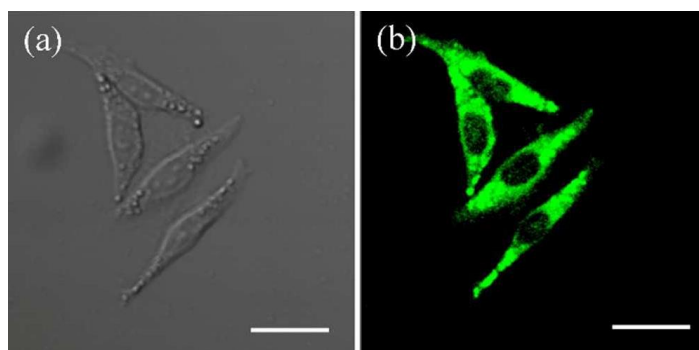


Obrázek 8 *Struktura 2PA fluorescenční sondy na bázi pyrimidinu.*

Yang a kolektiv vyvinuli jednoduchou metodu pro syntézu sondy s D- π -A- π -D strukturou **38** (Obrázek 9), která je schopna konjugovat s aminoskupinami na biomolekulách. Tato dvoufotonová fluorescenční sonda založená na pyrimidinu obsahující elektronakceptorní skupinu $-N=C=S$ má tedy dobré potenciální využití při biozobrazování (Obrázek 10).^[55]



Obrázek 9 Struktura 2PA sondy založené na pyrimidin-2-isothiokyanátu.



Obrázek 10 Obrazy diferenciálního interferenčního kontrastu (a) a dvoufotonové fluorescenční mikroskopie (b) Hep G2 buněk inkubovaných s 2PA sondou po dobu 15 minut.^[55]

1.5.3. pH sondy

Je známo, že hodnota pH je jedním z nejdůležitějších parametrů svědčícím o acidobazické rovnováze systému. Správná hodnota pH je klíčovým faktorem mnoha chemických, biochemických a biologických procesů jako jsou např. proliferace buněčných membrán, apoptóza a metabolismus. Abnormální hodnoty pH mohou ovlivnit fyziologické procesy, což může vést k závažným onemocněním, včetně rakoviny či Alzheimerovy choroby. Vývoj vysoce citlivé a selektivní metody pro měření pH má tedy velký potenciál. Doposud bylo vyvinuto množství technik pro snímání pH, včetně elektrochemie, chemiluminiscence, kolorimetrie a fluorescenční spektroskopie.^[56] Pyrimidin je díky svým acidobazickým vlastnostem vhodnou stavební molekulou ke konstrukci chromoforů pro optické senzory a materiály reagující na změny pH.^[57] Například arylvinylpyrimidiny vykazují dramatickou a reverzibilní změnu barvy a luminiscence, která se mění po přidání kyseliny.^[58] Tento jev je způsoben protonací atomů dusíku diazinového kruhu, viz *Schéma 9* a *Obrázek 11*.^[41]

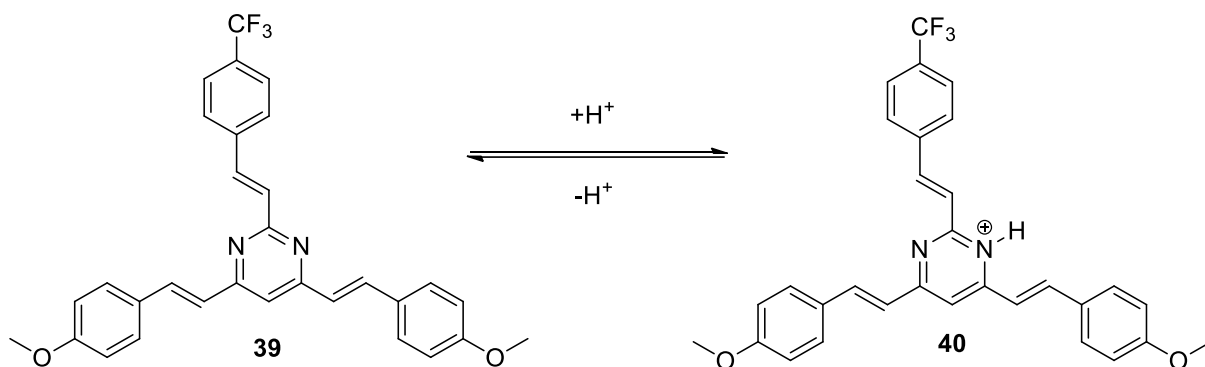
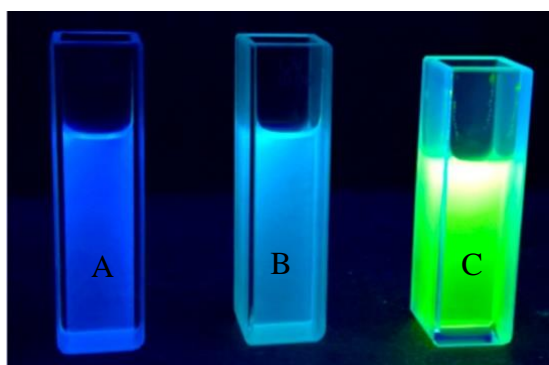
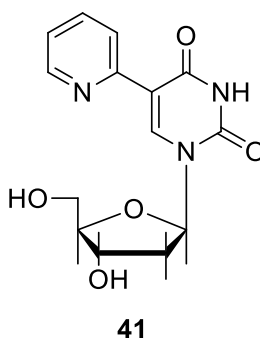


Schéma 9 Protonace derivátu **39** vedoucí k naprotonovanému **40**.



Obrázek 11 Změna barvy roztoku látky **39** v CH_2Cl_2 (A) ($c = 0,9642 \times 10^{-5} \text{ M}$): (A) neutrální roztok; po přidání 0,8 ekv. (B) a 50 ekv. (1S)-(+)-10-kafirsulfonové kyseliny (C). Snímek byl pořízen ve tmě po ozáření ruční UV lampou při 366 nm.^[41]

Většina sond reaguje převážně na jednu specifickou poruchu, která v ideálním případě vede buď k detekovatelným změnám emisní intenzity, nebo k posunům vlnové délky. Existují však i sondy schopné snímat změnu pH, viskozity a polaritu najednou. Příkladem je sonda na bázi pyrimidinu vzniklá konjugací pyridinové skupiny s pyrimidinovým jádrem (Obrázek 11), jež je specificky citlivá na změny ve výše zmíněných veličinách.^[59]



Obrázek 12 Struktura multisenzorické sondy na bázi pyrimidinu.

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1. Obecné metody

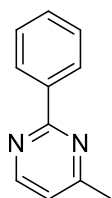
Rozpouštědla a činidla použitá při syntéze byla zakoupena od firem Aldrich, Fluka nebo Penta a byla použita bez dalšího čištění. Suchý THF byl vždy čerstvě destilován z Na/K slitiny a difenylmethanonu pod inertní atmosférou argonu. Použitá rozpouštědla byla odpařována na odparce Heidolph Laborota 4001. Cross-coupling reakce byly prováděny na vakuum–inertní lince ve Schlenkových baňkách. Sloupcová chromatografie byla prováděna na silikagelu (SiO₂ 60, velikost částic 0,040–0,063 mm, Merck) a za použití komerčně dostupných rozpouštědel. Tenkovrstvá chromatografie byla prováděna na aluminiových destičkách potažených silikagelem SiO₂ 60 F₂₅₄ (Merck) s vizualizací pomocí UV lampy (254 nebo 360 nm). Body tání byly stanoveny v otevřených kapilárách na přístroji Buchi B–540. ¹H a ¹³C NMR spektra byla měřena v CDCl₃ při 25 °C na přístroji Bruker AVANCE III při frekvencích 400/100 MHz a Bruker Ascend™ při frekvencích 500/125 MHz pro ¹H resp. ¹³C spektra. Chemické posuny jsou uvedeny v jednotkách ppm relativně k signálu Me₄Si. Reziduální signály rozpouštědel byly použity jako vnitřní standard (CDCl₃ – 7,25 a 77,23 ppm pro ¹H– resp. ¹³C–NMR spektra). Interakční konstanty (*J*) jsou uvedeny v Hz. Pozorované signály jsou popsány jako s (singlet), d (dublet) a m (multiplet). Hmotová spektra byla měřena na GC/EI–MS konfiguraci sestávající z plynového chromatografu Agilent Technologies 6890N (HP–5MS délka kolony 30 m, I.D. 0.25 mm, film 0.25 μm) opatřeného hmotovým detektorem Network MS detector 5973 (EI 70 eV, rozsah 33–550 Da) a na GC/EI–MS konfiguraci sestávající z plynového chromatografu Agilent 7890B Series GC Custom (HP–5MS délka kolony 30 m, I.D. 0.25 mm, film 0.25 μm). Hmotnostní spektra s vysokým rozlišením byla měřena metodou „dried droplet“ pomocí MALDI hmotnostního spektrometru LTQ Orbitrap XL (Thermo Fisher Scientific) vybaveného dusíkovým UV laserem (337 nm, 60 Hz). Spektra byla měřena v režimu pozitivních iontů, v normálním hmotnostním rozsahu s rozlišením 100 000 při *m/z* = 400. Jako matrice byla použita *trans*-2-[3-(4-*tert*-butylfenyl-2-methyl-2-propenyliden]malononitril (DCTB). Absorpční a emisní spektra byla měřena na fluorescenčním a absorpčním spektrometru Duetta™ HORIBA. Emisní spektra byla zaznamenána po excitaci při vlnové délce nejdélejšího absorpčního pásu. Termální vlastnosti cílových molekul byly měřeny diferenční skenovací kalorimetrií DSC na přístroji Mettler–Toledo STARe System DSC 2/700 opatřeným keramickým senzorem FRS 6 a chladícím systémem HUBER TC100–MT RC 23. Termální chování cílových molekul bylo měřeno v otevřených hliníkových kelímcích pod atmosférou N₂. DSC křivky byly stanoveny při skenovací rychlosti 3 °C/min v rozmezí

25 až 500 °C. Teploty tání a rozkladu byly odečteny v místě průsečíku základní linie DSC křivky a tangenty daného píku (onset bod).

2.2. Obecná metoda pro Suzukiho–Miyaurovu cross–couplingovou reakce

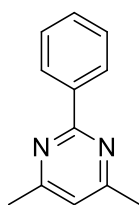
Ve Schlenkově baňce byl smíchán halogenderivát **42**, **43** nebo **49** (1 ekv.) a odpovídající fenyloboronová kyselina **27** (1 nebo 1,2 ekv.) v THF/H₂O 25 ml 4:1. Roztok byl 10 minut probubláván argonem, aby byl zbaven kyslíku. Poté byl přidán Na₂CO₃ (1 nebo 1,2 ekv.) a Pd(PPh₃)₄ (0,02 ekv.). Reakční směs byla zahřívána na teplotu 65 °C přes noc. Reakce byla ochlazena na laboratorní teplotu a naředěna nasyceným vodným roztokem NH₄Cl (15 ml), extrahována DCM (3 × 15 ml), spojené organické extrakty byly vysušeny bezvodým Na₂SO₄, zfiltrovány a odpařeny na vakuové odparce. Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂; 8:2 nebo 7:3, HEX:EtOAc).

2.2.1. 2-Fenyl-4-methylpyrimidin (**44**)



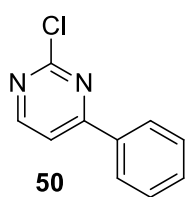
Sloučenina **44** byla připravena dle obecné metody z 2-chlor-4-methylpyrimidinu **42** (257 mg, 2 mmol, 1 ekv.) a fenyloboronové kyseliny **27** (293 mg, 2,4 mmol, 1,2 ekv.) Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂; HEX:EtOAc, 7:3). Bylo získáno 110 mg (32 %) bílo-žluté krystalické látky. B. t. = 69,9–71,5 °C. (lit.^[60] 21–22 °C) $R_f = 0,6$ (SiO₂; HEX:EtOAc, 7:3). ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 400 MHz): $\delta = 8.64$ (d, ³J_{H,H} = 8 Hz, 1H, Pyr), 8.45–8.43 (m, 2H, Ph), 7.50–7.47 (m, 3H, Ph), 7.05 (d, ³J_{H,H} = 8 Hz, 1H, Pyr), 2.59 (s, 3H, CH₃) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 125 MHz): $\delta = 167.49$, 164.58, 157.01, 138.01, 130.73, 128.74, 128.33, 118.83, 24.64 ppm. MS–EI (70 eV): $m/z = 170.1$ [M⁺], 155.1, 129, 103, 76, 51.

2.2.2. 2-Fenyl-4,6-dimethylpyrimidin (**45**)



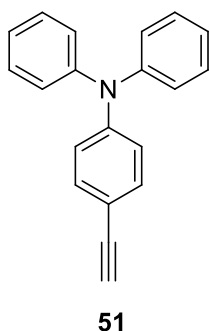
Sloučenina **45** byla připravena dle obecné metody z 2-chlor-4,6-dimethylpyrimidinu **43** (285 mg, 2 mmol, 1 ekv.) a fenyloboronové kyseliny **27** (293 mg, 2,4 mmol, 1,2 ekv.) Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂; HEX:EtOAc, 8:2). Bylo získáno 200 mg (53 %) bílo-žluté krystalické látky. B. t. = 74,3–78 °C (lit.^[61] 74,3–75,4 °C). $R_f = 0,6$ (SiO₂; HEX:EtOAc, 8:2). ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 400 MHz): $\delta = 8.43$ –8.41 (m, 2H, Ph), 7.50–7.44 (m, 3H, Ph), 6.93 (s, 1H, Pyr), 2.54 (s, 6H, 2×CH₃) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 125 MHz): $\delta = 166.96$, 164.37, 138.30, 130.46, 128.65, 128.38, 118.20, 24.38 ppm. MS–EI (70 eV): $m/z = 184.1$ [M⁺], 169.1, 103, 92.1, 77.1, 51.

2.2.3. 2-Chlor-4-fenylpyrimidin (50)



Sloučenina **50** byla připravena dle obecné metody z 2,4-dichlorpyrimidinu **49** (298 mg, 2 mmol, 1 ekv.) a fenylboronové kyseliny **27** (244 mg, 2 mmol, 1 ekv.). Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂; HEX:EtOAc, 8:2). Bylo získáno 244 mg (64 %) bílé krystalické látky. B. t.= 87,9–89,1 °C (lit.^[62] 87,7–88,2 °C). $R_f = 0,4$ (SiO₂; HEX:EtOAc, 8:2). ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 400 MHz): $\delta = 8.63$ (d, ³J_{H,H} = 8 Hz, 1H, Pyr), 8.10–8.07 (m, 2H, Ph), 7.65 (d, ³J_{H,H} = 8 Hz, 1H, Pyr), 7.57–7.49 (m, 3H, Ph) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 125 MHz): $\delta = 167.32, 162.01, 159.95, 135.20, 132.04, 129.25, 127.56, 115.27$ ppm. MS–EI (70 eV): $m/z = 190.1$ [M⁺], 155.1, 129.1, 102.1, 77.1, 51.1.

2.3. 4-Ethynyl-*N,N*-difenylanilin (51)

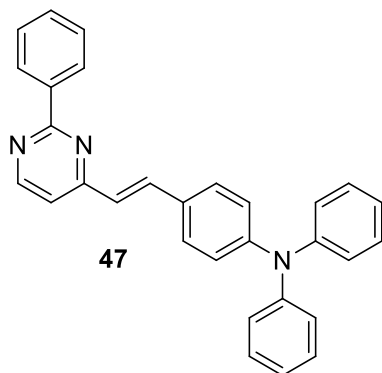


Do Schlenkovy baňky byl předložen *t*-butoxid draselný (*t*-BuOK) (2244 mg, 20 mmol, 4,05 ekv.) 40 ml bezvodého THF. Roztok byl ochlazen na –78 °C, 10 min míchán a probubláván argonem. Následně byl třemi přidavky přidán (chlormethyl)trifenylfosfonium chlorid (2743 mg, 7,9 mmol, 1,6 ekv.). Reakční směs byla míchána 2 h při teplotě v rozmezí –78 až –68 °C. Poté byl po kapkách přidán 4-*N,N*-(difenylamino)benzaldehyd **46** (1350 mg, 4,94 mmol, 1 ekv.) rozpuštěný v 10 ml THF a reakční směs byla hodinu míchána při teplotě –78 °C. Reakce byla pomalu ohřáta na laboratorní teplotu a po 48 h zastavena přidavkem nasyceného vodného roztoku NH₄Cl (15 ml) a 3M roztoku HCl (15 ml) a extrahována do EtOAc (3 × 25 ml). Spojené organické extrakty byly vysušeny bezvodým Na₂SO₄, zfiltrovány a odpařeny na vakuové odparce. Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂; 5:1, HEX:DCM). Bylo získáno 450 mg (34 %) bílo-žluté krystalické látky. B. t.= 102,9–104,8 °C (lit.^[63] 102–103 °C). $R_f = 0,4$ (SiO₂; HEX:DCM, 5:1). ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 500 MHz): $\delta = 7.35$ –7.33 (m, 2H, Ph), 7.30–7.27 (m, 4H, Ph), 7.12–7.06 (m, 6H, Ph), 6.99–6.97 (m, 2H, Ph), 3.04 (s, 1H, ethynyl) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 125 MHz): $\delta = 148.47, 147.23, 133.19, 129.55, 125.17, 123.77, 122.16, 114.82, 84.05, 73.31$ ppm. MS–EI (70 eV): $m/z = 269.1$ [M⁺], 191.1, 165.1, 77.1, 51.1.

2.4. Obecná metoda pro Knoevenagelovu kondenzaci

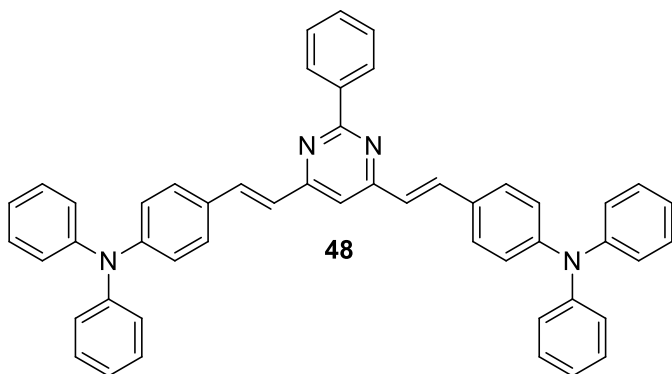
Ve varné baňce s kulatým dnem obsahující 5M vodný roztok NaOH (15 ml) a aliquat 336 (0,1 ekv.) byl smíchán aldehyd **46** (1 ekv.) a odpovídající methylpyrimidin **42** nebo **43** (1 ekv. nebo 0,5 ekv.). Reakční směs byla zahřívána (110 °C) pod refluxem 3 h a pak ochlazena na laboratorní teplotu. Sraženina byla přefiltrována, promyta vodou a čištěna sloupcovou chromatografií (SiO₂; DCM).

2.4.1. 2-Fenyl-4-[(4-*N,N*-difenylamino)styryl]pyrimidin (**47**)



Sloučenina **47** byla připravena dle obecné metody z 2-fenyl-4-methylpyrimidinu **44** (119 mg, 0,7 mmol, 1 ekv.) a 4-*N,N*-(difenylamino)benzaldehydu **46** (191 mg, 0,7 mmol, ekv.). Bylo získáno 95 mg (32 %) žluté krystalické látky. B. t.= 125 °C. $R_f = 0,6$ (SiO₂; DCM). ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 500 MHz): $\delta = 8.71$ (d, ³ $J_{H,H} = 5$ Hz, 1H, Pyr), 8.52–8.50 (m, 2H), 7.95 (d, ³ $J_{H,H} = 15$ Hz, 1H, vinyl), 7.51–7.48 (m, 5H), 7.30–7.27 (m, 4H), 7.13–7.15 (m, 5H), 7.09–7.05 (m, 4H), 6.99 (d, ³ $J_{H,H} = 15$ Hz, 1H, vinyl) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 125 MHz): $\delta = 164.56, 162.97, 157.67, 149.18, 147.33, 138.22, 136.83, 130.74, 129.63, 129.36, 128.92, 128.72, 128.41, 125.32, 123.88, 122.53, 116.31$ ppm (signál jedné CH skupiny nebyl nalezen). UV-Vis (CH₂Cl₂): $\lambda_{max} (\epsilon) = 399$ nm (15840 dm³ mol⁻¹ cm⁻¹). HR_MALDI-MS (DCTB) m/z : kalkulováno pro C₃₀H₂₃N₃ ([M⁺]): 425,18865; nalezeno: 425,18722 ($\Delta = 3,4$ ppm).

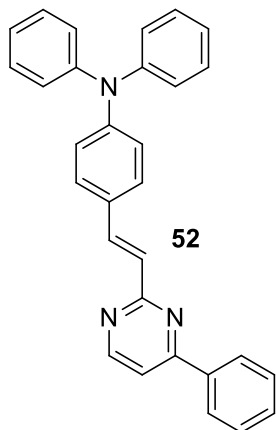
2.4.2. 2-Fenyl-4,6-bis[(4-*N,N*-difenylamino)styryl]pyrimidin (**48**)



Sloučenina **48** byla připravena dle obecné metody z 2-fenyl-4,6-dimethylpyrimidinu **45** (120 mg, 0,65 mmol, 0,5 ekv.) a 4-*N,N*-(difenylamino)benzaldehydu **46** (356 mg, 1,3 mmol, 1 ekv.). Bylo získáno 286 mg (82 %) žluté krystalické látky. B. t.= 111 °C. $R_f = 0,9$ (SiO₂; DCM). ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 500 MHz): $\delta = 8.60$ –8.58 (m, 2H), 7.96 (d, ³ $J_{H,H} = 15$ Hz, 2H vinyl), 7.50–7.49 (m, 6H), 7.30–7.27 (m, 8H), 7.15–7.13 (m, 10H), 7.09–7.05 (m, 8H), 7.01 (d, ³ $J_{H,H} = 15$ Hz, 2H vinyl) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 125 MHz): $\delta = 164.32, 163.31, 149.02, 147.43, 138.71, 136.17, 130.53, 129.76, 129.62, 128.85, 128.60, 125.29, 124.61, 123.81, 122.69, 113.94$ ppm (signál jedné CH skupiny nebyl nalezen).

UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{\max} (ϵ) = 426 nm (45320 dm³ mol⁻¹ cm⁻¹). HR-MALDI-MS (DCTB) m/z : kalkulováno pro C₅₀H₃₈N₄ ([M⁺]): 694,30910; nalezeno: 694,30734 (Δ = 2,5 ppm).

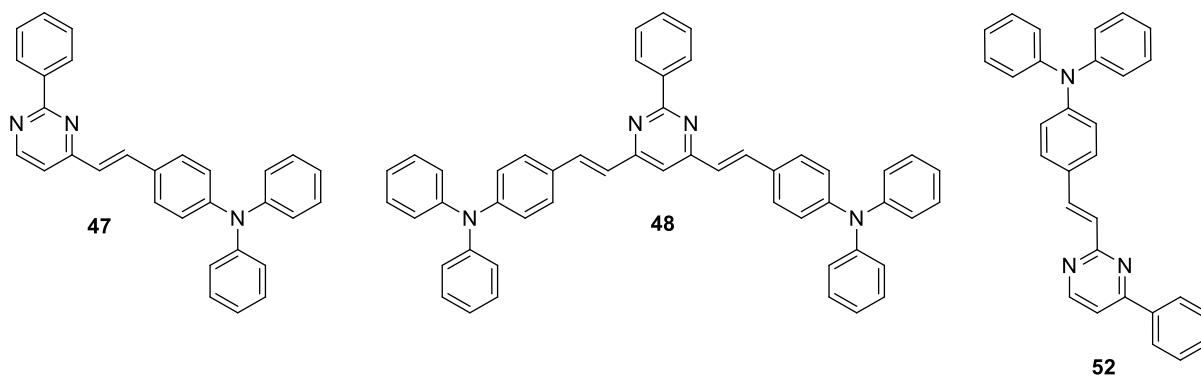
2.5. 2-[(4-*N,N*-Difenylamino)styryl]-4-fenylpyrimidin (**52**)



Sloučenina **52** byla připravena one-pot hydroborací a následnou Suzukiho–Miyauraovo reakcí. Do Schlenkovy baňky byl předložen 4-ethynyl-*N,N*-difenylanilin **51** (178 mg, 0,66 mmol, 1,2 ekv.), rozpuštěn v bezvodém THF (20 ml) a roztok byl 10 min probubláván argonem. Do roztoku byl přidán první přídavek katecholboranu (1,1 ml, 1,1 mmol, 2 ekv.). Směs byla míchána 2 h při 60 °C. Poté byl přidán druhý přídavek katecholboranu (0,55 ml, 0,55 mmol, 1 ekv.). Směs byla opět míchána 2 h při 60 °C. Dále byla reakční směs ochlazená na laboratorní teplotu. Byly přidány 2-chlor-4-fenylpyrimidin **50** (105 mg, 0,55 mmol, 1 ekv.) a Pd (PPh₃)₄ (16 mg, 0,04 mmol, 0,07 ekv.). Roztok byl probublán argonem 10 min a míchán do úplného rozpuštění pevných látek, přibližně 20 min. Poté byl přidán 20% vodný roztok Na₂CO₃ (5 ml) a reakce byla zahřívána na 65 °C po dobu 15 h. Následně byla reakční směs ochlazená a zředěna DCM (20 ml). Organická vrstva byla promyta vodou (3 × 20 ml), solankou (20 ml), oddělena, sušena bezvodým Na₂SO₄, zfiltrována a odpařena na vakuové odparce. Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂; 8:2, HEX:EtOAc). Bylo získáno 103 mg (44 %) žluté krystalické látky. B. t. = 108 °C. R_f = 0,3 (SiO₂; 8:2, HEX:EtOAc). ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 400 MHz): δ = 8.72 (d, ³ $J_{H,H}$ = 5 Hz, 1H, Pyr), 8.14–8.13 (m, 2H), 8.03 (d, ³ $J_{H,H}$ = 16 Hz, 1H, vinyl), 7.51–7.44 (m, 7H), 7.29–7.26 (m, 3H), 7.19 (d, ³ $J_{H,H}$ = 16 Hz, 1H, vinyl), 7.14–7.11 (m, 4H), 7.07–7.04 (m, 4H) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 125 MHz): δ = 165.44, 164.13, 157.74, 148.90, 147.45, 137.78, 137.29, 131.05, 129.88, 129.60, 129.17, 128.88, 127.42, 125.81, 125.24, 123.72, 122.72, 114.12 ppm. UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{\max} (ϵ) = 390 nm (24020 dm³ mol⁻¹ cm⁻¹). HR-MALDI-MS (DCTB) m/z : kalkulováno pro C₃₀H₂₃N₃ ([M⁺]): 425,18865; nalezeno: 425,18750 (Δ = 2,7 ppm).

3. VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílové chromofory **47**, **48** a **52** se liší polohou a počtem difenylaminostyrylových jednotek a polohou fenylní skupiny. Zatímco finální deriváty **47** a **52** mají podobu D- π -A push-pull molekul, látka **48** má dvojrámenné uspořádání D- π -A- π -D. Cílem této práce je zjistit vliv polohy *N,N*-difenylaminové donorní jednotky na vlastnosti cílových chromoforů, zejména pak na jejich emisní chování.



Obrázek 13 Struktury cílových chromoforů **47**, **48** a **52**.

3.1. Syntéza cílových chromoforů

Cílové deriváty **47** a **48** byly syntetizovány dvoukrokovou reakční sekvencí, viz *Schéma 10*. Prvním krokem byla Suzukiho-Miyauraova cross-couplingová reakce mezi fenyloboronovou kyselinou **27** a 2-chlor-4-methylpyrimidinem **42**, respektive 2-chlor-4,6-dimethylpyrimidinem **43**, katalyzovaná $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ poskytující meziproducty **44** ve výtěžku 32 % a **45** ve výtěžku přes 53 %. Nižších výtěžků bylo dosaženo jelikož v obou případech bylo nutné opakovat sloupcovou chromatografii k úplnému oddělení meziproductů od produktu homocouplingu. Druhým krokem pak byla Knoevenagelova kondenzace v silně bazickém prostředí vodného roztoku NaOH s alikvatem 336 jako katalyzátorem fázového přenosu. Reakce vycházející z meziproductu **44** s jednou aktivovanou methyl skupinou vedla k cílovému chromoforu **47** s *N,N*-difenylaminostyrylovou větví v poloze 4 pyrimidinového jádra ve výtěžku 32 %. Obdobně pak dvojnásobná Knoevenagelova kondenzace mezi 4,6-dimethyl derivátem **45** a aldehydem **46** poskytla dvouramenný produkt **48** s výtěžkem převyšujícím 80 %. V obou případech Knoevenagelovy kondenzace vznikala výhradně dvojná vazba v uspořádání *trans*. Větší množství cílového chromoforu **47** bylo ztraceno při jeho čištění. Byla provedena sloupcová chromatografie (SiO_2 ; DCM) a následná rekrystalizaci ze systému rozpouštědel DCM/HEX (1:1), což nebylo příliš účinné, proto byla provedena další sloupcová chromatografie s jinou mobilní fází (SiO_2 ; 7:1, HEX:EtOAc).

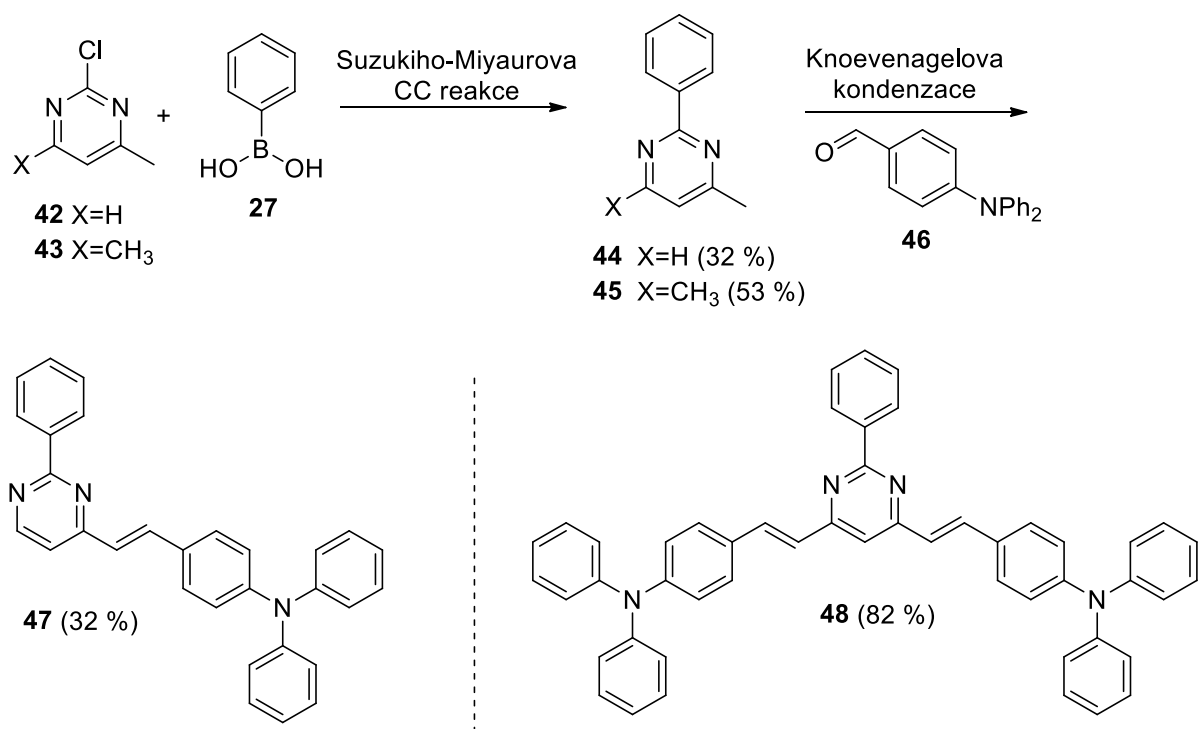


Schéma 10 Syntéza cílových chromoforů 47 a 48.

Příprava posledního chromoforu **52** sestávala ze tří reakcí: syntézy dvou meziproductů a jejich spojení za vzniku cílového derivátu (Schéma 11). První meziproduct **50** byl připraven Suzukiho-Miyaurovou cross-couplingovou reakcí. Reakce probíhala stereoselektivně do polohy 4 pyrimidinového kruhu ve výtěžku 64 %. Terminální alkyň **51** byl připraven ve výtěžku 34 % reakcí mezi aldehydem **46** a (chlormethyl)trifenylfosfonium chloridem poskytujícím druhý uhlíkový atom vznikající trojné vazby. Finální reakcí vedoucí k chromoforu **52** byla one-pot dvoukroková reakce mezi meziproducty **50** a **51**. Prvním krokem byla generace vinyl-boron esteru reakcí katecholboranu s terminálním alkyňem **51**. Po převedení veškerého alkyňu na odpovídající boron-derivát byla do reakční směsi přidána sloučenina **50** a $\text{Pd(PPh}_3)_4$ katalyzátor a proběhla S-M cross-couplingová reakce mezi zmíněnými meziproducty **50** a **51**. Celkový výtěžek obou kroků vedoucí k cílovému chromoforu **52** činil 44 %.

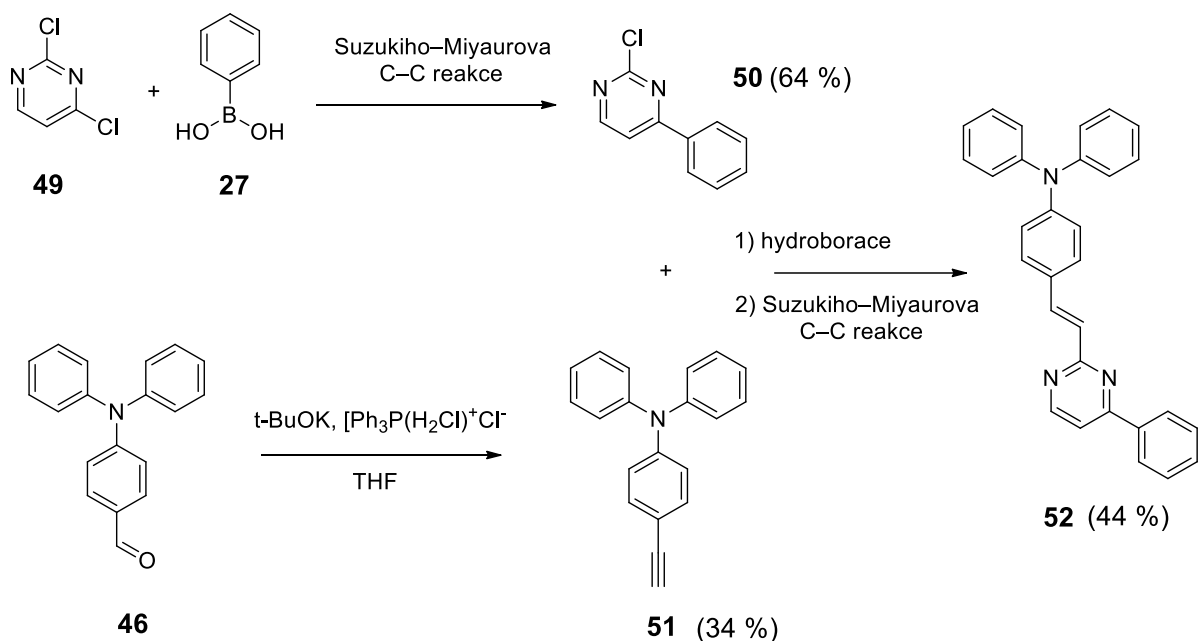
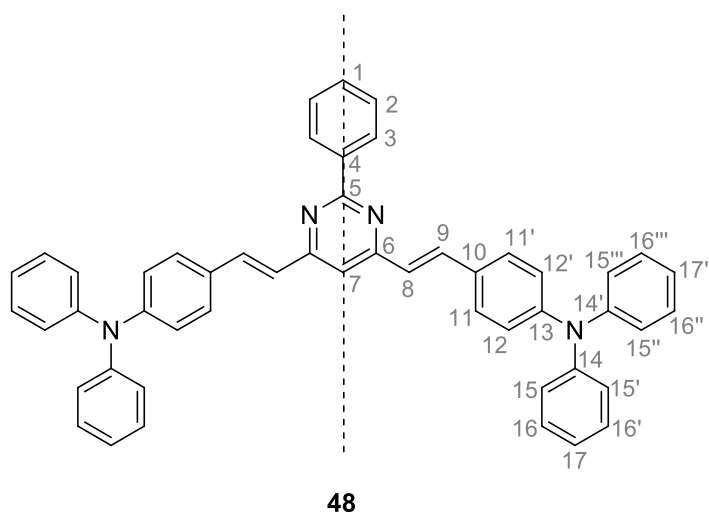


Schéma 11 Syntéza cílového chromoforu 52.

3.2. Strukturní analýza

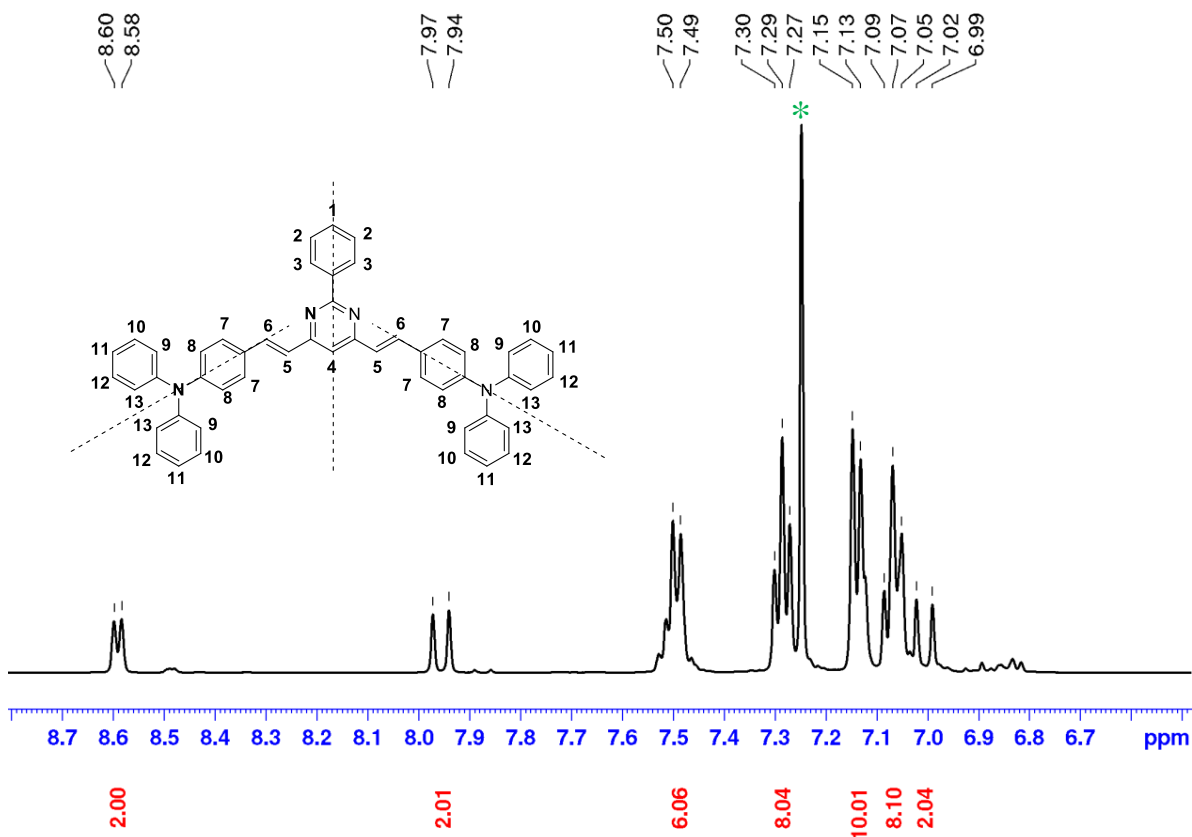
Struktura a čistota cílových derivátů **47**, **48** a **52** byly ověřeny pomocí tenkovrstvé chromatografie, ^1H a ^{13}C NMR spektroskopie a HR-MALDI-MS spektry. Dále bylo provedeno měření UV-Vis spektroskopii a diferenční kompenzační kalorimetrií (DSC). Výsledky analýz vybraného cílového chromoforu **48** (Obrázek 14) budou diskutovány níže. Spektra zbývajících cílových sloučenin jsou uvedena v přílohách.



Obrázek 14 Struktura cílového chromoforu 48.

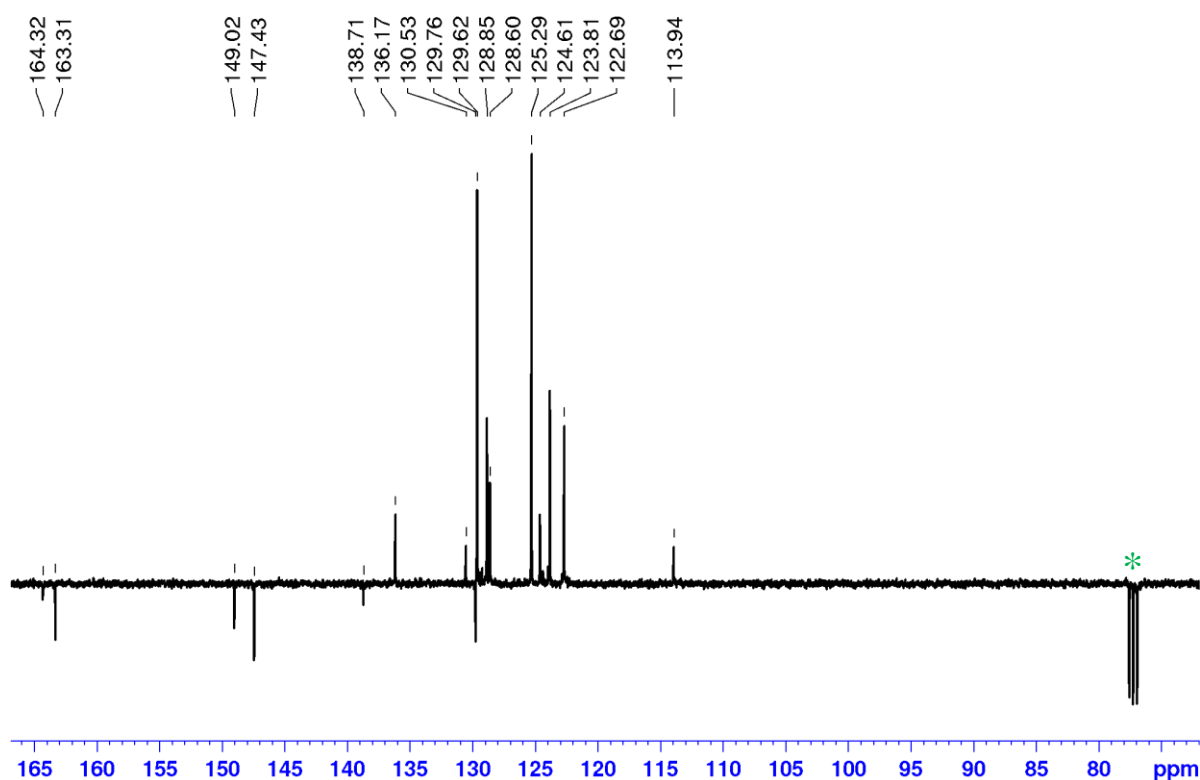
3.2.1. Nukleární magnetická rezonance

NMR spektra byla měřena při 25 °C v CDCl₃ na přístrojích Bruker AVANCE 500 a 400. Pro názornou ukázkou výsledků strukturní analýzy byla zvolena sloučenina **48** disponující rovinou symetrie a lokální symetrií typickou pro 4-substituovaný TFA. Důsledkem čehož je ¹H NMR spektrum zjednodušeno a obsahuje signály s integrální hodnotou, která je dvoj-, čtyř- nebo osminásobkem očekávané, což je na *Obrázku 14* naznačeno shodnými čísly s apostrofy. *Obrázek 15* ukazuje výřez aromatické oblasti ¹H spektra derivátu **48**, kde hvězdičkou je označen signál reziduálního CHCl₃ deuterovaného rozpouštědla. Úzkému dubletu podobný signál s největší frekvencí odpovídá dvěma vodíkům 3 fenylové jednotky a jeho posun je dán odstíněním elektronakceptorním vlivem pyrimidinového kruhu. S posunem k vyššímu poli nalézáme dublet dvou vodíků 5 dvojně vazby s interakční konstantou ³J_{H,H} = 15 Hz potvrzující, že vodíky dvojně vazby jsou v uspořádání *trans* (*E*). Signálem s nejvyšším stíněním je dublet zbylých dvou vodíků 6 dvojně vazby v okolí 7 ppm s identickou interakční konstantou 15 Hz. Ostatní signály by bylo s dostatečnou jistotou možné přiřadit pouze po provedení dvoudimenzionální NMR analýzy. V ¹H NMR spektrech cílových derivátů **47** a **48**, které jsou zahrnuty v přílohách, pozorujeme ještě dva dublety s interakční konstantou 5 Hz náležící dvěma vodíkům pyrimidinového heterocyklu.



Obrázek 15 ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 500 MHz) spektrum chromoforu **48**.

Uhlíková spektra syntetizovaných látek byla měřena metodou APT (z angl. *Attached proton test*), která umožňuje rozlišit primární a terciární atomy uhlíků od sekundárních a kvarterních, jejichž signály jsou ve spektru ve stejném směru od základní linie jako signál CDCl_3 rozpouštědla. *Obrázek 16* ukazuje spektrum sloučeniny **48** s šesti signály orientovanými směrem dolů, které patří kvarterním uhlíkům 4, 5, 6, 10 a 14/14'. Signály orientované směrem nahoru patří methylenovým uhlíkovým atomům benzenových jader, pyrimidinu a dvojných vazeb. Jeden $-\text{CH}=\text{}$ signál v ^{13}C spektrech sloučenin **47** a **48** chybí, což je nejspíše způsobeno náhodným překryvem dvou signálů magneticky neekvivalentních uhlíkových jader, ke kterému u komplexnějším molekul mnohdy dochází.

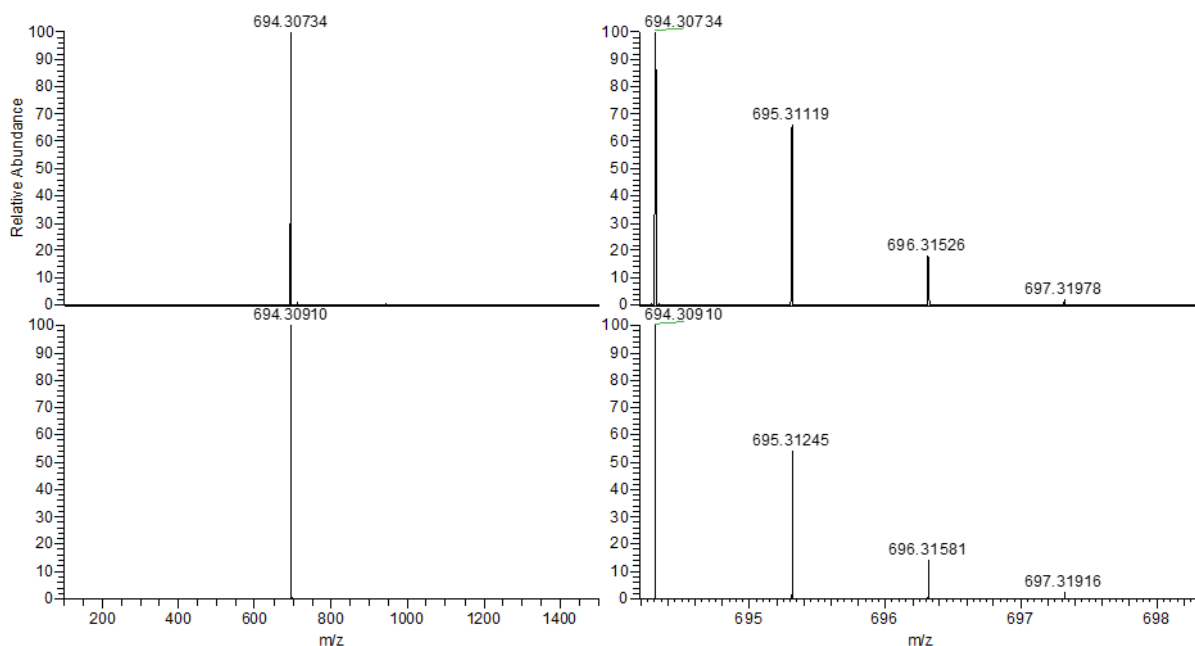


Obrázek 16 ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 500 MHz) spektrum chromoforu **48**.

3.2.2. HR-MALDI-MS

HR-MALDI-MS spektra s vysokým rozlišením byla měřena metodou „dried droplet“ na přístroji *LTQ Orbitrap XL* (Thermo Fisher Scientific). Jako matrice byl použit *trans*-2-[3-(4-*tert*-butylfenyl)-2-methyl-2-propenyliden]malononitril (DCTB), organická látka bez kyselých vodíků, aby nedocházelo k protonaci pyrimidinu. Spektrum cílové sloučeniny **48**, zobrazené na *Obrázku 17*. Vlevo je změřené a pod ním predikované spektrum programem Xcalibur,^[64] vpravo pak pouze výřezy z obou spekter. Levá strana *Obrázku 17* ukazuje, že při měření byl detekován výhradně M^+ iont bez aduktů, štěpení či nečistot. Na pravé straně

je ukázán výřez spektra izotopového paternu, který je shodný se spektrem predikovaným. Totožné výsledky byly naměřeny i pro zbylé dva cílové chromofory.



Obrázek 17 HR-MALDI-MS spektra sloučeniny **48**: experimentální (nahore), predikovaná (dole), výřez spekter (vpravo).

V Tabulce 3 jsou srovnány kalkulované a nalezené m/z hodnoty pro všechny tři cílové chromofory. Lze pozorovat shodu mezi nalezenými a kalkulovanými daty v limitu do 4 ppm. Z pohledu HR-MALDI-MS analýzy odpovídají cílové sloučeniny svým sumárním vzorcům a lze považovat strukturu za prokázanou.

Tabulka 3 HR-MALDI-MS data cílových chromoforů **47**, **48** a **52**.

Sloučenina	Kalkulováno pro M^+ [Da]	Nalezeno pro M^+ [Da]	Odchylka [ppm]
47	425,18865	425,18722	3,36
48	694,30910	694,30734	2,53
52	425,18865	425,18750	2,70

3.3. Fotofyzikální vlastnosti

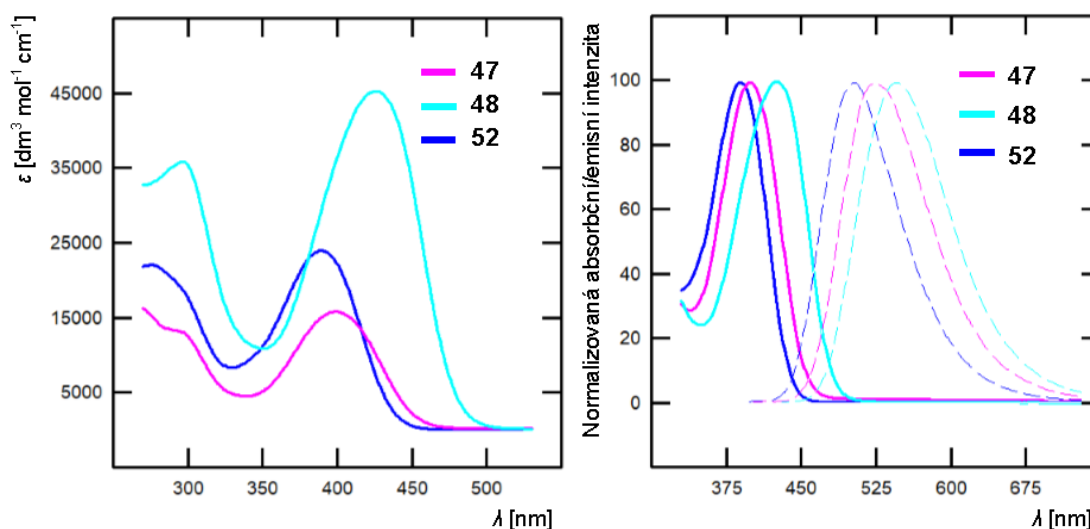
K měření UV-Vis absorpčních spekter a fotoluminiscenčních vlastností byly namíchány roztoky cílových chromoforů **47**, **48** a **52** v DCM o koncentraci přibližně 1×10^{-5} mol.l⁻¹. Emisní spektra byla zaznamenána po excitaci při vlnové délce nejdélnějšího absorpčního pásu. Fluorescenční kvantové výtěžky byly určeny vzhledem k standardu 9,10-bisfenylethynylantracenu v cyklohexanu ($\Phi_F = 1,00$).^[65] Výsledky měření, absorpční

maxima $\lambda_{\max}(\text{abs})$ a k nim odpovídající molární absorpční koeficienty $\epsilon_{\max}(\text{abs})$, emisní maxima $\lambda_{\max}(\text{em})$ a fluorescenční kvantové výtěžky Φ_F , jsou shrnuty v *Tabulce 4*.

Tabulka 4 UV-Vis a fotoluminiscenční vlastnosti cílových chromoforů **47**, **48** a **52**.

Sloučenina	$\lambda_{\max}(\text{abs})$ [nm]	$\epsilon_{\max}(\text{abs})$ [dm ³ .mol ⁻¹ .cm ⁻¹]	$\lambda_{\max}(\text{em})$ [nm]	Φ_F
47	399	15800	519	0,71
48	426	45300	543	0,73
52	390	24000	502	0,73

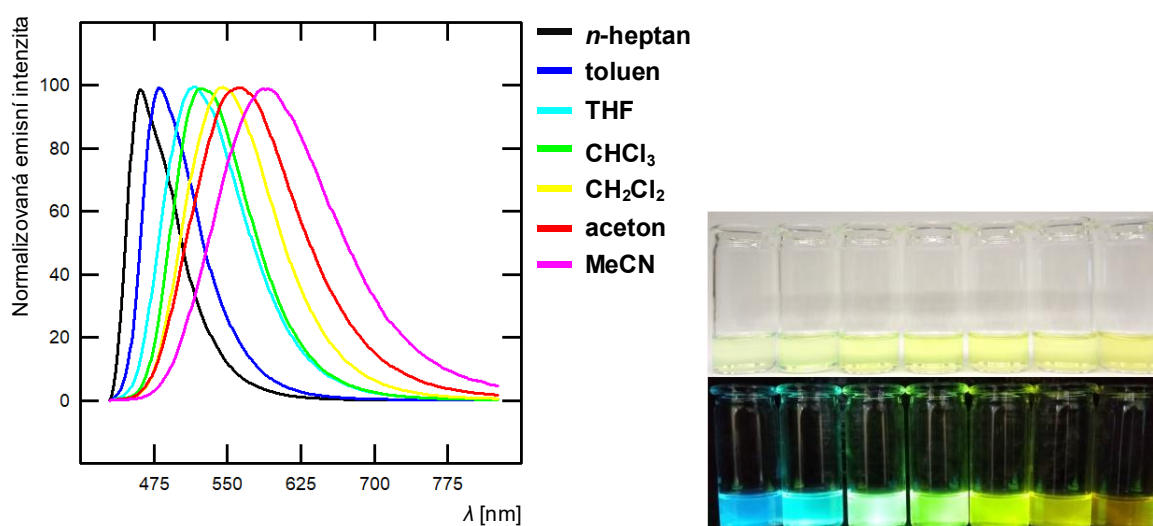
Na *Obrázku 18* jsou uvedena absorpční a emisní spektra jako závislost molárního absorpčního koeficientu na vlnové délce (vlevo) a normalizovaná absorpční i emisní spektra (vpravo) všech cílových derivátů. Nejdélouhovější absorpční pás chromoforu **52** $\lambda_{\max}(\text{abs}) = 390$ nm je nejvíc hypsochromně posunut z celé série. Změna polohy donorní skupiny z pozice C2 pyrimidinu (**52**) do polohy C4 (**47**) měla za následek bathochromní posun CT pásu o 9 nm, což je dáno vyšší akceptorní silou pyrimidin-4-ylu v porovnání s pyrimidin-2-ylem (viz hodnoty σ_p v *Tabulce 2*, kapitola 1.1). Zavedení další (*N,N*-diphenylamino)styrylové větve na pyrimidinový kruh způsobilo posun CT pásu o téměř 30 nm bathochromně, což je běžně pozorovaný fenomén pro větvené push-pull chromofory s pyrimidinovým akceptorem.^[41] Tato strukturální změna měla vliv i na molární absorpční koeficient, který se dvakrát zvýšil v porovnání s derivátem **47**, z důvodu rozšíření π -konjugovaného systému. Stejný trend pak můžeme pozorovat i na poloze emisních pásů, kde dochází k bathochromnímu posunu v řadě: **52** (502 nm), **47** (519 nm) a **48** (543 nm).



Obrázek 18 UV-Vis spektra (vlevo) a normalizovaná absorpční a emisní spektra (vpravo) cílových chromoforů **47**, **48** a **52** měřené v DCM, $c=1 \times 10^{-5}$ mol.l⁻¹.

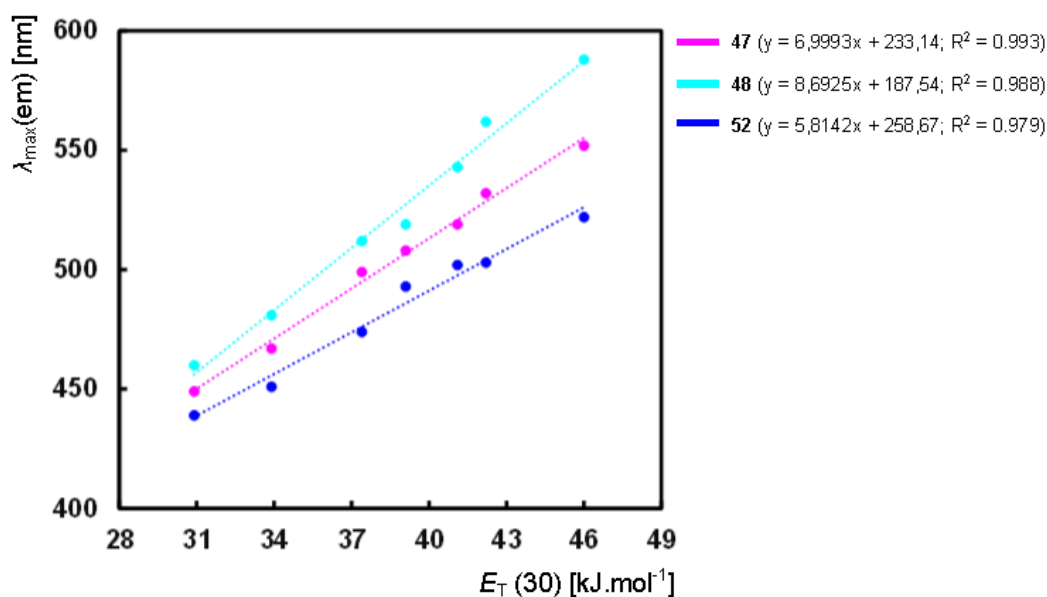
Pro všechny cílové deriváty byly měřeny jejich fluorescenční kvantové výtěžky v DCM při laboratorní teplotě srovnávací metodou vůči standardu. Fluorescenční kvantový výtěžek může nabývat maximální hodnoty 1,00 a jedná se poměr určující kolik z celkového množství excitovaných molekul se vrací na základní hladinu (relaxuje) zářivými pochody. Hodnoty jsou uvedené v *Tabulce 4* a pro všechny chromofory mají téměř stejnou hodnotu v rozmezí $\Phi_F = 0,71 - 0,73$. Z výsledků lze vyvodit, že ani poloha ani počet donorních jednotek nemá zásadní vliv na fluorescenční kvantové výtěžky studovaných látek.

V rámci studia fotoluminiscenčních vlastností molekul byly měřeny jejich emisní spektra v řadě aprotických rozpouštědlech s rostoucí polaritou. Výsledky jsou uvedeny na *Obrázku 19*, kde vlevo jsou normalizovaná emisní spektra a vpravo fotky roztoků na denním světle a pod ruční UV lampou $\lambda_{exc} = 245$ nm. Batochromní posun emisních maxim se označuje jako pozitivní emisní solvatochromismus a je typický pro fluorofory s ICT. Tento fenomén je dán stabilizací vysoce polárního excitovaného stavu polárními molekulami rozpouštědla.



Obrázek 19 Normalizovaná emisní spektra chromoforu **48** v různých aprotických rozpouštědlech.

Na *Obrázku 20* je uveden graf závislostí $\lambda_{max}(em)$ cílových chromoforů na Dimrothově-Reichardtově polaritním parametru rozpouštědel $E_T(30)$. Závislosti byly proloženy lineární regresí, jejichž rovnice jsou uvedeny vpravo od grafu. Ve všech případech byla pozorována dobrá linearita závislostí. Směrnice lineárních regresí, jejichž hodnoty odrážejí míru ICT v molekule, vzrůstají v řadě **52** < **47** < **48**. Což potvrzuje výše uvedené závěry v oddíle o absorpčních vlastnostech o elektronakceptorní síle C2/C4 pozic pyrimidinu a míře ICT v molekulách.



Obrázek 20 Graf závislosti $\lambda_{max}(em)$ vůči $E_T(30)$ použitých rozpouštědel pro cílové sloučeniny.

3.4. Diferenční kompenzační kalorimetrie

Termální chování cílových sloučenin **47**, **48** a **52** bylo zkoumáno pomocí diferenční kompenzační kalorimetrie DSC. Na *Obrázku 21* jsou vizualizovány termogramy cílových molekul **47**, **48** a **52**, *Tabulce 5* jsou souhrnně uvedeny jejich teploty tání (T_t), respektive hodnoty termálního rozkladu (T_d). Naměřené teploty tání se pohybují v rozmezí od 108 do 125 °C, teploty dekompozice pak leží mezi 275 a 320 °C.

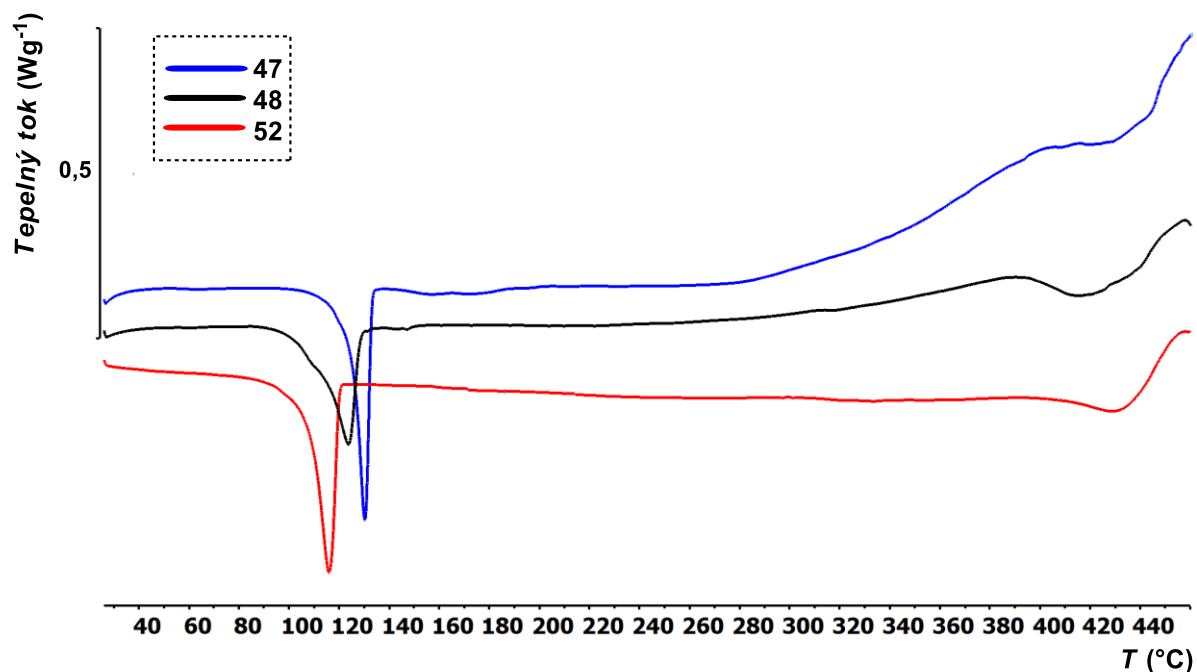
Tabulka 5 Termální vlastnosti cílových chromoforů **47**, **48** a **52**.

Chromofor	T_t [°C]	T_d [°C]
47	125	280
48	111	320
52	108	275

T_t = teplota tání (bod průsečíku základní linie a tangenty termálního efektu = onset); T_d = termální rozklad (pyrolýza v atmosféře N₂).

Jak je z uvedených termogramů zřejmé, všechny cílové sloučeniny **47**, **48** a **52** vykazují velmi podobné termální chování, čemuž odpovídají velmi blízké hodnoty teplot tání i rozkladu. Z toho vyplývá, že provedené strukturální modifikace (navýšení počtu donorních TFA jednotek či poloha substituce akceptorního pyrimidinu) nemají takřka žádný vliv na termální chování cílových molekul. Jelikož jsou cílové molekuly **47**, **48** a **52** poměrně rozsáhlými π -systémy s vysokým počtem (hetero)aromatických jader, byly uvedené procesy tání zachyceny jako

široké endotermní píky (zejména v případě objemné molekuly **47**). I dekompoziční procesy byly zaznamenány jako velmi pozvolné endotermní děje. U sloučeniny **52** byl dokonce tento první dekompoziční proces tak tepelně nevýrazný, že se téměř neprojevil v DSC záznamu (avšak při vizuální kontrole rezidua v měrném kelímku nad 300 °C byl vzorek **52** již výrazně karbonizován).



Obrázek 21 Termogramy cílových sloučenin **47**, **48** a **52** stanovené DSC metodou při skenovací rychlosti 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ pod inertní atmosférou N_2 .

4. ZÁVĚR

Jedním z cílů této bakalářské práce byla literární rešerše na téma push-pull derivátů nesoucích pyrimidin jako akceptorní jednotku. V rámci rešerše byly identifikovány dva obecné způsoby jejich přípravy. Jedním z nich je syntéza pyrimidinové jednotky kondenzačními reakcemi a druhým je funkcionalizace pyrimidinového kruhu. Z literární rešerše je patrné, že významnou vlastností konjugovaných derivátů pyrimidinu je luminiscence, resp. fluorescence, jež je s oblibou využívána v biozobrazovacích technikách. To souvisí s konečnou částí rešerše, jež pojednává o biologických aplikací derivátů s pyrimidinovým motivem.

V rámci experimentální části této práce byly syntetizovány tři cílové push-pull chromofory odvozené od pyrimidinu s *N,N*-difenylamino donorní jednotkou, styrylovým π -konjugovaným můstkem a fenyl skupinou. Dva finální deriváty mají podobu D- π -A push-pull molekul, třetí pak disponuje dvojrámenným uspořádáním typu D- π -A- π -D. Reakční cesta se u dvou cílových derivátů (**47**, **48**) skládala z přípravy fenylmethylpyrimidinu S-M cross-couplingovou reakcí sloučenin **42** nebo **43** s odpovídající boronovou kyselinou **27** a následné Knoevenagelovy kondenzace připraveného meziproductu s aromatickým aldehydem. Poslední derivát (**52**) byl připraven tříkrokovou sekvencí, jež zahrnovala přípravu dvou meziproductů a jejich následnou reakci (one-pot hydroborace, S-M cross-couplingová reakce). Až na pár výjimek byly cílové produkty i meziproducty připraveny v nižších výtěžcích zásluhou vícenásobného čištění sloupcovou chromatografií a rekrystalizací.

Struktura a čistota cílových derivátů byla ověřena pomocí TLC, GC-MS analýzy, HR-MALDI-MS, ^1H a ^{13}C NMR spekter. Termické chování bylo zkoumáno diferenční kompenzační kalorimetrií a optické vlastnosti pomocí UV-Vis spektroskopie. Cílem této části bylo určení vlivu polohy amino skupiny vůči centrální pyrimidinové jednotce na spektrální vlastnosti cílových derivátů. Výsledky DSC analýzy ukázaly, že všechny cílové sloučeniny **47**, **48** a **52** vykazují velmi podobné termální chování, čemuž odpovídají velmi blízké hodnoty teplot tání i rozkladu. Z toho vyplývá, že provedené strukturní modifikace nemají téměř žádný vliv na termální chování cílových chromoforů.

Z výsledků měření fotofyzikálních vlastností cílových derivátů lze vyvodit následující závěry:

- poloha nejdélnějšího absorpčního a emisního pásu je dána jednak polohou difenylaminostyrylové větve, jednak jejich počtem

- molární absorpční koeficient roste s počtem styrylových větví (prodlužováním π -systému)
- strukturální změny nemají vliv na fluorescenční kvantový výtěžek
- cílové deriváty vykazují pozitivní emisní solvatochromismus.

Všechny finální chromofory disponují vysokým fluorescenčním kvantovým výtěžkem a emisním solvatochromismem, které z nich činí potenciální polaritní senzory.

5. LITERATURA

- [1] Brown, D. J., Mason, S. F., Ed., V knize: *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, **1962**.
- [2] Undheim, K., Benneche, T., Kapitola v knize: *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II: A Review of the Literature 1982-1995*, Elsevier Ltd, **1996**, str. 93–231.
- [3] Ji Ram, V., Sethi, A., Nath, M., Pratap, R., Kapitola v knize: in *The Chemistry of Heterocycles*, Elsevier, **2019**, str. 3–391.
- [4] Bird, C. W., *Tetrahedron* **1986**, *42*, 89–92.
- [5] Costa, E. V., Pinheiro, M. L. B., Xavier, C. M., Silva, J. R. A., Amaral, A. C. F., Souza, A. D. L., Barison, A., Campos, F. R., Ferreira, A. G., Machado, G. M. C., Leon, L. L. P., *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 292–294.
- [6] Kidwai, M., Saxena, S., Rastogi, S., Venkataramanan, R., *Curr. Med. Chem. -Anti-Infective Agents* **2005**, *2*, 269–286.
- [7] Uramoto, M., Kobinata, K., Isono, K., Higashijima, T., Miyazawa, T., Jenkins, E. E., McCloskey, J. A., *Tetrahedron* **1982**, *38*, 1599–1608.
- [8] Bureš, F., *RSC Adv.* **2014**, *4*, 58826–58851.
- [9] Hansch, C., Leo, A., Taft, R. W., *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 165–195.
- [10] Sylvain Achelle, Nelly Ple, *Curr. Org. Synth.* **2012**, *9*, 163–187.
- [11] Klikar, M., Solanke, P., Tydlitát, J., Bureš, F., *Chem. Rec.* **2016**, *16*, 1886–1905.
- [12] Arias, A. C., MacKenzie, J. D., McCulloch, I., Rivnay, J., Salleo, A., *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3–24.
- [13] Batail, P., *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 4887–4890.
- [14] Bredas, J. L., Durrant, J. R., *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 1689–1690.
- [15] Ohmori, Y., *Laser Photon. Rev.* **2009**, *4*, 300–310.
- [16] Hains, A. W., Liang, Z., Woodhouse, M. A., Gregg, B. A., *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 6689–6735.
- [17] Wu, Y., Zhu, W., *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 2039–2058.

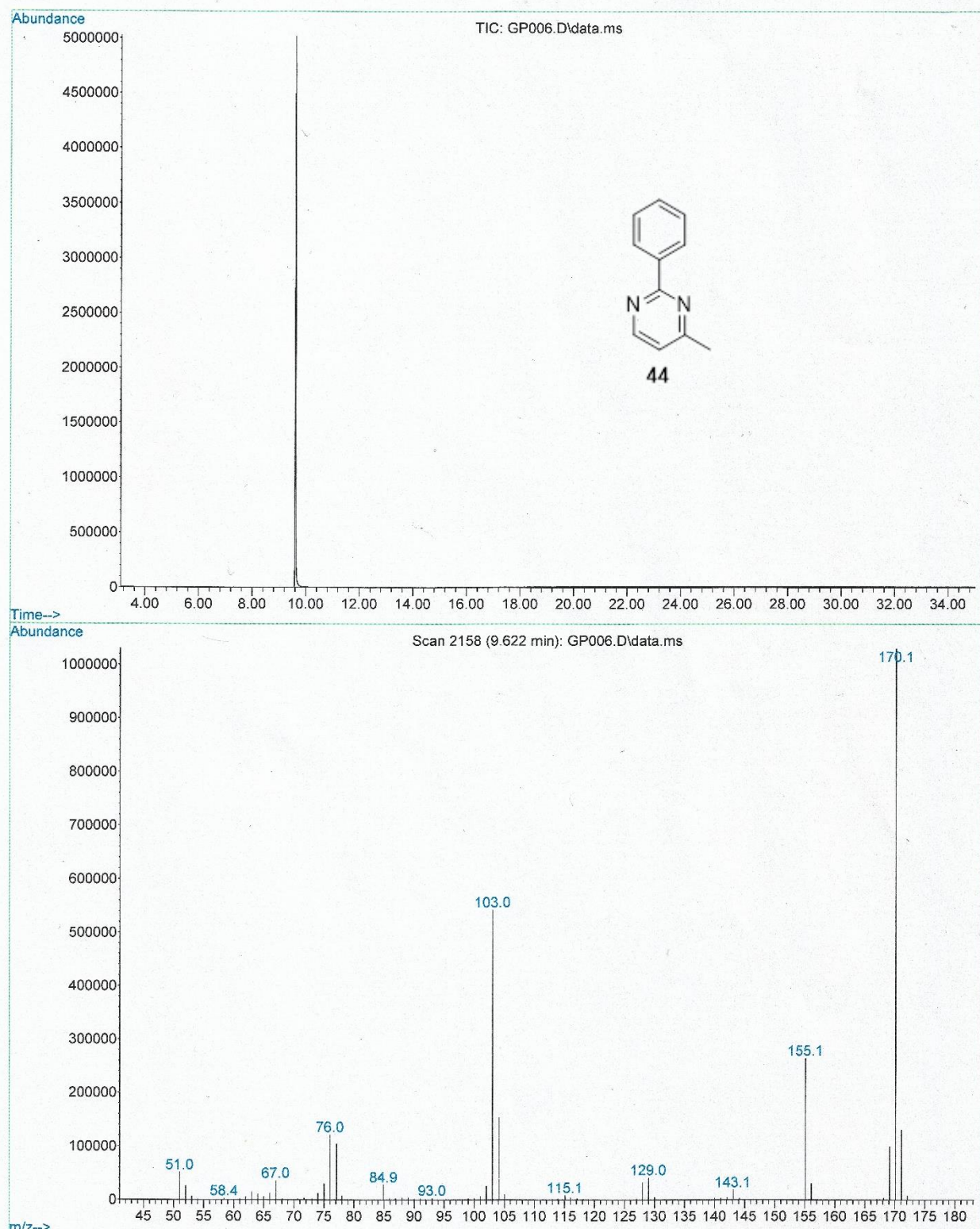
- [18] Burland, D. M., *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 1–2.
- [19] Allard, S., Forster, M., Souharce, B., Thiem, H., Scherf, U., *Angew. Chemie Int. Ed.* **2008**, *47*, 4070–4098.
- [20] Bureš, F., Pytela, O., Kivala, M., Diederich, F., *J. Phys. Org. Chem.* **2011**, *24*, 274–281.
- [21] Sharma, P., Brown, S., Walter, G., Santra, S., Moudgil, B., *Adv. Colloid Interface Sci.* **2006**, *123–126*, 471–485.
- [22] Ghosh, U., Katzenellenbogen, J. A., *J. Heterocycl. Chem.* **2002**, *39*, 1101–1104.
- [23] Schomaker, J. M., Delia, T. J., *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7125–7128.
- [24] Littke, A. F., Fu, G. C., *Angew. Chemie Int. Ed.* **2002**, *41*, 4176–4211.
- [25] Shi, T., Qin, F., Li, Q., Zhang, W., *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 9487–9491.
- [26] Karpov, A. S., Müller, T. J. J., *Synthesis*. **2003**, 2815–2826.
- [27] Sheibani, H., Seifi, M., Bazgir, A., *Synth. Commun.* **2009**, *39*, 1055–1064.
- [28] Schomaker, J. M., Delia, T. J., *J. Heterocycl. Chem.* **2000**, *37*, 1457–1462.
- [29] Schröter, S., Stock, C., Bach, T., *Tetrahedron* **2005**, *61*, 2245–2267.
- [30] Hu, X., *Chem. Sci.* **2011**, *2*, 1867–1886.
- [31] Evano, G., Blanchard, N., Toumi, M., *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 3054–3131.
- [32] Miyaura, N., Yamada, K., Suzuki, A., *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3437–3440.
- [33] Sonogashira, K., Tohda, Y., Hagihara, N., *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 4467–4470.
- [34] Negishi, E. ichi, King, A. O., Okukado, N., *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 1821–1823.
- [35] Tamao, K., Sumitani, K., Kumada, M., *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 4374–4376.
- [36] Heck, K. F., Nolley, J. P., *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 2320–2322.
- [37] Oestreich, M., V knize: *The Mizoroki-Heck Reaction*, John Wiley And Sons, Chichester, UK, **2009**.
- [38] Stille, J. K., *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1986**, *25*, 508–524.
- [39] Cheng, H.-G., Chen, H., Liu, Y., Zhou, Q., *Asian J. Org. Chem.* **2018**, *7*, 490–508.

- [40] Liebeskind, L. S., Srogl, J., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 11260–11261.
- [41] Fecková, M., Le Poul, P., Guen, F. R. Le, Roisnel, T., Pytela, O., Klikar, M., Bureš, F., Achelle, S., *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 11712–11726.
- [42] Smith, M. B., March, J., v knize: *March's advanced organic chemistry*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, **2007**.
- [43] Achelle, S., Nouira, I., Pfaffinger, B., Ramondenc, Y., Plé, N., Rodríguez-López, J., *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3711–3717.
- [44] Valeur, B., v knize: *Molecular Fluorescence Principles and Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2002**.
- [45] Lakowicz, J. R., v knize: *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Springer Science+Business Media, LLC, New York, USA, **2006**.
- [46] Prasad, P. N., Kapitola v knize: *Introduction to Biophotonics*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, **2004**, str. 203–254.
- [47] Yang, Y., Zhao, Q., Feng, W., Li, F., *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 192–270.
- [48] Prasad, P. N., Kapitola v knize: *Introduction to Biophotonics*, John Wiley & Sons, Inc., **2004**, str. 129–158.
- [49] Pawlicki, M., Collins, H. A., Denning, R. G., Anderson, H. L., *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2009**, *48*, 3244–3266.
- [50] Galas, L., Gallavardin, T., Bénard, M., Lehner, A., Schapman, D., Lebon, A., Komuro, H., Lerouge, P., Leleu, S., Franck, X., *Chemosensors* **2018**, *6*.
- [51] Tsien, R. Y., *Annu. Rev. Neurosci.* **1989**, *12*, 227–253.
- [52] Weng, J., Mei, Q., Zhang, B., Jiang, Y., Tong, B., Fan, Q., Ling, Q., Huang, W., *Analyst* **2013**, *138*, 6607–6616.
- [53] Xie, X., Li, M., Tang, F., Li, Y., Zhang, L., Jiao, X., Wang, X., Tang, B., *Anal. Chem.* **2017**, *89*, 3015–3020.
- [54] Wang, H., Zhang, Q., Zhang, J., Li, L., Zhang, Q., Li, S., Zhang, S., Wu, J., Tian, Y., *Dyes Pigm.* **2014**, *102*, 263–272.
- [55] Yang, J., Hu, W., Li, H., Hou, H., Tu, Y., Liu, B., *Photochem. Photobiol. Sci.* **2018**, *17*,

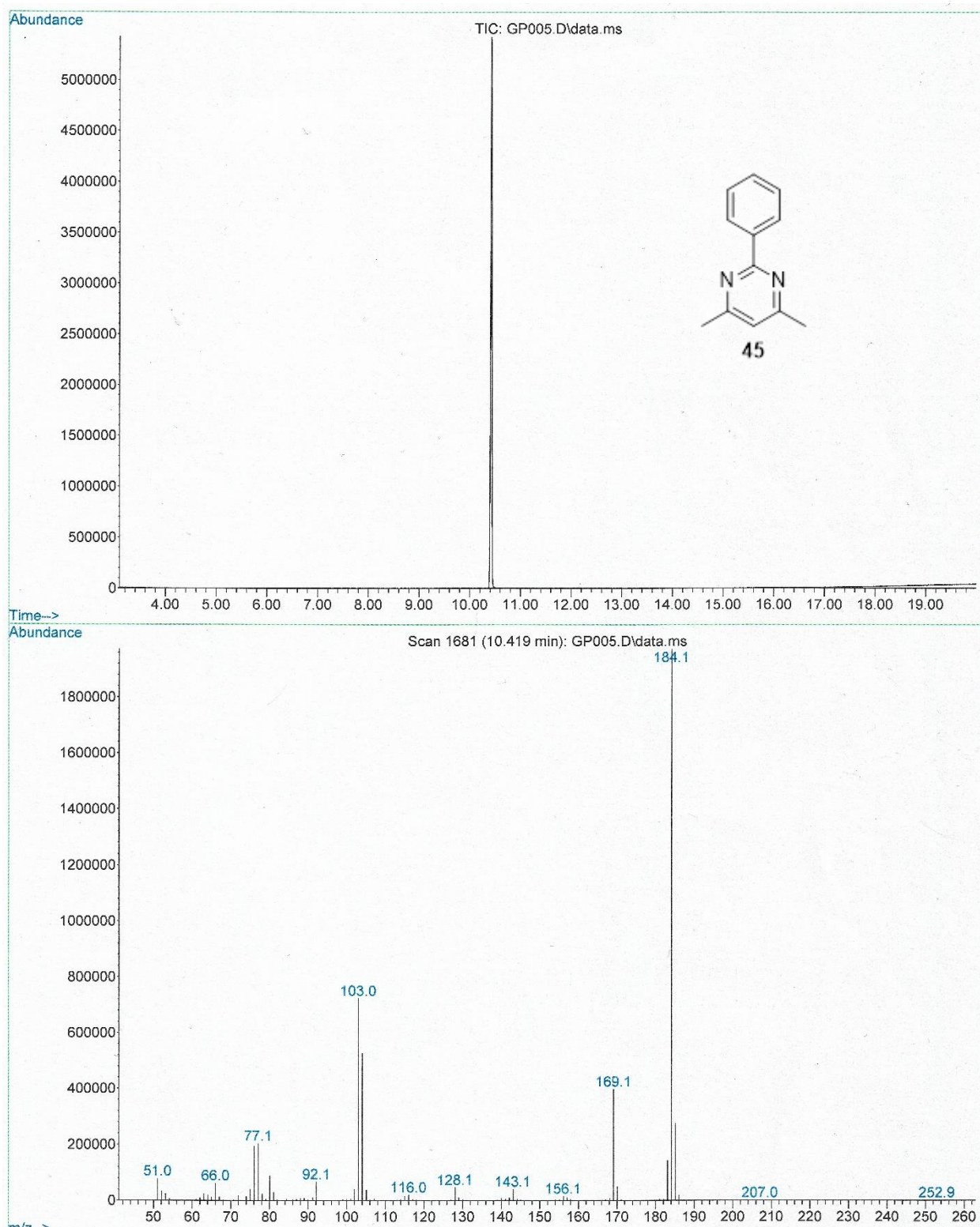
474–481.

- [56] Wang, J., Liu, H., Wu, M., Liu, X., Sun, H., Zheng, A., *Talanta* **2019**, *205*, 120095.
- [57] Yan, H., Meng, X., Li, B., Ge, S., Lu, Y., *J. Mater. Chem. C* **2017**, *5*, 10589–10599.
- [58] Achelle, S., Barsella, A., Baudequin, C., Caro, B., Robin-Le Guen, F., *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 4087–4096.
- [59] Sinkeldam, R. W., Marcus, P., Uchenik, D., Tor, Y., *ChemPhysChem* **2011**, *12*, 2260–2265.
- [60] Wagner, R. M., Jutz, C., *Chem. Ber.* **1971**, *104*, 2975–2983.
- [61] Chu, X. Q., Cao, W. Bin, Xu, X. P., Ji, S. J., *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 1145–1154.
- [62] Sun, W., Hu, S., Fang, S., Yan, H., *Bioorg. Chem.* **2018**, *78*, 393–405.
- [63] Gao, H., Li, Y., Wang, L., Ji, C., Wang, Y., Tian, W., Yang, X., Yin, L., *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 10251–10254.
- [64] Thermo Xcalibur 2.1.0 SP1.1160, Copyright 1998-2009 Thermo Fisher Scientific Inc., 2011.
- [65] Eaton, D. F., *Pure Appl. Chem.* **1988**, *60*, 1107–1114.

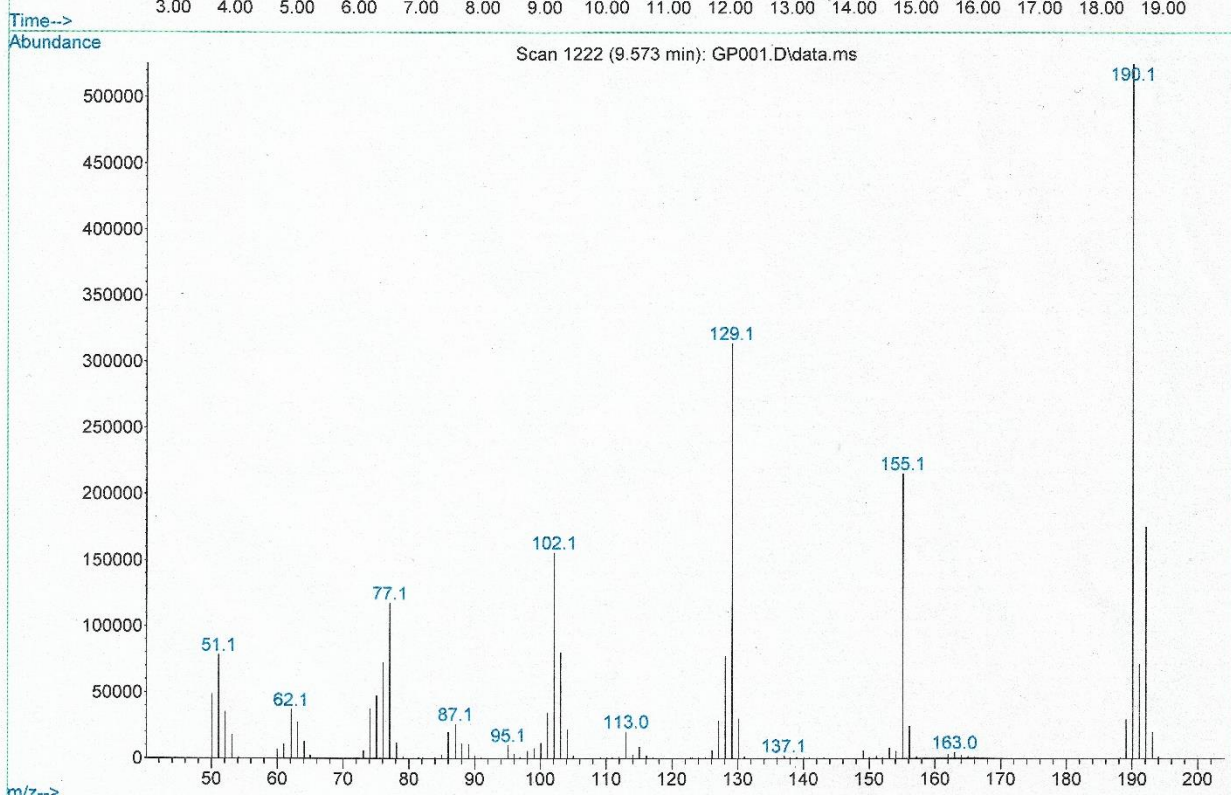
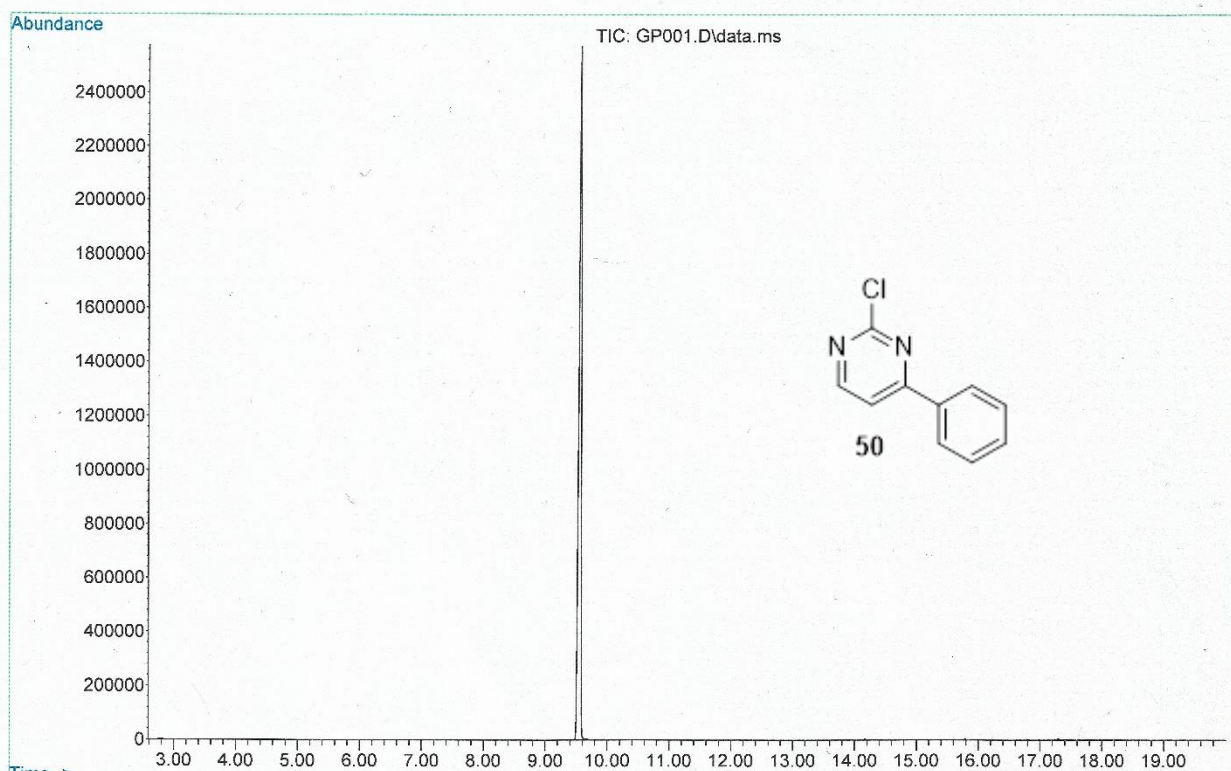
PŘÍLOHY



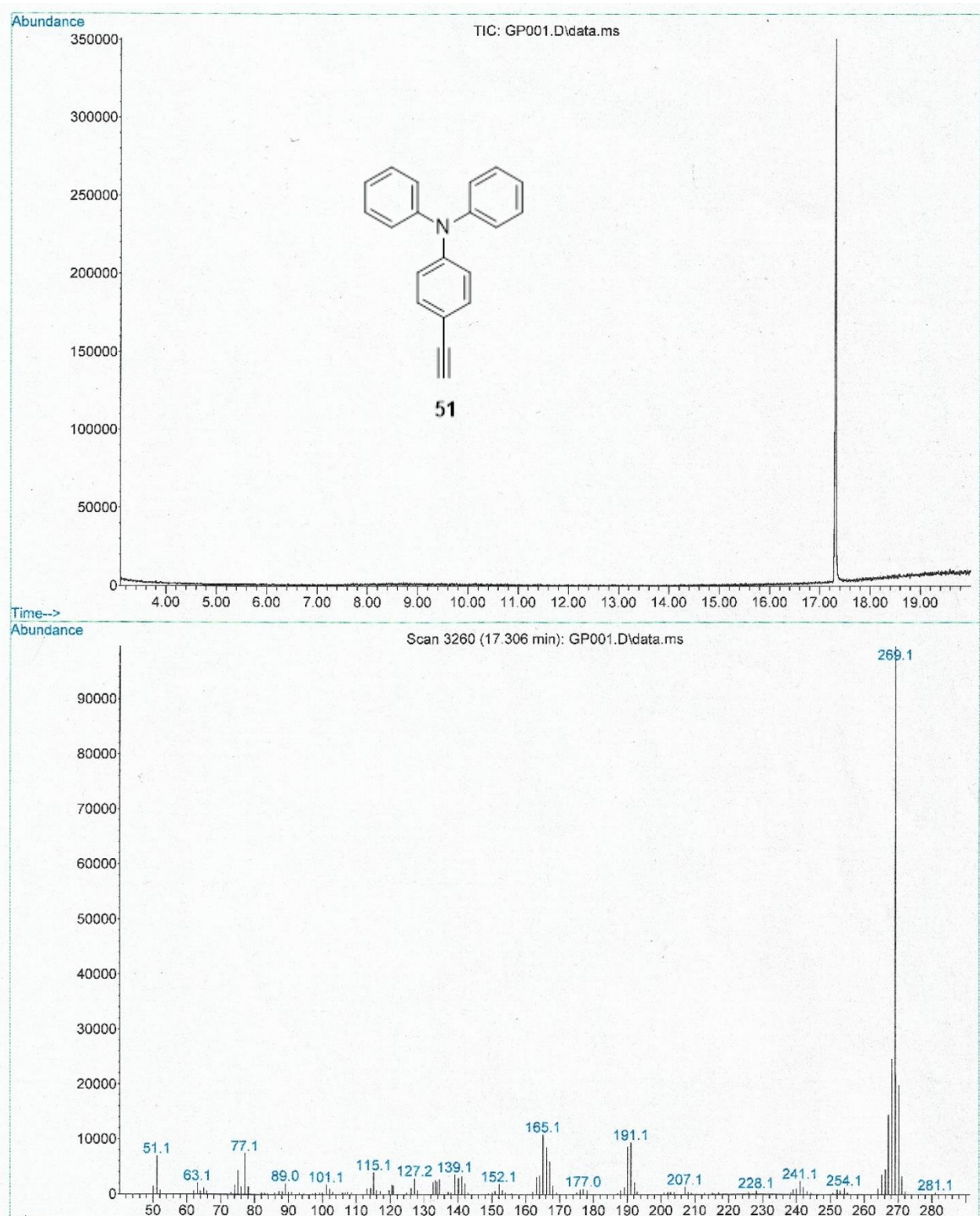
Příloha 1 GC-MS spektrum meziprojektu 44.



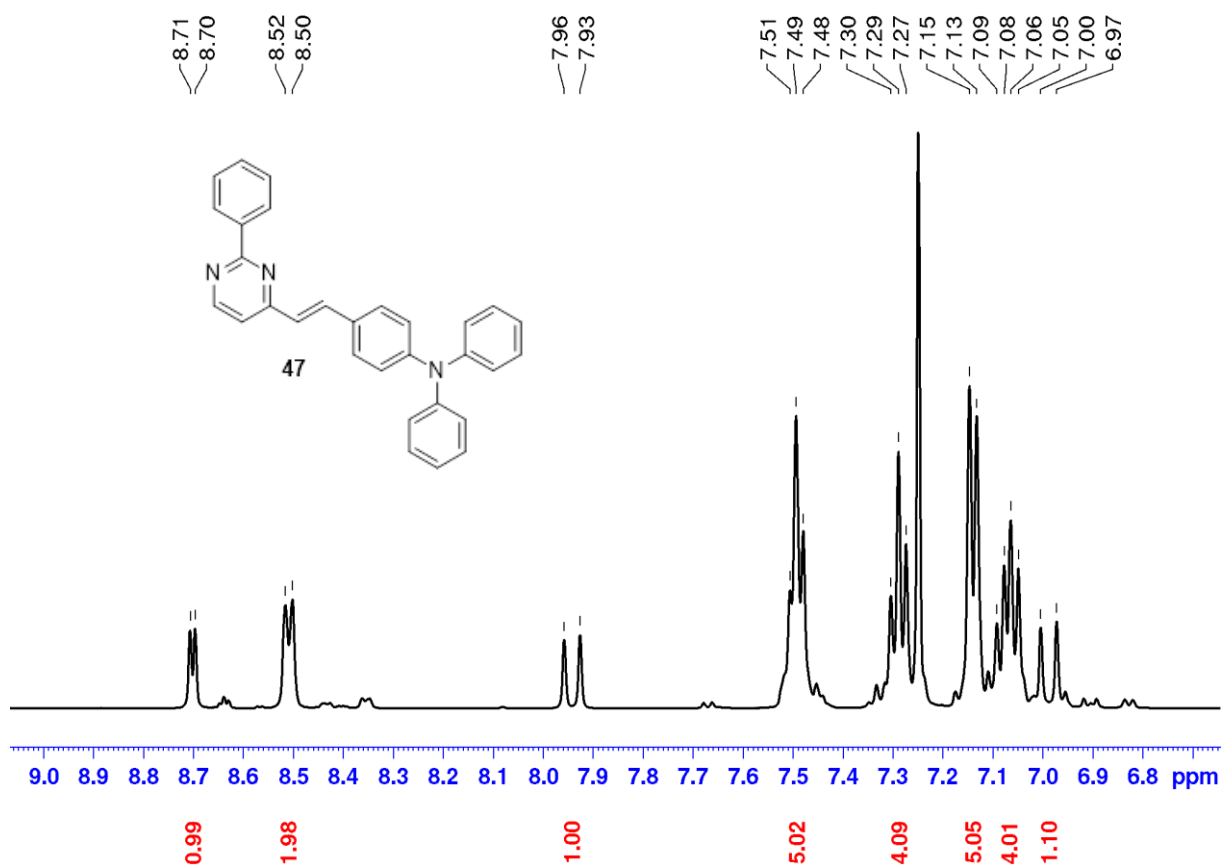
Příloha 2 GC-MS spektrum meziprojektu 45.



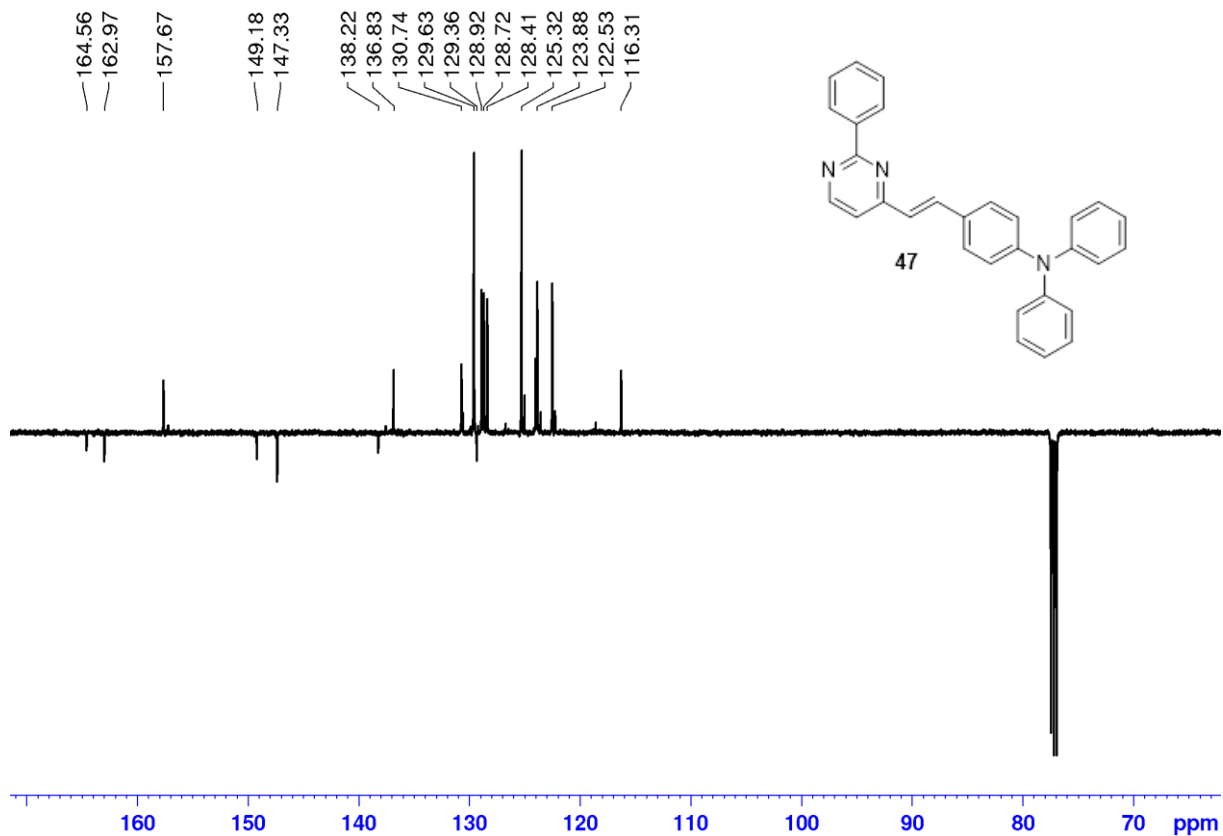
Příloha 3 GC-MS spektrum meziprojektu 50.



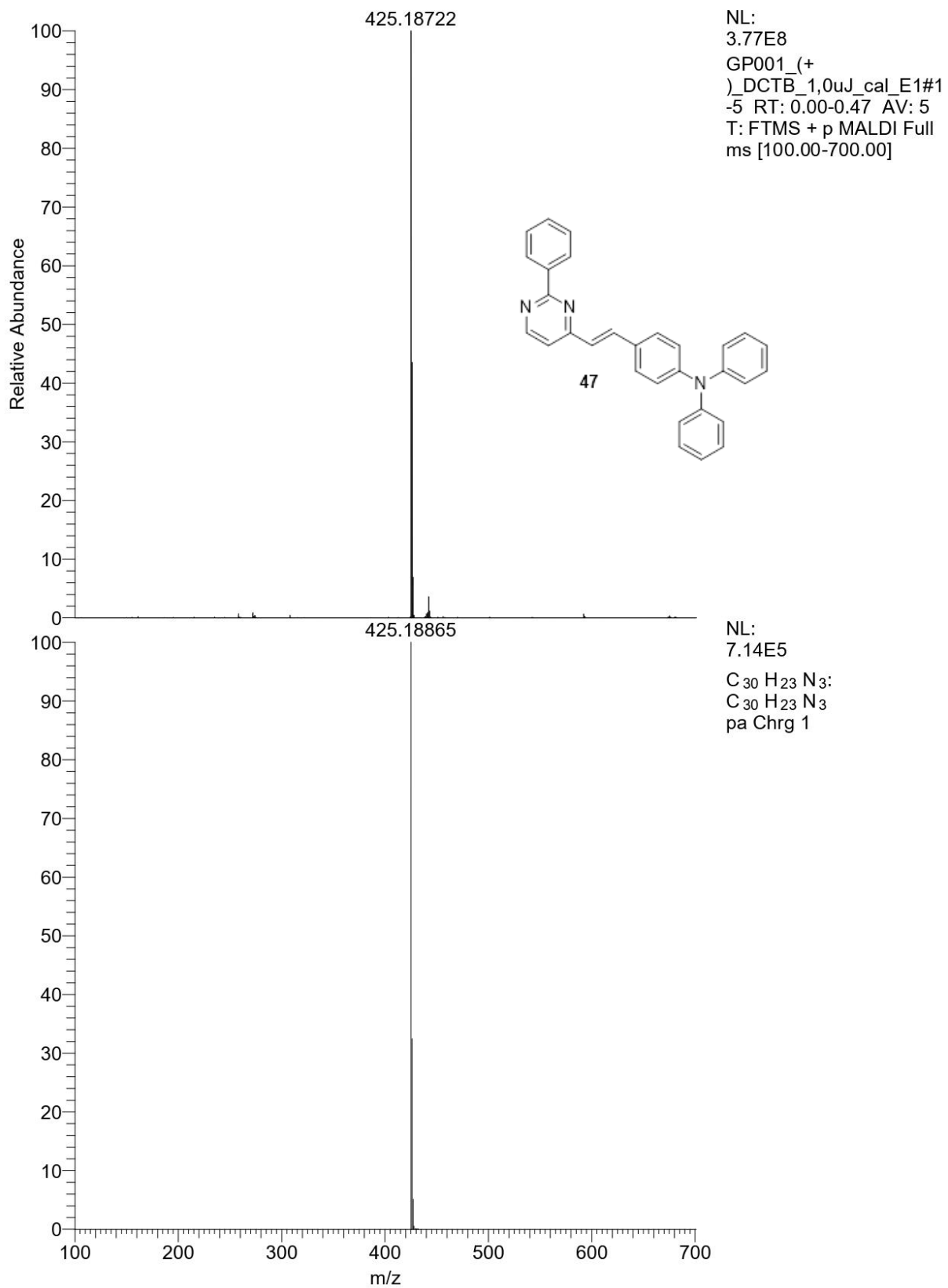
Příloha 4 GC-MS spektrum meziprojektu 51.



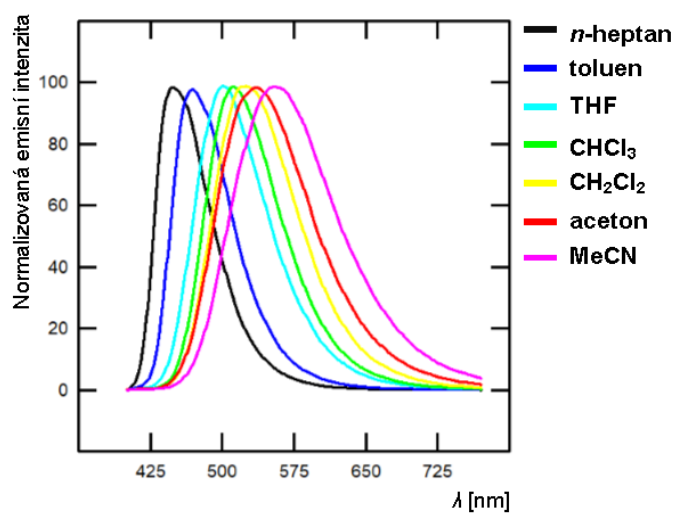
Příloha 5 ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 500 MHz) spektrum chromoforu 47.



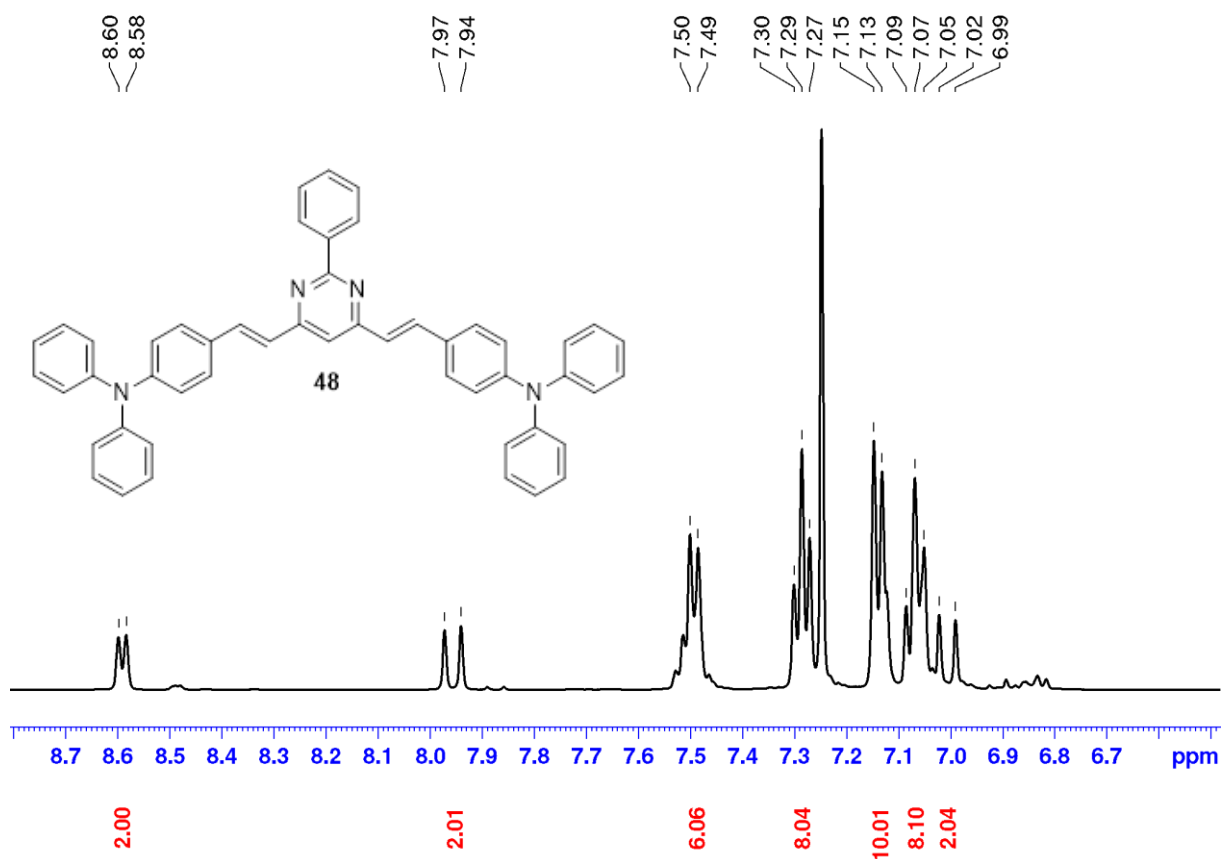
Příloha 6 ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 125 MHz) spektrum chromoforu 47.



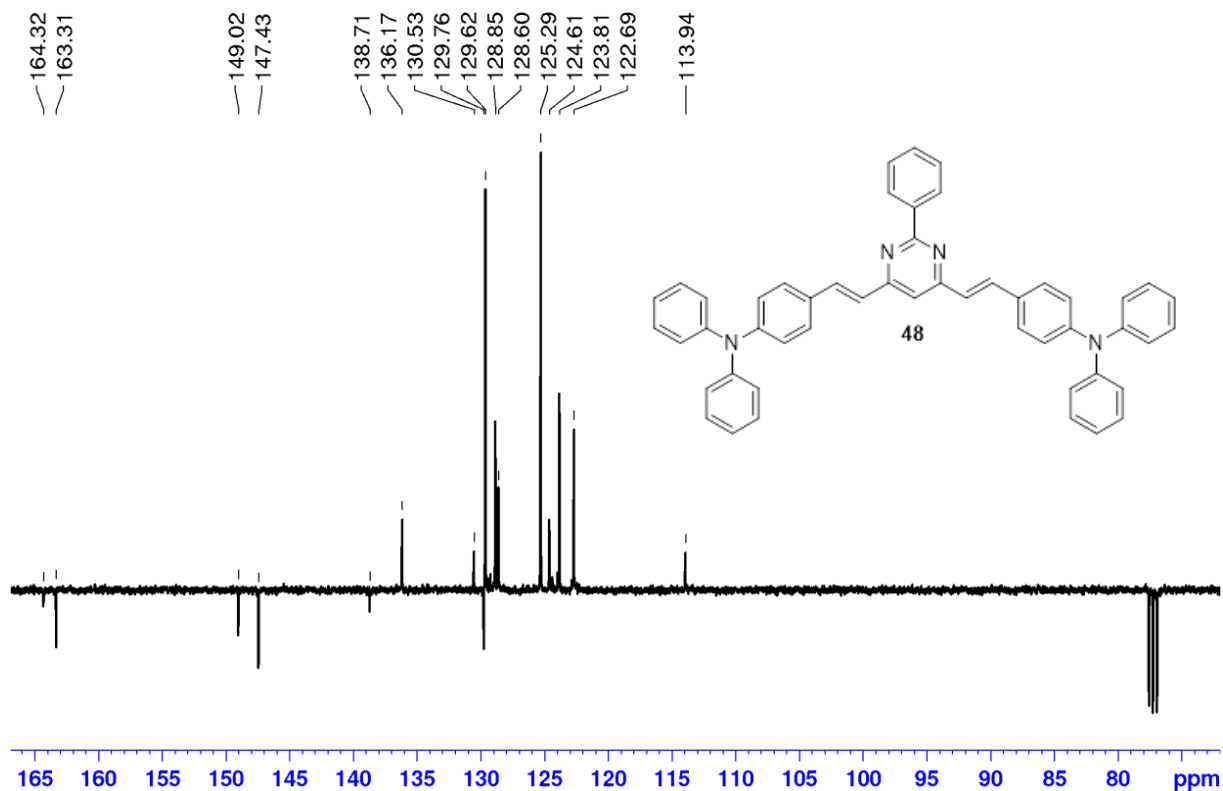
Příloha 7 HR-MALDI-MS spektrum chromoforu **47**, nalezené pro M^+ (nahore), kalkulované pro M^+ (dole).



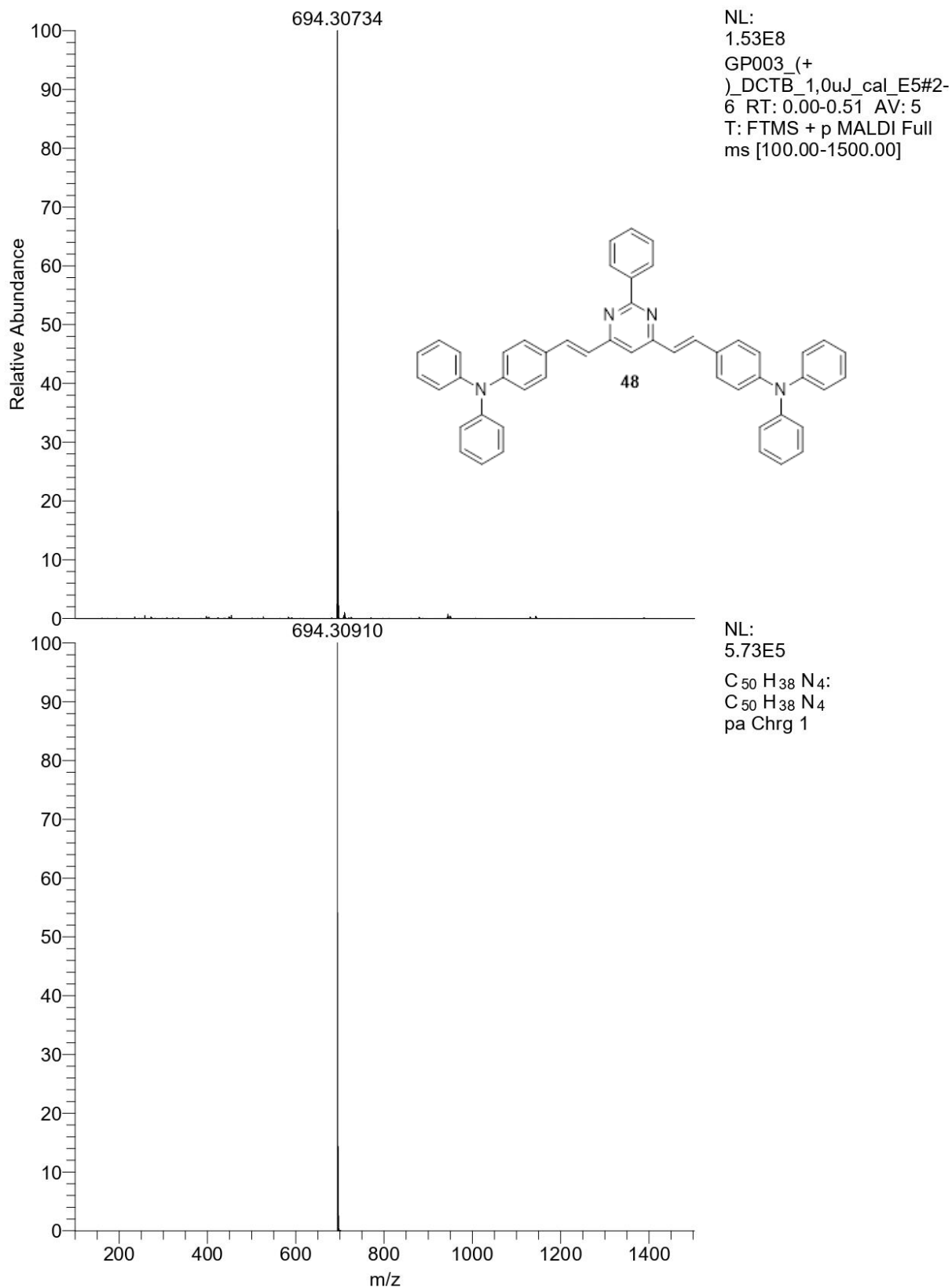
Příloha 8 Normalizovaná emisní spektra a barva emise chromoforu 47 v různých aprotických rozpouštědlech.



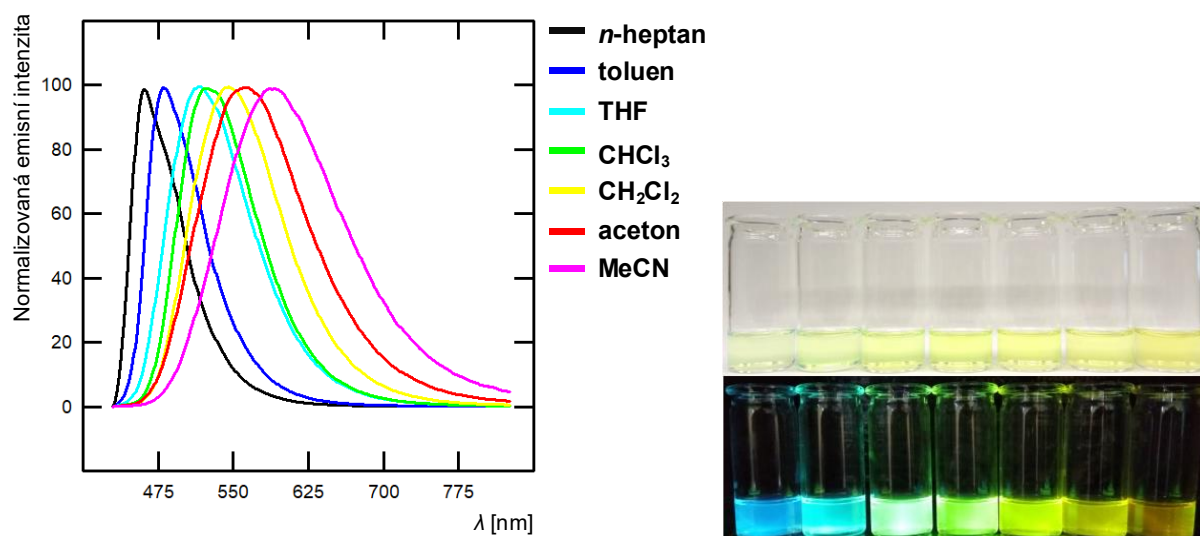
Příloha 9 $^1\text{H NMR}$ (CDCl₃, 25 °C, 400 MHz) spektrum chromoforu 48.



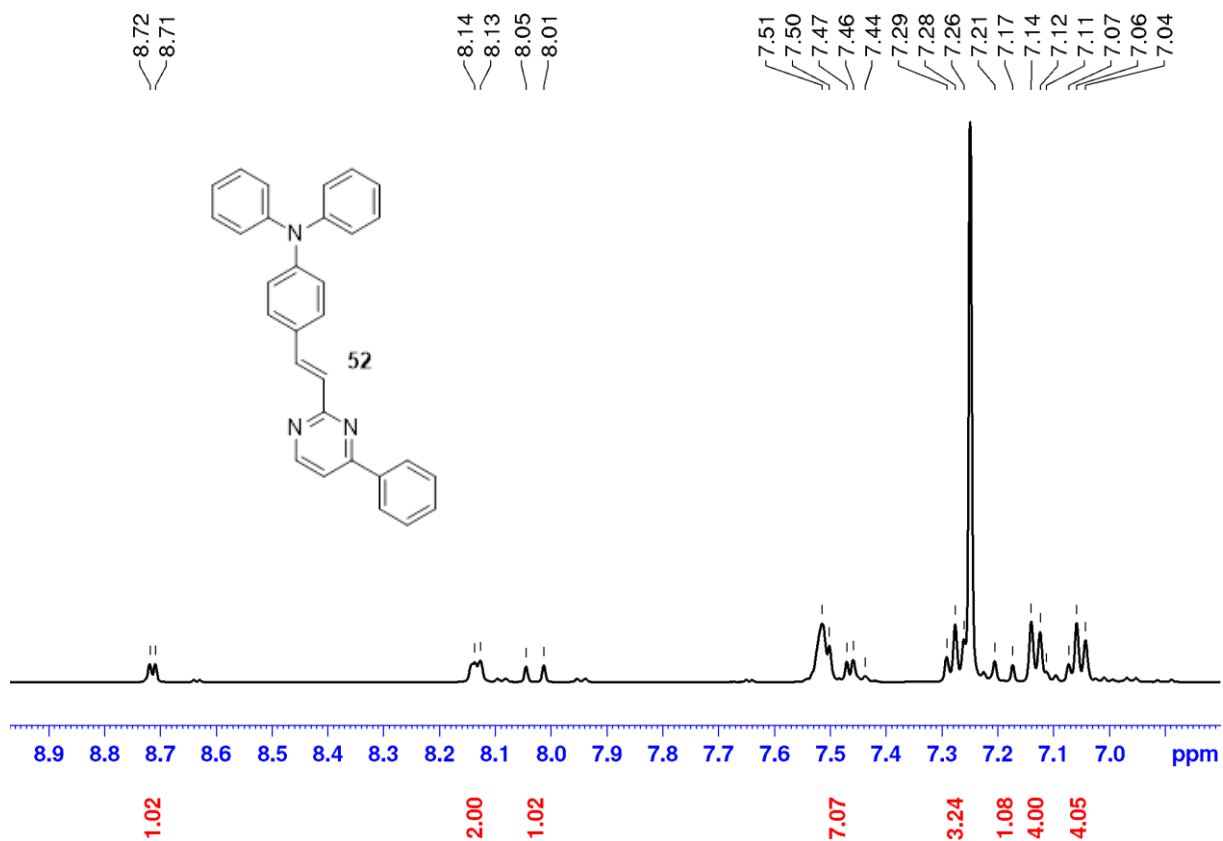
Příloha 10 $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl₃, 25 °C, 125 MHz) spektrum chromoforu 48.



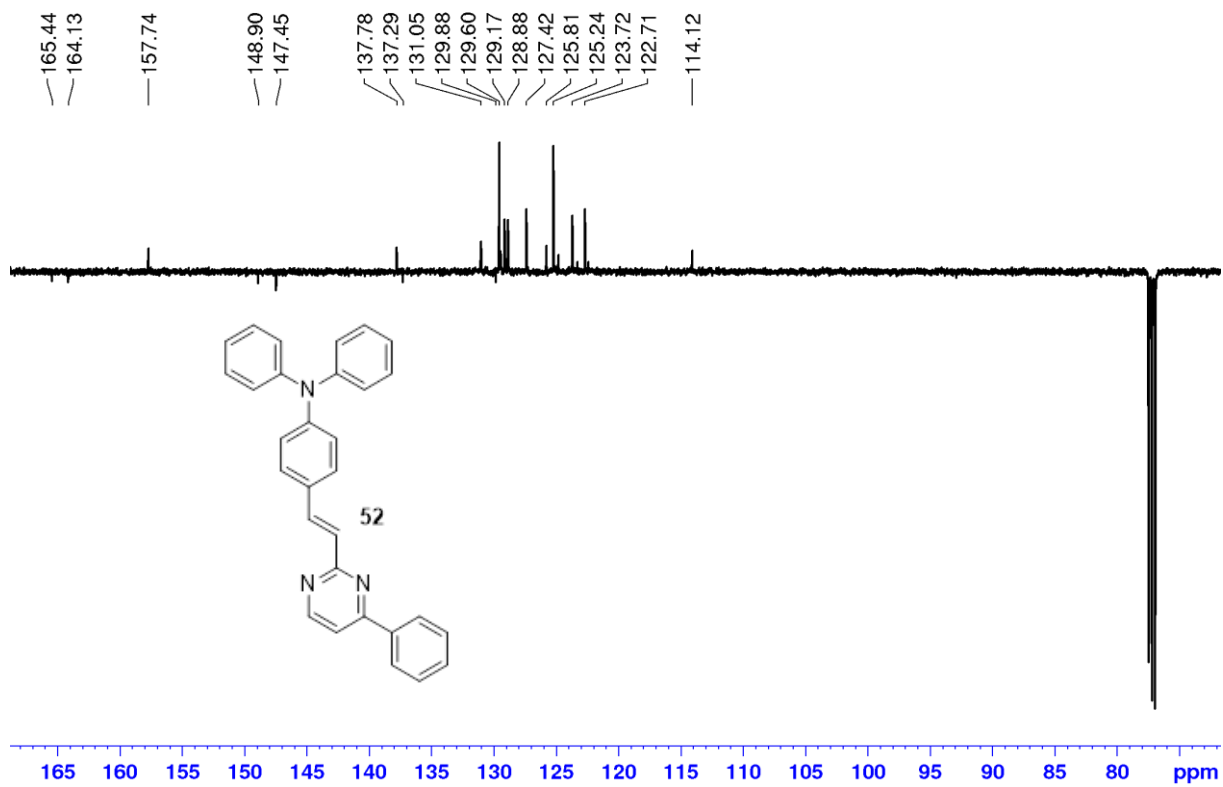
Příloha 11 HR-MALDI-MS spektrum chromoforu **48**, nalezené pro M^+ (nahore), kalkulované pro M^+ (dole).



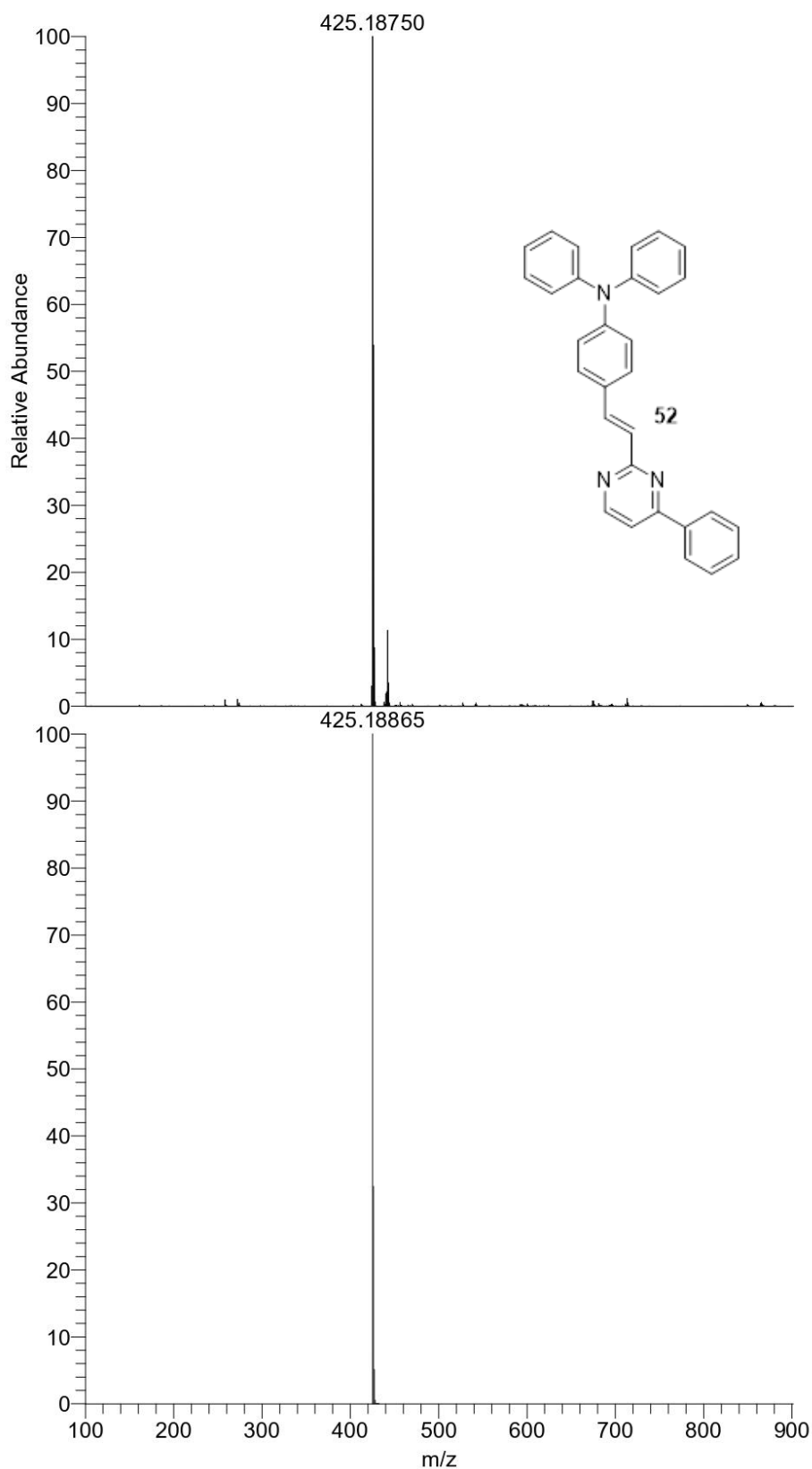
Příloha 12 Normalizovaná emisní spektra chromoforu 48 v různých aprotických rozpouštědlech.



Příloha 13 $^1\text{H NMR}$ (CDCl₃, 25 °C, 400 MHz) spektrum chromoforu 52.



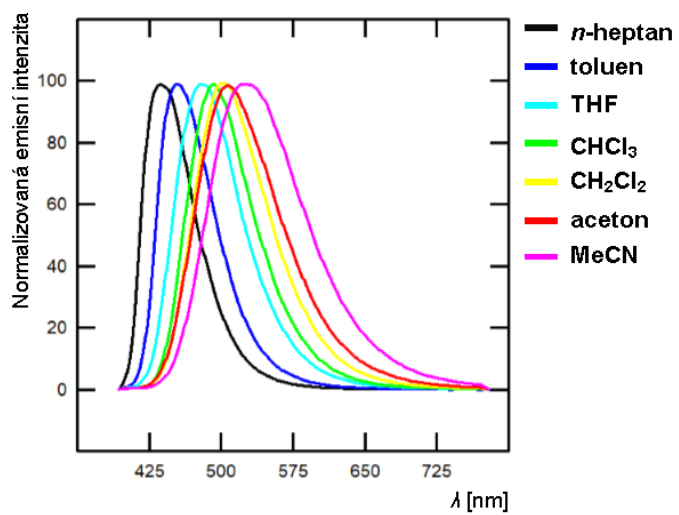
Příloha 14 $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl₃, 25 °C, 125 MHz) spektrum chromoforu 52.



NL:
 2.18E8
 GP002_(+
)_DCTB_1,0uJ_cal_E3#1
 -5 RT: 0.00-0.53 AV: 5
 T: FTMS + p MALDI Full
 ms [100.00-900.00]

NL:
 7.14E5
 C₃₀ H₂₃ N₃:
 C₃₀ H₂₃ N₃
 pa Chrg 1

Příloha 15 HR-MALDI-MS spektrum chromoforu 52, nalezené pro M^+ (nahore), kalkulované pro M^+ (dole).



Příloha 16 Normalizovaná emisní spektra a barva emise chromoforu 52 v různých aprotických rozpouštědlech.

ÚDAJE PRO KNIHOVNICKOU DATABÁZI

Název práce	Deriváty pyrimidinu a jejich biologické aplikace
Autor práce	Gabriela Perglová
Obor	Klinická biologie a chemie
Rok obhajoby	2020
Vedoucí práce	prof. Ing. Filip Bureš, Ph.D.
Anotace	<p>Byla provedena literární rešerše push-pull derivátů nesoucích pyrimidin jako akceptorní jednotku a jejich aplikací v biologických vědách. Vedle využití v organoelektronice, nelineární optice atd. nachází deriváty pyrimidinu své uplatnění i např. v oblasti biozobrazování či pH sond. Tato práce přehledně shrnuje jejich základní vlastnosti, obecné syntézy a příklady aplikací. Cílem experimentální části byla syntéza tří push-pull molekul odvozených od pyrimidinu s <i>N,N</i>-difenylamino donorní jednotkou, styrylovým π-konjugovaným můstkem a určení vlivu polohy amino skupiny vůči centrální heterocyklické jednotce na spektrální vlastnosti cílových derivátů. Všechny molekuly byly charakterizovány sérií analytických měření (NMR, MS spektroskopie, MALDI) a byly měřeny jejich absorpční a emisní vlastnosti a termické chování. Z výsledků měření byly vyvozeny základní vztahy mezi strukturou a jejich vlastnostmi.</p>
Klíčová slova	Pyrimidin, push-pull chromofor, elektrondonor/akceptor, luminiscence, biozobrazování, dvoufotonová absorpce.