

**UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI**

**Přírodovědecká fakulta**

Katedra analytické chemie



**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**NMR studium derivátů *roskovitinu*  
s protinádorovou aktivitou**

Vypracoval:

Bc. Alexandr Popa

Vedoucí bakalářské práce:

RNDr. Tomáš Gucký, Ph.D.

Studijní obor:

Chemie

Studijní program:

Chemie

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci psal zcela samostatně pod odborným vedením RNDr. Tomáše Guckého, Ph.D. za použití pramenů uvedených v seznamu literatury.

Chtěl bych tímto upřímně poděkovat vedoucímu bakalářské práce RNDr. Tomášovi Guckému, Ph.D. za pomoc při zpracování této práce a Mgr. Igoru Popovi, CSc. za pomoc při interpretaci NMR spekter.

Olomouc 23. 4. 2015

.....

## OBSAH

1. Úvod	6
2. Teoretická část	7
2.1. Deriváty purinu jako CDK inhibitory	7
2.1.1. Role purinů v buněčném cyklu	7
2.1.2. SAR purinových inhibitorů CDK (stručné shrnutí)	9
2.1.3. Syntéza 2,6,9-trisubstituovaných purinů	10
2.2. Nukleární magnetická rezonanční spektroskopie (NMR)	11
2.2.1. Základní principy NMR	11
2.2.1.1. Nukleární magnetický moment	12
2.2.1.2. Kvantizace momentu hybnosti a magnetického momentu	13
2.2.1.3. Nukleární magnetická rezonance	13
2.2.2. Chemický posun	14
2.2.2.1. Konstanta magnetického stínění	14
2.2.2.2. Chemický posun $\delta$	15
2.2.3. Spin-spinová interakce	15
2.2.3.1. Spin-spinové štěpení NMR signálu	15
2.2.3.2. Interakční konstanta $J$	16
2.2.4. Magnetizace	16
2.2.4.1. Koncept – magnetizace	16
2.2.4.2. Rotující soustava	17
2.2.5. Relaxace	18
2.2.5.1. Koncept – relaxace	18
2.2.5.2. Podélná a příčná relaxace	18
2.2.5.3. Šířka NMR signálu	19
2.2.6. Pulsní NMR spektrometr s Fourierovou transformací	20
2.2.6.1. Použití silných a krátkých pulsů	20
2.2.6.2. Signál v časové a frekvenční doméně. Fourierova transformace	21
2.2.6.3. FT NMR s ohledem na Fourierovu dekompozici	23
2.2.7. $^1\text{H}$ NMR	23
2.2.7.1. Faktory ovlivňující chemický posun protonů	24
2.2.8. $^{13}\text{C}$ NMR	26
2.2.8.1. Faktory ovlivňující chemický posun uhlíků	28
2.2.9.1. Spektra prvního řádu	29
2.2.9.2. Spektra druhého řádu	29
2.2.10.1. Chemická ekvivalence	29
2.2.10.2. Magnetická ekvivalence	30
2.2.11. Vícenásobná rezonance	31
2.2.11.1. Spinový dekapling	31
2.2.11.2. Jaderný Overhauserův efekt	32
2.2.12. Editační techniky	33
2.2.12.1. Spinové echo	33
2.2.12.2. APT experiment	34
2.2.12.3. Zvýšení citlivosti (INEPT)	34
2.2.12.4. Cyklování fází, kompozitní a tvarované pulsy.	
Pulsní gradienty magnetického pole	36
2.2.13. Úvod do 2D NMR	37
2.2.13.1. Časové intervaly v 2D NMR	38

2.2.13.2. Klasifikace 2D NMR spekter	38
2.2.13.3. Zobrazování 2D NMR spekter	38
2.2.13.4. Homonukleární $\delta$ -korelační spektroskopie (COSY)	39
2.2.13.5. Celková $\delta$ -korelační spektroskopie (TOCSY)	40
2.2.13.6. Proton-protonové korelace přes prostor (NOESY, ROESY)	41
2.2.13.7. $^1\text{H}$ detekovaná heteronukleární korelační spektroskopie	43
2.2.13.7.1. HMQC	43
2.2.13.7.2. BIRD-HMQC	44
2.2.13.7.3. HSQC	45
2.2.13.7.4. HMBC	46
2.2.13.8. $^{15}\text{N}$ 2D NMR experimenty	47
3. Experimentální část	48
3.1. Použité chemikálie a metody	48
3.1.1. Příprava vzorků	48
3.1.2. Základní akviziční parametry některých 2D NMR experimentů	48
3.1.3. Pulsní sekvence některých experimentů	50
3.2. Charakteristika a vybavení NMR spektrometru	52
3.2.1. Charakteristika spektrometru Varian 400 MR	52
3.2.2. Měřicí sonda	52
4. Výsledky a diskuze	53
4.1. NMR studium derivátů <i>roskovitinu</i>	53
4.1.1. Přiřazení $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů derivátů <i>roskovitinu</i>	53
4.2. CDK2 inhibiční aktivita a cytotoxicita některých studovaných derivátů <i>roskovitinu</i> na základních nádorových buněčných liniích <i>in vitro</i>	57
4.3. Shrnutí výsledků	57
4.3.1. Výsledky 1D NMR studia derivátů <i>roskovitinu</i>	57
4.3.2. 2D NMR spektroskopie v interpretaci $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů u derivátů <i>roskovitinu</i>	58
5. Závěr	59
6. Symboly a zkratky	60
7. Literatura	62
8. Příloha	65
8.1. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů derivátů <i>roskovitinu</i>	65
8.1.1. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů 2-(1-hydroxymethyl-propyl)amin-9-(isopropyl)adeninu	65
8.1.2. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(2,3-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu	66
8.1.3. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(3,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu	69
8.1.4. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(2,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu	70
8.1.5. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(2-hydroxy-3-methylbenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu	71
8.1.6. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(2-hydroxy-5-methylbenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu	75
8.1.7. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(4-hydroxy-3,5-di-methoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu	77
8.1.8. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(4-brombenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu	78
8.1.9. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-	

2-(6-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu	80
8.1.10. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(4-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu	83
8.1.11. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů [N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-(1,3-propylendiamin)-9-(isopropyl)]purinu	85
8.1.12. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(4-aminobenzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethylpropyl)amin]-9-(iso-propyl)}purinu	87
8.1.13. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(4-amin- <i>N</i> -3,5-dimethylpyrimidin-benzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethylpropyl)amin]-9-(iso-propyl)}purinu	89
8.1.14. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu	91
8.1.15. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(3-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu	94
8.1.16. Interpretace $^1\text{H}$ a $^{13}\text{C}$ signálů {N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu	97
8.2. Obrázky 1D a 2D spekter derivátů roskovitinu	99

## 1. ÚVOD

Cytokininy představují důležitou skupinu látek, které jsou schopny podporovat dělení buněk v rostlinných tkáňových kulturách<sup>[1-3]</sup>. Přírodně se vyskytující aromatické cytokininy jsou N6-substituované adeniny, vyskytující se v podobě volných bází, vázaných na cukr přes N3, N7 nebo N9 (nukleosidy nebo nukleotidy), atd.<sup>[4,5]</sup>. Je zajímavé, že nesubstituovaný purin neexistuje v přírodě a nejjednodušší přírodní se vyskytující forma derivátu purinu je  $\beta$ -D-ribonukleosid - *nebularin*, antibiotikum, izolovaný z hub (*Agaricus nebularis*)<sup>[6]</sup>. Chemie purinů zažívá v posledních letech renesanci, a to je hlavně kvůli purinovým receptorům - především receptorům adenosinu, které se nacházejí ve všech orgánech lidského těla a hrají klíčovou roli, např., - v regulaci tlaku krve, a také jsou důležitým cílem současného zkoumání nových agonistů a antagonistů purinových receptorů.

Schopnost interpretace dat o struktuře sloučenin je nezbytnou součástí nejen chemických věd. Prokázání struktury vede k jednoznačné identifikaci nově získaných látek, pochopení jejich chemických vlastností nebo dokonce k možnosti přípravy přírodních látek syntetickými metodami. Významnou úlohu v identifikaci struktury organických, přírodních a syntetických sloučenin má nukleární magnetická rezonance vysokého rozlišení v roztoku (stav maximálně přiblížený biochemickým, „fyziologickým“, podmínkám). Využívá se k analýze chemických individuů i směsí malých molekul až biomakromolekul<sup>[7,8]</sup>. Tato metoda byla objevena Edwardem Purcellem a Felixem Blochem (v roce 1952 byli oceněni Nobelovou cenou za fyziku)<sup>[9]</sup>. Nezaměnitelnými jsou dvoudimenzionální (2D) experimenty, zvláště, homo- a heteronukleární experimenty s nepřímou detekcí a jednovazebnou nebo vícevazebnou korelací:  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gCOSY a  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gTOCSY;  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMQC a  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMBC;  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMQC a  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMBC.

K přesné identifikaci sloučenin, zvláště sloučenin s významným biologickým a farmakologickým účinkem, slouží série 2D NMR spekter. Jedná se o přiřazení konkrétních signálů v našem případě derivátů *roskovitinu* v NMR spektrech. Měření 2D NMR spekter těchto organických sloučenin je nezbytně nutné. Vzniklé chyby vyplývající z interpretace 1D NMR experimentů totiž často vedou k nesprávným závěrům nejen o struktuře konkrétních derivátů ale i o strukturním typu, např., metabolitů, jejich farmakodynamice, farmakokinetice atd.

Cílem diplomové práce je identifikace a prokázání strukturního složení série derivátů *roskovitinu*, pomocí 1D a 2D NMR spektroskopie, metodou přiřazení vodíkových, uhlíkových a dusíkových signálů v NMR spektrech. Zkoumány byly deriváty *roskovitinu*, jakožto vybrané látky s vysokou protinádorovou aktivitou.

Diplomová práce se skládá ze třech základních částí. V první části je uveden stručný přehled derivátů *roskovitinu*. Druhá část je věnovaná principům 1D a 2D nukleární magnetické rezonanční spektroskopie. Ve třetí části je provedena identifikace získaných derivátů *roskovitinu* a shrnuté samotné experimentální výsledky NMR studia zkoumaných látek.

## 2. TEORETICKÁ ČÁST.

### 2.1. Deriváty purinu jako CDK inhibitory.

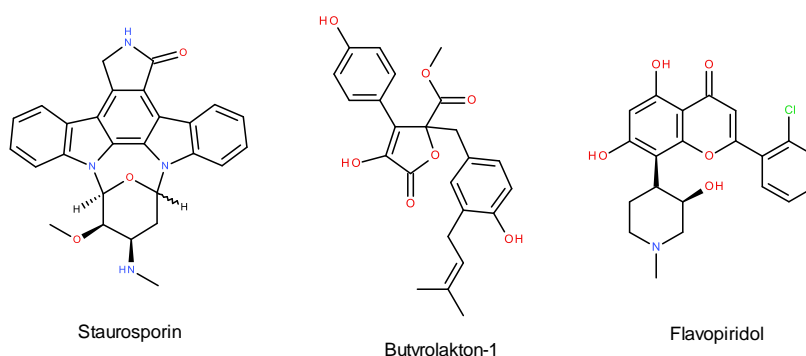
#### 2.1.1. Role purinů v buněčném cyklu.

Komplexy cyklinů a cyklin-dependentních kináz (CDK) hrají klíčovou roli v buněčném cyklu<sup>[10]</sup>. Iniciace, rozvoj a dokončení savčího buněčného cyklu jsou regulované různými CDK komplexy, funkce kterých jsou rozhodující pro růst buněk<sup>[11]</sup>. Tyto komplexy obsahují katalytickou CDK a regulační cyklinové podjednotky. CDK tvoří série dobře konzervovaných serin/theoninových proteinových kináz. Lidský genom je kódován 13 CDK, 48 souvisejícími CDKmi a 25 cykliny<sup>[12]</sup>. Určité CDK odpovídají za fungování různých klíčových buněčných procesů: CDK1, 2, 3, 4, 6, & 7 regulují buněčný cyklus; CDK7, 8 & 9 interagují přímo s transkripčními faktory; CDK5 & 11 kontrolují neuronální funkce, CDK2, 5, 6 & 9 jsou zodpovědné za diferenciaci buněk a CDK1, 2, 4, 5, 6 & 11 ovlivňují apoptózu.

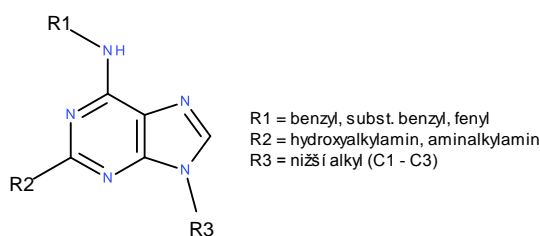
Vývoj nádoru je úzce spojen s genetickými a epigenetickými změnami a deregulací CDK a jejich regulátorů. Inhibitory CDK mohou být potenciálními léky pro léčbu rakoviny a jiných proliferativních onemocnění (revmatoidní artritida, roztroušená skleróza, Parkinsonová nemoc, psoriáza, diabetes atd.), za předpokladu, že nemají vliv i na ostatní buňky v nízkých koncentracích (< 50  $\mu\text{mol/l}$ ). CDK hrají klíčovou roli ve fosforylaci. Katalytická fáze, zprostředkována CDK zahrnuje reakce přenosu fosforu z ATP na makromolekulární složku enzymu<sup>[11]</sup>. Tento objev zrychlil aktivní vyhledávání inhibitorů kináz s vysokou afinitou a specifitou na CDK. Čtyři hlavní skupiny sloučenin jako CDK inhibitory byly identifikovány: deriváty Staurosporinu, butyrolaktonu I a polyhydroxylované flavony jako flavopyridol (všichni tři nejsou purinové deriváty, obr. 1) a výše uvedené 2,6,9-trisubstituované puriny<sup>[13]</sup> (obr. 2). Mezi 2,6,9-trisubstituovanými puriny (obr. 2), nejdříve byl připraven významný inhibitor CDK, jako oligospecifická látka zvaná *olomoucín*<sup>[14]</sup>. Nejméně aktivní 2,6,9-trisubstituované puriny: *bohemín* a *roskovitin* byly objeveny v roce 1997<sup>[15-17]</sup> (obr. 3). *Roskovitin* je látka se zvýšenou inhibiční aktivitou vůči CDK1 a má antimitotický účinek<sup>[16,17]</sup>. Krystalické struktury komplexů CDK2 s purinovými deriváty, včetně *roskovitinu* prokázaly, že inhibitory jsou vázány na ATP v přibližně stejné oblasti, ale s odlišnou orientací, pokud jde o protein<sup>[15]</sup> (obr. 4, 5). Detailní analýza molekulárních a buněčných účinků purinových inhibitorů CDK, podporovaná krystalovou analýzou, motivovala mnoho vědců k pokračování v syntéze a biologickém zkoumání 2,6,9-trisubstituovaných purinů<sup>[18]</sup>. Výzkum přispěl k identifikaci *purvalanolu A* (obr. 6), jednoho z nejsilnějších inhibitorů CDK (má asi 100 krát větší inhibiční aktivitu než *roskovitin*)<sup>[13,19]</sup>.

Další experimenty<sup>[22]</sup> ukázaly, že trisubstituované puriny s hydroxyfenylovou skupinou v poloze C6 benzylaminového radikálu jsou obecně asi 10 krát účinnější než nemodifikované rodičovské (původní) sloučeniny. Výsledkem vývoje 2,6,9-trisubstituovaných purinů, různě substituovaných na benzylovém cyklu molekuly, je objev velmi účinné látky pod názvem *olomoucín II* (podle prvního cytokininového CDK inhibitoru - *olomoucín*). Biologická aktivita takového CDK inhibitoru striktně závisí na poloze hydroxylové skupiny (*ortho* pozice je nejvíce aktivní). Sloučeniny byly testovány na *in vitro* protinádorovou aktivitu na různých buněčných liniích přičemž 2-hydroxybenzylaminové deriváty byly nejméně aktivní. Cytotoxické hodnoty byly překročeny o více než dvojnásobek, v porovnání s nesubstituovaným

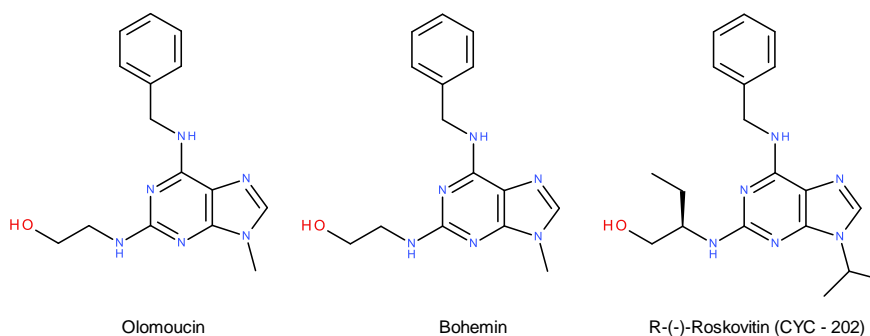
benzylaminovým derivátem<sup>[22]</sup>. *Olomoucín* (první cytokininový inhibitor CDK), má pouze slabou cytotoxickou aktivitu na nádorových buněčných liniích ve srovnání s *olomoucínem II*, který je účinný i při nízkých mikromolárních koncentracích.



**Obrázek 1.** Struktury nepurinových CDK inhibitorů.



**Obrázek 2.** Obecná struktura 2,6,9-trisubstituovaných purinů.



**Obrázek 3.** Struktury prvních třech objevených 2,6,9-trisubstituovaných purinů s inhibicí CDK.

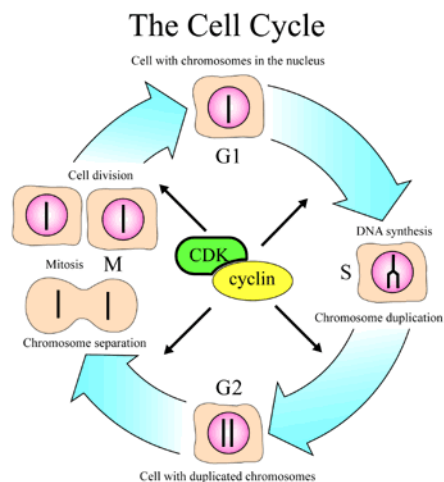
*Olomoucín II* je účinnější *in vitro* proti nádorovým buňkám než *purvalanol A* (jeden z nejvíce aktivních inhibitorů CDK)<sup>[22]</sup>.

V současné době více než 20 inhibitorů CDK prošlo klinickými testy na rakovinu<sup>[23,24]</sup>. Modifikací molekuly *roskovitinu* byly získány další látky se zvýšenou CDK inhibiční aktivitou a cytotoxicitou<sup>[25-31]</sup>. Deriváty s biarylmethylaminovými nebo biarylaminovými substituenty v poloze 6 purinového cyklu, jako je R-CR8 (obr. 6) patří mezi neaktivnější známé CDK inhibitory<sup>[29,30]</sup>. Modifikace *roskovitinu* nebyla omezena jeho postranními řetězci, ale dotkla se též jeho heterocyklické části<sup>[32]</sup>. Sloučeniny, vykazující anti-CDK aktivitu zahrnují trisubstituované pyrazol[1,5-a][1,3,5]triaziny<sup>[33-35]</sup>,



pyrazol[4,3-d]pyrimidiny<sup>[36]</sup> a pyrazol[1,5-a]pyrimidiny<sup>[37-39]</sup>.

Zejména optimalizace sloučeniny z výše uvedených derivátů přinesla další kandidáty na léčivo tzv. *dinaciclib* (obr. 6)<sup>[40-44]</sup>. Ačkoli mnohé selektivní inhibitory CDK prošly klinickými testy, žádný z nich dosud není schválen jako lék, kvůli nežádoucím vedlejším účinkům<sup>[45-48]</sup>.

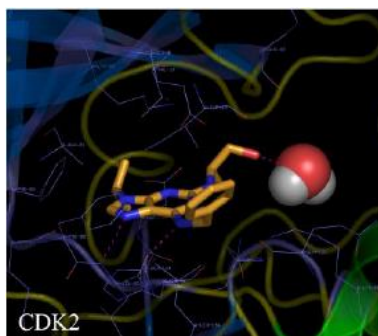


**Obrázek 4.** Buněčný cyklus a CDK - cyklinový komplex<sup>[20]</sup>.

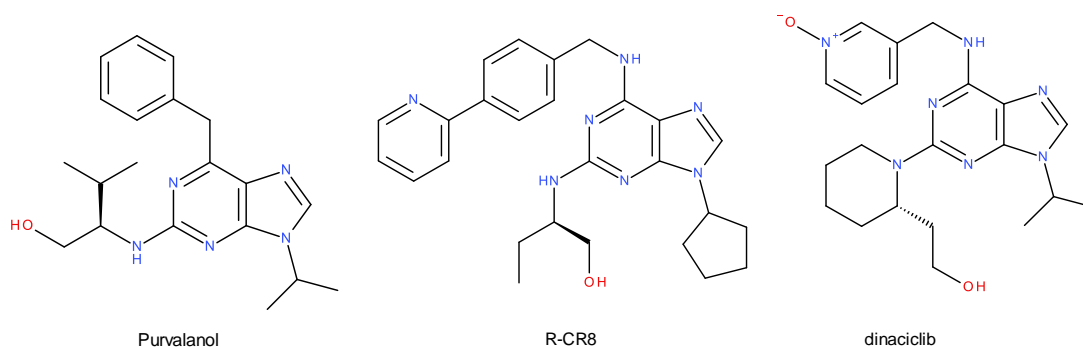
### 2.1.2. SAR purinových inhibitorů CDK (stručné shrnutí).

*C2-substituce*: poloha C2 umožňuje připojení velkého množství různých substituentů, (nejlepší z nich jsou aminalkylaminy a aminalkoholy s nejméně 4 atomy uhlíku, obr. 2). Aminalkoholy jsou obvykle odvozené od odpovídajících  $\alpha$ -aminokyselin (jak R, tak i S konfigurace). Aminalkoholy a aminalkylaminy mohou být i cyklické (aminohexanoly, prolinol, diaminhexany atd.). Přítomnost 2 heteroatomů je nezbytná pro inhibiční aktivitu CDK. Substituce na C2 jednoduchými alkylaminy značně snižuje CDK inhibiční aktivitu<sup>[33,34]</sup>.

*C6-substituce*: nejběžnější substituenty jsou různě upravené benzylové nebo fenylové skupiny. Nejméně aktivní jsou struktury odvozené od *olomoucínu II*, kde zásadní podmínkou je přítomnost hydroxylové skupiny v poloze 2 (*orto*) na fenylovém kruhu. Substituce v poloze 3 (*meta*) fenylového cyklu vede ke snížení aktivity ve srovnání s deriváty se substitucí na 2, ale deriváty se substituenty v pozici 4 (*para*) vykazují stejnou aktivitu, jako deriváty s nesubstituovaným benzylovým cyklem<sup>[33]</sup>.



Obrázek 5. Krystal rozkvitnu s CDK<sup>[21]</sup>.



Obrázek 6. Struktury nejaktivnějších CDK inhibitorů.

*N9-substituce*: zavedení alkylových (1-3 atomy uhlíku) nebo cykloalkylových (3-5 atomů uhlíku) substituentů je obvykle nutné. Nepřítomnost (R = H) substituentů v poloze N9 vede k neaktivním sloučeninám. *Olomoucin* s methylovou skupinou v poloze N9 je relativně slabý purinový inhibitor CDK, zatímco sloučeniny s N9-isopropylou skupinou vykazují nejlepší výsledky. Cyklopentylové deriváty vykazují inhibiční aktivitu podobnou jako jejich isopropylové analogy. „Zvětšení“ alkylové skupiny na N9 výrazně snižuje inhibiční aktivitu<sup>[28]</sup>.

### 2.1.3. Syntéza 2,6,9-trisubstituovaných purinů.

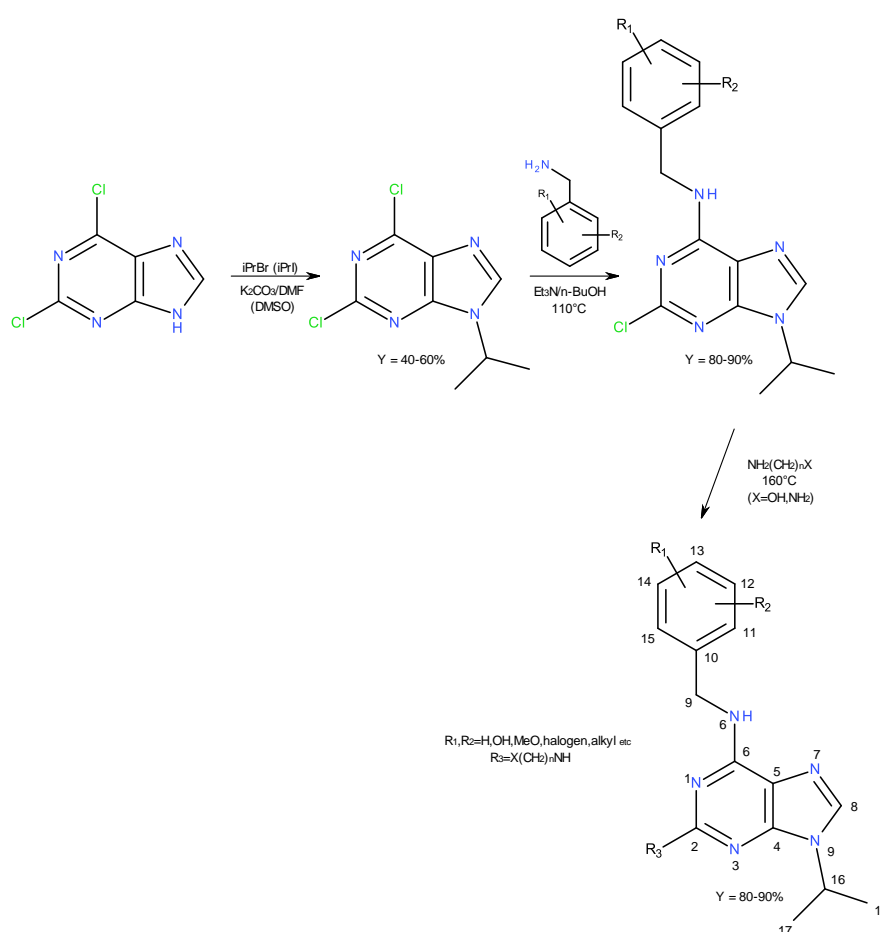
Třístupňová syntéza 2,6,9-trisubstituovaných purinových inhibitorů CDK vychází z komerčně dostupného 2,6-dichlorpurinu, který je obvykle alkylován v N9 pomocí isopropylbromidu nebo isopropyljodidu v přítomnosti uhličitanu draselného v DMFA nebo DMSO<sup>[40,41]</sup> (obr. 7)<sup>[33]</sup>.

Druhým krokem je zavedení nukleofilového substituentu do polohy C6 pomocí vhodně substituovaného benzylaminu nebo anilinu v *n*-butanolu v přítomnosti triethylaminu, při teplotě 110°C.

Posledním krokem je zavedení nukleofilového substituentu do polohy C2 pomocí vhodného aminalkoholu nebo diaminu ve velkém přebytku, při vysoké teplotě (160°C). Konečný produkt se čistí pomocí rekrystalizací nebo kolonovou chromatografií<sup>[28,32,38,42]</sup>.

V případech, ve kterých benzylamin není substituován hydroxylovou nebo amino-skupinou, hrozí nebezpečí alkylace heteroatomu ve druhém stupni. Výchozí 2,6-dichlorpurin může reagovat s odpovídajícím benzylaminem již v prvním stupni s alkylací N9 a nakonec s nukleofilním nahrazením atomu Cl v pozici 2 purinového skeletu aminalkoholem nebo alkylendiaminem<sup>[28,32,38,42]</sup>. Hlavní nevýhodou N9-alkylace 2,6-dichlorpurinu je vedlejší reakce - alkylace N7, která má za následek relativně nízký výtěžek N9-alkylpurinu (60%), který je kontaminován značným množstvím N7-izomeru. Surový produkt se v tomto případě čistí kolonovou chromatografií nebo opakovanou rekrystalizací, což vede ke ztrátě N9-izomeru a molární poměr výsledných izomerů N7 a N9 je asi 3:7<sup>[33]</sup>.

Alternativní způsob alkylace na N9 může být alkylace odpovídajícím alkoholem (metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol atd.) za katalýzy pomocí trifenyfosfinu nebo jiného fosfinového derivátu a dialkylazodikarboxylátu. Reakce byla objevena Oyo Mitsunobou a posléze byla použita při syntéze širokého spektra vysoceefektivních derivátů<sup>[43-63]</sup>.



**Obrázek 7.** Shéma třístupňové syntézy purinových inhibitorů CDK.

## 2.2. Nukleární magnetická rezonanční spektroskopie (NMR).

### 2.2.1. Základní principy NMR.

Dvě skupiny vědců, vedených Blochem a Purcellem objevily, téměř současně, fenomén nukleární magnetické rezonance (NMR). Bloch a Purcell dostali pak Nobelovu cenu za fyziku v roce 1952.

NMR je nejúčinnější metoda pro identifikaci organických sloučenin, která je široce používána v mnoha oblastech<sup>[64]</sup>.

### 2.2.1.1. Nukleární magnetický moment.

Magnetická jádra jsou objekty studované pomocí NMR. Atomové jádro se skládá z neutronů a kladně nabitých protonů. Jádro může mít magnetický moment, když se otáčí kolem jaderné osy. Rotační vlastnosti jádra závisí na spinovém kvantovém čísle  $I$ .

Existují tři možnosti:

1. Jádro se sudým počtem neutronů a sudým počtem protonů má nulové spinové kvantové číslo, například:  $^{12}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$ ,  $^{32}\text{S}$  atd.
2. Jádro s lichým počtem neutronů a sudým počtem protonů, nebo se sudým počtem neutronů a lichým počtem protonů, má poločíselné spinové kvantové číslo, například:  $I = 1/2$ , jako  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{195}\text{Pt}$  atd.;  $I = 3/2$ , jako  $^7\text{Li}$ ,  $^9\text{Be}$ ,  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{33}\text{S}$ ,  $^{35}\text{Cl}$ ,  $^{37}\text{Cl}$  atd.;  $I = 5/2$ , jako  $^{17}\text{O}$ ,  $^{25}\text{Mg}$ ,  $^{27}\text{Al}$ ,  $^{55}\text{Mn}$  atd.;  $I = 7/2$ ,  $9/2$  atd.
3. Jádro s lichým počtem neutronů a lichým počtem protonů má nedílné spinové kvantové číslo, například:  $I = 1$  u  $^2\text{H}$ ,  $^{14}\text{N}$ ;  $I = 2$  u  $^{58}\text{Co}$ ;  $I = 3$  u  $^{10}\text{B}$ .

Z výše uvedeného vyplývá, že pouze jádra patřící 2. a 3. mohou být studovány pomocí NMR. Jádra s nenulovým spinovým kvantovým číslem se nazývají magnetická jádra. Kromě toho, pouze jádra s  $I = 1/2$  jsou vhodná pro NMR měření, protože mají rovnoměrné rozložení náboje. V důsledku toho, nemají žádný elektrický kvadrupólový moment, a proto je pozorujeme v NMR spektrech jako úzké píky. Všechna ostatní magnetická jádra ( $I > 1/2$ ), s nerovnoměrným rozložením náboje se projevují v NMR spektrech, jako široké (*br*) signály. Jádra v tomto případě mají elipsoidní tvar, přičemž kladný (analogicky i záporný) elektrický kvadrupólový moment se dá vypočítat pomocí následující rovnice<sup>[64]</sup>:

$$Q = (2/5)Z(b^2 - a^2) \quad (1)$$

kde  $Q$  je elektrický kvadrupólový moment sféry;  $b$  a  $a$  jsou respektive  $1/2$  délky podélné osy a  $1/2$  délky příčné osy elipsoidu;  $Z$  je náboj sféry.

Všechna jádra s elektrickým kvadrupólovým momentem (pozitivním nebo negativním) mají specifický relaxační mechanismus, s krátkou relaxační dobou, což vede k rozšíření signálů (*br*). To je důvod, proč pouze jádra s  $I = 1/2$  jsou vhodná pro měření NMR. Jádro s nenulovým spinovým kvantovým číslem má moment hybnosti  $P$ , jehož velikost je dána vztahem<sup>[64]</sup>:

$$P = \frac{\sqrt{I(I+1)} h}{2\pi} \quad (2)$$

kde  $h$  je Planckova konstanta. Jádro s momentem hybnosti má magnetický moment, daný:

$$\mu = \gamma P \quad (3)$$

kde  $\gamma$  je konstanta úměrnosti relativně  $\mu$  a  $P$ , známá jako magnetogirický poměr, což je důležitá vlastnost jádra.

### 2.2.1.2. Kvantizace momentu hybnosti a magnetického momentu.

V případě, že je magnetické jádro umístěno ve statickém magnetickém poli  $\mathbf{B}_0$ , umístěné ve směru  $z$ , pak je podle kvantové mechaniky moment hybnosti jádra je kvantován, a přijme jednu z orientací  $2I + 1$  s ohledem na vnější magnetické pole. Povolené projekce momentu hybnosti na ose  $z$ ,  $P_z$ , jsou omezeny na několik diskrétních hodnot, které jsou dané<sup>[64]</sup>:

$$P_z = mh/P_z 2\pi \quad (4)$$

kde  $m$  je magnetické kvantové číslo jádra a nabývá hodnot  $2I + 1$ ;  $m = I, I - 1, I - 2, \dots, -I$ .

Nachází-li se jádro v magnetickém poli  $\mathbf{B}_0$ , které je ve směru osy  $z$ , pak je energie jádra daná rovnicí<sup>[64]</sup>:

$$E = -\mu \cdot \mathbf{B}_0 = -\mu_z B_0 = -\gamma m h B_0 / 2\pi \quad (5)$$

Energetické rozdíly mezi různými energetickými hladinami jsou:

$$\Delta E = -\gamma \Delta m h B_0 / 2\pi \quad (6)$$

Podle kvantové mechaniky jsou přípustné pouze přechody s  $\Delta m = \pm 1$ .

Z toho plyne, že energetické rozdíly pro povolené přechody jsou:

$$\Delta E = \gamma h B_0 / 2\pi \quad (7)$$

Na druhou stranu,  $m = I, I-1, \dots, -I$ , to znamená, že magnetický moment má  $2I+1$  orientací a proto, energetický rozdíl mezi povolenými přechody je:

$$\Delta E = 2\mu_z B_0 / 2I = \mu_z B_0 / I \quad (8)$$

kde  $\mu_z$  je maximální délka projekci  $\mu$  na osu  $z$ <sup>[64]</sup>.

### 2.2.1.3. Nukleární magnetická rezonance.

Existují různé energetické úrovně pro jádra s magnetickým momentem ve statickém magnetickém poli. Jádro projde přechodem, pokud je používána frekvence elektromagnetické vlny dané v (7). Tento přechod  $i$ , je nukleární magnetickou rezonancí (NMR)<sup>[64]</sup>.

Základní rovnice pro NMR je následující:

$$h\nu = \gamma h B_0 / 2\pi$$

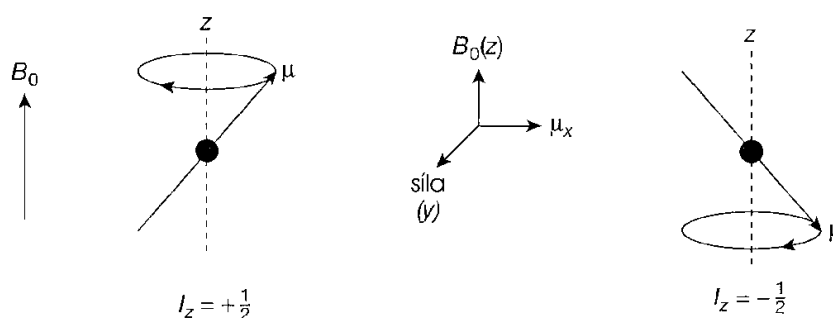
$$\nu = \gamma B_0 / 2\pi \quad (9)$$

kde  $\nu$  je frekvence elektromagnetické vlny.  
S pomocí kruhové frekvence  $\omega$  takto:

$$\omega = 2\pi\nu = \gamma B_0 \quad (10)$$

Na NMR lze pohlížet i z jiného úhlu. Ve statickém magnetickém poli  $B_0$  (podél osy  $z$ ), magnetický moment jádra opisuje kružnici, a koná tak tzv. precesní pohyb (Larmorová precese, obr. 8)<sup>[65]</sup> s Larmorovou frekvencí  $\omega$  (10).

Směry precese jsou určeny znaménkem  $\gamma$ . Předpokládáme-li lineární polarizované oscilující magnetické pole znamená to, že elektromagnetické záření s úhlovou Larmorovou frekvencí  $\omega$  je aplikováno v rovině perpendikulární statickému magnetickému poli  $B_0$ . Toto magnetické pole může být rozděleno do dvou komponent, rotujících v opačných směrech. Jedna z těchto komponent, rotující opačným směrem než jaderná precese, je neefektivní. U druhé jaderná precese excituje, protože rotace probíhá stejným směrem a se stejnou frekvencí, jako jaderná precese. Určitá část energie se přenáší z elektromagnetické vlny na magnetická jádra, která je podstatou NMR<sup>[64]</sup>.



**Obrázek 8:** Interakce rotujícího jádra s externím magnetickým polem<sup>[65]</sup>.

### 2.2.2. Chemický posun.

V roce 1950 Proctor a Yu pozorovali dva NMR signály v roztoku dusičnanu amonného. Bylo tedy zřejmé, že vzniklé dva signály patřily amonnému a dusičnanovému iontu. Můžeme tedy vyvodit, že pomocí NMR lze rozlišit signály jádra stejného izotopu s různým chemickým okolím<sup>[64]</sup>.

#### 2.2.2.1. Konstanta magnetického stínění.

Uvedený jev lze vysvětlit stínícím efektem elektronů kolem jádra. Velikost magnetického pole u jádra je ve skutečnosti o něco menší než velikost aplikovaného pole. Proto by měla být rovnice (9) upravená<sup>[64]</sup>:

$$\nu = \gamma B_0(1-\sigma) / 2\pi \quad (11)$$

kde  $\sigma$  je konstanta magnetického stínění. Tato konstanta ( $\sigma$ ) nezávisí na velikosti magnetického pole, ale je závislá na chemickém okolí jádra. Různé izotopy mají různé hodnoty  $\sigma$ , lišící se o několik řádů, ale hodnoty  $\sigma$  všech izotopů jsou mnohem menší než 1. Pro  $\sigma$  můžeme uvést<sup>[64]</sup>:

$$\sigma = \sigma_d + \sigma_p + \sigma_a + \sigma_s \quad (12)$$

$\sigma_d$  je diamagnetický vliv, na kterém se podílí  $s$  elektrony. Indukce cirkulujících elektronů vytváří diamagnetické pole. Název „diamagnetické stínění“ vznikl z toho, že indukované pole je směřované opačně aplikovanému. Čím je větší hustota  $s$  elektronů kolem jádra, tím menší je síla pole u jádra. Účinkem stínění bude posuv rezonančního signálu jádra ve spektru směrem doprava.  $\sigma_p$  je paramagnetický vliv  $p$  a  $d$  elektronů, které jsou distribuovány nesymetricky kvůli jádru. Vzhledem k tomu, že jsou stíněné jinými chemickými vazbami, směr indukovaného pole se v tomto případě shoduje se směrem aplikovaného pole, a proto vznikl termín „paramagnetické stínění“.  $\sigma_a$  - je anizotropní vlivy sousedních skupin a  $\sigma_s$  - je vliv rozpouštědla (nebo prostředí). Účinky  $\sigma_d$  a  $\sigma_p$  jsou mnohem větší než  $\sigma_a$  a  $\sigma_s$ . Vliv  $\sigma_p$  je mnohem důležitější, než  $-\sigma_d$  pro všechny izotopy, s výjimkou -  $^1\text{H}$ <sup>[64]</sup>.

#### 2.2.2.2. Chemický posun $\delta$ .

Pro daný izotop, se jádra různých funkčních skupin projevují jako NMR signály s různými úseky. To je dáno rozdílnými hodnotami  $\sigma$ . Určitá specifická látka byla vybrána jako vnitřní standard. Všechny polohy signálů funkčních skupin sloučeniny jsou definovány jako<sup>[64]</sup>:

$$\delta = \nu_{\text{sample}} - \nu_{\text{standard}} / \nu_{\text{standard}} \cdot 10^6 \quad (13)$$

kde  $\nu_{\text{sample}}$  a  $\nu_{\text{standard}}$  jsou rezonanční frekvence funkční skupiny a standardu, resp.

$\delta$  je známá jako chemický posun a ukazuje polohu píku pro konkrétní funkční skupinu. Udává se v ppm („parts per million“), což je bezrozměrná veličina. Znaménko je negativní, když je v levé straně spektra (vlevo od standardu). Tetramethylsilan se obvykle používá jako standard, protože má pouze jeden signál a může být snadno odstraněn ze vzorku (bp = 27°C). Další výhodou je to, že běžné funkční skupiny mají kladné hodnoty  $\delta$ .

#### 2.2.3. Spin-spinová interakce.

V roce 1952 Gutowsky a spol. pozorovaly dva signály  $^{19}\text{F}$  u sloučeniny  $\text{POCl}_2\text{F}$ , což vedlo k objevu spin-spinové interakce<sup>[64]</sup>.

##### 2.2.3.1. Spin-spinové štěpení NMR signálu.

Štěpení signálu  $^{19}\text{F}$  je produkováno atomem P, který je připojen k F. Atom P má spinové kvantové číslo 1/2, proto má dvě možné orientací relativně aplikovanému magnetickému poli (s téměř stejnou pravděpodobností): paralelní nebo antiparalelní, což vede buď ke zvýšení

(v případě paralelní orientaci), nebo ke snížení magnetického pole (v opačném případě) v oblasti jádra F. V důsledku toho, je singlet nahrazen dubletem se zhruba stejnou intenzitou podle rovnice 11. Tento efekt, produkující spin-spinové štěpení se jmenuje spin-spinová interakce, jejíž velikost, známá jako vazebná interakční konstanta  $J$  (Hz), je délka mezi sousedními píky v multiplu. Dále je nezávislá na aplikovaném magnetickém poli, nebo frekvenci spektrometru. Je-li více než jedno magnetické jádro ( $s = 1/2$ ) interagují s pozorovanými magnetickým jádry. Signál NMR bude tedy SS pozorovaného jádra, štěpen na další multipl<sup>[64]</sup>.

### 2.2.3.2. Interakční konstanta $J$ .

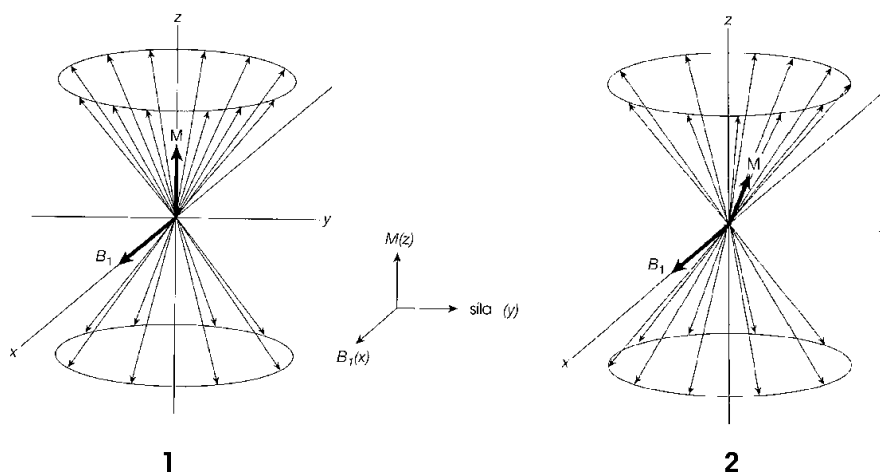
Velikost  $J$  je úzce spojena s počtem chemických vazeb mezi interagujícími jádry (je uveden v horním levém indexu  $^nJ$ ). Vzhledem k tomu, že interakce mezi jádry je zprostředkovaná vazebnými elektrony, velikost magnetizace a tím pádem i velikost  $J$  rychle klesá s nárůstem počtu vazeb. Termín více-vazebná spin-spinová interakce je platný, pokud číslo vazeb je větší než 1 ( $n > 1$ )<sup>[64]</sup>. V  $^1\text{H}$  spektrech o více-vazebné spin-spinové interakci mluvíme většinou, když  $n \geq 4$ , v  $^{13}\text{C}$  je  $n \geq 2$ .  $J$  má algebraickou hodnotu, která se vyznačuje kladným nebo záporným znamínkem. Jestli dva interagující jádra se stejnou orientací jsou na vyšší energetické hladině, než bez interakce, nebo dva interagující jádra s opačnou orientací jsou na nižší energetické hladině, než bez interakce, je jich  $J$  má pozitivní hodnotu. V opačném případě,  $J$  má záporné znamínko. Absolutní hodnotu  $J$  lze vypočítat z odpovídajícího spektra, ale znamínko  $J$  je obtížně získat<sup>[64]</sup>.

## 2.2.4. Magnetizace.

### 2.2.4.1. Koncept – magnetizace.

NMR je jev ansámblu magnetických jader a může být posuzován i z makroskopického hlediska. V statickém magnetickém poli  $B_0$  magnetické momenty určitého typu jader rotují podél několika os, počet a orientace, kterých jsou určeny spinovým kvantovým číslem  $I$ . Je-li  $I = 1/2$  jsou dvě možné orientací/osy podél, kterých magnetické momenty rotují s Larmorovou frekvencí. Podle Boltzmanova zákona, populace magnetických momentů, rotujících (precesirujících) kolem  $B_0$  je o něco větší, než u magnetických momentů, precesirujících kolem  $-B_0$ . Musíme konstatovat, že pouze magnetické momenty reprezentující rozdíl mezi dvěma populacemi, precesirujícími kolem  $B_0$  vytvářejí výslednou magnetizaci<sup>[64]</sup>, jak je uvedeno na obrázku 9(1)<sup>[65]</sup>.





**Obrázek 9:**  $\frac{1}{2}$  Spin jádra v rovnováze (1) a po aplikaci pole  $B_1$  (2)<sup>[65]</sup>.

Za předpokladu, že v jednotkovém objemu máme  $N$  jader definujeme magnetizaci  $M$  jako<sup>[64]</sup>:

$$\mathbf{M} = \sum_{i=1}^N \mu_i \quad (14)$$

kde  $\mu_i$  je  $i$ -ty magnetický moment jádra v jednotkovém objemu. Je zřejmé, že:

$$\mathbf{M} = \mathbf{M}_{\parallel} + \mathbf{M}_{\perp} \quad (15)$$

a

$$\mathbf{M}_{\parallel} = \mathbf{M}_+ + \mathbf{M}_- \quad (16)$$

kde  $\mathbf{M}_{\parallel}$  a  $\mathbf{M}_{\perp}$  jsou složky podél a kolmé  $B_0$ , resp. Jen v statickém magnetickém poli existuje<sup>[64]</sup>:

$$\mathbf{M}_{\parallel} = \mathbf{M}_z = \mathbf{M}_+ = \mathbf{M}_- \quad (17)$$

$$\mathbf{M}_{\perp} = 0 \quad (18)$$

#### 2.2.4.2. Rotující soustava.

V NMR pozorujeme vliv oscilujícího magnetického pole (lineární polarizované magnetické pole) radiofrekvenční vlny  $B_1$ , obrázek 9(2)<sup>[65]</sup>. Lineární polarizované magnetické pole  $B_1$  se skládá ze dvou protiběžných magnetických složek, z nichž jedna má stejný směr otáčení s jadernými magnetickými momenty, která rotuje s Larmorovou frekvencí a ovlivňuje nukleární magnetické momenty.

Laboratorní soustava se skládá ze tří vzájemně kolmých os:  $x$ ,  $y$  a  $z$ , poslední je ve směru  $B_0$ . V rotující soustavě, má osa  $z'$  stejný směr jako  $B_0$ , nebo osa  $z$ , přitom  $x'$  a  $y'$  osy otáčejí se kolem osy  $z'$  s Larmorovou frekvencí a ve stejném směru otáčení jako je precese jaderných magnetických momentů. V rotující soustavě,  $B_1$  je relativně statické, takže lze jeho směr nastavit podél osy  $x'$ .  $M$  je ovlivněna  $B_0$  podél osy  $z'$  a  $B_1$  podél osy  $x'$ . Vzhledem k tomu, že

soustava se otáčí,  $B_v$  (virtuální pole) musí být přidáno do  $B_0$  a  $B_I$ .  $B_v$  má opačný směr než  $B_0$  a jeho velikost je dána následující rovnicí<sup>[64]</sup>:

$$B_v = \omega/\gamma \quad (19)$$

kde  $\gamma$  je magnetogyrická konstanta izotopu a  $\omega$  je frekvence rotující soustavy.  $M$  je ovlivněn magnetickým polem  $B_0$  (obr. 10).  $B_I$  a  $B_v$  jsou uvedené jako  $B_{eff}$ :

$$B_{eff} = B_0 + B_v + B_I \quad (20)$$

v rezonanci:  $\omega_0 = \gamma B_0$  nebo:  $B_0 = \omega_0/\gamma$  (21)

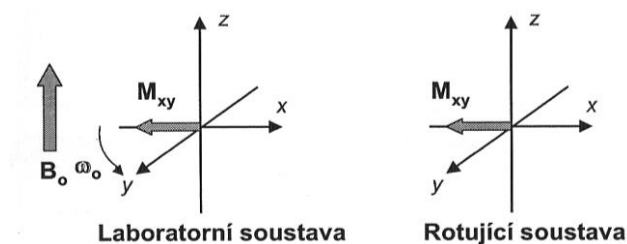
kde  $\omega_0$  je rezonanční frekvence. Dosazením (10) do (21) získáme (22):

$$B_{eff} = B_0 + B_v + B_I = [(\omega_0 - \omega)/\gamma]k + B_I \quad (22)$$

kde  $k$  a  $i$  jsou jednotkové vektory v rotující soustavě, resp. Při  $\omega = \omega_0$ :

$$B_{eff} = B_I \quad (23)$$

Podle (23) magnetizace  $M$  je ovlivněna pouze  $B_I$  za rezonančních podmínek.  $M$  rotuje kolem osy  $x'$  vytváří příčnou komponentu  $M_{\perp}$ , která produkuje NMR signál. Zjednodušeně:  $M_{\perp}$  rotuje v laboratorní soustavě, ve které se nachází detekční cívka. Rotující  $M_{\perp}$  bude průběžně vytvářet potenciál na detekční cívce, což i je NMR signál. Jestli  $\omega \neq \omega_0$ , magnetizace rotuje kolem  $B_{eff}$  (22). Když  $\omega_0 - \omega > B_I$ , magnetizace rotuje kolem osy  $x'$ , to znamená, že neexistuje příčná komponenta a tím pádem - není NMR signál<sup>[64]</sup>.



**Obrázek 10:** Laboratorní a rotující soustava souřadnic<sup>[66]</sup>.

## 2.2.5. Relaxace.

### 2.2.5.1. Koncept – relaxace.

Všechny typy absorpční spektroskopie fungují na stejných principech tj. molekuly vzorku přecházejí z nižší energetické hladiny do vyšší, přičemž molekuly absorbují z elektromagnetické vlny kvanta odpovídající energii, která se rovnají rozdílu mezi těmito dvěma energetickými úrovněmi přechodu. Současně se některé molekuly z vyšší energetické hladiny vrátí na nižší úroveň energie za stejných podmínek.

Pravděpodobnost přechodu z nižší energetické hladiny na vyšší je stejná jako u přechodu z vyšší energetické hladiny na nižší. Rovněž populace na nižší energetické úrovni je o něco větší, než je tomu u populace na vyšší energetické úrovni. Podle Boltzmanova zákona<sup>[66]</sup> tak může být pozorována absorpce signálu.

Pozorování absorpčního signálu je tedy možné, když molekuly z vyšší energetické hladiny jsou schopny neustále se vracet na nižší energetický úroveň. Tento proces „vracení“ je známý jako relaxace. NMR přechody mají nejmenší energetické rozdíly v absorpční spektroskopie a proto, relaxace v NMR musí být brána v úvahu. V případě, že relaxace není efektivní, v systému nastane, tzn. saturace (populace na vyšší energetické úrovni se rovná populaci na nižší), která vede ke zmizení NMR signálu<sup>[64]</sup>.

### 2.2.5.2. Podélná a příčná relaxace.

Je-li splněna rezonanční podmínka,  $M$  rotuje kolem osy  $y'$  v rotační soustavě. Přitom, obě komponenty  $M$  se změní:  $M_{\parallel}$  klesá od  $M_0$  na určitou hodnotu.  $M_{\perp}$  pak vzrůstá z nuly na určitou hodnotu (obr. 9.2)<sup>[65]</sup>. Jakmile začne deklinace (naklánění  $M$  od osy  $z$  k ose  $x$ , respektive  $-y$ ) vektoru magnetizace, relaxace vrátí dvě složky vektoru magnetizace do původního (rovnovážného) stavu ( $M_{\parallel} = M_0$ ,  $M_{\perp} = 0$ ). Existuje řada závislostí mezi relaxací  $M_{\parallel}$  a  $M_{\perp}$ , ale jsou dva typy relaxace, známé jako podélná a příčná relaxace, respektive, které mají fyzický význam, i když oba mají různé mechanismy<sup>[64]</sup>.

Podélná relaxace je relaxace podélné složky (analog osy  $z$ ) vektoru magnetizace. Před deklinací  $M$  (17, 18),  $M_{\parallel}$  je spojená s rozdílem v populaci na 2 souvisejících energetických hladinách. Z energetického hlediska, NMR je proces, při kterém spinový systém absorbuje část energie z okolí za zvýšením populaci na vyšší energetické úrovni. Na druhé straně, podélná relaxace vrací  $M_{\parallel}$  na  $M_0$ , takže populace vyšší energetické hladiny klesá. Jedná se o proces, při kterém spinový systém uvolní část své energie okolí. Podélná relaxace také se nazývá spin-mřížková, kde mřížka znamená okolí.

Příčná relaxace je relaxace příčné složky (v rovině  $x'y'$ ) vektoru magnetizace. Před vložení pole  $B_1$  precesní pohyb magnetických momentů spinů je náhodný (obrázek 9.1), jejich projekce v rovině  $x'y'$  mají rovnoměrné rozdělení. Neexistuje žádná souvislost mezi fází precesí magnetických momentů s výslednou  $M_{\perp}$ . Při rezonanci vektor magnetizace nakloní se a vytvoří příčnou složku (projekci) na ose  $y'$  (nebo v  $x'y'$  rovině, obrázek 9.2). Precesující magnetické momenty se rozdělí podle vějířovité symetrie kolem osy  $y'$ , což znamená, že projekcí magnetických momentů jsou v koherentní závislosti. Příčná relaxace vrací toto koherentní rozdělení magnetických momentů k rovnoměrnému (původnímu) rozdělení. Příčná relaxace je známá také jako spin-spinová relaxace a je to entropický efekt. Nehomogenita přispívá k příčné relaxaci.

Rychlost podélné a příčné relaxace charakterizují  $1/T_1$  a  $1/T_2$ , resp.,  $T_1$  je doba (čas) podélné relaxaci,  $T_2$  - příčné relaxaci a měří se v sekundách.

$$dM_{\parallel}/dt = dM_z/dt = -(M_z - M_0)/T_1 \quad (24)$$

$$dM_{\perp}/dt = -(M_{\perp} - 0)/T_2 = -M_{\perp}/T_2 \quad (25)$$

kde  $M_0$  je hodnota  $M_{\parallel}$  při původních (rovnovážných) podmínkách a nula je hodnota  $M_{\perp}$  při původních (rovnovážných) podmínkách.

Když se  $M$  odkloní od osy  $z'$  k ose  $y'$ ,  $M_{\parallel}$  poklesne a vytvoří se  $M_{\perp}$ . Po působení  $B_1$ ,  $M_{\parallel}$  a  $M_{\perp}$  relaxuje podle svých konstant  $T_1$  a  $T_2$ , podle rovnic 24 nebo 25, resp.  $M_{\parallel}$  se blíží k  $M_0$  tak, aby  $T_1 \geq T_2$ <sup>[64]</sup>.

### 2.2.5.3. Šířka NMR signálu.

NMR signál má určitou šířku kvůli principu neurčitosti kvantové mechaniky<sup>[64]</sup>.

$$\Delta E \cdot \Delta t \approx h \quad (26)$$

$\Delta t$  je doba, během které částice zůstává na energetické úrovni a  $h$  je Planckova konstanta.

V procesu NMR,  $\Delta t$  je určena spin-spinovou interakcí s časovou konstantou  $T_2$ .

Tedy:

$$\Delta E \cdot T_2 \approx h \quad (27)$$

ale  $\Delta E = h\Delta\nu$ , takže:

$$\Delta\nu \approx 1/T_2 \quad (28)$$

Vypočtená šířka (rovnice 28) je tzv. přirozená šířka. Vzhledem k nehomogenitě aplikovaného magnetického pole, k níž také přispívá příčná relaxace, podle patrného relaxačního času  $T'_2$ , který je kratší než  $T_2$ , rovnice 28 se stává 29:

$$\nu \approx 1/T'_2 \quad (29)$$

Důsledkem toho je reálná šířka signálu, měřená v NMR větší než přirozená šířka<sup>[64]</sup>.

## 2.2.6. Pulzní NMR spektrometr s Fourierovou transformací.

### 2.2.6.1. Použití silných a krátkých pulsů.

V rotační soustavě je efektivní pole magnetického jádra dáno<sup>[64]</sup>:

$$\mathbf{B}_{eff} = (\omega_0/\gamma - \omega/\gamma)\mathbf{k} + B_1\mathbf{i} \quad (30)$$

(30) můžeme zapsat i jako:

$$B_{eff} = [(\omega_0/\gamma - \omega/\gamma)^2 + B_1^2]^{1/2} = 1/\gamma[(\omega_0 - \omega)^2 - (\gamma B_1)^2]^{1/2} \quad (31)$$

kde  $\omega_0$  je rezonanční frekvence jádra;  $\omega$  je frekvence rotační soustavy;  $B_1$  je indukční síla rotujícího polarizovaného magnetického pole.

Pro jádra s různými chemickými posuny a interakčními konstantami:

$$B_{\text{eff}} = 1/\gamma[(\omega_{0i} - \omega)^2 - (\gamma B_1)^2]^{1/2} \quad (32)$$

kde  $B_{\text{eff}}$  je efektivní pole  $i$ -tého jádra;  $\omega_{0i}$  je rezonanční frekvence  $i$ -tého jádra.  
Za předpokladu, že šířka NMR spektra je  $\Delta F$  (měřená v Hz) a  $B_1$  je dostatečně silné:

$$\gamma B_1 \gg 2\pi\Delta F \quad (33)$$

Za těchto podmínek může být druhý člen v hranatých závorkách (32) zanedbán, a můžeme tedy uvést:

$$B_{\text{eff}} \approx B_1 \quad (34)$$

Pokud je  $B_1$  dostatečně silné, všechna jádra s různými  $\delta$  a  $J$  mají efektivní pole  $B_1$ . Jinými slovy, všechny vektory magnetizace, odpovídající všem signálům v NMR spektru rotují kolem osy  $y'$  za působení  $B_1$  podél osy  $x'$ . Proto, všechna jádra rezonují současně, i když mají jiné hodnoty  $\delta$  a  $J$ . Podle rovnice (10) rotace všech vektorů magnetizace kolem osy  $x'$ :

$$\Omega = \gamma B_1 \quad (35)$$

kde  $\Omega$  je úhlová rychlost  $\mathbf{M}$  kolem osy  $x'$ . Za předpokladu, že doba trvání  $B_1$  je  $t_p$ , během kterého se  $\mathbf{M}$  otočí na úhel  $\alpha$ :

$$\alpha = \Omega t_p = \gamma B_1 t_p \quad (36)$$

Za předpokladu, že  $\alpha = 90^\circ$  (je známý jako  $\pi/2$  puls):

$$\pi/2 = \gamma B_1 t_p \quad \text{nebo} \quad t_p = \pi/2\gamma B_1 \quad (37)$$

$$\text{za podmíněk (33): } t_p \ll 1/4\Delta F \quad (38)$$

Podle rovnic (33) a (38): všechna jádra mohou být excitována současně použitím silného, avšak krátkého pulsu. Jestli není splněna podmínka (33),  $\mathbf{M}$  bude rotovat kolem  $\mathbf{B}_{\text{eff}}$ , nikoli - kolem  $\mathbf{B}_1$ <sup>[64]</sup>.

### 2.2.6.2. Signál v časové a frekvenční doméně. Fourierova transformace.

Po působení silného, krátkého pulsu se všechny vektory magnetizace odkloní od osy  $x'$  k ose  $y'$  s vytvářením příčných komponent, měřitelných jako  $M_{\perp i}$ <sup>[64]</sup>:

$$M_{\perp i} = M_{y'i}(0)e^{-1/T_2i} \cos(\omega_{0i} - \omega)t \quad (39)$$

kde  $M_{y'i}$  je naměřený signál  $i$ -tého jádra za dobu  $t$ ;  $t$  je doba trvání pulsu;  $M_{y'i}(0)$  je naměřený signál  $i$ -tého jádra při  $t = 0$ ;  $T_{2i}$  je čas příčné relaxace  $i$ -tého jádra;  $\omega_0$  je rezonanční frekvence  $i$ -tého jádra a  $\omega$  je rotační frekvence rotační soustavy.

Člen  $e^{-t/T_{2i}}$  v (39) pochází z příčné relaxace, popsané v (25). Člen  $\cos(\omega_0 - \omega)t$  vyplývá ze skutečnosti, že  $M_{y'i}$  rotuje v  $x'y'$  rovině při  $\omega_0 \neq \omega$ . Signály  $M_{y'i}$  se nazývají FIDy, protože jsou způsobené volně precesujícími příčnými komponentami, které jsou indukované působením pulsů a postupně snižují svoji intenzitu podle odpovídajících příčných relaxačních časů. Vzhledem k tomu, že každý  $M_{y'i}$  vektor má své hodnoty  $\omega_0$  a  $T_{2i}$ , naměřený signál představuje určitý interferogram, pocházející z příspěvků všech FIDů. To je signál v časové doméně, protože se mění časově. Fourierova transformace změní časovou doménu signálu ve frekvenční doménu a výsledkem - je spektrum<sup>[67,68]</sup>. Toto je možné popsat takto<sup>[64]</sup>:

$$F(\omega) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} f(t) e^{i\omega t} dt \quad (40)$$

Fourierova transformace může změnit frekvenční doménu signálu v časovou:

$$\text{FID} = f(t) = \int_{-\infty}^{\infty} F(\omega) e^{i\omega t} d\omega \quad (41)$$

V obou výše uvedených rovnicích (40, 41)  $i$  je imaginární jednotka.

Vzhledem k tomu, že (40) a (41) jsou v různých jednotkách, v (40) je přítomen koeficient  $1/2\pi$ .

Pro pochopení abstraktního výpočtu Fourierovy transformace se používá intuitivní vysvětlení za pomoci trigonometrického vyjádření komplexního čísla, které je:

$$e^{-i\omega t} = \cos \omega t - i \sin \omega t \quad (42)$$

rovnice (40) může být přepsaná jako:

$$F(\omega) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} f(t) [\cos \omega t - i \sin \omega t] dt \quad (43)$$

Reálnou a imaginární složku lze získat z (43). Například:  $\int_{-\infty}^{\infty} f(t) \sin \omega t dt$ , podobně můžeme vypočítat i další složku, protože:  $\cos \omega t = \sin(\omega t + \pi/2)$ .

Pokud  $\omega'$  v  $f(t) = \sin \omega' \cdot e^{-t/T}$  se rovná  $\omega$  v  $\sin \omega t$  a oba:  $f(t)$  a  $\sin \omega t$ , mají stejnou fázi, výsledkem je, že obě složky jsou pozitivní. Když je integrace (suma všech složek) pozitivní, znamená to, že má nenulovou hodnotu. Na druhé straně, je-li  $\omega' \neq \omega$ , pak některé složky jsou pozitivní a některé z nich jsou negativní. Integrace je rovna v tomto případě nule, což lze prokázat striktně i matematicky.

$f(t)$  je přídavek k FIDu s mnoha frekvencemi. Šířka spektra bude stanovena při měření. Hodnotu  $\omega$ , která se postupně mění diskontinuálně z jednoho konce spektrální šířky na druhý, je nutno vypočítat pomocí Fourierovy transformace. Je-li  $\omega$  rovna  $\omega'$ , ve FIDu získáme nenulovou hodnotu integrálu a v NMR spektru máme signál (pík). Pokud  $\omega'$  není rovna  $\omega$ ,

integrální hodnota je nulová a nedostaneme tedy žádný signál (chybí složka na ose  $x$ ,  $\omega$ ). NMR spektrum se získá diskontinuálním výpočtem zadané spektrální šířky<sup>[64]</sup>.

### 2.2.6.3. FT NMR s ohledem na Fourierovu dekompozici.

FT NMR lze vysvětlit i z jiného úhlu pohledu – pomocí pojetí tzn., Fourierovy dekompozice, kde elektromagnetická vlna může být rozložena do řady čtvercových pravoúhlých harmonických složek<sup>[64]</sup>. Čím více je takových složek přidáno, tím více se výsledek blíží reálnému tvaru vlny. Jestli se počet složek zvyšuje až do nekonečna, je tvarem složky čtvercová vlna. Vzorek může „vnímat“ nekonečný počet frekvencí působením pulsu čtvercového tvaru, což znamená, že jádra s různými rezonančními frekvencí rezonují současně, a to prostřednictvím jediného pulsu.

V NMR experimentu jsou aplikované elektromagnetické vlny, modulované čtvercovými pulsy. Modulace je v tom, že jedna funkce se násobí jinou funkcí. Z fyzického pohledu, vzorek může „vnímat“ mnoho diskrétních frekvencí, umístěných v širokém frekvenčním rozsahu.

Křivka amplitud frekvenčních složek může být vyjádřena<sup>[64]</sup>:

$$H(f-f_0) = At_p \sin[\pi(f-f_0)t_p] / PD\pi(f-f_0)t_p \quad (44)$$

kde  $H(f-f_0)$  je intenzita složky s frekvencí  $(f-f_0)$ ;  $A$  je intenzita pravoúhlého pulsu;  $PD$  je cyklus pravoúhlého pulsu;  $t_p$  je doba trvání pulsu.

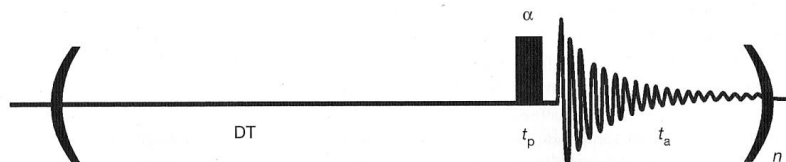
$H(f-f_0) = 0$ , jestli  $(f-f_0) = 1/t_p$ . Protože  $t_p$  je velmi krátké (několik mikrosekund),  $(f-f_0)$  s amplitudou větší než nula, má velmi velký rozsah. Je-li  $(f-f_0) \ll 1/t_p$  (což je realita), hodnoty  $H(f-f_0)$  jsou velice blízké  $H(f_0)$ , což znamená, že NMR signály mají perfektní kvantitativní rozlišení, navzdory jejich různým rezonančním frekvencím. Frekvenční interval mezi každými dvěma složkami je  $= 1/PD$ , který je obecně menší než šířka NMR signálu, a proto se , signály nepřekrývají.

FT NMR se dá popsat dle různého úhlu pohledu (1.6.2 a 1.6.3.). Ve skutečnosti jsou, tyto dva argumenty/pohledy spojeny, a každý z nich podporuje druhý. První argument (rovnice 31-38), dává jasné vysvětlení nezbytnosti pulsu se silným výkonem a krátkou dobu. Za podmínek  $(\gamma B_1)^2 \gg (\omega_{0i} - \omega)^2$ , všechna jádra různých funkčních skupin rezonují současně a mají kvantitativní signály ve spektru. Druhý argument (1.6.3.) vysvětluje to samé (krátký  $t_p$ , při kterém je dosaženo přenosu energie do jádra a pro dosažení dobrého kvantitativního výsledku, puls musí být silný) z pozice frekvenčního rozložení pulsu. Dále, první argument (1.6.2.), který je založen na rotační soustavě s frekvencí  $f_0$ , což je střed frekvenčního rozložení (1.6.3.) a  $\Delta F$  v rovnici (33, 1.6.2.) odpovídá zvolené frekvenční šířce frekvenčního rozložení pulsu (1.6.3). Proto, vlastně souvisejí tyto dva argumenty<sup>[64]</sup>.

### 2.2.7. <sup>1</sup>H NMR.

Ze všech magnetických jader <sup>1</sup>H zaujímá nejvýznamnější pozice, protože má nejvyšší citlivost ze všech magnetických izotopů (přírozené zastoupení <sup>1</sup>H je téměř 100%) a je přítomen ve všech organických sloučeninách. Informace, získané z <sup>1</sup>H NMR spekter jsou :

chemické posuny, interakční konstanty, multiplicita signálů a plochy píku (integrální hodnota). Určení počtu protonových atomů každé funkční skupiny v molekule je velmi užitečné při odvození strukturního složení<sup>[64]</sup>. Na obrázku 11 je schematické znázornění 1D <sup>1</sup>H pulsni sekvence<sup>[65]</sup>.

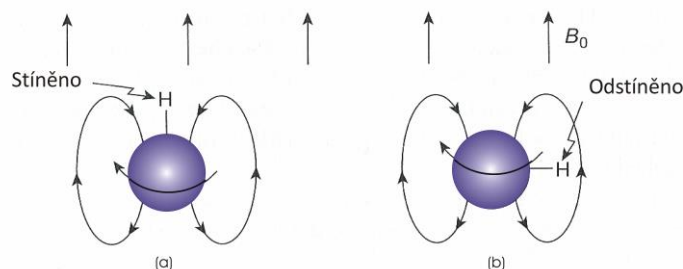


**Obrázek 11:** <sup>1</sup>H-NMR pulsni sekvence<sup>[65]</sup>.

Kde, DT je relaxační doba (jednotky sekund) – vzorek musí zrelaxovat;  $t_p$  je délka pozorovacího pulsu (jednotky  $\mu$ sek);  $t_a$  je akvizitní doba (jednotky sekundy);  $n$  je počet skenů (cyklů) – běžně stačí 8 (i méně). Pozorovací puls způsobí rotaci vektoru magnetizace o sklápěcí úhel  $\alpha$  (dle  $t_p$  a výkonu). Pozn.: pokud je používán sklápěcí úhel  $90^\circ$ , je nutné nastavit dostatečně dlouhý interval  $DT + t_a$ <sup>[66]</sup>.

### 2.2.7.1. Faktory ovlivňující chemický posun protonů.

Magnetické pole v okolí jádra je změněno okolními elektrony z hodnoty  $B_0$  na hodnotu  $B_0(1-\sigma)$ . Magnetické pole indukované elektrony působí proti  $B_0$  a je přímo úměrné elektronové hustotě (diamagnetické stínění). Proton je ovlivněn připojeným atomem i vzdálenějšími atomy. Připojené nebo sousední atomy, či skupiny přitahující elektrony snižují stínění a posouvají rezonanci vlevo – k vyšším frekvencím (k nižšímu poli = „downfield“). Elektropozitivní atomy a skupiny dodávající elektrony zvyšují stínění a posouvají rezonanci vpravo – k nižším frekvencím (k vyššímu poli = „upfield“). Vliv hybridizace uhlíku je:  $\sigma_{sp^3} > \sigma_{sp^2} > \sigma_{sp}$ . Indukce, mezomerie a hybridizace vyvolávají lokální elektronové proudy - přímo ovlivňují elektronovou hustotu. Na stínění protonu však také mají vliv nelokální proudy (čistě magnetický vliv), pokud skupina nemá tvar koule<sup>[66]</sup>. Stínění isotropaní skupiny, např., H-Cl (Cl má tvar koule) je na obrázku 12<sup>[65]</sup>.



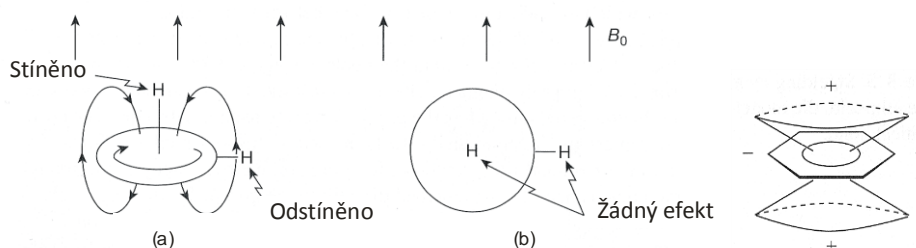
**Obrázek 12:** Stínění isotropaní skupiny u HCl. a) Vazba paralelně s  $B_0$  (vodík je stíněn); b) vazba kolmo k  $B_0$  (vodík odstíněn). U isotropaních substituentů jsou obě orientace ekvivalentní<sup>[65]</sup>.



Většina substituentů však kulovitá není, např., benzen je zploštělý elipsoid (obr. 13)<sup>[65]</sup>,  
 a) rovina kruhu je kolmá na  $B_0$ : proton na okraji je odstíněn (proudy zesílí vliv vnějšího pole); proton nad středem kruhu je stíněn (siločáry působí proti poli); indukované pole je velké (elektrony snadno cirkulují nad a pod kruh);

b) rovina kruhu je rovnoběžná s  $B_0$ : je indukován pouze velmi slabý proud.

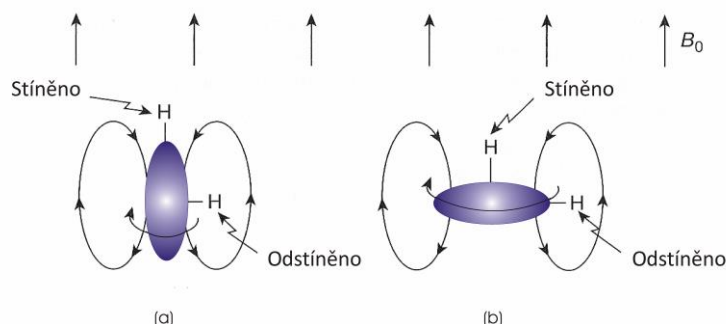
Obě orientace se výrazně liší velikostí indukovaných proudů, proto se nevyruší (diamagnetická anisotropie)  $\Rightarrow$  protony na okraji kruhu jsou odstíněny (7.27 ppm), nad rovinou by byly stíněny.



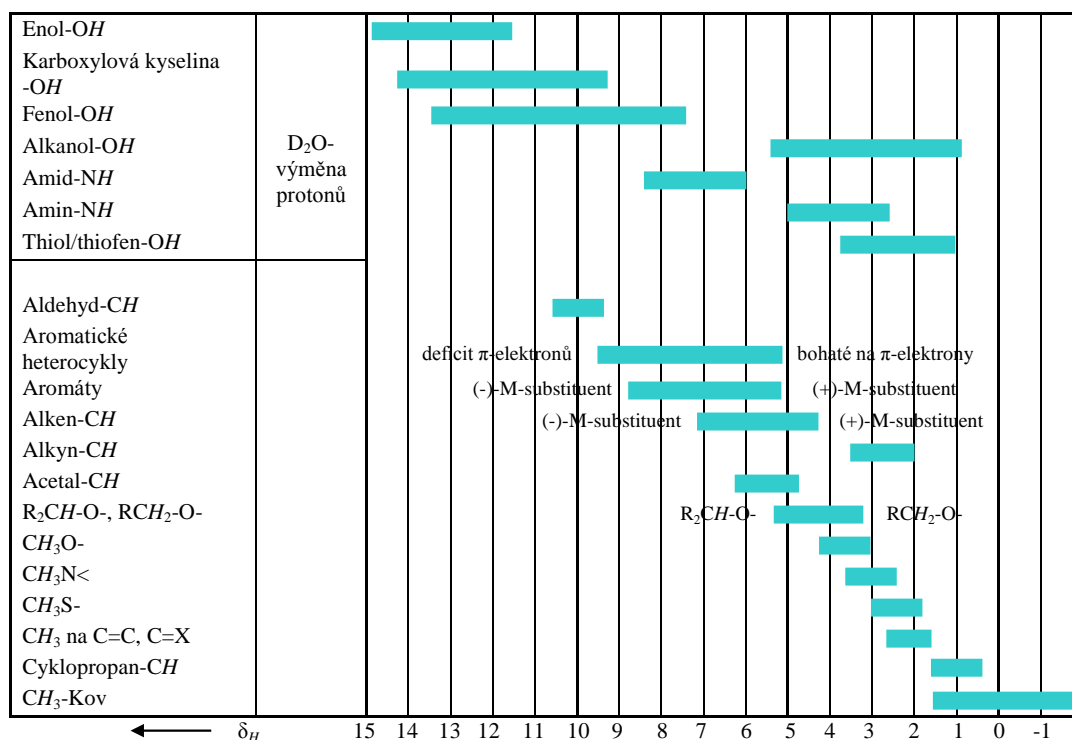
**Obrázek 13:** Stínění zploštělého elipsoidu (aromatický cyklus). a) rovina kruhu kolmá  $B_0$ ; b) rovina kruhu rovnoběžná  $B_0$ <sup>[65]</sup>.

Pro diamagnetické proudění je nezbytná přítomnost  $(4n + 2)$   $\pi$ -elektronů. Systémy s  $4n$   $\pi$ -elektrony se vyznačují paramagnetickým prouděním<sup>[66]</sup>. Například, stínění protáhlého elipsoidu (obr. 14)<sup>[65]</sup>: a) elektrony jsou částečně náchylné k proudění kolem válce a indukované pole stíní proton ležící v delší ose; b) toto uspořádání je pro acetylen neúčinné a proto celkový efekt neruší, výsledkem je rezonance při 2.88 ppm.

Cirkulující náboj kolem jednoduché vazby je méně silný než kolem trojné vazby (větší efekt se projeví, když je vazba kolmá k  $B_0$ ). Protony kolem vazby jsou stíněny více než protony kolem jejího konce<sup>[66]</sup>. Anisotropie volného elektronového páru: proton, vázaný vodíkovou vazbou k volnému páru je odstíněn<sup>[66]</sup>.



**Obrázek 14:** Stínění protáhlého elipsoidu – model chemické vazby (acetylen)<sup>[65]</sup>.



**Obrázek 15:** Rozsah chemických posunů ( $\delta$  ppm) v  $^1\text{H-NMR}$  běžných organických sloučenin)<sup>[69]</sup>.

### 2.2.8. $^{13}\text{C}$ NMR.

Informace o atomech uhlíku z kostry organické molekuly je velmi užitečná pro identifikaci strukturního složení neznámé látky. Například, substituovaný benzen s šesti nevodíkovými substituenty neobsahuje žádné atomy vodíku a proto, nemá žádné  $^1\text{H}$  signály. Nicméně,  $^{13}\text{C}$  NMR spektrum poskytuje informace o struktuře takové látky. Stejný problém představuje  $^1\text{H}$  identifikace některých funkčních skupin, které neobsahují žádné atomy vodíku, ale obsahují atomy uhlíku, jako jsou například, karbonylové skupiny, které jsou identifikovatelné pomocí jejich  $^{13}\text{C}$  NMR spekter.

Oblast chemických posunů ( $\delta$ , ppm) u  $^1\text{H}$  spekter pro běžné funkční skupiny je  $\sim 10$ , zatímco u  $^{13}\text{C}$  NMR spekter oblast  $\delta$ , ppm je asi 200 a může být u některých syntetických sloučenin až do  $\sim 600$ . V důsledku toho, i mírné variace ve struktuře vzorku mohou být zřetelné v  $^{13}\text{C}$  NMR spektru.

V  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopii kvůli vyvinutým dekaplingovým (ozařování určité oblasti spektra nebo kanálu, následkem kterého je zrušení spin-spinové interakce pomocí saturace – „of resonance“) metodám a řadě pulsních sekvencí je možné stanovení typu atomů uhlíku a získání bohaté strukturální informace z  $^{13}\text{C}$  NMR spekter. Relaxace atomů uhlíku může být poměrně dlouhá. Relaxační časy mohou být použity při přiřazení signálů  $^{13}\text{C}$ , což je užitečné pro identifikace neznámé látky<sup>[64]</sup>.

I když výhody  $^{13}\text{C}$  NMR jsou známy již dlouhou dobu, vývoj  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopie má zpoždění ve srovnání s  $^1\text{H}$  NMR asi o 20 let v důsledku těchto faktorů: za prvé,  $\gamma$   $^{13}\text{C}$  jader je

čtvrtina  $\gamma$   $^1\text{H}$  jader (důsledkem je, že  $^{13}\text{C}$  má mnohem nižší citlivost než  $^1\text{H}$ ); za druhé, přirozené zastoupení  $^{13}\text{C}$  je asi 1%, zatímco  $^1\text{H}$  je skoro 100% (důsledkem je, že získávání dat  $^{13}\text{C}$  spekter je mnohem pomalejší, než  $^1\text{H}$ )<sup>[70,71]</sup>.

Obyčejný  $^{13}\text{C}$  spektrum je dekaplovaný (ozářením – dekaplingem  $^1\text{H}$  kanálu je přerušena spin-spinová interakce  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  a všichni  $^{13}\text{C}$  signály jsou *s*). Atomy uhlíku tvoří kostru organické molekuly a všechny strukturální variace jsou patrné v  $^{13}\text{C}$  spektru (jak bylo uvedeno), a to je mnohem zřetelnější než v  $^1\text{H}$  spektru (rozsáh  $\Delta\delta$  takových variací u substituovaného benzenu, například, je jen asi 1,5 ppm v  $^1\text{H}$  spektru, ale asi 60 ppm v  $^{13}\text{C}$  spektru<sup>[72,73]</sup>.

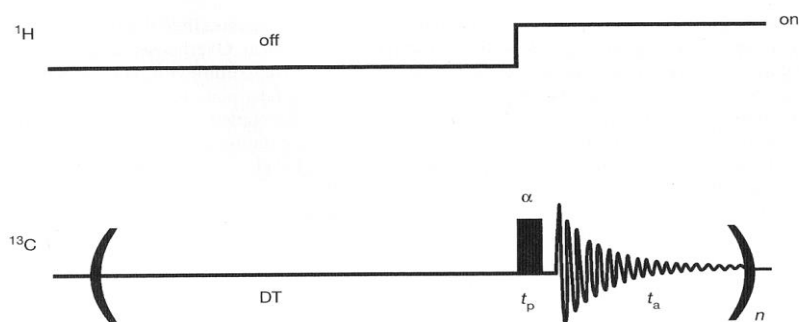
V (12)  $\sigma_d$  hraje důležitou roli v  $^1\text{H}$  spektroskopii, nicméně, to je  $\sigma_p$ , která hraje klíčovou roli v  $^{13}\text{C}$  spektroskopii. Pople a Karplus vypočítali paramagnetické stínění<sup>[74,75]</sup>:

$$\sigma_p = e^2 h^2 / 2 m^2 C^2 \cdot (\Delta E)^{-1} (r^{-3})_{2p} [Q_{AA} + \sum_B Q_{AB}] \quad (45)$$

kde znaménko mínus znamená, že efekt  $\sigma_p$  je opačný, než  $\sigma_d$ ; vyšší hodnota [ $\sigma_p$ ] je silnější u atomu uhlíku;  $(\Delta E)^{-1}$  je hodnota<sup>(-1)</sup> průměrné excitační energie elektronů;  $(r^{-3})_{2p}$  je hodnota předpokládané inverzní kubické vzdálenosti mezi elektrony na 2p orbitalu a jádrem;  $Q$  je úroveň vazby podle molekulárního orbitálního formalismu;  $Q_{AA}$  je příspěvek elektronové hustoty na orbitalu 2p;  $Q_{AB}$  je úroveň vazby mezi zkoumaným jádrem a sousedními jádry.

Nahrazení H elektronegativní funkční skupinou se zvýší  $\delta_H$  a  $\delta_C$ , i když tyto dva mechanismy jsou zcela odlišné: diamagnetické stínění pro H a paramagnetické stínění pro C<sup>[64]</sup>.

Na obrázku 16 je schematické znázornění 1D  $^{13}\text{C}$  pulsní sekvence<sup>[65]</sup>.

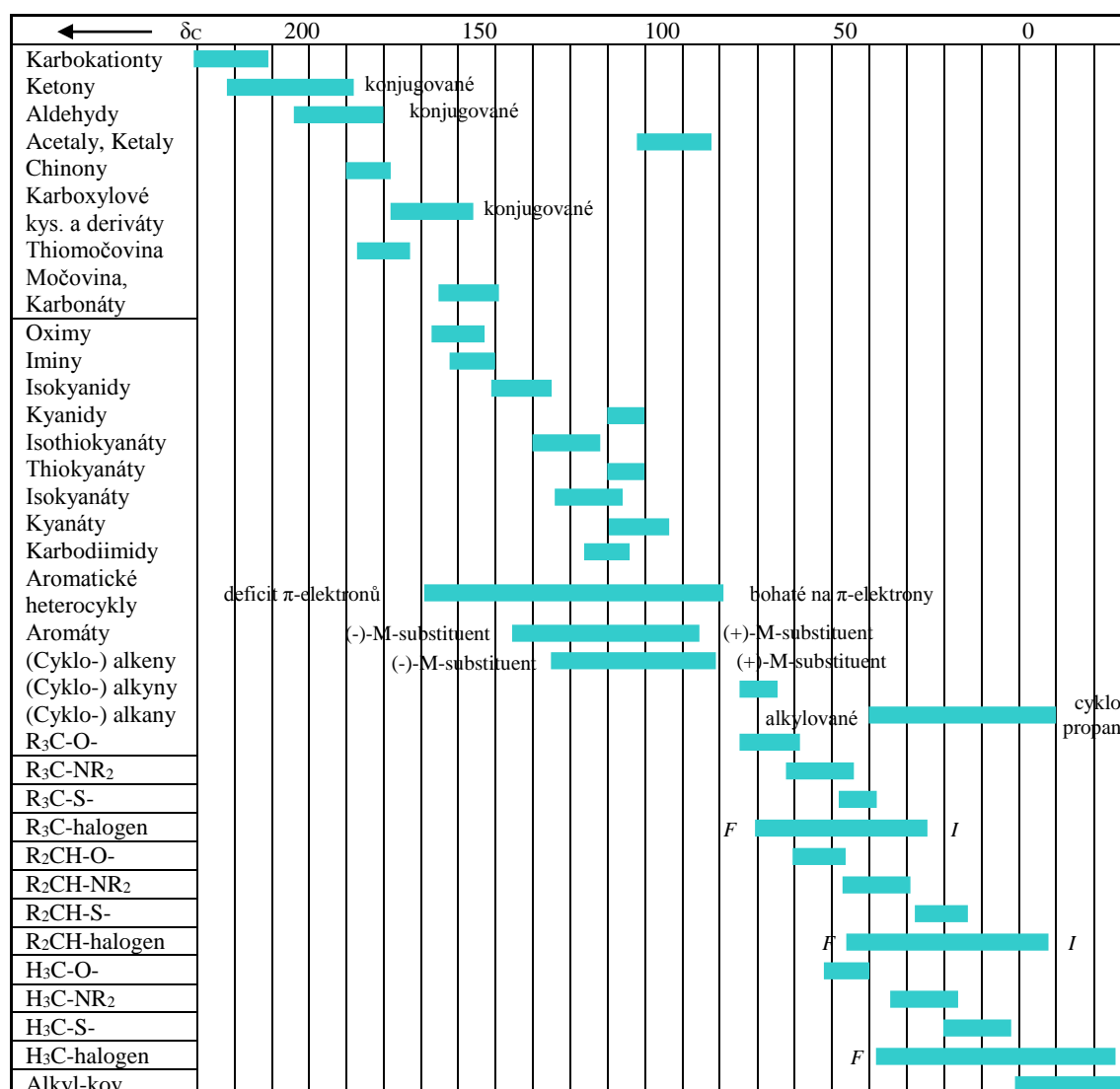


**Obrázek 16:**  $^{13}\text{C}$ -NMR pulsní sekvence<sup>[65]</sup>.

Spektrometr využívá dvou kanálů:  $^{13}\text{C}$  je pozorovací kanál a  $^1\text{H}$  je s širokopásmovým dekaplingem („off“, obr. 16). Přirozené zastoupení  $^{13}\text{C}$  je velmi nízké, proto počet akumulací  $n$  je stovky až tisíce. Používají různé varianty dle dekaplingu: dekaplované spektrum s NOE ( $DT + t_a$ ); kaplované spektrum; klíčovaný dekapling – je kaplované s NOE ( $DT$ ); inverzně-klíčovaný dekapling – je dekaplované bez NOE ( $t_a$ )<sup>[66]</sup>.

### 2.2.8.1. Faktory ovlivňující chemický posun uhlíků.

Rozsah  $\delta$  (ppm) v  $^{13}\text{C}$ -NMR běžných organických sloučenin je uveden na obrázku 17<sup>[69]</sup>.



**Obrázek 17:** Rozsah chemických posunů ( $\delta$  ppm) v  $^{13}\text{C}$ -NMR běžných organických sloučenin<sup>[69]</sup>.

C je určující prvek v organických sloučeninách, ale převažující nuklid  $^{12}\text{C}$  má však  $I = 0$ . Díky pulsním metodám s FT lze využívat i málo zastoupený  $^{13}\text{C}$  (1.11 %). Díky nízké pravděpodobnosti výskytu  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  (0.01 %) se nesetkáváme se štěpením uhlík-uhlík. Integrace je mnohem méně spolehlivá než u  $^1\text{H}$  (rozdílné relaxační časy jednotlivých uhlíků a vliv dekaplingu).

Příspěvek paramagnetického stínění může být dost velký a způsobuje rozšíření rozsahu  $\delta$  na 102-103 ppm<sup>[66]</sup>. Efekt závisí, jak bylo uvedeno, na elektronové hustotě, dostupnosti excitovaných elektronových stávů a přítomnosti  $\pi$ -vazeb<sup>[74,75]</sup>. Nasycené sloučeniny (alkany) nemají nízko položené hladiny excitovaných stavů, proto je  $\sigma_p$  malý a jejich posuny se nacházejí ve vysokých polích (nízké frekvence). N v alifatických aminech nebo O v etherech

také nemají nízko položené excitované stavy a rezonují při nízkých frekvencích také (v  $^{15}\text{N}$  nebo  $^{17}\text{O}$  spektrech)<sup>[66]</sup>.

Karboonylový uhlík (C=O) rezonuje při vysokých frekvencích (je možný přechod volného elektronového páru do protivazebného  $\pi$ -orbitalu).

$\sigma_p$  roste, když  $p$ -elektrony jsou blíže jádru  $\Rightarrow$  substituenty, dodávající elektrony zvyšují odpuzování elektronů a  $\sigma_p$  klesá, naopak substituenty, přitahující elektrony umožňují elektronům dostat se blíže k jádru a  $\sigma_p$  roste (vyšší frekvence). Obecně platí, že efekt substituentu připojeného na uhlík odpovídá jeho elektronegativitě<sup>[66]</sup>.

Násobné vazby rezonují při vyšších frekvencích.

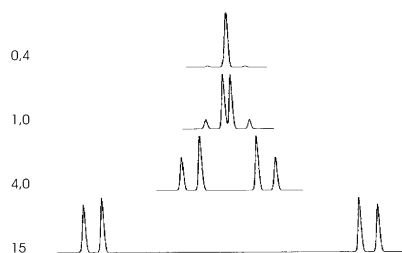
*Efekt těžkého atomu:* zdrojem úhlového momentu je spin-orbitální štěpení – pozorujeme anomální posun k nízkým frekvencím. Například:  $\text{CH}_3\text{Br} > \text{CH}_2\text{Br}_2 > \text{CHBr}_3 > \text{CBr}_4$ <sup>[66]</sup>.

### 2.2.9.1. Spektra prvního řádu.

Rozdíl rezonančních frekvencí dvou jader ( $\Delta\nu$ ) musí být mnohem větší než interakční konstanta ( $J$ ) mezi nimi:  $\Delta\nu/J > 10$ . Při tom: multiplicita signálu přesně odpovídá pravidlu  $2NI + 1$ ; intenzity multipletů odpovídají binominálnímu rozvoji (Pascalův trojúhelník); jádra se stejným  $\delta$  se navzájem neštěpí, i když je mezi nimi nenulová  $J$ ; vzdálenosti mezi sousedními signály multipletu odpovídají  $J$ ; střed multipletu „sedí“ na jeho rezonanční frekvenci. Jádra chovající se dle 1. řádu se označují jako AX (AX2, AX3...)<sup>[66]</sup>.

### 2.2.9.2. Spektra druhého řádu.

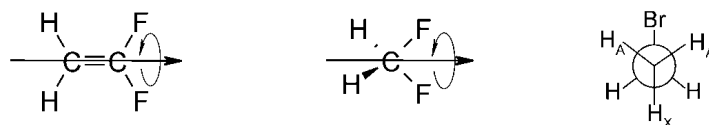
Pokud platí  $\Delta\nu/J \leq 10$ : ve spektrech pozorujeme odchylky (intenzity neodpovídají binominálnímu rozvoji); jádra se pak označují jako typ AB (sousední písmena abecedy). Spektrum 2. řádu se na přístroji s vyšší frekvencí může stát spektrem 1. řádu ( $J$  se nemění, ale mění se rozdíl frekvencí mezi signály). Spektrum (tvar, poměr intenzit) se mění dle poměru  $\Delta\nu/J$  (obr. 18)<sup>[65]</sup>.



**Obrázek 18:** Dvouspinové spektrum s hodnoty  $\Delta\nu/J = 0.4$ ; 1.0; 4.0 a 15<sup>[65]</sup>.

### 2.2.10.1. Chemická ekvivalence.

Chemicky ekvivalentní jádra mohou být vzájemně vyměněna operací symetrie, např., 1,1-difluorethen a difluormethan: rotace o  $180^\circ$  (obr. 19). Jádra zaměnitelná rotací se nazývají homotopická<sup>[66]</sup>.



**Obrázek 19:** Struktury s chemicky ekvivalentními jádry<sup>[65]</sup>.

Zvláštní případ: molekula  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Br}$ : vodíky methylové skupiny nejsou chemicky ekvivalentní ( $\text{H}_A \neq \text{H}_X$ ), ale díky rychlé rotaci kolem vazby C-C se rozdílná okolí jader A a X zprůměrují (obr. 19).

Enantiotopická jádra – spřažená jinou operací symetrie (rovinou): molekula nemá rotační osu, bromchlormethan – protony jsou ekvivalentní a enantiotopické<sup>[66]</sup> (rovina C, Br, Cl, obr. 20).



**Obrázek 20:** Struktura bromchlormethanu s ekvivalentními a enantiotopickými protony<sup>[65]</sup>.

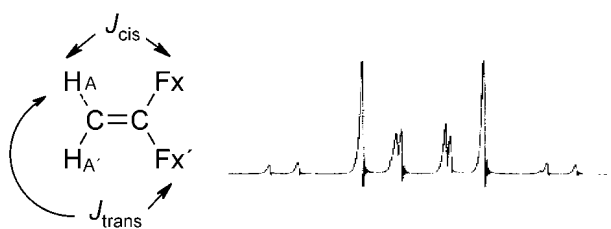
Enantiotopické vodíky se mohou stát v chirálním okolí neekvivalentními (v opticky aktivním rozpouštědle nebo aktivním místě enzymu) - získají rozdílné okolí (zmizí rovina symetrie) a vzniknou dvě rezonance<sup>[66]</sup>.

### 2.2.10.2. Magnetická ekvivalence.

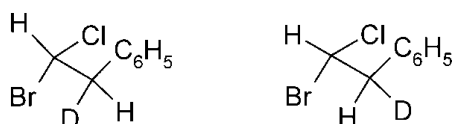
Chemicky ekvivalentní jádra musejí mít stejné interakční konstanty ke všem dalším jádrům v molekule, např., oba protony v  $\text{CH}_2\text{F}_2$  jsou *magneticky ekvivalentní* (stejně  $J$  vůči atomům fluoru). Protony 1,1-difluorethenu jsou *magneticky neekvivalentní*, mají rozdílné interakční konstanty ke každému fluoru ( $J_{\text{cis}}$  a  $J_{\text{trans}}$ , obrázek 21). Spinový systém obsahující jádra chemicky ekvivalentní, ale magneticky neekvivalentní se označuje jako spinový systém druhého řádu (typ  $\text{AA}'\text{XX}'$ ), spektrum zůstává spektrem 2. řádu i při nejvyšších dostupných polích.

Magneticky ekvivalentní jádra musí být chemicky ekvivalentní, magnetická neekvivalence je z hlediska interakční konstanty (pouze různá  $J$ , obrázek 21)<sup>[66]</sup>.

Magnetická neekvivalence z hlediska chemického posunu (chem. neekvivalentní jádra) je: chemická ekvivalence H na různých uhlících se posuzuje na základě symetrie; u geminálních protonů (na stejném C) může být situace složitá, např., nahrazením protonu A nebo B u  $\beta$ -brom- $\beta$ -chlorethylbenzenu deuteriem vzniknou diastereoismery (obr. 22), deuterovaný derivát má 2 stereogenní centra<sup>[66]</sup>.



**Obrázek 21:**  $^1\text{H}$ -spektrum (90 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 1,1-difluoretenu s magneticky neekvivalentními jádry<sup>[65]</sup>.



**Obrázek 22:** Diastereoizomery deuterovaného  $\beta$ -brom- $\beta$ -chlorethylbenzenu.

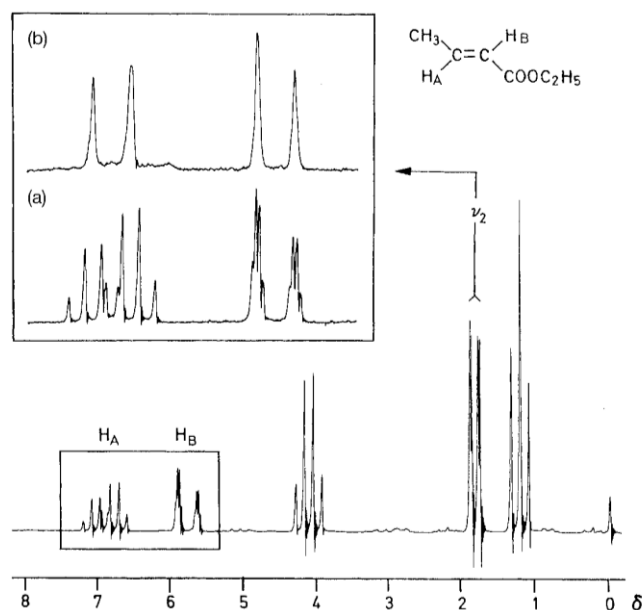
### 2.2.11. Vícenásobná rezonance.

V případě vícenásobné rezonance, na vzorek působí záření o frekvenci  $\nu_1$  a ještě jedno („double resonance“) nebo dvě („triple resonance“) radiofrekvenční pole o jiných frekvencích  $\nu_2$ ,  $\nu_3$ . Na vícenásobné rezonanci je založen vodíkový dekapling  $^{13}\text{C}$  spekter, eliminace signálu rozpouštědla pomocí presaturace atd<sup>[66]</sup>.

#### 2.2.11.1. Spinový dekapling.

V případě, že ozařované a pozorované jádro je totožné (*homonukleární dekapling*): selektivně ozařujeme jednu vodíkovou rezonanci  $\text{H}_X$  a pozorujeme efekt na ostatní rezonance; jádro  $X$  se přepíná mezi stavy  $+1/2$  a  $-1/2$ , ostatní jádra ho nemohou „cítit“; v systému  $\text{AX}$  se odstraní interakce  $\Rightarrow$  signál  $\text{H}_A$  se zjednoduší (bez interakce s  $A$ ); odhalíme navzájem interagující protony<sup>[66]</sup>. Např., ethyl *trans*-krotonát (obr. 23):

Pokud jsou pozorovaná a ozařovaná jádra různá, jde o *heteronukleární dekapling*. Obyčejné  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  spektrum: měříme uhlíkové spektrum a současně ozařujeme protony (potlačí se interakce  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  a spektrum se zjednoduší, singlety). Když, ozařujeme pouze úzkou část frekvencí (*selektivní dekapling*): odstraní se interakce selektivně ozařovaných jader (např., potlačení signálu rozpouštědla). Ozařujeme-li všechny frekvence dekaplovaného jádra při heteronukleárním dekaplingu (*širokopásmový dekapling*), pak ozařujeme vodíky mimo rozsah jejich frekvencí (*mimorezonanční dekapling*, „*off-resonance dekapling*“): zachovají se štěpení; identifikujeme počet připojených vodíků. Dnes se heteronukleární dekapling provádí výhradně pomocí série pulsů (místo  $180^\circ$  pulsu - několik kratších a cyklování fází - zabraňuje zahřívání vzorku)<sup>[66]</sup>.

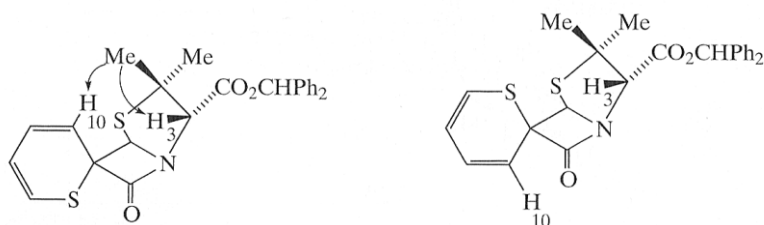


**Obrázek 23:**  $^1\text{H}$  spektrum ethyl *trans*-krotonátu bez dekaplingu (a) a s dekaplingem v oblasti  $\delta = 1.8$  ppm (methylóvá skupina, b)<sup>[76]</sup>.

### 2.2.11.2. Jaderný Overhauserův efekt (Nuclear Overhauser Effect – NOE).

NOE využívá dipól-dipólovou relaxaci a vícenásobnou resonanci. Když, dvě jádra jsou blízko sebe, jedno ozařujeme  $\Rightarrow$  dojde ke změně distribuce Boltzmannovy populace druhého jádra  $\Rightarrow$  změna intenzity rezonance. Není třeba, aby mezi jádry byla spin-spinová interakce. Využití je ve strukturní analýze, neboť dipól-dipólové relaxace závisí na vzdálenosti mezi jádry (obr. 24)<sup>[66]</sup>.

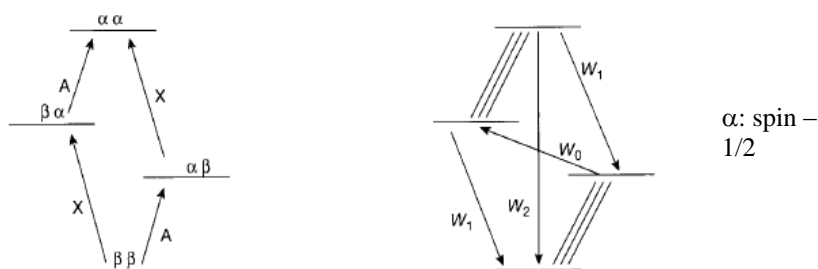
Na obrázku 25 je představen spinový diagram normálního dvouspinového systému do a po dvojitém ozařování, kde jsou 4 možné spinové stavy ( $\beta\beta$ ,  $\alpha\beta$ ,  $\beta\alpha$ ,  $\alpha\alpha$ ) a jsou 2 možné přechody jádra A (jeho stav  $\beta$  přejde do  $\alpha$ ) a 2 možné přechody jádra X. Pokud  $J = 0$ , oba přechody jádra A jsou stejné (stejně jako pro X). Normální intenzity rezonancí A a X jsou určeny rozdílem populací vyšších a nižších spinových stavů ve spinovém přechodu (např. mezi  $\beta\alpha$  a  $\alpha\alpha$  pro jeden přechod X)<sup>[66]</sup>.



**Obrázek 24:** Předpokládané konformace syntetického penicilinu (levá forma je správná, ozáření Me zesiluje signály H10 a H3)<sup>[65]</sup>.

NOE experiment: jedna rezonanční frekvence (A) je dvojitě ozařována a změny intenzity





**Obrázek 25:** Spinový diagram normálního dvouspinového systému (AX, vlevo) a po dvojitým ozařování (vpravo)<sup>[65]</sup>.

jsou monitorovány při jiné rezonanční frekvenci (X). Když je rezonance A ozařována (obr. vpravo – tři paralelní čáry), rozdíl populací mezi spinovými stavy přechodu A klesá vlivem parciální saturace. Zvýší se populace vyšších stavů  $\alpha\alpha$  a  $\beta\alpha$ , sníží se populace stavů  $\beta\beta$  a  $\alpha\beta$ . Relaxace  $W_2$  ( $\alpha\alpha \rightarrow \beta\beta$ ) může vrátit systém do rovnováhy. Ozařování A vyvolá rovnováhu přenášející spiny z  $\alpha\beta \rightarrow \alpha\alpha \rightarrow \beta\beta \rightarrow \beta\alpha$ . Vyčerpává se stav  $\alpha\beta$ , čímž se zesílí X přechod  $\beta\beta \rightarrow \alpha\beta$ , zároveň se obohacuje druhý X přechod  $\beta\alpha \rightarrow \alpha\alpha$ . Zvýšená polarizace jaderných spinových stavů zvýší intenzitu X. Normální relaxace jádra X ( $W_1$ ) nemá na intenzitu vliv. Relaxace  $\beta\alpha \rightarrow \alpha\beta$  ( $W_0$ ) také vrací systém do rovnováhy a působí proti  $W_2$ . Pro kapaliny a malé molekuly platí:  $W_0 \ll W_2$ . Dvojitě ozařování A v molekulách s molekulovou hmotností do  $1000 \text{ g.mol}^{-1}$  tak způsobí zesílení intenzity X, pokud jsou tato jádra dostatečně blízko (cca  $5 \text{ \AA}$ ). U velkých molekul (nad  $5000 \text{ g.mol}^{-1}$ ) převažuje  $W_0$  a intenzita klesá nebo se objeví inverzní signál. U středně velkých molekul efekt mizí ( $M_r$  1000-3000). Pozorovaný nárůst intenzity je vždy menší než teoretický: u stejných jader ( $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ ) je faktor zesílení 1.5 (50 %)<sup>[66]</sup>.

(45)

$$\eta = \frac{\gamma_{\text{irr}}}{\gamma_{\text{obs}}} \left( \frac{W_2 - W_0}{W_0 + 2W_1 + W_2} \right), \quad \eta = \frac{I - I_0}{I_0} \quad I_{\text{max}}(\text{NOE}) = I_0 \left( 1 + \frac{\gamma_{\text{irr}}}{2\gamma_{\text{obs}}} \right).$$

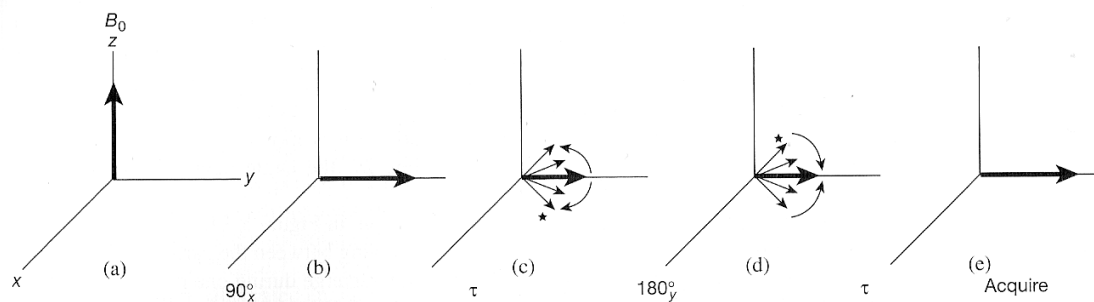
$\eta$  (eta) – změna intenzity;  $I$  – intenzita signálu s ozařováním,  $I_0$  – intenzita bez ozařování;  $I_{\text{max}}$  – maximální navýšení intenzity vlivem NOE.

Některá jádra mají  $\gamma$  záporné  $\Rightarrow \eta$  je také záporné. Může se stát, že signál zmizí (dipolární relaxace není jediným mechanismem)<sup>[66]</sup>.

## 2.2.12. Editační techniky.

### 2.2.12.1. Spinové echo.

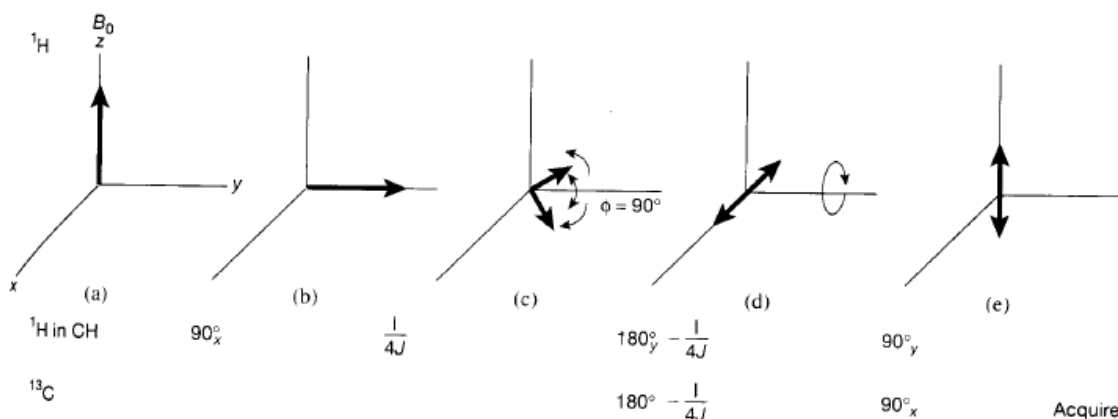
Spinové echo je součástí většiny editačních technik (obr. 26). Na začátku používá se  $90^\circ$  puls (b). Během doby  $\tau$  se spiny vyvíjejí různě (nehomogenita pole nebo spin-spinová interakce)  $\Rightarrow$  rozdělí se (některé jsou rychlejší, jiné pomalejší, c). Následuje - puls  $180^\circ$  a během další doby  $\tau$  (d) se spiny zrefokují (pomalé i rychlé dojdou do osy y, e)<sup>[66]</sup>.



Obrázek 26: Pulsní sekvence spinového echa<sup>[65]</sup>.

### 2.2.12.2. APT experiment („Attached Proton Test“, $J$ -modulované spinové echo).

V APT využívá se poměrně jednoduchá sekvence se spinovým echem, přičemž  $\tau = 1/2J$  (obr. 27). Rozlišíme uhlíky podle počtu připojených vodíků (strukturní informace): kvartérní a methylenové uhlíky budou mít pozitivní signály, zatímco methylové a methinové uhlíky budou záporné (vodíky jsou dekaplovány)<sup>[66]</sup>.



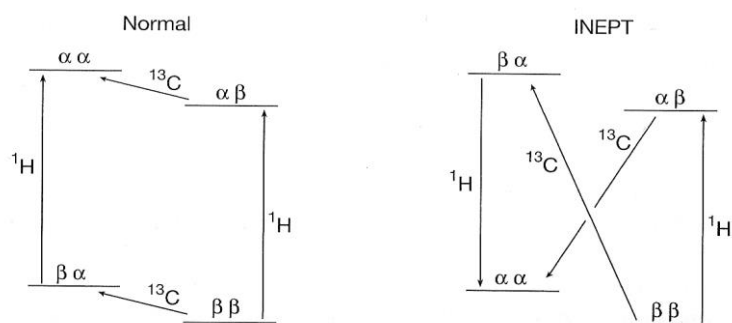
Obrázek 27: Pulsní sekvence <sup>13</sup>C APT experimentu<sup>[65]</sup>.

### 2.2.12.3. Zvýšení citlivosti („sensitivity enhancement“) INEPT („Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer“).

Některá jádra (<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N) mají nízké přirozené zastoupení a nízkou citlivost. Citlivost takového jádra může být zvýšena pomocí citlivého jádra (nejčastěji <sup>1</sup>H). Pulsy jsou aplikovány tak, že příznivá populace citlivého jádra S je převedena na necitlivé jádro I (přenos polarizace, obr. 28)<sup>[66]</sup>.

Používaná sekvence v INEPT:

$$\begin{aligned}
 {}^1\text{H(S)} & 90^\circ_x - 1/4J - 180^\circ_y - 1/4J - 90^\circ_y \\
 {}^{13}\text{C(I)} & 180^\circ - 1/4J - 90^\circ_x - \text{akvizice (obr. 29)}.
 \end{aligned}$$



**Obrázek 28:** Spinový diagram dvouspinového systému ( $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ ) bez (vlevo) a s INEPT pulsni sekvencí (vpravo)<sup>[65]</sup>.

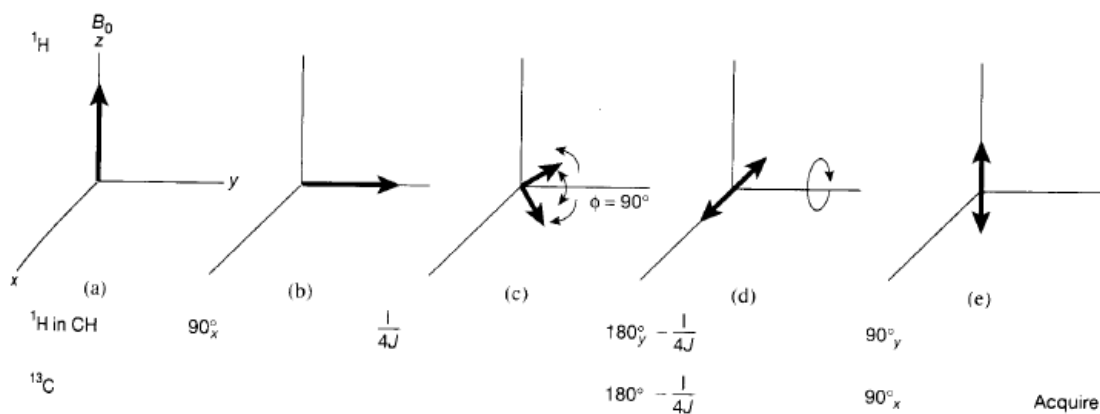
Spinové echo ( $\tau = 1/4J$ ) – rozdělí  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  spinové vektory o  $180^\circ$  (antifáze). Přídavné  $90^\circ$  pulsy umístí vektory do příslušných os. První sada pulsů je aplikována na citlivé jádro, současné  $180^\circ$  pulsy odstraní efekty nehomogenity a dovolí vodíkovým vektorům divergovat (rozbíhat se). Výsledek: protony připojené k uhlíkům se spinem  $+1/2$  jsou uspořádány ve směru  $+z$ , protony připojené k uhlíkům se spinem  $-1/2$  jsou ve směru  $-z$  (antifáze); zesílení signálů necitlivého jádra I<sup>[66]</sup>.

$$I_{\max}(\text{INEPT}) = I_0 |\gamma_{\text{irr}} / \gamma_{\text{obs}}| \quad (46)$$

INEPT experiment má nevýhodu: nelze použít dekapling (všechny signály by zcela vymizely). Používají, tzn. *refokusaný INEPT* (umožňuje použití dekaplingu), který obsahuje dvojnásobnou INEPT sekvenci:

$$\begin{array}{l} ^1\text{H}(\text{S}) \quad 90^\circ_x - 1/4J - 180^\circ_y - 1/4J - 90^\circ_y - 1/4J - 180^\circ - 1/4J \text{ dekapling} \\ ^{13}\text{C}(\text{I}) \quad 180^\circ - 1/4J - 90^\circ_x - 1/4J - 180^\circ - 1/4J \text{ akvizice} \end{array}$$

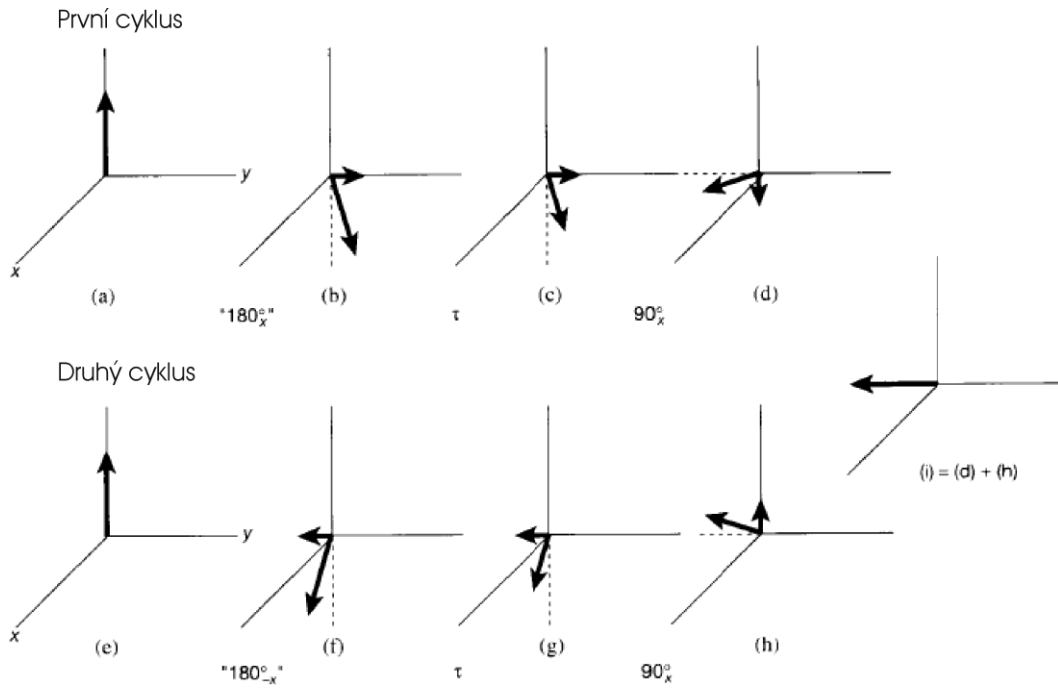
Druhé spinové echo refokusuje spiny do pozitivních píků a získáme dekaplované signály se zvýšenou intenzitou<sup>[66]</sup>.



**Obrázek 29:** Pulsni sekvence ( $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ ) INEPT experimentu<sup>[65]</sup>.

### 2.2.12.4. Cyklování fází, kompozitní a tvarované pulsy. Pulsní gradienty magnetického pole.

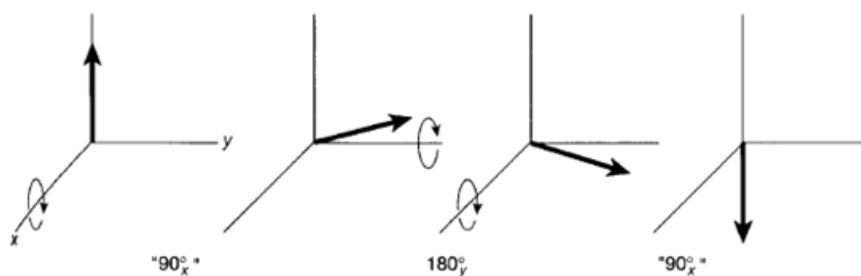
Pro většinu experimentů je nutné používat pulsy přesně 90 a 180°, jinak mohou vznikat různé artefakty a proto používají, tzn. *cyklování fází* (obr. 30)<sup>[66]</sup>.



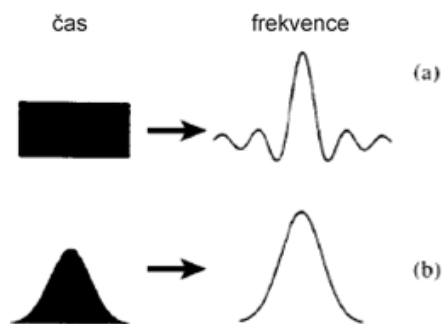
**Obrázek 30:** Cyklování fází v „inversion recovery“ experimentu<sup>[65]</sup>.

V druhém cyklu se použije puls s opačnou fází (rotace o 180° v opačném směru, f). Střídáme pulsy 180 a -180° a chyba se vyruší<sup>[66]</sup>.

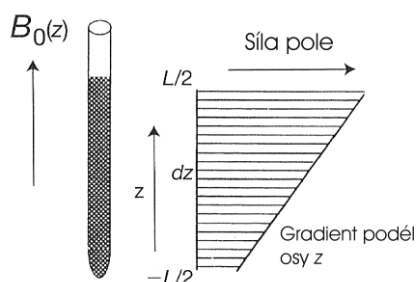
Nepřesnosti v pulsech mohou být odstraněny použitím složených (*kompozitních*) pulsů. Místo pulsu 180° lze použít sérii 90°<sub>x</sub>, 180°<sub>y</sub> a 90°<sub>x</sub> (obr. 31)<sup>[65]</sup>. *Tvrký puls* – pokrývá široký rozsah frekvencí a trvá jednotky mikrosekund. *Měkký puls* (= selektivní) – excituje omezený rozsah frekvencí. Používají nižší výkon RF zdroje, čímž se sníží efektivní frekvenční rozsah. Pro dosažení stejného sklápěcího úhlu při nižším výkonu je třeba delšího trvání pulsu (jednotky milisekund). Nejjednodušší měkké pulsy jsou obdélníkové (pravoúhlé), ale ty způsobují deformaci signálu, kterou lze potlačit *tvarovanými* pulsy (obr. 32)<sup>[77]</sup>.



**Obrázek 31:** Kompozitní puls, adekvátní 180° pulsu<sup>[65]</sup>.



**Obrázek 32:** Signál po FT měkkého pravoúhlého pulsu (a) a tvarovaného Gaussového pulsu (b)<sup>[77]</sup>.



Technika pulsních gradientů magnetického pole má mnoho užitečných aplikací v moderní NMR spektroskopii (všechny nové spektrometry jsou vybavovány sondami alespoň s gradientem v ose  $z$ )<sup>[65]</sup>.

**Obrázek 33:** Diagram  $B_0$  podél osy  $z$ <sup>[78]</sup>.

*Pulsní gradienty magnetického pole* představují uměle vyvolávání nehomogenity magnetického pole (vlivem na příčnou magnetizaci, někdy je vhodné příčnou magnetizaci odstranit, obr. 33)<sup>[66]</sup>.

### 2.2.13. Úvod do 2D NMR.

Použij Fourierovou transformaci FIDu dostaneme do časové závislosti na frekvenci a tím pádem získáme spektrum, ale toto spektrum je jednodimenzionální (1D), protože je zde pouze jedna proměnná - frekvence. Pokud získáme řadu spekter změnou jednotlivých parametrů, například, - teploty, koncentraci, pH atd., vznikne klastr spekter, ale tento ansámbl spekter je stále 1D, protože i tady je pouze jedna proměnná - frekvence. Navíc, spektrum, získané ze sérií spekter metodou „inversion recovery“ za účelem měření  $T_1$ , je také 1D.

2D spektrum je takové, v němž existuje, vztah (korelace) mezi dvěma proměnnými frekvencemi a je získán provedením Fourierovy transformaci dvakrát. Před Fourierovou transformací, dvě proměnné jsou jako časové proměnné:  $t_1$  a  $t_2$ , kde  $t_2$  je akviziční čas a  $t_1$  je čas trvání pulsní sekvence, například  $t_1$  je  $\sigma$  ve spinovém echu. Časové proměnné  $t_1$  a  $t_2$  jsou nezávislé. Jestli osa  $x$  je  $t_2$ , která se zvyšuje zleva doprava a každá křivka je naměřená při hodnotě  $t_1$ , získáme sérii křivek se zvyšujícím se  $t_1$  zdola nahoru podle funkce  $S(t_1, t_2)$ .  $t_2$  se transformuje na  $\omega_2$  v první Fourierově transformaci za konstantní  $t_1$ . Průřez sekce z pravého konce osy  $\omega_2$  ( $y$ ) představuje cosinoidu nebo sinusoidu, která může být podrobena druhé Fourierově transformaci (proměnná  $t_1$  je transformována v  $\omega_1$ ) a získáme funkci dvou proměnných  $S(\omega_1, \omega_2)$ . Výše uvedené může být vyjádřeno<sup>[64]</sup>:

$$\int_{-\infty}^{\infty} dt_1 e^{-i\omega_1 t_1} \int_{-\infty}^{\infty} dt_2 e^{-i\omega_2 t_2} S(t_1, t_2) = \int_{-\infty}^{\infty} dt_1 e^{-i\omega_1 t_1} S(t_1, \omega_2) = S(\omega_1, \omega_2) \quad (47)$$

„Inversion recovery“ měření  $T_1$ :

$$S(t_1, t_2) = e^{-t_1/T_1} \cos \omega_2 t_2 \quad (48)$$

I když funkce  $S$  má dvě časové proměnné, je necyklická funkce  $t_1$  a proto to je není 2D NMR.

### 2.2.13.1. Časové intervaly v 2D NMR.

Existuje několik typů 2D experimentů, nicméně všechny se řídí čtyřmi časovými intervaly: příprava  $\rightarrow$  evoluce  $\rightarrow$  směšování  $\rightarrow$  detekce. První z nich, příprava, je poměrně dlouhý interval (bez pulsů), po jehož uplynutí se spinový systém vrátí k teplotní rovnováze, do reprodukovatelných, výchozích podmínek. Druhý, evoluce  $t_1$ , je interval, v němž je na počátku spinový systém excitován jedním nebo více pulsy. Složky vektorů magnetizace se pak vyvíjejí,  $t_1$  se zvětšuje postupně. Při třetím intervalu „mixing time“,  $t_m$  jsou připravovány detekční podmínky (některé 2D experimenty nemají  $t_m$ ). Během posledního, detekčního  $t_2$ , je detekován FID. Po první FT,  $t_2$  je transformován do  $\omega_2$  (rezonanční frekvence). Po druhé FT,  $t_1$  je transformován do  $\omega_1$ , (hodnota  $\omega_1$  závisí na použité pulsní sekvenci)<sup>[64]</sup>.

### 2.2.13.2. Klasifikace 2D NMR spekter.

2D NMR experimenty jsou klasifikovány takto:

- $J$ -rozlišená spektroskopie („ $J$ -resolved spectroscopy“): se také nazývá  $J$ - $\delta$  (rozlišuje  $\delta$  a  $J$ ), může být homonukleární a heteronukleární
- $\delta$ -korelační spektroskopie („correlation spectroscopy“): se také nazývá  $\delta$ - $\delta$  (korelace mezi rezonančními signály); může být homo-, heteronukleární a také s NOE nebo s chemickou výměnou
- vícekvantová spektroskopie („multiple quantum spectroscopy“)

Obvykle jsou NMR signály měřeny za podmínky  $\Delta m = \pm 1$  (jednokvantový přechod). Více kvantová spektroskopie použitím speciálních pulsních sekvencí umožňuje detekovat vícekvantové přechody ( $m$  je celé číslo větší než 1) v podobě vícekvantových 2D spekter<sup>[64]</sup>.

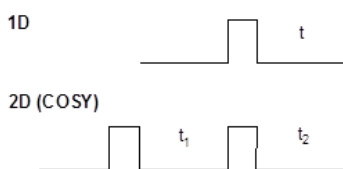
### 2.2.13.3. Zobrazování 2D NMR spekter.

„Stacked trace plot“ (STP) se skládá z uspořádaných 1D spekter (podobně klasteru spekter při měření  $T_1$  metodou „inversion recovery“). STP se dnes používají zřídka.

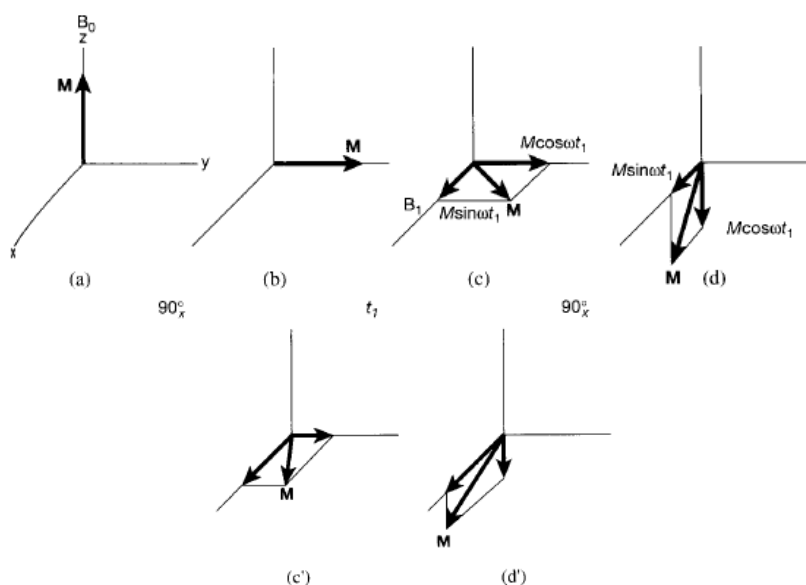
„Contour plot“ (CP) je podobný obrysu mapy. Nejmenší centrální kruh označuje frekvenci píku a počet kruhů - intenzitu. Výhody CP jsou přesné zobrazování rezonančních frekvencí a jejich uložení v čase. CP je nejpoužívanější zobrazování<sup>[64]</sup>.

### 2.2.13.4. Homonukleární $\delta$ - (spin-spinová) korelační spektroskopie („Correlation Spectroscopy“, COSY).

Homonukleární korelační spektroskopie je základní v 2D NMR a je označována zkratkou H,H-COSY, nebo zkráceně **COSY**. Pulsní sekvence (obr. 34): dva pulsy  $90^\circ$  jsou oddělené intervalem  $t_1$ ; FID je snímán během akvizice  $t_2$ ; během evoluční doby  $t_1$  se vyvine mezi spiny určitý vztah (korelace)<sup>[66]</sup>.



**Obrázek 34:** Schéma pulsni sekvence jednoho cyklu v 1D a 2D spektroskopii.

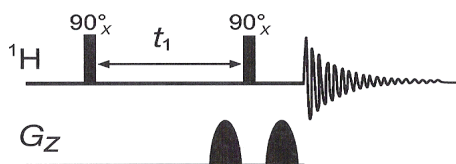


**Obrázek 35:** Pulsní sekvence COSY experimentu<sup>[65]</sup>.

Puls  $90^\circ_x$  převrátí  $M$  do osy  $y$  (b); pak se spiny vyvíjejí v rovině  $xy$  (rotační systém); vektor  $M$  získá složky  $M_x$  a  $M_y$  (c); druhý puls  $90^\circ_x$  přetočí  $M$  do osy  $-z$ , přičemž  $M_x$  se nezmění a  $M_y = 0$  (d); pokud je evoluční doba relativně krátká,  $M_x$  a pík jsou malé, s rostoucí  $t_1$  roste intenzita signálu (c' a d', obr. 35)<sup>[66]</sup>.

Faktory vyvolávající nesymetričnost COSY spektra a falešné signály: rozdíly v digitálním rozlišení period  $t_1$  a  $t_2$  (symetrie); nesprávné délky pulsů (falešné krosníky); neúplná příčná relaxace (falešné krosníky); vliv podélné relaxace (vyvolává  $t_1$ -šum = pruh signálů nad a pod signálem). Artefakty lze minimalizovat optimalizací délek pulsů, dostatečnými relaxačními dobami, cyklováním fází nebo symetrizací spektra<sup>[66]</sup>.

**Gradientová verze COSY (gs-COSY).** Pulsní sekvence gs-COSY obsahuje dva gradienty obklopující čtecí pulz (obr. 36.)<sup>[65]</sup>. Proti ngradientové verzi, stačí 1-2 skeny na každou sérii (místo původních 8-16); stačí kratší relaxační doba ( $t_1$ ), aniž bychom pozorovali artefakty<sup>[66]</sup>.

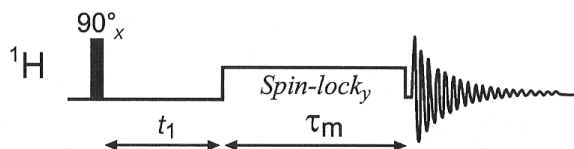


**Obrázek 36:** Pulsní sekvence gs-COSY<sup>[65]</sup>.

**COSY jiných jader.** COSY je základní experiment, který je vhodný pro každé jádro se spinem  $\frac{1}{2}$  a stoprocentním přirozeným zastoupením. Pro organofluorové sloučeniny se používá  $^{19}\text{F}$ - $^{19}\text{F}$  COSY (F,F-COSY). Pro organofosforové sloučeniny se používá  $^{31}\text{P}$ - $^{31}\text{P}$  COSY (P,P-COSY)<sup>[37]</sup>. Pokud má nuklid menší zastoupení než 100 %, je nutné použít jiný experiment (nejčastěji je používán 2D INADEQUATE – „*Incredible Natural Abundance Double Quantum Transfer Experiment*“) <sup>[79]</sup>.

### 2.2.13.5. Celková korelační spektroskopie („Total Correlation Spectroscopy“, TOCSY).

Je zřejmé, že je velmi užitečné pozorovat v jednom spektru veškeré korelace atomů vodíku ve spinovém systému, kde interakční konstanty mezi dvěma vodíkovými atomy více než přes tři vazby mohou být i nulovými<sup>[64]</sup>. Braunschweiler and Ernst navrhli ve svém článku název TOCSY, podle pulsni sekvence <sup>[80]</sup>. Později Bax a Davis navrhli termín HOHAHA („Homonuclear Hartmann-Hahn Spectroscopy“) podle mechanismu pulsni sekvence (přes homonukleární Hartmann-Hahn kros polarizaci)<sup>[81]</sup> a ukázali na to, že HOHAHA úzce souvisí s TOCSY. Ve skutečnosti, v literatuře tyto termíny jsou zaměnitelné. Princip pulsni sekvence TOCSY (obr. 37) spočívá ve vývojovém čase („evolution time“)  $t_1$ , jenž začíná koncem  $90^\circ$  pulsu. Vektory příčné magnetizace precesují podle jejich „offset“-ových frekvencí ( $\nu_i - \nu_0$ ) v rovině  $x'y'$ , resp., fungují, jako spinový zámek („spin-lock“,  $\nu_i$  – je rezonanční frekvence  $i$ -tého jádra a  $\nu_0$  – je rotační frekvence rotačního systému). Během  $t_1$  existují pouze slabé interakce, které jsou jenom v tzn., režimu „single spin mode“. Izotropní míšený čas  $\tau_m$  („mixing time“) charakterizuje TOCSY<sup>[64]</sup> (specifická pulsni sekvence v  $\tau_m$  TOCSY není znázorněna na obr. 37) <sup>[65]</sup>.



**Obrázek 37:** Pulsní sekvence TOCSY<sup>[65]</sup>.

„Single spin mode“ se změní na „collective spin“ režim. Interakce se přenesou během krátkého  $\tau_m$  (20 ms) přímo na interagující (vázaná) jádra a během dlouhého  $\tau_m$  (50-100 ms) na celý spinový systém. Během detekčního času, silné izotropní interakce se stanou slabými, přitom, chemické posuny a interakční konstanty hrají roli<sup>[64]</sup>. Jinými slovy, všechny interagující spiny v rámci spinového systému se stanou velmi blízkými navzájem a magnetizace je přenášena



z jednoho spinu na všechny ostatní<sup>[66]</sup>. Použitím TOCSY s dlouhým  $\tau_m$  mohou být pozorované krosníky, patřící všem atomům vodíku daného spinového systému. Základní princip pulsní sekvence HOHAHA lze vysvětlit: během  $t_1$ , který začíná se koncem  $90^\circ$  pulsu, vektory příčné magnetizace jsou určitým způsobem označeny; během  $\tau_m$ , pomocí kros polarizace. Podle Hartmann-Hahn pravidla se vektory příčné magnetizace zvětšují („isotropic mixing“), a pak následuje detekce během  $t_2$ . Pulsní sekvence HOHAHA je stejná jako ROESY („Rotating Frame Overhauser Effect 2D Spectroscopy“) jenom intenzita pole HOHAHA je mnohem silnější než ROESY<sup>[64]</sup>.

### 2.2.13.6. Proton-protonové korelace přes prostor (NOESY, ROESY).

K přenosu magnetizace lze využít i jiné mechanismy, než je nepřímá skalární interakce. Ozařováním jednoho protonu lze přenést magnetizaci na okolní protony prostřednictvím dipolárních interakcí (jaderný Overhauserův efekt, NOE)<sup>[66]</sup>. Je užitečné zobrazení NOE informací prostřednictvím 2D spektra, i přes to, že má nižší citlivost, než 1D NOESY („Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy“), hraje důležitou roli při určování struktury, konfiguraci a konformaci organických sloučenin, poskytuje informace o struktuře biologických molekul a zajímá významné postavení v 2D spektroskopii. Pulsní sekvence NOESY se skládá ze tří neselektivních  $90^\circ$  pulsů:

$$90^\circ - t_1 - 90^\circ - \tau_m - 90^\circ - t_2 \text{ (akvizice)} \quad (49)$$

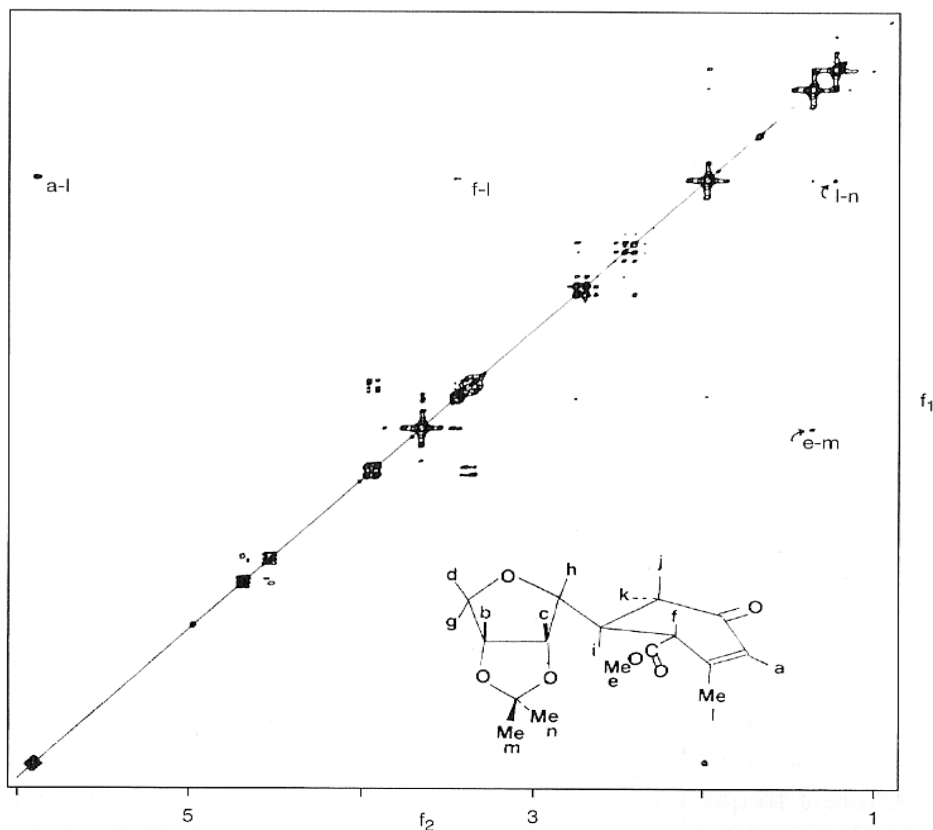
Po prvním  $90^\circ$  pulsu, se vektory magnetizace odkloní od osy  $z$  k ose  $y'$  s vytvořením během evolučního  $t_1$ , odpovídajících vektorů příčné magnetizace. Tyto precesírují v ploskosti  $x'-y'$  s charakteristickými frekvencemi (tj. rozdíl mezi jejich rezonanční frekvencí a rotační frekvencí systému ordinát). Fungují jako značené spiny nebo frekvence. Po druhém  $90^\circ$  pulsu, vektory příčné magnetizace, precesírující v ploskosti  $x'-y'$  překloupí se z ploskosti  $x'-y'$  do ploskosti  $x'-z'$  s vytvořením odpovídajících vektorů podélné magnetizace. Pokud zůstanou některé složky vektorů příčné magnetizace potom musí být odstraněny. Vynechává příčnou relaxaci během  $t_1$ , na konci druhého  $90^\circ$  pulsu, vektor podélné magnetizace jader A,  $M_{zA}$  je reprezentován<sup>[64]</sup>:

$$M_{zA}(t_1) = -M_{0A} \cos [(\omega_A - \omega)t_1] \quad (50)$$

kde,  $M_{zA}(t_1)$  je vektor podélné magnetizace jádra A na konci  $t_1$ ;  $M_{0A}$  je vektor magnetizace jádra A v rovnováze;  $\omega_A$  a  $\omega$  jsou rezonanční frekvence jádra A a rotační frekvence rotačního systému ordinát, resp.,  $\tau_m$ , začne po druhém  $90^\circ$  pulsu. V případě, že jádro X se nachází v blízkosti A, mezi nimi vzniknou dipól-dipólové interakce, které pomocí krosrelaxací produkují NOE (viz 2.2.11.2.). Vlivem této krosrelaxace,  $M_{zA}$  se postupně snižuje, ale s nárůstem  $M_{zX}$ . Na konci  $\tau_m$ , vektor podélné magnetizaci jádra X má hodnotu  $CM_{zA}(t_1)$ , kde  $C$  je určeno hodnotami  $\tau_m$  a rychlostí krosrelaxace. Působením třetího  $90^\circ$  pulsu,  $M_{zX}$  překloupí se z ploskosti  $x'-z$  do  $x'-y'$  za vytvoření vektoru příčné magnetizace, který bude precesírovat v ploskosti  $x'-y'$  s frekvencí  $\omega_A - \omega$  a který produkuje detekovatelný signál během  $t_2$ . Pro signál jádra X (v časové doméně) můžeme uvést:

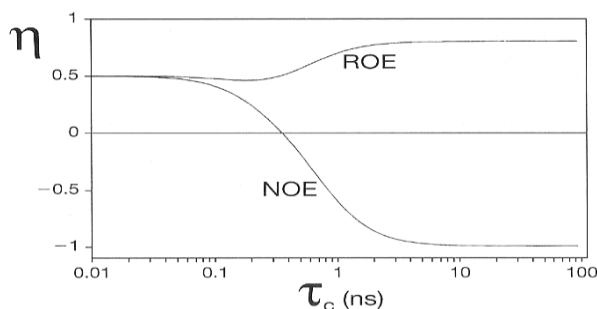
$$S_X(t_1, t_2) = CM_{0A} \cos [(\omega_A - \omega)t_1] e^{i(\omega_X - \omega)t_2} \quad (51)$$

kde  $S_X(t_1, t_2)$  je signál jádra X v časové doméně, který je funkcí  $t_1$  a  $t_2$ . Podle (51), signál jádra X je modulován rezonanční frekvencí jádra A.



**Obrázek 38:**  $^1\text{H}$  NOESY spektrum označené sloučeniny (obrázek)<sup>[81]</sup>.

Krospíky v takovém 2D spektru jsou korelace jader, mezi kterými existuje NOE. V případě, že nejsou odstraněny všechny zbývající vektory příčné magnetizace po druhém  $90^\circ$  pulsu, oni mohou být odstraněny pomocí pulsních gradientů nebo změnou fáze druhého  $90^\circ$  a třetího  $90^\circ$  pulsů<sup>[64]</sup>, a proto se běžně používají fázově-citlivá spektra (záporné jsou diagonální signály, COSY artefakty a signály chemické výměny; kladné - pouze NOESY krospíky, (obr. 38)<sup>[66]</sup>. V případě měření NOESY vzorku s velkou nebo naopak, s malou molekulo-vou hmotností, mohou některé krospíky chybět. ROESY (dříve známý jako CAMELSPIN – „cross relaxation appropriate for minimolecules emulated by locked spins“) je ideálním řešením v této situaci. Pulsní sekvence ROESY je podobná TOCSY (obrázek 37) s využitím spinového zámku („spin locking“), který optimalizuje přenos magnetizace prostřednictvím dipolárních interakcí ( $\tau_m = 100\text{-}500$  ms, nižší výkon, obrázek 39). Zatímco NOE postupně klesá k nule nebo nabývá záporných hodnot, maximum ROE zůstává kladné a dokonce vzrůstá o 50 - 67.5%<sup>[78]</sup>. Signál je tedy zesílený a navíc je potlačena spinová difuze. ( Signál může obsahovat TOCSY artefakty, které lze odstranit úpravou pulsní sekvence nebo odlišit fázově citlivou variantou experimentu - nejčastější experimentální provedení)<sup>[66]</sup>.



**Obrázek 39:** Faktor zvětšení ( $\eta$ ) jako funkce efektivního korelačního času ( $\tau_c$ ) u NOE a „rotating-coordinate“ (ROE) experimentu<sup>[78]</sup>.

### 2.2.13.7. <sup>1</sup>H detekovaná heteronukleární korelační spektroskopie.

Poměr signál/šum ( $S/N$ ) v 1D experimentech<sup>[82]</sup>:

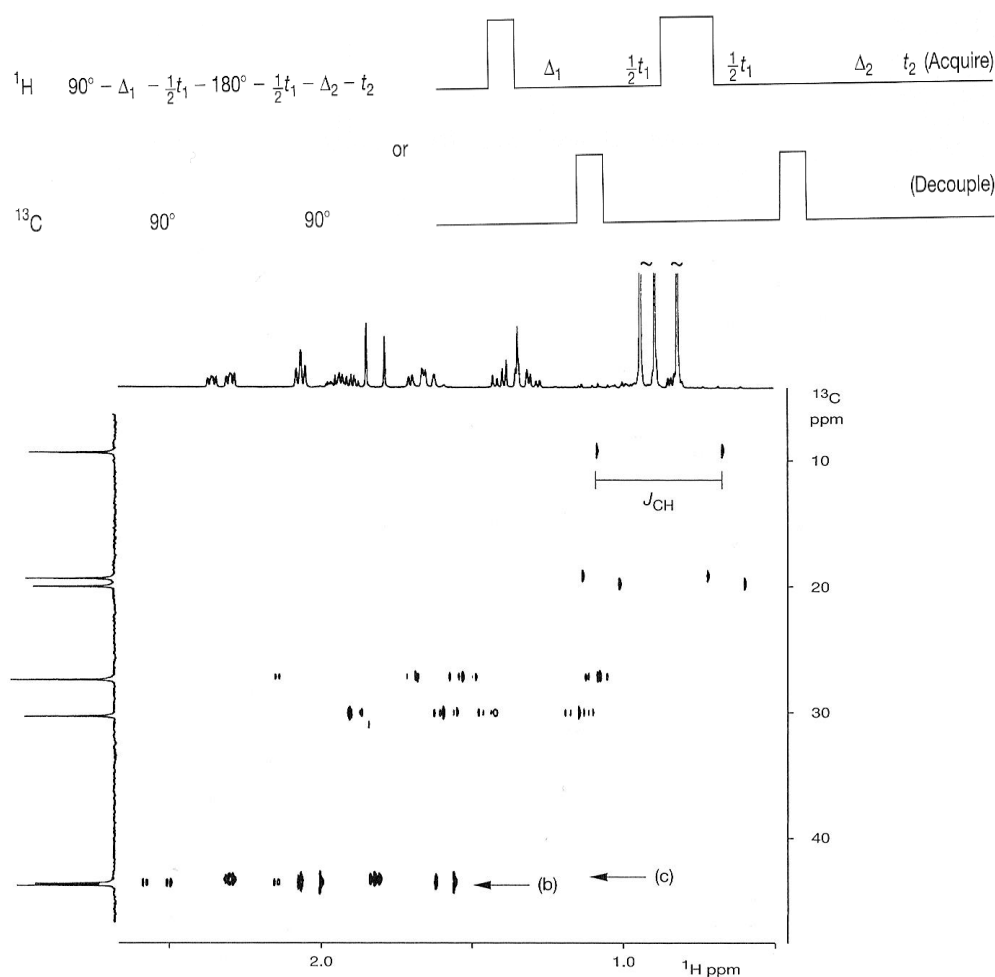
$$S/N \propto N \gamma_{\text{exc}} \gamma_{\text{det}}^{3/2} B_0^{3/2} (NS)^{1/2} T_2/T \quad (52)$$

kde,  $N$  (v pravé části rovnice) je počet jader, která mají být změřena v efektivním objemu;  $\gamma_{\text{exc}}$  je magnetogyrická konstanta excitovaných jader,  $\gamma_{\text{det}}$  je magnetogyrická konstanta jader, které mají být změřena;  $B_0$  je síla magnetické indukce,  $NS$  je počet skenů,  $T_2$  je čas příčné relaxace;  $T$  je teplota experimentu.  $S/N$  (citlivost experimentu) se zvýší osmkrát změnou jádra z <sup>13</sup>C na <sup>1</sup>H, v důsledku akviziční doby. Množství vzorku se může popřípadě snížit.

V závislosti na počtu chemických vazeb mezi korelujícími <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C se 2D NMR rozděluje do dvou typů. První typ odpovídá H,C-COSY (korelace mezi dvěma <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C, vázanými přímo. Druhý typ NMR odpovídá vícevazebnému H,C-COSY nebo COLOC („*Correlation spectroscopy via Long-range Coupling*“). Korelace mezi dvěma <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C přes několik vazeb s  $^n J_{\text{CH}}$ ). Bez ohledu na to o jaký druh jde jsou tyto experimenty známé jako inverzní experimenty<sup>[64]</sup>.

#### 2.2.13.7.1. HMQC („Heteronuclear correlation through Multiple Quantum Coherence“).

Inverzně detekována nejsou přímo jádra <sup>13</sup>C, ale odpověď je získána prostřednictvím protonů (Pulsní sekvence HMQC je na obr. 40<sup>[65,83]</sup>). Jedná se o dvojnásobný přenos polarizace (koherence). Po 90° pulsu, během  $\Delta_1$  se vektory uspořádají do antifáze (prostřednictvím  $J$ ). Vícekvantová koherence je vytvořena prvním uhlíkovým pulsem. Zbytek sekvence slouží k výběru dvoukvantové nebo vícekvantové koherence (<sup>13</sup>C satelity v <sup>1</sup>H spektru) od jednovantové koherence (prostřední <sup>1</sup>H pás) - proces obdobný 1D INADEQUATE. Během akvizice probíhá dekapling uhlíků, signály jsou však štěpeny v <sup>1</sup>H dimenzi (<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C)<sup>[66]</sup>.



**Obrázek 40:** Pulsní sekvence HMQC experimentu a HMQC spektrum s  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  interakcí v  $^1\text{H}$  dimenzi<sup>[65, 83]</sup>.

### 2.2.13.7.2. BIRD-HMQC („Bilinear Rotation Decoupling“).

Poměrně složitá sekvence BIRD (obr. 41)<sup>[65]</sup> umožňuje potlačení signálů vodíků, připojených na uhlík  $^{12}\text{C}$  (jednokvantová koherence) ve prospěch protonů, připojených k  $^{13}\text{C}$  (satelity, dvoukvantová koherence). Sekvence využívá rozdílných vlastností protonů připojených na uhlík  $^{12}\text{C}$  nebo  $^{13}\text{C}$ . Signál vodíků na  $^{12}\text{C}$  je neštěpený.

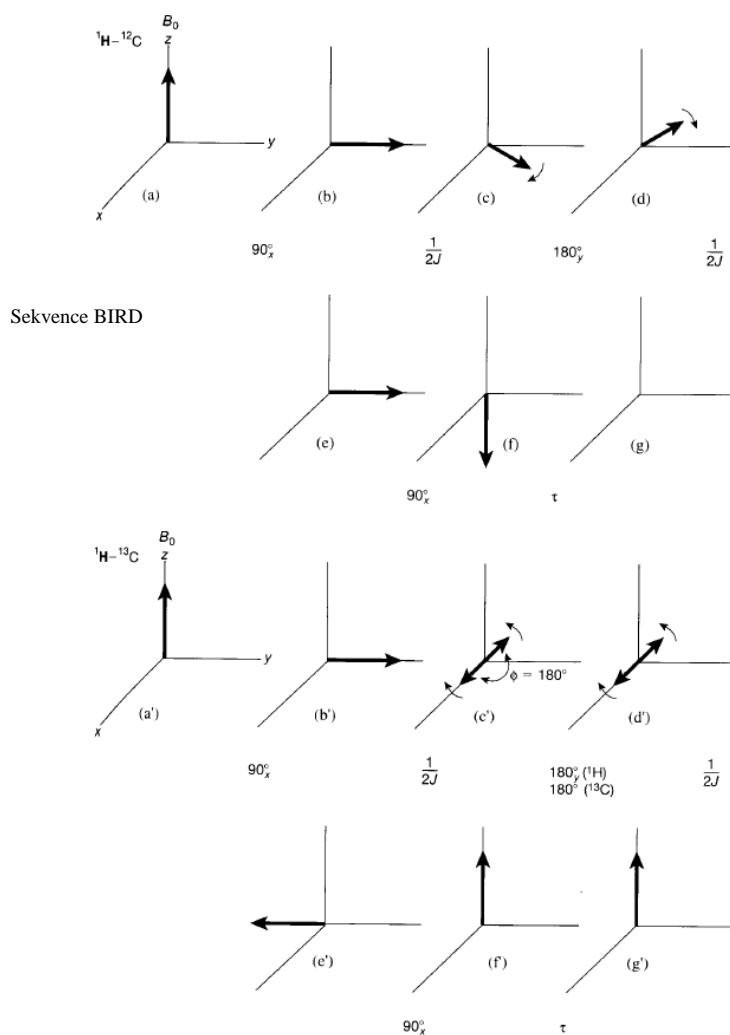
Vektor magnetizace vodíků na  $^{13}\text{C}$  se rozštěpí na dvě složky, vzájemně otočené o  $180^\circ$  (díky  $J$ ), a výsledek: jednokvantové koherence úplně vymizí, vícekvantové koherence zůstanou k dispozici pro sekvenci HMQC. Celá sekvence je:

$$\text{BIRD} - \tau - \text{HMQC} - \text{DT} \quad (53)$$

kde,  $\tau$  je doba nezbytná pro vymizení jednokvantových koherencí (zrelaxují do nuly); DT je normální relaxační „delay“ (nutná pro repetici pulsů  $\Rightarrow$  regenerace magnetizace). Pro provedení experimentu je nutná znalost  $T_1$  a správná volba  $\tau$  a DT. U větších molekul může

docházet ke ztrátě citlivosti díky zápornému NOE (pozn.: stejného výsledku lze dosáhnout pomocí gradientů magnetického pole)<sup>[66]</sup>.

**Gradientová verze *HMQC* (*gs-HMQC*).** Gradienty umožňují výběr magnetizací  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  bez použití sekvence BIRD. Experiment má nižší citlivost (1.4x); prodlouženou relaxační dobu („relaxation delay“, vzorek se zahřívá dekaplingem); spektrum je v absolutním módu<sup>[66]</sup>.



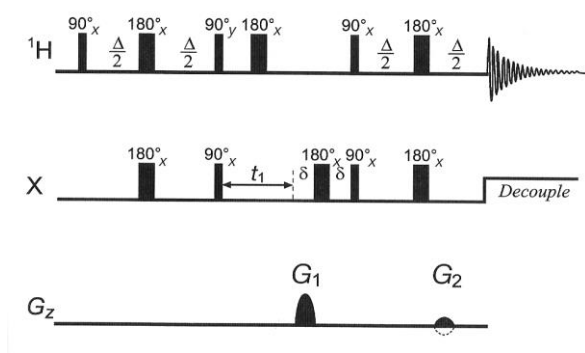
**Obrázek 41:** Pulsní sekvence BIRD experimentu<sup>[65]</sup>.

### 2.2.13.7.3. HSQC („Heteronuclear Single Quantum Correlation“).

HSQC je alternativa experimentu *HMQC*. Experiment generuje jednokvantovou koherenci díky sekvenci INEPT (2.2.12.3.), magnetizace se vyvíjí, a pak je přenášena druhou INEPT sekvencí zpátky na proton a je detekována. Pulsní sekvence je poměrně komplikovaná (cca 2x více pulsů, než při experimentu *HMQC*). HSQC spektra neobsahují interakce  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  v uhlíkové dimenzi a proto jsou korelační signály lépe rozlišené než v *HMQC* a je vhodnější v případě překryvu signálů. V HSQC je komplikovanější nastavení akvizitních parametrů, je citlivější na nepřesnosti (naladění sondy a délky pulsů)  $\Rightarrow$  mohou vznikat artefakty. Kvůli

těmto komplikacím dává většina experimentátorů běžně přednost HMQC, protože je interpretace spektra naprosto shodná s HMQC<sup>[66]</sup>.

**Gradientová verze HSQC (*gs-HSQC*)** navíc obsahuje puls 180° pro jádro X (po čase  $t_1$ , obklopené časy  $\delta$ ) a 2 gradienty (obr. 42)<sup>[65]</sup>. Pro *gs-HSQC* je stačí nižší počet skenů, než pro negradientovou verzi. Ze spektra vymizí  $t_1$ -šum (artefakty podél F1). Běžně se měří, jako fázově-citlivé spektrum. Experiment má sníženou citlivost a díky dekaplingu se vzorek zahřívá, proto je nutno prodloužit  $t_1$ <sup>[66]</sup>.



**Obrázek 42:** Pulsní sekvence *gs-HSQC*<sup>[65]</sup>.

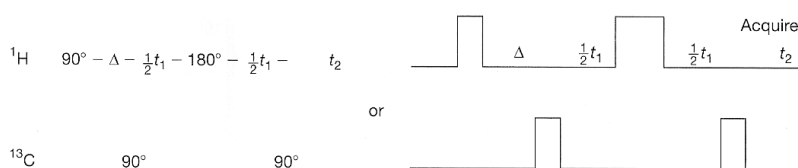
#### 2.2.13.7.4. HMBC („Heteronuclear Multiple Bond Correlation“).

HMBC je zkratka pro „[(<sup>1</sup>H-detected) heteronuclear multiple-bond correlation (experiment)]“, kde korelují <sup>13</sup>C a <sup>1</sup>H, které jsou oddělené několika chemickými C-C vazby. Funguje HMBC na stejném principu jako vícevazebný H,C-COSY nebo COLOC.

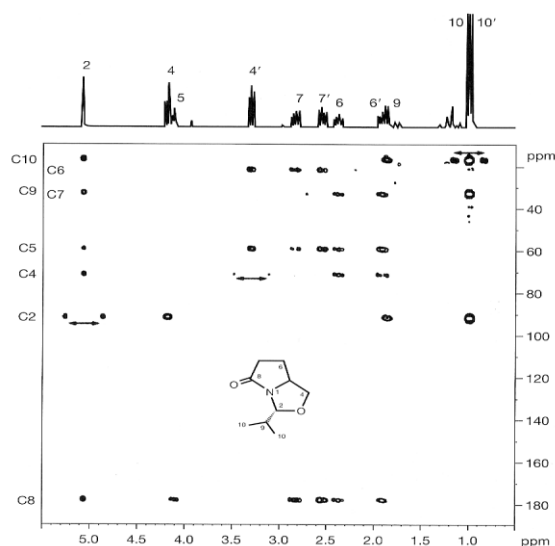
Pulsní sekvence HMBC (obr. 43)<sup>[65]</sup> se liší ve dvou bodech, první je:  $t_1/2$ , 180° a  $t_1/2$  hrají role  $\delta$  označování („ $\delta$  labeling“); druhý: první polovina pulsni sekvence („low-pass *J*-filter“) je určena pro potlačení vektorů magnetizace <sup>1</sup>H, připojených přímo na <sup>13</sup>C a zároveň, ve prospěch vektorů magnetizace <sup>1</sup>H, připojených nepřímo k <sup>13</sup>C<sup>[84]</sup>.

Je-li pulsni sekvence BIRD součástí pulsni sekvence HMBC, tak může být intenzita korelačních signálů vícevazebných interakcí posílena, ale v tomto případě hodnota  $\tau$  musí být počítána jako:  $1/(2^n J_{CH})$ <sup>[65]</sup>.

Při zadání základních akvizicních parametrů musíme brát v úvahu fakt, že interval  $\Delta$  musí být optimalizován pro dvou a vícevazebné *J* ( $\Delta = 1/(2J)$ ); <sup>n</sup>*J* obvykle leží v intervalu 0-15 Hz; typické hodnoty  $\Delta$  jsou 60-200 ms (2.5-8.3 Hz, v případě HMQC je tento interval 2-4 ms); kratší „delay“ vede k větší citlivosti (= menší ztráta signálu relaxací, delší „delaye“ jsou však u malých molekul naprosto vyhovující, neboť mají relativně dlouhé relaxační časy).



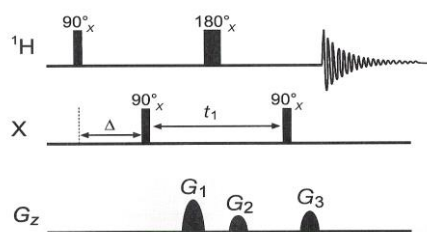
**Obrázek 43:** Pulsní sekvence HMBC experimentu<sup>[65]</sup>.



Obrázek 44: HMBC spektrum heterocyklu (obrázek)<sup>[77]</sup>.

Zpravidla je možné pozorovat interakce až přes 4 vazby, při vhodné stereochemii dokonce i - 5 vazeb. Nejintenzivnější signály v HMBC spektru obvykle poskytují methylové skupiny (3 detekované vodíky, obr. 44)<sup>[77]</sup>. Spektrum obsahuje pouze korelační signály. Nejsou tam symetrické jednokvantové koherence  $^1\text{H}$ - $^{12}\text{C}$ . Jednovazebné korelace  $^1J(^{13}\text{C}$ - $^1\text{H})$  lze odfiltrout použitím gradientů magnetického pole<sup>[66]</sup>.

**Gradientová verze HMBC (gs-HMBC).** Pulsní sekvence gs-HMBC je na obrázku 45<sup>[65]</sup>. Gradients selektivně refokují vícevazebné magnetizace  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  a odstraňují jednovazebné magnetizace  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  a  $^1\text{H}$ - $^{12}\text{C}$ . V gs-HMBC je snižena citlivost oproti obyčejnému HMBC, ale spektrum neobsahuje  $t_1$ -šum<sup>[66]</sup>.



Obrázek 45: Pulsní sekvence gs-HMBC<sup>[65]</sup>.

### 2.2.13.8. $^{15}\text{N}$ 2D NMR experimenty.

$^{15}\text{N}$  má přirozeně nižší citlivost než  $^{13}\text{C}$ . V současné době je používanou technikou vícevazebná heteronukleární korelace ( $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HMBC) s použitím nízkopásmového filtru pro potlačení jednovazebných  $J$  (mezijáderná spin-spinová nepřímá interakční konstanta) interakcí<sup>[85]</sup>. Gradientová verze  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  gs-HMBC), která se objevila později<sup>[86]</sup> je nyní běžně používána ke stanovení konektivit a určení parametrů signálů neprotonovaných heteroatomů, včetně  $^{15}\text{N}$ . Pulsní sekvence  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  gs-HMBC<sup>[87-89]</sup> je identická  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  gs-HMBC (obr. 45).

### 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.

#### 3.1. Použité chemikálie a metody.

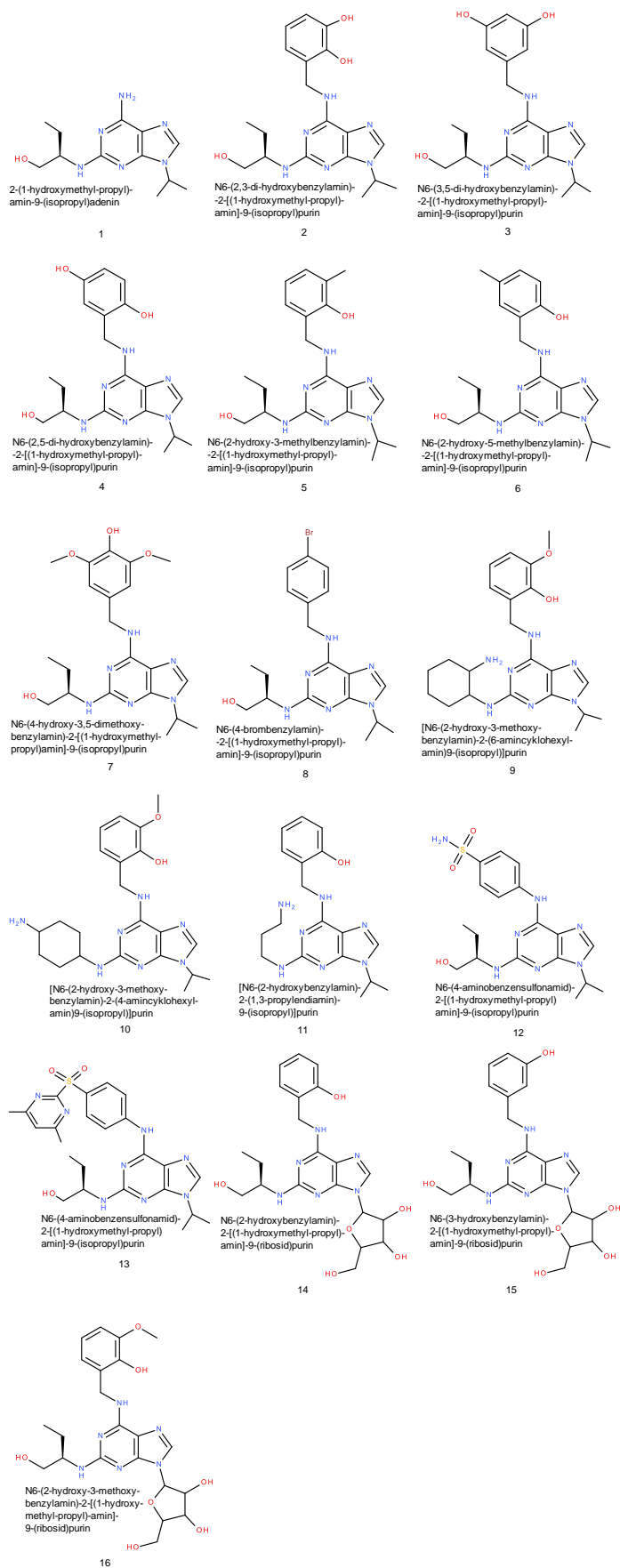
##### 3.1.1. Příprava vzorků.

Pro NMR analýzu bylo použito 16 derivátů roskovitinu, (obr. 46). Uvedené deriváty byly poprvé syntetizovány v Laboratoři Růstových Regulátorů Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci (LRR UP), Dr. Igorem Popou. Většina těchto derivátů byla námi připravena znovu ve množstvích, odpovídajícím  $^{13}\text{C}$ - a  $^{15}\text{N}$ -NMR. Syntéza těchto látek byla provedena dle metodiky, popsané v odstavci 2.1.3. (první způsob, schéma je na obrázku č. 7). Výchozí produkty (chemikálie) byly zakoupeny od Sigma Aldrich a Olchemim (2,6-dichlorpurin a 2,6-di-chlorpurinribisid). Konečné látky, a také meziproducty byly analyzovány pomocí chromatografie na tenké vrstvě (TLC), elementární analýzou H, C, N prvku (EA), infračervenou spektroskopií (IČ) a hmotnostní spektrometrií (MS) – výsledky nejsou uvedeny v této práci. Navážky studovaných derivátů *roskovitinu* v množstvích 5-30 mg byly rozpouštěny v deuterovaném rozpouštědle (0,5 ml)  $d_7$ -DMFA (Sigma-Aldrich) pomocí ultrazvukové lázně (Bandelin Sonorex RK 31H) a třepačky (Heidolph Reax Top). Oddělení nerozpustných pevných částic bylo provedeno mini centrifugou (Mini Spin Eppendorf). Odpovídající roztoky jsme napipetovali do skleněných kyvet (5 mm) pro roztokovou NMR spektroskopii.

##### 3.1.2. Základní akviziční parametry některých 2D NMR experimentů.

$\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gCOSY:  $90^\circ$ ,  $t_a = 0.32$  s,  $\text{DT} = 1$  s, *resolution* = 13 Hz, *recovery time* = 0.5 ms, ns = 2-4;  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gROESY:  $t_a = 0.42$  s, *resol.* = 9 Hz,  $\text{DT} = 1$  s, ns = 16;  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMQC:  $J = 146$  Hz,  $t_a = 0.15$  s, *resol.* = 71 Hz,  $t_{rec} = 0.5$  ms, ns = 4-8, s dekaplingem a bez dekaplingu;  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHSQC:  $J = 146$  Hz,  $t_a = 0.15$  s,  $\text{DT} = 1$  s, ns = 8, s dekaplingem;  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMBC:  $J = 8$  Hz,  $t_a = 0.3-0.5$  s,  $\text{DT} = 1-2$  s, ns = 16-32, a také  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMBC:  $J = 8-16$  Hz,  $t_a = 0.3-0.5$  s,  $\text{DT} = 1-2$  s, ns = 128-256 a  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMQC:  $J = 146$  Hz,  $t_a = 0.15$  s,  $\text{DT} = 1-2$  s, ns = 16-32. Měření spekter jsme prováděli na spektrometrech: Bruker Avance 300, LLR UP; Varian 400 MR, a.o. Farmak; Jeol ACX-500, LRR UP (resp., 7,5 – 11,7 Tesla) při rezonančních frekvencích  $\nu$  (MHz) jader:  $^1\text{H}$  (300-500),  $^{13}\text{C}$  (75-125) a  $^{15}\text{N}$  (30-51).





Obrázek 46. Studované deriváty roskovitinu.

### 3.1.3. Použité pulsní sekvence některých experimentů spektrometru (Varian 400 MR).

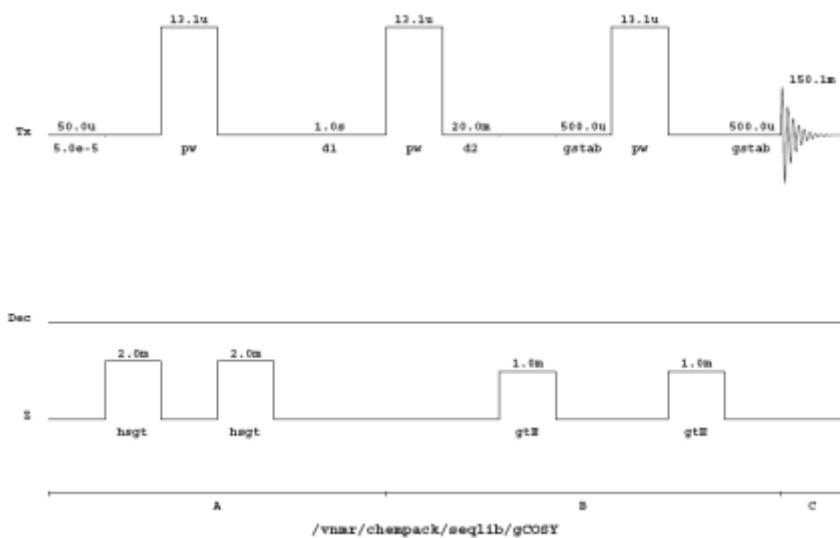


Schéma 1. Pulsní sekvence gCOSY.

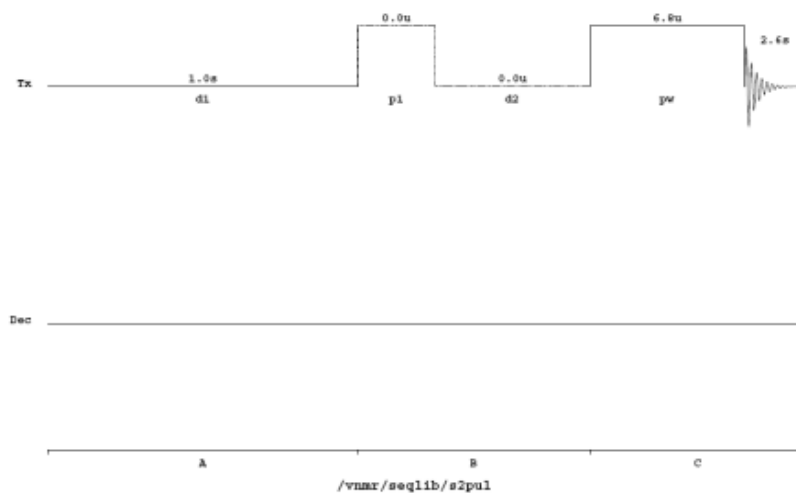


Schéma 2. Pulsní sekvence ROESY.

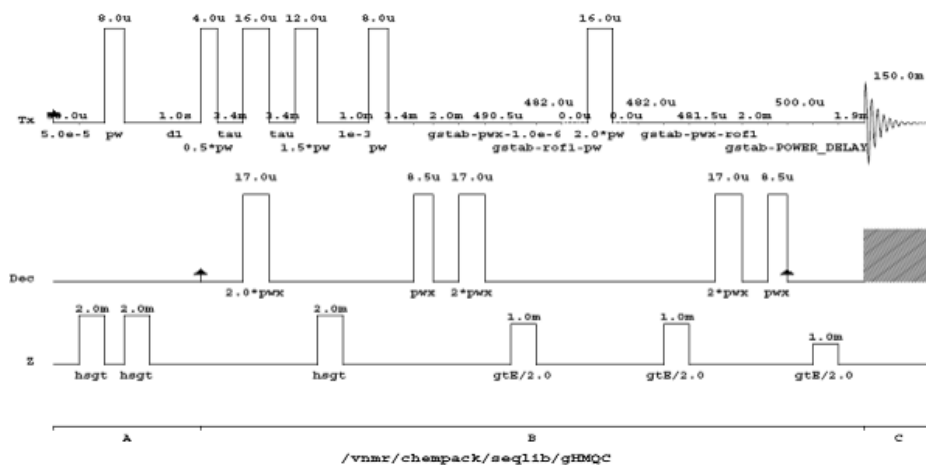


Schéma 3. Pulsní sekvence  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMQC.



## 3.2. Charakteristika a vybavení NMR spektrometru.

### 3.2.1. Charakteristika spektrometru Varian 400 MR.

Měření byla provedena na přístroji Varian 400 MR (9.40 Tesla) s rezonanční frekvencí v (MHz) jader:  $^1\text{H}$  (399.69),  $^{13}\text{C}$  (100.51) a  $^{15}\text{N}$  (40.51). Spektrometr má tyto části:

1. Konzola obsahující lineární RF systém s velkým dynamickým rozsahem. Předzesilovač s vysokou citlivostí a nízkým šumem pro  $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ . Vysoce citlivý širokopásmový předzesilovač pro  $^{109}\text{Ag} - ^{31}\text{P}$ .  $2\text{H}$  lock s vysoce citlivou pseudokvadrurní detekcí, kompatibilní s pulsními gradienty magnetického pole a automatickým  $^1\text{H}$  a  $^2\text{H}$  gradientním shimingem. Pseudokvadrurní detekce se simultánním vzorkováním. Korekce změny fáze a velikosti pole s vysokou přesností. Duální akviziční systém, digitální filtry, přijímač s vysokým dynamickým rozsahem a zesílením. Akviziční datový systém pracující v reálném čase. NMR software. Automatizace funkcí locku, shimu, fáze, zisku přijímače, rotace, vyjímání a vkládání vzorku.
2. Širokopásmový RF systém, 400 MHz. Dva RF kanály pro pozorovací, dekaplovací a pulsní funkce. Kanál 1:  $^1\text{H}$  a  $^{19}\text{F}$ , kanál 2:  $^{15}\text{N}$  až  $^{31}\text{P}$ . Oba kanály s frekvenčním rozlišením 0.05 Hz. Lineární RF systém podporující řadu širokopásmových  $^1\text{H}$  a  $^{19}\text{F}$  experimentů s jednou nebo dvourezonancí, zahrnující: přímé měření  $^1\text{H}$  anebo  $^{19}\text{F}$   $^{23}\text{Na}$  a  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{29}\text{Si}$ ,  $^{11}\text{B}$ ,  $^{119}\text{Sn}$  (s  $^1\text{H}$  anebo  $^{19}\text{F}$  heteronukleárním dekaplingem), homonukleární dekapling na  $^1\text{H}$  (např. NOEDIFF,  $^1\text{H}\{^1\text{H}\}$ , presaturace), homonukleární korelace (například, COSY, TOCSY, INADEQUATE), NOE experimenty (například, NOESY, ROESY), heteronukleární korelace (například, DEPT, APT, HETCOR), a experimenty s nepřímou detekcí (například, HMQC, HMBC, HSQC, HSQC-TOCSY, HSQC-TOCSY a  $^1\text{H}\{\text{X}\}$ ).
3. Fázový modulátor.
4. Modul automatického deuterovaného gradientního shimingu.
5. Modul gradientu magnetického pole.
6. Jednotka proměnné teploty.
7. 9.4 T Magnet, světlost 54 mm, 400 MHz a příslušenství magnetu.
8. Řídicí počítač se dvěma sériovými vstupy, a barevným monitorem.

### 3.2.2. Měřicí sonda (Varian).

$^1\text{H}1-^{19}\text{F}\{^{15}\text{N}-^{31}\text{P}\}$  5mm OneNMR PFG sonda s automatickou volbou měřeného jádra. Vhodná pro experimenty s jední-, dvou- nebo trojí rezonancí a pro experimenty s nepřímou detekcí v teplotním intervalu od  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  do  $130\text{ }^\circ\text{C}$ . Automatizace s použitím vysokofrekvenčních kanálů ( $^1\text{H}$  a  $^{19}\text{F}$ ) a nízkofrekvenčního ( $^{13}\text{C}$  a  $^{31}\text{P}$  až  $^{15}\text{N}$ ) pro pozorovací a dekaplovací funkce, s možností rychlého přepnutí do nízkofrekvenčního širokopásmového režimu, v němž je možno měřit jádra v rozsahu  $^{15}\text{N}-^{31}\text{P}$  při zachování možnosti současně měřit a dekaplovat  $^1\text{H}$  a  $^{19}\text{F}$ . Sonda je vybavena vysoce výkonnou aktivně stíněnou gradientní cívkou v ose z s vytvořením pravoúhlých gradientních pulsů.

## 4. VÝSLEDKY A DISKUZE.

### 4.1. NMR studium derivátů *roskovitinu*.

V rámci NMR studia derivátů *roskovitinu* byly změřeny 1D:  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  spektra,  $^{13}\text{C}$ -APT a 2D experimenty:  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gCOSY,  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gTOCSY,  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gROESY,  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMQC,  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHSQC,  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMBC,  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMQC,  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMBC. Měření jsme prováděli za normální teploty (25 °C) v  $d_7$ -DMFA z důvodu použití solventu (zbytky nedeuterovaného DMFA v  $d_7$ -DMFA s  $\delta_{15\text{N}} = 104.7$  ppm) jako vnitřního standardu pro  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMQC,  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMBC experimenty.

#### 4.1.1. Přirazení $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů derivátů *roskovitinu*.

2-(1-hydroxymethyl-propyl)amin-9-(isopropyl)adenin (1).  $^1\text{H}$ ,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 0.95, 3H, *t*, 7.7,  $\text{HC}^{22}$ ; 1.53, 6H, *d*, 6.8,  $\text{HC}^{17,18}$ ; 1.57, 1H, *sept*, 7.6, 1.7,  $\text{H}_a\text{C}^{21}$ ; 1.74, 1H, *sept*, 7.6, 1.7,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$ ; 3.56, 1H, *dd*, 10.9, 5.3,  $\text{H}_a\text{C}^{20}$ ; 3.65, 1H, *dd*, 10.6, 5.3,  $\text{H}_b\text{C}^{20}$ ; 3.95, 1H, *sxtt*, 5.4, 2.7,  $\text{HC}^{19}$ ; 4.61, 1H, *sep*, 7.2,  $\text{HC}^{16}$ ; 4.79, 1H, *br*,  $\text{HO}^{20'}$ ; 5.78, 1H, *d*, 8.5,  $\text{HN}^2$ ; 6.70, 2H, *bs*,  $\text{HN}^6$ ; 7.81, 1H, *s*,  $\text{HC}^8$ .  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$  (ppm): 10.55 ( $\text{HC}^{22}$ ); 21.87, 21.90 ( $\text{HC}^{17,18}$ ); 24.49 ( $\text{HC}^{21}$ ); 46.38 ( $\text{HC}^{16}$ ); 54.68 ( $\text{HC}^{19}$ ); 64.19 ( $\text{HC}^{20}$ ); 114.50 ( $\text{C}^5$ ); 135.84 ( $\text{HC}^8$ ); 151.77 ( $\text{C}^4$ ); 156.72 ( $\text{C}^6$ ); 159.99 ( $\text{C}^2$ ).  $^{15}\text{N}$ ,  $\delta$  (ppm): 75.08 ( $\text{N}^6$ ), 92.27 ( $\text{N}^2$ ), 173.06 ( $\text{N}^9$ ), 180.88 ( $\text{N}^3$ ), 199.70 ( $\text{N}^1$ ), 240.44 ( $\text{N}^7$ ).

$\{\text{N}6\text{-}(2,3\text{-di-hydroxybenzylamin})\text{-}2\text{-}[(1\text{-hydroxymethyl-propyl)amin}]\text{-}9\text{-}(isopropyl)\}$ purin (2).  $^1\text{H}$ ,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 0.97, 3H, *t*, 7.5,  $\text{HC}^{22}$ ; 1.54, 6H, *dd*, 6.9, 1.5,  $\text{HC}^{17,18}$ ; 1.62, 1H, *sep*, 7.2,  $\text{H}_a\text{C}^{21}$ ; 1.77, 1H, *sept*, 6.8, 1.9,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$ ; 3.61, 1H, *dd*, 11.0, 5.6,  $\text{H}_a\text{C}^{20}$ ; 3.69, 1H, *dd*, 10.6, 4.9,  $\text{H}_b\text{C}^{20}$ ; 4.00, 1H, *sxt*, 7.0,  $\text{HC}^{19}$ ; 4.63, 1H, *sep*, 6.8,  $\text{HC}^{16}$ ; 4.64, 2H, *br*,  $\text{HC}^9$ ; 4.76, 1H, *br*,  $\text{HO}^{20'}$ ; 5.87, 1H, *d*, 8.2,  $\text{HN}^2$ ; 6.62, 1H, *t*, 7.8,  $\text{HC}^{14}$ ; 6.75, 1H, *dd*, 8.0, 1.6,  $\text{HC}^{13}$ ; 6.80, 1H, *d*, 7.4,  $\text{HC}^{15}$ ; 7.71, 1H, *br*,  $\text{HN}^6$ ; 7.83, 1H, *s*,  $\text{HC}^8$ ; 8.86, 1H, *br*,  $\text{HO}^{12'}$ ; 10.38, 1H, *br*,  $\text{HO}^{11'}$ .  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$  (ppm): 10.52 ( $\text{HC}^{22}$ ); 21.83, 21.77 ( $\text{HC}^{17,18}$ ); 24.40 ( $\text{HC}^{21}$ ); 39.86 ( $\text{HC}^9$ ); 46.64 ( $\text{HC}^{16}$ ); 54.86 ( $\text{HC}^{19}$ ); 63.81 ( $\text{HC}^{20}$ ); 114.31 ( $\text{C}^5$ ); 114.58 ( $\text{HC}^{13}$ ); 119.20 ( $\text{HC}^{14}$ ); 120.61 ( $\text{HC}^{15}$ ); 127.15 ( $\text{C}^{10}$ ); 135.84 ( $\text{HC}^8$ ); 144.03 ( $\text{C}^{11}$ ); 146.59 ( $\text{C}^{12}$ ); 151.07 ( $\text{C}^4$ ); 154.84 ( $\text{C}^6$ ); 159.20 ( $\text{C}^2$ ).  $^{15}\text{N}$ ,  $\delta$  (ppm): 89.01 ( $\text{HN}^6$ ), 92.83 ( $\text{HN}^2$ ), 174.24 ( $\text{N}^9$ ), 178.50 ( $\text{N}^3$ ), 228.92 ( $\text{N}^1$ ), 238.87 ( $\text{N}^7$ ).

$\{\text{N}6\text{-}(3,5\text{-di-hydroxybenzylamin})\text{-}2\text{-}[(1\text{-hydroxymethyl-propyl)amin}]\text{-}9\text{-}(isopropyl)\}$ purin (3).  $^1\text{H}$ ,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 0.94, 3H, *t*, 7.5,  $\text{HC}^{22}$ ; 1.53, 6H, *d*, 6.7,  $\text{HC}^{17,18}$ ; 1.60, 1H, *sept*, 7.4, 1.5,  $\text{H}_a\text{C}^{21}$ ; 1.73, 1H, *sept*, 6.8, 1.5,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$ ; 3.56, 1H, *dd*, 10.5, 5.4,  $\text{H}_a\text{C}^{20}$ ; 3.66, 1H, *dd*, 10.8, 4.9,  $\text{H}_b\text{C}^{20}$ ; 3.97, 1H, *sxt*, 5.7,  $\text{HC}^{19}$ ; 4.62, 1H, *sep*, 6.8,  $\text{HC}^{16}$ ; 4.62, 2H, *br*,  $\text{HC}^9$ ; 4.76, 1H, *t*, 7.0,  $\text{HO}^{20'}$ ; 5.82, 1H, *d*, 6.9,  $\text{HN}^2$ ; 6.24, 1H, *t*, 2.2,  $\text{HC}^{13}$ ; 6.40, 2H, *d*, 2.0,  $\text{HC}^{11,15}$ ; 7.41, 1H, *br*,  $\text{HN}^6$ ; 7.79, 1H, *s*,  $\text{HC}^8$ ; 9.25, 2H, *br*,  $\text{HO}^{12',14'}$ .  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$  (ppm): 10.58 ( $\text{HC}^{22}$ ); 21.91, 21.95 ( $\text{HC}^{17,18}$ ); 24.48 ( $\text{HC}^{21}$ ); 43.22 ( $\text{HC}^9$ ); 46.35 ( $\text{HC}^{16}$ ); 54.86 ( $\text{HC}^{19}$ ); 64.11 ( $\text{HC}^{20}$ ); 101.12 ( $\text{HC}^{13}$ ); 105.65 ( $\text{HC}^{11,15}$ ); 114.54 ( $\text{C}^5$ ); 135.20 ( $\text{HC}^8$ ); 143.35 ( $\text{C}^{10}$ ); 151.22 ( $\text{C}^4$ ); 155.29 ( $\text{C}^6$ ); 159.13 ( $\text{C}^{12,14}$ ); 159.84 ( $\text{C}^2$ ).  $^{15}\text{N}$ ,  $\delta$  (ppm): 89.00 ( $\text{HN}^6$ ), 93.05 ( $\text{HN}^2$ ), 173.28 ( $\text{N}^9$ ), 177.99 ( $\text{N}^3$ ), 192.17 ( $\text{N}^1$ ), 239.56 ( $\text{N}^7$ ).

$\{\text{N}6\text{-}(2,5\text{-di-hydroxybenzylamin})\text{-}2\text{-}[(1\text{-hydroxymethyl-propyl)amin}]\text{-}9\text{-}(isopropyl)\}$ purin (4).  $^1\text{H}$ ,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 0.97, 3H, *t*, 7.4,  $\text{HC}^{22}$ ; 1.54, 6H, *d*, 6.7,  $\text{HC}^{17,18}$ ; 1.63, 1H, *sep*, 7.3,

H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.77, 1H, *sep*, 7.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 3.62, 1H, *dd*, 10.5, 5.1, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.70, 1H, *dd*, 10.5, 4.6, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 4.00, 1H, *sxt*, 5.7, HC<sup>19</sup>; 4.63, 1H, *sep*, 7.0, HC<sup>16</sup>; 4.65, 1H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.86, 1H, *br*, HO<sup>20</sup>; 5.85, 1H, *d*, 8.0, HN<sup>2</sup>; 6.61, 1H, *dd*, 8.5, 2.7, HC<sup>13</sup>; 6.71, 1H, *d*, 8.5, HC<sup>12</sup>; 6.86, 1H, *d*, 2.1, HC<sup>15</sup>; 7.67, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 7.82, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 8.83, 1H, *br*, HO<sup>14</sup>; 9.73, 1H, *br*, HO<sup>11</sup>. <sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm): 10.49 (HC<sup>22</sup>); 21.77, 21.82 (HC<sup>17,18</sup>); 24.39 (HC<sup>21</sup>); 39.55 (HC<sup>9</sup>); 46.53 (HC<sup>16</sup>); 54.78 (HC<sup>19</sup>); 63.84 (HC<sup>20</sup>); 114.29 (C<sup>5</sup>); 114.74 (HC<sup>13</sup>); 116.30 (HC<sup>15</sup>); 116.57 (HC<sup>12</sup>); 127.22 (C<sup>10</sup>); 135.63 (HC<sup>8</sup>); 148.35 (C<sup>14</sup>); 150.65 (C<sup>11</sup>); 151.00 (C<sup>4</sup>); 154.98 (C<sup>6</sup>); 159.39 (C<sup>2</sup>). <sup>15</sup>N,  $\delta$  (ppm): 87.18 (N<sup>6</sup>), 93.03 (N<sup>2</sup>), 173.99 (N<sup>9</sup>), 178.90 (N<sup>3</sup>), 190.77 (N<sup>1</sup>), 238.39 (N<sup>7</sup>).

{N6-(2-hydroxy-3-methylbenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}-purin (5). <sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 1.01, 3H, *t*, 7.4, HC<sup>22</sup>; 1.53, 6H, *d*, 6.9, HC<sup>17,18</sup>; 1.66, 1H, *sept*, 7.6, 1.6, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.81, 1H, *sept*, 7.4, 1.6, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 2.20, 3H, *s*, HC<sup>12</sup>; 3.65, 1H, *dd*, 10.6, 4.9, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.73, 1H, *dd*, 10.6, 4.6, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 4.02, 1H, *sxt*, 5.3, HC<sup>19</sup>; 4.63, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.63, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 4.83, 1H, *br*, HO<sup>20</sup>; 5.92, 1H, *d*, 8.3, HN<sup>2</sup>; 6.70, 1H, *t*, 7.5, HC<sup>14</sup>; 7.03, 1H, *dq*, 7.4, 0.8, HC<sup>13</sup>; 7.17, 1H, *d*, 7.6, HC<sup>15</sup>; 7.85, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 8.08, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 10.92, 1H, *br*, HO<sup>11</sup>. <sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm): 10.45 (HC<sup>22</sup>); 16.10 (HC<sup>12</sup>); 21.78, 21.83 (HC<sup>17,18</sup>); 24.43 (HC<sup>21</sup>); 40.44 (HC<sup>9</sup>); 46.71 (HC<sup>16</sup>); 54.86 (HC<sup>19</sup>); 63.81 (HC<sup>20</sup>); 114.17 (C<sup>5</sup>); 119.03 (HC<sup>14</sup>); 125.78 (C<sup>12</sup>); 126.20 (C<sup>10</sup>); 128.89 (HC<sup>15</sup>); 130.16 (HC<sup>13</sup>); 136.12 (HC<sup>8</sup>); 151.12 (C<sup>4</sup>); 154.38 (C<sup>11</sup>); 154.65 (C<sup>6</sup>); 158.99 (C<sup>2</sup>). <sup>15</sup>N,  $\delta$  (ppm): 91.14 (N<sup>6</sup>), 92.79 (N<sup>2</sup>), 174.59 (N<sup>9</sup>), 178.51 (N<sup>3</sup>), 185.65 (N<sup>1</sup>), 239.02 (N<sup>7</sup>).

{N6-(2-hydroxy-5-methyl-benzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purin (6). <sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 0.98, 3H, *t*, 7.4, HC<sup>22</sup>; 1.53, 6H, *dd*, 6.8, 1.3, HC<sup>17,18</sup>; 1.63, 1H, *sept*, 7.5, 1.5, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.78, 1H, *sept*, 7.3, 1.5, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 2.18, 3H, *s*, HC<sup>14</sup>; 3.63, 1H, *dd*, 10.6, 5.4, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.71, 1H, *dd*, 10.6, 4.9, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 4.02, 1H, *sxt*, 5.5, HC<sup>19</sup>; 4.62, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 4.68, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.85, 1H, *br*, HO<sup>20</sup>; 5.90, 1H, *d*, 8.1, HN<sup>2</sup>; 6.76, 1H, *d*, 8.1, HC<sup>12</sup>; 6.92, 1H, *dd*, 8.2, 2.1, HC<sup>13</sup>; 7.12, 1H, *d*, 1.5, HC<sup>15</sup>; 7.68, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 7.83, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 10.27, 1H, *br*, HO<sup>11</sup>. <sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm): 10.52 (HC<sup>22</sup>); 19.95 (HC<sup>14</sup>); 21.80, 21.85 (HC<sup>17,18</sup>); 24.44 (HC<sup>21</sup>); 39.71 (HC<sup>9</sup>); 46.56 (HC<sup>16</sup>); 54.83 (HC<sup>19</sup>); 63.89 (HC<sup>20</sup>); 114.32 (C<sup>5</sup>); 116.01 (HC<sup>12</sup>); 126.27 (C<sup>10</sup>); 127.84 (C<sup>14</sup>); 128.91 (HC<sup>13</sup>); 130.54 (HC<sup>15</sup>); 135.72 (HC<sup>8</sup>); 151.16 (C<sup>4</sup>); 153.78 (C<sup>11</sup>); 154.99 (C<sup>6</sup>); 158.39 (C<sup>2</sup>). <sup>15</sup>N,  $\delta$  (ppm): 87.60 (N<sup>6</sup>), 93.08 (N<sup>2</sup>), 174.03 (N<sup>9</sup>), 178.55 (N<sup>3</sup>), 190.23 (N<sup>1</sup>), 238.30 (N<sup>7</sup>).

{N6-(4-hydroxy-3,5-di-methoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethylpropyl)-amin]-9-(isopropyl)}purin (7). <sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 0.96, 3H, *t*, 7.4, HC<sup>22</sup>; 1.52, 6H, *dd*, 6.8, 1.3, HC<sup>17,18</sup>; 1.60, 1H, *sept*, 7.4, 1.2, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.77, 1H, *sept*, 6.8, 1.5, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 3.59, 1H, *dd*, 10.7, 5.6, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.70, 1H, *dd*, 10.4, 5.1, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 3.77, 6H, *s*, HC<sup>12,14</sup>; 4.02, 1H, *sxt*, 6.1, HC<sup>19</sup>; 4.61, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 4.67, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.81, 1H, *br*, HO<sup>20</sup>; 5.94, 1H, *br*, HN<sup>2</sup>; 6.81, 2H, *s*, HC<sup>11,15</sup>; 7.62, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 7.80, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 8.35, 1H, *br*, HO<sup>13</sup>. <sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm): 10.56 (HC<sup>22</sup>); 21.86, 21.90 (HC<sup>17,18</sup>); 24.50 (HC<sup>21</sup>); 43.77 (HC<sup>9</sup>); 46.35 (HC<sup>16</sup>); 54.86 (HC<sup>19</sup>); 55.97 (HC<sup>12,14</sup>); 64.18 (HC<sup>20</sup>); 105.95 (HC<sup>11,15</sup>); 114.45 (C<sup>5</sup>); 131.07 (C<sup>10</sup>); 135.23 (HC<sup>8</sup>); 135.28 (C<sup>13</sup>); 148.23 (C<sup>12,14</sup>); 151.23 (C<sup>4</sup>); 155.11 (C<sup>6</sup>); 159.83 (C<sup>2</sup>). <sup>15</sup>N,  $\delta$  (ppm): 88.75 (N<sup>6</sup>), 92.94 (N<sup>2</sup>), 173.25 (N<sup>9</sup>), 180.01 (N<sup>3</sup>), 189.87 (N<sup>1</sup>), 238.27 (N<sup>7</sup>).

{N6-(4-brombenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopro-pyl)}purin (8). <sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 0.93, 3H, *t*, 7.4, HC<sup>22</sup>; 1.52, 6H, *d*, 6.8, HC<sup>17,18</sup>; 1.56, 1H, *sept*, 7.5, 1.7, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.73, 1H, *sept*, 7.4, 1.7, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 3.55, 1H, *dt*, 9.6, 4.5, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.66, 1H, *dt*, 10.6, 4.5,

H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 3.95, 1H, *sxtt*, 5.5, 2.6, HC<sup>19</sup>; 4.61, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 4.73, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.75, 1H, *t*, 6.4, HO<sup>20'</sup>; 5.87, 1H, *d*, 7.7, HN<sup>2</sup>; 7.42, 2H, *dt*, 8.4, 2.3, HC<sup>12,14</sup>; 7.51, 2H, *dt*, 8.4, 2.3, HC<sup>11,15</sup>; 7.80, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 7.80, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>. <sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm): 10.58 (HC<sup>22</sup>); 21.90, 21.93 (HC<sup>17,18</sup>); 24.48 (HC<sup>21</sup>); 42.84 (HC<sup>9</sup>); 46.38 (HC<sup>16</sup>); 54.87 (HC<sup>19</sup>); 64.07 (HC<sup>20</sup>); 114.52 (C<sup>5</sup>); 119.96 (C<sup>13</sup>); 130.04 (HC<sup>12,14</sup>); 131.31 (C<sup>11,15</sup>); 135.40 (HC<sup>8</sup>); 140.86 (C<sup>10</sup>); 151.51 (C<sup>4</sup>); 155.10 (C<sup>6</sup>); 159.79 (C<sup>2</sup>). <sup>15</sup>N,  $\delta$  (ppm): 85.18 (N<sup>6</sup>), 93.09 (N<sup>2</sup>), 173.32 (N<sup>9</sup>), 179.73 (N<sup>3</sup>), 191.23 (N<sup>1</sup>), 239.27 (N<sup>7</sup>).

[N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(6-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purin (9). <sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 1.26, 4H, *mm*, H<sub>a</sub>C<sup>21-24</sup>; 1.52, 6H, *d*, 6.8, HC<sup>17,18</sup>; 1.67, 2H, *d*, 9.0, H<sub>b</sub>C<sup>22,23</sup>; 1.94, 1H, *dt*, 9.0, 4.5, H<sub>b</sub>C<sup>24</sup>; 2.14, 1H, *dd*, 11.5, 3.1, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 2.65, 1H, *td*, 9.9, 3.5, HC<sup>20</sup>; 3.63, 1H, *qd*, 9.7, 4.5, HC<sup>19</sup>; 3.81, 3H, *s*, HC<sup>12'</sup>; 4.63, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 4.75, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.82, 2H, *bs*, HN<sup>20'</sup>; 6.15, 1H, *d*, 7.7, HN<sup>2</sup>; 6.71, 1H, *t*, 8.2, HC<sup>14</sup>; 6.86, 1H, *dd*, 8.3, 1.4, HC<sup>13</sup>; 6.93, 1H, *dd*, 7.7, 1.0, HC<sup>15</sup>; 7.60, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 7.82, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 8.28, 1H, *bs*, HO<sup>11'</sup>. <sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm): 21.94 (HC<sup>17,18</sup>); 25.37 (HC<sup>22</sup>), 25.48 (HC<sup>23</sup>); 32.46 (HC<sup>21</sup>); 35.21 (HC<sup>24</sup>); 39.38 (HC<sup>9</sup>); 46.40 (HC<sup>16</sup>); 55.03 (HC<sup>20</sup>); 55.80 (HC<sup>12</sup>); 58.18 (HC<sup>19</sup>); 111.00 (HC<sup>13</sup>); 114.36 (C<sup>5</sup>); 118.70 (C<sup>14</sup>); 121.48 (HC<sup>15</sup>); 125.87 (C<sup>10</sup>); 135.49 (HC<sup>8</sup>); 145.21 (C<sup>11</sup>); 148.39 (C<sup>12</sup>); 151.22 (C<sup>4</sup>); 155.04 (C<sup>6</sup>); 159.85 (C<sup>2</sup>). <sup>15</sup>N,  $\delta$  (ppm): 85.52 (N<sup>6</sup>), 97.54 (N<sup>2</sup>), 173.61 (N<sup>9</sup>), 179.07 (N<sup>3</sup>), 188.17 (N<sup>1</sup>); neni pozorován (N<sup>20'</sup>); 238.23 (N<sup>7</sup>).

[N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(4-amincyklohexylamin)-9-(iso-propyl)]purin (10). <sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 1.24, 2H, *mm*, H<sub>a</sub>C<sup>21,23</sup>; 1.35, 2H, *mm*, H<sub>a</sub>C<sup>20,24</sup>; 1.53, 6H, *d*, 6.8, HC<sup>17,18</sup>; 1.86, 2H, *mm*, H<sub>b</sub>C<sup>21,23</sup>; 2.03, 2H, *mm*, H<sub>b</sub>C<sup>20,24</sup>; 2.65, 1H, *t*, 11.4, HC<sup>22</sup>; 3.53, 1H, *m*, HC<sup>19</sup>; 3.82, 3H, *s*, HC<sup>12'</sup>; 4.64, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 4.73, 2H, *br*, HN<sup>22'</sup>; 4.80, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 5.97, 1H, *d*, 7.7, HN<sup>2</sup>; 6.72, 1H, *t*, 8.2, HC<sup>14</sup>; 6.87, 1H, *dd*, 8.3, 1.4, HC<sup>13</sup>; 6.92, 1H, *d*, 7.7, HC<sup>15</sup>; 7.43, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 7.81, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 8.30, 1H, *bs*, HO<sup>11'</sup>. <sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm): 21.90 (HC<sup>17,18</sup>); 31.87 (HC<sup>20,24</sup>), 35.61 (HC<sup>21,23</sup>); 39.38 (HC<sup>9</sup>); 46.46 (HC<sup>16</sup>); 47.48 (HC<sup>22</sup>); 50.25 (HC<sup>19</sup>); 55.80 (HC<sup>12'</sup>); 111.07 (HC<sup>13</sup>); 114.35 (C<sup>5</sup>); 118.75 (C<sup>14</sup>); 121.50 (HC<sup>15</sup>); 127.20 (C<sup>10</sup>); 135.55 (HC<sup>8</sup>); 145.16 (C<sup>11</sup>); 148.35 (C<sup>12</sup>); 151.38 (C<sup>4</sup>); 155.14 (C<sup>6</sup>); 158.95 (C<sup>2</sup>). <sup>15</sup>N,  $\delta$  (ppm): 90.55 (N<sup>6</sup>), 100.31 (N<sup>2</sup>), 173.86 (N<sup>9</sup>), 176.93 (N<sup>3</sup>), 187.36 (N<sup>1</sup>), 239.40 (N<sup>7</sup>), neni pozorován (N<sup>22'</sup>).

[N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-(1,3-propylendiamin)-9-(isopropyl)]purin (11). <sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 1.53, 6H, *d*, 6.9, HC<sup>17,18</sup>; 1.77, 2H, *qui*, 6.6, HC<sup>20</sup>; 2.79, 2H, *t*, 6.0, HC<sup>21</sup>; 3.50, 2H, *sep*, 5.9, HC<sup>19</sup>; 4.64, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 4.71, 2H, *d*, 5.5, HC<sup>9</sup>; 5.73, 2H, *br*, HN<sup>21'</sup>; 6.44, 1H, *t*, 7.1, HN<sup>2</sup>; 6.75, 1H, *td*, 7.4, 1.1, HC<sup>14</sup>; 6.88, 1H, *dd*, 8.1, 1.2, HC<sup>12</sup>; 7.10, 1H, *td*, 7.8, 1.3, HC<sup>13</sup>; 7.31, 1H, *dd*, 7.6, 1.3, HC<sup>15</sup>; 7.71, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 7.83, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 9.30, 1H, *br*, HO<sup>11'</sup>. <sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm): 21.83, 21.93 (HC<sup>17,18</sup>); 32.90 (HC<sup>20</sup>), 38.55 (HC<sup>19</sup>); 39.22 (HC<sup>21</sup>); 39.59 (HC<sup>9</sup>); 46.39 (HC<sup>16</sup>); 114.21 (C<sup>5</sup>); 116.18 (HC<sup>12</sup>); 119.01 (HC<sup>14</sup>); 126.77 (C<sup>10</sup>); 128.42 (HC<sup>13</sup>); 129.95 (C<sup>15</sup>); 135.55 (HC<sup>8</sup>); 151.26 (C<sup>4</sup>); 155.02 (C<sup>6</sup>); 156.24 (C<sup>11'</sup>); 159.55 (C<sup>2</sup>). <sup>15</sup>N,  $\delta$  (ppm): 85.44 (N<sup>2</sup>), 86.89 (N<sup>6</sup>), 174.10 (N<sup>9</sup>), 179.96 (N<sup>3</sup>), 187.21 (N<sup>1</sup>), 238.70 (N<sup>7</sup>), neni pozorován (N<sup>21'</sup>).

{N6-(4-aminobenzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethylpropyl)amin]-9-(iso-propyl)} purin (12). <sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 1.01, 3H, *t*, 7.4, HC<sup>22</sup>; 1.57, 6H, *d*, 6.9, HC<sup>17,18</sup>; 1.65, 1H, *sep*, 7.6, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.84, 1H, *sept*, 7.5, 1.6, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 3.66, 1H, *dd*, 10.7, 5.6, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.76, 1H, *dd*, 10.8, 5.1, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 4.05, 1H, *sxtt*, 5.7, 2.6, HC<sup>19</sup>; 4.69, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 4.84, 1H, *br*, HO<sup>20'</sup>; 6.50, 1H, *br*, HN<sup>2</sup>; 7.25, 2H, *s*, HN<sup>6</sup>; 7.85, 2H, *d*, 9.0, HC<sup>12,14</sup>; 8.00, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 8.39, 2H, *dt*, 9.1, 2.0, HC<sup>11,15</sup>; 9.75, 1H, *bs*, HN<sup>6</sup>. <sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm): 10.54 (HC<sup>22</sup>); 21.80, 21.92 (HC<sup>17,18</sup>); 24.41 (HC<sup>21</sup>);

46.60 (HC<sup>16</sup>); 55.13 (HC<sup>19</sup>); 63.77 (HC<sup>20</sup>); 114.99 (C<sup>5</sup>); 119.24 (HC<sup>11,15</sup>); 126.72 (C<sup>12,14</sup>); 136.75 (HC<sup>8</sup>); 136.98 (C<sup>10</sup>); 144.23 (C<sup>13</sup>); 152.14 (C<sup>4</sup>); 152.18 (C<sup>6</sup>); 159.37 (C<sup>2</sup>). <sup>15</sup>N,  $\delta$  (ppm): 94.59 (N<sup>2</sup>), 95.10 (N<sup>6</sup>), 105.38 (N<sup>6</sup>), 173.99 (N<sup>9</sup>), 195.93 (N<sup>3</sup>), 201.86 (N<sup>1</sup>), 238.28 (N<sup>7</sup>).

{N6-(4-amin-*N*-3,5-dimethylpyrimidin-benzensulfonamid)-2-[(1-hydroxy-methylpropyl)-amin]-9-(isopropyl)}purin (13). <sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 1.00, 3H, *t*, 7.0, HC<sup>22</sup>; 1.55, 6H, *d*, 6.6, HC<sup>17,18</sup>; 1.65, 1H, *sep*, 6.8, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.82, 1H, *sept*, 6.8, 1.8, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 2.28, 6H, *s*, HC<sup>23,25</sup>; 3.64, 1H, *dd*, 10.5, 5.5, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.74, 1H, *dd*, 10.8, 4.9, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 4.04, 1H, *sxt*, 6.0, HC<sup>19</sup>; 4.67, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 5.11, 1H, *br*, HO<sup>20</sup>; 6.51, 1H, *br*, HN<sup>2</sup>; 6.77, 1H, *s*, HC<sup>24</sup>; 8.01, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 8.07, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 8.07, 2H, *d*, 8.4, HC<sup>12,14</sup>; 8.40, 2H, *dt*, 9.0, 2.0, HC<sup>11,15</sup>; 9.78, 1H, *bs*, HN<sup>6</sup>. <sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm): 10.56 (HC<sup>22</sup>); 21.71, 21.86 (HC<sup>17,18</sup>); 22.96 (HC<sup>23,25</sup>); 24.45 (HC<sup>21</sup>); 46.61 (HC<sup>16</sup>); 55.18 (HC<sup>19</sup>); 63.32 (H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>); 64.35 (H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>); 114.85 (HC<sup>24</sup>); 115.02 (C<sup>5</sup>); 118.61 (HC<sup>12,14</sup>); 129.42 (C<sup>11,15</sup>); 132.29 (C<sup>13</sup>); 137.07 (HC<sup>8</sup>); 145.20 (C<sup>10</sup>); 152.03 (C<sup>10</sup>); 152.71 (C<sup>4</sup>); 157.27 (C<sup>6</sup>); 159.38 (C<sup>2</sup>); 168.06 (C<sup>23,25</sup>). <sup>15</sup>N,  $\delta$  (ppm): 78.82 (N<sup>6</sup>), 91.44 (N<sup>2</sup>), 104.53 (N<sup>6</sup>), 172.40 (N<sup>9</sup>), 193.56 (N<sup>3</sup>), 199.92 (N<sup>1</sup>), 236.06 (N<sup>7</sup>), 252.66 (N<sup>11,12</sup>).

{N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purin (14). <sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 0.97, 3H, *td*, 7.3, 3.8, HC<sup>22</sup>; 1.63, 1H, *sep*, 6.8, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.75, 1H, *sep*, 6.8, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 3.66, 1H, *dd*, 10.8, 4.2, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.72, 1H, *dd*, 10.8, 4.3, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 3.77, 1H, *dt*, 11.7, 3.2, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.83, 1H, *dd*, 12.1, 3.2, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 4.05, 1H, *sxt*, 4.5, HC<sup>19</sup>; 4.17, 1H, *q*, 3.3, HC<sup>19</sup>; 4.45, 1H, *qui*, 2.5, HC<sup>18</sup>; 4.77, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.90, 1H, *dt*, 14.2, 5.0, HC<sup>17</sup>; 5.20, 1H, *br*, HO<sup>20</sup>; 5.22, 1H, *br*, HO<sup>18</sup>; 5.40, 2H, *br*, HO<sup>17,20</sup>; 5.88, 1H, *br*, HN<sup>2</sup>; 5.96, 1H, *d*, 5.6, HC<sup>16</sup>; 6.79, 1H, *t*, 7.5, HC<sup>14</sup>; 6.94, 1H, *d*, 7.8, HC<sup>12</sup>; 7.13, 1H, *t*, 7.8, HC<sup>13</sup>; 7.34, 1H, *d*, 7.5, HC<sup>15</sup>; 7.77, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 8.04, 1H, *s*, HC<sup>8</sup> a 9.50, 1H, *br*, HO<sup>11</sup>. <sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm): 9.88 (HC<sup>22</sup>); 23.86 (HC<sup>21</sup>); 38.96 (HC<sup>9</sup>); 54.06 (HC<sup>19</sup>); 61.99 (HC<sup>20</sup>); 63.02 (HC<sup>20</sup>); 71.12 (HC<sup>18</sup>); 73.04 (HC<sup>17</sup>); 85.80 (C<sup>19</sup>); 88.29 (C<sup>16</sup>); 113.68 (C<sup>12</sup>); 114.92 (C<sup>5</sup>); 118.88 (C<sup>14</sup>); 127.58 (C<sup>13</sup>); 128.11 (C<sup>15</sup>); 129.13 (C<sup>10</sup>); 136.74 (HC<sup>8</sup>); 150.43 (C<sup>4</sup>); 154.41 (C<sup>11</sup>); 156.25 (C<sup>6</sup>); 158.98 (C<sup>2</sup>). <sup>15</sup>N,  $\delta$  (ppm): 92.42 (N<sup>2</sup>), 105.22 (N<sup>6</sup>), 160.15 (N<sup>9</sup>), 170.03 (N<sup>3</sup>), 185.33 (N<sup>1</sup>), 235.97 (N<sup>7</sup>).

{N6-(3-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purin (15). <sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 0.94, 3H, *td*, 7.3, 2.7, HC<sup>22</sup>; 1.59, 1H, *sep*, 6.9, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.73, 1H, *sept*, 6.8, 2.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 3.60, 1H, *dq*, 10.7, 2.5, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.68, 1H, *dd*, 10.8, 4.3, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 3.73, 1H, *dt*, 11.5, 2.8, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.84, 1H, *dd*, 12.2, 3.1, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 4.01, 1H, *sxt*, 4.5, HC<sup>19</sup>; 4.13, 1H, *q*, 2.9, HC<sup>19</sup>; 4.39, 1H, *qui*, 2.5, HC<sup>18</sup>; 4.74, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.87, 1H, *dt*, 15.6, 5.8, HC<sup>17</sup>; 5.23, 1H, *br*, HO<sup>20</sup>; 5.40, 2H, *br*, HO<sup>18,20</sup>; 5.60, 1H, *br*, HO<sup>17</sup>; 5.75, 1H, *br*, HN<sup>2</sup>; 5.92, 1H, *dd*, 6.4, 2.1, HC<sup>16</sup>; 6.75, 1H, *dd*, 7.9, 2.0, HC<sup>13</sup>; 6.90, 1H, *d*, 7.5, HC<sup>15</sup>; 6.98, 1H, *t*, 2.0, HC<sup>11</sup>; 7.15, 1H, *t*, 7.8, HC<sup>14</sup>; 7.88, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 7.98, 1H, *s*, HC<sup>8</sup> a 9.42, 1H, *br*, HO<sup>12</sup>. <sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm): 10.24 (HC<sup>22</sup>); 24.22 (HC<sup>21</sup>); 43.08 (HC<sup>9</sup>); 54.45 (HC<sup>19</sup>); 62.45 (HC<sup>20</sup>); 63.45 (HC<sup>20</sup>); 71.60 (HC<sup>18</sup>); 73.79 (HC<sup>17</sup>); 86.34 (HC<sup>19</sup>); 88.68 (HC<sup>16</sup>); 113.92 (HC<sup>13</sup>); 114.70 (HC<sup>11</sup>); 114.92 (C<sup>5</sup>); 118.11 (HC<sup>15</sup>); 129.08 (HC<sup>14</sup>); 129.13 (C<sup>10</sup>); 136.80 (HC<sup>8</sup>); 150.43 (C<sup>4</sup>); 154.41 (C<sup>11</sup>); 156.25 (C<sup>6</sup>); 158.98 (C<sup>2</sup>). <sup>15</sup>N,  $\delta$  (ppm): 92.43 (N<sup>2</sup>), 103.44 (N<sup>6</sup>), 165.64 (N<sup>9</sup>), 172.91 (N<sup>3</sup>), 181.25 (N<sup>1</sup>), 237.78 (N<sup>7</sup>).

{N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purin (16). <sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 0.94, 3H, *td*, 7.3, 3.8, HC<sup>22</sup>; 1.59, 1H, *sep*, 6.8, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.72, 1H, *sep*, 6.8, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 3.59, 1H, *m*, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.66, 1H, *dd*, 10.6, 4.2, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 3.70, 1H, *dt*, 11.7, 3.2, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.81, 1H, *dd*, 11.7, 3.2, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 3.83, 3H, *s*, HC<sup>12</sup>; 3.99, 1H, *sxt*, 4.5, HC<sup>19</sup>; 4.08, 1H, *q*, 3.3, HC<sup>19</sup>; 4.36, 1H, *qui*, 2.5, HC<sup>18</sup>; 4.76, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.85, 1H, *dt*, 11.7, 5.5, HC<sup>17</sup>; 5.00,



$^1\text{H}$ , *br*,  $\text{HO}^{20'}$ ; 5.23,  $^1\text{H}$ , *br*,  $\text{HO}^{18}$ ; 5.50,  $^1\text{H}$ , *br*,  $\text{HO}^{20''}$ ; 5.68,  $^1\text{H}$ , *br*,  $\text{HO}^{17'}$ ; 5.79,  $^1\text{H}$ , *br*,  $\text{HN}^2$ ; 5.89,  $^1\text{H}$ , *dd*, 6.5, 1.8,  $\text{HC}^{16}$ ; 6.74,  $^1\text{H}$ , *t*, 7.8,  $\text{HC}^{14}$ ; 6.89,  $^1\text{H}$ , *d*, 7.8,  $\text{HC}^{13}$ ; 6.94,  $^1\text{H}$ , *d*, 7.8,  $\text{HC}^{15}$ ; 7.56,  $^1\text{H}$ , *br*,  $\text{HN}^6$ ; 7.98,  $^1\text{H}$ , *s*,  $\text{HC}^8$  a 9.19,  $^1\text{H}$ , *br*,  $\text{HO}^{11'}$ .  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$  (ppm): 10.38 ( $\text{HC}^{22}$ ); 24.39 ( $\text{HC}^{21}$ ); 39.12 ( $\text{HC}^9$ ); 54.60 ( $\text{HC}^{19}$ ); 55.79 ( $\text{HC}^{12'}$ ); 62.63 ( $\text{HC}^{20}$ ); 63.56 ( $\text{HC}^{20}$ ); 71.70 ( $\text{HC}^{18}$ ); 73.87 ( $\text{HC}^{17}$ ); 86.40 ( $\text{HC}^{19'}$ ); 88.72 ( $\text{HC}^{16}$ ); 110.91 ( $\text{HC}^{13}$ ); 114.51 ( $\text{C}^5$ ); 118.75 ( $\text{HC}^{14}$ ); 121.24 ( $\text{HC}^{15}$ ); 126.76 ( $\text{C}^{10}$ ); 137.08 ( $\text{HC}^8$ ); 144.89 ( $\text{C}^{11}$ ); 148.07 ( $\text{C}^{12}$ ); 151.11 ( $\text{C}^4$ ); 156.14 ( $\text{C}^6$ ); 159.60 ( $\text{C}^2$ ).

Interpretace/přiřazení  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a  $^{15}\text{N}$  signálů všech studovaných derivátů *roskovitinu* s detailním popisem naměřených 1D a 2D spekter ve formě diskuse je uvedena v příloze 8, (8.1.1. - 8.1.16.).

#### 4.2. CDK2 inhibiční aktivita a cytotoxicita některých studovaných derivátů *roskovitinu* na základních nádorových buněčných liniích *in vitro*.

Látka	CDK2 ( $\text{IC}_{50}$ , $\mu\text{M}$ )	Cytotoxicita ( $\text{IC}_{50}$ , $\mu\text{M}$ )			
		MCF7	HOS	G361	K562
<i>Roskovitin</i>	0,45	11,1	32	34	40
<i>Olomoucín II</i>	0,02	5,3	6,3	6,3	11,1
2	0,07	10,9	21,1	15,1	14,7
3	0,10	>50	>50	>50	>50
4	0,14	3,0	2,9	4,4	7,0
5	0,12	6,6	14,0	10,7	20,7
7		-	>50	>50	>50
9	0,26	4,4	9,0	5,9	15,3

#### 4.3. Shrnutí výsledků.

Každý derivát představuje s hlediska NMR individuální systém, který je třeba nejenom identifikovat, včetně přiřazení  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a  $^{15}\text{N}$  signálů, ale i pokusit se o prokázání strukturálních vlastností molekuly (NOESY, ROESY), což bylo provedeno u některých derivátů. Řešení tohoto problému má velký význam především pro studium biologické aktivity uvedených vysoce aktivních derivátů *roskovitinu* (SAR) a jejich interakcí s DNA.

##### 4.3.1. Výsledky 1D NMR studia derivátů *roskovitinu*.

Získaná data z 1D  $^1\text{H}$  NMR spekter zkoumaných vzorků derivátů *roskovitinu* (hodnoty  $\delta$ ,  $J$  a počet vodíků podle integrálních křivek) jsou základem pro následující přesné přiřazení pomocí 2D NMR experimentů jednotlivých signálů. Změny v  $\delta$  a  $J$  u derivátů *roskovitinu* jsou způsobeny zavedením substituentů OH,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{OCH}_3$  atd., do různých poloh benzylového cyklu a samozřejmě zavedením různých R do poloh 2, 6 a 9 purinového cyklu.

Cílem této diplomové práce je přesné přiřazení  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a  $^{15}\text{N}$  signálů konkrétních derivátů *roskovitinu* za účelem identifikace všech těchto látek. Z uvedených výsledků je zřejmé, že celková interpretace spekter je bez výsledků 2D NMR spektroskopie nemožná. Je třeba brát v potaz, že 1D NMR experiment nám podává pouze omezené informace o struktuře.

Pro odlišení  $\delta_{13C}$ , které mohou patřit kvartérním uhlíkům a skupinám CH<sub>2</sub> od uhlíků skupin CH a CH<sub>3</sub>, získaných z 1D <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} spekter byl použit *J*-modulovaný APT experiment. Hlavním důvodem je fakt, že analogické *J*-modulované DEPT experimenty (DEPT-45, DEPT-90 a DEPT-135) by zabraly skoro třikrát delší dobu měření k získání takřka stejné informace. Avšak stejně jako u 1D <sup>1</sup>H NMR spekter, přiřazení konkrétních  $\delta$  <sup>13</sup>C signálů na základě uvedených 1D <sup>13</sup>C experimentů mají charakter předpokladu.

#### 4.3.2. 2D NMR spektroskopie v interpretaci <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C a <sup>15</sup>N signálů u derivátů roskovitinu.

Pro přesné přiřazení <sup>1</sup>H signálů uvedených derivátů jsme použili výsledky {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-gCOSY (90) a {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H} gTOCSY metodou přiřazení krosníků odpovídajících signálům nepřímo intereagujících vodíkových jader nacházejících se na jedné HC-CH vazbě, a také s vícevazebnou interakcí ({<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H} gTOCSY).

Přesné přiřazení  $\delta$  <sup>13</sup>C signálů, patřících skupinám CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> jsme provedli podle výsledků {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMQC a {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHSQC (interpretace je stejná, ale poslední má spektra s lepším rozlišením. V případě překryvů signálů, například u derivátů s ribosidovým substituentem v poloze 9 purinového cyklu) metodou přiřazení krosníků ( $\delta_{1H}/\delta_{13C}$ ), podle odpovídajících a prokázaných {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-gCOSY,  $\delta$  <sup>1</sup>H. Za použití výsledků {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMBC jsme provedli přesné přiřazení  $\delta$  <sup>13</sup>C signálů patřících kvartérním uhlíkům metodou přiřazení krosníků s konektivitou přes 1-5 vazby, a také jsme podpořili výsledky {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMQC. Přítomnost atomu bromu u {N6-(4-brombenzylamin)-2-[(1-hydroxymethylpropyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu (8) se projevilo stínícím efektem těžkého atomu na  $\delta_{13C}$  kvartérního uhlíku C13 ve srovnání s {N6-(4-hydroxy-3,5-di-methoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethylpro-pyl)-amin]-9-(isopropyl)}purinem (7), což lze například prokázat hodnotami  $\Delta\delta_{\delta 8 - \delta 7} = -15.32$  ppm<sup>[70]</sup>. Pouze za použití uvedených 2D NMR experimentů bylo možné provedení kompletního jednoznačně přesného přiřazení všech <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C signálů zkoumaných derivátů.

Pro získání  $\delta_{15N}$  a současné přiřazení <sup>15</sup>N signálů u všech zkoumaných látek jsme použili výsledky {<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N}-gHMBC, metodou přiřazení krosníků ( $\delta_{1H}/\delta_{15N}$ ) podle odpovídajících a prokázaných {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H} gCOSY,  $\delta$  <sup>1</sup>H. Signály HN<sup>2,6,6''</sup> jsou pozorovány v podobě *d* s  $J_{1H-15N} = 90-100$  Hz a  $\delta = 85-105$  ppm s odpovídajícími krosníky. Signály N<sup>1,3,7,9</sup> s  $\delta = 170-280$  ppm jsou pozorovány jako krosníky na odpovídající protony, blíž ležících HC a HN skupin.

Pro prokázání konfiguračních vlastností u některých uvedených derivátů jsme použili 2D ROESY experiment. Ten je nejlepší, pro informace tohoto charakteru, v 2D NMR.

Získaná data mohou užitečně posloužit pro identifikaci vysoceefektivních derivátů roskovitinu v dalších biologických a klinických testech. Rovněž i pro prokázání způsobů koordinace v různých komplexech s těmito organickými molekulami jako ligandy. Z výsledků diplomové práce je také zřetelný přínos 2D NMR spektroskopie a její nezastupitelnost při interpretaci <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C a <sup>15</sup>N signálů v NMR spektrech vybraných aromatických dusíkatých heterocyklů i dalších typů sloučenin s biologickou aktivitou.

## 5. ZÁVĚR.

V souladu s cílem diplomové práce (identifikace a prokázání strukturního složení sérií derivátů *roskovitinu*, pomocí 1D a 2D NMR spektroskopie, metodou přiřazení vodíkových, uhlíkových a dusíkových signálů v NMR spektrech bylo provedeno následující.

Za prvé, byla provedena stručná literární rešerše věnující se derivátům purinů jako CDK inhibitorů (role purinů v buněčném cyklu, SAR purinových derivátů, syntéza 2,6,9-trisubstituovaných derivátů purinu), z níž je zřejmá aktuálnost a perspektivita studia derivátů *roskovitinu*. Jsou to velmi efektivní sloučeniny s protinádorovým účinkem.

Za druhé, byla provedena literární rešerše principů NMR spektroskopie se získáním základních teoretických znalostí, týkajících jednodimenzionálních experimentů, včetně editačních technik s heteronukleární korelací (APT, DEPT, INEPT a td). Dále byly získány teoretické znalosti, nezbytné pro provedení a interpretaci řady dvojdimenzionálních homo- a heteronukleárních experimentů s nepřímou detekcí (COSY, TOCSY, HMQC, HSQC, HMBC), a také NOE experimentů (NOESY, ROESY).

Za třetí, byly osvojeny postupy měření 1D a 2D NMR spekter různých jader (včetně lockování, shimování, zadávání správných akvizičních a procesních parametrů, zpracování spekter, výměny a ladění sond a dalších nutných operací pro ladění homogenity magnetického pole a provedení kvalitních experimentů na spektrometrech Bruker Avance 300 (LRR UP), Varian 400 MR (s.o. Farmak, Olomouc) a Jeol ACX-500 (LRR UP). Součástí bylo také zvládnutí základních servisních operací spojených s obsluhou spektrometrů (včetně doplňování kapalného helia a dusíku).

Za čtvrté, bylo syntetizováno 16 derivátů *roskovitinu* (navázení v odpovídajících množstvích pro NMR experimenty).

Za paté, byly změřeny a posléze interpretovány 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -APT,  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -DEPT) a 2D NMR spektra připravených derivátů *roskovitinu* s přesným přiřazením  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a  $^{15}\text{N}$  signálů pomocí získaných výsledků dvojdimenzionálních experimentů:  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gCOSY,  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gTOCSY,  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gROESY,  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMQC,  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHSQC,  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMBC a  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMBC. Získaná data poslouží k identifikaci uvedených derivátů *roskovitinu* v biologických a klinických testech, směřovaných na protinádorovou aktivitu.

Za šesté, měřením a interpretací jiných organických a komplexních sloučenin jsem vyzkoušel nezastupitelnost 2D experimentů v interpretaci NMR dat<sup>[90-97]</sup>.

## 6. SYMBOLY A ZKRATKY.

### Symboly

- $B_0$  hlavní magnetické pole  
 $B_1$  magnetické pole vzhledem k vysílači  
 $B_2$  magnetické pole ve dvou-rezonančních experimentech  
 $Hz$  hertz, jednotka frekvence  
 $I$  bezrozměrný spin  
 $I_z$  spinové kvantové číslo ve směru osy  $z$   
 $J$  nepřímá spin-spinová interakční konstanta  
 $M$  magnetizace  
 $p$  koherence  
 $T$  tesla, jednotka magnetické indukce  
 $T_1$  spin-mřížkový, podélný relaxační čas  
 $T_{1p}$  spin-mřížkový relaxační čas při spinovém zámku v rámci rotačního systému koordinát  
 $T_2$  spin-spinový, příčný relaxační čas  
 $T_2^*$  efektivní spin-spinový relaxační čas vlivem nehomogenity magnetického pole u magnetizaci v  $xy$   
 $T_c$  teplota koalescence  
 $t_a$  akviziční čas  
 $t_p$  trvání pulsu vysílače nebo délka pulsu v  $\mu s$   
 $t_1$  dvou-dimenzionální 2D čas  $t_1$   
 $t_2$  dvou-dimenzionální 2D akviziční čas  
 $W$  označení možného relaxačního energetického přechodu v jednotkách rychlostní konstanty  
 $\alpha$  rotační uhel  
 $\gamma$  gyromagnetická nebo magnetogyrická konstanta  
 $\gamma B_0$  rezonanční frekvence nebo Larmorová frekvence  
 $\gamma B_2$  intenzita dekaplovaného pole  
 $\delta$  chemický posun  
 $\eta$  Overhauserovo zvětšení  
 $\mu$  magnetický moment  
 $\nu$  lineární frekvence  
 $\sigma$  magnetické stínění  
 $\tau$  čas zpoždění  
 $\tau_c$  efektivní korelační čas  
 $\tau_m$  směšovací doba  
 $\omega$  úhlová frekvence

### Zkratky

- APT attached proton test (test připojených protonů)  
ATP adenosintrifosfát  
BIRD bilinear rotation decoupling (bilineární rotační dekapling)  
*Bohemín* 6-benzylamin-2-(3-hydroxypropyl)amin-9-isopropylpurin  
CAMELSPIN cross relaxation appropriate for minimolecules emulated by locked spins  
CDCl<sub>3</sub> chloroform deuterovaný  
CDK cyklin-dependentní kináza  
COSY correlation spectroscopy (korelační spektroskopie)  
CP countur plot (modul obrysového zobrazování 2D spekter)

DEPT distortionless enhancement by polarization transfer (distorční změny probíhající přenosem polarizace)

DT relaxation delay time (relaxační časový interval)

*d*<sub>7</sub>-DMFA N,N' - dimethylformamid deuterovaný

*d*<sub>6</sub>- DMSO dimethylsulfoxid deuterovaný

EA elementární analýza prvků

FID free-induction decay (fid)

FT Fourier transform or transformations (Fourierova transformace)

G361 lidský melanom

gs gradient selective (selektivní gradient)

H,C-COSY nebo COLOC correlation spectroscopy via long-range coupling

HETCOR heteronuclear chemical-shift correlation (heteronukleární korelační spektroskopie chemického posunu)

HMBC heteronuclear multiple bond correlation (heteronukleární vícevazebná korelační spektroskopie)

HMQC heteronuclear multiple quantum correlation (heteronukleární vícekvantová korelační spektroskopie)

HOHAHA homonuclear Hartmann-Hahn spectroscopy

HOS lidský osteosarkom

HSQC heteronuclear single quantum correlation (heteronukleární jednokvantová korelační spektroskopie)

LR long range (dlouhý dosah)

MCF7 karcinom prsu člověka

MQC multiple quantum coherence (více kvantová koherence)

MS hmotnostní spektrometrie

*n*<sub>i</sub> number of time increments (počet časových intervalů)

NMR nukleární magnetická rezonance

NOE nuclear Overhauser effect or enhancement (nukleární Overhauserův efekt)

NOESY NOE spectroscopy (NOE spektroskopie)

*n*<sub>p</sub> number of data points (počet datových bodů)

*n*<sub>s</sub> number of scans (počet skenů)

*n*<sub>s</sub>/*i* number of scans per time increments (počet skenů za časový interval)

IČ infračervená spektroskopie

IC<sub>50</sub>, μM koncentrace látky (μM), letální pro 50% nádorových buněk (určeny z křivek závislosti odpovědi na dávce)

INADEQUATE incredible natural abundance double quantum transfer experiment

*Olomoucín* 6-benzylamin-2-(2-hydroxypropyl)amin-9-isopropylpurin

K562 lidská chronická myeloidní leukémie

PFG pulsed field gradient (pulzní gradient magnetického pole)

ppm parts per million (ppm jednotka chemického posunu)

RCT related coherence transfer (odpovídající koherenční přenos)

ROESY rotating frame nuclear Overhauser effect spectroscopy (nukleární Overhauserova spektroskopie s rotačním systémem koordinát)

*Roskovitin* R-(-)-6-benzylamin-2-[(1-hydroxymethyl)propyl]amin-9-isopropylpurin

RT repetition time, DT + *t*<sub>a</sub> (opakovací čas)

SAR structure–activity relationship (vztahy mezi strukturou a aktivitou)

S/N signal-to-noise ratio (poměr signál–šum)

s. int. silná intenzita

sl. int. slabá intenzita  
 stř. int. střední intenzita  
 STP stacked trace plot (modul skladaného stopového zobrazování 2D spekter)  
 sw spectral width (spektrální šířka)  
 TMS tetramethylsilan  
 TLC chromatografie na tenké vrstvě  
 TOCSY total correlation spectroscopy (totální korelační spektroskopie)  
 WATERGATE water suppression by gradient tailored excitation (eliminace signálu vody pomocí gradientové presaturace)

*s* singlet  
*br* široký signál (*bs* široký singlet)  
*d* dublet  
*t* triplet  
*q* kvartet  
*qui* kvintet  
*sxt* sextet  
*sep* septet  
*m* multiplet

## 7. LITERATURA.

1. Skoog F., Armstrong D. J. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **21**: 359 (1970).
2. Haberer G., Kieber J. J. *Plant Physiol.* **128**: 354 (2002).
3. Werner T., Motyka V., Strnad M. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**: 10487 (2001).
4. Jameson P. E. in *Cytokinins – Chemistry, Activity and Function* (Eds: D. W. S. Mok, M. C. Mok), CRC Press: Boca Raton, Chapt. 9: 113 (1994).
5. Sakakibara H. *Annu. Rev. Plant Biol.* **57**: 431 (2006).
6. Rosenmeyer H. *Chemistry & Biodiversity* **1**: 361 (2004).
7. Prosser V. a kol. *Experimentální metody biofyziky*, Academia, Praha 1 (1989).
8. Ning Yong-Cheng: *Structural identification of organic compounds with spectroscopic techniques*, with a foreword by Richard R. Ernst Nobel prize winner 1991, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA (1991).
9. Freeman R. *Chem. Heterocycl. Compd. (A Short History of NMR)* **31**: 9 (1995).
10. Chellapan S. P., Giordano A., Fisher P. B. *Curr. Top. Microbil. Immunol.* **227**: 57 (1998).
11. Fischer P. et al. WO 03/002565.
12. Knockaert M., Meijer L. *Biochem. Pharmacology* **64**: 819 (2002).
13. Legraverend M., Ludwig O., Bisagni E., et al. *Bioorg. & Med. Chem.* **7**: 1281 (1999).
14. Veselý J., Havlíček L., Strnad M. et al. *Eur. J. Biochem.* **224**: 771 (1994).
15. De Azevedo W. F., Leclerc S., Meijer L. et al. *Eur. J. Biochem.* **243**: 518 (1997).
16. Meijer L., Borgne A., Mulner O. et al. *Eur. J. Biochem.* **243**: 527 (1997).
17. Havlíček L., Hanuš J., Veselý J. *J. Med. Chem.* **40**: 408 (1997).
18. Zatloukal M. *Synthesis, Reactivity and Biological Activity of Novel Purine Derivatives*. Ph.D. thesis. Palacký University in Olomouc, Faculty of Science, Department of Organic Chemistry (2009).
19. Gray N. S., Wodicka L., Thunnissen A. M. et al. *J. Med. Chem.* **281**: 533 (2000).
20. [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2001/press.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2001/press.html).

21. <http://www.jbc.org/cgi/reprint/280/35/31220.pdf>.
22. Kryštof V., Lenobel R., Havlíček L. et al. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **12**: 3283 (2002).
23. Krystof V., Uldrijan S. *Curr. Drug Targets* **11** 291 (2010).
24. Lapenna S., Giordano A. *Nature Rev. Drug Discovery* **8** 547 (2009).
25. Chang Y. T., Gray N. S., Rosania G. R. et al. *Chem. Biol.* **6** 361 (1999).
26. Gray N. S., Wodicka L., Thunnissen A. M. et al. *Science* **281** 533 (1998).
27. Legraverend M., Ludwig O., Bisagni E. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **7** 1281 (1999).
28. Oumata N., Bettayeb K., Ferandin Y. et al. *J. Med. Chem.* **51** 5229 (2008).
29. Trova M. P., Barnes K. D., Alicea L. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **19** 6613 (2009).
30. Trova M. P., Barnes K. D., Barford C. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **19** 6608 (2009).
31. Zatloukal M., Jorda R., Gucky T. et al. *Eur. J. Med. Chem.* **61** 61 (2013).
32. Jorda R., Paruch K., Krystof V. *Curr. Pharm. Des.* **18** 2974 (2012).
33. Bettayeb K., Sallam H., Ferandin Y. et al. *Mol. Cancer Ther.* **7** 2713 (2008).
34. Gucky T., Jorda R., Zatloukal M. et al. *J. Med. Chem.* **56** 6234 (2013).
35. Popowycz F., Fournet G., Schneider C. et al. *J. Med. Chem.* **52** 655 (2009).
36. Jorda R., Havlicek L., McNae I. W. et al. *J. Med. Chem.* **54** 2980 (2011).
37. Heathcote D. A., Patel H., Kroll S. H. et al. *J. Med. Chem.* **53** 8508 (2010).
38. Paruch K., Dwyer M. P., Alvarez C. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **17** 6220 (2007).
39. Williamson D. S., Parratt M. J., Bower J. F. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **15** 863 (2005).
40. Parry D., Guzi T., Shanahan, F. et al. *Mol. Cancer Ther.* **9** 2344 (2010).
41. Paruch K., Dwyer M. P., Alvarez C. et al. *ACS Med. Chem. Lett.* **1** 204 (2010).
42. Gorlick R., Kolb E. A., Houghton P. J. et al. *Pediatr. Blood Cancer* **59** 1266 (2012).
43. Johnson A. J., Yeh Y. Y., Smith L. L. et al. *Leukemia* **26** 2554 (2012).
44. Zhang D., Mita M., Shapiro G. I. Et al. *Pharmacol.* **70** 891 (2012).
45. Benson C., White J., De B. J. et al. *Br. J. Cancer* **96** 29 (2007).
46. Chen R., Keating M. J., Gandhi V. et al. *Blood* **106** 2513 (2005).
47. Massard C., Soria J. C., Anthoney D. A. et al. *Cell Cycle* **10** 963 (2011).
48. Tong W. G., Chen R., Plunkett W. et al. *J. Clin. Oncol.* **28** 3015 (2010).
49. Legraverend M., Tunnah P., Noble M. et al. *J. Med. Chem.* **43**: 1282 (2000).
50. Otyepka M., Kryštof V., Havlíček L. et al. *J. Med. Chem.* **43**: 2506 (2000).
51. Rypka M., Veselý J., Chmela Z. et al. *Xenobiotica* **32** (11): 1017 (2002).
52. Imbach P., Capraro H. G., Furet P. et al. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **9**: 91 (1999).
53. [http://en.wikipedia.org/wiki/Mitsunobu\\_reaction#Reaction\\_mechanism](http://en.wikipedia.org/wiki/Mitsunobu_reaction#Reaction_mechanism).
54. Mitsunobu O., Yamada Y. *Bull. Chem. Soc. Japan* **40**: 2380 (1967).
55. *The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products*, Mitsunobu O. Synthesis 1-28 (Review, 1981).
56. Castro B. R. *Org. React.* **29**: 1 (Review, 1983).
57. Hughes D. L. *Org. React.*, **42**: 335 (Review, 1992). Hughes D. L. *Org. Prep.* **28**: 127 (Review, 1996).
58. Grochowski E. H., B. D., Kupper R. J., Michejda C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **104**: 6876 (1982).
59. Camp D. J., I. D. *J. Org. Chem.* **54**: 3045 (1989).
60. Camp D. J., I. D. *J. Org. Chem.* **54**: 3049 (1989).

61. Hughes D. L. R., R. A., Bergan J. J., Grabowski E. J. J. *J. Am. Chem. Soc.* **110**: 6487 (1988).
62. Volante R. *Tetrahedron Lett.* **22**: 3119 (1981).
63. Austin R. E., Okonya J. F., Bond D. R. S. et al. *Tetrahedron Lett.* **43**: 6169 (2002).
64. Ning Y. - Ch. *Structural Identification of Organic Compounds with Spectroscopic Techniques*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA© (2005) Weinheim ISBN: 3-527-31240-4.
65. Lambert J. B., Mazzola E. P. *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. An Introduction to Principles, Applications, and Experimental Methods*. Pearson Education, New Jersey, USA (2004).
66. Popa I., Novotná R. *Základy NMR spektroskopie*, Univerzita Palackého v Olomouci, ISBN 978-80-244-2991-5 (2012).
67. Farrar T. C., Becker E. D. *Pulse and Fourier Transform NMR, Introduction to Theory and Methods*, Academic Press (1971).
68. Show D. *Fourier Transform N.M.R. Spectroscopy* (Second Edition), Elsevier (1984).
69. Breitmaier E. *Structure Elucidation By NMR In Organic Chemistry: A Practical Guide*. John Wiley & Sons, Ltd. (2002).
70. Wehrli F. W., Marchand A. P., Wehrli S. *Interpretation of Carbon-13 NMR Spectra*, 2<sup>nd</sup> Edn. John Wiley & Sons, Chichester (1988).
71. Breitmaier E., Voelter W. *<sup>13</sup>C NMR Spectroscopy*, 2<sup>nd</sup> Edn. Verlag Chemie, Weinheim (1978).
72. Clerc J. T. *Structure analysis of Organic Compounds*, Budapest Kiado (1981).
73. Günther H. *NMR Spectroscopy, An Introduction*, Wiley, New York (1980).
74. Pople J. A. *Mol. Phys.*, **7**: 301 (1964).
75. Karplus M., Pople J. A. *J. Chem. Phys.*, **38**: 2803 (1963).
76. Günther H. *NMR Spectroscopy*, 2d ed., John Wiley and Sons, Ltd., Chichester, UK (1992).
77. Claridge T. D. W. *High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry*, Pergamon Press, Amsterdam (1999).
78. Van de Ven F. J. M. *Multidimensional NMR in Liquids*, VCH, New York (1995).
79. Bax A., Freeman R. and Kempell S. P. *J. Am. Chem. Soc.*, **102**: 4849 (1980).
80. Raunswiler L., Ernst R. R. *J. Magn. Reson.*, **53**: 521 (1983).
81. Bruker Instruments, Inc.
82. Ernst R. R., Bodenhausen G., Wokaun A. *Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*, Clarendon, Oxford (1987).
83. Sanders J. K. M. and Hunter B. K. *Modern NMR Spectroscopy*, 2d ed., Oxford University Press, Oxford, UK (1993).
84. Kogler H., Serensen O. W. et al. *J. Magn Reson.*, **55**: 157 (1983).
85. Bax A., Summers M. F. *J. Am. Chem. Soc.*, **108**: 2083 (1986).
86. Hurd R. E., John B. K. *J. Magn. Reson.*, **91**: 648 (1991).
87. Marek R., Lyčka A. *Curr. Org. Chem.* **6**: 35 (2002).
88. Bobry F. A., Hood F. P., Anderson E. W. et al., *J. Chem. Phys.* **41**: 2042 (1964).
89. Lambert J. B. and Riddel F. G. *The multinuclear approach to NMR spektroskopiy*, Durdrecht: D. Seidel (1983).



90. **Popa A.**, Mrňka M. Sborník abstraktů První studentské konference mladých přírodovědců PřF a PF UP, 12 (2007).
91. Doležal K., Popa I., Hauserová, E., et al. *Bioorg. Med. Chem.* **15**: 3737 (2007).
92. **Popa A.** Sborník abstraktů Druhé studentské konference mladých přírodovědců PřF a PF UP, 62 (2008).
93. **Popa A.**, Popa I. *Chem. Listy* **102**, 4P-14, 724 (2008).
94. Štarha P., Trávníček Z., **Popa A.** et al. *J. Inorg. Biochem.* **115**: 57 (2012).
95. Starha P., Hosek J., Dvořák Z. et al. *Journal Biochemical Pharmacology, Plos One*, **9** (3): e90341 (2014).
96. Štarha P., Trávníček Z., Popa I. et al. *Molecules*, **19** 10832-10844 (2014).
97. Řezníčková E., **Popa A.**, Gucký T. et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, accepted (2015).

## 8. PŘÍLOHA.

### 8.1. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů derivátů *roskovitinu* (výsledky/diskuze).

#### 8.1.1. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů 2-(1-hydroxymethyl-propyl)amin-9-(isopropyl)adeninu.

V  $^1\text{H}$ -spekttru 2-(1-hydroxymethyl-propyl)amin-9-(isopropyl)adeninu (1, obrázek 1, příloha) jsou 12 signálů, odpovídajících vodíkům zkoumané látky,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 7.81, 1H, *s*; 6.70, 2H, *bs*; 5.78, 1H, *d*, 8.5; 4.79, 1H, *br*; 4.61, 1H, *sep*, 7.2; 3.95, 1H, *sxtt*, 5.4, 2.7; 3.65, 1H, *dd*, 10.6, 5.3; 3.56, 1H, *dd*, 10.9, 5.3; 1.74, 1H, *sept*, 7.6, 1.7; 1.57, 1H, *sept*, 7.6, 1.7; 1.53, 6H, *d*, 6.8; 0.95, 3H, *t*, 7.7. Pro přiřazení vodíkových signálů jsme použily výsledky 2D experimentu  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -*gCOSY* (delka pulsu =  $90^\circ$ ). V *COSY* ( $\Theta = 90^\circ$ ) spektru 1 (obrázek 2, příloha) jsou signály krosníků,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 6.50(<sup>s</sup>) / 3.95(<sup>d, 5.4</sup>) (sl. int.); 4.79(<sup>s</sup>) / 3.65(<sup>d, 10.6</sup>) / 3.56(<sup>d, 10.9</sup>) (sl. int.); 4.61(<sup>t, 7.2</sup>) / 1.53(<sup>d, 6.8</sup>) (s. int.); 3.95(<sup>d, 5.4</sup>) / 3.65(<sup>d, 10.6</sup>) / 3.56(<sup>d, 10.9</sup>) / 1.74(<sup>t, 7.6</sup>) / 1.57(<sup>t, 7.6</sup>) (s. int.). Signály 3.65(<sup>d, 10.6</sup>) / 3.56(<sup>d, 10.9</sup>) mají společný krosník (s. int.), stejně, jako: 1.74(<sup>t, 7.6</sup>) / 1.57(<sup>t, 7.6</sup>) (s. int.). Signál 1.53(<sup>d, 6.8</sup>) má krosník se signálem 4.61(<sup>t, 7.2</sup>) (s. int.) a signál 0.95(<sup>t, 7.7</sup>) má krosníky: 1.57(<sup>t, 7.6</sup>) a 1.74(<sup>t, 7.6</sup>) (s. int.). Po analýze,  $^1\text{H}$  signály se dá přiřadit,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 0.95, 3H, *t*, 7.7,  $\text{HC}^{22}$ ; 1.53, 6H, *d*, 6.8,  $\text{HC}^{17,18}$ ; 1.57, 1H, *sept*, 7.6, 1.7,  $\text{H}_a\text{C}^{21}$ ; 1.74, 1H, *sept*, 7.6, 1.7,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$ ; 3.56, 1H, *dd*, 10.9, 5.3,  $\text{H}_a\text{C}^{20}$ ; 3.65, 1H, *dd*, 10.6, 5.3,  $\text{H}_b\text{C}^{20}$ ; 3.95, 1H, *sxtt*, 5.4, 2.7,  $\text{HC}^{19}$ ; 4.61, 1H, *sep*, 7.2,  $\text{HC}^{16}$ ; 4.79, 1H, *br*,  $\text{HO}^{20}$ ; 5.78, 1H, *d*, 8.5,  $\text{HN}^2$ ; 6.70, 2H, *bs*,  $\text{HN}^6$ ; 7.81, 1H, *s*,  $\text{HC}^8$ .

V  $\{^1\text{H}\}^{13}\text{C}$ -spekttru 1 (obrázek 3, příloha) jsou 12 uhlíkových signálů, odpovídajících zkoumanému vzorku,  $\delta$  (ppm): 10.55, 21.87, 21.90, 24.49, 46.38, 54.68, 64.19, 114.50, 135.52, 151.77, 156.72 a 159.99. V  $^{13}\text{C}$  (APT) spektru 1 (obrázek 4, příloha) jsou signály,  $\delta$  (ppm): 159.99, 156.72, 151.77, 114.50, 64.19 a 24.49 - v pozitivním modu (4 signály - odpovídajících kvartérním uhlíkům a 2 signály - uhlíkům skupin  $\text{CH}_2$ ). Signály v negativním modu,  $\delta$  (ppm) jsou: 135.52, 54.68, 46.38, 21.90, 21.87 a 10.55 (6 signálů – patří skupinám

CH a CH<sub>3</sub>). Pro přiřazení uhlíkových signálů, patřících skupinám CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> jsme použily výsledky analýzy experimentů 2D {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMOC s  $J = 146$  Hz. V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMOC spektru 1 (obrázek 5, příloha) jsou 8 signálů s  $\delta_{1H} (J) / \delta_{13C}$  (ppm), které po přiřazení vodíkových signálů pomocí 2D {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-gCOSY dá se identifikovat: 7.81 / 135.52 (HC<sup>8</sup>); 4.61 (7.2) / 46.38 (HC<sup>16</sup>); 3.95 (5.4) / 54.68 (HC<sup>19</sup>); 3.65 (10.6) / 64.19 (H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>); 3.56 (10.9) / 64.19 (H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>); 1.74 (7.6) / 24.49 (H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>); 1.57 (7.6) / 24.49 (H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>); 1.53 (6.8) / 21.90, 21.87 (HC<sup>17,18</sup>) a 0.95 (7.7) / 10.55 (HC<sup>22</sup>). Pro nejpřesnější přiřazení vodíkových a uhlíkových signálů, včetně kvartérních jsme použily analýzu výsledků 2D experimentu {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMBC při  $J = 8$  Hz. Za prvé, v {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMBC spektru 1 (obrázek 6, příloha) jsou přítomny signály s  $\delta_{13C}$  (ppm) = 159.99 s krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm.),  $J$  (Hz): 5.78,  $s$ , HN<sup>2</sup> (stř. int.) a 3.95,  $s$ , HC<sup>19</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C} = 156.72$  a krosníkem,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 6.70,  $s$ , HN<sup>6</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C} = 151.77$  a krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.81,  $s$ , HC<sup>8</sup> (s. int.), 5.78,  $s$ , HN<sup>2</sup> (sl. int.), 4.61,  $s$ , HC<sup>16</sup> (s. int.);  $\delta_{13C} = 114.50$  a krosníkem,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.81,  $s$ , HC<sup>8</sup> (stř. int.). Na základě uvedeného, dá se konstatovat, že kvartérními jsou uhlíky s  $\delta_{13C}$ : 114.50 (C<sup>5</sup>), 151.77 (C<sup>4</sup>), 156.72 (C<sup>6</sup>), 159.99 (C<sup>2</sup>). Dál, jsou signály s  $\delta_{13C} / \delta_{1H}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 135.52 / 7.81,  $d$ , 210.0, HC<sup>8</sup> a krosníkem s  $\delta_{1H}$  (ppm): 4.61,  $s$ , HC<sup>16</sup> (s. int.); 64.19 / 3.65,  $d$ , 111.0, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> / 3.56,  $d$ , 111.0, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> a krosníky 5.78,  $s$ , HN<sup>2</sup> (stř. int.), 4.79,  $s$ , HO<sup>20'</sup> (sl. int.) a 3.95,  $d$ , 19.0, HC<sup>19</sup> (s. int.); 54.68 / 3.95,  $d$ , 172.5, HC<sup>19</sup> a krosníky 5.78,  $d$ , 12.0, HN<sup>2</sup> (s. int.), 3.65,  $d$ , 26.5, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 3.56,  $d$ , 24.0, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 1.74,  $t$ , 53.5, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.57,  $s$ , H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.) a 0.95,  $s$ , HC<sup>22</sup> (s. int.); 46.38 / 4.61,  $d$ , 146.5, HC<sup>16</sup> s krosníky 7.81,  $s$ , HC<sup>8</sup> (s. int.) a 1.53,  $s$ , HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 24.49 / 1.74,  $d$ , 162.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> / 1.57,  $d$ , 160.1, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> s krosníky 3.95,  $s$ , HC<sup>19</sup> (s. int.), 3.65,  $s$ , H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 3.56,  $s$ , H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.) a 0.95,  $s$ , HC<sup>22</sup> (s. int.); 21.90 / 1.53,  $d$ , 192.0, HC<sup>17,18</sup> s krosníkem 4.61,  $s$ , HC<sup>16</sup> (s. int.); 21.87 / 1.53,  $d$ , 192.0, HC<sup>17,18</sup> s krosníkem 4.61,  $s$ , HC<sup>16</sup> (s. int.); 10.55 / 0.95,  $d$ , 126.5, HC<sup>22</sup> s krosníky 3.95,  $s$ , HC<sup>19</sup> (sl. int.), 1.74,  $s$ , H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.57,  $s$ , H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.). Po analýze uvedených dat se dá konstatovat, že  $\delta_{13C}$  uhlíků skupin CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> jsou: 10.55 (HC<sup>22</sup>); 21.87, 21.90 (HC<sup>17,18</sup>); 24.49 (HC<sup>21</sup>); 46.38 (HC<sup>16</sup>); 54.68 (HC<sup>19</sup>); 64.19 (HC<sup>20</sup>) a 135.84 (HC<sup>8</sup>).

V {<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N}-gHMBC, ( $J = 32$  Hz) spektru 1 (obrázek 7, příloha) jsou signály s  $\delta_{1H} / \delta_{15N}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 8.03 / 104.7,  $d$ , 15.4 s krosníky,  $\delta_{1H} = 2.93$  a 2.74 zbytkového nedeuterovaného DMFA v  $d_7$ -DMFA, které jsme použily jako kalibrační vnitřní standard. Dál, jsou signály s  $\delta_{1H} / \delta_{15N}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 6.70 / 75.08,  $d$ , 89.3, HN<sup>6</sup> bez krosníků; 5.78 / 92.27,  $dd$ , 88.2, 12.7, HN<sup>2</sup> s krosníky  $\delta_{1H}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 3.65,  $d$ , 6.7, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 3.56,  $d$ , 6.8, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 1.74,  $t$ , 8.6, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.) a 1.57,  $t$ , 8.8, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.). Dál, směrem do silných polí jsou signály: 7.81 / 173.06,  $d$ , 7.4, HC<sup>8</sup> a krosníkem,  $\delta_{1H}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 1.53,  $d$ , 8.0, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 5.78 / 180.88,  $d$ , 9.7, HN<sup>2</sup> bez krosníků; 6.70 / 199.70,  $s$ , HN<sup>6</sup> bez dalších krosníků a 7.81 / 240.44,  $d$ , 11.2, HC<sup>8</sup> bez krosníků také. Dusíkové signály se dá přiřadit,  $\delta_{15N}$  (ppm): 75.08 (N<sup>6</sup>), 92.27 (N<sup>2</sup>), 173.06 (N<sup>9</sup>), 180.88 (N<sup>3</sup>), 199.70 (N<sup>1</sup>) a 240.44 (N<sup>7</sup>).

### 8.1.2. Interpretace <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C a <sup>15</sup>N signálů {N6-(2,3-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu.

V <sup>1</sup>H-spektru {N6-(2,3-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu (2, obrázek 8, příloha) jsou přítomny 18 signálů, odpovídajících vodíkům zkoumaného vzorku s  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 10.38, 1H,  $br$ ; 8.86, 1H,  $br$ ; 7.83, 1H,  $s$ ; 7.71, 1H,  $br$ ;

6.80, 1H, *d*, 7.4; 6.75, 1H, *dd*, 8.0, 1.6; 6.62, 1H, *t*, 7.8; 5.87, 1H, *d*, 8.2; 4.76, 1H, *br*; 4.64, 2H, *br*; 4.63, 1H, *sep*, 6.8; 4.00, 1H, *sxt*, 7.0; 3.69, 1H, *dd*, 10.6, 4.9; 3.61, 1H, *dd*, 11.0, 5.6; Q pravděpodobně patřící vodě v *d*<sub>7</sub>-DMFA. Dá se předpokládat, že signály s největšími hodnoty  $\delta = 10,38$ , 1H, *br* a 8.86, 1H, *br* patří nejvíce odstíněným vodíkům skupin HO<sup>11'</sup> a HO<sup>12'</sup>. To, že je to *br* odpovídá pomalé výměně vodíků s molekuly deuterovaného rozpouštědla, které je typické pro skupiny OH a HN<sup>[59]</sup>. Dál, směrem do silných polí jsou signály s  $\delta = 8.37$ , 1H, *s*; 7.83, 1H, *s* a 7.71, 1H, *br*. První (8.37, 0.13H) patří příměsi, druhý (7.83, 1H, *s*) – je HC<sup>8</sup> a třetí (7.71, 1H, *br*) – patří HN<sup>[61]</sup>. Signály: 6.80, 1H, *d*, 7.4; 6.75, 1H, *dd*, 8.0, 1.6 a 6.62, 1H, *t*, 7.8 podle multiplicity (*d*, *dd* a *t*) mohou patřit vodíkům HC<sup>15</sup>, HC<sup>13</sup> a HC<sup>14</sup>, nebo HC<sup>13</sup>, HC<sup>15</sup> a HC<sup>14</sup> benzylového cyklu, což prokázat může jedině 2D <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-COSY (45°), spíš - <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-TOXY. Z ostatních 11 signálů se dá předpokládat, že signály podobných tvarů (multiplicita, blízké hodnoty *J*): 3.69, 1H, *dd*, 10.6, 4.9; 3.61, 1H, *dd*, 11.0, 5.6 a 1.77, 1H, *sept*, 6.8, 1.6; 1.62, 1H, *sep*, 7.2 patří H<sub>a,b</sub>C<sup>20</sup> a H<sub>a,b</sub>C<sup>21</sup>, nebo naopak a také: 1.54, 6H, *dd*, 6.9, 1.6 a 0.97, 3H, *t*, 7.5 (multiplicita, integrální hodnoty a největší stínění) se dá odnést ke skupinám HC<sup>17,18</sup> a HC<sup>22</sup>. Pro přiřazení vodíkových signálů jsme použily výsledky 2D experimentu <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-gCOSY (90°) a <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-TOCSY. V COSY spektru 2 (obrázek 9, příloha) jsou pozorovány signály krosníků s  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 7.71<sup>(s, HN<sup>6</sup>)</sup>/4.64<sup>(s, HC<sup>9</sup>)</sup> (sl.int.); 6.80<sup>(d, 7.4, HC<sup>15</sup>)</sup>/6.62<sup>(t, 7.8, HC<sup>14</sup>)</sup>; 6.75<sup>(d, 8.0, HC<sup>13</sup>)</sup>/6.62<sup>(t, 7.8, HC<sup>14</sup>)</sup>; 6.62<sup>(t, 7.8, HC<sup>14</sup>)</sup>/6.75<sup>(d, 8.0, HC<sup>13</sup>)</sup>/6.80<sup>(d, 7.4, HC<sup>15</sup>)</sup>; 5.87<sup>(d, 8.2, HN<sup>2</sup>)</sup>/4.00<sup>(d, 7.0, HC<sup>19</sup>)</sup>; 4.63<sup>(t, 6.8, HC<sup>16</sup>)</sup>/1.54<sup>(d, 6.9, HC<sup>17,18</sup>)</sup>; 4.00<sup>(d, 7.0, HC<sup>19</sup>)</sup>/3.69<sup>(d, 10.6, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>)</sup>/3.61<sup>(d, 11.0, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>)</sup> /1.77<sup>(t, 6.8, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>)</sup>/1.62<sup>(t, 7.2, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>)</sup>. Signály 3.69<sup>(d, 10.6, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>)</sup>/3.61<sup>(d, 11.0, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>)</sup> mají společný krosník, stejně, jako: 1.77<sup>(t, 6.8, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>)</sup>/1.62<sup>(t, 7.2, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>)</sup>, signál 4.76<sup>(s, HO<sup>20'</sup>)</sup> má krosníky s 3.69<sup>(s, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>)</sup> a 3.61<sup>(s, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>)</sup> sl.int.; samozřejmě, signál 1.54<sup>(d, 6.9, HC<sup>17,18</sup>)</sup> má krosník se signálem 4.64<sup>(t, 6.8, HC<sup>16</sup>)</sup> a signál 0.97<sup>(t, 7.5, HC<sup>22</sup>)</sup> má krosníky: 1.62<sup>(t, 7.2, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>)</sup> a 1.77<sup>(t, 6.8, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>)</sup>. V TOCSY spektru 2 (obrázek 10, příloha) jsou především pozorovány signály krosníků s  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz), 6.80<sup>(d, 7.4, HC<sup>15</sup>)</sup>/4.64<sup>(s, HC<sup>9</sup>)</sup> a 8.86<sup>(s, HO<sup>12'</sup>)</sup>/6.75<sup>(d, 8.0, HC<sup>13</sup>)</sup>, které prokazují přiřazení signálů <sup>1</sup>H benzylového cyklu. Ostatní signály krosníků podporují data COSY (90°). Po analýze uvedených COSY a TOCSY spekter, vodíkové signály s odpovídajícími  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz) se dá s jistotou přiřadit v následujícím pořadí: 0.97, 3H, *t*, 7.5, HC<sup>22</sup>; 1.54, 6H, *dd*, 6.9, 1.5, HC<sup>17,18</sup>; 1.62, 1H, *sep*, 7.2, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.77, 1H, *sept*, 6.8, 1.9, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 3.61, 1H, *dd*, 11.0, 5.6, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.69, 1H, *dd*, 10.6, 4.9, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 4.00, 1H, *sxt*, 7.0, HC<sup>19</sup>; 4.63, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 4.64, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.76, 1H, *br*, HO<sup>20'</sup>; 5.87, 1H, *d*, 8.2, HN<sup>2</sup>; 6.62, 1H, *t*, 7.8, HC<sup>14</sup>; 6.75, 1H, *dd*, 8.0, 1.6, HC<sup>13</sup>; 6.80, 1H, *d*, 7.4, HC<sup>15</sup>; 7.71, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 7.83, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 8.86, 1H, *br*, HO<sup>12'</sup>; 10.38, 1H, *br*, HO<sup>11'</sup>.

V 1D dekaplovaném {H}<sup>13</sup>C-spektru 2 (obrázek 11, příloha) jsou přítomny 19 signálů, odpovídajících uhlíkům zkoumaného vzorku s  $\delta$  (ppm): 10.52, 21.77, 21.83, 24.40, 39.86, 46.64, 54.86, 63.81, 114.31, 114.58, 119.20, 120.61, 127.15, 135.87, 144.03, 146.59, 151.07, 154.84, 159.20; 3 signály uhlíků zbytkového nedeuterovaného DMFA v *d*<sub>7</sub>-DMFA s  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 162.28, *t*, 29.4; 34.73, *sep*, 21.0; 29.65, *sep*, 21.0. Nejvíce odstíněné, podle strukturního vzorce, musí být C2 nebo C4, pak, – C6, C5 (indukční efekt *N*-heteroatomu) a také C11 a C12 musí být posunuty do slabých polí<sup>[41]</sup>. Naopak, C22, C17, 18, jako nejvíce stíněné musí být v oblasti silných polí. V <sup>13</sup>C (APT) spektru uvedeného vzorce (2, obrázek 12, příloha) jsou signály s  $\delta$  (ppm): 159.20, 154.84, 151.07, 146.59, 144.03, 127.15 a 114.31 v pozitivním modu, odpovídající kvartérním uhlíkům. Uhlíky skupin CH<sub>2</sub> (také v pozitivním modu v APT) jsou mnohem více stíněné, tzn., musí mít hodnoty  $\delta$  v intervalu 70 – 20 ppm.

Signály v negativním modu s  $\delta$  (ppm): 135.87, 120.61, 119.20, 114.58 a také 54.86, 46.64, 21.83, 21.77 a 10.52 patří skupinám CH a CH<sub>3</sub><sup>[41]</sup>. Pro přiřazení uhlíkových signálů, patřících skupinám CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> jsme použily výsledky analýzy experimentů 2D {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMQC, {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHSQC s  $J = 146$  Hz. V 2D spektru {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMQC 2 (obrázek 13, příloha) jsou 12 signálů s  $\delta_{1H}$  ( $J$ ) /  $\delta_{13C}$  (ppm, Hz), které po přiřazení vodíkových signálů pomocí 2D {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-gCOSY dá se s jistotou přiřadit následujícím způsobem: 7.83 / 135.87 (HC<sup>8</sup>); 6.80 (7.4) / 120.61 (HC<sup>15</sup>); 6.75 (8.0) / 114.58 (HC<sup>13</sup>); 6.62 (7.8) / 119.20 (HC<sup>14</sup>); 4.64 / 39.86 (HC<sup>9</sup>); 4.63 (6.8) / 46.64 (HC<sup>16</sup>); 4.00 (7.0) / 54.86 (HC<sup>19</sup>); 3.69 (10.6) / 63.81 (H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>); 3.61 (11.0) / 63.81 (H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>); 1.77 (6.8) / 24.40 (H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>); 1.62 (7.2) / 24.40 (H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>); 1.54 (6.9) / 21.83, 21.77 (HC<sup>17,18</sup>); 0.97 (7.5) / 10.52 (HC<sup>22</sup>). Pro nej přesnější přiřazení vodíkových a uhlíkových signálů, včetně kvartérních jsme použily analýzu výsledků 2D experimentu {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMBC při  $J = 8$  Hz. Za prvé, v {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMBC spektru 2 (obrázek 14, příloha) jsou přítomny signály s  $\delta_{13C}$  (ppm) = 159.20 a krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm.),  $J$  (Hz): 5.87, *s*, HN<sup>2</sup> (stř. int.) a 4.00, *s*, HC<sup>19</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C} = 151.07$  a krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.83, *s*, HC<sup>8</sup> (s. int.), 5.87, *s*, HN<sup>2</sup> (sl. int.), 4.63, *s*, HC<sup>16</sup> (s. int.);  $\delta_{13C} = 146.59$  a krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 6.75, *s*, HC<sup>13</sup> (s. int.), 6.62, *s*, HC<sup>14</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C} = 144.03$  a krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 6.80, *s*, HC<sup>15</sup> (sl. int.), 6.75, *s*, HC<sup>13</sup> (stř. int.) a 6.62, *s*, HC<sup>14</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C} = 127.15$  a krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 6.80, *s*, HC<sup>15</sup> (s. int.) a 6.62, *s*, HC<sup>14</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C} = 114.31$  a krosníkem,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.83, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.). Signál  $\delta_{13C} = 154.84$  – není pozorován. Na základě uvedeného, dá se konstatovat, že kvartérními jsou uhlíky s  $\delta_{13C}$ : 114.31 (C<sup>5</sup>), 127.15 (C<sup>10</sup>), 144.03 (C<sup>11</sup>), 146.59 (C<sup>12</sup>), 151.07 (C<sup>4</sup>), 154.84 (C<sup>6</sup>), 159.20 (C<sup>2</sup>). Dál, jsou signály s  $\delta_{13C}$  /  $\delta_{1H}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 135.87 / 7.83, *d*, 209.1, HC<sup>8</sup> a krosníkem s  $\delta_{1H}$  (ppm): 4.63, *s*, HC<sup>16</sup> (s. int.); 120.61 / 6.80, *d*, 161.7, HC<sup>15</sup> a krosníky 6.75, *s*, HC<sup>13</sup> (stř. int.), 6.62, *s*, HC<sup>14</sup> (s. int.); 119.20 / 6.62, *d*, 161.7, HC<sup>14</sup> a krosníky 6.80, *s*, HC<sup>15</sup> (s. int.), 6.75, *s*, HC<sup>13</sup> (s. int.); 114.58 / 6.75, *d*, 150.9, HC<sup>13</sup> a krosníky 6.80, *s*, HC<sup>15</sup> (sl. int.), 6.62, *s*, HC<sup>14</sup> (s. int.); 63.81 / 3.69, *d*, 110.9, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> / 3.61, *d*, 110.8, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> a krosníky 5.87, *s*, HN<sup>2</sup> (stř. int.), 4.00, *d*, 18.8, HC<sup>19</sup> (s. int.); 54.86 / 4.00, *d*, 172.4, HC<sup>19</sup> a krosníky 5.87, *d*, 12.1, HN<sup>2</sup> (s. int.), 3.69, *t*, 26.4, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 3.61, *t*, 23.5, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 1.77, *t*, 53.6, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.62, *s*, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 0.97, *s*, HC<sup>22</sup> (s. int.); 46.64 / 4.63, *d*, 146.5, HC<sup>16</sup> a krosníkem 1.54, *s*, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 39.86 / 4.64, *d*, 159.6, HC<sup>9</sup> s krosníkem 6.80, *s*, HC<sup>15</sup> (stř. int.); 24.40 / 1.77, *d*, 162.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> / 1.62, *d*, 160.1, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> a krosníky 3.69, *s*, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 3.61, *s*, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 0.97, *s*, HC<sup>22</sup> (s. int.); 21.83 / 1.54, *d*, 192.0, HC<sup>17,18</sup> a krosníkem 4.63, *s*, HC<sup>16</sup> (s. int.); 21.77 / 1.54, *d*, 192.0, HC<sup>17,18</sup> a krosníkem 4.63, *s*, HC<sup>16</sup> (s. int.); 10.52 / 0.97, *d*, 126.5, HC<sup>22</sup> a krosníky 4.00, *s*, HC<sup>19</sup> (sl. int.), 1.77, *s*, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.62, *s*, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.). Podle analýzy uvedených dat se dá konstatovat, že uhlíky CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> skupin jsou s  $\delta_{13C}$ : 10.52 (HC<sup>22</sup>); 21.83, 21.77 (HC<sup>17,18</sup>); 24.40 (HC<sup>21</sup>); 39.86 (HC<sup>9</sup>); 46.64 (HC<sup>16</sup>); 54.86 (HC<sup>19</sup>); 63.81 (HC<sup>20</sup>); 114.58 (HC<sup>13</sup>); 119.20 (HC<sup>14</sup>); 120.61 (HC<sup>15</sup>) a 135.84 (HC<sup>8</sup>).

V {<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N}-gHMBC, ( $J = 16$  Hz) spektru 2 (obrázek 15, příloha) jsou signály s  $\delta_{1H}$  /  $\delta_{15N}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 8.03 / 104.7, *d*, 15.4 s krosníky,  $\delta_{1H} = 2.93$  a 2.74 zbytkového nedeuterovaného DMFA v *d*<sub>7</sub>-DMFA, které jsme použily jako kalibrační vnitřní standard; dál jsou signály 7.71 / 89.01, *d*, 92.4, HN<sup>6</sup> bez krosníků; 5.87 / 92.83, *dd*, 88.9, 9.7, HN<sup>2</sup> s krosníky 3.69, *dd*, 33.5, 13.7, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.); 1.77, *s*, 33.5, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (stř. int.) a 1.62, *d*, 14.1, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (stř. int.); signál 7.83 / 174.24, *s*, HC<sup>8</sup> (s. int.) s krosníky 4.63, *d*, 10.0, HC<sup>16</sup> (stř. int.) a 1.54, *s*, HC<sup>17,18</sup> (stř. int.). Dál, směrem do silných polí následují signály 5.87 / 178.50, *d*, 5.7, HN<sup>2</sup> (sl. int.); 5.87 / 228.92, *s*, HN<sup>2</sup> (stř. int.) a 7.83 / 238.87, *d*, 7.8, HC<sup>8</sup> (s. int.). Po analýze

uvedených dat, dusíkové signály se dá přiřadit,  $\delta_{15\text{N}}$  (ppm): 89.01 (HN<sup>6</sup>), 92.83 (HN<sup>2</sup>), 174.24 (N<sup>9</sup>), 178.50 (N<sup>3</sup>), 228.92 (N<sup>1</sup>) a 238.87 (N<sup>7</sup>).

### 8.1.3. Interpretace <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C a <sup>15</sup>N signálů {N6-(3,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu.

V <sup>1</sup>H-spektru {N6-(3,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu (3, obrázek 16, příloha) jsou přítomny 16 signálů, odpovídajících vodíkům zkoumaného vzorku s  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 9,25, 2H, *br*; 7.79, 1H, *s*; 7.41, 1H, *br*; 6.40, 2H, *d*, 2.0; 6.24, 1H, *t*, 2.2; 5.82, 1H, *d*, 6.9; 4.76, 1H, *t*, 7.0; 4.62, 1H, *sep*, 6.8; 4.62, 2H, *br*; 3.97, 1H, *sxt*, 5.7; 3.66, 1H, *dd*, 10.8, 2.0; 3.56, 1H, *dd*, 10.5, 5.4; 1.73, 1H, *sept*, 6.8, 1.5; 1.60, 1H, *sept*, 7.4, 1.5; 1.53, 6H, *d*, 6.7; 0.94, 3H, *t*, 7.5; 3 signály vodíků zbytkového nedeuterovaného DMFA v *d*<sub>7</sub>-DMFA a také signál s  $\delta = 3.51$ , *br* a integrální hodnotou = 1.76 patřící vodě v *d*<sub>7</sub>-DMFA. Dá se předpokládat, že signál s  $\delta = 9,25$ , 2H, *br* patří nejvíce odstíněným vodíkům skupin HO<sup>12'</sup> a HO<sup>14'</sup>. Dál, směrem do silných polí jsou signály s  $\delta = 7.79$ , 1H, *s* a 7.41, 1H, *br*. První (7.79, 1H, *s*) – je HC<sup>8</sup> a druhý (7.41, 1H, *br*) – patří HN<sup>6[59]</sup>. Signály: 6.40, 2H, *d*, 2.0; 6.24, 1H, *t*, 2.2 podle multiplicity (*d*) a malým hodnotám  $J$  (2.0 a 2.2 Hz), které napovídají, že jsou to interakční konstanty vicinálních čtyřvazebných spin-spinových interakcí, mohou patřit vodíkům HC<sup>11</sup>, HC<sup>15</sup> a HC<sup>13</sup> benzylového cyklu. Z ostatních 11 signálů se dá předpokládat, že signály podobných tvarů (multiplicita, blízké hodnoty  $J$ ): 3.66, 1H, *dd*, 10.8, 4.9; 3.56, 1H, *dd*, 10.5, 5.4 a 1.73, 1H, *sept*, 6.8, 1.5; 1.60, 1H, *sept*, 7.4, 1.5 patří H<sub>a,b</sub>C<sup>20</sup> a H<sub>a,b</sub>C<sup>21</sup>. Signály: 1.53, 6H, *d*, 6.7 a 0.94, 3H, *t*, 7.5 (multiplicita, integrální hodnoty a největší stínění) se dá odnést ke skupinám HC<sup>17,18</sup> a HC<sup>22</sup>. Pro přiřazení vodíkových signálů jsme použily výsledky 2D experimentu {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-gCOSY (sklápěcí úhel,  $\Theta = 90^\circ$ ). V COSY spektru 3 (obrázek 17, příloha) jsou pozorovány signály krosníků s  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 7.41<sup>(s, HN6)</sup> / 4.62<sup>(s, HC9)</sup> (sl.int.); 5.82<sup>(d, 6.9, HN2)</sup> / 3.97<sup>(d, 5.7, HC19)</sup>; 4.62<sup>(t, 6.8, HC16)</sup> / 1.53<sup>(d, 6.7, HC17,18)</sup>; 3.97<sup>(d, 5.7, HC19)</sup> / 3.66<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.56<sup>(d, 10.5, HaC20)</sup> / 1.73<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.60<sup>(t, 7.4, HaC21)</sup>. Signály 3.66<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.56<sup>(d, 10.5, HaC20)</sup> mají společný krosník, stejně, jako: 1.73<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.60<sup>(t, 7.4, HaC21)</sup>; signál 4.76<sup>(s, HO20')</sup> má krospíky s 3.66<sup>(s, HbC20)</sup> a 3.56<sup>(s, HaC20)</sup> sl.int.; samozřejmě, signál 1.53<sup>(d, 6.7, HC17,18)</sup> má krosník se signálem 4.62<sup>(t, 6.8, HC16)</sup> a signál 0.94<sup>(t, 7.5, HC22)</sup> má krospíky: 1.60<sup>(t, 7.4, HaC21)</sup> a 1.73<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup>. Vodíkové signály se dá přiřadit,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 0.94, 3H, *t*, 7.5, HC<sup>22</sup>; 1.53, 6H, *d*, 6.7, HC<sup>17,18</sup>; 1.60, 1H, *sept*, 7.4, 1.5, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.73, 1H, *sept*, 6.8, 1.5, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 3.56, 1H, *dd*, 10.5, 5.4, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.66, 1H, *dd*, 10.8, 4.9, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 3.97, 1H, *sxt*, 5.7, HC<sup>19</sup>; 4.62, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 4.62, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.76, 1H, *t*, 7.0, HO<sup>20'</sup>; 5.82, 1H, *d*, 6.9, HN<sup>2</sup>; 6.24, 1H, *t*, 2.2, HC<sup>13</sup>; 6.40, 2H, *d*, 2.0, HC<sup>11,15</sup>; 7.41, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 7.79, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 9.25, 2H, *br*, HO<sup>12',14'</sup>.

V {H}<sup>13</sup>C-spektru 3 (obrázek 18, příloha) jsou 17 signálů odpovídajících uhlíkům zkoumaného vzorku s  $\delta$  (ppm): 10.58, 21.91, 21.95, 24.48, 43.22, 46.35, 54.86, 64.11, 101.12, 105.65, 114.54, 135.20, 143.35, 151.22, 155.29, 159.13, 159.84. Nejvíce odstíněné podle strukturního vzorce musí být C2, C4, pak – C6, C5 (indukční efekt *N*-heteroatomu) a také C12 a C14<sup>[41]</sup>. Naopak, C22, C17, 18 jsou nejvíce stíněné. V <sup>13</sup>C (APT) spektru 3 (obrázek 19, příloha) jsou signály v pozitivním modu,  $\delta$  (ppm): 159.84, 159.13, 155.29, 151.22, 143.35, 114.54, 114.54, 64.11, 43.22, 24.48, odpovídající kvartérním uhlíkům a uhlíkům skupin CH<sub>2</sub> (poslední jsou mnohem více stíněné). Signály v negativním modu,  $\delta$  (ppm): 135.20, 105.65,

101.12, 54.86, 46.35, 21.95, 21.91 a 10.58 patří skupinám CH a CH<sub>3</sub><sup>[41]</sup>. Stejně jako u předchozího vzorku, pro přiřazení uhlíkových signálů, patřících skupinám CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> jsme použily 2D {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMOC experiment. V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMOC spektru 3 (obrázek 20, příloha) jsou 10 signálů s  $\delta_{1H}$  (*J*) /  $\delta_{13C}$  (ppm, Hz), které po přiřazení vodíkových signálů pomocí 2D {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-gCOSY dá se s jistotou identifikovat: 7.79 / 135.20 (HC<sup>8</sup>); 6.40 (2.0) / 105.65 (HC<sup>11,15</sup>); 6.24 (2.2) / 101.12 (HC<sup>13</sup>); 3.56 (10.5) / 64.11 (H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>); 3.66 (10.8) / 64.11 (H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>); 3.97 (5.7) / 54.86 (HC<sup>19</sup>); 4.62 (6.8) / 46.35 (HC<sup>16</sup>); 4.62 / 43.22 (HC<sup>9</sup>); 1.60 (7.4) / 24.48 (H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>); 1.73 (6.8) / 24.48 (H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>); 1.53 (6.7) / 21.95, 21.91 (HC<sup>17,18</sup>); 0.94 (7.5) / 10.58 (HC<sup>22</sup>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMBC spektru 3 (obrázek 21, příloha) jsou signály  $\delta_{13C}$  (ppm) = 159.84 a krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm.), *J* (Hz): 5.82, *s*, HN<sup>2</sup> (stř. int.) a 3.97, *d*, 5.7, HC<sup>19</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 159.14 a krosníky,  $\delta_{1H}$ , *J*: 6.40, *s*, HC<sup>11,15</sup> (s. int.) a 6.24, *s*, HC<sup>13</sup> (s. int.);  $\delta_{13C}$  = 155.29 s krosníkem,  $\delta_{1H}$ : 4.62, *s*, HC<sup>9</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 151.22 a krosníky,  $\delta_{1H}$ , *J*: 7.79, *s*, HC<sup>8</sup> (s. int.), 4.62, *t*, 6.8, HC<sup>16</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 143.35 s krosníkem,  $\delta_{1H}$ , *J*: 6.40, *d*, 2.0, HC<sup>11,15</sup> (s. int.), 4.62, *s*, HC<sup>9</sup> (sl. int.) a 6.24, *s*, HC<sup>13</sup>, (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 114.54 a krosníkem,  $\delta_{1H}$ : 7.79, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.). Signál  $\delta_{13C}$  = 154.84 – není pozorován. Dá se konstatovat, že kvartérními jsou uhlíky s  $\delta_{13C}$ : 114.54 (C<sup>5</sup>), 143.35 (C<sup>10</sup>), 151.22 (C<sup>4</sup>), 155.29 (C<sup>6</sup>), 159.13 (C<sup>12,14</sup>) a 159.84 (C<sup>2</sup>). Dál, jsou signály s  $\delta_{13C}$  /  $\delta_{1H}$  (ppm) a *J* (Hz): 135.20 / 7.79, *d*, 208.8, HC<sup>8</sup> a krosníkem s  $\delta_{1H}$  (ppm): 4.62, *d*, 6.8, HC<sup>16</sup> (s. int.); 105.65 / 6.40, *d*, 150.7, HC<sup>11,15</sup> a krosníky 6.24, *s*, HC<sup>13</sup> (stř. int.), 4.62, *s*, HC<sup>9</sup> (sl. int.); 101.12 / 6.24, *d*, 148.8, HC<sup>13</sup> a krosníkem 6.40, *s*, HC<sup>11,15</sup> (stř. int.); 64.11 / 3.66, *d*, 111.0, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> / 3.56, *d*, 111.2, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> a krosníky 5.82, *s*, HN<sup>2</sup> (stř. int.), 3.97, *d*, 19.2, HC<sup>19</sup> (s. int.); 1.73, *d*, 16.4, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>, 1.60, *d*, 16.6, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 54.86 / 3.97, *d*, 172.2, HC<sup>19</sup> a krosníky 5.82, *d*, 12.0, HN<sup>2</sup> (s. int.), 3.66, *t*, 26.2, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 3.56, *t*, 24.5, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 1.73, *t*, 48.9, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.60, *t*, 40.2, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 0.94, *s*, HC<sup>22</sup> (s. int.); 46.35 / 4.62, *d*, 146.1, HC<sup>16</sup> s krosníkem 1.53, *s*, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 43.22 / 4.62, *d*, 160.3, HC<sup>9</sup> s krosníkem 6.40, *s*, HC<sup>11,15</sup> (stř. int.); 24.48 / 1.73, *d*, 161.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> / 1.60, *d*, 160.3, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> s krosníky 3.66, *s*, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 3.56, *s*, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 0.94, *s*, HC<sup>22</sup> (s. int.); 21.95 / 1.53, *d*, 191.8, HC<sup>17,18</sup> s krosníkem 4.62, *d*, 8.5, HC<sup>16</sup> (s. int.); 21.91 / 1.53, *d*, 191.9, HC<sup>17,18</sup> s krosníkem 4.62, *d*, 9.0, HC<sup>16</sup> (s. int.); 10.58 / 0.94, *d*, 127.0, HC<sup>22</sup> s krosníky 3.97, *d*, 20.0, HC<sup>19</sup> (stř. int.), 1.73, *d*, 50.2, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.60, *d*, 48.3, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.). Podle analýzy uvedených dat se dá konstatovat, že uhlíky CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> skupin jsou,  $\delta_{13C}$ : 10.58 (HC<sup>22</sup>); 21.91, 21.95 (HC<sup>17,18</sup>); 24.48 (HC<sup>21</sup>); 43.22 (HC<sup>9</sup>); 46.35 (HC<sup>16</sup>); 54.86 (HC<sup>19</sup>); 64.11 (HC<sup>20</sup>); 101.12 (HC<sup>13</sup>); 105.65 (HC<sup>11,15</sup>) a 135.20 (HC<sup>8</sup>).

V {<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N}-gHMBC, (*J* = 32 Hz) spektru 3 (obrázek 22, příloha) je signál s  $\delta_{1H}$  /  $\delta_{15N}$  (ppm) a *J* (Hz): 8.03 / 104.7, *d*, 15.4 zbytkového nedejterovaného DMFA v *d*<sub>7</sub>-DMFA, které stejně jako u předchozích derivátů jsme použily jako kalibrační vnitřní standard; dál, je signál 7.41/89.00, *d*, 96.3, HN<sup>6</sup> bez krosníků; 5.82 / 93.05, *dd*, 87.7, 15.0, HN<sup>2</sup> bez krosníků. Dál, směrem do silných polí následují signály 7.79 / 173.28, *d*, 7.3, HC<sup>8</sup> s krosníkem,  $\delta_{1H}$  (ppm) a *J* (Hz): 1.53 *d*, 7.7, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 5.82/177.99, *s*, HN<sup>2</sup> (sl. int.); 7.41/192.17, *s*, HN<sup>6</sup> (sl. int.) a 7.79 / 239.56, *d*, 10.8, HC<sup>8</sup>. Dusíkové signály se dá přiřadit,  $\delta_{15N}$  (ppm): 89.00 (HN<sup>6</sup>), 93.05 (HN<sup>2</sup>), 173.28 (N<sup>9</sup>), 177.99 (N<sup>3</sup>), 192.17 (N<sup>1</sup>) a 239.56 (N<sup>7</sup>).

#### 8.1.4. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(2,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu.

V  $^1\text{H}$ -spektru {N6-(2,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu (4, obrázek 23, příloha) jsou 18 signálů, odpovídajících vodíkům zkoumaného vzorku,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 9,73, 1H, *br*; 8,83, 1H, *br*; 7,82, 1H, *s*; 7,67, 1H, *br*; 6,86, 1H, *d*, 2,1; 6,71, 1H, *d*, 8,5; 6,61, 1H, *dd*, 8,5, 2,7; 5,85, 1H, *d*, 8,0; 4,86, 1H, *br*; 4,65, 2H, *br*; 4,63, 1H, *sep*, 7,0; 4,00, 1H, *sxt*, 5,7; 3,70, 1H, *dd*, 10,5, 4,6; 3,62, 1H, *dd*, 10,5, 5,1; 1,77, 1H, *sep*, 7,0; 1,63, 1H, *sep*, 7,3; 1,54, 6H, *d*, 6,7; 0,97, 3H, *t*, 7,4. Předpokládáme, že signály,  $\delta$ : 9,73, 1H, *br* a 8,83, 1H, *br* patří vodíkům skupin  $\text{HO}^{11'}$  a  $\text{HO}^{14'}$ . Dál, jsou signály,  $\delta$ : 7,82, 1H, *s* a 7,67, 1H, *br*. První (7,82, 1H, *s*) – je  $\text{HC}^8$  a druhý (7,67, 1H, *br*) – patří  $\text{HN}^6$  (podobně předchozím derivátům). Signály: 6,86, 1H, *d*, 2,1; 6,71, 1H, *d*, 8,5 a 6,61, 1H, *dd*, 8,5, 2,7 podle multiplicity (*d*) a hodnot  $J$ , pravděpodobně patří vodíkům benzylového cyklu  $\text{HC}^{15}$ ,  $\text{HC}^{12}$  a  $\text{HC}^{13}$ , nebo jinak:  $\text{HC}^{15}$ ,  $\text{HC}^{13}$  a  $\text{HC}^{12}$ . Z ostatních signálů se dá předpokládat, že signály s blízkými hodnoty  $\delta$ , relativně předchozím derivátům a také podobných tvarů (multiplicita a blízké hodnoty  $J$ ): 5,85, 1H, *d*, 8,0; 4,86, 1H, *br*; 4,65, 2H, *br*; 4,63, 1H, *sep*, 7,0; 4,00, 1H, *sxt*, 5,7; 3,70, 1H, *dd*, 10,5, 4,96; 3,62, 1H, *dd*, 10,5, 5,1; 1,77, 1H, *sep*, 7,0; 1,63, 1H, *sep*, 7,3; 1,54, 6H, *d*, 6,7 a 0,97, 3H, *t*, 7,4 patří  $\text{HN}^2$ ,  $\text{HO}^{20}$ ,  $\text{HC}^9$ ,  $\text{HC}^{16}$ ,  $\text{HC}^{19}$ ,  $\text{H}_{\text{a,b}}\text{C}^{20}$ ,  $\text{H}_{\text{a,b}}\text{C}^{21}$ ,  $\text{HC}^{17,18}$  a  $\text{HC}^{22}$ . V  $\text{COSY}$  ( $\Theta = 90^\circ$ ) spektru 4 (obrázek 24, příloha) jsou pozorovány signály krosníků,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 7,67<sup>(s,  $\text{HN}^6$ )</sup> / 4,65<sup>(s,  $\text{HC}^9$ )</sup> (sl. int.); 6,71<sup>(d, 8,5)</sup> / 6,61<sup>(d, 8,5)</sup> (s. int.) a také 6,61<sup>(d, 8,5)</sup> / 6,86<sup>(s)</sup> (sl. int.), což napovídá tomu, že signály benzylového cyklu se dá přiřadit,  $\delta$  (ppm): 6,86, 1H,  $\text{HC}^{15}$ , 6,71, 1H,  $\text{HC}^{12}$  a 6,61, 1H,  $\text{HC}^{13}$ . Dále jsou krosníky,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 5,85<sup>(d, 8,0,  $\text{HN}^2$ )</sup> / 4,00<sup>(d, 5,7,  $\text{HC}^{19}$ )</sup>; 4,63<sup>(t, 7,0,  $\text{HC}^{16}$ )</sup> / 1,54<sup>(d, 6,7,  $\text{HC}^{17,18}$ )</sup>; 4,00<sup>(d, 5,7,  $\text{HC}^{19}$ )</sup> / 3,70<sup>(d, 10,5,  $\text{HbC}^{20}$ )</sup> / 3,62<sup>(d, 10,5,  $\text{HaC}^{20}$ )</sup> / 1,77<sup>(t, 7,0,  $\text{HbC}^{21}$ )</sup> / 1,63<sup>(t, 7,3,  $\text{HaC}^{21}$ )</sup>. Podobně jako u předchozích derivátů, signály 3,70<sup>(d, 10,5,  $\text{HbC}^{20}$ )</sup> / 3,62<sup>(d, 10,5,  $\text{HaC}^{20}$ )</sup> mají společný krosník, stejně, jako: 1,77<sup>(t, 7,0,  $\text{HbC}^{21}$ )</sup> / 1,63<sup>(t, 7,3,  $\text{HaC}^{21}$ )</sup>; signál 4,86<sup>(s,  $\text{HO}^{20}$ )</sup> má krosníky s 3,70<sup>(s,  $\text{HbC}^{20}$ )</sup> a 3,62<sup>(s,  $\text{HaC}^{20}$ )</sup> (sl. int.); signál 1,54<sup>(d, 6,7,  $\text{HC}^{17,18}$ )</sup> má krosník se signálem 4,63<sup>(t, 7,0,  $\text{HC}^{16}$ )</sup> a signál 0,97<sup>(t, 7,4,  $\text{HC}^{22}$ )</sup> má krosníky: 1,63<sup>(t, 7,3,  $\text{HaC}^{21}$ )</sup> a 1,77<sup>(t, 7,0,  $\text{HbC}^{21}$ )</sup>. Takže, vodíkové signály se dá přiřadit,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 0,97, 3H, *t*, 7,4,  $\text{HC}^{22}$ ; 1,54, 6H, *d*, 6,7,  $\text{HC}^{17,18}$ ; 1,63, 1H, *sep*, 7,3,  $\text{HaC}^{21}$ ; 1,77, 1H, *sep*, 7,0,  $\text{HbC}^{21}$ ; 3,62, 1H, *dd*, 10,5, 5,1,  $\text{HaC}^{20}$ ; 3,70, 1H, *dd*, 10,5, 4,6,  $\text{HbC}^{20}$ ; 4,00, 1H, *sxt*, 5,7,  $\text{HC}^{19}$ ; 4,63, 1H, *sep*, 7,0,  $\text{HC}^{16}$ ; 4,65, 1H, *br*,  $\text{HC}^9$ ; 4,86, 1H, *br*,  $\text{HO}^{20}$ ; 5,85, 1H, *d*, 8,0,  $\text{HN}^2$ ; 6,61, 1H, *dd*, 8,5, 2,7,  $\text{HC}^{13}$ ; 6,71, 1H, *d*, 8,5,  $\text{HC}^{12}$ ; 6,86, 1H, *d*, 2,1,  $\text{HC}^{15}$ ; 7,67, 1H, *br*,  $\text{HN}^6$ ; 7,82, 1H, *s*,  $\text{HC}^8$ ; 8,83, 1H, *br*,  $\text{HO}^{14'}$  a 9,73, 1H, *br*,  $\text{HO}^{11'}$  (poslední -  $\text{HO}^{11'}$  je víc odstíněny než  $\text{HO}^{14'}$ , podle strukturního vzorce).

V  $\{^1\text{H}\}^{13}\text{C}$ -spektru 4 (obrázek 25, příloha) jsou 19 signálů, odpovídajících uhlíkům zkoumaného vzorku,  $\delta$  (ppm): 10,49, 21,77, 21,82, 24,39, 39,55, 46,53, 54,78, 63,84, 114,29, 114,74, 116,30, 116,57, 127,22, 135,63, 148,35, 150,65, 151,00, 154,98 a 159,39. Podle strukturního vzorce dá se předpokládat pořadí ( $>\delta$ ): C2, C6, C4, C11, C14, C8, C10, C12, C15, C13, C5, C20, C19, C16, C9, C21, C17,18, C22.  $^{13}\text{C}$  (APT) spektr 4, (obrázek 26, příloha) podporuje tento předpoklad. Signály,  $\delta$  (ppm): 159,39, 154,98, 151,00, 150,65, 148,35, 127,22, 114,29, 63,84, 39,55, 24,39 jsou v pozitivním modu (10 signálů - odpovídajících kvartérním uhlíkům a uhlíkům skupin  $\text{CH}_2$ ) a signály v negativním modu,  $\delta$  (ppm) jsou: 135,63, 116,57, 116,30, 114,74, 54,78, 46,53, 21,82, 21,77 a 10,49 (9 signálů – patří skupinám  $\text{CH}$  a  $\text{CH}_3^{[41]}$ ). V  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ - $g\text{HMQC}$  spektru 4 (obrázek 27, příloha) jsou 13

signálů s  $\delta_{1H}$  ( $J$ ) /  $\delta_{13C}$  (ppm), které po přiřazení vodíkových signálů pomocí 2D  $\{^1H-^1H\}$ - $gCOSY$  dá se identifikovat: 7.82 / 135.63 ( $HC^8$ ); 6.86 (2.1) / 116.30 ( $HC^{15}$ ); 6.71 (8.5) / 116.57 ( $HC^{12}$ ); 6.61 (8.5) / 114.74 ( $HC^{13}$ ); 4.65 / 39.55 ( $HC^9$ ); 4.63 (7.0) / 46.53 ( $HC^{16}$ ); 4.00 (5.7) / 54.78 ( $HC^{19}$ ); 3.70 (10.5) / 63.84 ( $H_bC^{20}$ ); 3.62 (10.5) / 63.84 ( $H_aC^{20}$ ); 1.77 (7.0) / 24.39 ( $H_bC^{21}$ ); 1.63 (7.3) / 24.39 ( $H_aC^{21}$ ); 1.54 (6.7) / 21.82 ( $HC^{17,18}$ ); 1.54 (6.7) / 21.77 ( $HC^{17,18}$ ); 0.97 (7.4) / 10.49 ( $HC^{22}$ ). V  $\{^1H-^{13}C\}$ - $gHMBC$  spektru 4 (obrázek 28, příloha) jsou signály  $\delta_{13C}$  (ppm) = 159.39 s krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm.),  $J$  (Hz): 5.85,  $s$ ,  $HN^2$  (stř. int.) a 4.00,  $d$ , 5.7,  $HC^{19}$  (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 154.98 a krosníky,  $\delta_{1H}$ : 6.86,  $s$ ,  $HC^{15}$  (sl. int.) a 4.65,  $s$ ,  $HC^9$  (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 151.00 s krosníky,  $\delta_{1H}$ : 7.82,  $s$ ,  $HC^8$  (stř. int.) a 4.63,  $t$ , 7.0,  $HC^{16}$  (s. int.);  $\delta_{13C}$  = 150.65 a krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 6.71,  $d$ , 8.5,  $HC^{12}$  (s. int.), 6.61,  $d$ , 8.5,  $HC^{13}$  (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 148.35 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 6.86,  $d$ , 2.1,  $HC^{15}$  (s. int.), 6.71,  $d$ , 8.5,  $HC^{12}$  (sl. int.) a 6.61,  $d$ , 8.5,  $HC^{13}$ , (s. int.);  $\delta_{13C}$  = 127.22 a krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 6.86,  $d$ , 2.1,  $HC^{15}$  (s. int.); 6.71,  $d$ , 8.5,  $HC^{12}$  (stř. int.); 6.61,  $d$ , 8.5,  $HC^{13}$  (sl. int.) a 4.65,  $s$ ,  $HC^9$  (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 114.29 s krosníkem,  $\delta_{1H}$ : 7.82,  $s$ ,  $HC^8$  (stř. int.). Po analýze uvedených dat, dá se konstatovat, že kvartérními jsou uhlíky,  $\delta_{13C}$ : 114.29 ( $C^5$ ), 127.22 ( $C^{10}$ ), 148.35 ( $C^{14}$ ), 150.65 ( $C^{11}$ ), 151.00 ( $C^4$ ), 154.98 ( $C^6$ ) a 159.39 ( $C^2$ ). Dál, jsou signály s  $\delta_{13C}$  /  $\delta_{1H}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 135.63 / 7.82,  $d$ , 208.0,  $HC^8$  a krosníkem s  $\delta_{1H}$  (ppm): 4.63,  $d$ , 7.0,  $HC^{16}$  (s. int.); 116.57 / 6.71,  $d$ , 154.2,  $HC^{12}$  a krosníky 6.86,  $s$ ,  $HC^{15}$  (stř. int.), 6.61,  $d$ , 20.3,  $HC^{13}$  (s. int.); 116.30 / 6.86,  $d$ , 152.7,  $HC^{15}$  s krosníky 6.71,  $d$ , 23.8,  $HC^{12}$  (sl. int.); 6.61,  $d$ , 22.3,  $HC^{13}$  (stř. int.) a 4.65,  $s$ ,  $HC^9$  (sl. int.); 114.74 / 6.61,  $d$ , 158.3,  $HC^{13}$  s krosníky 6.86,  $s$ ,  $HC^{15}$  (stř. int.), 6.71,  $d$ , 21.8,  $HC^{12}$  (s. int.); 63.84 / 3.70,  $d$ , 110.8,  $H_bC^{20}$  / 3.62,  $d$ , 111.0,  $H_aC^{20}$  a krosníky 5.85,  $s$ ,  $HN^2$  (stř. int.), 4.00,  $d$ , 20.0,  $HC^{19}$  (s. int.); 1.77,  $d$ , 16.6,  $H_bC^{21}$ , 1.63,  $d$ , 16.3,  $H_aC^{21}$ ; 54.78 / 4.00,  $d$ , 172.3,  $HC^{19}$  a krosníky 5.85,  $d$ , 12.2,  $HN^2$  (s. int.), 3.70,  $d$ , 32.2,  $H_bC^{20}$  (s. int.), 3.62,  $d$ , 28.2,  $H_aC^{20}$  (s. int.), 1.77,  $t$ , 48.1,  $H_bC^{21}$  (s. int.), 1.63,  $t$ , 42.1,  $H_aC^{21}$  (s. int.), 0.97,  $t$ , 12.3,  $HC^{22}$  (stř. int.); 46.53 / 4.63,  $d$ , 146.4,  $HC^{16}$  s krosníkem 1.54,  $d$ , 10.1,  $HC^{17,18}$  (s. int.); 39.55 / 4.65,  $d$ , 160.8,  $HC^9$  s krosníkem 6.86,  $s$ ,  $HC^{15}$  (sl. int.); 24.39 / 1.77,  $d$ , 160.8,  $H_bC^{21}$  / 1.63,  $d$ , 160.1,  $H_aC^{21}$  s krosníky 3.70,  $s$ ,  $H_bC^{20}$  (stř. int.), 3.62,  $s$ ,  $H_aC^{20}$  (stř. int.), 0.97,  $d$ , 8.0,  $HC^{22}$  (s. int.); 21.82 / 1.54,  $d$ , 192.3,  $HC^{17,18}$  s krosníkem 4.63,  $d$ , 10.5,  $HC^{16}$  (s. int.); 21.77 / 1.54,  $d$ , 192.1,  $HC^{17,18}$  s krosníkem 4.63,  $d$ , 9.0,  $HC^{16}$  (s. int.); 10.49 / 0.97,  $d$ , 127.2,  $HC^{22}$  s krosníky 4.00,  $d$ , 18.1,  $HC^{19}$  (stř. int.), 1.77,  $d$ , 49.2,  $H_bC^{21}$  (s. int.), 1.63,  $d$ , 48.2,  $H_aC^{21}$  (s. int.). Po analýze uvedených dat se dá konstatovat, že uhlíky CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> skupin jsou,  $\delta_{13C}$ : 10.49 ( $HC^{22}$ ); 21.77, 21.82 ( $HC^{17,18}$ ); 24.39 ( $HC^{21}$ ); 39.55 ( $HC^9$ ); 46.53 ( $HC^{16}$ ); 54.78 ( $HC^{19}$ ); 63.84 ( $HC^{20}$ ); 114.74 ( $HC^{13}$ ); 116.30 ( $HC^{15}$ ); 116.57 ( $HC^{12}$ ) a 135.63 ( $HC^8$ ).

V  $\{^1H-^{15}N\}$ - $gHMBC$ , ( $J = 32$  Hz) spektru 4 (obrázek 29, příloha) jsou signály s  $\delta_{1H}$  /  $\delta_{15N}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 7.67 / 87.18,  $d$ , 74.4,  $HN^6$  bez krosníků; 5.85 / 93.03,  $dd$ , 88.6, 9.0,  $HN^2$  s krosníky  $\delta_{1H}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 3.70,  $dd$ , 10.5, 6.3,  $H_bC^{20}$  (s. int.); 3.62,  $dd$ , 9.1, 4.8,  $H_aC^{20}$  (s. int.); 1.77,  $t$ , 6.8,  $H_bC^{21}$  (stř. int.); 1.63,  $qui$ , 6.8,  $H_aC^{20}$  (stř. int.). Dál, směrem do silných polí následují signály: 7.82 / 173.99,  $d$ , 4.8,  $HC^8$  s krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 4.63,  $t$ , 5.6,  $HC^{16}$  (s. int.); 1.54,  $d$ , 6.6,  $HC^{17,18}$  (s. int.); 5.85 / 178.90,  $d$ , 7.3,  $HN^2$  bez dalších krosníků; 5.85 / 190.77,  $d$ , 8.1,  $HN^2$  bez dalších krosníků a 7.82 / 238.39,  $d$ , 9.0,  $HC^8$  bez dalších krosníků, také. Dusíkové signály se dá přiřadit,  $\delta_{15N}$  (ppm): 87.18 ( $N^6$ ), 93.03 ( $N^2$ ), 173.99 ( $N^9$ ), 178.90 ( $N^3$ ), 190.77 ( $N^1$ ) a 238.39 ( $N^7$ ).



### 8.1.5. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(2-hydroxy-3-methylbenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu.

V  $^1\text{H}$ -spektru {N6-(2-hydroxy-3-methylbenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu (5, obrázek 30, příloha) jsou 18 signálů, odpovídajících vodíkům zkoumaného vzorku,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 10.92, 1H, *br*; 8.08, 1H, *br*; 7.85, 1H, *s*; 7.17, 1H, *d*, 7.6; 7.03, 1H, *qd*, 7.4, 0.8; 6.70, 1H, *t*, 7.5; 5.92, 1H, *d*, 8.3; 4.83, 1H, *br*; 4.63, 2H, *br*; 4.63, 1H, *sep*, 6.8; 4.02, 1H, *sxt*, 5.3; 3.73, 1H, *dd*, 10.6, 4.6; 3.65, 1H, *dd*, 10.6, 4.9; 2.20, 3H, *s*,  $\text{HC}^{12}$ ; 1.81, 1H, *sept*, 7.4, 1.6; 1.66, 1H, *sept*, 7.6, 1.6; 1.53, 6H, *dd*, 6.9, 1.7; 1.01, 3H, *t*, 7.4. Předpokládáme, že signály,  $\delta$ : 10.92, 1H, *br*, 8.08, 1H, *br* a 4.83, 1H, *br* patří vodíkům  $\text{HO}^{11}$ ,  $\text{HN}^6$  a  $\text{HO}^{20}$  jsou – *br* a je charakteristické pro hydroxy-, amino- a iminoskupiny (rychlá výměna s molekuly rozpouštědla)<sup>[59]</sup>. Signály: 7.17, 1H, *d*, 7.6; 7.03, 1H, *dq*, 7.4, 0.8 a 6.70, 1H, *t*, 7.5 patří vodíkům benzylového cyklu  $\text{HC}^{15}$ ,  $\text{HC}^{13}$  a  $\text{HC}^{14}$ , nebo:  $\text{HC}^{13}$ ,  $\text{HC}^{15}$  a  $\text{HC}^{14}$ , přičemž poslední (6.70, 1H, *t*, 7.5) podle multiplicity (*t*) pravděpodobně je  $\text{HC}^{14}$ . Z ostatních signálů se dá předpokládat, že signály s blízkými hodnoty  $\delta$ , relativně předchozím derivátům a také podobných tvarů (multiplicita a blízké hodnoty  $J$ ): 5.92, 1H, *d*, 8.3; 4.63, 2H, *br*; 4.63, 1H, *sep*, 6.8; 4.02, 1H, *sxt*, 5.3; 3.73, 1H, *dd*, 10.6, 4.6; 3.65, 1H, *dd*, 10.6, 4.9; 1.81, 1H, *sept*, 7.4, 1.6; 1.66, 1H, *sept*, 7.6, 1.6; 1.53, 6H, *d*, 6.7 a 1.01, 3H, *t*, 7.4 patří  $\text{HN}^2$ ,  $\text{HC}^9$ ,  $\text{HC}^{16}$ ,  $\text{HC}^{19}$ ,  $\text{H}_{\text{a,b}}\text{C}^{20}$ ,  $\text{H}_{\text{a,b}}\text{C}^{21}$ ,  $\text{HC}^{17,18}$  a  $\text{HC}^{22}$ . Signál 2.20, 3H, *s* s největší pravděpodobností patří stíněné methylové skupině –  $\text{HC}^{12}$ . V COSY ( $\Theta = 90^\circ$ ) 5 (obrázek 31, příloha) jsou signály krosníků,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 8.08<sup>(s,  $\text{HN}^6$ )</sup> / 4.65<sup>(s,  $\text{HC}^9$ )</sup> (sl.int.); 7.17<sup>(d, 7.6)</sup> / 7.03<sup>(d, 7.4)</sup> (stř. int.) a také 7.17<sup>(d, 7.6)</sup> / 6.70<sup>(t, 7.5)</sup> (s. int.); 7.03<sup>(d, 7.4)</sup> / 6.70<sup>(t, 7.5)</sup> (s. int.) a také 7.03<sup>(d, 7.4)</sup> / 7.17<sup>(d, 7.6)</sup> (stř. int.); 6.70<sup>(t, 7.5)</sup> / 7.03<sup>(d, 7.4)</sup> (s. int.) a také 6.70<sup>(t, 7.5)</sup> / 7.17<sup>(d, 7.6)</sup> (s. int.), což prokazuje přiřazení signálů benzylového cyklu následujícím způsobem,  $\delta$  (ppm): 7.17,  $\text{HC}^{15}$ ; 7.03,  $\text{HC}^{13}$  a 6.70,  $\text{HC}^{14}$ . Dále, směrem do silných polí jsou krosníky,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 5.92<sup>(d, 8.3,  $\text{HN}^2$ )</sup> / 4.02<sup>(d, 5.3,  $\text{HC}^{19}$ )</sup>; 4.63<sup>(t, 6.8,  $\text{HC}^{16}$ )</sup> / 1.53<sup>(d, 6.9,  $\text{HC}^{17,18}$ )</sup>; 4.02<sup>(d, 5.3,  $\text{HC}^{19}$ )</sup> / 3.73<sup>(d, 10.6,  $\text{HbC}^{20}$ )</sup> / 3.65<sup>(d, 10.6,  $\text{HaC}^{20}$ )</sup> / 1.81<sup>(t, 7.4,  $\text{HbC}^{21}$ )</sup> / 1.66<sup>(t, 7.6,  $\text{HaC}^{21}$ )</sup> a podobně jako u předchozích derivátů, signály 3.73<sup>(d, 10.6,  $\text{HbC}^{20}$ )</sup> / 3.65<sup>(d, 10.6,  $\text{HaC}^{20}$ )</sup> mají společný krosník, stejně, jako: 1.81<sup>(t, 7.4,  $\text{HbC}^{21}$ )</sup> / 1.66<sup>(t, 7.6,  $\text{HaC}^{21}$ )</sup>; signál 4.83<sup>(s,  $\text{HO}^{20}$ )</sup> má krosníky s 3.73<sup>(s,  $\text{HbC}^{20}$ )</sup> a 3.65<sup>(s,  $\text{HaC}^{20}$ )</sup> (sl.int.); signál 1.53<sup>(d, 6.9,  $\text{HC}^{17,18}$ )</sup> má krosník se signálem 4.63<sup>(t, 6.8,  $\text{HC}^{16}$ )</sup> a signál 1.01<sup>(t, 7.4,  $\text{HC}^{22}$ )</sup> má krosníky: 1.66<sup>(t, 7.6,  $\text{HaC}^{21}$ )</sup> a 1.81<sup>(t, 7.4,  $\text{HbC}^{21}$ )</sup>. Takže, vodíkové signály se dá přiřadit,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 1.01, 3H, *t*, 7.4,  $\text{HC}^{22}$ ; 1.53, 6H, *d*, 6.9,  $\text{HC}^{17,18}$ ; 1.66, 1H, *sept*, 7.6, 1.6,  $\text{H}_\text{a}\text{C}^{21}$ ; 1.81, 1H, *sept*, 7.4, 1.6,  $\text{H}_\text{b}\text{C}^{21}$ ; 2.20, 3H, *s*,  $\text{HC}^{12}$ ; 3.65, 1H, *dd*, 10.6, 4.9,  $\text{H}_\text{a}\text{C}^{20}$ ; 3.73, 1H, *dd*, 10.6, 4.6,  $\text{H}_\text{b}\text{C}^{20}$ ; 4.02, 1H, *sxt*, 5.3,  $\text{HC}^{19}$ ; 4.63, 2H, *br*,  $\text{HC}^9$ ; 4.63, 1H, *sep*, 6.8,  $\text{HC}^{16}$ ; 4.83, 1H, *br*,  $\text{HO}^{20}$ ; 5.92, 1H, *d*, 8.3,  $\text{HN}^2$ ; 6.70, 1H, *t*, 7.5,  $\text{HC}^{14}$ ; 7.03, 1H, *dq*, 7.4, 0.8,  $\text{HC}^{13}$ ; 7.17, 1H, *d*, 7.6,  $\text{HC}^{15}$ ; 7.85, 1H, *s*,  $\text{HC}^8$ ; 8.08, 1H, *br*,  $\text{HN}^6$ ; 10.92, 1H, *br*,  $\text{HO}^{11}$ . V  $\{^1\text{H}\}^{13}\text{C}$ -spektru 5 (obrázek 32, příloha) jsou 20 signálů, odpovídajících uhlíkům zkoumaného vzorku,  $\delta$  (ppm): 10.45, 16.10, 21.78, 21.83, 24.43, 40.44, 46.71, 54.86, 63.81, 114.17, 119.03, 125.78, 126.20, 128.89, 130.16, 136.12, 151.12, 154.38, 154.65 a 158.99. Podle strukturního vzorce dá se předpokládat pořadí ( $>\delta$ ): C2, C6, C11, C4, C8, C13, C15, C10, C12, C14, C5, C20, C19, C16, C9, C21, C17,18, C12', C22. V  $^{13}\text{C}$  (APT) spektru 5 (obrázek 33, příloha) jsou signály,  $\delta$  (ppm): 158.99, 154.65, 154.38, 151.12, 126.20, 125.78, 114.17, 63.81, 40.44 a 24.43 - v pozitivním modu (10 signálů - odpovídajících kvartérním uhlíkům a uhlíkům skupin  $\text{CH}_2$ ) a signály v negativním modu,  $\delta$  (ppm) jsou: 136.12, 130.16, 128.89, 119.03, 54.86, 46.71, 21.83, 21.78, 16.10 a 10.45 (10

signálů – patří skupinám CH a CH<sub>3</sub><sup>[41]</sup>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-*gHMQC* spektru 5 (obrázek 34, příloha) jsou 13 signálů s  $\delta_{1H}$  (J) /  $\delta_{13C}$  (ppm), které po přiřazení vodíkových signálů pomocí 2D {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-*gCOSY* dá se identifikovat: 7.85 / 135.12 (HC<sup>8</sup>); 7.17 (7.6) / 128.89 (HC<sup>15</sup>); 7.03 (7.4) / 130.16 (HC<sup>13</sup>); 6.70 (7.5) / 119.03 (HC<sup>14</sup>); 4.63 / 40.44 (HC<sup>9</sup>); 4.63 (6.8) / 46.71 (HC<sup>16</sup>); 4.02 (5.3) / 54.86 (HC<sup>19</sup>); 3.73 (10.6) / 63.81 (H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>); 3.65 (10.6) / 63.81 (H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>); 2.20 / 16.10 (HC<sup>12'</sup>); 1.81 (7.4) / 24.43 (H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>); 1.66 (7.6) / 24.43 (H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>); 1.53 (6.9) / 21.83 (HC<sup>17,18</sup>); 1.53 (6.9) / 21.78 (HC<sup>17,18</sup>); 1.01 (7.4) / 10.45 (HC<sup>22</sup>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-*gHMBC* spektru 5 (obrázek 35, příloha) jsou signály  $\delta_{13C}$  (ppm) = 158.99 s krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm.), *J* (Hz): 5.92, *s*, HN<sup>2</sup> (stř. int.) a 4.02, *d*, 5.9, HC<sup>19</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 154.65 a krosníky,  $\delta_{1H}$ : 7.17, *s*, HC<sup>15</sup> (sl. int.) a 4.63, *s*, HC<sup>9</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 154.38 s krosníky,  $\delta_{1H}$ , *J*: 7.17, *d*, 7.6, HC<sup>15</sup> (sl. int.), 7.03, *d*, 7.4, HC<sup>13</sup> (stř. int.) a 2.20, *s*, HC<sup>12'</sup>;  $\delta_{13C}$  = 151.12 s krosníky,  $\delta_{1H}$ : 7.85, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.) a 4.63, *t*, 7.2, HC<sup>16</sup> (s. int.);  $\delta_{13C}$  = 126.20 s krosníky,  $\delta_{1H}$ , *J*: 7.17, *d*, 7.6, HC<sup>15</sup> (s. int.); 7.03, *d*, 7.4, HC<sup>13</sup> (sl. int.); 6.70, *d*, 7.5, HC<sup>14</sup> (stř. int.) a 4.63, *s*, HC<sup>9</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 125.78 s krosníky,  $\delta_{1H}$ , *J*: 7.17, *d*, 7.6, HC<sup>15</sup> (sl. int.), 7.03, *d*, 7.4, HC<sup>13</sup> (s. int.) a 6.70, *t*, 7.5, HC<sup>14</sup>, (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 114.17 s krosníkem,  $\delta_{1H}$ : 7.85, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.). Po analýze uvedených dat, dá se konstatovat, že kvartérními jsou uhlíky,  $\delta_{13C}$ : 114.17 (C<sup>5</sup>), 125.78 (C<sup>12</sup>), 126.20 (C<sup>10</sup>), 151.12 (C<sup>4</sup>), 154.38 (C<sup>11</sup>), 154.65 (C<sup>6</sup>) a 158.99 (C<sup>2</sup>). Dál, jsou signály s  $\delta_{13C}$  /  $\delta_{1H}$  (ppm) a *J* (Hz): 136.12 / 7.85, *d*, 207.3, HC<sup>8</sup> s krosníkem s  $\delta_{1H}$  (ppm): 4.63, *d*, 6.8, HC<sup>16</sup> (s. int.); 130.16 / 7.03, *d*, 155.1, HC<sup>13</sup> s krosníky 7.17, *d*, 22.3, HC<sup>15</sup> (stř. int.), 6.70, *d*, 20.8, HC<sup>14</sup> (s. int.) a 2.20, *s*, HC<sup>12'</sup> (s. int.); 128.89 / 7.17, *d*, 150.0, HC<sup>15</sup> s krosníky 7.03, *d*, 20.3, HC<sup>13</sup> (stř. int.); 6.70, *d*, 19.8, HC<sup>14</sup> (s. int.) a 4.63, *s*, HC<sup>9</sup> (sl. int.); 119.03 / 6.70, *d*, 163.2, HC<sup>14</sup> s krosníky 7.17, *d*, 21.8, HC<sup>15</sup> (s. int.), 7.03, *d*, 20.8, HC<sup>13</sup> (s. int.) a 2.20, *s*, HC<sup>12'</sup> (stř. int.); 63.81 / 3.73, *d*, 118.3, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> / 3.65, *d*, 110.7, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> s krosníky 5.92, *s*, HN<sup>2</sup> (stř. int.), 4.02, *d*, 20.2, HC<sup>19</sup> (s. int.); 1.81, *d*, 16.9, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>, 1.66, *d*, 16.5, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 54.86 / 4.02, *d*, 171.9, HC<sup>19</sup> s krosníky 5.92, *d*, 12.0, HN<sup>2</sup> (s. int.), 3.73, *d*, 32.0, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 3.65, *d*, 28.1, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 1.81, *t*, 50.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.66, *t*, 43.6, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.01, *t*, 12.1, HC<sup>22</sup> (stř. int.); 46.71 / 4.63, *d*, 146.8, HC<sup>16</sup> s krosníkem 1.53, *d*, 9.9, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 40.44 / 4.63, *d*, 161.2, HC<sup>9</sup> s krosníkem 7.17, *s*, HC<sup>15</sup> (sl. int.); 24.43 / 1.81, *d*, 160.5, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> / 1.66, *d*, 160.0, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> s krosníky 3.73, *s*, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 3.65, *s*, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 1.01, *d*, 7.5, HC<sup>22</sup> (s. int.); 21.83 / 1.53, *d*, 190.9, HC<sup>17,18</sup> s krosníkem 4.63, *d*, 10.3, HC<sup>16</sup> (s. int.); 21.78 / 1.53, *d*, 191.8, HC<sup>17,18</sup> s krosníkem 4.63, *d*, 9.8, HC<sup>16</sup> (s. int.); 16.10 / 2.20, *d*, 190.3, HC<sup>12'</sup> s krosníky: 7.17, *d*, 38.4, HC<sup>15</sup> (sl. int.); 7.03, *d*, 36.7, HC<sup>13</sup> (s. int.) a 6.70, *d*, 35.0, HC<sup>14</sup> (stř. int.); 10.45 / 1.01, *d*, 126.9, HC<sup>22</sup> s krosníky 4.02, *d*, 18.4, HC<sup>19</sup> (stř. int.), 1.81, *d*, 50.1, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.66, *d*, 48.8, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.). Můžeme uvést, že uhlíky CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> skupin jsou,  $\delta_{13C}$ : 10.45 (HC<sup>22</sup>); 16.10 (HC<sup>12'</sup>); 21.78, 21.83 (HC<sup>17,18</sup>); 24.43 (HC<sup>21</sup>); 40.44 (HC<sup>9</sup>); 46.71 (HC<sup>16</sup>); 54.86 (HC<sup>19</sup>); 63.81 (HC<sup>20</sup>); 119.03 (HC<sup>14</sup>); 128.89 (HC<sup>15</sup>); 130.16 (HC<sup>13</sup>) a 136.12 (HC<sup>8</sup>).

V {<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N}-*gHMBC*, (*J* = 32 Hz) spektru 5 (obrázek 36, příloha) jsou signály s  $\delta_{1H}$  /  $\delta_{15N}$  (ppm) a *J* (Hz): 8.08 / 91.14, *d*, 88.6, HN<sup>6</sup> bez krosníků; 5.92 / 92.79, *dd*, 88.9, 9.7, HN<sup>2</sup> s krosníky  $\delta_{1H}$  (ppm) a *J* (Hz): 3.73, *t*, 9.3, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.); 3.65, *q*, 6.8, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.); 1.81, *s*, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.); 1.66, *s*, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (s. int.). Dál, směrem do silných polí jsou signály: 7.85 / 174.59, *s*, HC<sup>8</sup> s krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm) a *J* (Hz): 4.63, *t*, 5.6, HC<sup>16</sup> (s. int.); 1.53, *d*, 6.6, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 5.92 / 178.51, *d*, 8.4, HN<sup>2</sup> bez krosníků; 5.92 / 185.65, *d*, 5.5, HN<sup>2</sup> bez krosníků a 7.85 / 239.02, *d*, 9.8, HC<sup>8</sup> bez dalších krosníků, také. Dusíkové signály se dá přiřadit,  $\delta_{15N}$  (ppm): 91.14 (N<sup>6</sup>), 92.79 (N<sup>2</sup>), 174.59 (N<sup>9</sup>), 178.51 (N<sup>3</sup>), 185.65 (N<sup>1</sup>) a 239.02 (N<sup>7</sup>).

### 8.1.6. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(2-hydroxy-5-methylbenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu.

V  $^1\text{H}$ -spektru {N6-(2-hydroxy-5-methyl-benzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu (6, obrázek 37, příloha) jsou 18 signálů, jako u předchozího vzorku, odpovídajících vodíkům zkoumané látky,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 10.27, 1H, *br*; 7.83, 1H, *s*; 7.68, 1H, *br*; 7.12, 1H, *d*, 1.5; 6.92, 1H, *dd*, 8.2, 2.1; 6.76, 1H, *d*, 8.1; 5.90, 1H, *d*, 8.1; 4.85, 1H, *br*; 4.68, 2H, *br*; 4.62, 1H, *sep*, 6.8; 4.02, 1H, *sxt*, 5.5; 3.71, 1H, *dd*, 10.6, 4.9; 3.63, 1H, *dd*, 10.6, 5.4; 2.18, 3H, *s*,  $\text{HC}^{14'}$  (předpoklad); 1.78, 1H, *sept*, 7.3, 1.5; 1.63, 1H, *sept*, 7.5, 1.5; 1.53, 6H, *dd*, 6.8, 1.3,  $\text{HC}^{17,18}$  (předpoklad); 0.98, 3H, *t*, 7.4,  $\text{HC}^{22}$  (předpoklad). Po analogii s předchozími strukturami vzorků, předpokládáme, že signály,  $\delta$ : 10.27, 1H, *br*, 7.68, 1H, *br* a 4.85, 1H, *br* patří vodíkům  $\text{HO}^{11'}$ ,  $\text{HN}^6$  a  $\text{HO}^{20'}$  (jsou – *br* a je charakteristické pro hydroxy-, amino- a iminoskupiny)<sup>[59]</sup>. Signály: 7.12, 1H, *d*, 1.5; 6.92, 1H, *dd*, 8.2, 2.1 a 6.76, 1H, *d*, 8.1 patří vodíkům benzylového cyklu  $\text{HC}^{15}$ ,  $\text{HC}^{13}$  a  $\text{HC}^{12}$ , nebo:  $\text{HC}^{15}$ ,  $\text{HC}^{12}$  a  $\text{HC}^{13}$ , přičemž první (7.12, 1H, *d*, 1.5) podle multiplicity (*d*) a hlavně kvůli malé hodnotě  $J^1$  (1.5), pravděpodobně je  $\text{HC}^{15}$ . Z ostatních signálů se dá předpokládat, že signály s blízkými hodnoty  $\delta$ , relativně předchozím derivátům a také podobných tvarů (multiplicita a blízké hodnoty  $J$ ): 5.90, 1H, *d*, 8.1; 4.68, 2H, *br*; 4.62, 1H, *sep*, 6.8; 4.02, 1H, *sxt*, 5.5; 3.71, 1H, *dd*, 10.6, 4.9; 3.63, 1H, *dd*, 10.6, 5.4; 1.78, 1H, *sept*, 7.3, 1.5; 1.63, 1H, *sept*, 7.5, 1.5; 1.53, 6H, *dd*, 6.8, 1.3 a také 2.18, 3H, *s*; 0.98, 3H, *t*, 7.4 patří  $\text{HN}^2$ ,  $\text{HC}^9$ ,  $\text{HC}^{16}$ ,  $\text{HC}^{19}$ ,  $\text{H}_{\text{ab}}\text{C}^{20}$ ,  $\text{H}_{\text{ab}}\text{C}^{21}$ ,  $\text{HC}^{17,18}$  a  $\text{HC}^{14'}$ ,  $\text{HC}^{22}$ . V COSY ( $\Theta = 90^\circ$ ) spektru 6 (obrázek 38, příloha) jsou signály krosníků,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 7.68(*s*,  $\text{HN}^6$ ) / 4.68(*s*,  $\text{HC}^9$ ) (sl.int.); dále: 7.12(*s*) / 6.92(*d*, 8.2) (sl. int.) a také 7.12(*s*) / 2.18(*s*) (sl. int.); 6.92(*d*, 8.2) / 6.76(*d*, 8.1) (s. int.) a také 6.92(*d*, 8.2) / 2.18(*s*) (stř. int.); signál 6.76(*d*, 8.2) má společný krosník jenom se signálem 6.92(*d*, 8.2) (s. int.). Signály benzylového cyklu můžou být přiřazený následujícím způsobem,  $\delta$  (ppm): 7.12,  $\text{HC}^{15}$ ; 6.92,  $\text{HC}^{13}$  a 6.76,  $\text{HC}^{12}$ . Dále, směrem do silných polí jsou krosníky,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 5.90(*d*, 8.1,  $\text{HN}^2$ ) / 4.02(*d*, 5.5,  $\text{HC}^{19}$ ); 4.62(*t*, 6.8,  $\text{HC}^{16}$ ) / 1.53(*d*, 6.8,  $\text{HC}^{17,18}$ ); 4.02(*d*, 5.5,  $\text{HC}^{19}$ ) / 3.71(*d*, 10.6,  $\text{HbC}^{20}$ ) / 3.63(*d*, 10.6,  $\text{HaC}^{20}$ ) / 1.78(*t*, 7.3,  $\text{HbC}^{21}$ ) / 1.63(*t*, 7.5,  $\text{HaC}^{21}$ ) a signály 3.71(*d*, 10.6,  $\text{HbC}^{20}$ ) / 3.63(*d*, 10.6,  $\text{HaC}^{20}$ ), kteří mají společný krosník, stejně, jako: 1.78(*t*, 7.3,  $\text{HbC}^{21}$ ) / 1.63(*t*, 7.5,  $\text{HaC}^{21}$ ); signál 4.85(*s*,  $\text{HO}^{20'}$ ) má krosníky s 3.71(*s*,  $\text{HbC}^{20}$ ) a 3.63(*s*,  $\text{HaC}^{20}$ ) (sl.int.); signál 1.53(*d*, 6.8,  $\text{HC}^{17,18}$ ) má krosník se signálem 4.62(*t*, 6.8,  $\text{HC}^{16}$ ) a signál 0.98(*t*, 7.4,  $\text{HC}^{22}$ ) má krosníky: 1.63(*t*, 7.5,  $\text{HaC}^{21}$ ) a 1.78(*t*, 7.3,  $\text{HbC}^{21}$ ). Vodíkové signály se dá přiřadit,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 0.98, 3H, *t*, 7.4,  $\text{HC}^{22}$ ; 1.53, 6H, *dd*, 6.8, 1.3,  $\text{HC}^{17,18}$ ; 1.63, 1H, *sept*, 7.5, 1.5,  $\text{H}_\text{a}\text{C}^{21}$ ; 1.78, 1H, *sept*, 7.3, 1.5,  $\text{H}_\text{b}\text{C}^{21}$ ; 2.18, 3H, *s*,  $\text{HC}^{14'}$ ; 3.63, 1H, *dd*, 10.6, 5.4,  $\text{H}_\text{a}\text{C}^{20}$ ; 3.71, 1H, *dd*, 10.6, 4.9,  $\text{H}_\text{b}\text{C}^{20}$ ; 4.02, 1H, *sxt*, 5.5,  $\text{HC}^{19}$ ; 4.62, 1H, *sep*, 6.8,  $\text{HC}^{16}$ ; 4.68, 2H, *br*,  $\text{HC}^9$ ; 4.85, 1H, *br*,  $\text{HO}^{20'}$ ; 5.90, 1H, *d*, 8.1,  $\text{HN}^2$ ; 6.76, 1H, *d*, 8.1,  $\text{HC}^{12}$ ; 6.92, 1H, *dd*, 8.2, 2.1,  $\text{HC}^{13}$ ; 7.12, 1H, *d*, 1.5,  $\text{HC}^{15}$ ; 7.68, 1H, *br*,  $\text{HN}^6$ ; 7.83, 1H, *s*,  $\text{HC}^8$ ; 10.27, 1H, *br*,  $\text{HO}^{11'}$ .

V  $\{^1\text{H}\}^{13}\text{C}$ -spektru 6 (obrázek 39, příloha) jsou 20 uhlíkových signálů, odpovídajících zkoumanému vzorku,  $\delta$  (ppm): 10.52, 19.25, 21.80, 21.85, 24.44, 39.71, 46.56, 54.83, 63.89, 114.32, 116.01, 126.27, 127.84, 128.91, 130.54, 135.72, 151.16, 153.78, 154.99 a 159.39. Dá se předpokládat pořadí ( $>\delta$ ): C2, C6, C11, C4, C8, C15, C13, C14, C10, C12, C5, C20, C19, C16, C9, C21, C17,18, C14', C22. V  $^{13}\text{C}$  (APT) spektru 6 (obrázek 40, příloha) jsou signály,  $\delta$  (ppm): 159.39, 154.99, 153.78, 151.16, 127.84, 126.27, 114.32, 63.89, 39.71 a 24.44 - v pozitivním modu (7 signálů - odpovídajících kvartérním uhlíkům a 3 signály - uhlíkům skupin  $\text{CH}_2$ ). Signály v negativním modu,  $\delta$  (ppm) jsou: 135.72, 130.53, 128.91,

116.01, 54.83, 46.56, 21.85, 21.80, 19.95 a 10.52 (10 signálů – patří skupinám CH a CH<sub>3</sub><sup>[41]</sup>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-*gHMOC* spektru 6 (obrázek 41, příloha) jsou 13 signálů s  $\delta_{1H}$  (*J*) /  $\delta_{13C}$  (ppm), které po přiřazení vodíkových signálů pomocí 2D {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-*gCOSY* dá se identifikovat: 7.83 / 135.72 (HC<sup>8</sup>); 7.12 / 130.54 (HC<sup>15</sup>); 6.92 (8.2) / 128.91 (HC<sup>13</sup>); 6.76 (8.1) / 116.01 (HC<sup>12</sup>); 4.68 / 39.71 (HC<sup>9</sup>); 4.62 (6.8) / 46.56 (HC<sup>16</sup>); 4.02 (5.5) / 54.83 (HC<sup>19</sup>); 3.71 (10.6) / 63.89 (H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>); 3.63 (10.6) / 63.89 (H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>); 2.18 / 19.92 (HC<sup>14</sup>); 1.78 (7.3) / 24.44 (H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>); 1.63 (7.5) / 24.44 (H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>); 1.53 (6.8) / 21.85 (HC<sup>17,18</sup>); 1.53 (6.8) / 21.80 (HC<sup>17,18</sup>) a 0.98 (7.4) / 10.52 (HC<sup>22</sup>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-*gHMBC* spektru 6 (obrázek 42, příloha) jsou signály  $\delta_{13C}$  (ppm) = 159.39 s krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm.), *J* (Hz): 5.90, *s*, HN<sup>2</sup> (stř. int.) a 4.02, *d*, 5.5, HC<sup>19</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 154.99 s krosníky,  $\delta_{1H}$ : 7.12, *s*, HC<sup>15</sup> (sl. int.) a 4.68, *s*, HC<sup>9</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 153.78 s krosníky,  $\delta_{1H}$ , *J*: 7.12, *s*, HC<sup>15</sup> (sl. int.), 6.92, *d*, 8.2, HC<sup>13</sup> (stř. int.) a 7.76, *s*, 8.1, HC<sup>12</sup> (s. int.);  $\delta_{13C}$  = 151.16 s krosníky,  $\delta_{1H}$ : 7.83, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.) a 4.62, *t*, 6.8, HC<sup>16</sup> (s. int.);  $\delta_{13C}$  = 127.84 s krosníky,  $\delta_{1H}$ , *J*: 7.12, *s*, HC<sup>15</sup> (s. int.); 6.92, *d*, 8.2, HC<sup>13</sup> (s. int.) a 6.76, *d*, 8.1, HC<sup>12</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 126.27 s krosníky,  $\delta_{1H}$ , *J*: 7.12, *s*, HC<sup>15</sup> (s. int.), 6.92, *d*, 8.2, HC<sup>13</sup> (sl. int.); 6.76, *d*, 8.1, HC<sup>12</sup>, (sl. int.) a 4.68, *s*, HC<sup>9</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 114.32 s krosníkem,  $\delta_{1H}$ : 7.83, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.). Po analýze uvedených dat, dá se konstatovat, že kvartérními jsou uhlíky,  $\delta_{13C}$ : 114.32 (C<sup>5</sup>), 126.27 (C<sup>10</sup>), 127.84 (C<sup>14</sup>), 151.16 (C<sup>4</sup>), 153.78 (C<sup>11</sup>), 154.99 (C<sup>6</sup>) a 158.39 (C<sup>2</sup>). Dál, jsou signály s  $\delta_{13C}$  /  $\delta_{1H}$  (ppm) a *J* (Hz): 135.72 / 7.83, *d*, 205.1, HC<sup>8</sup> s krosníkem s  $\delta_{1H}$  (ppm): 4.62, *d*, 6.8, HC<sup>16</sup> (s. int.); 130.53 / 7.12, *d*, 159.0, HC<sup>15</sup> s krosníky 6.92, *d*, 18.3, HC<sup>13</sup> (stř. int.), 6.76, *d*, 19.8, HC<sup>12</sup> (sl. int.) a 2.18, *s*, HC<sup>14'</sup> (s. int.) a 4.68, *s*, HC<sup>9</sup> (sl. int.); 128.91 / 6.92, *d*, 154.2, HC<sup>13</sup> s krosníky 7.12, *d*, 17.2, HC<sup>15</sup> (stř. int.); 6.76, *d*, 19.9, HC<sup>12</sup> (s. int.) a 2.18, *s*, HC<sup>14'</sup> (stř. int.); 116.01 / 6.76, *d*, 161.4, HC<sup>12</sup> s krosníky 10.27, *s*, HO<sup>11'</sup> (sl. int.), 7.12, *s*, HC<sup>15</sup> (sl. int.), 6.92, *d*, 20.5, HC<sup>13</sup> (s. int.) a 2.18, *s*, HC<sup>14'</sup> (sl. int.); 63.89 / 3.71, *d*, 119.1, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> / 3.63, *d*, 111.1, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> s krosníky 5.90, *s*, HN<sup>2</sup> (stř. int.), 4.02, *d*, 19.8, HC<sup>19</sup> (s. int.), 1.78, *d*, 17.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>, 1.63, *d*, 16.6, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (stř. int.); 54.83 / 4.02, *d*, 172.0, HC<sup>19</sup> s krosníky 5.90, *d*, 11.9, HN<sup>2</sup> (s. int.), 3.71, *d*, 30.0, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 3.63, *d*, 28.4, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 1.78, *t*, 48.1, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.63, *t*, 43.5, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 0.98, *t*, 12.3, HC<sup>22</sup> (stř. int.); 46.56 / 4.62, *d*, 147.0, HC<sup>16</sup> s krosníkem 1.53, *d*, 10.1, HC<sup>17,18</sup> (s. int.) a samozřejmě 7.83, *s*, HC<sup>8</sup> (s. int.); 39.71 / 4.68, *d*, 160.7, HC<sup>9</sup> s krosníkem 7.12, *s*, HC<sup>15</sup> (sl. int.); 24.44 / 1.78, *d*, 159.7, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> / 1.63, *d*, 159.9, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> s krosníky 3.71, *s*, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 3.63, *s*, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 0.98, *d*, 7.4, HC<sup>22</sup> (s. int.); 21.85 / 1.53, *d*, 191.0, HC<sup>17,18</sup> s krosníkem 4.62, *d*, 10.2, HC<sup>16</sup> (s. int.); 21.80 / 1.53, *d*, 191.2, HC<sup>17,18</sup> s krosníkem 4.62, *d*, 10.0, HC<sup>16</sup> (s. int.); 19.95 / 2.18, *d*, 190.2, HC<sup>14'</sup> s krosníky: 7.12, *d*, 37.3, HC<sup>15</sup> (stř. int.); 6.92, *d*, 35.9, HC<sup>13</sup> (stř. int.) a 6.76, *d*, 34.9, HC<sup>12</sup> (sl. int.); 10.52 / 0.98, *d*, 127.0, HC<sup>22</sup> s krosníky 4.02, *d*, 18.2, HC<sup>19</sup> (stř. int.), 1.78, *d*, 50.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.63, *d*, 48.9, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.). Po analýze, můžeme konstatovat, že uhlíky CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> skupin jsou,  $\delta_{13C}$ : 10.52 (HC<sup>22</sup>); 19.95 (HC<sup>14'</sup>); 21.80, 21.85 (HC<sup>17,18</sup>); 24.44 (HC<sup>21</sup>); 39.71 (HC<sup>9</sup>); 46.56 (HC<sup>16</sup>); 54.83 (HC<sup>19</sup>); 63.89 (HC<sup>20</sup>); 116.01 (HC<sup>12</sup>); 128.91 (HC<sup>13</sup>); 130.54 (HC<sup>15</sup>) a 135.72 (HC<sup>8</sup>).

V {<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N}-*gHMBC*, (*J* = 8; 32 Hz) spektru 6 (obrázek 43, příloha) jsou signály s  $\delta_{1H}$  /  $\delta_{15N}$  (ppm) a *J* (Hz): 7.68 / 87.60, *d*, 88.4, HN<sup>6</sup> bez krosníků; 5.90 / 93.08, *dd*, 89.4, 8.5, HN<sup>2</sup> s krosníky  $\delta_{1H}$  (ppm) a *J* (Hz): 3.71, *dd*, 29.8, 9.6, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.); 3.63, *d*, 26.8, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.); 1.78, *t*, 9.7, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.); 1.63, *qui*, 6.7, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (s. int.). Dál, jsou signály: 7.83 / 174.03, *d*, 6.3, HC<sup>8</sup> s krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm) a *J* (Hz): 4.62, *t*, 6.6, HC<sup>16</sup> (s. int.); 1.53, *d*, 7.5, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 5.90 / 178.55, *d*, 8.9, HN<sup>2</sup> bez krosníků; 5.90 / 190.23, *d*, 8.3, HN<sup>2</sup> bez krosníků a 7.83 /

238.30, *d*, 10.1, HC<sup>8</sup> bez dalších krospliků, také. Dusíkové signály se dá přiřadit,  $\delta_{15\text{N}}$  (ppm): 87.60 (N<sup>6</sup>), 93.08 (N<sup>2</sup>), 174.03 (N<sup>9</sup>), 178.55 (N<sup>3</sup>), 190.23 (N<sup>1</sup>) a 238.30 (N<sup>7</sup>).

### 8.1.7. Interpretace <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C a <sup>15</sup>N signálů {N6-(4-hydroxy-3,5-di-methoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu.

V <sup>1</sup>H-spekttru {N6-(4-hydroxy-3,5-di-methoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethylpropyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu (7, obrázek 44, příloha) jsou 16 signálů, odpovídajících vodíkům zkoumané látky,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 8.35, 1H, *br*; 7.80, 1H, *s*; 7.62, 1H, *br*; 6.81, 2H, *s*; 5.94, 1H, *br*; 4.81, 1H, *br*; 4.67, 2H, *br*; 4.61, 1H, *sep*, 6.8; 4.02, 1H, *sxt*, 6.1; 3.77, 6H, *s*, HC<sup>12',14'</sup> (předpoklad); 3.70, 1H, *dd*, 10.4, 5.1; 3.59, 1H, *dd*, 10.7, 5.6; 1.77, 1H, *sept*, 6.8, 1.5; 1.60, 1H, *sepsep*, 7.4, 1.2; 1.52, 6H, *d*, 6.8, HC<sup>17,18</sup> (předpoklad); 0.96, 3H, *t*, 7.4, HC<sup>22</sup> (předpoklad). Předpokládáme, že signály,  $\delta$ : 8.35, 1H, *br*, 7.62, 1H, *br* a 4.81, 1H, *br* patří vodíkům HO<sup>13'</sup>, HN<sup>6</sup> a HO<sup>20'</sup> (jsou – *br* a je charakteristické pro hydroxy-, amino- a iminoskupiny)<sup>[59]</sup>. Signal 6.81, 2H, *s* patří vodíkům benzylového cyklu HC<sup>11,15</sup>. Z ostatních signálů: 5.94, 1H, *br*; 4.67, 2H, *br*; 4.61, 1H, *sep*, 6.8; 4.02, 1H, *sxt*, 6.1; 3.70, 1H, *dd*, 10.4, 5.1; 3.59, 1H, *dd*, 10.7, 5.6; 1.77, 1H, *sept*, 6.8, 1.5; 1.60, 1H, *sept* se dá předpokládat, že patří HN<sup>2</sup>, HC<sup>9</sup>, HC<sup>16</sup>, HC<sup>19</sup>, H<sub>a,b</sub>C<sup>20</sup>, H<sub>a,b</sub>C<sup>21</sup>. V COSY ( $\Theta = 90^\circ$ ) spektru 7 (obrázek 45, příloha) jsou signály krospliků,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 7.62<sup>(s, HN6)</sup> / 4.67<sup>(s, HC9)</sup> (sl. int.); dál: 6.81<sup>(s)</sup> / 4.67<sup>(s, HC9)</sup> (sl. int.) / 3.77<sup>(s)</sup> (sl. int.). <sup>1</sup>H signály benzylového cyklu můžou být přiřazený,  $\delta$  (ppm): 8.35, HO<sup>13'</sup>; 6.67, HN<sup>6</sup>; 6.81, HC<sup>11,15</sup> a 3.77, HC<sup>12',14'</sup>. Dále, směrem do silných poli jsou krospiky,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 5.94<sup>(s, HN2)</sup> / 4.02<sup>(d, 6.1, HC19)</sup> (stř. int.); 4.61<sup>(t, 6.8, HC16)</sup> / 1.52<sup>(d, 6.8, HC17,18)</sup> (s. int.); 4.02<sup>(t, 6.1, HC19)</sup> / 3.70<sup>(d, 10.4, HbC20)</sup> / 3.59<sup>(d, 10.7, HaC20)</sup> / 1.77<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.60<sup>(t, 7.4, HaC21)</sup> (s. int.). Signály 3.70<sup>(d, 10.4, HbC20)</sup> / 3.59<sup>(d, 10.7, HaC20)</sup> mají společný krosplik (s. int.), stejně, jako: 1.77<sup>(t, 6.3, HbC21)</sup> / 1.60<sup>(t, 7.4, HaC21)</sup>; signál 4.81<sup>(s, HO20')</sup> má krospiky s 3.70<sup>(s, HbC20)</sup> a 3.59<sup>(s, HaC20)</sup> (sl. int.); signál 1.52<sup>(d, 6.8, HC17,18)</sup> má krosplik se signálem 4.61<sup>(t, 6.8, HC16)</sup> (s. int.) a signál 0.96<sup>(t, 7.4, HC22)</sup> má krospiky: 1.60<sup>(t, 7.4, HaC21)</sup> a 1.77<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> (s. int.). <sup>1</sup>H signály se dá přiřadit,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 0.96, 3H, *t*, 7.4, HC<sup>22</sup>; 1.52, 6H, *dd*, 6.8, 1.3, HC<sup>17,18</sup>; 1.60, 1H, *sept*, 7.4, 1.2, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.77, 1H, *sept*, 6.8, 1.5, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 3.59, 1H, *dd*, 10.7, 5.6, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.70, 1H, *dd*, 10.4, 5.1, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 3.77, 6H, *s*, HC<sup>12',14'</sup>; 4.02, 1H, *sxt*, 6.1, HC<sup>19</sup>; 4.61, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 4.67, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.81, 1H, *br*, HO<sup>20'</sup>; 5.94, 1H, *br*, HN<sup>2</sup>; 6.81, 2H, *s*, HC<sup>11,15</sup>; 7.62, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 7.80, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 8.35, 1H, *br*, HO<sup>13'</sup>.

V {H}<sup>13</sup>C-spekttru 7 (obrázek 46, příloha) jsou 18 uhlíkových signálů, odpovídajících zkoumanému vzorku,  $\delta$  (ppm): 10.56, 21.86, 21.90, 24.50, 43.77, 46.35, 54.86, 55.97, 64.18, 105.95, 114.45, 131.07, 135.23, 135.28, 148.23, 151.23, 155.11 a 159.83. Dá se předpokládat (> $\delta$ ): C2, C6, C4, C12,14, C13, C8, C10, C5, C11,15, C20, C12',14', C19, C16, C9, C21, C17,18, C22. V <sup>13</sup>C (APT) spektru 7 (obrázek 47, příloha) jsou signály,  $\delta$  (ppm): 159.83, 155.11, 151.23, 148.23, 135.28, 131.07, 114.45, 64.18, 43.77 a 24.50 - v pozitivním modu (7 signálů - odpovídajících kvartérním uhlíkům a 3 signály - uhlíkům skupin CH<sub>2</sub>). Signály v negativním modu,  $\delta$  (ppm) jsou: 135.23, 105.95, 55.97, 54.86, 46.35, 21.90, 21.86 a 10.56 (8 signálů – patří skupinám CH a CH<sub>3</sub><sup>[41]</sup>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMQC spektru 7 (obrázek 48, příloha) jsou 11 signálů s  $\delta_{1\text{H}}$  (*J*) /  $\delta_{13\text{C}}$  (ppm), které po přiřazení vodíkových signálů pomocí 2D {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-gCOSY dá se identifikovat: 7.80 / 135.23 (HC<sup>8</sup>); 6.81 / 105.95 (HC<sup>11,15</sup>); 4.67 / 43.77 (HC<sup>9</sup>); 4.61 (6.8) / 46.35 (HC<sup>16</sup>); 4.02 (6.1) / 54.86 (HC<sup>19</sup>); 3.77 / 55.97 (HC<sup>12',14'</sup>); 3.70

(10.4) / 64.18 ( $\text{H}_b\text{C}^{20}$ ); 3.59 (10.7) / 64.18 ( $\text{H}_a\text{C}^{20}$ ); 1.77 (6.8) / 24.50 ( $\text{H}_b\text{C}^{21}$ ); 1.60 (7.4) / 24.50 ( $\text{H}_a\text{C}^{21}$ ); 1.52 (6.8) / 21.90 ( $\text{HC}^{17,18}$ ); 1.53 (6.8) / 21.86 ( $\text{HC}^{17,18}$ ) a 0.96 (7.4) / 10.56 ( $\text{HC}^{22}$ ). V  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMBC* spektru 7 (obrázek 49, příloha) jsou signály  $\delta_{13\text{C}}$  (ppm) = 159.83 s krosníky,  $\delta_{1\text{H}}$  (ppm.),  $J$  (Hz): 5.94, *s*,  $\text{HN}^2$  (stř. int.) a 4.02, *d*, 6.1,  $\text{HC}^{19}$  (stř. int.);  $\delta_{13\text{C}}$  = 155.11 s krosníky,  $\delta_{1\text{H}}$ : 6.81, *s*,  $\text{HC}^{11,15}$  (sl. int.) a 4.67, *s*,  $\text{HC}^9$  (sl. int.);  $\delta_{13\text{C}}$  = 151.23 s krosníky,  $\delta_{1\text{H}}$ : 7.80, *s*,  $\text{HC}^8$  (stř. int.) a 4.61, *t*, 6.8,  $\text{HC}^{16}$  (s. int.);  $\delta_{13\text{C}}$  = 148.23 s krosníky,  $\delta_{1\text{H}}$ ,  $J$ : 8.35, *s*,  $\text{HO}^{13'}$  (sl. int.), 6.81, *s*,  $\text{HC}^{11,15}$  (s. int.);  $\delta_{13\text{C}}$  = 135.28 s krosníky,  $\delta_{1\text{H}}$ ,  $J$ : 8.35, *s*,  $\text{HO}^{13'}$  (stř. int.), 6.81, *s*,  $\text{HC}^{11,15}$  (stř. int.);  $\delta_{13\text{C}}$  = 131.07 s krosníkem,  $\delta_{1\text{H}}$ : 6.81, *s*,  $\text{HC}^{11,15}$  (s. int.) a 4.67, *d*, 6.2,  $\text{HC}^9$  (sl. int.);  $\delta_{13\text{C}}$  = 114.45 s krosníkem,  $\delta_{1\text{H}}$ : 7.80, *s*,  $\text{HC}^8$  (stř. int.). Můžeme s jistotou říct, že kvartérními uhlíky,  $\delta_{13\text{C}}$  jsou: 114.45 ( $\text{C}^5$ ), 131.07 ( $\text{C}^{10}$ ), 135.28 ( $\text{C}^{13}$ ), 148.23 ( $\text{C}^{12,14}$ ), 151.23 ( $\text{C}^4$ ), 155.11 ( $\text{C}^6$ ) a 159.83 ( $\text{C}^2$ ). Dál, jsou signály s  $\delta_{13\text{C}} / \delta_{1\text{H}}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 135.23 / 7.80, *d*, 201.2,  $\text{HC}^8$  s krosníky s  $\delta_{1\text{H}}$  (ppm): 4.61, *d*, 6.8,  $\text{HC}^{16}$  (s. int.) a 1.52, *d*, 6.8,  $\text{HC}^{17,18}$  (stř. int.); 105.95 / 6.81, *d*, 150.0,  $\text{HC}^{11,15}$  s krosníky 4.67, *s*,  $\text{HC}^9$  (sl. int.) a 3.77, *s*,  $\text{HC}^{12',14'}$  (sl. int.); 64.18 / 3.70, *d*, 119.0,  $\text{H}_b\text{C}^{20}$  / 3.59, *d*, 112.7,  $\text{H}_a\text{C}^{20}$  s krosníky 5.94, *s*,  $\text{HN}^2$  (stř. int.), 4.81, *s*,  $\text{HO}^{20'}$  (sl. int.), 4.02, *d*, 20.2,  $\text{HC}^{19}$  (s. int.), 1.77, *d*, 17.2,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$ , (stř. int.), 1.60, *d*, 16.3,  $\text{H}_a\text{C}^{21}$  (stř. int.); 55.97 / 3.77, *d*, 33.4,  $\text{HC}^{12',14'}$  s krosníkem 6.81, *s*,  $\text{HC}^{11,15}$  (stř. int.); 54.86 / 4.02, *d*, 173.4,  $\text{HC}^{19}$  s krosníky 5.94, *d*, 12.0,  $\text{HN}^2$  (stř. int.), 3.70, *d*, 30.5,  $\text{H}_b\text{C}^{20}$  (s. int.), 3.59, *d*, 29.0,  $\text{H}_a\text{C}^{20}$  (s. int.), 1.77, *t*, 46.0,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$  (s. int.), 1.60, *t*, 44.3,  $\text{H}_a\text{C}^{21}$  (s. int.), 0.96, *t*, 12.5,  $\text{HC}^{22}$  (stř. int.); 46.35 / 4.61, *d*, 146.5,  $\text{HC}^{16}$  s krosníky 7.80, *s*,  $\text{HC}^8$  (s. int.) a 1.52, *d*, 10.1,  $\text{HC}^{17,18}$  (s. int.); 43.77 / 4.67, *d*, 160.5,  $\text{HC}^9$  s krosníkem 6.81, *s*,  $\text{HC}^{11,15}$  (sl. int.); 24.50 / 1.77, *d*, 160.2,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$  / 1.60, *d*, 159.5,  $\text{H}_a\text{C}^{21}$  s krosníky 3.70, *s*,  $\text{H}_b\text{C}^{20}$  (stř. int.), 3.59, *s*,  $\text{H}_a\text{C}^{20}$  (stř. int.), 0.96, *d*, 7.5,  $\text{HC}^{22}$  (s. int.); 21.90 / 1.52, *d*, 192.8,  $\text{HC}^{17,18}$  s krosníkem 4.61, *d*, 10.1,  $\text{HC}^{16}$  (s. int.); 21.86 / 1.52, *d*, 191.7,  $\text{HC}^{17,18}$  s krosníkem 4.61, *d*, 10.0,  $\text{HC}^{16}$  (s. int.); 10.56 / 0.96, *d*, 126.8,  $\text{HC}^{22}$  s krosníky 4.02, *d*, 18.3,  $\text{HC}^{19}$  (stř. int.), 1.77, *d*, 49.9,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$  (s. int.), 1.60, *d*, 48.3,  $\text{H}_a\text{C}^{21}$  (s. int.). Dá se konstatovat, že uhlíky CH,  $\text{CH}_2$  a  $\text{CH}_3$  skupin jsou,  $\delta_{13\text{C}}$ : 10.56 ( $\text{HC}^{22}$ ); 21.86, 21.90 ( $\text{HC}^{17,18}$ ); 24.50 ( $\text{HC}^{21}$ ); 43.77 ( $\text{HC}^9$ ); 46.35 ( $\text{HC}^{16}$ ); 54.86 ( $\text{HC}^{19}$ ); 55.97 ( $\text{HC}^{12',14'}$ ); 64.18 ( $\text{HC}^{20}$ ); 105.95 ( $\text{HC}^{11,15}$ ) a 135.23 ( $\text{HC}^8$ ).

V  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -*gHMBC*, ( $J = 32$  Hz) spektru 7 (obrázek 50, příloha) jsou signály s  $\delta_{1\text{H}} / \delta_{15\text{N}}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 7.62 / 88.75, *d*, 92.6,  $\text{HN}^6$  bez krosníků; 5.94 / 92.94, *dd*, 90.3, 14.5,  $\text{HN}^2$  s krosníky  $\delta_{1\text{H}}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 3.70, *t*, 8.0,  $\text{H}_b\text{C}^{20}$  (stř. int.); 3.59, *t*, 7.6,  $\text{H}_a\text{C}^{20}$  (stř. int.); 1.77, *s*,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$  (s. int.); 1.60, *s*,  $\text{H}_a\text{C}^{21}$  (s. int.). Dál, směrem do silných polí jsou signály: 7.80 / 173.25, *d*, 5.4,  $\text{HC}^8$  s krosníky,  $\delta_{1\text{H}}$  (ppm),  $J$  (Hz): 4.61, *t*, 6.2,  $\text{HC}^{16}$  (s. int.), 1.52, *d*, 9.4,  $\text{HC}^{17,18}$  (s. int.); 5.94/180.01, *s*,  $\text{HN}^2$  (sl. int.) bez dalších krosníků; 7.62/189.87, *s*,  $\text{HN}^6$  (sl. int.) bez dalších krosníků také a 7.80 / 238.27, *d*, 10.2,  $\text{HC}^8$  bez krosníků. Dusíkové signály se dá přiřadit,  $\delta_{15\text{N}}$  (ppm): 88.75 ( $\text{N}^6$ ), 92.94 ( $\text{N}^2$ ), 173.25 ( $\text{N}^9$ ), 180.01 ( $\text{N}^3$ ), 189.87 ( $\text{N}^1$ ) a 238.27 ( $\text{N}^7$ ).

### 8.1.8. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(4-brombenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu.

V  $^1\text{H}$ -spektru {N6-(4-brombenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu (8, obrázek 51, příloha) jsou 15 signálů, odpovídajících vodíkům zkoumané látky,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 7.80, 1H, *s*; 7.80, 1H, *br*; 7.51, 2H, *dt*, 8.4, 2.3; 7.42, 2H, *dt*, 8.4, 2.3; 5.87, 1H, *d*, 7.7; 4.75, 1H, *t*, 6.4; 4.73, 2H, *br*; 4.61, 1H, *sep*, 6.8; 3.95, 1H, *sxtt*, 5.5, 2.6; 3.66, 1H, *dt*, 10.6, 4.5; 3.55, 1H, *dt*, 9.6, 4.5; 1.73, 1H, *sept*, 7.4, 1.7; 1.56, 1H, *sept*, 7.5, 1.7; 1.52, 6H, *d*, 6.8,  $\text{HC}^{17,18}$  (předpoklad); 0.93, 3H, *t*, 7.4,  $\text{HC}^{22}$  (předpoklad). Předpokládáme, že signály,  $\delta$ : 7.80, 1H, *br* a 4.75, 1H, *br* patří vodíkům  $\text{HN}^6$  a  $\text{HO}^{20'}$  (jsou – *br* a je charakteristické pro hydroxy-, amino- a iminoskupiny)<sup>[59]</sup>. Signály 7.51, 2H, *dt*, 8.4, 2.3 a 7.42, 2H, *dt*, 8.4, 2.3 patří vodíkům benzylového cyklu  $\text{HC}^{11,15}$  a  $\text{HC}^{12,14}$ , nebo naopak:  $\text{HC}^{12,14}$  a  $\text{HC}^{11,15}$ . Z ostatních signálů: 5.87, 1H, *d*, 7.7; 4.73, 2H, *br*; 4.61, 1H, *sep*, 6.8; 3.95, 1H, *sxtt*, 5.5, 2.6; 3.66, 1H, *dt*, 10.6, 4.5; 3.55, 1H, *dt*, 9.6, 4.5; 1.73, 1H, *sept*, 7.4, 1.7; 1.56, 1H, *sept* se dá předpokládat, že patří  $\text{HN}^2$ ,  $\text{HC}^9$ ,  $\text{HC}^{16}$ ,  $\text{HC}^{19}$ ,  $\text{H}_{a,b}\text{C}^{20}$ ,  $\text{H}_{a,b}\text{C}^{21}$ . V *COSY* ( $\Theta = 90^\circ$ ) spektru 8 (obrázek 52, příloha) jsou signály krospliků,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 7.80(<sup>s</sup>,  $\text{HN}^6$ ) / 4.73(<sup>s</sup>,  $\text{HC}^9$ ) (sl.int.); dále: 7.51(<sup>d</sup>, 8.4) / 4.73(<sup>s</sup>,  $\text{HC}^9$ ) (sl. int.) / 7.42(<sup>d</sup>, 8.4) (s. int.) a 7.42(<sup>d</sup>, 8.4) / 7.51(<sup>d</sup>, 8.4) (s. int.).  $^1\text{H}$  signály benzylového cyklu mohou být přiřazený,  $\delta$  (ppm): 7.80,  $\text{HN}^6$ ; 7.51,  $\text{HC}^{11,15}$  a 7.42,  $\text{HC}^{12,14}$ . Dále, směrem do silných polí jsou krospíky,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 5.87(<sup>s</sup>,  $\text{HN}^2$ ) / 3.95(<sup>d</sup>, 5.5,  $\text{HC}^{19}$ ) (stř. int.); 4.75(<sup>s</sup>,  $\text{HO}^{20'}$ ) / 3.66(<sup>s</sup>,  $\text{H}_a\text{C}^{20}$ ); 4.61(<sup>t</sup>, 6.8,  $\text{HC}^{16}$ ) / 1.52(<sup>d</sup>, 6.8,  $\text{HC}^{17,18}$ ) (s. int.); 3.95(<sup>d</sup>, 5.5,  $\text{HC}^{19}$ ) / 3.66(<sup>d</sup>, 10.6,  $\text{H}_b\text{C}^{20}$ ) / 3.55(<sup>d</sup>, 9.6,  $\text{H}_a\text{C}^{20}$ ) / 1.73(<sup>t</sup>, 7.4,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$ ) / 1.56(<sup>t</sup>, 7.5,  $\text{H}_a\text{C}^{21}$ ) (s. int.). Analogické, jako u předchozích derivátů, signály 3.66(<sup>d</sup>, 10.6,  $\text{H}_b\text{C}^{20}$ ) / 3.55(<sup>d</sup>, 9.6,  $\text{H}_a\text{C}^{20}$ ) mají společný krospík (s. int.), stejně, jako: 1.73(<sup>t</sup>, 7.4,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$ ) / 1.56(<sup>t</sup>, 7.5,  $\text{H}_a\text{C}^{21}$ ); signál 1.52(<sup>d</sup>, 6.8,  $\text{HC}^{17,18}$ ) má krospík se signálem 4.61(<sup>t</sup>, 6.8,  $\text{HC}^{16}$ ) (s. int.) a signál 0.93(<sup>t</sup>, 7.4,  $\text{HC}^{22}$ ) má krospíky: 1.56(<sup>t</sup>, 7.5,  $\text{H}_a\text{C}^{21}$ ) a 1.73(<sup>t</sup>, 7.4,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$ ) (s. int.).  $^1\text{H}$  signály se dá přiřadit,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 0.93, 3H, *t*, 7.4,  $\text{HC}^{22}$ ; 1.52, 6H, *d*, 6.8,  $\text{HC}^{17,18}$ ; 1.56, 1H, *sept*, 7.5, 1.7,  $\text{H}_a\text{C}^{21}$ ; 1.73, 1H, *sept*, 7.4, 1.7,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$ ; 3.55, 1H, *dt*, 9.6, 4.5,  $\text{H}_a\text{C}^{20}$ ; 3.66, 1H, *dt*, 10.6, 4.5,  $\text{H}_b\text{C}^{20}$ ; 3.95, 1H, *sxtt*, 5.5, 2.6,  $\text{HC}^{19}$ ; 4.61, 1H, *sep*, 6.8,  $\text{HC}^{16}$ ; 4.73, 2H, *br*,  $\text{HC}^9$ ; 4.75, 1H, *t*, 6.4,  $\text{HO}^{20'}$ ; 5.87, 1H, *d*, 7.7,  $\text{HN}^2$ ; 7.42, 2H, *dt*, 8.4, 2.3,  $\text{HC}^{12,14}$ ; 7.51, 2H, *dt*, 8.4, 2.3,  $\text{HC}^{11,15}$ ; 7.80, 1H, *br*,  $\text{HN}^6$ ; 7.80, 1H, *s*,  $\text{HC}^8$ .

V  $\{^1\text{H}\}^{13}\text{C}$ -spektru 8 (obrázek 53, příloha) jsou 17 uhlíkových signálů, odpovídajících zkoumanému vzorku,  $\delta$  (ppm): 10.58, 21.90, 21.93, 24.48, 42.84, 46.38, 54.87, 64.07, 114.52, 119.96, 130.04, 131.31, 135.40, 140.87, 151.51, 155.10 a 159.79. Dá se předpokládat ( $>\delta$ ): C2, C6, C4, C10, C8, C11,15, C12,14, C13, C5, C20, C19, C16, C9, C21, C17,18, C22. V  $^{13}\text{C}$  (APT) spektru 8 (obrázek 54, příloha) jsou signály,  $\delta$  (ppm): 159.79, 155.10, 151.51, 140.86, 119.96, 114.52, 64.07, 42.84 a 24.48 - v pozitivním modu (6 signálů - odpovídajících kvartérním uhlíkům a 3 signály - uhlíkům skupin  $\text{CH}_2$ ). Signál v oblasti středně silných polí s  $\delta$  (ppm) = 119.96 možná patří kvartérnímu uhlíku C13, i když musí být odstíněn napojeným elektronegativním atomem bromu, tzn. posunut do slabých polí, například v porovnání s předchozím derivátem (7) u kterého  $\delta_{13\text{C}}$  C13 je 135.28 ppm. Ale, tady působí tzn. stínící efekt těžkého atomu<sup>[41]</sup> (Br), výsledkem kterého C13 v  $^{13}\text{C}$  spektře bromderivátu je posunut do silných polí a  $\Delta\delta(\delta_{4\text{Br-rosce}} - \delta_{4\text{OH}3,5\text{MeO-rosce}}) = -15.32$  ppm. Signály v negativním modu,  $\delta$  (ppm) jsou: 135.40, 131.31, 130.04, 54.87, 46.38, 21.93, 21.90 a 10.58 (8 signálů – patří skupinám CH a  $\text{CH}_3$ ). V  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMQC* spektru 8 (obrázek 55, příloha) jsou 11 signálů s  $\delta_{1\text{H}}$  ( $J$ ) /  $\delta_{13\text{C}}$  (ppm), které po přiřazení vodíkových signálů pomocí *2D*  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -*gCOSY* dá

se identifikovat: 7.80 / 135.40 (HC<sup>8</sup>); 7.51 (8.4) / 131.31 (HC<sup>11,15</sup>); 7.42 (8.4) / 130.04 (HC<sup>12,14</sup>); 4.73 / 42.84 (HC<sup>9</sup>); 4.61 (6.8) / 46.38 (HC<sup>16</sup>); 3.95 (5.5) / 54.87 (HC<sup>19</sup>); 3.66 (10.6) / 64.07 (H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>); 3.55 (9.6) / 64.07 (H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>); 1.73 (7.4) / 24.48 (H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>); 1.56 (7.5) / 24.48 (H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>); 1.52 (6.8) / 21.93 (HC<sup>17,18</sup>); 1.52 (6.8) / 21.90 (HC<sup>17,18</sup>) a 0.93 (7.4) / 10.58 (HC<sup>22</sup>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMBC spektru 8 (obrázek 56, příloha) jsou signály  $\delta_{13C}$  (ppm) = 159.79 s kros-píky,  $\delta_{1H}$  (ppm.),  $J$  (Hz): 5.87, *s*, HN<sup>2</sup> (stř. int.) a 3.95, *d*, 5.5, HC<sup>19</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 155.10 s kros-píky,  $\delta_{1H}$ : 7.51, *s*, HC<sup>11,15</sup> (sl. int.) a 4.73, *s*, HC<sup>9</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 151.51 s kros-píky,  $\delta_{1H}$ : 7.80, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.) a 4.61, *t*, 6.8, HC<sup>16</sup> (s. int.);  $\delta_{13C}$  = 140.87 s kros-píky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.51, *d*, 8.4, HC<sup>11,15</sup> (s. int.), 7.42, *d*, 8.4, HC<sup>12,14</sup> (stř. int.) a 4.73, *s*, HC<sup>9</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 119.96 s kros-píky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.51, *d*, 8.4, HC<sup>11,15</sup> (stř. int.), 7.42, *d*, 8.4, HC<sup>12,14</sup> (s. int.);  $\delta_{13C}$  = 114.52 s kros-píkem,  $\delta_{1H}$ : 7.80, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.). Po analýze, dá se konstatovat, že kvartérními uhlíky,  $\delta_{13C}$  jsou: 114.52 (C<sup>5</sup>), 119.96 (C<sup>13</sup> - stínící efekt těžkého atomu<sup>[41]</sup>), 140.86 (C<sup>10</sup>), 151.51 (C<sup>4</sup>), 155.10 (C<sup>6</sup>) a 159.79 (C<sup>2</sup>). Dál, jsou signály s  $\delta_{13C}$  /  $\delta_{1H}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 135.40 / 7.80, *d*, 201.5, HC<sup>8</sup> s kros-píky s  $\delta_{1H}$  (ppm): 4.61, *d*, 6.8, HC<sup>16</sup> (s. int.) a 1.52, *d*, 6.8, HC<sup>17,18</sup> (stř. int.); 131.31 / 7.51, *d*, 154.1, HC<sup>11,15</sup> s kros-píky 7.42, *d*, 9.0, HC<sup>12,14</sup> (s. int.) a 4.73, *s*, HC<sup>9</sup> (sl. int.); 130.04 / 7.42, *d*, 152.0, HC<sup>12,14</sup> s kros-píkem 7.51, *d*, 9.1, HC<sup>11,15</sup> (s. int.); 64.07 / 3.66, *d*, 118.8, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> / 3.55, *d*, 113.0, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> s kros-píky 5.87, *s*, HN<sup>2</sup> (stř. int.), 4.75, *s*, HO<sup>20'</sup> (sl. int.), 3.95, *d*, 21.0, HC<sup>19</sup> (s. int.), 1.73, *d*, 17.4, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>, (stř. int.), 1.56, *d*, 16.4, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (stř. int.); 54.87 / 3.95, *d*, 172.9, HC<sup>19</sup> s kros-píky 5.87, *d*, 12.4, HN<sup>2</sup> (stř. int.), 3.66, *d*, 30.4, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 3.55, *d*, 28.8, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 1.73, *t*, 45.9, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.56, *t*, 44.2, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 0.93, *t*, 12.6, HC<sup>22</sup> (stř. int.); 46.38 / 4.61, *d*, 146.4, HC<sup>16</sup> s kros-píky 7.80, *s*, HC<sup>8</sup> (s. int.) a 1.52, *d*, 10.2, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 42.84 / 4.73, *d*, 160.3, HC<sup>9</sup> s kros-píkem 7.51, *s*, HC<sup>11,15</sup> (sl. int.); 24.48 / 1.73, *d*, 160.1, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> / 1.56, *d*, 159.6, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> s kros-píky 3.66, *s*, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 3.55, *s*, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 0.93, *d*, 7.4, HC<sup>22</sup> (s. int.); 21.93 / 1.52, *d*, 192.8, HC<sup>17,18</sup> s kros-píkem 4.61, *d*, 10.0, HC<sup>16</sup> (s. int.); 21.90 / 1.52, *d*, 191.8, HC<sup>17,18</sup> s kros-píkem 4.61, *d*, 10.1, HC<sup>16</sup> (s. int.); 10.58 / 0.93, *d*, 126.7, HC<sup>22</sup> s kros-píky 3.95, *d*, 18.2, HC<sup>19</sup> (stř. int.), 1.73, *d*, 49.8, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.56, *d*, 48.4, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.). Podle analýzy, se dá konstatovat, že uhlíky CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> skupin jsou,  $\delta_{13C}$ : 10.58 (HC<sup>22</sup>); 21.90, 21.93 (HC<sup>17,18</sup>); 24.48 (HC<sup>21</sup>); 42.84 (HC<sup>9</sup>); 46.38 (HC<sup>16</sup>); 54.87 (HC<sup>19</sup>); 64.07 (HC<sup>20</sup>); 130.04 (HC<sup>12,14</sup>); 131.31 (C<sup>11,15</sup>) a 135.40 (HC<sup>8</sup>).

V {<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N}-gHMBC, ( $J = 32$  Hz) spektru 8 (obrázek 57, příloha) jsou signály s  $\delta_{1H}$  /  $\delta_{15N}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 7.80 / 85.18, *d*, 81.0, HN<sup>6</sup> bez kros-píků; 5.87 / 93.09, *dd*, 88.2, 13.7, HN<sup>2</sup> s kros-píky  $\delta_{1H}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 3.66, *dd*, 16.8, 8.9, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.); 3.55, *d*, 6.9, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.); 1.73, *s*, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.); 1.56, *qui*, 8.6, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (s. int.). Dál, směrem do silných polí jsou signály: 7.80 / 173.32, *d*, 9.4, HC<sup>8</sup> s kros-píky,  $\delta_{1H}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 4.61, *t*, 6.8, HC<sup>16</sup> (s. int.); 1.52, *d*, 9.7, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 7.80 / 179.73, *s*, HC<sup>8</sup> bez kros-píků; 7.80/191.23, *s*, HN<sup>6</sup> bez kros-píků; 7.80 / 239.27, *d*, 10.9, HC<sup>8</sup> bez dalších kros-píků, také. Dusíkové signály se dá přiřadit,  $\delta_{15N}$  (ppm): 85.18 (N<sup>6</sup>), 93.09 (N<sup>2</sup>), 173.32 (N<sup>9</sup>), 179.73 (N<sup>3</sup>), 191.23 (N<sup>1</sup>) a 239.27 (N<sup>7</sup>).

### 8.1.9. Interpretace <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C a <sup>15</sup>N signálů [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(6-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu.

V <sup>1</sup>H-spektru [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(6-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu (9, obrázek 58, příloha) jsou 18 signálů, odpovídajících vodíkům zkoumané látky,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 8.28, 1H, *bs*; 7.82, 1H, *s*; 7.60, 1H, *br*; 6.93, 1H, *dd*, 7.7, 1.0; 6.86,



1H, *dd*, 8.3, 1.4; 6.71, 1H, *t*, 8.2; 6.15, 1H, *d*, 7.7; 4.82, 2H, *bs*; 4.75, 2H, *br*; 4.63, 1H, *sep*, 6.8; 3.81, 3H, *s*, HC<sup>12</sup> (předpoklad); 3.63, 1H, *qd*, 9.7, 4.5; 2.65, 1H, *td*, 9.9, 3.5; 2.14, 1H, *dd*, 11.5, 3.1; 1.94, 1H, *dt*, 9.0, 4.5; 1.67, 2H, *d*, 9.0; 1.52, 6H, *d*, 6.8, HC<sup>17,18</sup> (předpoklad); 1.26, 4H, *mm*. Předpokládáme, že signály,  $\delta$ : 8.28, 1H, *bs* a 7.60, 1H, *br* patří vodíkům HO<sup>11'</sup> a HN<sup>6</sup> (jsou široké, jsou odstíněné a jsou charakteristické pro hydroxy- a iminoskupiny takového typu)<sup>[59]</sup>. Signály 6.93, 1H, *dd*, 7.7, 1.0; 6.86, 1H, *dd*, 8.3, 1.4 a 6.71, 1H, *t*, 8.2 patří vodíkům benzylového cyklu HC<sup>15</sup>, HC<sup>13</sup> a HC<sup>14</sup> nebo naopak (v jiném pořadí): HC<sup>13</sup>, HC<sup>15</sup> a HC<sup>14</sup>. Z ostatních signálů se da uvest jenom: 6.15, 1H, *d*, 7.7; 4.75, 2H, *br*; 4.63, 1H, *sep*, 6.8 a 3.81, 3H, *s*, že podle předpokladu a ve srovnání s předchozími deriváty, patří: HN<sup>2</sup>, HC<sup>9</sup>, HC<sup>16</sup> a HC<sup>12'</sup>. V COSY ( $\Theta = 90^\circ$ ) spektru 9 (obrázek 59, příloha) jsou signály krosipíků,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 7.82<sup>(s, HC8)</sup> / 4.63<sup>(t,6.8, HC16)</sup> (sl.int.); 7.60<sup>(s, HN6)</sup> / 4.75<sup>(s, HC9)</sup> (sl.int.); 6.93<sup>(d, 7.7)</sup> / 6.86<sup>(d, 8.3)</sup> (stř. int.), 6.93<sup>(d, 7.7)</sup> / 6.71<sup>(t, 8.2)</sup> (s. int.) a také 6.93<sup>(s)</sup> / 4.75<sup>(s)</sup> (sl. int.); 6.86<sup>(d, 8.3)</sup> / 6.71<sup>(t, 8.2)</sup> (s. int.) a také 6.86<sup>(d, 8.3)</sup> / 6.93<sup>(d, 7.7)</sup> (stř. int.); 6.71<sup>(t, 8.2)</sup> / 6.93<sup>(d, 7.7)</sup> (s. int.) a 6.71<sup>(t, 8.2)</sup> / 6.86<sup>(d, 8.3)</sup> (s. int.), což prokazuje přiřazení signálů benzylového cyklu následujícím způsobem,  $\delta$  (ppm): 6.93, HC<sup>15</sup>; 6.86, HC<sup>13</sup> a 6.71, HC<sup>14</sup>. Dále, směrem do silných poli jsou krosipíky,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 6.15<sup>(d, 7.7, HN2)</sup> / 3.63<sup>(d, 9.7, HC19)</sup> (sl. int.); 4.82<sup>(s, HN20')</sup> / 2.65<sup>(t, 9.9, HC20)</sup> (sl. int.); 4.75<sup>(s, HC9)</sup> / 7.60<sup>(s, HN6)</sup> (sl. int.) a 4.75<sup>(s, HC9)</sup> / 6.93<sup>(d, 7.7, HC15)</sup> (sl. int.); 4.63<sup>(t, 6.8, HC16)</sup> / 7.82<sup>(s, HC8)</sup> (sl. int.) a 4.63<sup>(t, 6.8, HC16)</sup> / 1.52<sup>(d, 6.8, HC17,18)</sup> (s. int.); dále: 3.63<sup>(d, 9.7, HC19)</sup> / 6.15<sup>(d, 7.7, HN2)</sup> (sl. int.), 3.63<sup>(d, 9.7, HC19)</sup> / 2.65<sup>(t, 9.9, HC20)</sup> (s. int.), 3.63<sup>(d, 9.7, HC19)</sup> / 1.94<sup>(d, 9.0, HbC24)</sup> / 1.26<sup>(s, HaC24)</sup> (oba dva jsou - s. int.), 3.63<sup>(d, 9.7, HC19)</sup> / 2.14<sup>(d, 11.5, HbC21)</sup> / 1.26<sup>(s, HaC21)</sup> (oba dva jsou - stř. int.), 3.63<sup>(d, 9.7, HC19)</sup> / 1.67<sup>(d, 9.0, HbC22)</sup> / 1.26<sup>(s, HaC22)</sup> (oba dva jsou - sl. int.). Dal, následují signály krosipíků: 2.65<sup>(t, 9.9, HC20)</sup> / 4.82<sup>(s, HN20')</sup> (sl. int.), 2.65<sup>(t, 9.9, HC20)</sup> / 3.63<sup>(d, 9.7, HC19)</sup> / 2.14<sup>(d, HbC21)</sup> / 1.26<sup>(s, HaC21)</sup> (všechny jsou - s. int.), 2.65<sup>(t, 9.9, HC20)</sup> / 1.67<sup>(d, 9.0, HbC22)</sup> / 1.26<sup>(s, HaC22)</sup> / 1.94<sup>(d, 9.0, HbC24)</sup> / 1.26<sup>(s, HaC24)</sup> (všechny jsou - stř. int.) a 2.65<sup>(t, 9.9, HC20)</sup> / 1.67<sup>(d, 9.0, HbC23)</sup> / 1.26<sup>(s, HaC23)</sup> (oba dva jsou - sl. int.). Signal s  $\delta = 2.14$  ppm (H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>) má odpovídající krosipíky: 2.14<sup>(d, 11.5, HbC21)</sup> / 1.26<sup>(s, HaC21)</sup> / 2.65<sup>(t, 9.9, HC20)</sup> / 1.67<sup>(d, 9.0, HbC22)</sup> / 1.26<sup>(s, HaC22)</sup> (s. int.), 2.14<sup>(d, 11.5, HbC21)</sup> / 3.63<sup>(d, 9.7, HC19)</sup> / 1.67<sup>(d, 9.0, HbC23)</sup> / 1.26<sup>(s, HaC23)</sup> (stř. int.) a 2.14<sup>(d, 11.5, HbC21)</sup> / 1.94<sup>(d, 9.0, HbC24)</sup> / 1.26<sup>(s, HaC24)</sup> (sl. int.). Stejně, jako signal  $\delta = 2.14$  ppm (H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>) a i signal s  $\delta = 1.26$  ppm (H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>) má stejné odpovídající krosipíky se stejnou intenzitou s protony cyklohexylového cyklu. Samozřejmě, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (1.26) a H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (2.14 ppm) mají společný krosipík s. int. Signal s  $\delta = 1.94$  ppm (H<sub>b</sub>C<sup>24</sup>) má odpovídající krosipíky: 1.94<sup>(d, 9.0, HbC24)</sup> / 1.26<sup>(s, HaC24)</sup> / 3.63<sup>(d, 9.7, HC19)</sup> / 1.67<sup>(d, 9.0, HbC23)</sup> / 1.26<sup>(s, HaC23)</sup> (s. int.), 1.94<sup>(d, 9.0, HbC24)</sup> / 2.65<sup>(t, 9.9, HC20)</sup> / 1.67<sup>(d, 9.0, HbC22)</sup> / 1.26<sup>(s, HaC22)</sup> (stř. int.) a 1.94<sup>(d, 9.0, HbC24)</sup> / 2.14<sup>(d, 11.5, HbC21)</sup> / 1.26<sup>(s, HaC21)</sup> (sl. int.). Signal  $\delta = 1.26$  ppm (H<sub>a</sub>C<sup>24</sup>) stejně, jako signal  $\delta = 1.94$  ppm (H<sub>b</sub>C<sup>24</sup>) má stejné odpovídající krosipíky se stejnou intenzitou s protony cyklohexylového cyklu. No a H<sub>a</sub>C<sup>24</sup> (1.26) a H<sub>b</sub>C<sup>24</sup> (1.94 ppm) mají společný krosipík s. int. Analogickým způsobem byly přiřazené signály HC<sup>22</sup> a HC<sup>23</sup> cyklohexylového cyklu. No a nakonec, stejně jako u předchozích derivátů, signál 1.52<sup>(d, 6.8, HC17,18)</sup> má krosipík se signálem 4.63<sup>(t, 6.8, HC16)</sup>. Takže, interpretace (přiřazení) vodíkových signálů,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz) 9: 1.26, 4H, *mm*, H<sub>a</sub>C<sup>21-24</sup>; 1.52, 6H, *d*, 6.8, HC<sup>17,18</sup>; 1.67, 2H, *d*, 9.0, H<sub>b</sub>C<sup>22,23</sup>; 1.94, 1H, *dt*, 9.0, 4.5, H<sub>b</sub>C<sup>24</sup>; 2.14, 1H, *dd*, 11.5, 3.1, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 2.65, 1H, *td*, 9.9, 3.5, HC<sup>20</sup>; 3.63, 1H, *qd*, 9.7, 4.5, HC<sup>19</sup>; 3.81, 3H, *s*, HC<sup>12'</sup>; 4.63, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 4.75, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.82, 2H, *bs*, HN<sup>20'</sup>; 6.15, 1H, *d*, 7.7, HN<sup>2</sup>; 6.71, 1H, *t*, 8.2, HC<sup>14</sup>; 6.86, 1H, *dd*, 8.3, 1.4, HC<sup>13</sup>; 6.93, 1H, *dd*, 7.7, 1.0, HC<sup>15</sup>; 7.60, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 7.82, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 8.28, 1H, *bs*, HO<sup>11'</sup>.

V  $\{^1\text{H}\}^{13}\text{C}$ -spektru 9 (obrázek 60, příloha) jsou 21 uhlíkových signálů, odpovídajících zkoumanému vzorku,  $\delta$  (ppm): 21.94, 25.37, 25.48, 32.46, 35.21, 39.38, 46.40, 55.03, 55.80, 58.18, 111.00, 114.36, 118.70, 121.48, 127.28, 135.49, 145.21, 148.39, 151.22, 155.04 a 159.85. Dá se předpokládat ( $>\delta$ ): C2, C6, C4, C12, C11, C8, C10, C15, C14, C5, C13, C19, C12', C20, C16, C9, C24, C21, C23, C22, C17,18. V  $^{13}\text{C}$  (APT) spektru 9 (obrázek 61, příloha) jsou signály,  $\delta$  (ppm): 159.85, 155.04, 151.22, 148.39, 145.21, 127.28, 114.36, 39.38, 35.21, 32.46, 25.48 a 25.37 - v pozitivním modu (7 signálů - odpovídajících kvartérním uhlíkům a 5 signálů - uhlíkům skupin  $\text{CH}_2$ ). Signály v negativním modu,  $\delta$  (ppm) jsou: 135.49, 121.48, 118.70, 111.00, 58.18, 55.80, 55.03, 46.40 a 21.94 (9 signálů - patří skupinám CH a  $\text{CH}_3$ ). V  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMOC spektru 9 (obrázek 62, příloha) jsou 14 signálů krosníků s  $\delta_{1\text{H}}$  (J) /  $\delta_{13\text{C}}$  (ppm), které po přiřazení vodíkových signálů pomocí 2D  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gCOSY dá se identifikovat: 7.82 / 135.49 ( $\text{HC}^8$ ); 6.93 (7.7) / 121.48 ( $\text{HC}^{15}$ ); 6.86 (8.3) / 111.00 ( $\text{HC}^{13}$ ); 6.71 (8.2) / 118.70 ( $\text{HC}^{14}$ ); 4.75 / 39.38 ( $\text{HC}^9$ ); 4.63 (6.8) / 46.40 ( $\text{HC}^{16}$ ); 3.81 / 55.80 ( $\text{HC}^{12}$ ); 3.63 (9.7) / 58.18 ( $\text{HC}^{19}$ ); 2.65 (9.9) / 55.03 ( $\text{HC}^{20}$ ); 2.14 (11.5) / 32.43 ( $\text{H}_b\text{C}^{21}$ ); 1.94 (9.0) / 35.21 ( $\text{H}_b\text{C}^{24}$ ); 1.67 (9.0) / 25.37 ( $\text{H}_b\text{C}^{22}$ ); 1.67 (9.0) / 25.48 ( $\text{H}_b\text{C}^{23}$ ); 1.52 (6.8) / 21.94 ( $\text{HC}^{17,18}$ ); 1.26 / 32.43 ( $\text{H}_a\text{C}^{21}$ ); 1.26 / 25.37 ( $\text{H}_a\text{C}^{22}$ ); 1.26 / 25.48 ( $\text{H}_a\text{C}^{23}$ ) a 1.26 / 35.21 ( $\text{H}_a\text{C}^{24}$ ). V  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMBC spektru 9 (obrázek 63, příloha) jsou signály  $\delta_{13\text{C}}$  (ppm) = 159.85 s krosníky,  $\delta_{1\text{H}}$  (ppm.),  $J$  (Hz): 6.15, s,  $\text{HN}^2$  (stř. int.) a 3.63, d, 9.7,  $\text{HC}^{19}$  (stř. int.);  $\delta_{13\text{C}}$  = 155.04 s krosníky,  $\delta_{1\text{H}}$ : 6.93, s,  $\text{HC}^{15}$  (sl. int.) a 4.75, s,  $\text{HC}^9$  (sl. int.);  $\delta_{13\text{C}}$  = 151.22 s krosníky,  $\delta_{1\text{H}}$ : 7.82, s,  $\text{HC}^8$  (stř. int.) a 4.63, t, 6.8,  $\text{HC}^{16}$  (s. int.);  $\delta_{13\text{C}}$  = 148.38 s krosníky,  $\delta_{1\text{H}}$ ,  $J$ : 6.93, d, 7.7,  $\text{HC}^{15}$  (sl. int.), 6.86, d, 8.3,  $\text{HC}^{13}$  (s. int.), 6.71, d, 8.2,  $\text{HC}^{14}$  (stř. int.) a 3.81, s,  $\text{HC}^{12}$  (stř. int.);  $\delta_{13\text{C}}$  = 145.21 s krosníky,  $\delta_{1\text{H}}$ ,  $J$ : 6.93, d, 7.7,  $\text{HC}^{15}$  (sl. int.), 6.86, d, 8.3,  $\text{HC}^{13}$  (stř. int.), 6.71, d, 8.2,  $\text{HC}^{14}$  (sl. int.) a 4.75, s,  $\text{HC}^9$  (sl. int.);  $\delta_{13\text{C}}$  = 127.28 s krosníky,  $\delta_{1\text{H}}$ ,  $J$ : 6.93, d, 7.7,  $\text{HC}^{15}$  (s. int.), 6.86, d, 8.3,  $\text{HC}^{13}$  (sl. int.), 6.71, d, 8.2,  $\text{HC}^{14}$  (stř. int.) a 4.75, s,  $\text{HC}^9$  (sl. int.) a  $\delta_{13\text{C}}$  = 114.36 s krosníkem,  $\delta_{1\text{H}}$ : 7.82, s,  $\text{HC}^8$  (stř. int.). Po analýze, dá se konstatovat, že kvartérními uhlíky,  $\delta_{13\text{C}}$  jsou: 114.36 ( $\text{C}^5$ ), 125.87 ( $\text{C}^{10}$ ), 145.21 ( $\text{C}^{11}$ ), 148.39 ( $\text{C}^{12}$ ), 151.22 ( $\text{C}^4$ ), 155.04 ( $\text{C}^6$ ) a 159.85 ( $\text{C}^2$ ). Dál, jsou signály s  $\delta_{13\text{C}}$  /  $\delta_{1\text{H}}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 135.49 / 7.82, d, 201.7,  $\text{HC}^8$  s krosníky s  $\delta_{1\text{H}}$  (ppm): 4.63, d, 6.8,  $\text{HC}^{16}$  (s. int.) a 1.52, d, 6.8,  $\text{HC}^{17,18}$  (stř. int.); 121.48 / 6.93, d, 155.0,  $\text{HC}^{15}$  s krosníky 6.86, d, 8.3,  $\text{HC}^{13}$  (stř. int.), 6.71, d, 8.2,  $\text{HC}^{14}$  (s. int.) a 4.75, s,  $\text{HC}^9$  (sl. int.); 118.70 / 6.71, d, 151.8,  $\text{HC}^{14}$  s krosníky 6.93, d, 7.7,  $\text{HC}^{15}$  (s. int.) a 6.86, d, 8.3,  $\text{HC}^{13}$  (s. int.); 111.00 / 6.86, d, 158.2,  $\text{HC}^{13}$  s krosníky 6.93, d, 7.7,  $\text{HC}^{15}$  (stř. int.), 6.71, t, 8.2,  $\text{HC}^{14}$  (s. int.) a 3.81, s,  $\text{HC}^{12}$  (sl. int.); 58.18 / 3.63, d, 148.8,  $\text{HC}^{19}$  s krosníky 6.15, s,  $\text{HN}^2$  (stř. int.), 2.65, t, 10.0,  $\text{HC}^{20}$  (s. int.), 2.14, d, 11.5,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$  (stř. int.), 1.94, d, 9.0,  $\text{H}_b\text{C}^{24}$  (s. int.), 1.67, d, 9.0,  $\text{H}_b\text{C}^{22,23}$  (stř. int.) a 1.26, s,  $\text{H}_a\text{C}^{21-24}$  (stř. int.); 55.80 / 3.81, d, 160.9,  $\text{HC}^{12}$  s krosníkem 6.86, d, 8.3,  $\text{HC}^{13}$  (sl. int.); 55.03 / 2.65, d, 146.0,  $\text{HC}^{20}$  s krosníky 3.69, d, 10.0,  $\text{HC}^{19}$  (s. int.), 2.14, d, 12.0,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$  (s. int.), 1.94, d, 9.0,  $\text{H}_b\text{C}^{24}$  (stř. int.), 1.67, d, 9.0,  $\text{H}_b\text{C}^{22,23}$  (sl. int.) a 1.26, s,  $\text{H}_a\text{C}^{21-24}$  (stř. int.); 46.40 / 4.63, d, 192.8,  $\text{HC}^{16}$  s krosníky 7.82, s,  $\text{HC}^8$  (sl. int.), 1.52, d, 7.0,  $\text{HC}^{17,18}$ ; 39.38 / 4.75, d, 134.0,  $\text{HC}^9$  s krosníky 6.93, d, 8.0,  $\text{HC}^{15}$  (stř. int.) a 6.71, d, 9.0,  $\text{HC}^{14}$  (sl. int.); 35.21 / 1.94, d, 182.8,  $\text{H}_b\text{C}^{24}$  / 1.26, d, 180.0,  $\text{H}_a\text{C}^{24}$  s krosníky 3.63, d, 9.7,  $\text{HC}^{19}$  (s. int.), 2.65, d, 10.0,  $\text{HC}^{20}$  (sl. int.), 2.14, d, 12.0,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$  (sl. int.), 1.67, d, 9.0,  $\text{H}_b\text{C}^{22,23}$  (s. int.) a 1.26, s,  $\text{H}_a\text{C}^{21-23}$  (stř. int.); 32.46 / 2.14, d, 186.3,  $\text{H}_b\text{C}^{21}$  / 1.26, d, 180.0,  $\text{H}_a\text{C}^{21}$  s krosníky 3.63, d, 10.0,  $\text{HC}^{19}$  (stř. int.), 2.65, d, 10.0,  $\text{HC}^{20}$  (s. int.), 1.94, d, 9.5,  $\text{H}_b\text{C}^{24}$  (sl. int.), 1.67, d, 9.0,  $\text{H}_b\text{C}^{22,23}$  (s. int.) a 1.26, s,  $\text{H}_a\text{C}^{22-24}$  (stř. int.); 25.48 / 1.67, d, 125.0,  $\text{H}_b\text{C}^{23}$  / 1.26, d, 120.0,  $\text{H}_a\text{C}^{23}$  s krosníky 3.63, d, 10.0,  $\text{HC}^{19}$  (stř. int.),

2.65, *d*, 10.8, HC<sup>20</sup> (sl. int), 2.14, *d*, 12.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (stř. int.), 1.94, *d*, 9.0, H<sub>b</sub>C<sup>24</sup> (s. int.), 1.67, *J* - není identifikovatelná, H<sub>b</sub>C<sup>22</sup>, 1.26, *J* - nejsou identifikovatelné, H<sub>a</sub>C<sup>21,22,24</sup>; 25.37 / 1.67, *d*, 128.0, H<sub>b</sub>C<sup>22</sup> / 1.26, *d*, 125.0, H<sub>a</sub>C<sup>22</sup> s krosníky 3.63, *d*, 10.0, HC<sup>19</sup> (sl. int.), 2.65, *d*, 10.0, HC<sup>20</sup> (stř. int.), 2.14, *d*, 11.5, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.94, *d*, 9.0, H<sub>b</sub>C<sup>24</sup> (stř. int.), 1.67, *d*, 9.0, H<sub>b</sub>C<sup>23</sup> (s. int.) a 1.26, *J* - nejsou identifikovatelné, H<sub>a</sub>C<sup>21,23,24</sup>; 21.94 / 1.52, *d*, 192.8, HC<sup>17,18</sup> s krosníky 7.82, *s*, HC<sup>8</sup> (sl. int.) a 4.63, *d*, 7.0, HC<sup>16</sup> (s. int.). Podle analýzy, se dá konstatovat že uhlíky CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> skupin jsou,  $\delta_{13C}$ : 21.94 (HC<sup>17,18</sup>); 25.37 (HC<sup>22</sup>), 25.48 (HC<sup>23</sup>); 32.46 (HC<sup>21</sup>); 35.21 (HC<sup>24</sup>); 39.38 (HC<sup>9</sup>); 46.40 (HC<sup>16</sup>); 55.03 (HC<sup>20</sup>); 55.80 (HC<sup>12'</sup>); 58.18 (HC<sup>19</sup>); 111.00 (HC<sup>13</sup>); 118.70 (C<sup>14</sup>); 121.48 (HC<sup>15</sup>) a 135.49 (HC<sup>8</sup>).

V {<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N}-*gHMBC*, (*J* = 32 Hz) spektru 9 (obrázek 64, příloha) jsou signály s  $\delta_{1H}$  /  $\delta_{15N}$  (ppm) a *J* (Hz): 7.60 / 85.52, *d*, 82.3, HN<sup>6</sup> bez krosníků; 6.15 / 97.54, *dd*, 88.0, 12.6, HN<sup>2</sup> bez krosníků; 7.82 / 173.61, *d*, 7.2, HC<sup>8</sup> s krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm) a *J* (Hz): 4.63, *t*, 6.2, HC<sup>16</sup> (s. int.) a 1.53 *d*, 9.2, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 6.15 / 179.07, *t*, 6.3, HN<sup>2</sup> bez krosníků; 7.60 / 188.17, *s*, HN<sup>6</sup> (sl. int.) bez krosníků; 7.82 / 238.23, *d*, 10.0, HC<sup>8</sup> bez dalších krosníků, také. Dusíkové signály se dá přiřadit,  $\delta_{15N}$  (ppm): 85.52 (N<sup>6</sup>), 97.54 (N<sup>2</sup>), 173.61 (N<sup>9</sup>), 179.07 (N<sup>3</sup>), 188.17 (N<sup>1</sup>); není pozorován (N<sup>20</sup>) a 238.23 (N<sup>7</sup>).

### 8.1.10. Interpretace <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C a <sup>15</sup>N signálů [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(4-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu.

V <sup>1</sup>H-spektru [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(4-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu (10, obrázek 65, příloha) jsou 18 signálů, odpovídajících vodíkům zkoumané látky,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 8.30, 1H, *bs*; 7.81, 1H, *s*; 7.43, 1H, *br*; 6.92, 1H, *d*, 7.7; 6.87, 1H, *dd*, 8.3, 1.4; 6.72, 1H, *t*, 8.2; 5.97, 1H, *d*, 7.7; 4.80, 2H, *br*; 4.73, 2H, *br*; 4.64, 1H, *sep*, 6.8; 3.82, 3H, *s*, HC<sup>12'</sup> (předpoklad); 3.53, 1H, *m*; 2.65, 1H, *t*, 11.4; 2.03, 2H, *m*; 1.86, 2H, *m*; 1.53, 6H, *d*, 6.8, HC<sup>17,18</sup> (předpoklad); 1.35, 2H, *mm*; 1.24, 2H, *mm*. Předpokládáme, že signály,  $\delta$ : 8.30, 1H, *bs* a 7.43, 1H, *br* patří vodíkům HO<sup>11'</sup> a HN<sup>6</sup> [59]. Signaly 6.92, 1H, *d*, 7.7; 6.87, 1H, *dd*, 8.3, 1.4 a 6.72, 1H, *t*, 8.2 patří vodíkům benzylového cyklu HC<sup>15</sup>, HC<sup>13</sup> a HC<sup>14</sup> (v porovnání s předchozím vzorkem). Z ostatních signálů se dá uvést: 5.97, 1H, *d*, 7.7; 4.80, 2H, *br*; 4.77, 2H, *br*; 4.64, 1H, *sep*, 6.8 a 3.82, 3H, *s*, že podle předpokladu a v porovnání s předchozím derivátem, patří: HN<sup>2</sup>, HC<sup>9</sup>, HN<sup>22'</sup> (nebo: HN<sup>22'</sup>, HC<sup>9</sup>), HC<sup>16</sup> a HC<sup>12'</sup>. V COSY ( $\Theta = 90^\circ$ ) spektru 10 (obrázek 66, příloha) jsou signály krosníků,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 7.81<sup>(s, HC<sup>8</sup>)</sup> / 4.64<sup>(t, 6.8, HC<sup>16</sup>)</sup> (sl.int.); 7.43<sup>(s, HN<sup>6</sup>)</sup> / 4.80<sup>(s, HC<sup>9</sup>)</sup> (sl.int.); 6.92<sup>(d, 7.7)</sup> / 6.87<sup>(d, 8.3)</sup> (stř. int.), 6.92<sup>(d, 7.7)</sup> / 6.72<sup>(t, 8.2)</sup> (s. int.) a také 6.92<sup>(s)</sup> / 4.80<sup>(s)</sup> (sl. int.); 6.87<sup>(d, 8.3)</sup> / 6.72<sup>(t, 8.2)</sup> (s. int.) a také 6.87<sup>(d, 8.3)</sup> / 6.92<sup>(d, 7.7)</sup> (stř. int.); 6.72<sup>(t, 8.2)</sup> / 6.92<sup>(d, 7.7)</sup> (s. int.) a 6.72<sup>(t, 8.2)</sup> / 6.87<sup>(d, 8.3)</sup> (s. int.), což potvrzuje přiřazení signálů benzylového cyklu,  $\delta$  (ppm): 6.92, HC<sup>15</sup>; 6.87, HC<sup>13</sup> a 6.72, HC<sup>14</sup>. Dále, směrem do silných poli jsou krosníky,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 5.97<sup>(d, 7.7, HN<sup>2</sup>)</sup> / 3.53<sup>(d, 9.7, HC<sup>19</sup>)</sup> (sl. int.); 4.73<sup>(s, HN<sup>22'</sup>)</sup> / 2.65<sup>(t, 11.4, HC<sup>22</sup>)</sup> (sl. int.); 4.80<sup>(s, HC<sup>9</sup>)</sup> / 7.43<sup>(s, HN<sup>6</sup>)</sup> (sl. int.) a 4.80<sup>(s, HC<sup>9</sup>)</sup> / 6.92<sup>(d, 7.7, HC<sup>15</sup>)</sup> (sl. int.); 4.64<sup>(t, 6.8, HC<sup>16</sup>)</sup> / 7.81<sup>(s, HC<sup>8</sup>)</sup> (sl. int.) a 4.64<sup>(t, 6.8, HC<sup>16</sup>)</sup> / 1.53<sup>(d, 6.8, HC<sup>17,18</sup>)</sup> (s. int.); dále: 3.53<sup>(d, 9.7, HC<sup>19</sup>)</sup> / 5.97<sup>(d, 7.7, HN<sup>2</sup>)</sup> (sl. int.), 3.53<sup>(d, 9.7, HC<sup>19</sup>)</sup> / 2.03<sup>(t, 10.0, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>)</sup> / 1.35<sup>(t, 10.0, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>)</sup> (s. int.), 3.53<sup>(d, 9.7, HC<sup>19</sup>)</sup> / 2.03<sup>(d, 9.0, H<sub>b</sub>C<sup>24</sup>)</sup> / 1.35<sup>(s, H<sub>a</sub>C<sup>24</sup>)</sup> (s. int.), 3.53<sup>(d, 9.7, HC<sup>19</sup>)</sup> / 1.86<sup>(d, 11.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>)</sup> / 1.24<sup>(s, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>)</sup> (stř. int.), 3.53<sup>(d, 9.7, HC<sup>19</sup>)</sup> / 2.65<sup>(t, 11.4, HC<sup>22</sup>)</sup> (sl. int.). Dal, následují signály krosníků: 2.65<sup>(t, 11.4, HC<sup>22</sup>)</sup> / 4.73<sup>(s, HN<sup>22'</sup>)</sup> (sl. int.), 2.65<sup>(t, 11.4, HC<sup>22</sup>)</sup> / 3.53<sup>(d, 9.7, HC<sup>19</sup>)</sup> (sl. int.) / 2.03<sup>(d, 10.0, H<sub>b</sub>C<sup>20,24</sup>)</sup> / 1.35<sup>(s, H<sub>a</sub>C<sup>20,24</sup>)</sup> (stř. int.), 2.65<sup>(t, 11.4, HC<sup>22</sup>)</sup> / 1.86<sup>(s, H<sub>b</sub>C<sup>21,23</sup>)</sup> / 1.26<sup>(s, H<sub>a</sub>C<sup>21,23</sup>)</sup> (s. int.). Signal

s  $\delta = 2.03$  ppm ( $\text{H}_b\text{C}^{20,24}$ ), stejně, jako signal s  $\delta = 1.35$  ppm ( $\text{H}_a\text{C}^{20,24}$ ) má odpovídající kros-píky:  $3.53^{(d, 9.7, \text{HC}^{19})} / 1.86^{(d, 11.0, \text{H}_b\text{C}^{21,23})} / 1.24^{(s, \text{H}_a\text{C}^{21,23})}$  (s. int.) /  $2.65^{(t, 11.4, \text{HC}^{22})}$  (sl. int.). Signál s  $\delta = 1.86$  ppm ( $\text{H}_b\text{C}^{21,23}$ ), stejně, jako signál s  $\delta = 1.24$  ppm ( $\text{H}_a\text{C}^{21,23}$ ) má odpovídající kros-píky:  $3.53^{(d, 9.7, \text{HC}^{19})}$  (stř. int.) /  $2.03^{(d, 10.0, \text{H}_b\text{C}^{20,24})} / 1.35^{(s, \text{H}_a\text{C}^{20,24})}$  (s. int.) /  $2.65^{(t, 11.4, \text{HC}^{22})}$  (s. int.). Samozřejmě,  $\text{H}_a\text{C}^{21,23}$  (1.24) a  $\text{H}_b\text{C}^{21,23}$  (1.86 ppm) mají společný kros-pík s. int., stejně, jako signály  $\text{H}_a\text{C}^{20,24}$  (1.35) a  $\text{H}_b\text{C}^{20,24}$  (2.03 ppm) mají společný kros-pík s. int. No a nakonec, stejně, jako u předchozích derivátů signál  $1.53^{(d, 6.8, \text{HC}^{17,18})}$  má kros-pík s. int. se signálem  $4.64^{(t, 6.8, \text{HC}^{16})}$ . Takže, interpretace (přřazení) vodíkových signálů,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz) 10: 1.24, 2H, *mm*,  $\text{H}_a\text{C}^{21,23}$ ; 1.35, 2H, *mm*,  $\text{H}_a\text{C}^{20,24}$ ; 1.53, 6H, *d*, 6.8,  $\text{HC}^{17,18}$ ; 1.86, 2H, *mm*,  $\text{H}_b\text{C}^{21,23}$ ; 2.03, 2H, *mm*,  $\text{H}_b\text{C}^{20,24}$ ; 2.65, 1H, *t*, 11.4,  $\text{HC}^{22}$ ; 3.53, 1H, *m*,  $\text{HC}^{19}$ ; 3.82, 3H, *s*,  $\text{HC}^{12'}$ ; 4.64, 1H, *sep*, 6.8,  $\text{HC}^{16}$ ; 4.73, 2H, *br*,  $\text{HN}^{22'}$ ; 4.80, 2H, *br*,  $\text{HC}^9$ ; 5.97, 1H, *d*, 7.7,  $\text{HN}^2$ ; 6.72, 1H, *t*, 8.2,  $\text{HC}^{14}$ ; 6.87, 1H, *dd*, 8.3, 1.4,  $\text{HC}^{13}$ ; 6.92, 1H, *d*, 7.7,  $\text{HC}^{15}$ ; 7.43, 1H, *br*,  $\text{HN}^6$ ; 7.81, 1H, *s*,  $\text{HC}^8$ ; 8.30, 1H, *bs*,  $\text{HO}^{11'}$ .

V  $\{^1\text{H}\}^{13}\text{C}$ -spektru 10 (obrázek 67, příloha) jsou 19 uhlíkových signálů, odpovídajících zkoumanému vzorku,  $\delta$  (ppm): 21.90, 31.87, 35.61, 39.38, 46.46, 47.48, 50.25, 55.80, 111.07, 114.35, 118.75, 121.50, 127.20, 135.55, 145.16, 148.35, 151.38, 155.14 a 158.95. Dá se předpokládat ( $>\delta$ ): C2, C6, C4, C12, C11, C8, C10, C15, C14, C5, C13, C12', C19, C22, C16, C9, C21,23, C20,24, C17,18. V  $^{13}\text{C}$  (APT) spektru 10 (obrázek 68, příloha) jsou signály,  $\delta$  (ppm): 158.95, 155.14, 151.38, 148.35, 145.16, 127.20, 114.35, 39.38, 35.61 a 31.87 - v pozitivním modu (7 signálů - odpovídajících kvartérním uhlíkům a 3 signály - uhlíkům skupin  $\text{CH}_2$ ). Signály v negativním modu,  $\delta$  (ppm) jsou: 135.55, 121.50, 118.75, 111.07, 55.80, 50.25, 47.48, 46.46 a 21.90 (9 signálů - patří skupinám CH a  $\text{CH}_3$ ). V  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMQC* spektru 10 (obrázek 69, příloha) jsou 12 signálů kros-píků s  $\delta_{1\text{H}}$  ( $J$ ) /  $\delta_{13\text{C}}$  (ppm), které po přřazení vodíkových signálů pomocí *2D*  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -*gCOSY* dá se identifikovat: 7.81 / 135.55 ( $\text{HC}^8$ ); 6.92 (7.7) / 121.50 ( $\text{HC}^{15}$ ); 6.87 (8.3) / 111.07 ( $\text{HC}^{13}$ ); 6.72 (8.2) / 118.75 ( $\text{HC}^{14}$ ); 4.80 / 39.38 ( $\text{HC}^9$ ); 4.73 / 46.46 ( $\text{HC}^{16}$ ); 3.82 / 55.80 ( $\text{HC}^{12'}$ ); 3.53 (9.8) / 55.25 ( $\text{HC}^{19}$ ); 2.65 (11.4) / 47.48 ( $\text{HC}^{22}$ ); 2.03 (11.5) / 31.87 ( $\text{H}_b\text{C}^{20,24}$ ); 1.86 (11.5) / 35.61 ( $\text{H}_b\text{C}^{21,23}$ ); 1.53 (6.8) / 21.90 ( $\text{HC}^{17,18}$ ); 1.35 (11.5) / 31.87 ( $\text{H}_a\text{C}^{20,24}$ ); 1.24 (11.5) / 35.61 ( $\text{H}_a\text{C}^{21,23}$ ). V  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMBC* spektru 10 (obrázek 70, příloha) jsou signály  $\delta_{13\text{C}}$  (ppm) = 158.95 s kros-píky,  $\delta_{1\text{H}}$  (ppm.),  $J$  (Hz): 5.97, *s*,  $\text{HN}^2$  (stř. int.) a 3.53, *d*, 9.8,  $\text{HC}^{19}$  (stř. int.);  $\delta_{13\text{C}} = 155.14$  s kros-píky,  $\delta_{1\text{H}}$ : 6.92, *s*,  $\text{HC}^{15}$  (sl. int.) a 4.80, *s*,  $\text{HC}^9$  (sl. int.);  $\delta_{13\text{C}} = 151.38$  s kros-píky,  $\delta_{1\text{H}}$ : 7.81, *s*,  $\text{HC}^8$  (stř. int.) a 4.64, *t*, 6.8,  $\text{HC}^{16}$  (s. int.);  $\delta_{13\text{C}} = 148.35$  s kros-píky,  $\delta_{1\text{H}}$ ,  $J$ : 6.92, *d*, 7.7,  $\text{HC}^{15}$  (sl. int.), 6.87, *d*, 8.3,  $\text{HC}^{13}$  (s. int.), 6.72, *d*, 8.2,  $\text{HC}^{14}$  (stř. int.) a 3.82, *s*,  $\text{HC}^{12'}$  (stř. int.);  $\delta_{13\text{C}} = 145.16$  s kros-píky,  $\delta_{1\text{H}}$ ,  $J$ : 6.92, *d*, 7.7,  $\text{HC}^{15}$  (sl. int.), 6.87, *d*, 8.3,  $\text{HC}^{13}$  (stř. int.), 6.72, *d*, 8.2,  $\text{HC}^{14}$  (sl. int.) a 4.80, *s*,  $\text{HC}^9$  (sl. int.);  $\delta_{13\text{C}} = 127.20$  s kros-píky,  $\delta_{1\text{H}}$ ,  $J$ : 6.92, *d*, 7.7,  $\text{HC}^{15}$  (s. int.), 6.87, *d*, 8.3,  $\text{HC}^{13}$  (sl. int.), 6.72, *d*, 8.2,  $\text{HC}^{14}$  (stř. int.) a 4.80, *s*,  $\text{HC}^9$  (sl. int.) a  $\delta_{13\text{C}} = 114.35$  s kros-píkem,  $\delta_{1\text{H}}$ : 7.81, *s*,  $\text{HC}^8$  (stř. int.). Po analýze, dá se konstatovat, že kvartérními uhlíky,  $\delta_{13\text{C}}$  jsou: 114.35 ( $\text{C}^5$ ), 127.20 ( $\text{C}^{10}$ ), 145.16 ( $\text{C}^{11}$ ), 148.35 ( $\text{C}^{12}$ ), 151.38 ( $\text{C}^4$ ), 155.14 ( $\text{C}^6$ ) a 158.95 ( $\text{C}^2$ ). Dál, jsou signály s  $\delta_{13\text{C}} / \delta_{1\text{H}}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 135.55 / 7.81, *d*, 201.2,  $\text{HC}^8$  s kros-píky s  $\delta_{1\text{H}}$  (ppm): 4.64, *d*, 6.8,  $\text{HC}^{16}$  (s. int.) a 1.53, *d*, 6.8,  $\text{HC}^{17,18}$  (stř. int.); 121.50 / 6.92, *d*, 155.1,  $\text{HC}^{15}$  s kros-píky 6.87, *d*, 8.3,  $\text{HC}^{13}$  (stř. int.), 6.72, *d*, 8.2,  $\text{HC}^{14}$  (s. int.) a 4.80, *s*,  $\text{HC}^9$  (sl. int.); 118.75 / 6.72, *d*, 151.8,  $\text{HC}^{14}$  s kros-píky 6.92, *d*, 7.7,  $\text{HC}^{15}$  (s. int.) a 6.87, *d*, 8.3,  $\text{HC}^{13}$  (s. int.); 111.07 / 6.87, *d*, 158.1,  $\text{HC}^{13}$  s kros-píky 6.92, *d*, 7.7,  $\text{HC}^{15}$  (stř. int.), 6.72, *t*, 8.2,  $\text{HC}^{14}$  (s. int.) a 3.82, *s*,  $\text{HC}^{12'}$  (sl. int.); 55.80 / 3.82, *d*, 170.0,

HC<sup>12'</sup> s krosplikem 6.87, *d*, 8.3, HC<sup>13</sup> (sl. int.); 50.25 / 3.53, *d*, 148.6, HC<sup>19</sup> s krospliky 5.97, *s*, HN<sup>2</sup> (stř. int.), 2.65, *t*, 11.4, HC<sup>22</sup> (sl. int.), 2.03, *d*, 10.0, H<sub>b</sub>C<sup>20,24</sup> (s. int.), 1.86, *d*, 9.8, H<sub>b</sub>C<sup>21,23</sup> (stř. int.), 1.35, *d*, 10.0, H<sub>a</sub>C<sup>20,24</sup>, (s. int.) a 1.24, *d*, 9.8, H<sub>b</sub>C<sup>21,23</sup> (stř. int.); 47.48 / 2.65, *d*, 183.0, HC<sup>22</sup> s krospliky 4.78, *s*, HN<sup>22'</sup> (sl. int.), 3.53, *d*, 10.0, (sl. int.), 2.03, *d*, 10.0, H<sub>b</sub>C<sup>20,24</sup> (stř. int.), 1.86, *d*, 9.8, H<sub>b</sub>C<sup>21,23</sup> (s. int.), 1.35, *d*, 10.0, H<sub>a</sub>C<sup>20,24</sup> (stř. int.), 1.24, *d*, 9.8, H<sub>a</sub>C<sup>21,23</sup> (s. int.); 46.46 / 4.64, *d*, 192.9, HC<sup>16</sup> a s krospliky 7.81, *s*, HC<sup>8</sup> (sl. int.) a 1.53, *d*, 6.8, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 39.38 / 4.80, *d*, 134.2, HC<sup>9</sup> s krospliky 6.92, *d*, 7.7, HC<sup>15</sup> (stř. int.) a 6.72, *d*, 8.2, HC<sup>14</sup> (sl. int.); 35.61 / 1.86, *d*, 182.3, H<sub>b</sub>C<sup>21,23</sup> / 1.24, *d*, 181.0, H<sub>a</sub>C<sup>21,23</sup> s krospliky 3.53, *d*, 10.0, HC<sup>19</sup> (stř. int.), 2.65, *d*, 11.4, HC<sup>22</sup> (s. int.), 2.03, *d*, 10.0, H<sub>b</sub>C<sup>20,24</sup> (s. int.) a 1.35, *d*, 10.0, H<sub>a</sub>C<sup>20,24</sup> (s. int.); 31.87 / 2.03, *d*, 186.5, H<sub>b</sub>C<sup>20,24</sup> / 1.35, *d*, 180.2, H<sub>a</sub>C<sup>20,24</sup> s krospliky 3.63, *d*, 10.0, HC<sup>19</sup> (s. int.), 2.65, *d*, 11.4, HC<sup>22</sup> (stř. int.), 1.86, *d*, 9.8, H<sub>b</sub>C<sup>21,23</sup> (s. int.) a 1.24, *d*, 9.8, H<sub>a</sub>C<sup>21,23</sup> (s. int.); 21.90 / 1.53, *d*, 192.8, HC<sup>17,18</sup> s krospliky 7.82, *s*, HC<sup>8</sup> (sl. int.) a 4.64, *d*, 6.8, HC<sup>16</sup> (s. int.). Podle analýzy, se dá konstatovat, že uhlíky CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> skupin jsou,  $\delta_{13C}$ : 21.90 (HC<sup>17,18</sup>); 31.87 (HC<sup>20,24</sup>), 35.61 (HC<sup>21,23</sup>); 39.38 (HC<sup>9</sup>); 46.46 (HC<sup>16</sup>); 47.48 (HC<sup>22</sup>); 50.25 (HC<sup>19</sup>); 55.80 (HC<sup>12</sup>); 111.07 (HC<sup>13</sup>); 118.75 (C<sup>14</sup>); 121.50 (HC<sup>15</sup>) a 135.55 (HC<sup>8</sup>).

V {<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N}-*gHMBC*, (*J* = 32 Hz) spektru 10 (obrázek 71, příloha) jsou signály s  $\delta_{1H}$  /  $\delta_{15N}$  (ppm) a *J* (Hz): 7.43 / 90.55, *d*, 89.6, HN<sup>6</sup> (sl. int.) bez krospliků; 5.97 / 100.31, *dd*, 87.2, 10.6, HN<sup>2</sup> bez krospliků; 7.81 / 173.86, *s*, HC<sup>8</sup> s krosplikem,  $\delta_{1H}$  (ppm) a *J* (Hz): 1.53 *d*, 6.7, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 5.97 / 176.93, *s*, HN<sup>2</sup> (sl. int.) bez dalších krospliků; 7.43 / 187.36, *s*, HN<sup>6</sup> (sl. int.) bez dalších krospliků a 7.81 / 239.40, *d*, 8.5, HC<sup>8</sup> bez dalších krospliků. Dusíkové signály se dá přiřadit,  $\delta_{15N}$  (ppm): 90.55 (N<sup>6</sup>), 100.31 (N<sup>2</sup>), 173.86 (N<sup>9</sup>), 176.93 (N<sup>3</sup>), 187.36 (N<sup>1</sup>), 239.40 (N<sup>7</sup>), není pozorován N<sup>22</sup>.

### 8.1.11. Interpretace <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C a <sup>15</sup>N signálů [N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-(1,3-propylendiamin)-9-(isopropyl)]purinu.

V <sup>1</sup>H-spektru [N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-(1,3-propylendiamin)-9-(isopropyl)]purinu (11, obrázek 72, příloha) jsou 15 signálů, odpovídajících vodíkům zkoumané látky,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 9.30, 1H, *br*; 7.83, 1H, *s*; 7.71, 1H, *br*; 7.31, 1H, *dd*, 7.6, 1.3; 7.10, 1H, *td*, 7.8, 1.3; 6.88, 1H, *dd*, 8.1, 1.2; 6.75, 1H, *td*, 7.4, 1.1; 6.44, 1H, *t*, 7.1; 5.73, 2H, *br*; 4.71, 2H, *d*, 5.5; 4.64, 1H, *sep*, 6.8; 3.50, 2H, *sep*, 5.9; 2.79, 2H, *t*, 6.0; 1.77, 2H, *qui*, 6.6; 1.53, 6H, *d*, 6.9. Předpokládáme, že signály,  $\delta$ : 9.30, 1H, *br* a 7.71, 1H, *br* patří vodíkům HO<sup>11'</sup> a HN<sup>6</sup> [1]. Signály 7.31, 1H, *dd*, 7.6, 1.3; 7.10, 1H, *td*, 7.8, 1.3; 6.88, 1H, *dd*, 8.1, 1.2 a 6.75, 1H, *td*, 7.4, 1.1 patří vodíkům benzylového cyklu HC<sup>15</sup>, HC<sup>13</sup>, HC<sup>12</sup> a HC<sup>14</sup> nebo HC<sup>12</sup>, HC<sup>14</sup>, HC<sup>15</sup> a HC<sup>13</sup>. Z ostatních signálů se dá uvést: 4.64, 1H, *sep*, 6.8 a 1.53, 6H, *s*, že podle předpokladu a v porovnání s předchozími deriváty, patří: HC<sup>16</sup> a HC<sup>17,18</sup>. V COSY ( $\Theta = 90^\circ$ ) spektru 11 (obrázek 73, příloha) jsou signály krospliků,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 7.81<sup>(s, HC8)</sup> / 4.64<sup>(t,6.8, HC16)</sup> (sl.int.); 7.71<sup>(s, HN6)</sup> / 4.71<sup>(d,5.5, HC9)</sup> (sl.int.); 7.31<sup>(d,7.6)</sup> / 7.10<sup>(t,7.8)</sup> (stř. int.), 7.31<sup>(d,7.6)</sup> / 6.88<sup>(t,8.2)</sup> (sl. int.) 7.31<sup>(d,7.6)</sup> / 6.75<sup>(t,7.4)</sup> (s. int.) a také 7.31<sup>(d,7.6)</sup> / 4.71<sup>(d,5.5)</sup> (sl. int.); 7.10<sup>(t,7.8)</sup> / 7.31<sup>(d,7.6)</sup> (stř. int.), 7.10<sup>(t,7.8)</sup> / 6.88<sup>(d,8.1)</sup> (s. int.) a 7.10<sup>(t,7.8)</sup> / 6.75<sup>(t,7.4)</sup> (s. int.); 6.88<sup>(d,8.1)</sup> / 7.31<sup>(d,7.6)</sup> (sl. int.), 6.88<sup>(d,8.1)</sup> / 7.10<sup>(t,7.8)</sup> (s. int.), 6.88<sup>(d,8.1)</sup> / 6.75<sup>(t,7.4)</sup> (stř. int.); 6.75<sup>(t,7.4)</sup> / 7.31<sup>(d,7.6)</sup> (s. int.), 6.75<sup>(t,7.4)</sup> / 7.10<sup>(t,7.8)</sup> (s. int.), 6.75<sup>(t,7.4)</sup> / 6.88<sup>(d,8.1)</sup> (stř. int.), což prokazuje přiřazení signálů

benzylového cyklu následujícím způsobem,  $\delta$  (ppm): 7.31, HC<sup>15</sup>; 7.10, HC<sup>13</sup>, 6.88, HC<sup>12</sup> a 6.75, HC<sup>14</sup>. Dále, směrem do silných poli jsou krosníky,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 6.44<sup>(s, HN<sup>2</sup>)</sup> / 3.50<sup>(t, 5.9, HC<sup>19</sup>)</sup> (sl. int.); 5.73<sup>(s, HN<sup>21</sup>)</sup> / 2.79<sup>(t, 6.0, HC<sup>21</sup>)</sup> (sl. int.); 4.71<sup>(d, 5.5, HC<sup>9</sup>)</sup> / 7.71<sup>(s, HN<sup>6</sup>)</sup> (sl. int.) a 4.71<sup>(d, 5.5, HC<sup>9</sup>)</sup> / 7.31<sup>(d, 7.6, HC<sup>15</sup>)</sup> (sl. int.); 4.64<sup>(t, 6.8, HC<sup>16</sup>)</sup> / 7.83<sup>(s, HC<sup>8</sup>)</sup> (sl. int.) a 4.64<sup>(t, 6.8, HC<sup>16</sup>)</sup> / 1.53<sup>(d, 6.8, HC<sup>17,18</sup>)</sup> (s. int.); dále: 3.50<sup>(t, 5.9, HC<sup>19</sup>)</sup> / 6.44<sup>(s, HN<sup>2</sup>)</sup> (sl. int.), 3.50<sup>(t, 5.9, HC<sup>19</sup>)</sup> / 2.79<sup>(t, 6.0, HC<sup>21</sup>)</sup> (stř. int.), 3.50<sup>(t, 5.9, HC<sup>19</sup>)</sup> / 1.77<sup>(t, 6.6, HC<sup>20</sup>)</sup> (s. int.); 2.79<sup>(t, 6.0, HC<sup>21</sup>)</sup> / 5.73<sup>(s, HN<sup>21</sup>)</sup> (sl. int.), 2.79<sup>(t, 6.0, HC<sup>21</sup>)</sup> / 3.50<sup>(t, 5.9, HC<sup>19</sup>)</sup> (stř. int.) a 2.79<sup>(t, 5.9, HC<sup>21</sup>)</sup> / 1.77<sup>(t, 6.6, HC<sup>20</sup>)</sup> (s. int.); 1.77<sup>(t, 6.6, HC<sup>20</sup>)</sup> / 3.50<sup>(t, 5.9, HC<sup>19</sup>)</sup> (s. int.), 1.77<sup>(t, 6.6, HC<sup>20</sup>)</sup> / 2.79<sup>(t, 6.0, HC<sup>21</sup>)</sup> (s. int.). No a nakonec, stejně, jako u předchozích derivátů, signál 1.53<sup>(d, 6.9, HC<sup>17,18</sup>)</sup> má krosník se signálem 4.64<sup>(t, 6.8, HC<sup>16</sup>)</sup> (s. int.). Takže, interpretace (přiřazení) vodíkových signálů,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz) 11: 1.53, 6H, *d*, 6.9, HC<sup>17,18</sup>; 1.77, 2H, *qui*, 6.6, HC<sup>20</sup>; 2.79, 2H, *t*, 6.0, HC<sup>21</sup>; 3.50, 2H, *sep*, 5.9, HC<sup>19</sup>; 4.64, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 4.71, 2H, *d*, 5.5, HC<sup>9</sup>; 5.73, 2H, *br*, HN<sup>21</sup>; 6.44, 1H, *t*, 7.1, HN<sup>2</sup>; 6.75, 1H, *td*, 7.4, 1.1, HC<sup>14</sup>; 6.88, 1H, *dd*, 8.1, 1.2, HC<sup>12</sup>; 7.10, 1H, *td*, 7.8, 1.3, HC<sup>13</sup>; 7.31, 1H, *dd*, 7.6, 1.3, HC<sup>15</sup>; 7.71, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 7.83, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 9.30, 1H, *br*, HO<sup>11</sup>.

V {H}<sup>13</sup>C-spektru 11 (obrázek 74, příloha) jsou 18 uhlíkových signálů, odpovídajících zkoumanému vzorku,  $\delta$  (ppm): 21.83, 21.93, 32.90, 38.55, 39.22, 39.59, 46.39, 50.25, 114.21, 116.18, 119.01, 126.77, 128.42, 129.95, 135.55, 151.26, 155.02, 156.24 a 159.55. Dá se předpokládat ( $\delta$ ): C2, C11', C6, C4, C8, C15, C13, C10, C14, C12, C5, C16, C9, C21, C19, C20, C17,18. V <sup>13</sup>C (APT) spektru 11 (obrázek 75, příloha) jsou signály,  $\delta$  (ppm): 159.55, 156.24, 155.02, 151.26, 126.77, 114.21, 39.59, 39.22, 38.55 a 312.90 - v pozitivním modu (6 signálů - odpovídajících kvartérním uhlíkům a 4 signály - uhlíkům skupin CH<sub>2</sub>). Signály v negativním modu,  $\delta$  (ppm) jsou: 135.55, 129.95, 128.42, 119.01, 116.18, 46.39, 21.93 a 21.83 (8 signálů - patří skupinám CH a CH<sub>3</sub>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMQC spektru 11 (obrázek 76, příloha) jsou 12 signálů krosníků s  $\delta_{1H}$  ( $J$ ) /  $\delta_{13C}$  (ppm), které po přiřazení vodíkových signálů pomocí 2D {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-gCOSY dá se identifikovat: 7.83 / 135.55 (HC<sup>8</sup>); 7.31 (7.6) / 129.95 (HC<sup>15</sup>); 7.10 (7.8) / 128.42 (HC<sup>13</sup>); 6.88 (8.1) / 116.18 (HC<sup>12</sup>); 6.75 (7.4) / 119.01 (HC<sup>14</sup>); 4.71 (5.5) / 39.59 (HC<sup>9</sup>); 4.64 (6.8) / 46.39 (HC<sup>16</sup>); 3.50 (5.9) / 38.55 (HC<sup>19</sup>); 2.79 (6.0) / 39.22 (HC<sup>21</sup>); 1.77 (6.6) / 32.90 (HC<sup>20</sup>); 1.53 (6.9) / 21.93, 21.83 (HC<sup>17,18</sup>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMBC spektru 11 (obrázek 77, příloha) jsou signály  $\delta_{13C}$  (ppm) = 159.55 s krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm.),  $J$  (Hz): 6.44, *s*, HN<sup>2</sup> (stř. int.) a 3.50, *d*, 5.9, HC<sup>19</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 156.24 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$  (Hz): 7.31, *d*, 7.6, HC<sup>15</sup> (sl. int.), 7.10, *t*, 7.8, HC<sup>13</sup> (stř. int.), 6.88, *d*, 8.1, HC<sup>12</sup> (s. int.), 6.75, *t*, 7.4, HC<sup>14</sup> (sl. int.) a 4.71, *d*, 5.5, HC<sup>9</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 155.02 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.31, *d*, 7.6, HC<sup>15</sup> (sl. int.) a 4.71, *d*, 5.5, HC<sup>9</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 151.26 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.83, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.) a 4.64, *t*, 6.8, HC<sup>16</sup> (s. int.);  $\delta_{13C}$  = 126.77 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.31, *d*, 7.6, HC<sup>15</sup> (s. int.), 7.10, *t*, 7.8, HC<sup>13</sup> (sl. int.), 6.88, *d*, 8.1, HC<sup>12</sup> (sl. int.), 6.75, *t*, 7.4, HC<sup>14</sup> (stř. int.) a 4.71, *d*, 5.5, HC<sup>9</sup> (sl. int.) a  $\delta_{13C}$  = 114.21 s krosníkem,  $\delta_{1H}$ : 7.83, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.). Po analýze, dá se konstatovat, že kvartérními uhlíky,  $\delta_{13C}$  jsou: 114.21 (C<sup>5</sup>), 126.77 (C<sup>10</sup>), 151.26 (C<sup>4</sup>), 155.02 (C<sup>6</sup>), 156.24 (C<sup>11</sup>) a 159.55 (C<sup>2</sup>). Dál, jsou signály s  $\delta_{13C}$  /  $\delta_{1H}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 135.55 / 7.83, *d*, 201.1, HC<sup>8</sup> s krosníky s  $\delta_{1H}$  (ppm): 4.64, *d*, 6.8, HC<sup>16</sup> (s. int.) a 1.53, *d*, 6.9, HC<sup>17,18</sup> (stř. int.); 129.95 / 7.31, *d*, 155.8, HC<sup>15</sup> s krosníky 7.10, *t*, 7.8, HC<sup>13</sup> (stř. int.), 6.88, *d*, 8.1, HC<sup>12</sup> (sl. int.), 6.75, *t*, 7.4, HC<sup>14</sup> (s. int.) a 4.71, *d*, 5.5, HC<sup>9</sup> (sl. int.); 128.42 / 7.10, *d*, 158.8, HC<sup>13</sup> s krosníky 7.31, *d*, 7.6, HC<sup>15</sup> (stř. int.), 6.88, *d*, 8.1, HC<sup>12</sup> (s. int.) a 6.75, *t*, 7.4, HC<sup>14</sup> (s. int.); 119.01 / 6.75, *d*, 157.9, HC<sup>14</sup> s krosníky 7.31, *d*, 7.6, HC<sup>15</sup> (s. int.), 7.10, *t*, 7.8, HC<sup>13</sup> (s. int.) a 6.88, *d*, 8.1, HC<sup>12</sup> (stř. int.); 116.18 / 6.88, 162.3, HC<sup>12</sup> s krosníky 7.31, *d*, 7.6, HC<sup>15</sup> (sl. int.),

7.10, *t*, 7.8, HC<sup>13</sup> (s. int.) a 6.75, *t*, 7.4, HC<sup>14</sup> (stř. int.); 46.39 / 4.64, *d*, 192.9, HC<sup>16</sup> s kros-  
píky 7.83, *s*, HC<sup>8</sup> (sl. int.) a 1.53, *d*, 6.9, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 39.59 / 4.71, *d*, 134.5, HC<sup>9</sup> s kros-  
píky 7.31, *d*, 7.6, HC<sup>15</sup> (stř. int.) a 6.75, *t*, 7.4, HC<sup>14</sup> (sl. int.); 39.22 / 2.79, *d*, 203.0, HC<sup>21</sup> s  
kros-  
píky 5.73, *s*, HN<sup>21'</sup> (sl. int.), 3.50, *t*, 6.0, HC<sup>19</sup> (stř. int.) a 1.77, *t*, 7.0, HC<sup>20</sup> (s. int.); 38.55  
/ 3.50, *d*, 199.6, HC<sup>19</sup> s kros-  
píky 6.44, *s*, HN<sup>2</sup> (stř. int.), 2.79, *t*, 6.0, HC<sup>21</sup> (stř. int.) a 1.77, *t*,  
7.0, HC<sup>20</sup> (s. int.); 32.90 / 1.77, *d*, 198.5, HC<sup>20</sup> s kros-  
píky 3.50, *t*, 6.0, HC<sup>19</sup> (s. int.) a 2.79, *t*,  
6.0, (s. int.); 21.93 / 1.53, *d*, 193.0, HC<sup>17,18</sup> s kros-  
píky 7.83, *s*, HC<sup>8</sup> (sl. int.) a 4.64, *d*, 6.8,  
HC<sup>16</sup> (s. int.) a 21.83 / 1.53, *d*, 193.1, HC<sup>17,18</sup> s kros-  
píky 7.83, *s*, HC<sup>8</sup> (sl. int.) a 4.64, *d*, 6.8,  
HC<sup>16</sup> (s. int.). Po analýze, se dá konstatovat že uhlíky CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> skupin jsou,  $\delta_{13C}$ :  
21.83, 21.93 (HC<sup>17,18</sup>); 32.90 (HC<sup>20</sup>), 38.55 (HC<sup>19</sup>); 39.22 (HC<sup>21</sup>); 39.59 (HC<sup>9</sup>); 46.39 (HC<sup>16</sup>);  
116.18 (HC<sup>12</sup>); 119.01 (HC<sup>14</sup>); 128.42 (HC<sup>13</sup>); 129.95 (C<sup>15</sup>) a 135.55 (HC<sup>8</sup>).

V {<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N}-*gHMBC*, (*J* = 32 Hz) spektru 11 (obrázek 78, příloha) jsou signály s  $\delta_{1H}$  /  
 $\delta_{15N}$  (ppm) a *J* (Hz): 7.71 / 86.89, *dd*, 81.1, 17.1, HN<sup>6</sup> bez kros-  
píků; 6.44 / 85.44, *d*, 88.3, HN<sup>2</sup>  
s kros-  
píky,  $\delta_{1H}$  (ppm) a *J* (Hz): 3.50, *d*, 6.0, HC<sup>19</sup> (s. int.) a 1.77, *d*, 7.1, HC<sup>20</sup> (stř. int.); 7.83 /  
174.10, *s*, HC<sup>8</sup> s kros-  
píkem 1.53, *d*, 6.9, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 6.44 / 179.96, *s*, HN<sup>2</sup> (sl. int.) bez  
dalších kros-  
píků; 7.71 / 187.21, *s*, (sl. int.) bez kros-  
píků a 7.83 / 238.70, *d*, 12.7, HC<sup>8</sup> bez  
dalších kros-  
píků. Dusíkové signály se dá přiřadit,  $\delta_{15N}$  (ppm): 85.44 (N<sup>2</sup>), 86.89 (N<sup>6</sup>), 174.10  
(N<sup>9</sup>), 179.96 (N<sup>3</sup>), 187.21 (N<sup>1</sup>) a 238.70 (N<sup>7</sup>), není pozorován (N<sup>21</sup>).

### 8.1.12. Interpretace <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C a <sup>15</sup>N signálů {N6-(4-aminobenzensulfonamid)- 2-[(1-hydroxymethylpropyl)amin]-9-(iso-propyl)}purinu.

V <sup>1</sup>H-spektru {N6-(4-aminobenzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethylpropyl)amin]-9-(iso-  
propyl)}purinu (12, obrázek 79, příloha) jsou 16 signálů, odpovídajících vodíkům zkoumané  
látky,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 9.75, 1H, *bs*; 8.39, 2H, *dt*, 9.1, 2.0; 8.00, 1H, *s*; 7.85, 2H, *d*, 9.0; 7.25,  
2H, *bs*; 6.50, 1H, *br*; 4.84, 1H, *br*; 4.69, 1H, *sep*, 6.8; 4.05, 1H, *sxtt*, 5.7, 2.6; 3.76, 1H, *dd*,  
10.8, 5.1; 3.66, 1H, *dd*, 10.7, 5.6; 1.84, 1H, *sept*, 7.5, 1.6; 1.65, 1H, *sep*, 7.6; 1.57, 6H, *d*, 6.9,  
HC<sup>17,18</sup> (předpoklad); 1.01, 3H, *t*, 7.4, HC<sup>22</sup> (předpoklad). Předpokládáme, že signály,  $\delta$ : 9.75, 1H, *bs*;  
7.25, 2H, *bs*; 6.50, 1H, *br* a 4.84, 1H, *br* patří vodíkům HN<sup>6</sup>, HN<sup>6'</sup>, HN<sup>2</sup> a HO<sup>20'</sup> (jsou – široké  
a je charakteristické pro hydroxy-, amino- a iminoskupiny)<sup>[1]</sup>. Signaly 8.39, 2H, *dt*, 9.1, 2.0 a  
7.85, 2H, *d*, 9.0 patří vodíkům benzenového cyklu HC<sup>11,15</sup> a HC<sup>12,14</sup>, nebo naopak: HC<sup>12,14</sup> a  
HC<sup>11,15</sup>. Z ostatních signálů: 4.69, 1H, *sep*, 6.8; 4.05, 1H, *sxtt*, 5.7, 2.6; 3.76, 1H, *dd*, 10.8,  
5.1; 3.66, 1H, *dd*, 10.7, 5.6; 1.84, 1H, *sept*, 7.5, 1.6; 1.65, 1H, *sep*, 7.6 v porovnání  
s předchozími deriváty se dá předpokládat, že patří HC<sup>16</sup>, HC<sup>19</sup>, H<sub>a,b</sub>C<sup>20</sup>, H<sub>a,b</sub>C<sup>21</sup>. V COSY ( $\Theta$   
= 90°) spektru 12 (obrázek 80, příloha) jsou signály kros-  
píků,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 9.75<sup>(s, HN6)</sup> /  
8.39<sup>(d, 9.1, HC11,15)</sup> (sl.int.); dál: 8.39<sup>(d, 9.1)</sup> / 7.85<sup>(d, 9.0, HC12,14)</sup> (s. int.). <sup>1</sup>H signály HN<sup>6</sup> a  
benzenového cyklu mohou být přiřazený,  $\delta$  (ppm): 9.75, HN<sup>6</sup>; 8.39, HC<sup>11,15</sup> a 7.85, HC<sup>12,14</sup>.  
Dále, směrem do silných polí jsou kros-  
píky,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 6.50<sup>(s, HN2)</sup> / 4.05<sup>(d, 5.7, HC19)</sup> (stř.  
int.); 4.84<sup>(s, HO20')</sup> / 3.76<sup>(s, HaC20)</sup>; 4.69<sup>(t, 6.8, HC16)</sup> / 1.57<sup>(d, 6.9, HC17,18)</sup> (s. int.); 4.05<sup>(d, 5.7, HC19)</sup> /  
3.76<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.66<sup>(d, 10.7, HaC20)</sup> / 1.84<sup>(t, 7.5, HbC21)</sup> / 1.65<sup>(t, 7.6, HaC21)</sup> (s. int.). Jako u předchozích  
derivátů, signály 3.76<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.66<sup>(d, 10.7, HaC20)</sup> mají společný kros-  
pík (s. int.), stejně, jako:  
1.84<sup>(t, 7.5, HbC21)</sup> / 1.65<sup>(t, 7.6, HaC21)</sup> (s. int.); signál 1.57<sup>(d, 6.9, HC17,18)</sup> má kros-  
pík se signálem 4.69<sup>(t, 6.8, HC16)</sup> (s. int.) a signál 1.01<sup>(t, 7.4, HC22)</sup> má kros-  
píky: 1.65<sup>(t, 7.6, HaC21)</sup> a 1.84<sup>(t, 7.5, HbC21)</sup> (s. int.).  
<sup>1</sup>H signály se dá přiřadit,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 1.01, 3H, *t*, 7.4, HC<sup>22</sup>; 1.57, 6H, *d*, 6.9, HC<sup>17,18</sup>;

1.65, 1H, *sep*, 7.6, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.84, 1H, *sept*, 7.5, 1.6, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 3.66, 1H, *dd*, 10.7, 5.6, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.76, 1H, *dd*, 10.8, 5.1, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 4.05, 1H, *sxtt*, 5.7, 2.6, HC<sup>19</sup>; 4.69, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 4.84, 1H, *br*, HO<sup>20'</sup>; 6.50, 1H, *br*, HN<sup>2</sup>; 7.25, 2H, *s*, HN<sup>6'</sup>; 7.85, 2H, *d*, 9.0, HC<sup>12,14</sup>; 8.00, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 8.39, 2H, *dt*, 9.1, 2.0, HC<sup>11,15</sup>; 9.75, 1H, *bs*, HN<sup>6</sup>.

V {H}<sup>13</sup>C-spektru 12 (obrázek 81, příloha) jsou 16 uhlíkových signálů, odpovídajících zkoumanému vzorku,  $\delta$  (ppm): 10.54, 21.80, 21.92, 24.41, 46.60, 55.13, 63.77, 114.99, 119.24, 126.72, 136.75, 136.98, 144.23, 152.14, 152.18 a 159.37. Dá se předpokladat ( $>\delta$ ): C2, C6, C4, C13, C10, C8, C12,14, C11,15, C5, C20, C19, C16, C21, C17,18, C22. V <sup>13</sup>C (APT) spektru 12 (obrázek 82, příloha) jsou signály,  $\delta$  (ppm): 159.37, 152.18, 152.14, 144.23, 136.98, 114.99, 63.77 a 24.41 - v pozitivním modu (6 signálů - odpovídajících kvartérním uhlíkům a 2 signály - uhlíkům skupin CH<sub>2</sub>). Signály v negativním modu,  $\delta$  (ppm) jsou: 136.75, 126.72, 119.24, 55.13, 46.60, 21.92, 21.80 a 10.54 (8 signálů - patří skupinám CH a CH<sub>3</sub>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-*gHMQC* spektru 12 (obrázek 83, příloha) jsou 10 signálů s  $\delta_{1H}$  (*J*) /  $\delta_{13C}$  (ppm), které po přiřazení vodíkových signálů pomocí 2D {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-*gCOSY* dá se identifikovat: 8.39 (9.1) / 119.24 (HC<sup>11,15</sup>); 8.00 / 136.75 (HC<sup>8</sup>); 7.85 (9.0) / 126.72 (HC<sup>12,14</sup>); 4.69 (6.8) / 46.60 (HC<sup>16</sup>); 4.05 (5.7) / 55.13 (HC<sup>19</sup>); 3.76 (10.8) / 63.77 (H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>); 3.66 (10.7) / 63.77 (H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>); 1.84 (7.5) / 24.41 (H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>); 1.65 (7.6) / 24.41 (H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>); 1.57 (6.9) / 21.92, 21.80 (HC<sup>17,18</sup>) a 1.01 (7.4) / 10.54 (HC<sup>22</sup>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-*gHMBC* spektru 12 (obrázek 84, příloha) jsou signály  $\delta_{13C}$  (ppm) = 159.37 s krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm.), *J* (Hz): 6.50, *s*, HN<sup>2</sup> (sl. int.) a 4.05, *d*, 5.7, HC<sup>19</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 152.18 s krosníky,  $\delta_{1H}$ : 9.75, *s*, HN<sup>6</sup> (sl. int.) a 8.39, *d*, 9.1, HC<sup>11,15</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 152.14 s krosníky,  $\delta_{1H}$ : 8.00, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.) a 4.69, *t*, 6.8, HC<sup>16</sup> (s. int.);  $\delta_{13C}$  = 144.23 s krosníky,  $\delta_{1H}$ , *J*: 8.39, *d*, 9.1, HC<sup>11,15</sup> (stř. int.) a 7.85, *d*, 9.0, HC<sup>12,14</sup> (s. int.);  $\delta_{13C}$  = 136.98 s krosníky,  $\delta_{1H}$ , *J*: 9.75, *s*, HC<sup>11,15</sup> (sl. int.), 8.39, *d*, 9.1, HC<sup>11,15</sup> (s. int.) a 7.85, *d*, 9.0, HC<sup>12,14</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 114.99 s krosníkem,  $\delta_{1H}$ : 8.00, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.). Po analýze, dá se uvést, že kvartérními uhlíky,  $\delta_{13C}$  jsou: 114.99 (C<sup>5</sup>), 136.98 (C<sup>10</sup>), 144.23 (C<sup>13</sup>), 152.14 (C<sup>4</sup>), 152.18 (C<sup>6</sup>) a 159.37 (C<sup>2</sup>). Dál, jsou signály s  $\delta_{13C}$  /  $\delta_{1H}$  (ppm) a *J* (Hz): 136.75 / 8.00, *d*, 202.0, HC<sup>8</sup> s krosníky s  $\delta_{1H}$  (ppm): 4.69, *d*, 6.8, HC<sup>16</sup> (s. int.) a 1.57, *d*, 6.9, HC<sup>17,18</sup> (stř. int.); 126.72 / 7.85, *d*, 160.2, HC<sup>12,14</sup> s krosníkem 8.39, *d*, 9.1, HC<sup>11,15</sup> (s. int.); 119.24 / 8.39, *d*, 159.0, HC<sup>11,15</sup> s krosníkem 7.85, *d*, 9.0, HC<sup>12,14</sup> (s. int.); 63.77 / 3.76, *d*, 119.0, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> / 3.66, *d*, 113.5, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> s krosníky 6.50, *s*, HN<sup>2</sup> (sl. int.), 4.84, *s*, HO<sup>20'</sup> (sl. int.), 4.05, *d*, 21.1, HC<sup>19</sup> (s. int.), 1.84, *d*, 17.2, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>, (stř. int.), 1.65, *d*, 16.6, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (stř. int.); 55.13 / 4.05, *d*, 173.1, HC<sup>19</sup> s krosníky 6.50, *s*, HN<sup>2</sup> (sl. int.), 3.76, *d*, 30.3, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 3.66, *d*, 28.7, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 1.84, *t*, 43.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.65, *t*, 44.0, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.) a 1.01, *t*, 12.5, HC<sup>22</sup> (stř. int.); 46.60 / 4.69, *d*, 146.5, HC<sup>16</sup> s krosníky 8.00, *s*, HC<sup>8</sup> (s. int.) a 1.57, *d*, 10.0, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 24.41 / 1.84, *d*, 160.1, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> / 1.65, *d*, 159.7, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> s krosníky 3.76, *s*, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 3.66, *s*, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 1.01, *d*, 7.4, HC<sup>22</sup> (s. int.); 21.92 / 1.57, *d*, 192.8, HC<sup>17,18</sup> s krosníky 8.00, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.) a 4.69, *d*, 10.0, HC<sup>16</sup> (s. int.); 21.80 / 1.57, *d*, 191.9, HC<sup>17,18</sup> s krosníky 8.00, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.) a 4.69, *d*, 10.1, HC<sup>16</sup> (s. int.); 10.54 / 1.01, *d*, 126.9, HC<sup>22</sup> s krosníky 4.05, *d*, 18.1, HC<sup>19</sup> (stř. int.), 1.84, *d*, 49.3, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.) a 1.65, *d*, 48.6, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.). Po analýze, se dá uvést, že uhlíky CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> skupin jsou,  $\delta_{13C}$ : 10.54 (HC<sup>22</sup>); 21.80, 21.92 (HC<sup>17,18</sup>); 24.41 (HC<sup>21</sup>); 46.60 (HC<sup>16</sup>); 55.13 (HC<sup>19</sup>); 63.77 (HC<sup>20</sup>); 119.24 (HC<sup>11,15</sup>); 126.72 (C<sup>12,14</sup>) a 136.75 (HC<sup>8</sup>).

V {<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N}-*gHMBC*, (*J* = 32 Hz) spektru 12 (obrázek 85, příloha) jsou signály s  $\delta_{1H}$  /  $\delta_{15N}$  (ppm) a *J* (Hz): 6.50 / 94.59, *d*, 99.4, HN<sup>2</sup> s krosníky: 4.05, *d*, 6.2, HC<sup>19</sup> (s. int.), 3.76, *t*,



8.4, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 3.66, *t*, 8.4, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 1.84, *s*, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (stř. int.) a 1.65, *d*, 10.5, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (stř. int.); 7.25 / 95.10, *d*, 77.8, HN<sup>6'</sup> bez dalších krospliků; 9.75 / 105.38, *d*, 91.7, HN<sup>6</sup> s krosplikem 8.39, *d*, 8.9, HC<sup>11,15</sup> (s. int.). Dál, směrem do silných polí jsou signály: 8.00 / 173.99, *d*, 6.7, HC<sup>8</sup> s krospliky,  $\delta_{1H}$  (ppm) a *J* (Hz): 4.69, *t*, 4.0, HC<sup>16</sup> (s. int.) a 1.57, *d*, 5.7, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 6.50 / 195.93, *s*, HN<sup>2</sup> (sl. int.) bez dalších krospliků; 9.75 / 201.86, *s*, HN<sup>6</sup> bez krospliků; 8.00 / 238.28, *d*, 12.0, HC<sup>8</sup> bez dalších krospliků, také. Dusíkové signály se dá přiřadit,  $\delta_{15N}$  (ppm): 94.59 (N<sup>2</sup>), 95.10 (N<sup>6'</sup>), 105.38 (N<sup>6</sup>), 173.99 (N<sup>9</sup>), 195.93 (N<sup>3</sup>), 201.86 (N<sup>1</sup>) a 238.28 (N<sup>7</sup>).

### 8.1.13. Interpretace <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C a <sup>15</sup>N signálů {N6-(4-amin-N-3,5-dimethylpyrimidin-benzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethylpropyl)amin]-9-(iso-propyl)}purinu.

V <sup>1</sup>H-spekttru {N6-(4-amin-N-3,5-dimethylpyrimidin-benzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethylpropyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu (13, obrázek 86, příloha) jsou 17 signálů, odpovídajících vodíkům zkoumané látky,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 9.78, 1H, *bs*; 8.40, 2H, *dt*, 9.0, 2.0; 8.07, 1H, *br*; 8.07, 2H, *d*, 8.4; 8.01, 1H, *s*; 6.77, 1H, *s*; 6.51, 1H, *br*; 5.11, 1H, *br*; 4.67, 1H, *sep*, 6.8; 4.04, 1H, *sxt*, 6.0; 3.74, 1H, *dd*, 10.8, 4.9; 3.64, 1H, *dd*, 10.5, 5.5; 2.28, 6H, *s*, HC<sup>23',25'</sup> (předpoklad); 1.82, 1H, *sepd*, 6.8, 1.8; 1.65, 1H, *sep*, 6.8; 1.55, 6H, *d*, 6.6, HC<sup>17,18</sup> (předpoklad); 1.00, 3H, *t*, 7.0, HC<sup>22</sup> (předpoklad). Předpokládáme, že signály,  $\delta$ : 9.78, 1H, *bs*; 8.07, 1H, *br*; 6.51, 1H, *br* a 5.11, 1H, *br* patří vodíkům HN<sup>6</sup>, HN<sup>6'</sup>, HN<sup>2</sup> a HO<sup>20'</sup> (jsou charakteristické pro hydroxy- a iminoskupiny)<sup>[59]</sup>. Signály 8.40, 2H, *dt*, 9.0, 2.0 a 8.07, 2H, *d*, 8.4 patří vodíkům benzenového cyklu HC<sup>11,15</sup> a HC<sup>12,14</sup>, nebo naopak: HC<sup>12,14</sup> a HC<sup>11,15</sup>. Z ostatních signálů: 4.67, 1H, *sep*, 6.8; 4.04, 1H, *sxt*, 6.0; 3.74, 1H, *dd*, 10.8, 4.9; 3.64, 1H, *dd*, 10.5, 5.5; 1.82, 1H, *sepd*, 6.8, 1.8; 1.65, 1H, *sep*, 6.8 v porovnání s předchozími deriváty se dá předpokládat, že patří HC<sup>16</sup>, HC<sup>19</sup>, H<sub>a,b</sub>C<sup>20</sup>, H<sub>a,b</sub>C<sup>21</sup>. V COSY ( $\Theta = 90^\circ$ ) spektru 13 (obrázek 87, příloha) jsou signály krospliků,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 9.78<sup>(s, HN6)</sup> / 8.40<sup>(d, 9.0, HC11,15)</sup> (sl.int.); dále: 8.40<sup>(d, 9.0, HC11,15)</sup> / 8.07<sup>(d, 8.4, HC12,14)</sup> (s. int.). <sup>1</sup>H signály HN<sup>6</sup> a benzenového cyklu můžou být přiřazený,  $\delta$  (ppm): 9.78, HN<sup>6</sup>; 8.40, HC<sup>11,15</sup> a 8.07, HC<sup>12,14</sup>. Dále, směrem do silných polí jsou krospiky,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 6.77<sup>(s, HC24)</sup> / 2.28<sup>(s, HC23',25')</sup> (stř. int.); 6.51<sup>(s, HN2)</sup> / 4.04<sup>(d, 6.0, HC19)</sup> (stř. int.); 4.67<sup>(t, 6.8, HC16)</sup> / 1.55<sup>(d, 6.6, HC17,18)</sup> (s. int.); 4.04<sup>(d, 6.0, HC19)</sup> / 3.74<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.64<sup>(d, 10.5, HaC20)</sup> / 1.82<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.65<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup> (s. int.). Jako u předchozích derivátů, signály 3.74<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.64<sup>(d, 10.5, HaC20)</sup> mají společný krosplik (s. int.), stejně, jako: 1.82<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.65<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup> (s. int.); signál 1.55<sup>(d, 6.6, HC17,18)</sup> má krosplik se signálem 4.67<sup>(t, 6.8, HC16)</sup> (s. int.) a signál 1.00<sup>(t, 7.0, HC22)</sup> má krospiky: 1.65<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup> a 1.82<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> (s. int.). <sup>1</sup>H signály se dá přiřadit,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 1.00, 3H, *t*, 7.0, HC<sup>22</sup>; 1.55, 6H, *d*, 6.6, HC<sup>17,18</sup>; 1.65, 1H, *sep*, 6.8, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.82, 1H, *sepd*, 6.8, 1.8, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 2.28, 6H, *s*, HC<sup>23',25'</sup>; 3.64, 1H, *dd*, 10.5, 5.5, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.74, 1H, *dd*, 10.8, 4.9, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 4.04, 1H, *sxt*, 6.0, HC<sup>19</sup>; 4.67, 1H, *sep*, 6.8, HC<sup>16</sup>; 5.11, 1H, *br*, HO<sup>20'</sup>; 6.51, 1H, *br*, HN<sup>2</sup>; 6.77, 1H, *s*, HC<sup>24</sup>; 8.01, 1H, *s*, HC<sup>8</sup>; 8.07, 1H, *br*, HN<sup>6'</sup>; 8.07, 2H, *d*, 8.4, HC<sup>12,14</sup>; 8.40, 2H, *dt*, 9.0, 2.0, HC<sup>11,15</sup>; 9.78, 1H, *bs*, HN<sup>6</sup>. Přiřazení <sup>1</sup>H signálů 13 potvrdily také výsledky {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-gROESY (obrázek 88, příloha). Byli pozorovány krospiky, které jsou výsledkem dipol-dipolových interakcí meziprostor ve vzdalenostech ~ 5 Å (přesněji řečeno - dipol-dipolových relaxačních procesů): 9.78<sup>(s, HN6)</sup> / 8.40<sup>(d, 9.0, HC11,15)</sup>; 8.40<sup>(d, 9.0, HC11,15)</sup> / 8.07<sup>(d, 8.4, HC12,14)</sup>; 8.01<sup>(s, HC8)</sup> / 4.67<sup>(t, 6.8, HC16)</sup>; 6.77<sup>(s, HC24)</sup> / 2.28<sup>(s, HC23',25')</sup>; 4.67<sup>(t, 6.8, HC16)</sup> / 1.55<sup>(d, 6.6, HC17,18)</sup>; 4.04<sup>(d, 6.0, HC19)</sup> / 3.74<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.64<sup>(d, 10.5, HaC20)</sup> / 1.82<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> /

1.65<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup>; 3.74<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.64<sup>(d, 10.5, HaC20)</sup>; 1.82<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.65<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup>; 1.55<sup>(d, 6.6, HC17,18)</sup> / 4.67<sup>(t, 6.8, HC16)</sup>; 1.00<sup>(t, 7.0, HC22)</sup> / 1.65<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup> / 1.82<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup>. Další krosník, který svědčí o konformačních vlastnostech této molekuly je 8.40<sup>(d, 9.0, HC11,15)</sup> / 4.04<sup>(d, 6.0, HC19)</sup> a který prokazuje, že R6 je otočen vlevo, relativně purinové části molekuly (jak je na obrázku 88, příloha).

V {H}<sup>13</sup>C-spektru 13 (obrázek 89, příloha) jsou 21 uhlíkových signálů, odpovídajících zkoumanému vzorku,  $\delta$  (ppm): 10.56, 21.71, 21.86, 22.96, 24.45, 46.61, 55.18, 63.32, 64.35, 114.85, 115.02, 118.61, 129.42, 132.29, 137.07, 145.20, 152.03, 152.31, 157.27, 159.38 a 168.06. Dá se předpokladat ( $>\delta$ ): C23, C25, C2, C6, C4, C10', C10, C8, C13, C12,14, C11,15, C5, C24, C20, C19, C16, C21, C23',25', C17,18, C22. V <sup>13</sup>C (APT) spektru 13 (obrázek 90, příloha) jsou signály,  $\delta$  (ppm): 168.06, 159.38, 157.27, 152.31, 152.03, 145.20, 132.29, 115.02, 64.35, 63.32 a 24.45 - v pozitivním modu (8 signálů - odpovídajících kvartérním uhlíkům a 2 signály - uhlíkům skupin CH<sub>2</sub>). Signály v negativním modu,  $\delta$  (ppm) jsou: 137.07, 129.42, 118.61, 114.85, 55.18, 46.61, 22.96, 21.86, 21.71 a 10.56 (10 signálů - patří skupinám CH a CH<sub>3</sub>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMOC spektru 13 (obrázek 91, příloha) jsou 13 signálů s  $\delta_{1H}$  (J) /  $\delta_{13C}$  (ppm), které po přiřazení vodíkových signálů pomocí 2D {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-gCOSY dá se identifikovat: 8.40 (9.0) / 118.61 (HC<sup>11,15</sup>); 8.07 (8.4) / 129.42 (HC<sup>12,14</sup>); 8.01 / 137.07 (HC<sup>8</sup>); 6.77 / 114.85 (HC<sup>24</sup>); 4.67 (6.8) / 46.61 (HC<sup>16</sup>); 4.04 (6.0) / 55.18 (HC<sup>19</sup>); 3.74 (10.8) / 63.32 (HbC<sup>20</sup>); 3.64 (10.5) / 64.35 (HaC<sup>20</sup>); 2.28 / 22.96 (HC<sup>23',25'</sup>); 1.82 (6.8) / 24.45 (HbC<sup>21</sup>); 1.65 (6.8) / 24.45 (HaC<sup>21</sup>); 1.55 (6.6) / 21.86, 21.71 (HC<sup>17,18</sup>) a 1.00 (7.0) / 10.56 (HC<sup>22</sup>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMBC spektru 13 (obrázek 92, příloha) jsou signály  $\delta_{13C}$  (ppm) = 168.07 s krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm.), J (Hz): 6.77, s, HC<sup>24</sup> (s. int.) a 2.28, s, HC<sup>23',25'</sup> (s. int.);  $\delta_{13C}$  = 159.38 s krosníky,  $\delta_{1H}$ : 6.51, s, HN<sup>2</sup> (sl. int.) a 4.04, d, 6.0, HC<sup>19</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 157.27 s krosníky,  $\delta_{1H}$ : 9.78, s, HN<sup>6</sup> (stř. int.) a 8.40, d, 9.0, HC<sup>11,15</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 152.71 s krosníky,  $\delta_{1H}$ , J: 8.01, s, HC<sup>8</sup> (stř. int.) a 4.67, t, 6.8, HC<sup>16</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 152.03 s krosníky,  $\delta_{1H}$ : 8.07, s, HN<sup>6'</sup> (sl. int.), 6.77, s, HC<sup>24</sup> (sl. int.) a 2.28, s, HC<sup>23',25'</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 145.20 s krosníky,  $\delta_{1H}$ , J: 9.78, s, HN<sup>6</sup> (stř. int.), 8.40, d, 9.0, HC<sup>11,15</sup> (s. int.) a 8.07, d, 8.4, HC<sup>12,14</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 132.29 s krosníky,  $\delta_{1H}$ , J: 8.40, d, 9.0, HC<sup>11,15</sup> (stř. int.) a 8.07, d, 8.5, HC<sup>12,14</sup> (sl. int.) a  $\delta_{13C}$  = 115.02 s krosníkem,  $\delta_{1H}$ : 8.01, s, HC<sup>8</sup> (stř. int.). Po analýze, dá se uvést, že kvartérními uhlíky,  $\delta_{13C}$  jsou: 115.02 (C<sup>5</sup>), 132.29 (C<sup>13</sup>), 145.20 (C<sup>10</sup>), 152.03 (C<sup>10'</sup>), 152.71 (C<sup>4</sup>), 157.27 (C<sup>6</sup>), 159.38 (C<sup>2</sup>) a 168.06 (C<sup>23,25</sup>). Dál, jsou signály s  $\delta_{13C}$  /  $\delta_{1H}$  (ppm) a J (Hz): 137.07 / 8.01, d, 202.9, HC<sup>8</sup> s krosníky s  $\delta_{1H}$  (ppm): 4.67, d, 6.8, HC<sup>16</sup> (s. int.) a 1.55, d, 6.6, HC<sup>17,18</sup> (stř. int.); 129.42 / 8.07, d, 160.4, HC<sup>12,14</sup> s krosníkem 8.40, d, 9.0, HC<sup>11,15</sup> (s. int.); 118.61 / 8.40, d, 159.9, HC<sup>11,15</sup> s krosníky 9.78, s, HN<sup>6</sup> (stř. int.) a 8.07, d, 8.5, HC<sup>12,14</sup> (s. int.); 114.85 / 6.77, d, 153.00, HC<sup>24</sup> s krosníkem 2.28, s, HC<sup>23',25'</sup> (s. int.); 64.35 / 3.64, d, 120.0, HaC<sup>20</sup> s krosníky 6.51, s, HN<sup>2</sup> (sl. int.), 4.04, d, 21.8, HC<sup>19</sup> (s. int.), 1.82, d, 17.8, HbC<sup>21</sup>, (stř. int.), 1.65, d, 16.3, HaC<sup>21</sup> (stř. int.); 63.32 / 3.74, d, 120.8, HbC<sup>20</sup> s krosníky 6.51, s, HN<sup>2</sup> (sl. int.), 4.04, d, 21.8, HC<sup>19</sup> (s. int.), 1.82, d, 17.7, HbC<sup>21</sup>, (stř. int.), 1.65, d, 16.5, HaC<sup>21</sup> (stř. int.); 55.18 / 4.04, d, 173.3, HC<sup>19</sup> s krosníky 6.51, s, HN<sup>2</sup> (sl. int.), 3.74, d, 28.5, HbC<sup>20</sup> (s. int.), 3.64, d, 27.9, HaC<sup>20</sup> (s. int.), 1.82, t, 42.9, HbC<sup>21</sup> (s. int.), 1.65, t, 44.1, HaC<sup>21</sup> (s. int.) a 1.00, t, 12.0, HC<sup>22</sup> (stř. int.); 46.61 / 4.67, d, 146.8, HC<sup>16</sup> s krosníky 8.01, s, HC<sup>8</sup> (s. int.) a 1.55, d, 8.9, HC<sup>17,18</sup> (s. int.); 24.45 / 1.82, d, 159.5, HbC<sup>21</sup> / 1.65, d, 159.0, HaC<sup>21</sup> s krosníky 3.74, s, HbC<sup>20</sup> (stř. int.), 3.64, s, HaC<sup>20</sup> (stř. int.), 1.00, d, 7.0, HC<sup>22</sup> (s. int.); 22.96 / 2.28, d, 176.3, HC<sup>23',25'</sup> s krosníkem 6.77, s, HC<sup>24</sup>; 21.86 / 1.55, d, 193.1, HC<sup>17,18</sup> s krosníky 8.01, s, HC<sup>8</sup> (stř. int.) a

4.67, *d*, 9.3, HC<sup>16</sup> (s. int.); 21.71 / 1.55, *d*, 192.3, HC<sup>17,18</sup> s krosníky 8.01, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.) a 4.67, *d*, 9.3, HC<sup>16</sup> (s. int.); 10.56 / 1.00, *d*, 127.1, HC<sup>22</sup> s krosníky 4.04, *d*, 18.0, HC<sup>19</sup> (stř. int.), 1.82, *d*, 50.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.) a 1.65, *d*, 49.1, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.). Po analýze, se dá uvést, že uhlíky CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> skupin jsou,  $\delta_{13C}$ : 10.56 (HC<sup>22</sup>); 21.71, 21.86 (HC<sup>17,18</sup>); 22.96 (HC<sup>23',25'</sup>); 24.45 (HC<sup>21</sup>); 46.61 (HC<sup>16</sup>); 55.18 (HC<sup>19</sup>); 63.32 (H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>); 64.35 (H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>); 114.85 (HC<sup>24</sup>); 118.61 (HC<sup>12,14</sup>); 129.42 (C<sup>11,15</sup>) a 137.07 (HC<sup>8</sup>).

V {<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N}-*gHMBC*, (*J* = 32 Hz) spektru 13 (obrázek 93, příloha) jsou signály s  $\delta_{1H}$  /  $\delta_{15N}$  (ppm) a *J* (Hz): 8.07 / 78.82, *d*, 75.9, HN<sup>6'</sup> (sl. int.) bez krosníků; 6.51 / 91.44, *d*, 88.1, HN<sup>2</sup> bez krosníků; 9.78 / 104.53, *d*, 90.4, HN<sup>6</sup> bez krosníků; 8.01 / 172.40, *s*, HC<sup>8</sup> s krosníkem 1.55, *d*, 9.9, HC<sup>17,18</sup>; 6.51 / 193.56, *s*, HN<sup>2</sup> (sl. int.) bez krosníků; 9.78 / 199.92, *s*, HN<sup>6</sup> (sl. int.) bez dalších krosníků; 8.01 / 236.06, *s*, HC<sup>8</sup> bez krosníků, také a 6.77 / 252.66, *s*, HC<sup>8</sup> s krosníkem,  $\delta_{1H}$  (ppm) 2.28, *s*, HC<sup>23',25'</sup> (sl. int.). Dusíkové signály se dá přiřadit,  $\delta_{15N}$  (ppm): 78.82 (N<sup>6'</sup>), 91.44 (N<sup>2</sup>), 104.53 (N<sup>6</sup>), 172.40 (N<sup>9</sup>), 193.56 (N<sup>3</sup>), 199.92 (N<sup>1</sup>), 236.06 (N<sup>7</sup>) a 252.66 (N<sup>11,12</sup>).

#### 8.1.14. Interpretace <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C a <sup>15</sup>N signálů {N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu.

V <sup>1</sup>H-spektru {N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}-purinu (14, obrázek 94, příloha) jsou 24 signálů, odpovídajících vodíkům zkoumané látky,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 9.50, 1H, *bs*; 8.04, 1H, *s*; 7.77, 1H, *br*; 7.34, 1H, *d*, 7.5; 7.13, 1H, *t*, 7.8; 6.94, 1H, *d*, 7.8; 6.79, 1H, *t*, 7.5; 5.96, 1H, *d*, 5.6; 5.88, *br*; 5.40, 2H, *br*; 5.22, 1H, *br*; 5.20, 1H, *br*; 4.90, 1H, *dt*, 14.2, 5.0; 4.77, 2H, *br*; 4.45, 1H, *qui*, 2.5; 4.17, 1H, *q*, 3.3; 4.05, 1H, *sxt*, 4.5; 3.83, 1H, *dd*, 12.1, 3.2; 3.77, 1H, *dt*, 11.7, 3.2; 3.72, 1H, *dd*, 10.8, 4.3; 3.66, 1H, *dd*, 10.8, 4.2; 1.75, 1H, *sep*, 6.8; 1.63, 1H, *sep*, 6.8; 0.97, 3H, *td*, 7.3, 3.8, HC<sup>22</sup> (předpoklad). Předpokládáme, že signály,  $\delta$ : 9.50, 1H, *br*; 7.77, 1H, *br*; 5.88, 1H, *br*; 5.40, 2H, *br*; 5.22, 1H, *br*; 5.20, 1H, *br* a 4.77, 2H, *br* patří vodíkům HO<sup>11'</sup>, HN<sup>6</sup>, HN<sup>2</sup>, HO<sup>17',20''</sup>, HO<sup>18'</sup> a HO<sup>20'</sup> (jsou charakteristické pro hydroxy- a iminoskupiny)<sup>[59]</sup>. Signály 7.34, 1H, *d*, 7.5; 7.13, 1H, *t*, 7.8; 6.94, 1H, *d*, 7.8 a 6.79, 1H, *t*, 7.5 patří vodíkům benzenového cyklu HC<sup>15</sup>, HC<sup>13</sup>, HC<sup>12</sup> a HC<sup>14</sup>, nebo naopak: HC<sup>12</sup>, HC<sup>14</sup>, HC<sup>15</sup> a HC<sup>13</sup>. Z ostatních signálů: 4.05, 1H, *sxt*, 4.5; 3.72, 1H, *dd*, 10.8, 4.3; 3.66, 1H, *dd*, 10.8, 4.2; 1.75, 1H, *sep*, 6.8 a 1.63, 1H, *sep*, 6.8 v porovnání s předchozími deriváty se dá předpokládat, že patří HC<sup>19</sup>, H<sub>a,b</sub>C<sup>20</sup> a H<sub>a,b</sub>C<sup>21</sup>. V COSY ( $\Theta = 90^\circ$ ) spektru 14 (obrázek 95, příloha) jsou signály krosníků,  $\delta$  (ppm) a *J* (Hz): 8.04(<sup>s</sup>, HC<sup>8</sup>) / 5.96(<sup>d</sup>, 5.6, HC<sup>16</sup>) (stř. int.); 7.77(<sup>s</sup>, HN<sup>6</sup>) / 7.34(<sup>d</sup>, 7.5, HC<sup>15</sup>) / 4.77(<sup>s</sup>, HC<sup>9</sup>) (oba jsou - sl. int.); 7.34(<sup>d</sup>, 7.5, HC<sup>15</sup>) / 7.13(<sup>t</sup>, 7.8, HC<sup>13</sup>) (stř. int.) / 6.94(<sup>d</sup>, 7.8, HC<sup>12</sup>) (sl. int.) / 6.79(<sup>t</sup>, 7.5, HC<sup>14</sup>) (s. int.); 7.13(<sup>t</sup>, 7.8, HC<sup>13</sup>) / 7.34(<sup>d</sup>, 7.5, HC<sup>15</sup>) (stř. int.) / 6.94(<sup>d</sup>, 7.8, HC<sup>12</sup>) (s. int.) / 6.79(<sup>t</sup>, 7.5, HC<sup>14</sup>) (s. int.); 6.94(<sup>d</sup>, 7.8, HC<sup>12</sup>) / 7.34(<sup>d</sup>, 7.5, HC<sup>15</sup>) (sl. int.) / 7.13(<sup>t</sup>, 7.8, HC<sup>13</sup>) (s. int.) / 6.79(<sup>t</sup>, 7.5, HC<sup>14</sup>) (stř. int.); 6.79(<sup>t</sup>, 7.5, HC<sup>14</sup>) / 7.34(<sup>d</sup>, 7.5, HC<sup>15</sup>) (s. int.) / 7.13(<sup>t</sup>, 7.8, HC<sup>13</sup>) (s. int.) / 6.94(<sup>d</sup>, 7.8, HC<sup>12</sup>) (stř. int.); 5.96(<sup>d</sup>, 5.6, HC<sup>16</sup>) / 8.04(<sup>s</sup>, HC<sup>8</sup>) (stř. int.) / 4.90(<sup>d</sup>, 14.2, HC<sup>17</sup>) (s. int.) / 4.45(<sup>s</sup>, HC<sup>18</sup>) (stř. int.) / 4.17(<sup>s</sup>, HC<sup>19</sup>) (sl. int.); 5.88(<sup>s</sup>, HN<sup>2</sup>) / 4.05(<sup>d</sup>, 4.5, HC<sup>19</sup>) (stř. int.); 5.20(<sup>s</sup>, HO<sup>20'</sup>) / 3.72(<sup>d</sup>, 10.8, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>) / 3.66(<sup>d</sup>, 10.8, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>) (oba jsou - sl. int.); 4.90(<sup>d</sup>, 14.2, HC<sup>17</sup>) / 5.96(<sup>d</sup>, 5.6, HC<sup>16</sup>) / 4.45(<sup>s</sup>, HC<sup>18</sup>) (oba jsou - s. int.) / 4.17(<sup>s</sup>, HC<sup>19</sup>) (sl. int.); 4.77(<sup>s</sup>, HC<sup>9</sup>) / 7.77(<sup>s</sup>, HN<sup>6</sup>) / 7.34(<sup>d</sup>, 7.5, HC<sup>15</sup>) (oba jsou - sl. int.); 4.45(<sup>s</sup>, HC<sup>18</sup>) / 5.96(<sup>d</sup>, 5.6, HC<sup>16</sup>) (sl. int.) / 4.90(<sup>d</sup>, 14.2, HC<sup>17</sup>) / 4.17(<sup>s</sup>, HC<sup>19</sup>) (oba jsou - s. int.) / 3.83(<sup>d</sup>, 12.1, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>) / 3.77(<sup>d</sup>, 11.7, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>) (oba jsou stř. int.); 4.17(<sup>s</sup>, HC<sup>19</sup>) / 4.90(<sup>d</sup>, 14.2, HC<sup>17</sup>) (stř. int.) / 4.45(<sup>s</sup>, HC<sup>18</sup>) / 3.83(<sup>d</sup>, 12.1, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>) / 3.77(<sup>d</sup>, 11.7, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>) (poslední tři jsou - s. int.);

4.05<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> / 5.88<sup>(s, HN2)</sup> (stř. int.) / 3.72<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.66<sup>(d, 10.8, HaC20)</sup> / 1.75<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.63<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup> (poslední čtyři signály jsou - s. int.) / 0.97<sup>(s, HC22)</sup> (stř. int.); 3.83<sup>(d, 12.1, HbC20')</sup> / 4.45<sup>(s, HC18)</sup> (stř. int.) / 4.17<sup>(s, HC19')</sup> / 3.77<sup>(d, 11.7, HaC20')</sup> (oba jsou - s. int.); 3.77<sup>(d, 11.7, HaC20')</sup> / 4.45<sup>(s, HC18)</sup> (stř. int.) / 4.17<sup>(s, HC19')</sup> / 3.83<sup>(d, 12.1, HbC20')</sup> (oba jsou - s. int.); 3.72<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 5.20<sup>(s, HO20')</sup> (sl. int.) / 4.05<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> / 3.66<sup>(d, 10.8, HaC20)</sup> (poslední dva signály jsou oba – s. int.) / 1.75<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.63<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup> (oba jsou - stř. int.) / 0.97<sup>(s, HC22)</sup> (sl. int.); 3.66<sup>(d, 10.8, HaC20)</sup> / 5.20<sup>(s, HO20')</sup> (sl. int.) / 4.05<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> / 3.72<sup>(d, 10.8, HbC21)</sup> (poslední dva signály jsou oba – s. int.) / 1.75<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.63<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup> (oba jsou - stř. int.) / 0.97<sup>(s, HC22)</sup> (sl. int.); 1.75<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 4.05<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> (s. int.) / 3.72<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.66<sup>(d, 10.8, HaC20)</sup> (oba jsou – stř. int.) / 1.63<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup> / 0.97<sup>(s, HC22)</sup> (oba jsou - s. int.); 1.63<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup> / 4.05<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> (s. int.) / 3.72<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.66<sup>(d, 10.8, HaC20)</sup> (oba jsou – stř. int.) / 1.75<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 0.97<sup>(s, HC22)</sup> (oba jsou - s. int.) a nakonec, 0.97<sup>(t, 7.3, HC22)</sup> / 4.05<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> (stř. int.) / 3.72<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.66<sup>(d, 10.8, HaC20)</sup> (oba jsou sl. int.) / 1.75<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.63<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup> (oba jsou – s. int.). <sup>1</sup>H signály se dá přiřadit,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 0.97, 3H, *td*, 7.3, 3.8, HC<sup>22</sup>; 1.63, 1H, *sep*, 6.8, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.75, 1H, *sep*, 6.8, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 3.66, 1H, *dd*, 10.8, 4.2, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.72, 1H, *dd*, 10.8, 4.3, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 3.77, 1H, *dt*, 11.7, 3.2, H<sub>a</sub>C<sup>20'</sup>; 3.83, 1H, *dd*, 12.1, 3.2, H<sub>b</sub>C<sup>20'</sup>; 4.05, 1H, *sxt*, 4.5, HC<sup>19</sup>; 4.17, 1H, *q*, 3.3, HC<sup>19'</sup>; 4.45, 1H, *qui*, 2.5, HC<sup>18</sup>; 4.77, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.90, 1H, *dt*, 14.2, 5.0, HC<sup>17</sup>; 5.20, 1H, *br*, HO<sup>20'</sup>; 5.22, 1H, *br*, HO<sup>18'</sup>; 5.40, 2H, *br*, HO<sup>17',20'</sup>; 5.88, 1H, *br*, HN<sup>2</sup>; 5.96, 1H, *d*, 5.6, HC<sup>16</sup>; 6.79, 1H, *t*, 7.5, HC<sup>14</sup>; 6.94, 1H, *d*, 7.8, HC<sup>12</sup>; 7.13, 1H, *t*, 7.8, HC<sup>13</sup>; 7.34, 1H, *d*, 7.5, HC<sup>15</sup>; 7.77, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 8.04, 1H, *s*, HC<sup>8</sup> a 9.50, 1H, *br*, HO<sup>11'</sup>.

V {H}<sup>13</sup>C-spektru 14 (obrázek 96, příloha) jsou 21 uhlíkových signálů, odpovídajících zkoumanému vzorku,  $\delta$  (ppm): 9.88, 23.86, 38.96, 54.06, 61.99, 63.02, 71.12, 73.04, 85.80, 88.29, 113.68, 114.92, 118.88, 127.58, 128.11, 129.13, 136.74, 150.43, 154.41, 156.25 a 158.98. Dá se předpokladat (> $\delta$ ): C22, C21, C9, C19, C20', C20, C18, C17, C19', C16, C12, C5, C14, C13, C15, C10, C8, C4, C11, C6 a C2. V <sup>13</sup>C (APT) spektru 14 (obrázek 97, příloha) jsou signály,  $\delta$  (ppm): 158.98, 156.25, 154.41, 150.43, 129.13, 114.92, 63.20, 61.99, 38.96 a 23.86 - v pozitivním modu (6 signálů - odpovídajících kvartérním uhlíkům a 4 signály - uhlíkům skupin CH<sub>2</sub>). Signály v negativním modu,  $\delta$  (ppm) jsou: 136.74, 128.11, 127.58, 118.88, 113.68, 88.29, 85.80, 73.04, 71.12, 54.06 a 9.88 (11 signálů – patří skupinám CH a CH<sub>3</sub>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-*gHMQC* spektru 14 (obrázek 98, příloha) jsou 15 signálů s  $\delta_{1H}$  ( $J$ ) /  $\delta_{13C}$  (ppm), které po přiřazení vodíkových signálů pomocí 2D {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-*gCOSY* dá se identifikovat: 8.04 / 136.74 (HC<sup>8</sup>); 7.34 (7.5) / 128.11 (HC<sup>15</sup>); 7.13 (7.8) / 127.58 (HC<sup>13</sup>); 6.94 (7.8) / 113.68 (HC<sup>12</sup>); 6.79 (7.5) / 118.88 (HC<sup>14</sup>); 5.96 (5.6) / 88.29 (HC<sup>16</sup>); 4.90 (14.2) / 73.04 (HC<sup>17</sup>); 4.77 / 38.96 (HC<sup>9</sup>); 4.45 (2.5) / 71.12 (HC<sup>18</sup>); 4.17 (3.3) / 85.80 (HC<sup>19'</sup>); 4.05 (4.5) / 54.06 (HC<sup>19</sup>); 3.83 (12.1) / 61.99 (H<sub>b</sub>C<sup>20'</sup>); 3.77 (11.7) / 61.99 (H<sub>a</sub>C<sup>20'</sup>); 3.72 (10.8) / 63.02 (H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>); 3.66 (10.8) / 63.02 (H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>); 1.75 (6.8) / 23.86 (H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>); 1.63 (6.8) / 23.86 (H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>) a 0.97 (7.3) / 9.88 (HC<sup>22</sup>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-*gHMBC* spektru 14 (obrázek 99, příloha) jsou signály  $\delta_{13C}$  (ppm) = 158.98 s krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm.),  $J$  (Hz): 5.88, *s*, HN<sup>2</sup> (sl. int.) a 4.05, *d*, 4.5, HC<sup>19</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 156.25 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.77, *s*, HN<sup>6</sup> (stř. int.) a 7.34, *d*, 7.5, HC<sup>15</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 154.41 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 9.50, 1H, *s*, HO<sup>11'</sup> (sl. int.), 7.34, *d*, 7.5, HC<sup>15</sup> (sl. int.), 7.13, *d*, 7.8, HC<sup>13</sup> (stř. int.), 6.94, *d*, 7.8, HC<sup>12</sup> (s. int.), 6.79, *d*, 7.5, HC<sup>14</sup> (stř. int.) a 4.77, *s*, HC<sup>9</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 150.43 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 8.04, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.) a 5.96, *d*, 5.6, HC<sup>16</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 129.13 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.77, *s*, HN<sup>6</sup> (sl. int.), 7.34, *d*, 7.5, HC<sup>15</sup> (s. int.), 7.13, *d*, 7.8, HC<sup>13</sup> (sl. int.), 6.94, *d*, 7.8, HC<sup>12</sup> (sl. int.), 6.79, *d*, 7.5, HC<sup>14</sup> (stř. int.) a 4.77, *s*, HC<sup>9</sup> (stř. int.) a  $\delta_{13C}$  = 114.92

s krosplikem,  $\delta_{1H}$ : 8.04, s, HC<sup>8</sup> (stř. int.). Po analýze, dá se uvést, že kvartérními uhlíky,  $\delta_{13C}$  jsou: 114.92 (C<sup>5</sup>), 129.13 (C<sup>10</sup>), 150.43 (C<sup>4</sup>), 154.41 (C<sup>11</sup>), 156.25 (C<sup>6</sup>) a 158.98 (C<sup>2</sup>). Dál, jsou signály s  $\delta_{13C} / \delta_{1H}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 136.74 / 8.04, d, 205.7, HC<sup>8</sup> s krosplik s  $\delta_{1H}$  (ppm): 5.96, s, HC<sup>16</sup> (stř. int.); 128.11 / 7.34, d, 156.0, HC<sup>15</sup> s krospíky 7.77, s, HN<sup>6</sup> (sl. int.), 7.13, d, 7.8, HC<sup>13</sup> (stř. int.), 6.94, d, 7.8, HC<sup>12</sup> (sl. int.), 6.79, d, 7.5, HC<sup>14</sup> (s. int.) a 4.77, s, HC<sup>9</sup> (sl. int.); 127.58 / 7.13, d, 158.2, HC<sup>13</sup> s krospíky 7.34, d, 7.5, HC<sup>15</sup> (stř. int.), 6.94, d, 7.8, HC<sup>12</sup> a 6.79, d, 7.5, HC<sup>14</sup> (poslední dva jsou – s. int.); 118.88 / 6.79, d, 158.0, HC<sup>14</sup> s krospíky 7.34, d, 7.5, HC<sup>15</sup>, 7.13, d, 7.8, HC<sup>13</sup> (oba jsou - s. int.) a 6.94, d, 7.8, HC<sup>12</sup> (stř. int.); 113.68 / 6.94, d, 160.5, HC<sup>12</sup> s krospíky 9.50, s, HO<sup>11'</sup> (sl. int.), 7.34, d, 7.5, HC<sup>15</sup> (sl. int.), 7.13, d, 7.8, HC<sup>13</sup> (s. int.) a 6.79, d, 7.5, HC<sup>14</sup> (stř. int.); 88.29 / 5.96, d, 139.8, HC<sup>16</sup> s krospíky 8.04, s, HC<sup>8</sup> (stř. int.), 4.90, d, 14.2, HC<sup>17</sup> (s. int.), 4.45, s, HC<sup>18</sup>, (stř. int.) a 4.17, s, HC<sup>19'</sup> (sl. int.); 85.80 / 4.17, d, 143.2, HC<sup>19'</sup> s krospíky 5.96, d, 5.6, HC<sup>16</sup> (sl. int.), 4.90, d, 14.2, HC<sup>17</sup> (stř. int.), 4.45, s, HC<sup>18</sup> (s. int.), 3.83, d, 12.1, H<sub>b</sub>C<sup>20'</sup> a 3.77, d, 11.7, H<sub>a</sub>C<sup>20'</sup> (oba jsou - s. int.); 73.04 / 4.90, d, 150.3, HC<sup>17</sup> s krospíky 5.96, d, 5.6, HC<sup>16</sup> (s. int.), 5.40, s, HO<sup>17'</sup> (sl. int.), 4.45, s, HC<sup>18</sup> (s. int.), 4.17, s, HC<sup>19'</sup> (stř. int.), 3.83, d, 12.1, H<sub>b</sub>C<sup>20'</sup> a 3.77, d, 11.7, H<sub>a</sub>C<sup>20'</sup> (poslední dva jsou – sl. int.); 71.12 / 4.45, d, 145.5, HC<sup>18</sup> s krospíky 5.96, d, 5.6, HC<sup>16</sup> (stř. int.), 5.22, s, HO<sup>18'</sup> (sl. int.), 4.90, d, 14.2, HC<sup>17</sup>, 4.17, s, HC<sup>19'</sup> (oba jsou - s. int.), 3.83, d, 12.1, H<sub>b</sub>C<sup>20'</sup> a 3.77, d, 11.7, H<sub>a</sub>C<sup>20'</sup> (oba jsou stř. int.); 63.02 / 3.72, d, 123.2, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> s krospíky 5.88, s, HN<sup>2</sup> (sl. int.), 4.05, d, 21.5, HC<sup>19</sup> (s. int.), 1.75, d, 17.3, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>, (stř. int.), 1.63, d, 16.0, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (stř. int.); 63.02 / 3.66, d, 120.0, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> s krospíky 5.88, s, HN<sup>2</sup> (sl. int.), 4.05, d, 20.9, HC<sup>19</sup> (s. int.), 1.75, d, 17.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> a 1.63, d, 16.8, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (oba jsou - stř. int.); 61.99 / 3.83, d, 163.2, H<sub>b</sub>C<sup>20'</sup> / 3.77, d, 160.5, H<sub>a</sub>C<sup>20'</sup> s krospíky 5.40, s, HO<sup>20''</sup>, 4.90, d, 14.2, HC<sup>17</sup> (oba jsou - sl. int.), 4.45, s, HC<sup>18</sup> (stř. int.) a 4.17, s, HC<sup>19'</sup> (s. int.); 54.06 / 4.05, d, 172.9, HC<sup>19</sup> s krospíky 5.88, s, HN<sup>2</sup> (sl. int.), 3.72, d, 28.2, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 3.66, d, 28.0, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 1.75, t, 39.9, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.63, t, 42.0, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.) a 0.97, t, 9.5, HC<sup>22</sup> (stř. int.); 38.96 / 4.77, d, 140.2, HC<sup>9</sup> s krospíky 7.77, s, HN<sup>6</sup> (sl. int.) a 7.34, d, 7.5, HC<sup>15</sup> (stř. int.); 23.86 / 1.75, d, 160.1, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> / 1.63, d, 160.0, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> s krospíky 3.72, s, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 3.66, s, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (stř. int.), 0.97, t, 7.3, HC<sup>22</sup> (s. int.); 9.88 / 0.97, d, 130.5, HC<sup>22</sup> s krospíky 4.05, d, 16.9, HC<sup>19</sup> (stř. int.), 1.75, d, 48.3, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.) a 1.63, d, 48.1, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.). Po analýze, se dá konstatovat, že uhlíky CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> skupin jsou,  $\delta_{13C}$ : 9.88 (HC<sup>22</sup>); 23.86 (HC<sup>21</sup>); 38.96 (HC<sup>9</sup>); 54.06 (HC<sup>19</sup>); 61.99 (HC<sup>20'</sup>); 63.02 (HC<sup>20</sup>); 71.12 (HC<sup>18</sup>); 73.04 (HC<sup>17</sup>); 85.80 (C<sup>19'</sup>); 88.29 (C<sup>16</sup>); 113.68 (C<sup>12</sup>); 118.88 (C<sup>14</sup>); 127.58 (C<sup>13</sup>); 128.11 (C<sup>15</sup>) a 136.74 (HC<sup>8</sup>).

V {<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N}-gHMBC, ( $J = 8; 32$  Hz) spektrech 14 (obrázek 100, příloha) jsou signály,  $\delta_{1H} / \delta_{15N}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 4.05 / 92.42, s, HC<sup>19</sup>; 3.72 / 92.42, s, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> a 3.66 / 92.42, s, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 7.77 / 105.22, d, 96.8, HN<sup>6</sup> bez krospliků; 8.04 / 160.15, s, HC<sup>8</sup> a 5.96 / 160.15, s, HC<sup>16</sup>; 5.88 / 170.03, s, HN<sup>2</sup> (sl. int.) bez dalších krospliků; 7.77 / 185.33, s, HN<sup>6</sup> (sl. int.) bez dalších krospliků; 8.04 / 235.97, s, HC<sup>8</sup>. Dusíkové signály, po analýze dat se dá přiřadit,  $\delta_{15N}$  (ppm): 92.42 (N<sup>2</sup>), 105.22 (N<sup>6</sup>), 160.15 (N<sup>9</sup>), 170.03 (N<sup>3</sup>), 185.33 (N<sup>1</sup>) a 235.97 (N<sup>7</sup>).

### 8.1.15. Interpretace $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a $^{15}\text{N}$ signálů {N6-(3-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu.

V  $^1\text{H}$ -spektru {N6-(3-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu (15, obrázek 101, příloha) jsou 24 signálů, odpovídajících vodíkům zkoumané látky,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 9.42, 1H, *br*; 7.98, 1H, *s*; 7.88, 1H, *br*; 7.15, 1H, *t*, 7.8; 6.98, 1H, *t*, 2.0; 6.90, 1H, *d*, 7.5; 6.75, 1H, *dd*, 7.9, 2.0; 5.92, 1H, *dd*, 6.4, 2.1; 5.75, *br*; 5.60, 1H, *br*; 5.40, 2H, *br*; 5.23, 1H, *br*; 4.87, 1H, *dt*, 15.6, 5.8; 4.74, 2H, *br*; 4.39, 1H, *qui*, 2.5; 4.13, 1H, *q*, 2.9; 4.01, 1H, *sxt*, 4.5; 3.84, 1H, *dd*, 12.2, 3.1; 3.73, 1H, *dt*, 11.5, 2.8; 3.68, 1H, *dd*, 10.8, 4.3; 3.60, 1H, *dq*, 10.7, 2.5; 1.73, 1H, *sept*, 6.8, 2.0; 1.59, 1H, *sep*, 6.9; 0.94, 3H, *td*, 7.3, 2.7, HC<sup>22</sup> (předpoklad). Předpokládáme, že signály,  $\delta$ : 9.42, 1H, *br*; 7.88, 1H, *br*; 5.75, 1H, *br*; 5.60, 1H, *br*; 5.40, 2H, *br* a 4.74, 2H, *br* patří vodíkům HO<sup>11'</sup>, HN<sup>6</sup>, HN<sup>2</sup>, HO<sup>17'</sup>, HO<sup>20',18'</sup> a HO<sup>20'</sup> (jsou charakteristické pro hydroxy- a iminoskupiny)<sup>[59]</sup>. Signály 7.15, 1H, *t*, 7.8; 6.98, 1H, *t*, 2.0; 6.90, 1H, *d*, 7.5 a 6.75, 1H, *dd*, 7.9, 2.0 patří vodíkům benzenového cyklu HC<sup>14</sup>, HC<sup>11</sup>, HC<sup>15</sup> a HC<sup>13</sup>, nebo naopak: HC<sup>14</sup>, HC<sup>11</sup>, HC<sup>13</sup> a HC<sup>15</sup>. Z ostatních signálů: 4.01, 1H, *sxt*, 4.5; 3.68, 1H, *dd*, 10.8, 4.3; 3.60, 1H, *dq*, 10.7, 2.5; 1.73, 1H, *sept*, 6.8, 2.0 a 1.59, 1H, *sep*, 6.9 v porovnání s předchozím derivátem se dá předpokládat, že patří HC<sup>19</sup>, H<sub>a,b</sub>C<sup>20</sup> a H<sub>a,b</sub>C<sup>21</sup>. V COSY ( $\Theta = 90^\circ$ ) spektru 15 (obrázek 102, příloha) jsou signály krosníků,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 7.98<sup>(s, HC8)</sup> / 5.92<sup>(d, 6.4, HC16)</sup> (stř. int.); 7.88<sup>(s, HN6)</sup> / 6.98<sup>(s, HC11)</sup> / 6.90<sup>(d, 7.5, HC15)</sup> / 4.74<sup>(s, HC9)</sup> (všichni tři jsou - sl. int.); 7.15<sup>(t, 7.8, HC14)</sup> / 6.98<sup>(s, HC11)</sup> (sl. int.) / 6.90<sup>(d, 7.5, HC15)</sup> (s. int.) / 6.75<sup>(d, 7.9, HC13)</sup> (s. int.); 6.98<sup>(s, HC11)</sup> / 7.88<sup>(s, HN6)</sup> (sl. int.) / 7.15<sup>(t, 7.8, HC14)</sup> (sl. int.) / 6.90<sup>(d, 7.5, HC15)</sup> (stř. int.) / 6.75<sup>(d, 7.9, HC13)</sup> (stř. int.) / 4.74<sup>(s, HC9)</sup> (sl. int.); 6.90<sup>(d, 7.5, HC15)</sup> / 7.88<sup>(s, HN6)</sup> (sl. int.) / 7.15<sup>(t, 7.8, HC14)</sup> (s. int.) / 6.98<sup>(s, HC11)</sup> (sl. int.) / 6.75<sup>(d, 7.9, HC13)</sup> (stř. int.) / 4.74<sup>(s, HC9)</sup> (sl. int.); 6.75<sup>(t, 7.9, HC13)</sup> / 7.15<sup>(t, 7.8, HC14)</sup> (s. int.) / 6.98<sup>(s, HC11)</sup> (stř. int.) / 6.90<sup>(d, 7.5, HC15)</sup> (stř. int.); 5.92<sup>(d, 6.4, HC16)</sup> / 7.98<sup>(s, HC8)</sup> (stř. int.) / 4.87<sup>(d, 15.6, HC17)</sup> (s. int.) / 4.39<sup>(s, HC18)</sup> (stř. int.) / 4.13<sup>(s, HC19)</sup> (sl. int.); 5.75<sup>(s, HN2)</sup> / 4.01<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> (stř. int.); 5.60<sup>(s, HO17')</sup> / 4.87<sup>(d, 15.6, HC17)</sup> (sl. int.); 5.40<sup>(s, HO20')</sup> / 3.84<sup>(d, 12.2, HbC20')</sup> / 3.73<sup>(d, 11.5, HaC20')</sup> (oba jsou - sl. int.); 5.40<sup>(s, HO18')</sup> / 4.39<sup>(s, HC18)</sup> (sl. int.); 5.23<sup>(s, HO20')</sup> / 3.68<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.60<sup>(d, 10.7, HaC20)</sup> (oba jsou - sl. int.); 4.87<sup>(d, 15.6, HC17)</sup> / 5.92<sup>(d, 6.4, HC16)</sup> (s. int.) / 5.60<sup>(s, HO17')</sup> (sl. int.) / 4.39<sup>(s, HC18)</sup> (s. int.) / 4.13<sup>(s, HC19)</sup> (sl. int.); 4.74<sup>(s, HC9)</sup> / 7.88<sup>(s, HN6)</sup> / 6.98<sup>(s, HC11)</sup> / 6.90<sup>(d, 7.5, HC15)</sup> (všichni tři jsou - sl. int.); 4.39<sup>(s, HC18)</sup> / 5.92<sup>(d, 6.4, HC16)</sup> (sl. int.) / 5.40<sup>(s, HO18')</sup> (sl. int.) / 4.87<sup>(d, 15.6, HC17)</sup> / 4.13<sup>(s, HC19)</sup> (oba jsou - s. int.) / 3.84<sup>(d, 12.2, HbC20')</sup> / 3.73<sup>(d, 11.5, HaC20')</sup> (oba jsou stř. int.); 4.13<sup>(s, HC19)</sup> / 4.87<sup>(d, 15.6, HC17)</sup> (stř. int.) / 4.39<sup>(s, HC18)</sup> / 3.84<sup>(d, 12.2, HbC20')</sup> / 3.73<sup>(d, 11.5, HaC20')</sup> (poslední tři jsou - s. int.); 4.01<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> / 5.75<sup>(s, HN2)</sup> (stř. int.) / 3.68<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.60<sup>(d, 10.7, HaC20)</sup> / 1.73<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.59<sup>(t, 6.9, HaC21)</sup> (poslední čtyři signály jsou - s. int.) / 0.94<sup>(s, HC22)</sup> (stř. int.); 3.84<sup>(d, 12.2, HbC20')</sup> / 4.39<sup>(s, HC18)</sup> (stř. int.) / 4.13<sup>(s, HC19)</sup> / 3.73<sup>(d, 11.5, HaC20')</sup> (oba jsou - s. int.); 3.73<sup>(d, 11.5, HaC20')</sup> / 4.39<sup>(s, HC18)</sup> (stř. int.) / 4.13<sup>(s, HC19)</sup> / 3.84<sup>(d, 12.2, HbC20')</sup> (oba jsou - s. int.); 3.68<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 5.23<sup>(s, HO20')</sup> (sl. int.) / 4.01<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> / 3.60<sup>(d, 10.7, HaC20)</sup> (poslední dva signály jsou oba - s. int.) / 1.73<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.59<sup>(t, 6.9, HaC21)</sup> (oba jsou - stř. int.) / 0.94<sup>(s, HC22)</sup> (sl. int.); 3.60<sup>(d, 10.7, HaC20)</sup> / 5.23<sup>(s, HO20')</sup> (sl. int.) / 4.01<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> / 3.68<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> (poslední dva signály jsou oba - s. int.) / 1.73<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.59<sup>(t, 6.9, HaC21)</sup> (oba jsou - stř. int.) / 0.94<sup>(s, HC22)</sup> (sl. int.); 1.73<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 4.01<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> (s. int.) / 3.68<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.60<sup>(d, 10.7, HaC20)</sup> (oba jsou - stř. int.) / 1.59<sup>(t, 6.9, HaC21)</sup> / 0.94<sup>(s, HC22)</sup> (oba jsou - s. int.); 1.59<sup>(t, 6.9, HaC21)</sup> / 4.01<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> (s. int.) / 3.68<sup>(d, 10.8, HbC20)</sup> / 3.60<sup>(d, 10.7, HaC20)</sup> (oba jsou - stř. int.) / 1.73<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 0.94<sup>(s, HC22)</sup> (oba jsou - s. int.) a nakonec, 0.94<sup>(t, 7.3, HC22)</sup> / 4.01<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> (stř. int.) /

3.68<sup>(d, 10.8, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>)</sup> / 3.60<sup>(d, 10.7, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>)</sup> (oba jsou sl. int.) / 1.73<sup>t, 6.8, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>)</sup> / 1.59<sup>(t, 6.9, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>)</sup> (oba jsou – s. int.). <sup>1</sup>H signály se dá přiřadit,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 0.94, 3H, *td*, 7.3, 2.7, HC<sup>22</sup>; 1.59, 1H, *sep*, 6.9, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.73, 1H, *sept*, 6.8, 2.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 3.60, 1H, *dq*, 10.7, 2.5, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.68, 1H, *dd*, 10.8, 4.3, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 3.73, 1H, *dt*, 11.5, 2.8, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.84, 1H, *dd*, 12.2, 3.1, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 4.01, 1H, *sxt*, 4.5, HC<sup>19</sup>; 4.13, 1H, *q*, 2.9, HC<sup>19</sup>; 4.39, 1H, *qui*, 2.5, HC<sup>18</sup>; 4.74, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.87, 1H, *dt*, 15.6, 5.8, HC<sup>17</sup>; 5.23, 1H, *br*, HO<sup>20</sup>; 5.40, 2H, *br*, HO<sup>18,20</sup>; 5.60, 1H, *br*, HO<sup>17</sup>; 5.75, 1H, *br*, HN<sup>2</sup>; 5.92, 1H, *dd*, 6.4, 2.1, HC<sup>16</sup>; 6.75, 1H, *dd*, 7.9, 2.0, HC<sup>13</sup>; 6.90, 1H, *d*, 7.5, HC<sup>15</sup>; 6.98, 1H, *t*, 2.0, HC<sup>11</sup>; 7.15, 1H, *t*, 7.8, HC<sup>14</sup>; 7.88, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 7.98, 1H, *s*, HC<sup>8</sup> a 9.42, 1H, *br*, HO<sup>12</sup>. Přiřazení <sup>1</sup>H signálů potvrdily také výsledky {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-*gROESY* (obrázek 103, příloha). Mimo krosníky, které neprokazují konformační vlastnosti molekuly, byly pozorovány krosníky: 7.98<sup>(s, HC<sup>8</sup>)</sup> / 5.92<sup>(d, 6.4, HC<sup>16</sup>)</sup> a 7.98<sup>(s, HC<sup>8</sup>)</sup> / 4.87<sup>(d, 15.6, HC<sup>17</sup>)</sup>, které naopak prokazují otočení ribosového cyklu kolem vazby N9-C16 vlevo (jak je na obrázku 103, příloha). V opačném případě: jestli by ribosová část byla otočená vpravo, byl by, s největší pravděpodobností, pozorován krosník 7.98<sup>(s, HC<sup>8</sup>)</sup> / 4.13<sup>(HC<sup>19</sup>)</sup>. Stejně, jako u předchozího derivátu - {N6-(4-amin-N-3,5-dimethylpyrimidin-benzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu (13), je pozorován krosník: 6.98<sup>(s, HC<sup>11</sup>)</sup> / 4.01<sup>(d, 4.5, HC<sup>19</sup>)</sup>, který prokazuje, že R6 (benzylový cyklus) je otočen vlevo, relativně purinové části molekuly (jak je na obrázku 103, příloha).

V {H}<sup>13</sup>C-spektru 15 (obrázek 104, příloha) jsou 21 uhlíkových signálů odpovídajících zkoumanému vzorku,  $\delta$  (ppm): 10.24, 24.22, 43.08, 54.45, 62.45, 63.45, 71.60, 73.79, 86.34, 88.68, 113.92, 114.27, 114.70, 118.11, 129.08, 136.80, 142.11, 150.86, 154.93, 157.83 a 159.51. Dá se předpokladat ( $>\delta$ ): C22, C21, C9, C19, C20, C20', C18, C17, C19', C16, C13, C5, C11, C15, C14, C8, C10, C4, C6, C12 a C2. V <sup>13</sup>C (APT) spektru 15 (obrázek 105, příloha) jsou signály,  $\delta$  (ppm): 159.51, 157.83, 154.93, 150.86, 142.11, 114.27, 63.45, 62.45, 43.08 a 24.22 - v pozitivním modu (6 signálů - odpovídajících kvartérním uhlíkům a 4 signály - uhlíkům skupin CH<sub>2</sub>). Signály v negativním modu,  $\delta$  (ppm) jsou: 136.80, 129.08, 118.11, 114.70, 113.92, 88.68, 86.34, 73.79, 71.60, 54.45 a 10.24 (11 signálů – patří skupinám CH a CH<sub>3</sub>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-*gHMQC* spektru 15 (obrázek 106, příloha) jsou 15 signálů s  $\delta_{1H}$  ( $J$ ) /  $\delta_{13C}$  (ppm), které po přiřazení vodíkových signálů pomocí 2D {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-*gCOSY* dá se identifikovat: 7.98 / 136.80 (HC<sup>8</sup>); 7.15 (7.8) / 129.08 (HC<sup>14</sup>); 6.98 (2.0) / 114.70 (HC<sup>11</sup>); 6.90 (7.5) / 118.11 (HC<sup>15</sup>); 6.75 (7.9) / 113.92 (HC<sup>13</sup>); 5.92 (6.4) / 88.68 (HC<sup>16</sup>); 4.87 (15.6) / 73.79 (HC<sup>17</sup>); 4.74 / 43.08 (HC<sup>9</sup>); 4.39 (2.5) / 71.60 (HC<sup>18</sup>); 4.13 (2.9) / 86.34 (HC<sup>19</sup>); 4.01 (4.5) / 54.45 (HC<sup>19</sup>); 3.84 (12.2) / 62.45 (H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>); 3.73 (11.5) / 62.45 (H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>); 3.68 (10.8) / 63.45 (H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>); 3.60 (10.7) / 63.45 (H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>); 1.73 (6.8) / 24.22 (H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>); 1.59 (6.9) / 24.22 (H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>) a 0.94 (7.3) / 10.24 (HC<sup>22</sup>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-*gHMBC* spektru 15 (obrázek 107, příloha) jsou signály  $\delta_{13C}$  (ppm) = 159.51 s krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm.),  $J$  (Hz): 5.75, *s*, HN<sup>2</sup> (sl. int.) a 4.01, *d*, 4.5, HC<sup>19</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 157.83 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 9.42, 1H, *s*, HO<sup>11</sup> (sl. int.), 7.15, *d*, 7.8, HC<sup>14</sup> (stř. int.), 6.98, *s*, HC<sup>11</sup> (s. int.), 6.90, *d*, 7.5, HC<sup>15</sup> (stř. int.), 6.75, *d*, 7.9, HC<sup>13</sup> (s. int.) a 4.74, *s*, HC<sup>9</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 154.93 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.88, *s*, HN<sup>6</sup> (stř. int.), 6.98, *s*, HC<sup>11</sup>, 6.90, *d*, 7.5, HC<sup>15</sup> a 4.74, *s*, HC<sup>9</sup> (poslední tři jsou – sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 150.86 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.98, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.) a 5.92, *d*, 6.4, HC<sup>16</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 142.11 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.88, *s*, HN<sup>6</sup> (sl. int.), 7.15, *d*, 7.8, HC<sup>14</sup> (stř. int.), 6.98, *d*, 2.0, HC<sup>11</sup> (s. int.), 6.90, *d*, 7.5, HC<sup>15</sup> (s. int.), 6.75, *d*, 7.9, HC<sup>13</sup> (sl. int.) a 4.74, *s*, HC<sup>9</sup> (stř. int.) a  $\delta_{13C}$  = 114.27 s krosníkem,  $\delta_{1H}$ : 7.98, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.). Po analýze, dá se uvést, že kvartérními uhlíky,  $\delta_{13C}$  jsou: 114.27 (C<sup>5</sup>), 142.11 (C<sup>10</sup>), 150.86 (C<sup>4</sup>),

154.93 (C<sup>6</sup>), 157.83 (C<sup>12</sup>) a 159.51 (C<sup>2</sup>). Dál, jsou signály s  $\delta_{13C} / \delta_{1H}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 136.80 / 7.98, *d*, 206.0, HC<sup>8</sup> s krosníkem s  $\delta_{1H}$  (ppm): 5.92, *s*, HC<sup>16</sup> (stř. int.); 129.08 / 7.15, *d*, 165.3, HC<sup>14</sup> s krosníky 6.98, *s*, HC<sup>11</sup> (sl. int.), 6.90, *d*, 7.5, HC<sup>15</sup> (s. int.), 6.75, *d*, 8.0, HC<sup>13</sup> (s. int.); 118.11 / 6.90, *d*, 159.2, HC<sup>15</sup> s krosníky 7.88, *s*, HN<sup>6</sup> (sl. int.), 7.15, *d*, 7.8, HC<sup>14</sup> (s. int.), 6.98, *s*, HC<sup>11</sup> (sl. int.), 6.75, *d*, 7.9, HC<sup>13</sup> (stř. int.) a 4.74, *s*, HC<sup>9</sup> (sl. int.); 114.70 / 6.98, *d*, 151.0, HC<sup>11</sup> s krosníky 7.88, *s*, HN<sup>6</sup>, 7.15, *d*, 7.8, HC<sup>14</sup> (oba jsou - sl. int.), 6.90, *d*, 7.5, HC<sup>15</sup>, 6.75, *d*, 7.9, HC<sup>13</sup> (poslední dvě jsou - stř. int.) a 4.74, *s*, HC<sup>9</sup> (sl. int.); 113.92 / 6.75, *d*, 162.3, HC<sup>13</sup> s krosníky 7.15, *d*, 7.8, HC<sup>14</sup> (s. int.), 6.98, *d*, 2.0, HC<sup>11</sup> (sl. int.) a 6.90, *d*, 7.5, HC<sup>15</sup> (stř. int.); 88.68 / 5.92, *d*, 140.1, HC<sup>16</sup> s krosníky 7.98, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.), 4.87, *d*, 14.0, HC<sup>17</sup> (s. int.), 4.39, *s*, HC<sup>18</sup>, (stř. int.) a 4.13, *s*, HC<sup>19'</sup> (sl. int.); 86.34 / 4.13, *d*, 142.9, HC<sup>19'</sup> s krosníky 5.92, *d*, 6.4, HC<sup>16</sup> (sl. int.), 4.87, *d*, 15.6, HC<sup>17</sup> (stř. int.), 4.39, *s*, HC<sup>18</sup> (s. int.), 3.84, *d*, 12.2, H<sub>b</sub>C<sup>20'</sup> a 3.73, *d*, 11.5, H<sub>a</sub>C<sup>20'</sup> (oba jsou - s. int.); 73.79 / 4.87, *d*, 150.8, HC<sup>17</sup> s krosníky 5.92, *d*, 6.4, HC<sup>16</sup> (s. int.), 5.60, *s*, HO<sup>17'</sup> (sl. int.), 4.39, *s*, HC<sup>18</sup> (s. int.), 4.13, *s*, HC<sup>19'</sup> (stř. int.), 3.84, *d*, 12.2, H<sub>b</sub>C<sup>20'</sup> a 3.73, *d*, 11.5, H<sub>a</sub>C<sup>20'</sup> (poslední dva jsou - sl. int.); 71.60 / 4.39, *d*, 146.0, HC<sup>18</sup> s krosníky 5.92, *d*, 6.4, HC<sup>16</sup> (stř. int.), 5.40, *s*, HO<sup>18'</sup> (sl. int.), 4.87, *d*, 15.6, HC<sup>17</sup>, 4.13, *s*, HC<sup>19'</sup> (oba jsou - s. int.), 3.84, *d*, 12.2, H<sub>b</sub>C<sup>20'</sup> a 3.73, *d*, 11.5, H<sub>a</sub>C<sup>20'</sup> (oba jsou stř. int.); 63.45 / 3.68, *d*, 123.8, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> / 3.60, *d*, 120.6, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> s krosníky 5.75, *s*, HN<sup>2</sup> (sl. int.), 4.01, *d*, 21.0, HC<sup>19</sup> (s. int.), 1.73, *d*, 15.6, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>, (stř. int.), 1.59, *d*, 15.0, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (stř. int.); 62.45 / 3.84, *d*, 163.5, H<sub>b</sub>C<sup>20'</sup> / 3.73, *d*, 161.0, H<sub>a</sub>C<sup>20'</sup> s krosníky 5.40, *s*, HO<sup>20''</sup>, 4.87, *d*, 15.6, HC<sup>17</sup> (oba jsou - sl. int.), 4.39, *s*, HC<sup>18</sup> (stř. int.) a 4.13, *s*, HC<sup>19'</sup> (s. int.); 54.45 / 4.01, *d*, 173.1, HC<sup>19</sup> s krosníky 5.75, *s*, HN<sup>2</sup> (sl. int.), 3.68, *d*, 27.9, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 3.60, *d*, 28.0, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 1.73, *d*, 40.9, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.59, *d*, 42.3, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.) a 0.94, *d*, 10.0, HC<sup>22</sup> (stř. int.); 43.08 / 4.74, *d*, 142.5, HC<sup>9</sup> s krosníky 7.88, *s*, HN<sup>6</sup> (sl. int.) a 6.98, *s*, HC<sup>11</sup> a 6.90, *d*, 7.5, HC<sup>15</sup> (oba jsou - stř. int.); 24.22 / 1.73, *d*, 160.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> / 1.59, *d*, 159.6, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> s krosníky 3.68, *s*, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>, 3.60, *s*, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (oba jsou - stř. int.) a 0.94, *t*, 7.3, HC<sup>22</sup> (s. int.); 10.24 / 0.94, *d*, 131.2, HC<sup>22</sup> s krosníky 4.01, *d*, 17.0, HC<sup>19</sup> (stř. int.), 1.73, *d*, 47.1, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.) a 1.59, *d*, 48.2, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.). Po analýze, se dá konstatovat, že uhlíky CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> skupin jsou,  $\delta_{13C}$ : 10.24 (HC<sup>22</sup>); 24.22 (HC<sup>21</sup>); 43.08 (HC<sup>9</sup>); 54.45 (HC<sup>19</sup>); 62.45 (HC<sup>20</sup>); 63.45 (HC<sup>20'</sup>); 71.60 (HC<sup>18</sup>); 73.79 (HC<sup>17</sup>); 86.34 (HC<sup>19'</sup>); 88.68 (HC<sup>16</sup>); 113.92 (HC<sup>13</sup>); 114.70 (HC<sup>11</sup>); 118.11 (HC<sup>15</sup>); 129.08 (HC<sup>14</sup>) a 136.80 (HC<sup>8</sup>).

V {<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N}-*gHMBC*, ( $J = 8; 32$  Hz) spektrech 15 (obrázek 108, příloha) jsou signály krosníků,  $\delta_{1H} / \delta_{15N}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 4.01 / 92.43, *s*, HC<sup>19</sup> (s. int.); 3.68 / 92.43, *s*, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 3.60 / 92.43, *s*, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (oba jsou - stř. int.); 1.73 / 92.43, *s*, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> a 1.59 / 92.43, *s*, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (oba jsou - sl. int.); 7.88 / 103.44, *d*, 92.5, HN<sup>6</sup> bez krosníků; 7.98 / 165.64, *s*, HC<sup>8</sup> (s. int.); 5.92 / 165.64, *s*, HC<sup>16</sup> (stř. int.) a 4.87 / 165.64, *d*, 16.5, HC<sup>17</sup> (sl. int.); 5.75 / 172.91, *s*, HN<sup>2</sup> (sl. int.) bez dalších krosníků; 7.88 / 181.25, *s*, HN<sup>6</sup> (sl. int.) bez dalších krosníků a 7.98 / 237.78, *s*, HC<sup>8</sup> (s. int.) bez dalších krosníků, také. Dusíkové signály, po analýze dat se dá přiřadit,  $\delta_{15N}$  (ppm): 92.43 (N<sup>2</sup>), 103.44 (N<sup>6</sup>), 165.64 (N<sup>9</sup>), 172.91 (N<sup>3</sup>), 181.25 (N<sup>1</sup>) a 237.78 (N<sup>7</sup>).



### 8.1.16. Interpretace $^1\text{H}$ a $^{13}\text{C}$ signálů {N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu.

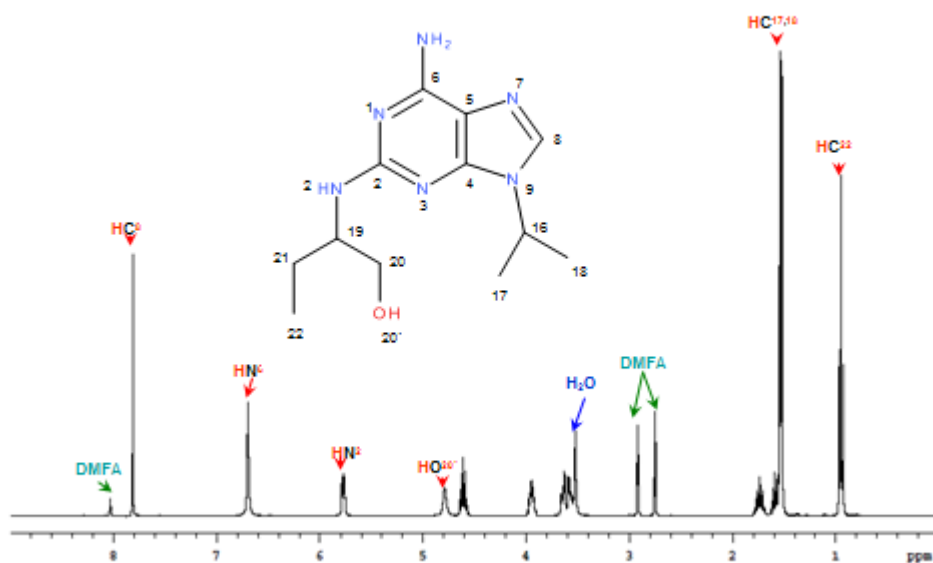
V  $^1\text{H}$ -spektu {N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu (16, obrázek 109, příloha) jsou 25 signálů, odpovídajících vodíkům zkoumané látky,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 9.19, 1H, *br*; 7.98, 1H, *s*; 7.56, 1H, *br*; 6.94, 1H, *d*, 7.8; 6.89, 1H, *d*, 7.8; 6.74, 1H, *t*, 7.8; 5.89, 1H, *dd*, 6.5, 1.8; 5.79, *br*; 5.68, 1H, *br*; 5.50, 1H, *br*; 5.23, 1H, *br*; 5.00, 1H, *br*; 4.85, 1H, *dt*, 11.7, 5.5; 4.76, 2H, *br*; 4.36, 1H, *qui*, 2.5; 4.08, 1H, *q*, 3.3; 3.99, 1H, *sxt*, 4.5; 3.83, 3H, *s*,  $\text{HC}^{12'}$  (předpoklad); 3.81, 1H, *dd*, 11.7, 3.2; 3.70, 1H, *dt*, 11.7, 3.2; 3.63, 1H, *dd*, 10.6, 4.2; 3.66, 1H, *dd*, 10.6, 4.2; 3.59, 1H, *m*; 1.72, 1H, *sep*, 6.8; 1.59, 1H, *sep*, 6.8; 0.94, 3H, *td*, 7.3, 3.8,  $\text{HC}^{22}$  (předpoklad). Předpokládáme, že signály,  $\delta$ : 9.19, 1H, *br*; 7.56, 1H, *br*; 5.79, 1H, *br*; 5.68, 1H, *br*; 5.50, 1H, *br*; 5.23, 1H, *br* a 5.00, 1H, *br* patří vodíkům  $\text{HO}^{11'}$ ,  $\text{HN}^6$ ,  $\text{HN}^2$ ,  $\text{HO}^{17'}$ ,  $\text{HO}^{20''}$ ,  $\text{HO}^{18'}$  a  $\text{HO}^{20'}$  (jsou charakteristické pro hydroxy- a iminoskupiny)<sup>[59]</sup>. Signály 6.94, 1H, *d*, 7.8; 6.89, 1H, *d*, 7.8; 6.74, 1H, *t*, 7.8 patří vodíkům benzenového cyklu  $\text{HC}^{15}$ ,  $\text{HC}^{13}$  a  $\text{HC}^{14}$ , nebo:  $\text{HC}^{13}$ ,  $\text{HC}^{15}$  a  $\text{HC}^{14}$ . Z ostatních signálů: 3.99, 1H, *sxt*, 4.5; 3.66, 1H, *dd*, 10.6, 4.2; 3.59, 1H, *m*; 1.72, 1H, *sep*, 6.8 a 1.59, 1H, *sep*, 6.8 v porovnání s předchozími podobnými deriváty, se dá předpokládat, že patří  $\text{HC}^{19}$ ,  $\text{H}_{\text{a,b}}\text{C}^{20}$  a  $\text{H}_{\text{a,b}}\text{C}^{21}$ . Pro přiřazení vodíkových signálů jsme použily výsledky 2D experimentu  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -*gCOSY* ( $90^\circ$ ) a  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -*TOCSY*. V *COSY* ( $\Theta = 90^\circ$ ) spektru 16 (obrázek 110, příloha) jsou signály krospliků,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 7.98<sup>(s, HC8)</sup> / 5.89<sup>(d, 6.5, HC16)</sup> (stř. int.); 7.56<sup>(s, HN6)</sup> / 6.94<sup>(d, 7.8, HC15)</sup> / 4.76<sup>(s, HC9)</sup> (oba dva jsou - sl. int.); 6.94<sup>(d, 7.8, HC15)</sup> / 7.56<sup>(s, HN6)</sup> (sl. int.) / 6.89<sup>(d, 7.8, HC13)</sup> (stř. int.) / 6.74<sup>(t, 7.8, HC14)</sup> (s. int.) / 4.76<sup>(s, HC9)</sup> (sl. int.); 6.89<sup>(d, 7.8, HC13)</sup> / 6.94<sup>(d, 7.8, HC15)</sup> (stř. int.) / 6.74<sup>(t, 7.8, HC14)</sup> (s. int.); 6.74<sup>(t, 7.8, HC14)</sup> / 6.94<sup>(d, 7.8, HC15)</sup> (s. int.) / 6.89<sup>(d, 7.8, HC13)</sup> (s. int.); 5.89<sup>(d, 6.5, HC16)</sup> / 7.98<sup>(s, HC8)</sup> (stř. int.) / 4.85<sup>(d, 11.7, HC17)</sup> (s. int.) / 4.36<sup>(s, HC18)</sup> (stř. int.) / 4.08<sup>(s, HC19')</sup> (sl. int.); 5.79<sup>(s, HN2)</sup> / 3.99<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> (stř. int.); 5.68<sup>(s, HO17')</sup> / 4.85<sup>(d, 11.7, HC17)</sup> (sl. int.); 5.50<sup>(s, HO20')</sup> / 3.81<sup>(d, 11.7, HbC20')</sup> / 3.70<sup>(d, 11.7, HaC20')</sup> (oba jsou - sl. int.); 5.23<sup>(s, HO18')</sup> / 4.36<sup>(s, HC18)</sup> (sl. int.); 5.00<sup>(s, HO20')</sup> / 3.66<sup>(d, 10.6, HbC20)</sup> / 3.59<sup>(d, 10.6, HaC20)</sup> (oba jsou - sl. int.); 4.85<sup>(d, 11.7, HC17)</sup> / 5.89<sup>(d, 6.5, HC16)</sup> (s. int.) / 5.68<sup>(s, HO17')</sup> (sl. int.) / 4.36<sup>(s, HC18)</sup> (s. int.) / 4.08<sup>(s, HC19')</sup> (sl. int.); 4.76<sup>(s, HC9)</sup> / 7.56<sup>(s, HN6)</sup> / 6.94<sup>(d, 7.8, HC15)</sup> (oba dva jsou - sl. int.); 4.36<sup>(s, HC18)</sup> / 5.89<sup>(d, 6.5, HC16)</sup> / 5.23<sup>(s, HO18')</sup> (oba dva jsou - sl. int.) / 4.85<sup>(d, 11.7, HC17)</sup> / 4.08<sup>(s, HC19')</sup> (oba jsou - s. int.) / 3.81<sup>(d, 11.7, HbC20')</sup> / 3.70<sup>(d, 11.7, HaC20')</sup> (oba jsou - stř. int.); 4.08<sup>(s, HC19')</sup> / 4.85<sup>(d, 11.7, HC17)</sup> (stř. int.) / 4.36<sup>(s, HC18)</sup> / 3.81<sup>(d, 11.7, HbC20')</sup> / 3.70<sup>(d, 11.7, HaC20')</sup> (poslední tři jsou - s. int.); 3.99<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> / 5.79<sup>(s, HN2)</sup> (stř. int.) / 3.66<sup>(d, 10.6, HbC20)</sup> / 3.59<sup>(d, 10.6, HaC20)</sup> / 1.72<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.59<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup> (poslední čtyři signály jsou - s. int.) / 0.94<sup>(s, HC22)</sup> (stř. int.); 3.81<sup>(d, 11.7, HbC20')</sup> / 5.50<sup>(s, HO20')</sup> (sl. int.) / 4.36<sup>(s, HC18)</sup> (stř. int.) / 4.08<sup>(s, HC19')</sup> / 3.70<sup>(d, 11.7, HaC20')</sup> (oba jsou - s. int.); 3.70<sup>(d, 11.7, HaC20')</sup> / 5.50<sup>(s, HO20')</sup> (sl. int.) / 4.36<sup>(s, HC18)</sup> (stř. int.) / 4.08<sup>(s, HC19')</sup> / 3.81<sup>(d, 11.7, HbC20')</sup> (oba jsou - s. int.); 3.66<sup>(d, 10.6, HbC20)</sup> / 5.00<sup>(s, HO20')</sup> (sl. int.) / 3.99<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> / 3.59<sup>(d, 10.6, HaC20)</sup> (poslední dva signály jsou oba - s. int.) / 1.72<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.59<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup> (oba jsou - stř. int.) / 0.94<sup>(s, HC22)</sup> (sl. int.); 3.59<sup>(d, 10.6, HaC20)</sup> / 5.00<sup>(s, HO20')</sup> (sl. int.) / 3.99<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> / 3.66<sup>(d, 10.6, HbC20)</sup> (poslední dva signály jsou oba - s. int.) / 1.72<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 1.59<sup>(t, 6.9, HaC21)</sup> (oba jsou - stř. int.) / 0.94<sup>(s, HC22)</sup> (sl. int.); 1.72<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 3.99<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> (s. int.) / 3.66<sup>(d, 10.6, HbC20)</sup> / 3.59<sup>(d, 10.6, HaC20)</sup> (oba jsou - stř. int.) / 1.59<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup> / 0.94<sup>(s, HC22)</sup> (oba jsou - s. int.); 1.59<sup>(t, 6.8, HaC21)</sup> / 3.99<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> (s. int.) / 3.66<sup>(d, 10.6, HbC20)</sup> / 3.59<sup>(d, 10.6, HaC20)</sup> (oba jsou - stř. int.) / 1.72<sup>(t, 6.8, HbC21)</sup> / 0.94<sup>(s, HC22)</sup> (oba jsou - s. int.) a nakonec, 0.94<sup>(t, 7.3, HC22)</sup> / 3.99<sup>(d, 4.5, HC19)</sup> (stř. int.) / 3.66<sup>(d, 10.6, HbC20)</sup> / 3.59<sup>(d, 10.6, HaC20)</sup> (oba jsou sl. int.) / 1.72<sup>t</sup>.

6.8, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>) / 1.59(<sup>t</sup>, 6.8, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>) (oba jsou – s. int.). <sup>1</sup>H signály se dá přiřadit,  $\delta$  (ppm) a  $J$  (Hz): 0.94, 3H, *td*, 7.3, 3.8, HC<sup>22</sup>; 1.59, 1H, *sep*, 6.8, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup>; 1.72, 1H, *sep*, 6.8, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>; 3.59, 1H, *m*, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.66, 1H, *dd*, 10.6, 4.2, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 3.70, 1H, *dt*, 11.7, 3.2, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup>; 3.81, 1H, *dd*, 11.7, 3.2, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>; 3.83, 3H, *s*, HC<sup>12</sup>; 3.99, 1H, *sxt*, 4.5, HC<sup>19</sup>; 4.08, 1H, *q*, 3.3, HC<sup>19</sup>; 4.36, 1H, *qui*, 2.5, HC<sup>18</sup>; 4.76, 2H, *br*, HC<sup>9</sup>; 4.85, 1H, *dt*, 11.7, 5.5, HC<sup>17</sup>; 5.00, 1H, *br*, HO<sup>20</sup>; 5.23, 1H, *br*, HO<sup>18</sup>; 5.50, 1H, *br*, HO<sup>20</sup>; 5.68, 1H, *br*, HO<sup>17</sup>; 5.79, 1H, *br*, HN<sup>2</sup>; 5.89, 1H, *dd*, 6.5, 1.8, HC<sup>16</sup>; 6.74, 1H, *t*, 7.8, HC<sup>14</sup>; 6.89, 1H, *d*, 7.8, HC<sup>13</sup>; 6.94, 1H, *d*, 7.8, HC<sup>15</sup>; 7.56, 1H, *br*, HN<sup>6</sup>; 7.98, 1H, *s*, HC<sup>8</sup> a 9.19, 1H, *br*, HO<sup>11</sup>. TOCSY spektrum 16 (obrázek 111, příloha) má lepší rozlišení a jsou tam pozorovány krosníky, které svědčí o <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H spin-spinových interakcích přes několik (3-5)<sup>[60]</sup> vazeb a které podporují přiřazení signálů <sup>1</sup>H benzylového cyklu na základě COSY.

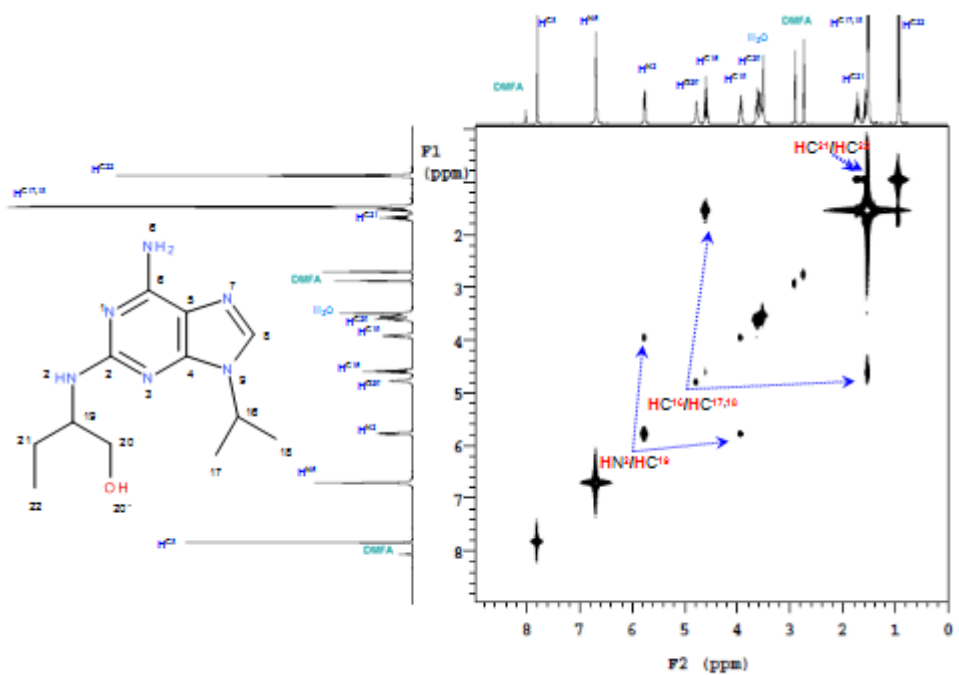
V {H}<sup>13</sup>C-spektru 16 (obrázek 112, příloha) jsou 21 uhlíkových signálů, odpovídajících zkoumanému vzorku,  $\delta$  (ppm): 10.38, 24.39, 39.12, 54.60, 55.79, 62.63, 63.56, 71.70, 73.87, 86.40, 88.72, 110.91, 114.51, 118.75, 121.24, 126.76, 137.08, 144.89, 148.07, 151.11, 156.14 a 159.60. Dá se předpokladat ( $>\delta$ ): C<sup>22</sup>, C<sup>21</sup>, C<sup>9</sup>, C<sup>19</sup>, C<sup>12</sup>, C<sup>20</sup>, C<sup>20</sup>, C<sup>18</sup>, C<sup>17</sup>, C<sup>19</sup>, C<sup>16</sup>, C<sup>13</sup>, C<sup>5</sup>, C<sup>14</sup>, C<sup>15</sup>, C<sup>10</sup>, C<sup>8</sup>, C<sup>11</sup>, C<sup>12</sup>, C<sup>4</sup>, C<sup>6</sup> a C<sup>2</sup>. V <sup>13</sup>C (APT) spektru 16 (obrázek 113, příloha) jsou signály,  $\delta$  (ppm): 159.60, 156.14, 151.11, 148.07, 144.89, 126.76, 114.51, 63.56, 62.63, 39.12 a 24.39 - v pozitivním modu (7 signálů - odpovídajících kvartérním uhlíkům a 4 signály - uhlíkům skupin CH<sub>2</sub>). Signály v negativním modu,  $\delta$  (ppm) jsou: 137.08, 121.24, 118.75, 110.91, 88.72, 86.40, 73.87, 71.70, 55.79, 54.60 a 10.38 (11 signálů – patří skupinám CH a CH<sub>3</sub>). Přiřazení signálů skupin CH<sub>2</sub>, HC a CH<sub>3</sub> podpořily také výsledky <sup>13</sup>C DEPT (135 Hz) experimentu (obrázek 114, příloha); jsou 4 signály  $\delta$  (ppm): 63.56, 62.63, 39.12, 24.39 - v pozitivním modu (CH<sub>2</sub>) a 11 signálů skupin CH a CH<sub>3</sub>  $\delta$  (ppm): 137.08, 121.24, 118.75, 110.91, 88.72, 86.40, 73.87, 71.70, 55.79, 54.60, 10.38 jsou v negativním modu. V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMQC spektru 16 (obrázek není uveden kvůli špatnému rozlišení z důvodu vadné sondy JEOL ACX-500) jsou 15 signálů s  $\delta_{1H}$  ( $J$ ) /  $\delta_{13C}$  (ppm), které po přiřazení vodíkových signálů pomocí 2D {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-gCOSY dá se identifikovat: 7.98 / 137.08 (HC<sup>8</sup>); 6.94 (7.8) / 121.24 (HC<sup>15</sup>); 6.89 (7.8) / 110.91 (HC<sup>13</sup>); 6.74 (7.8) / 118.75 (HC<sup>14</sup>); 5.89 (6.5) / 88.72 (HC<sup>16</sup>); 4.85 (11.7) / 73.87 (HC<sup>17</sup>); 4.76 / 39.12 (HC<sup>9</sup>); 4.36 (2.5) / 71.70 (HC<sup>18</sup>); 4.08 (3.3) / 86.40 (HC<sup>19</sup>); 3.99 (4.5) / 54.60 (HC<sup>19</sup>); 3.83 / 55.79 (HC<sup>12</sup>); 3.81 (11.7) / 3.70 (11.7) / 63.56 (H<sub>b,a</sub>C<sup>20</sup>); 3.66 (10.6) / 3.59 (10.6) / 62.63 (H<sub>b,a</sub>C<sup>20</sup>); 1.72 (6.8) / 1.59 (6.8) / 24.39 (H<sub>b,a</sub>C<sup>21</sup>) a 0.94 (7.3) / 10.38 (HC<sup>22</sup>). V {<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C}-gHMBC spektru {N<sup>6</sup>-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu 16 (obrázek není uveden ze stejného důvodu) jsou signály  $\delta_{13C}$  (ppm) = 159.60 s krosníky,  $\delta_{1H}$  (ppm.),  $J$  (Hz): 5.79, *s*, HN<sup>2</sup> (sl. int.) a 3.99, *d*, 4.5, HC<sup>19</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 156.14 a krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.56, *s*, HN<sup>6</sup> (stř. int.), 6.94, *d*, 7.8, HC<sup>15</sup> a 4.76, *s*, HC<sup>9</sup> (oba dva jsou – sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 151.11 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.98, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.) a 5.89, *d*, 6.5, HC<sup>16</sup> (stř. int.);  $\delta_{13C}$  = 148.07 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 6.94, *d*, 7.8, HC<sup>15</sup> (sl. int.), 6.89, *d*, 7.8, HC<sup>13</sup> (s. int.), 6.74, *t*, 7.8, HC<sup>14</sup> (stř. int.) a 3.83, *s*, HC<sup>12</sup> (s. int.);  $\delta_{13C}$  = 144.89 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 9.19, *s*, HO<sup>11</sup> (sl. int.), 6.94, *d*, 7.8, HC<sup>15</sup> (sl. int.), 6.89, *d*, 7.8, HC<sup>13</sup> (stř. int.) a 6.74, *t*, 7.8, HC<sup>14</sup> (sl. int.);  $\delta_{13C}$  = 126.76 s krosníky,  $\delta_{1H}$ ,  $J$ : 7.56, *s*, HN<sup>6</sup> (sl. int.), 6.94, *d*, 7.8, HC<sup>15</sup> (s. int.), 6.89, *d*, 7.8, HC<sup>13</sup> (sl. int.), 6.74, *t*, 7.8, HC<sup>14</sup> (stř. int.) a 4.76, *s*, HC<sup>9</sup> (stř. int.) a  $\delta_{13C}$  = 114.51 s krosníkem,  $\delta_{1H}$ : 7.98, *s*, HC<sup>8</sup> (stř. int.). Po analýze, dá se uvést, že kvartérními uhlíky,  $\delta_{13C}$  jsou: 114.51 (C<sup>5</sup>), 126.76 (C<sup>10</sup>), 144.89 (C<sup>11</sup>), 148.07 (C<sup>12</sup>), 151.11 (C<sup>4</sup>), 156.14 (C<sup>6</sup>) a 159.60 (C<sup>2</sup>). Dál, jsou signály s  $\delta_{13C}$  /

$\delta_{1H}$  (ppm) a  $J$  (Hz): 137.08 / 7.98,  $d$ , 206.3, HC<sup>8</sup> s krosníkem s  $\delta_{1H}$  (ppm): 5.89,  $s$ , HC<sup>16</sup> (stř. int.); 121.24 / 6.94,  $d$ , 161.2, HC<sup>15</sup> s krosníky 7.56,  $s$ , HN<sup>6</sup> (sl. int.), 6.89,  $d$ , 7.8, HC<sup>13</sup> (stř. int.), 6.74,  $t$ , 7.8, HC<sup>14</sup> (s. int.) a 4.76,  $s$ , HC<sup>9</sup> (sl. int.); 118.75 / 6.74,  $d$ , 163.0, HC<sup>14</sup> s krosníky 6.94,  $d$ , 7.8, HC<sup>15</sup> a 6.89,  $d$ , 7.8, HC<sup>13</sup> (oba jsou - s. int.); 110.91 / 6.89,  $d$ , 159.7, HC<sup>13</sup> s krosníky 6.94,  $d$ , 7.8, HC<sup>15</sup> (stř. int.) a 6.74,  $t$ , 7.8, HC<sup>14</sup> (s. int.); 88.72 / 5.89,  $d$ , 142.1, HC<sup>16</sup> s krosníky 7.98,  $s$ , HC<sup>8</sup> (stř. int.), 4.85,  $d$ , 11.7, HC<sup>17</sup> (s. int.), 4.36,  $s$ , HC<sup>18</sup>, (stř. int.) a 4.08,  $s$ , HC<sup>19</sup> (sl. int.); 86.40 / 4.08,  $d$ , 143.1, HC<sup>19</sup> s krosníky 5.89,  $d$ , 6.5, HC<sup>16</sup> (sl. int.), 4.85,  $d$ , 11.7, HC<sup>17</sup> (stř. int.), 4.39,  $s$ , HC<sup>18</sup> (s. int.), 3.81,  $d$ , 12.0, H<sub>b</sub>C<sup>20'</sup> a 3.70,  $d$ , 12.0, H<sub>a</sub>C<sup>20'</sup> (oba jsou - s. int.); 73.87 / 4.85,  $d$ , 151.0, HC<sup>17</sup> s krosníky 5.89,  $d$ , 6.5, HC<sup>16</sup> (s. int.), 5.68,  $s$ , HO<sup>17</sup> (sl. int.), 4.36,  $s$ , HC<sup>18</sup> (s. int.), 4.08,  $s$ , HC<sup>19</sup> (stř. int.), 3.81,  $d$ , 12.0, H<sub>b</sub>C<sup>20'</sup> a 3.70,  $d$ , 12.0, H<sub>a</sub>C<sup>20'</sup> (poslední dva jsou - sl. int.); 71.70 / 4.36,  $d$ , 145.5, HC<sup>18</sup> s krosníky 5.89,  $d$ , 6.5, HC<sup>16</sup> (stř. int.), 5.23,  $s$ , HO<sup>18</sup> (sl. int.), 4.85,  $d$ , 11.7, HC<sup>17</sup>, 4.08,  $s$ , HC<sup>19</sup> (oba jsou - s. int.), 3.81,  $d$ , 12.0, H<sub>b</sub>C<sup>20'</sup> a 3.70,  $d$ , 12.0, H<sub>a</sub>C<sup>20'</sup> (oba jsou stř. int.); 63.56 / 3.81,  $d$ , 163.3, H<sub>b</sub>C<sup>20'</sup> / 3.70,  $d$ , 163.2, H<sub>a</sub>C<sup>20'</sup> s krosníky 5.50,  $s$ , HO<sup>20''</sup>, 4.85,  $d$ , 11.7, HC<sup>17</sup> (oba jsou - sl. int.), 4.36,  $s$ , HC<sup>18</sup> (stř. int.) a 4.08,  $s$ , HC<sup>19</sup> (s. int.); 62.63 / 3.66,  $d$ , 124.0, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> / 3.59,  $d$ , 122.9, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> s krosníky 5.79,  $s$ , HN<sup>2</sup> (sl. int.), 3.99,  $s$ , HC<sup>19</sup> (s. int.), 1.72,  $d$ , 7.0, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup>, (stř. int.), 1.59,  $d$ , 7.0, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (stř. int.); 55.79 / 3.83,  $d$ , 89.0, HC<sup>12</sup> bez krosníků; 54.60 / 3.99,  $d$ , 173.2, HC<sup>19</sup> s krosníky 5.79,  $s$ , HN<sup>2</sup> (sl. int.), 3.66,  $d$ , 27.5, H<sub>b</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 3.59,  $d$ , 28.0, H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (s. int.), 1.72,  $d$ , 39.9, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.), 1.59,  $d$ , 42.0, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.) a 0.94,  $d$ , 10.0, HC<sup>22</sup> (stř. int.); 39.12 / 4.76,  $d$ , 143.0, HC<sup>9</sup> s krosníky 7.56,  $s$ , HN<sup>6</sup> (sl. int.) a 6.94,  $d$ , 7.8, HC<sup>15</sup> (stř. int.); 24.39 / 1.72,  $d$ , 159.8, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> / 1.59,  $d$ , 159.8, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> s krosníky 3.66,  $s$ , H<sub>b</sub>C<sup>20</sup>, 3.59,  $s$ , H<sub>a</sub>C<sup>20</sup> (oba jsou - stř. int.) a 0.94,  $t$ , 7.3, HC<sup>22</sup> (s. int.); 10.38 / 0.94,  $d$ , 130.5, HC<sup>22</sup> s krosníky 3.99,  $d$ , 16.5, HC<sup>19</sup> (stř. int.), 1.72,  $d$ , 46.7, H<sub>b</sub>C<sup>21</sup> (s. int.) a 1.59,  $d$ , 48.0, H<sub>a</sub>C<sup>21</sup> (s. int.). Po analýze, se dá konstatovat, že uhlíky CH, CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> skupin jsou,  $\delta_{13C}$ : 10.38 (HC<sup>22</sup>); 24.39 (HC<sup>21</sup>); 39.12 (HC<sup>9</sup>); 54.60 (HC<sup>19</sup>); 55.79 (HC<sup>12</sup>); 62.63 (HC<sup>20</sup>); 63.56 (HC<sup>20'</sup>); 71.70 (HC<sup>18</sup>); 73.87 (HC<sup>17</sup>); 86.40 (HC<sup>19'</sup>); 88.72 (HC<sup>16</sup>); 110.91 (HC<sup>13</sup>); 118.75 (HC<sup>14</sup>); 121.24 (HC<sup>15</sup>) a 137.08 (HC<sup>8</sup>).

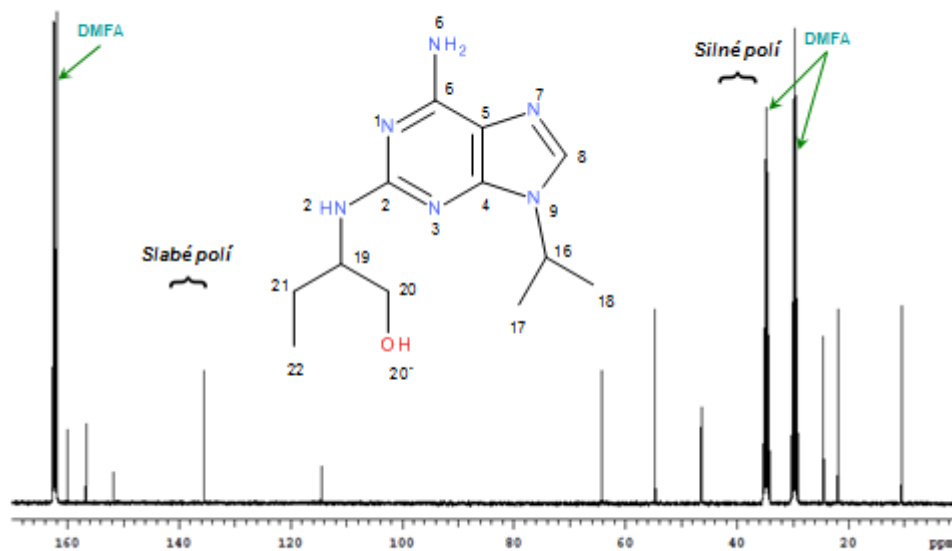
## 8.2. Obrázky 1D a 2D spekter derivátů roskovitinu.



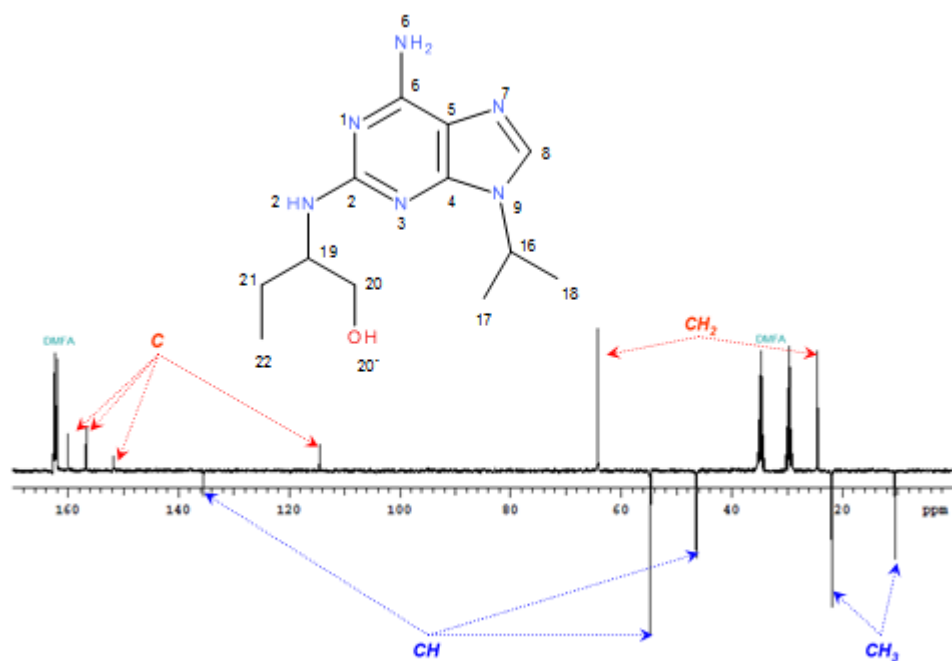
**Obrázek 1.**  $^1\text{H}$ -spektrum 2-(1-hydroxymethyl-propyl)amin-9-(isopropyl)adeninu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



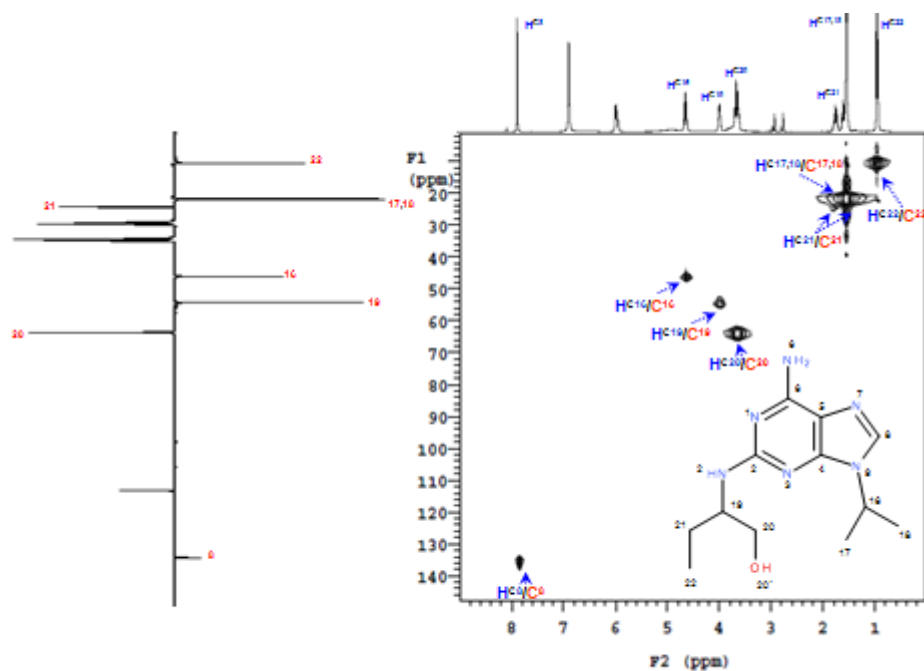
**Obrázek 2.**  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gCOSY ( $90^\circ$ ) spektrum 2-(1-hydroxymethyl-propyl)amin-9-(isopropyl)adeninu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



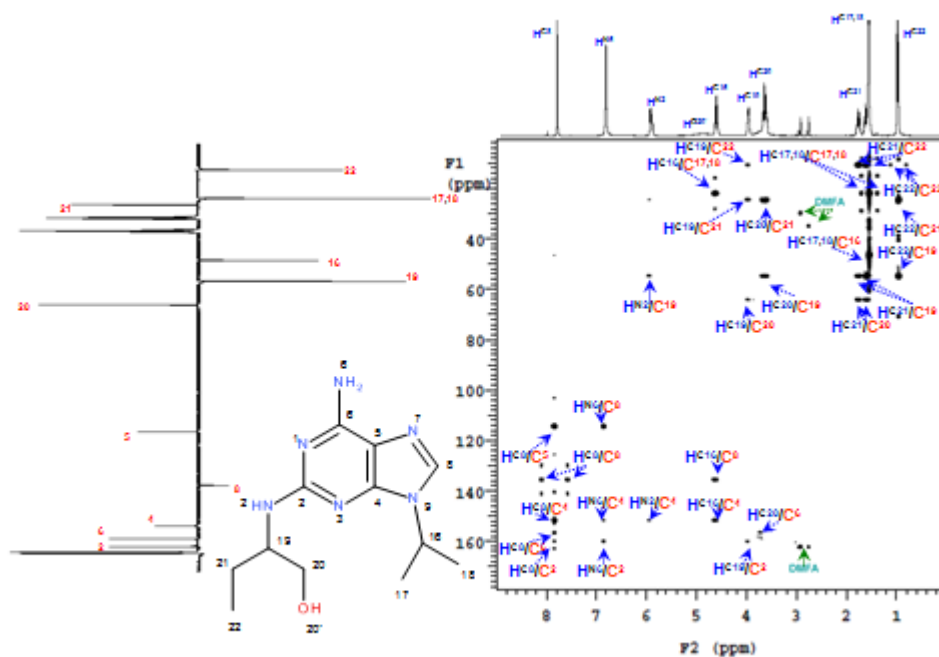
**Obrázek 3.**  $^{13}\text{C}$ -spektrum 2-(1-hydroxymethyl-propyl)amin-9-(isopropyl)adeninu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



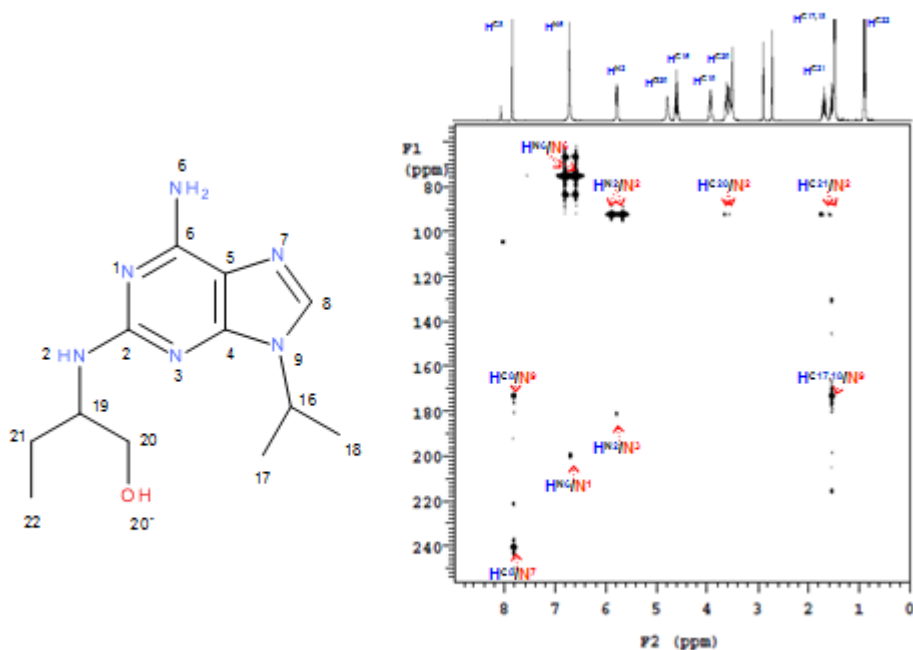
**Obrázek 4.**  $^{13}\text{C}$ -APT-spektrum 2-(1-hydroxymethyl-propyl)amin-9-(isopropyl)adeninu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



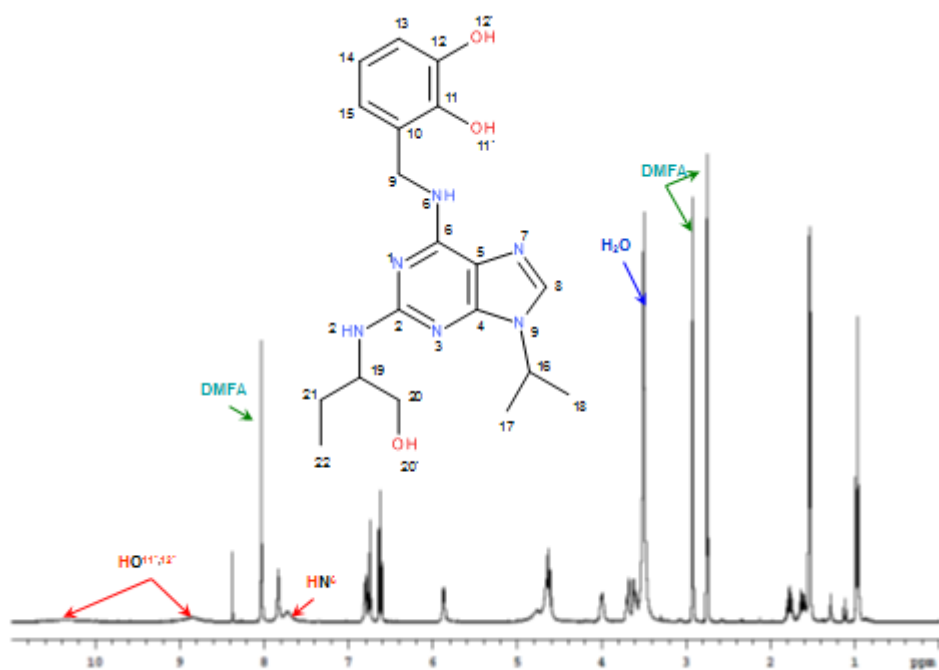
Obrázek 5.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMQC spektrum 2-(1-hydroxymethyl-propyl)amin-9-(isopropyl)adeninu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



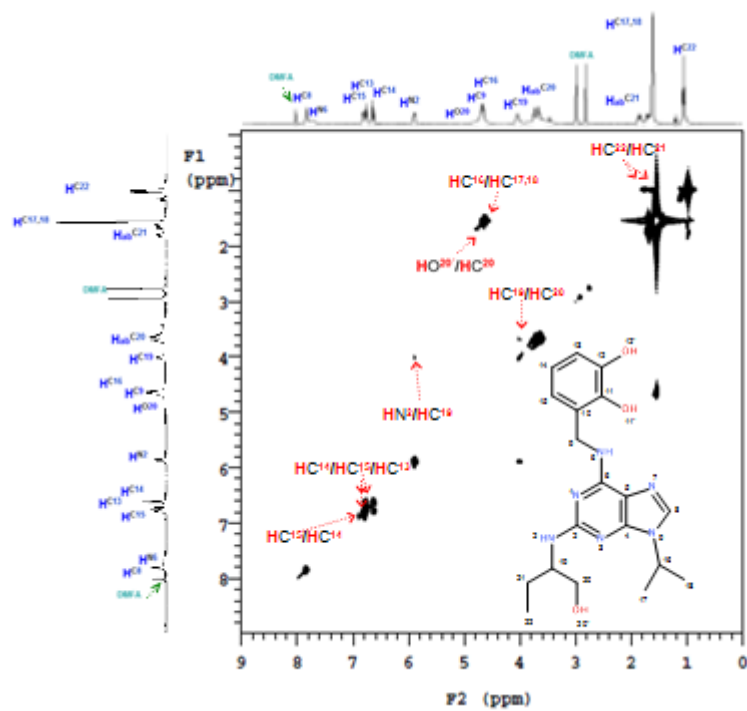
Obrázek 6.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMBC spektrum 2-(1-hydroxymethyl-propyl)amin-9-(isopropyl)adeninu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C



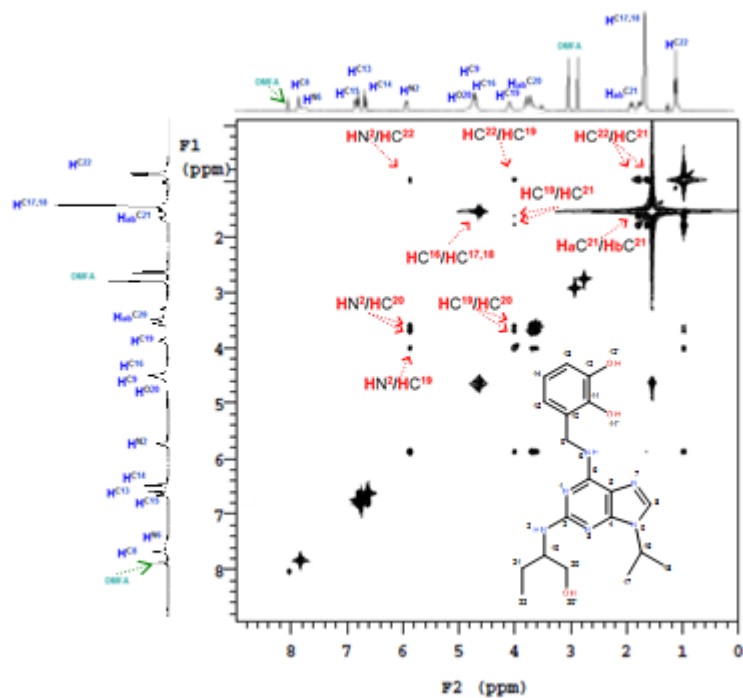
**Obrázek 7.**  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMBC spektrum 2-(1-hydroxymethyl-propyl)amin-9-(isopropyl)adeninu v  $d_7$ -DMFA, relativně DMFA (104.7 ppm), při 25 °C.



**Obrázek 8.**  $^1\text{H}$ -spektrum  $\{N_6-(2,3\text{-di-hydroxybenzylamin})-2-[(1\text{-hydroxymethyl-propyl)amin}]-9\text{-}(isopropyl)\}$ -purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.

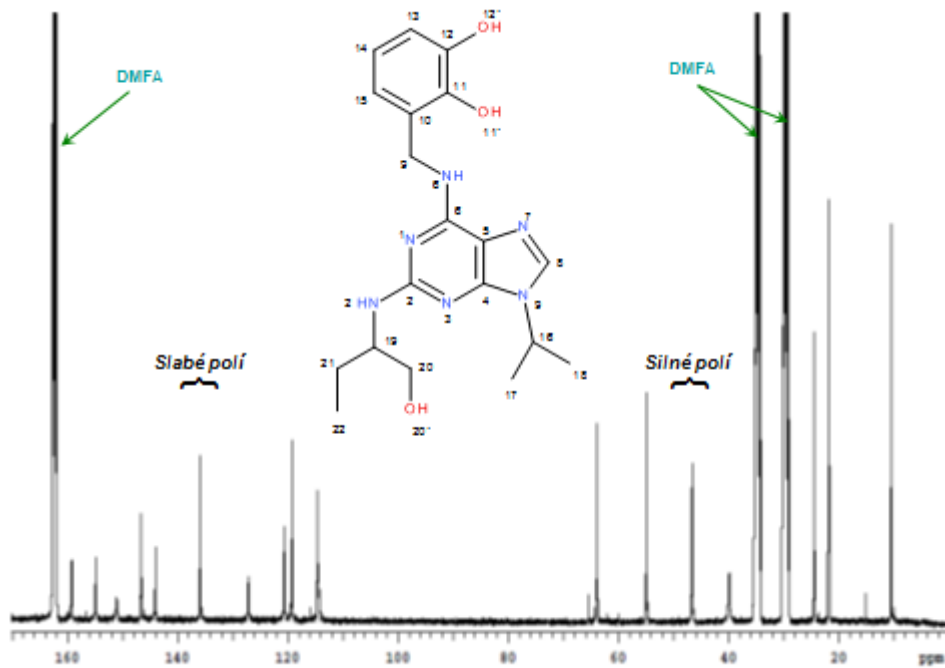


**Obrázek 9.**  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -*gCOSY* ( $90^\circ$ ) spektrum {N6-(2,3-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .

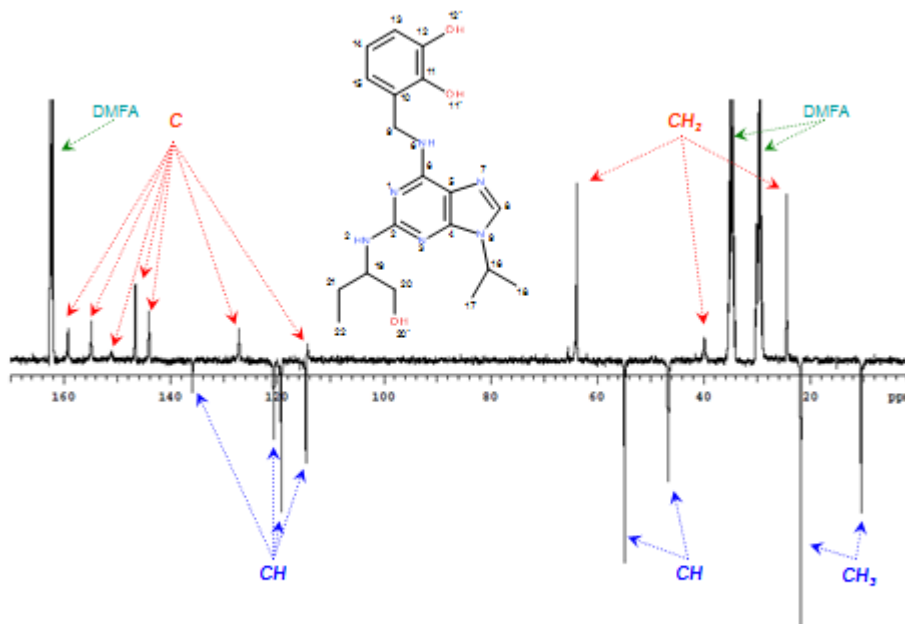


**Obrázek 10.**  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -*TOCSY* spektrum {N6-(2,3-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .

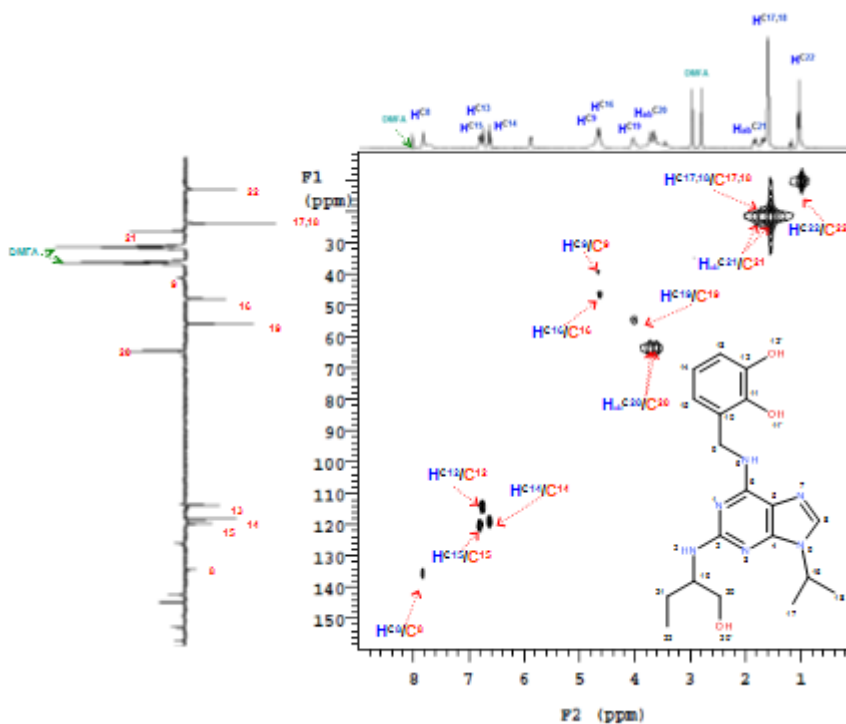




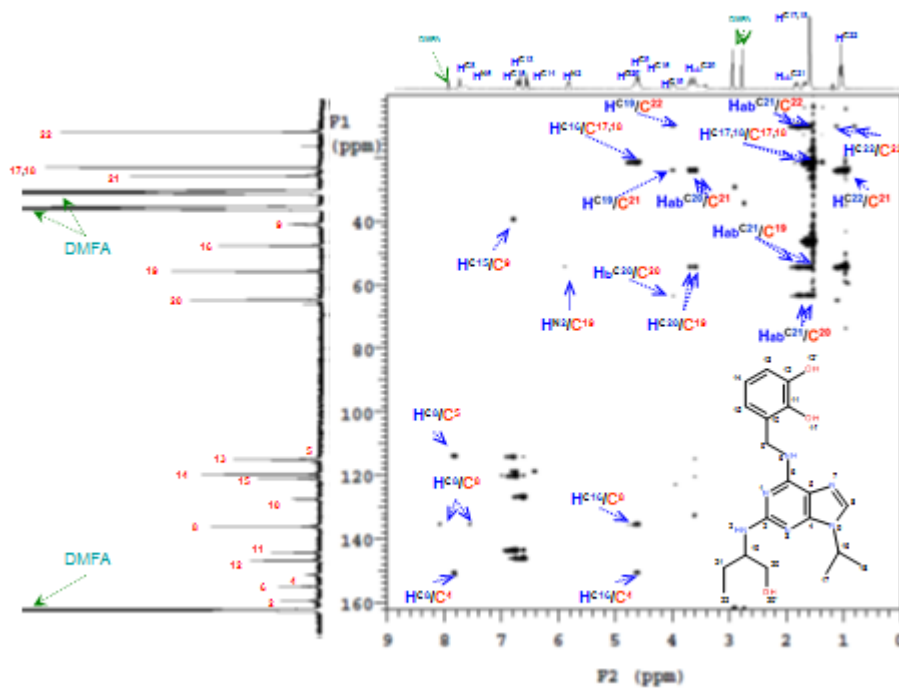
Obrázek 11.  $^{13}\text{C}$ -spektrum {N6-(2,3-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



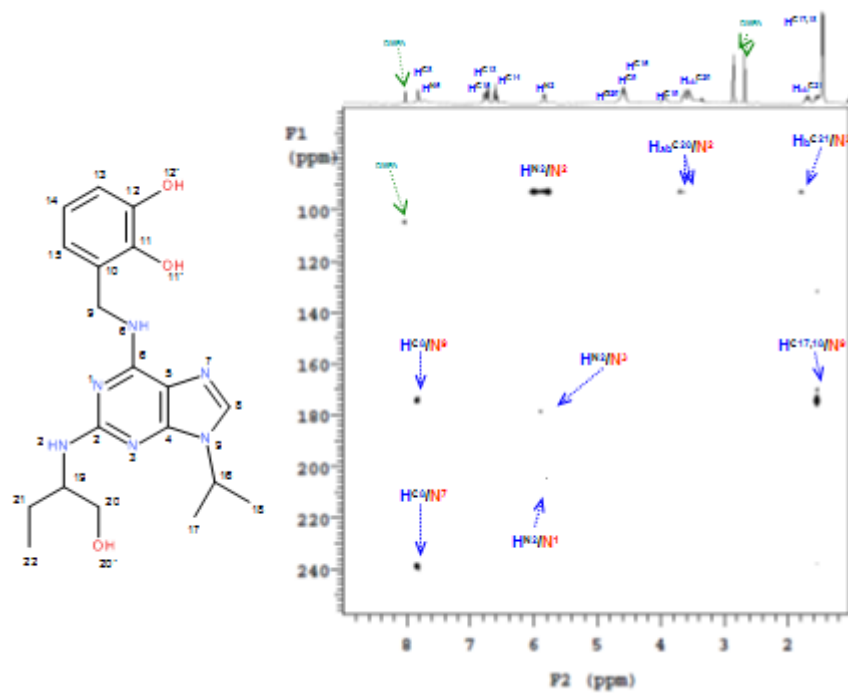
Obrázek 12.  $^{13}\text{C}$ -APT-spektrum {N6-(2,3-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



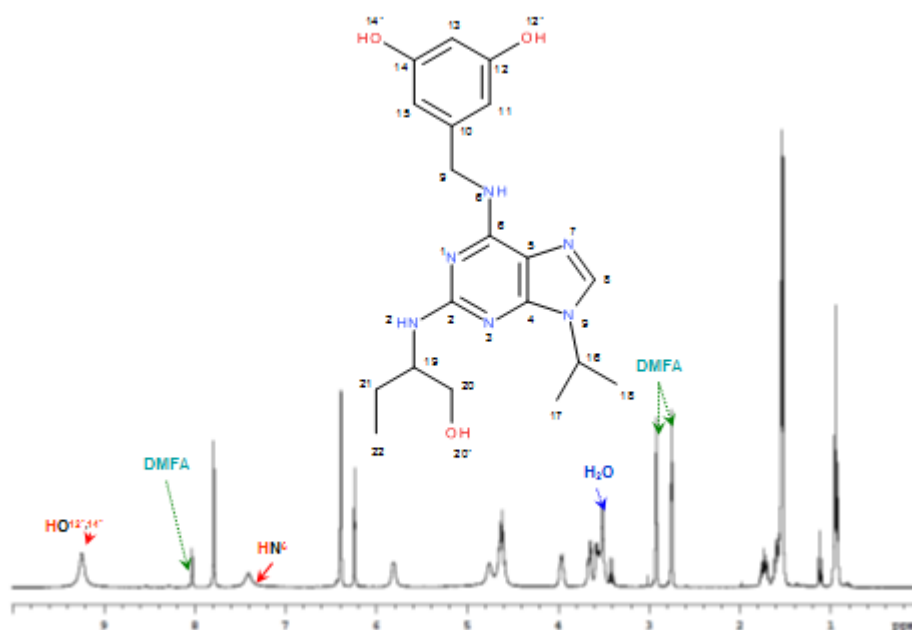
Obrázek 13.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMBC spektrum {N6-(2,3-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



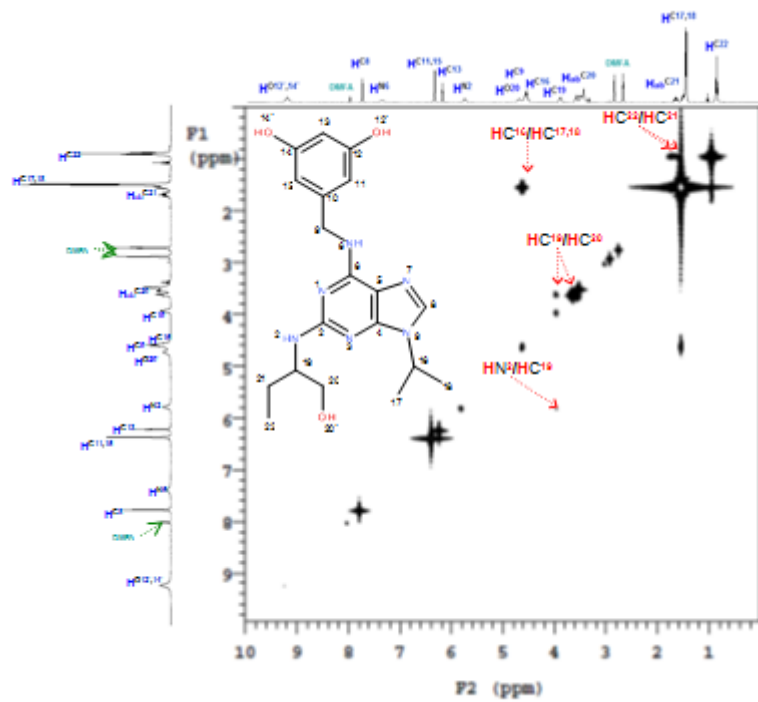
Obrázek 14.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMBC spektrum {N6-(2,3-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



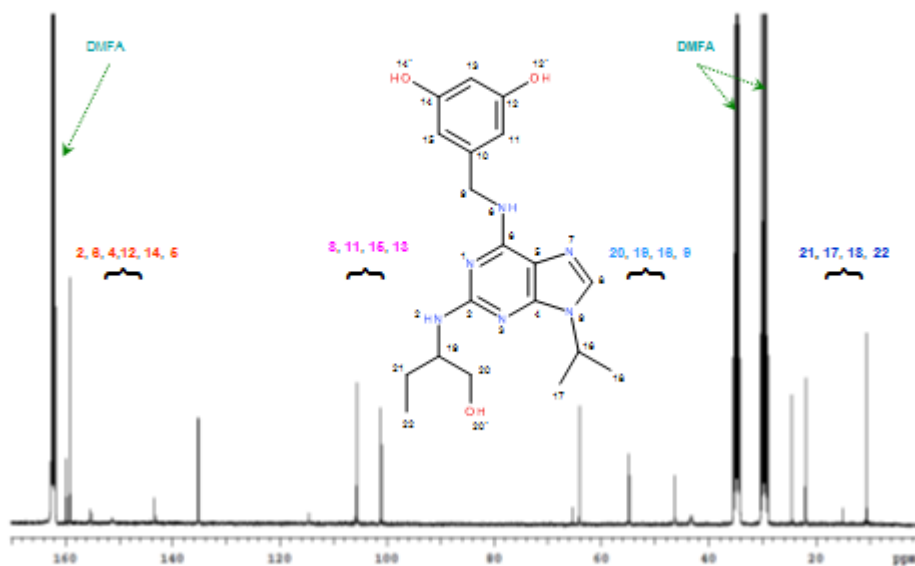
Obrázek 15.  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMBC spektrum {N6-(2,3-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně DMFA (104.7 ppm), při 25 °C.



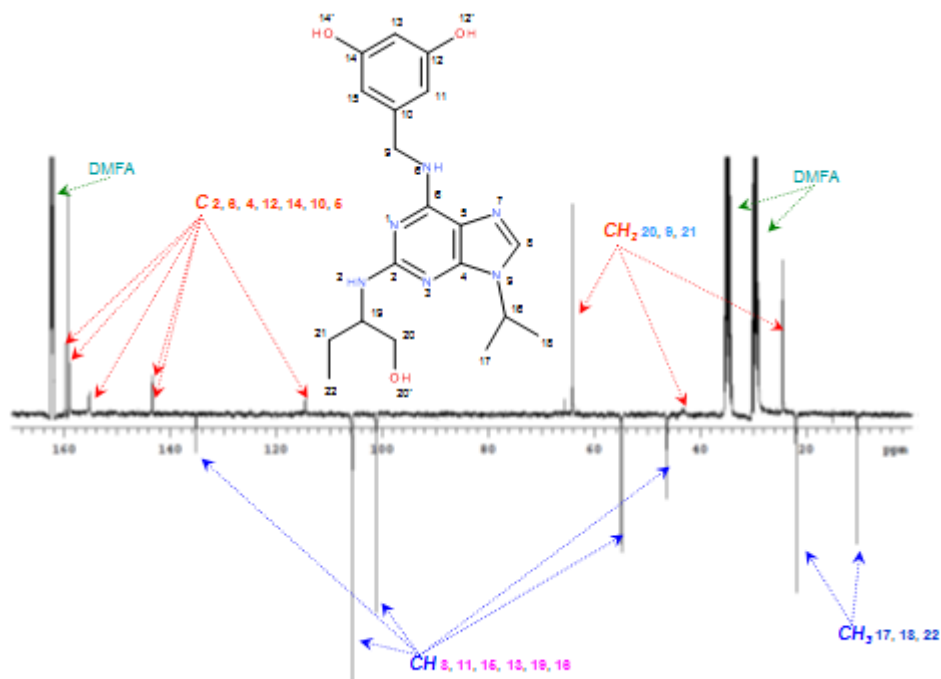
Obrázek 16.  $^1\text{H}$ -spektrum {N6-(3,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}-purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



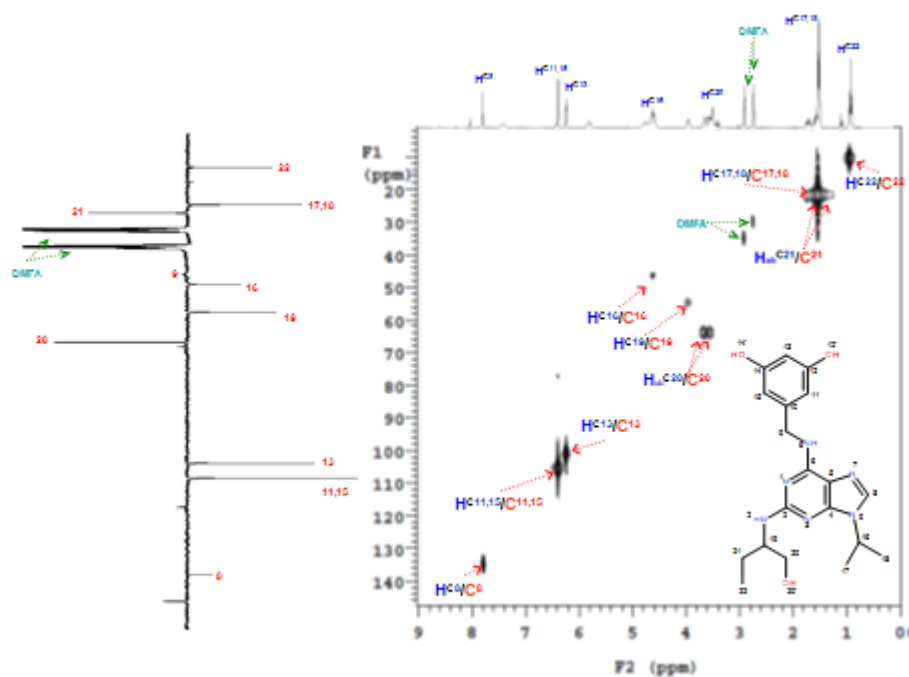
Obrázek 17.  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ - $g\text{COSY}$  ( $90^\circ$ ) spektrum {N6-(3,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)-amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .



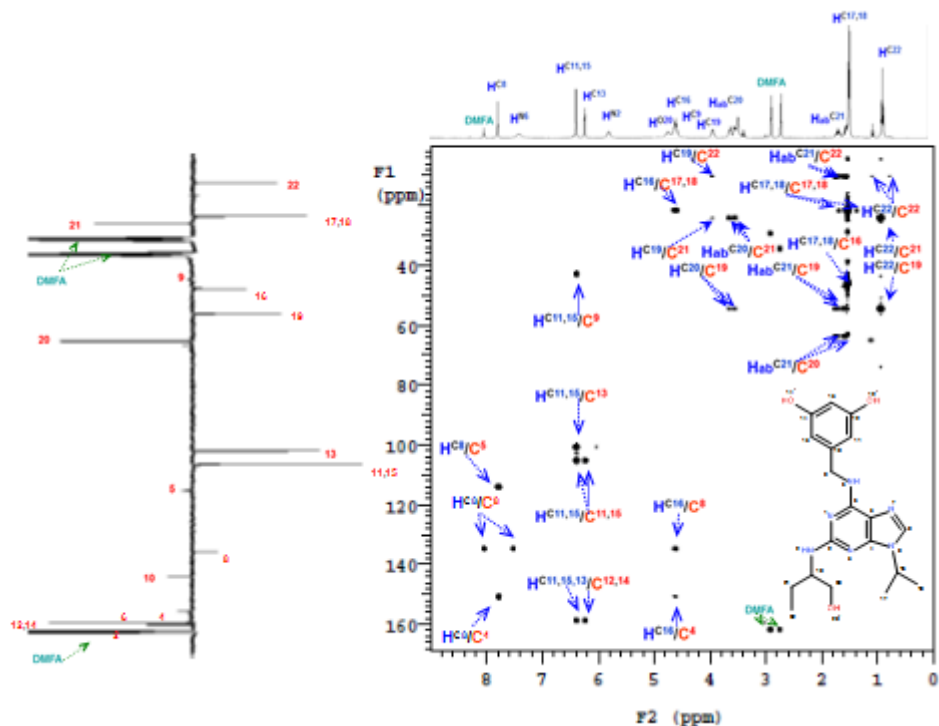
Obrázek 18.  $^{13}\text{C}$ -spektrum {N6-(3,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}-purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .



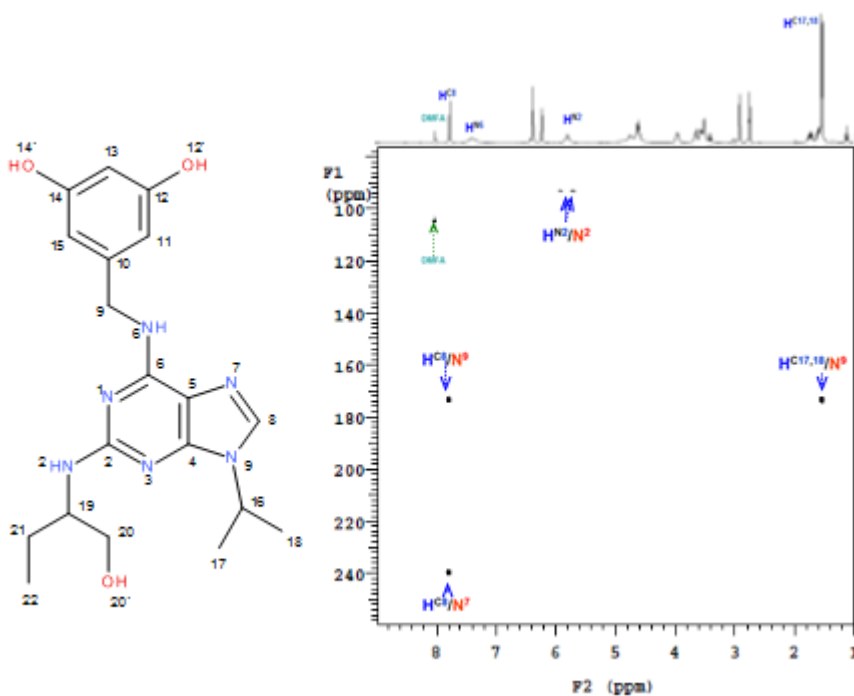
**Obrázek 19.**  $^{13}\text{C}$ -APT-spektrum {N6-(3,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



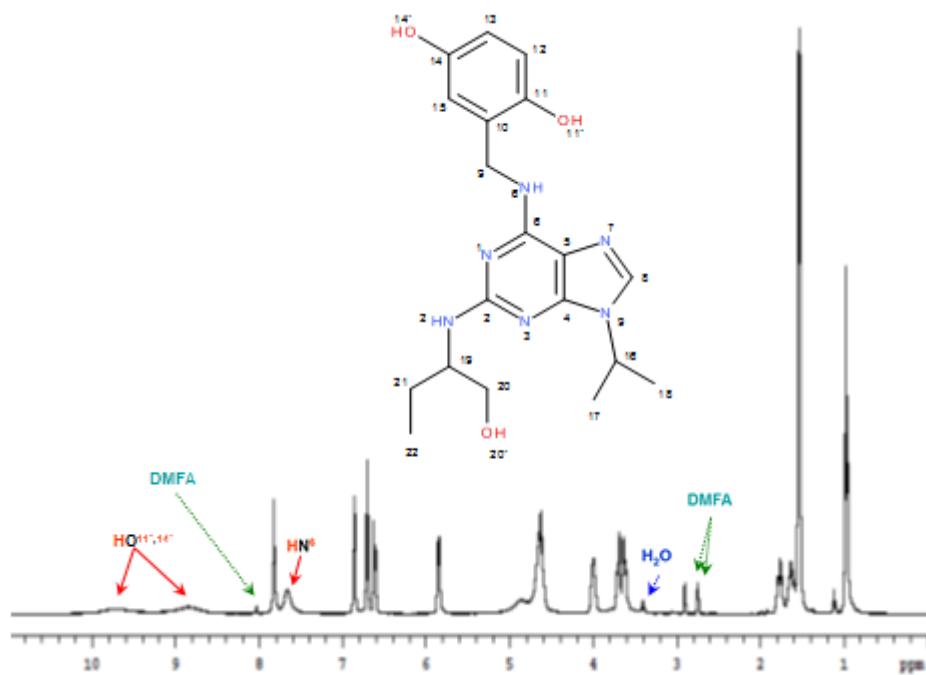
**Obrázek 20.**  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMOC spektrum {N6-(3,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



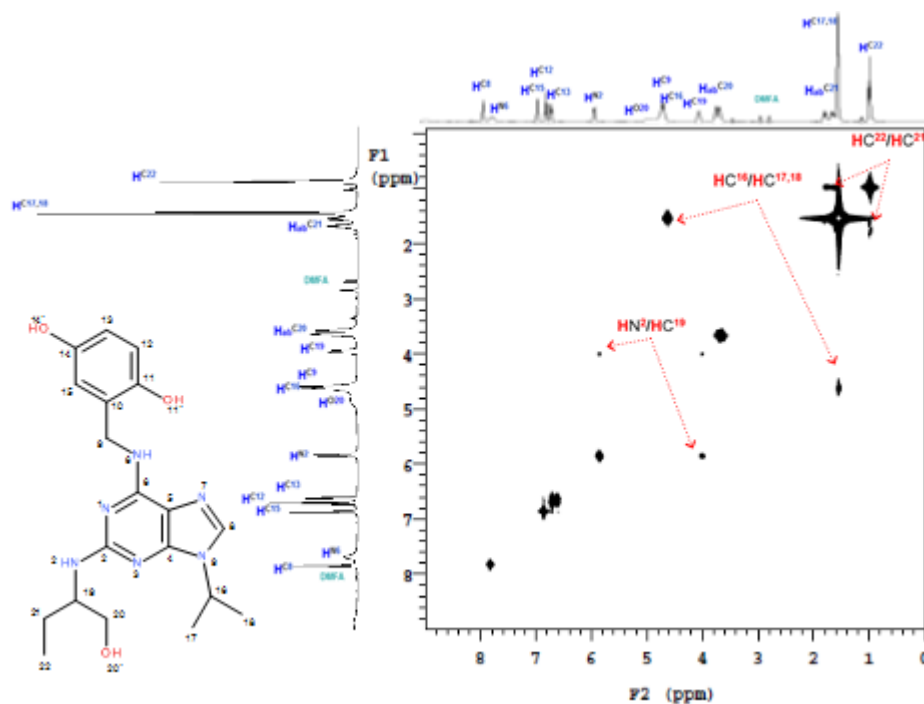
Obrázek 21.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMBC* spektrum {N6-(3,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



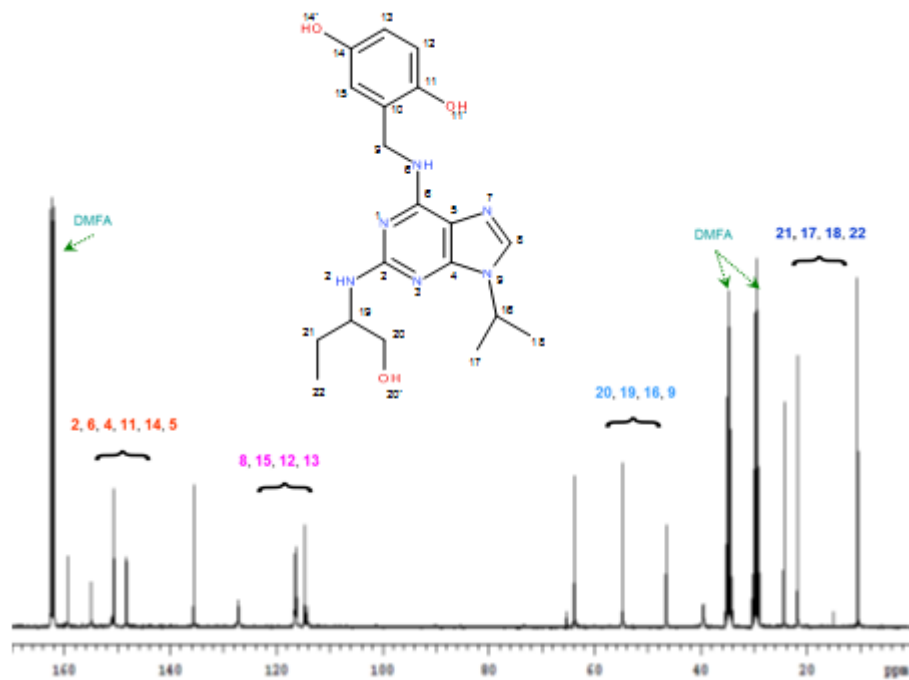
Obrázek 22.  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -*gHMBC* spektrum {N6-(3,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně DMFA (104.7 ppm), při 25 °C.



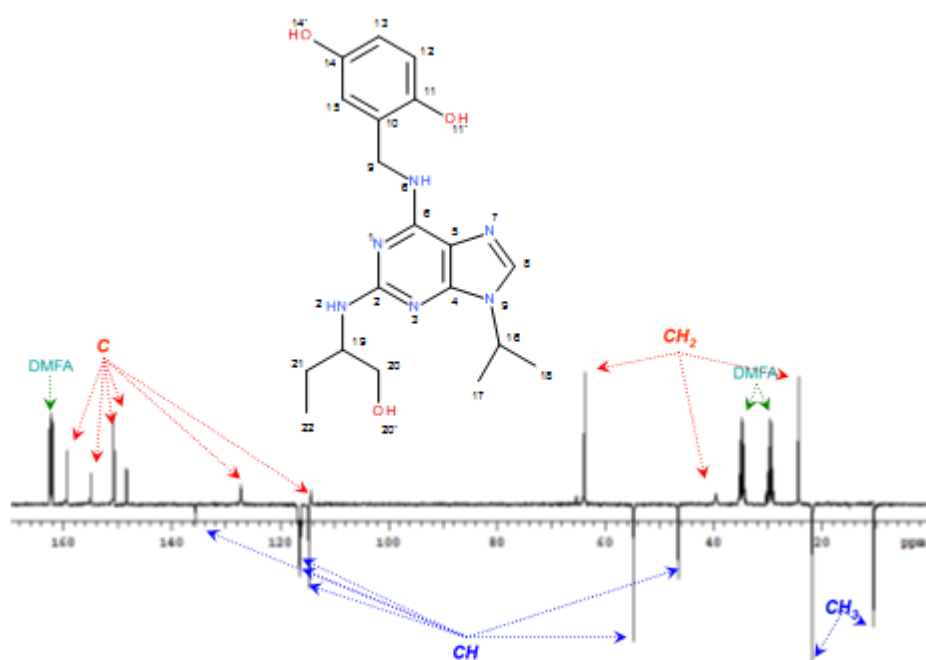
Obrázek 23.  $^1\text{H}$ -spektrum {N6-(2,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}-purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



Obrázek 24.  $\{^1\text{H}\text{-}^1\text{H}\}$ - $g\text{COSY}$  ( $90^\circ$ ) spektrum {N6-(2,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.

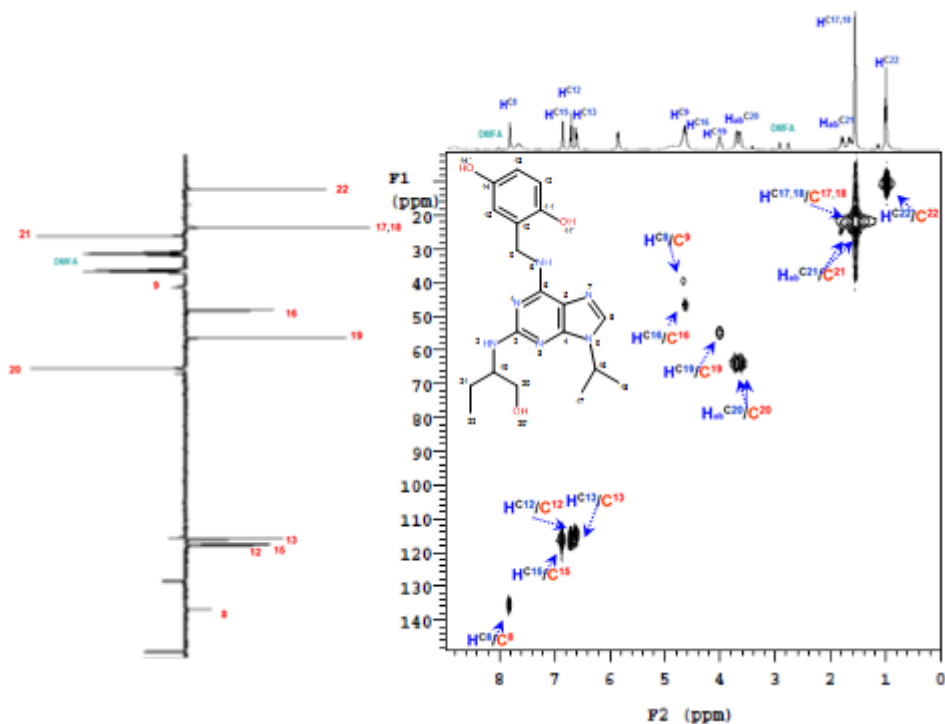


Obrázek 25.  $^{13}\text{C}$ -spektrum {N6-(2,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}-purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.

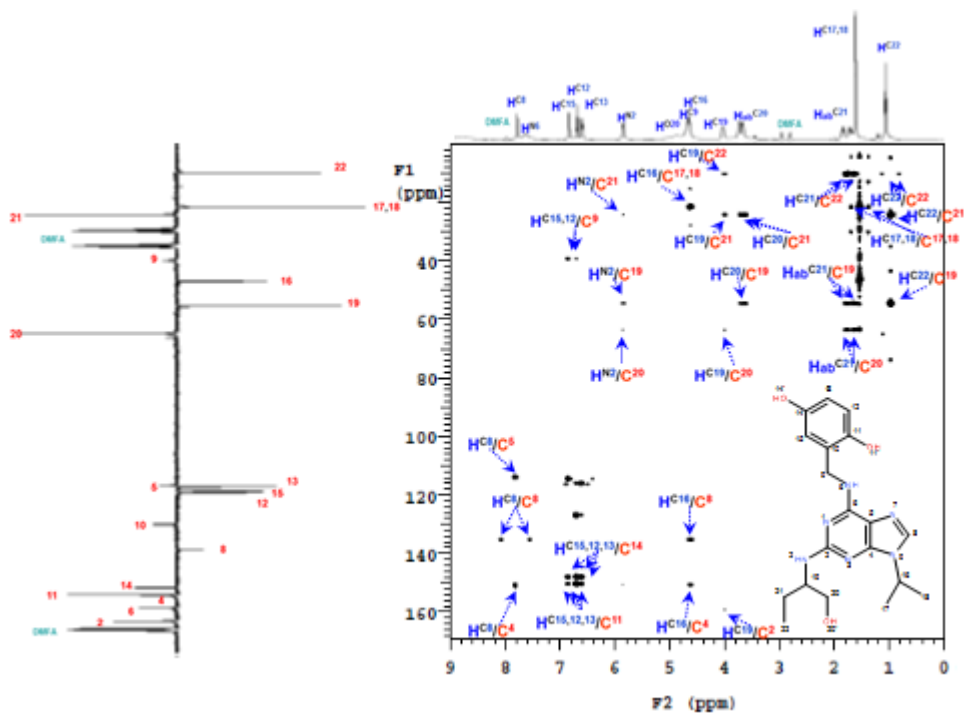


Obrázek 26.  $^{13}\text{C}$ -APT-spektrum {N6-(2,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.

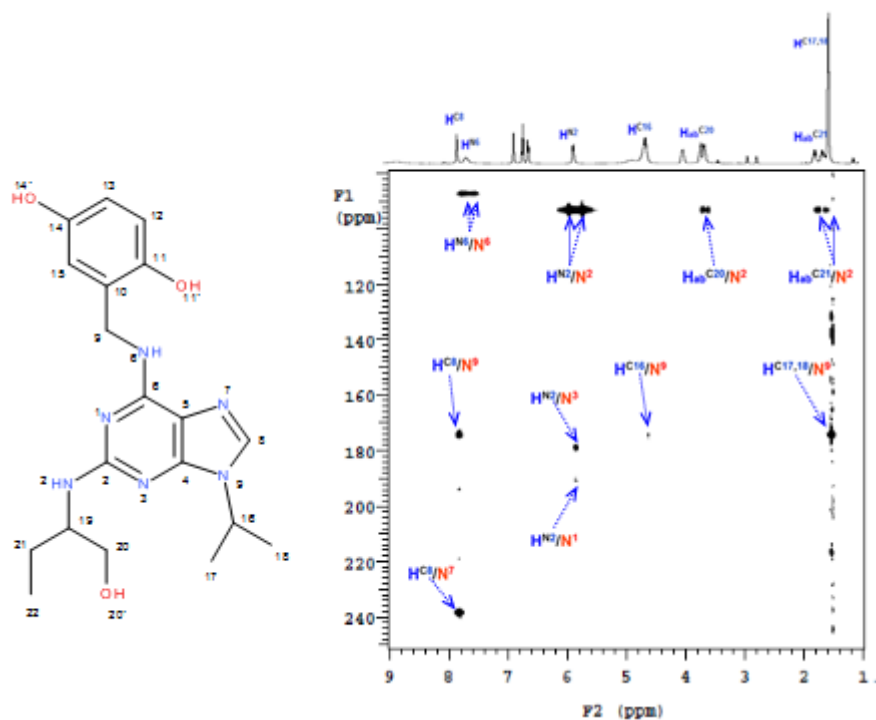




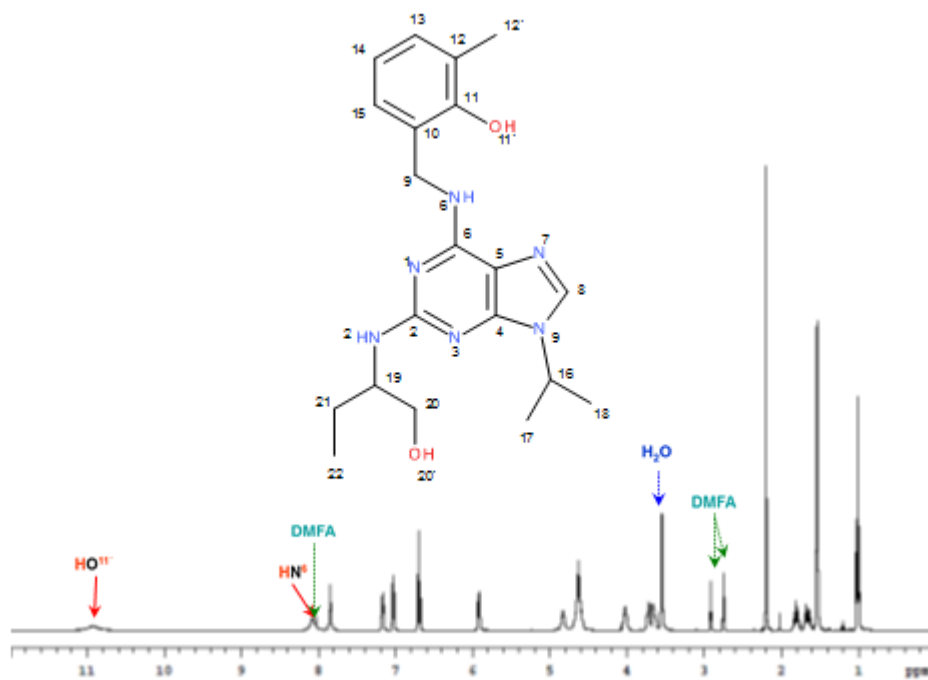
Obrázek 27.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMBC* spektrum {N6-(2,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



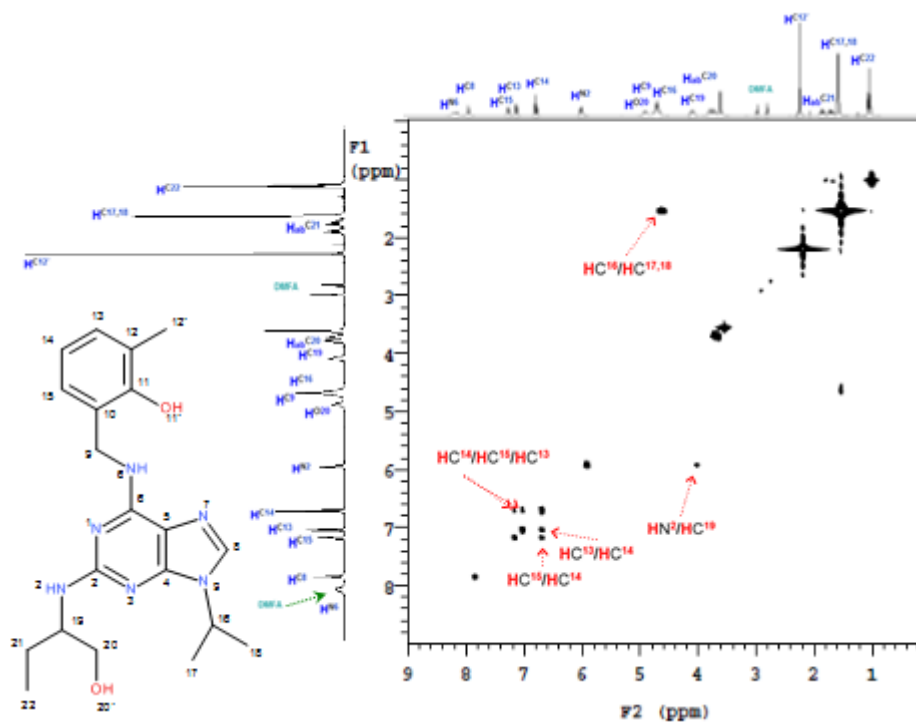
Obrázek 28.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMBC* spektrum {N6-(2,5-di-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



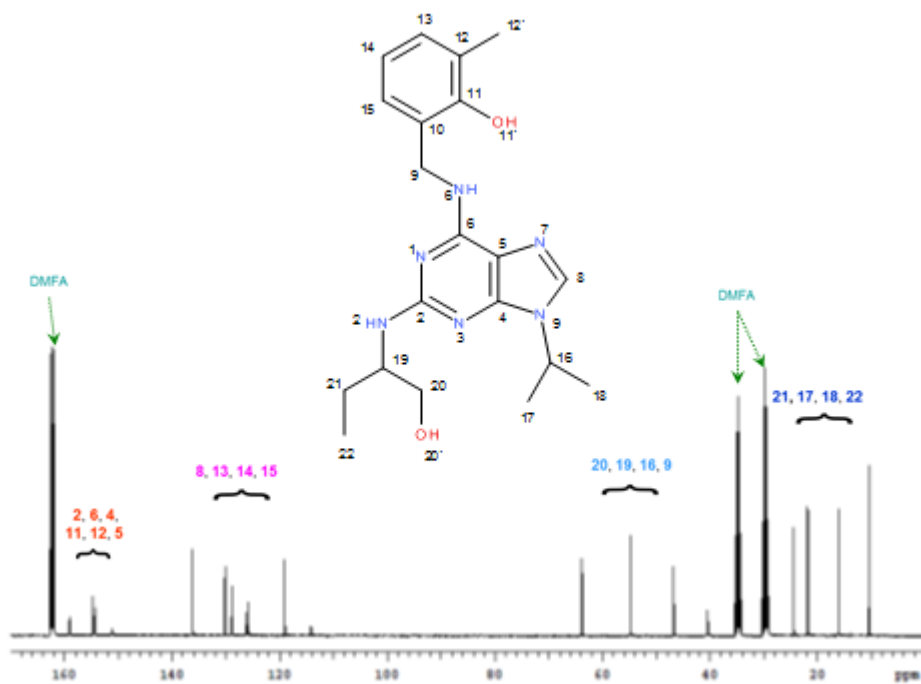
Obrázek 29.  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMBC spektrum  $\{N6-(2,5\text{-di-hydroxybenzylamin})\text{-}2\text{-}[(1\text{-hydroxymethyl-propyl)amin}]\text{-}9\text{-}(isopropyl)\}$ purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně DMFA (104.7 ppm), při 25 °C.



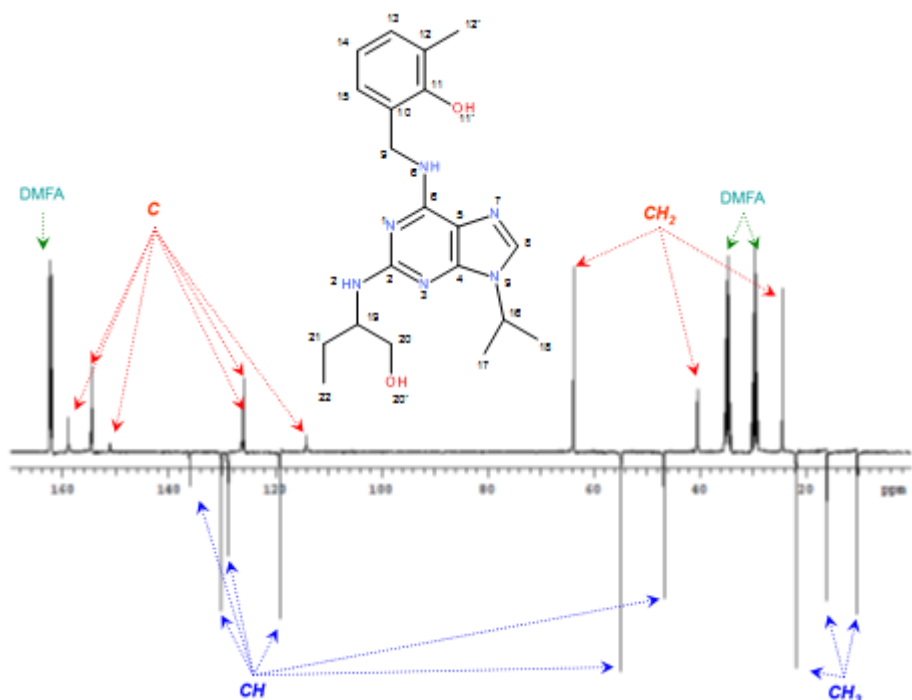
Obrázek 30.  $^1\text{H}$ -spektrum  $\{N6-(2\text{-hydroxy-}3\text{-methylbenzylamin})\text{-}2\text{-}[(1\text{-hydroxymethyl-propyl)amin}]\text{-}9\text{-}(isopropyl)\}$ purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



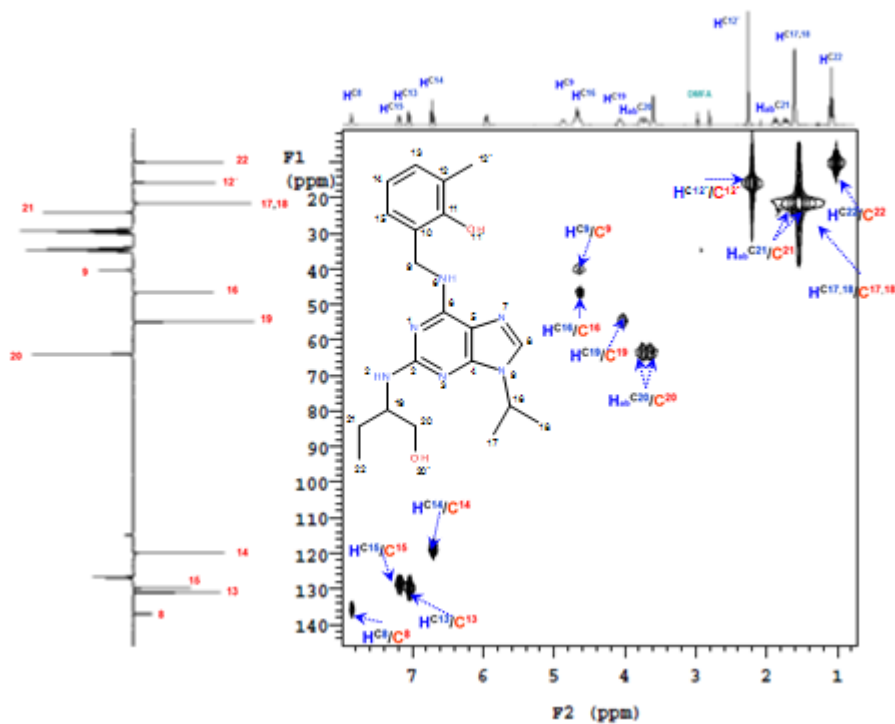
**Obrázek 31.**  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ - $g\text{COSY}$  ( $90^\circ$ ) spektrum {N6-(2-hydroxy-3-methylbenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .



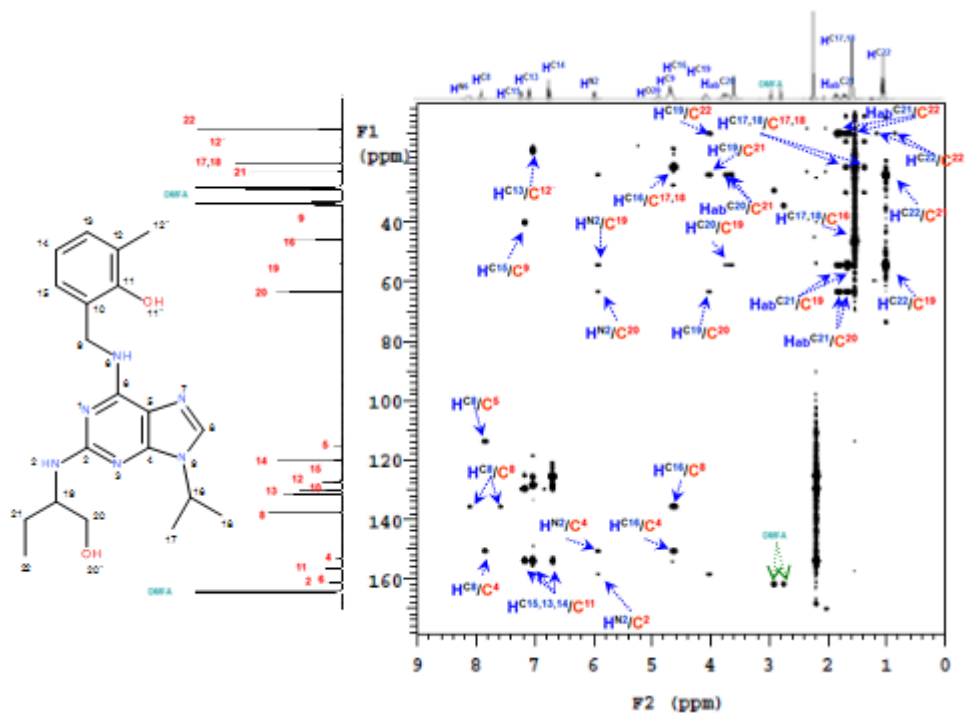
**Obrázek 32.**  $^{13}\text{C}$ -spektrum {N6-(2-hydroxy-3-methylbenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .



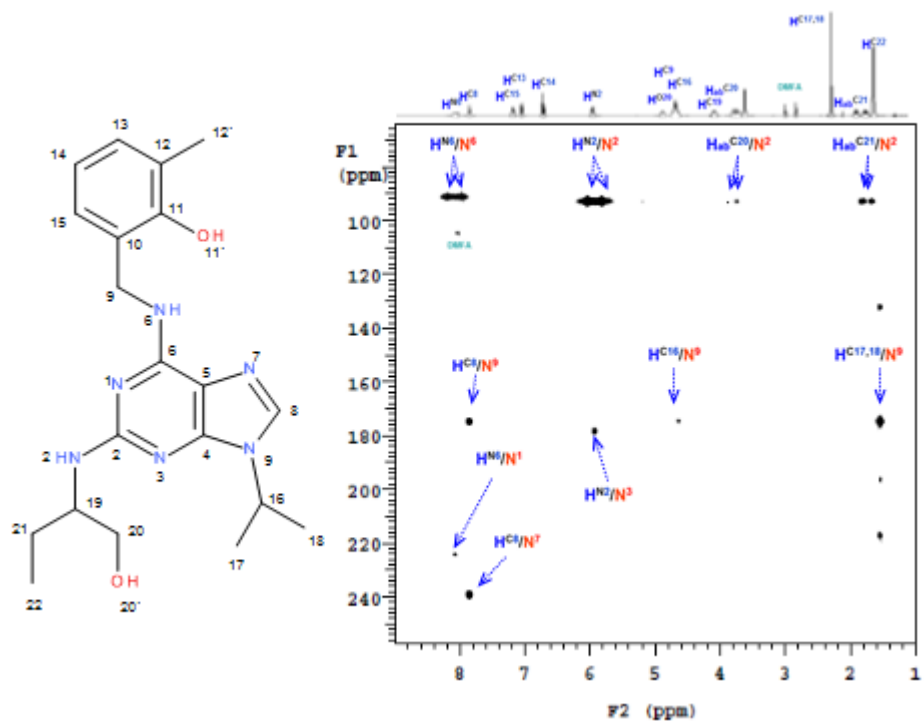
**Obrázek 33.**  $^{13}\text{C}$ -APT-spektrum {N6-(2-hydroxy-3-methylbenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



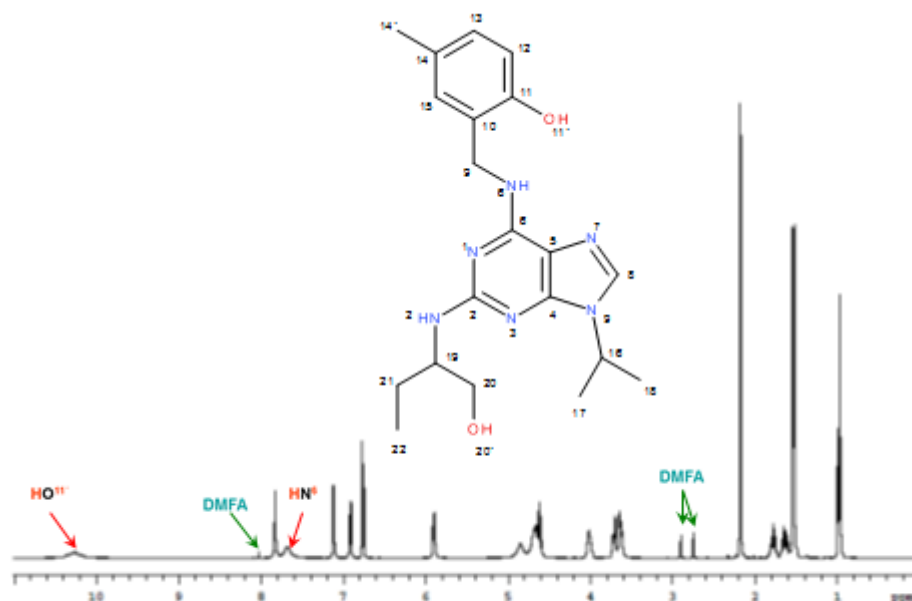
**Obrázek 34.**  $\{^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}\}$ -gHMQC spektrum {N6-(2-hydroxy-3-methyl-benzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



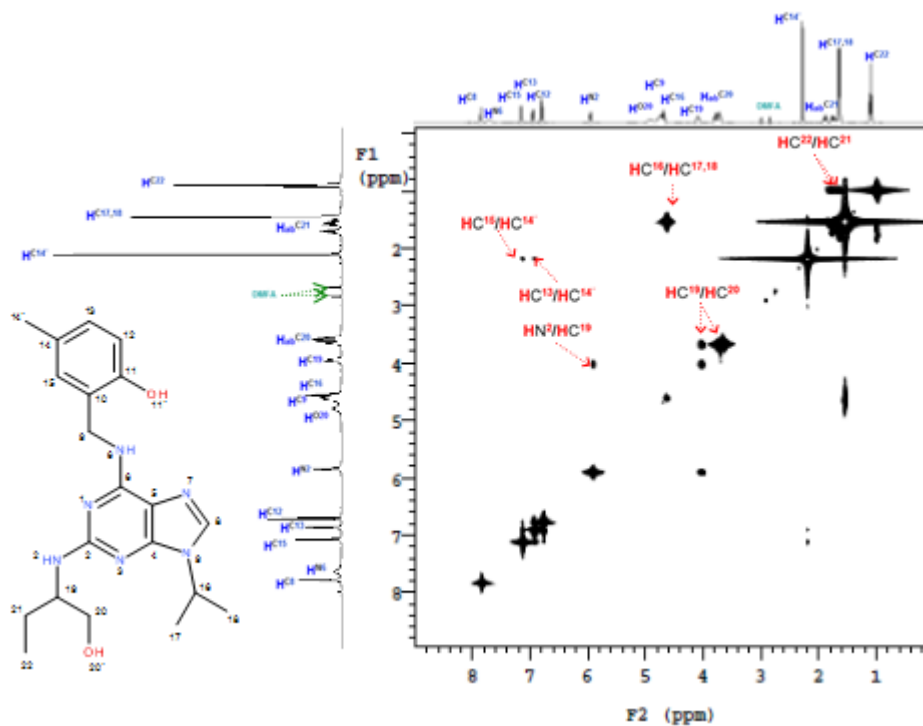
Obrázek 35.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMBC* spektrum {N6-(2-hydroxy-3-methylbenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)-amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



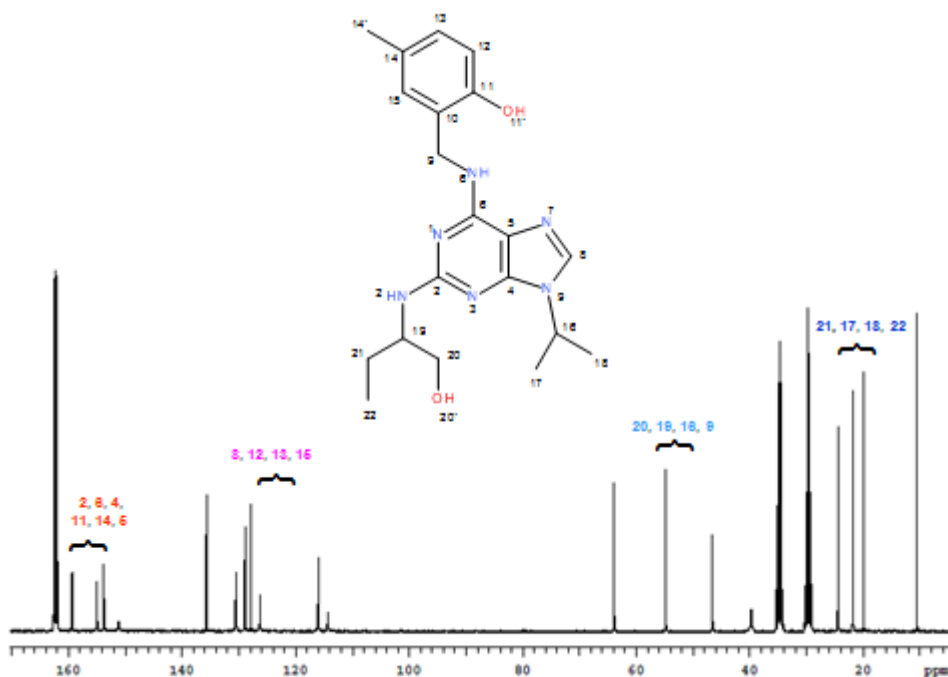
Obrázek 36.  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -*gHMBC* spektrum {N6-(2-hydroxy-3-methylbenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)-amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně DMFA (104.7 ppm), při 25 °C.



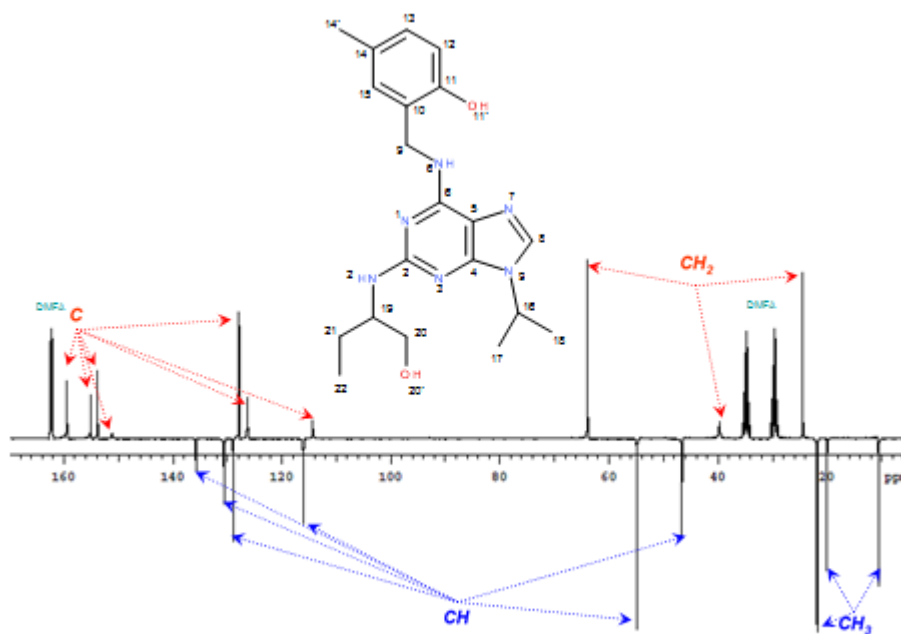
**Obrázek 37.** <sup>1</sup>H-spektrum {N6-(2-hydroxy-5-methylbenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v *d*<sub>7</sub>-DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



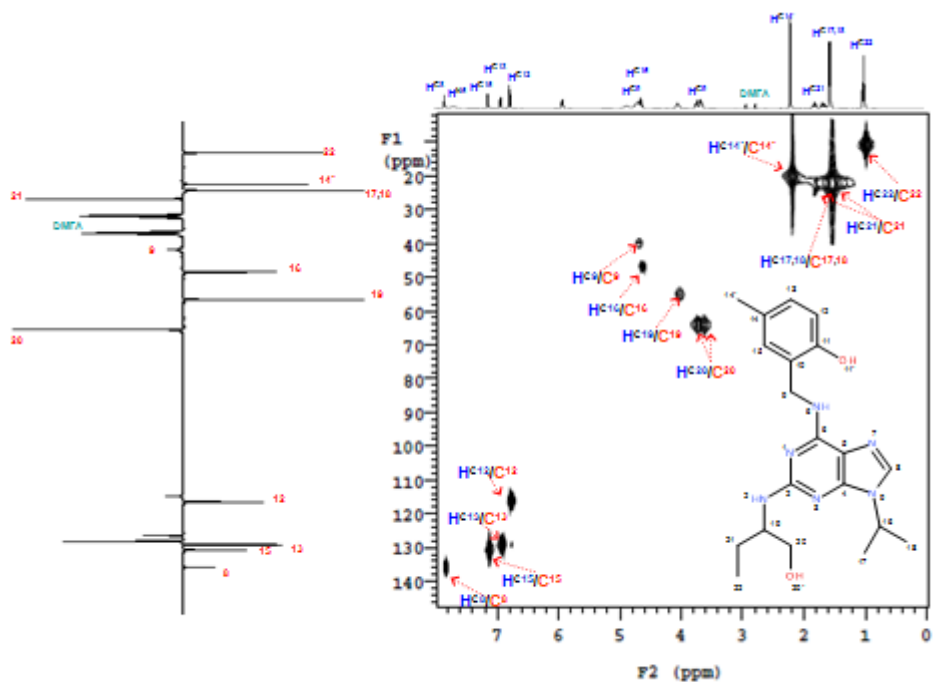
**Obrázek 38.** {<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H}-gCOSY (90°) spektrum {N6-(2-hydroxy-5-methylbenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v *d*<sub>7</sub>-DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



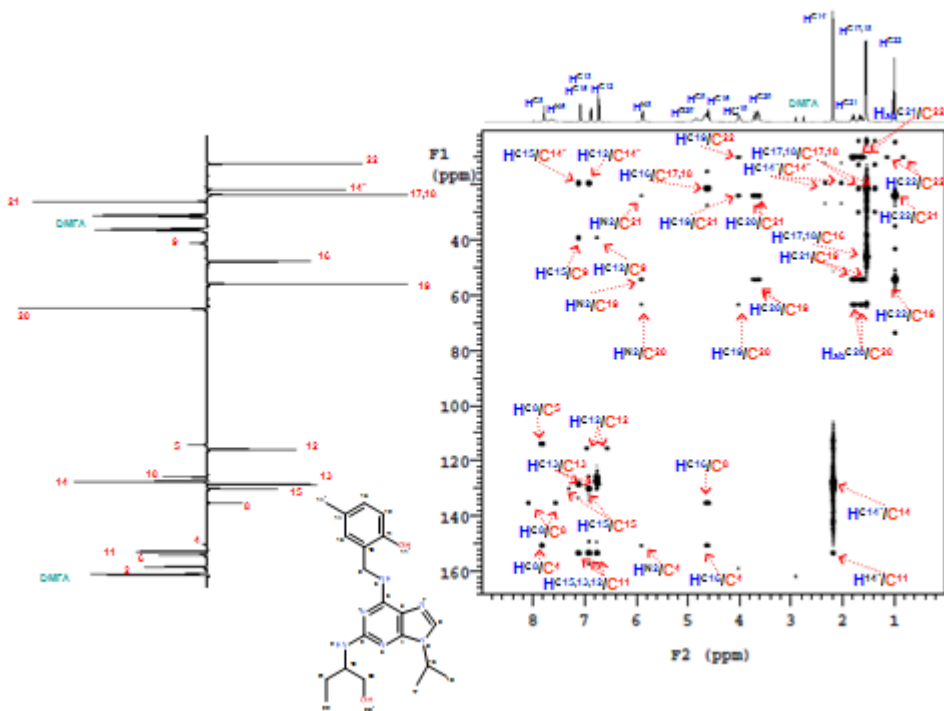
**Obrázek 39.** <sup>13</sup>C-spektrum {N6-(2-hydroxy-5-methylbenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v *d*<sub>7</sub>-DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



**Obrázek 40.** <sup>13</sup>C-APT-spektrum {N6-(2-hydroxy-5-methylbenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v *d*<sub>7</sub>-DMFA, relativně TMS, při 25 °C.

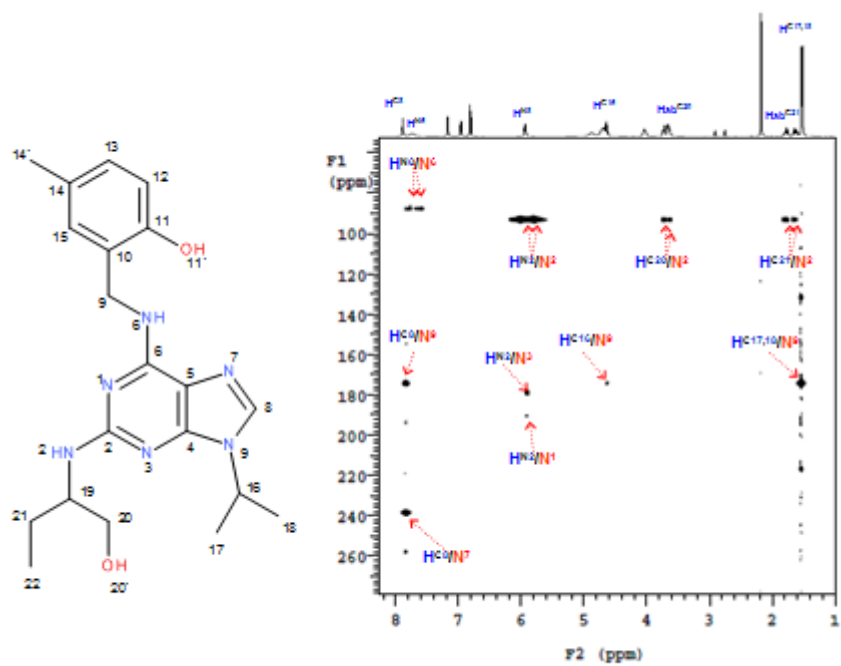


**Obrázek 41.**  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMOC* spektrum {N6-(2-hydroxy-5-methyl-benzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v *d*<sub>7</sub>-DMFA, relativně TMS, při 25 °C.

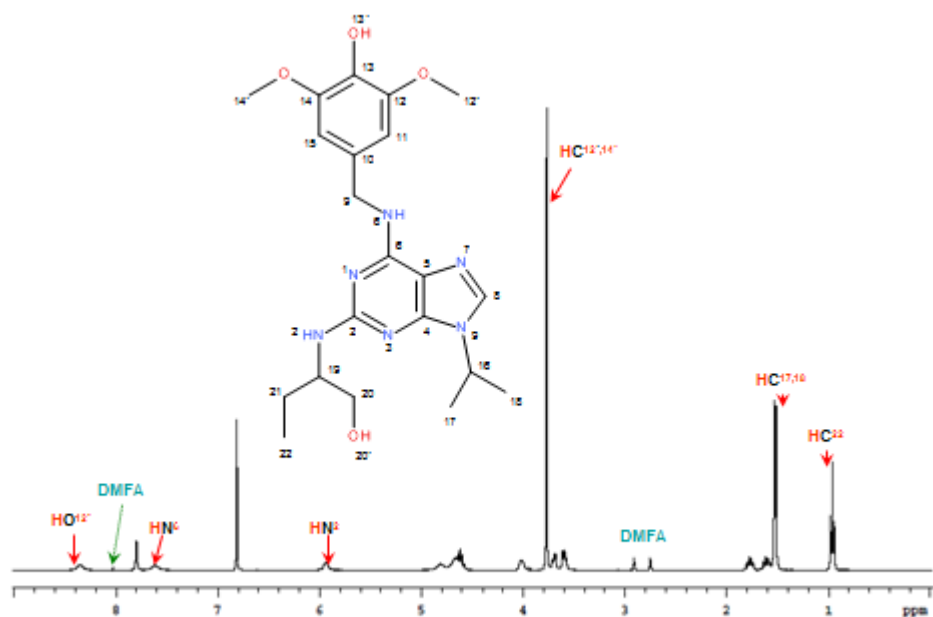


**Obrázek 42.**  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMBC* spektrum {N6-(2-hydroxy-5-methyl-benzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v *d*<sub>7</sub>-DMFA, relativně TMS, při 25 °C.

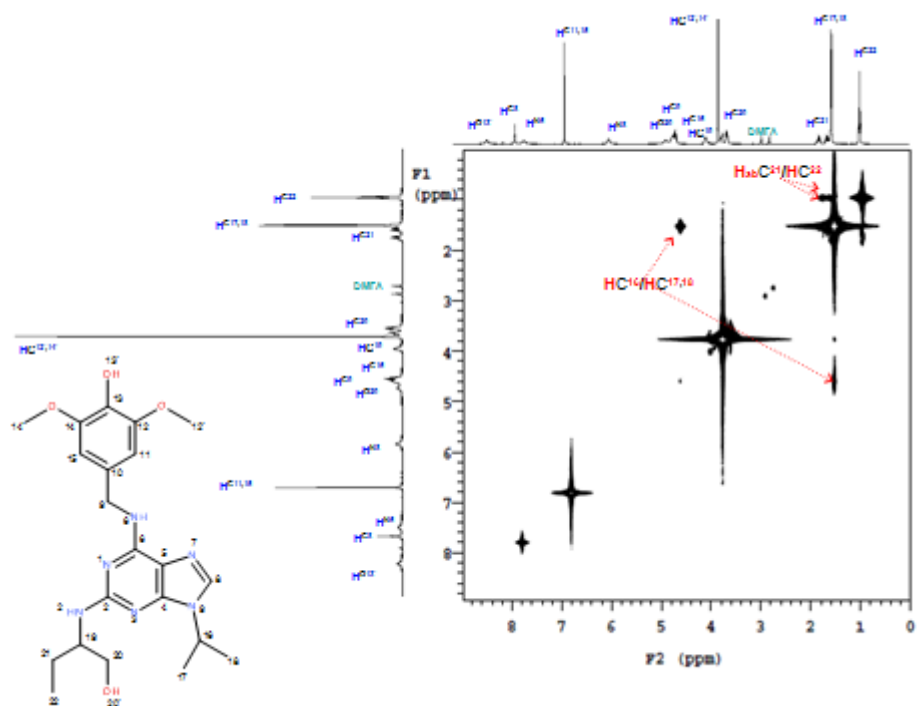




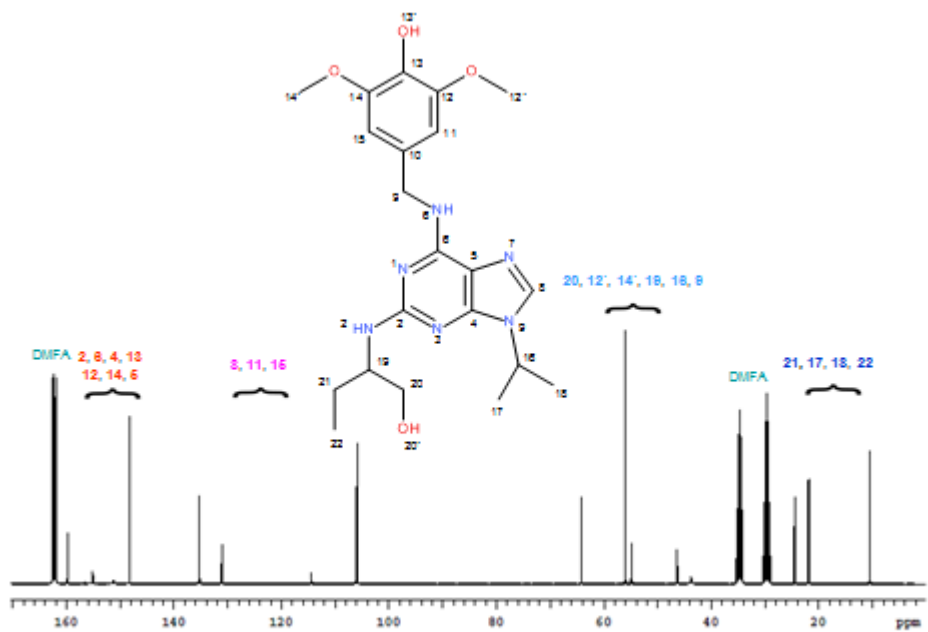
**Obrázek 43.**  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMBC spektrum {N6-(2-hydroxy-5-methyl-benzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ DMFA, relativně DMFA (104.7 ppm), při 25 °C.



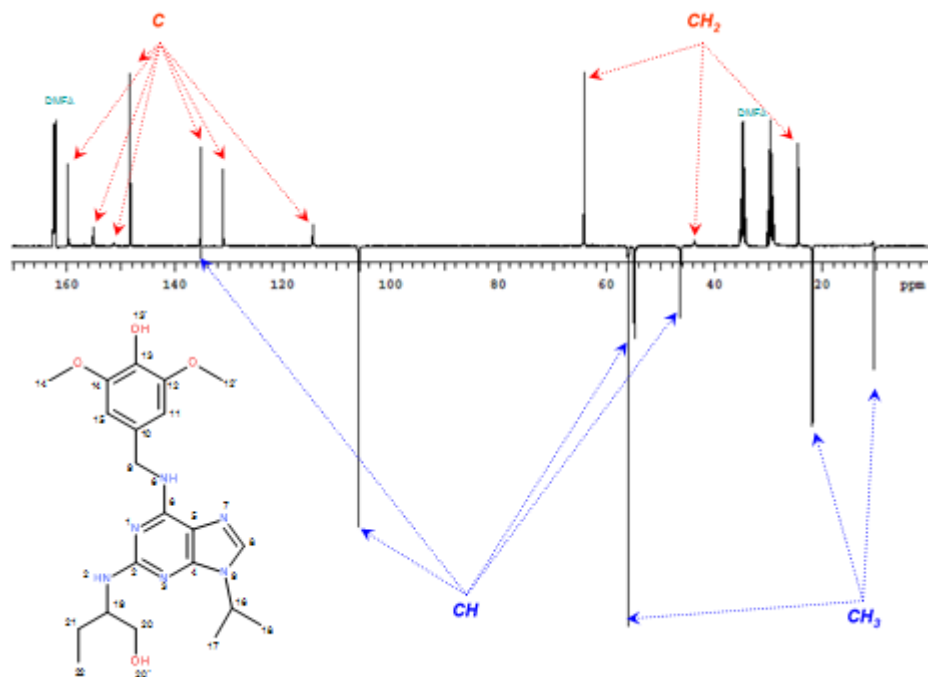
**Obrázek 44.**  $^1\text{H}$ -spektrum {N6-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



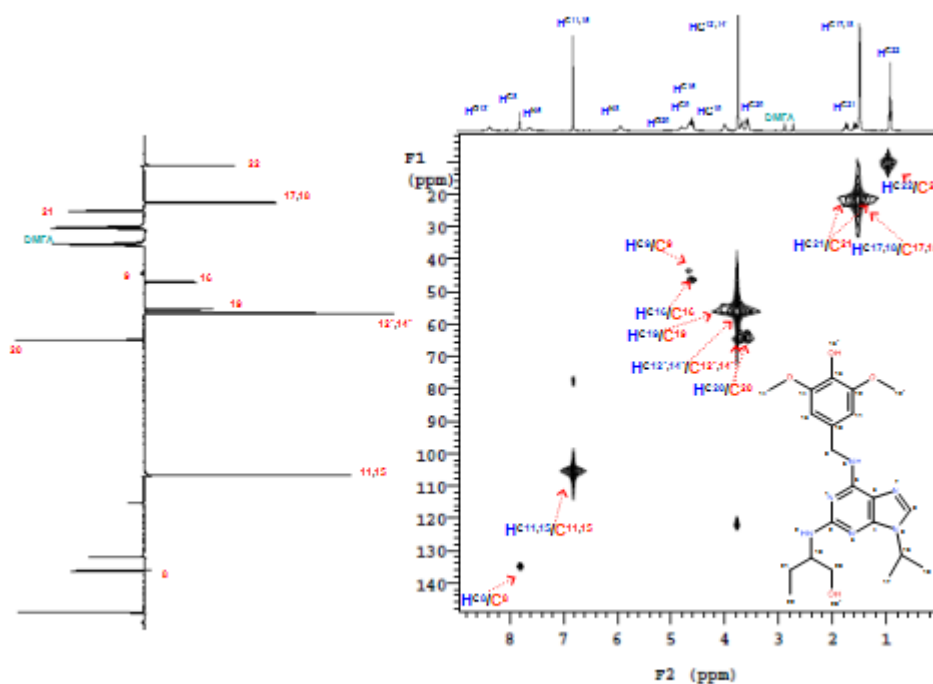
**Obrázek 45.**  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ - $g\text{COSY}$  ( $90^\circ$ ) spektrum  $\{\text{N}6\text{-}(4\text{-hydroxy-}3,5\text{-dimethoxybenzylamin})\text{-}2\text{-}[(1\text{-hydroxymethyl-propyl})\text{amin}]\text{-}9\text{-}(\text{isopropyl})\}$  purinu v  $d_7\text{-DMFA}$ , relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .



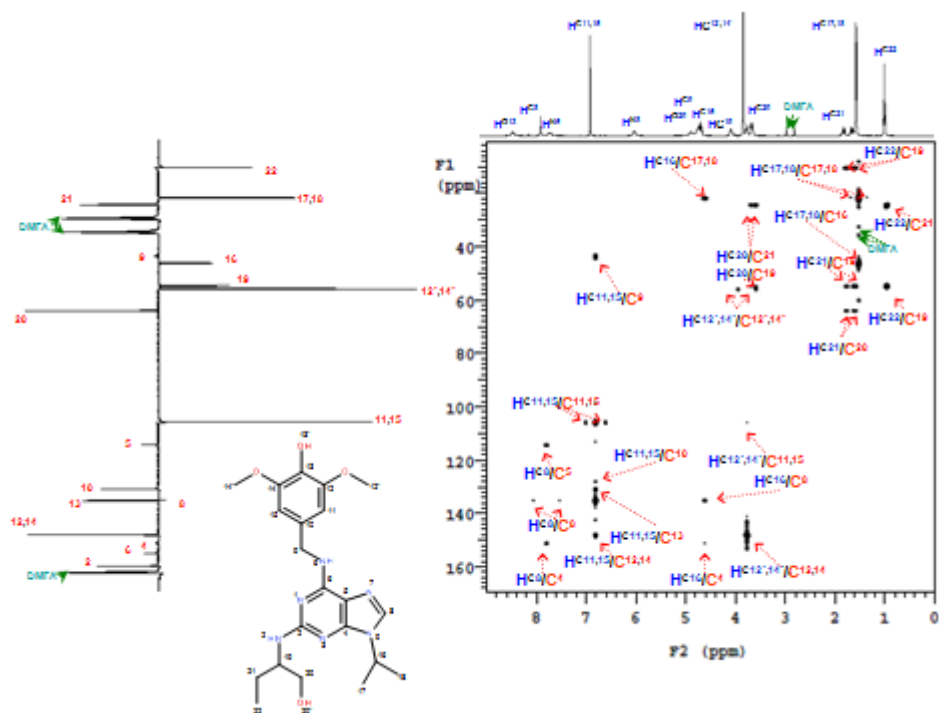
**Obrázek 46.**  $^{13}\text{C}$ -spektrum  $\{\text{N}6\text{-}(4\text{-hydroxy-}3,5\text{-dimethoxybenzylamin})\text{-}2\text{-}[(1\text{-hydroxymethyl-propyl})\text{amin}]\text{-}9\text{-}(\text{isopropyl})\}$  purinu v  $d_7\text{-DMFA}$ , relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .



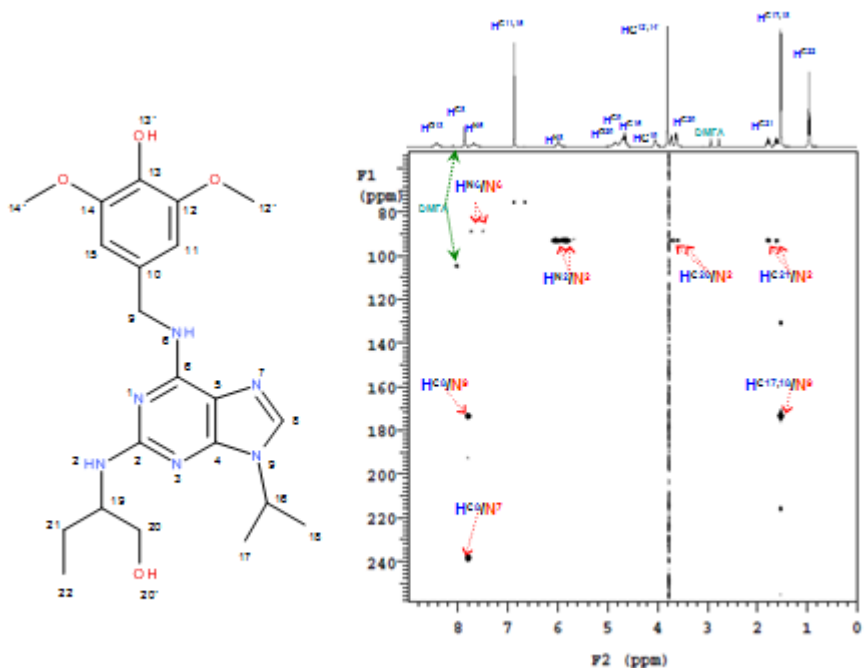
**Obrázek 47.**  $^{13}\text{C}$ -APT-spektrum {N6-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)-amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



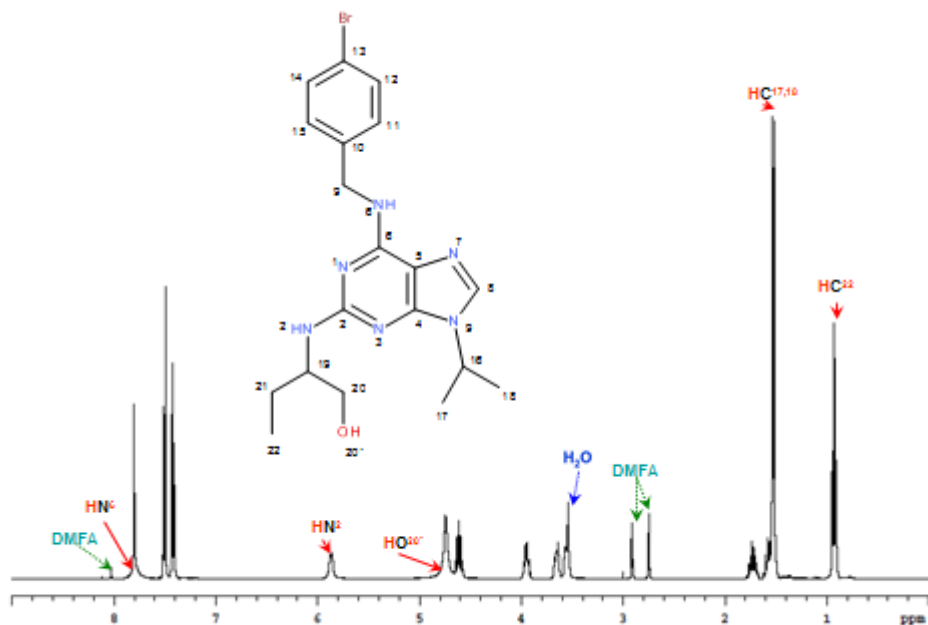
**Obrázek 48.**  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMQC spektrum {N6-(4-hydroxy-3,5-dimethoxy-benzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



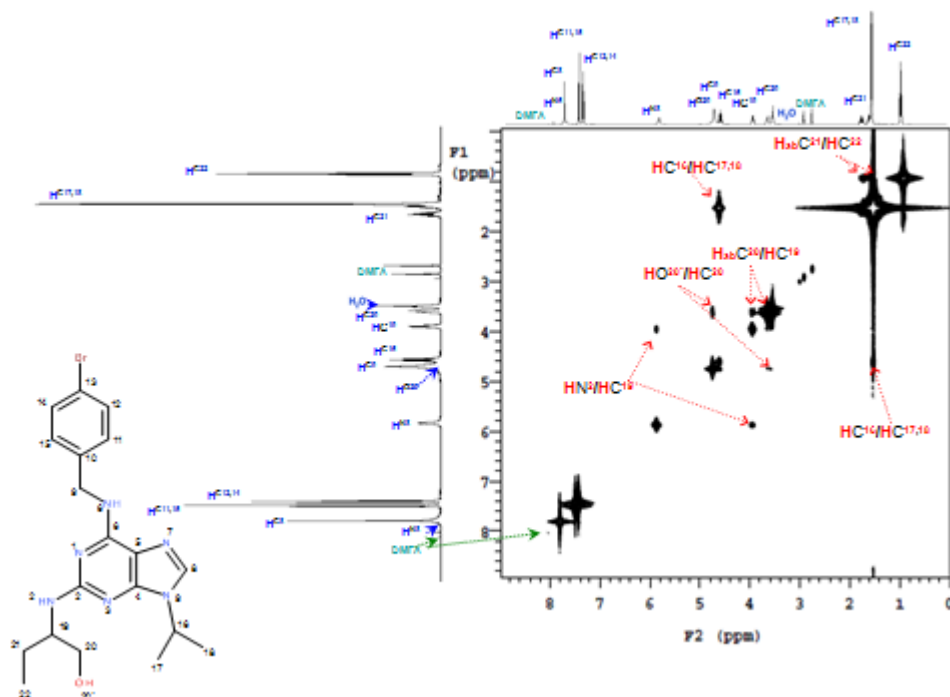
**Obrázek 49.**  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMBC spektrum {N6-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethylpropyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



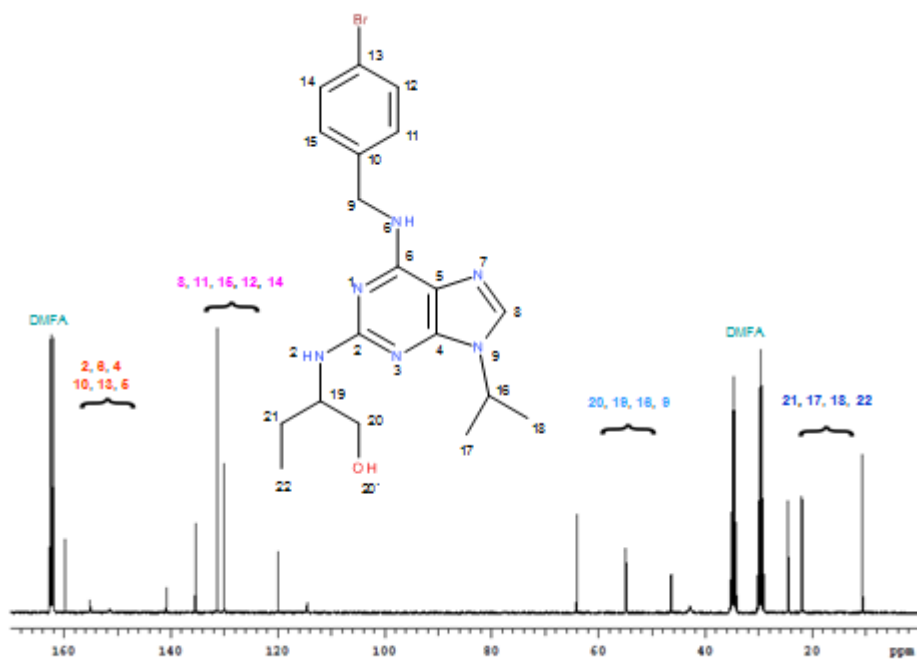
**Obrázek 50.**  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMBC spektrum {N6-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethylpropyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně DMFA (104.7 ppm), při 25 °C.



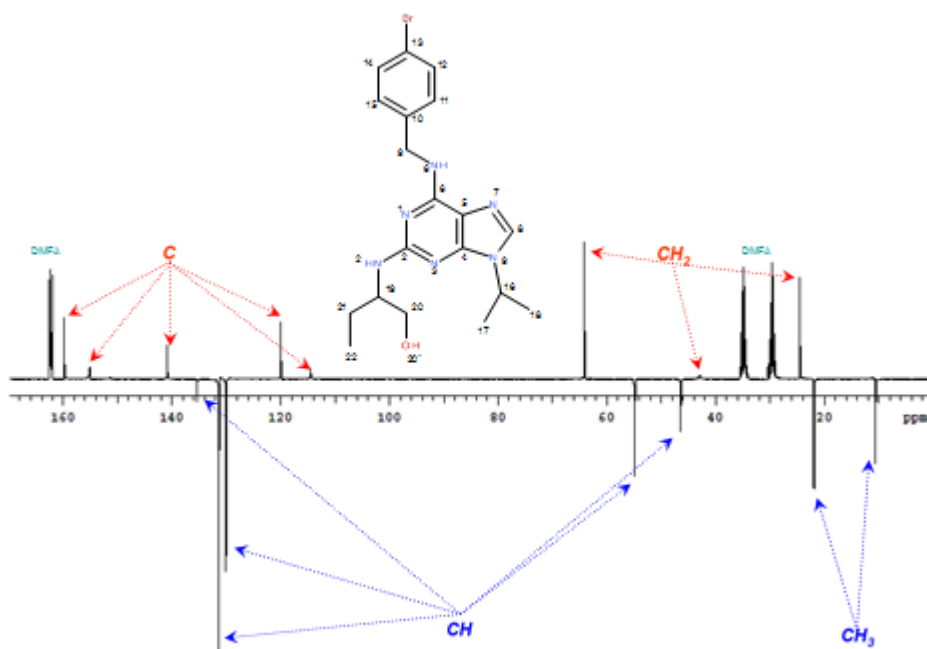
Obrázek 51.  $^1\text{H}$ -spektrum {N6-(4-brombenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



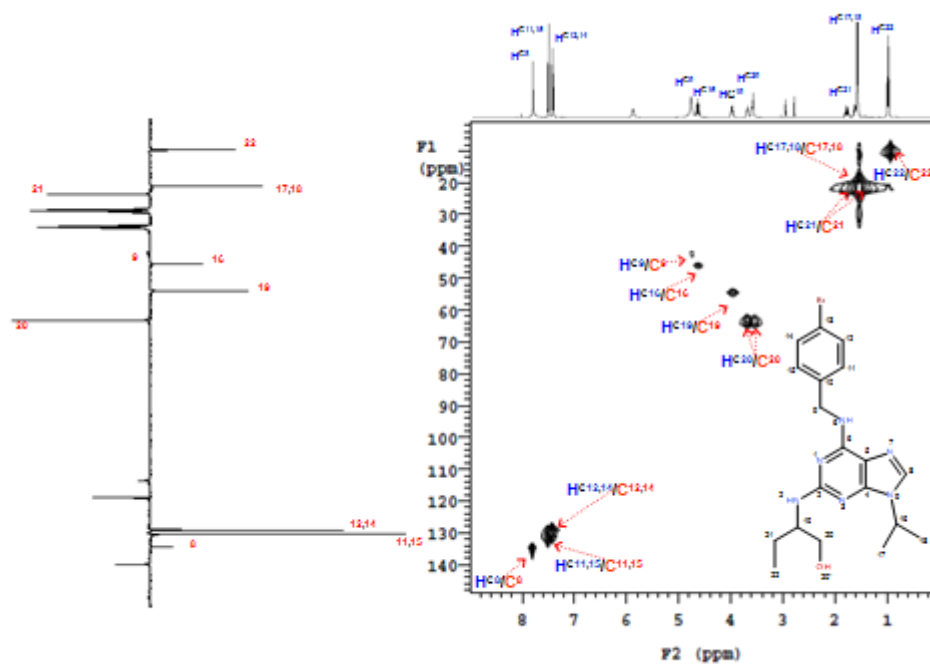
Obrázek 52.  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gCOSY ( $90^\circ$ ) spektrum {N6-(4-brom-benzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



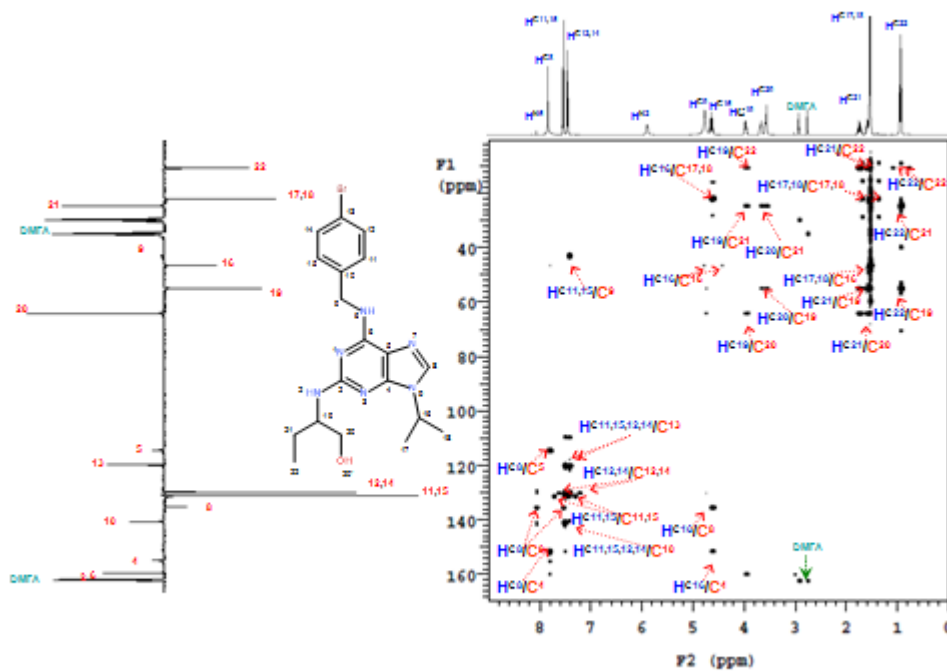
Obrázek 53.  $^{13}\text{C}$ -spektrum {N6-(4-brom-benzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



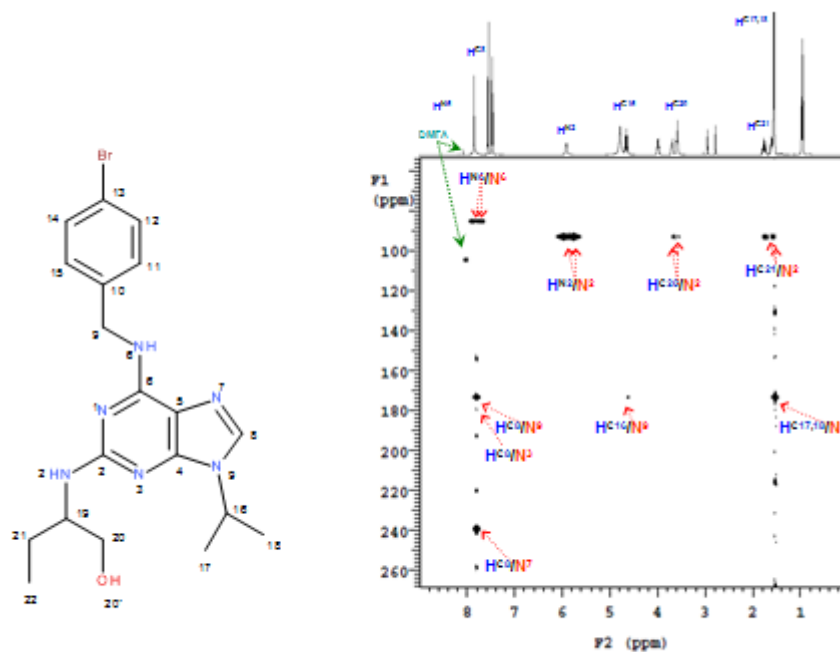
Obrázek 54.  $^{13}\text{C}$ -APT-spektrum {N6-(4-brom-benzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



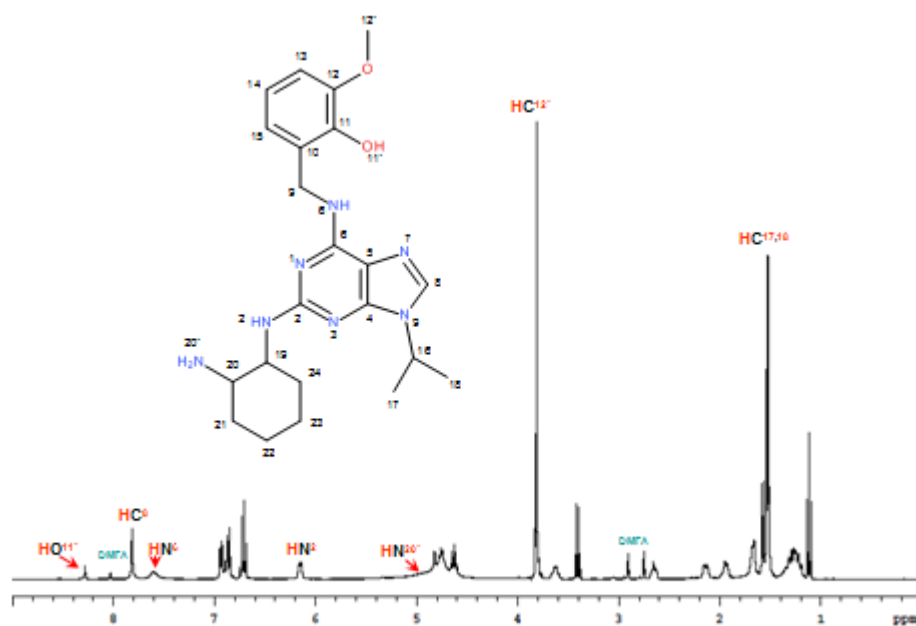
**Obrázek 55.**  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMQC* spektrum {N6-(4-brom-benzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



**Obrázek 56.**  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMBC* spektrum {N6-(4-brom-benzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.

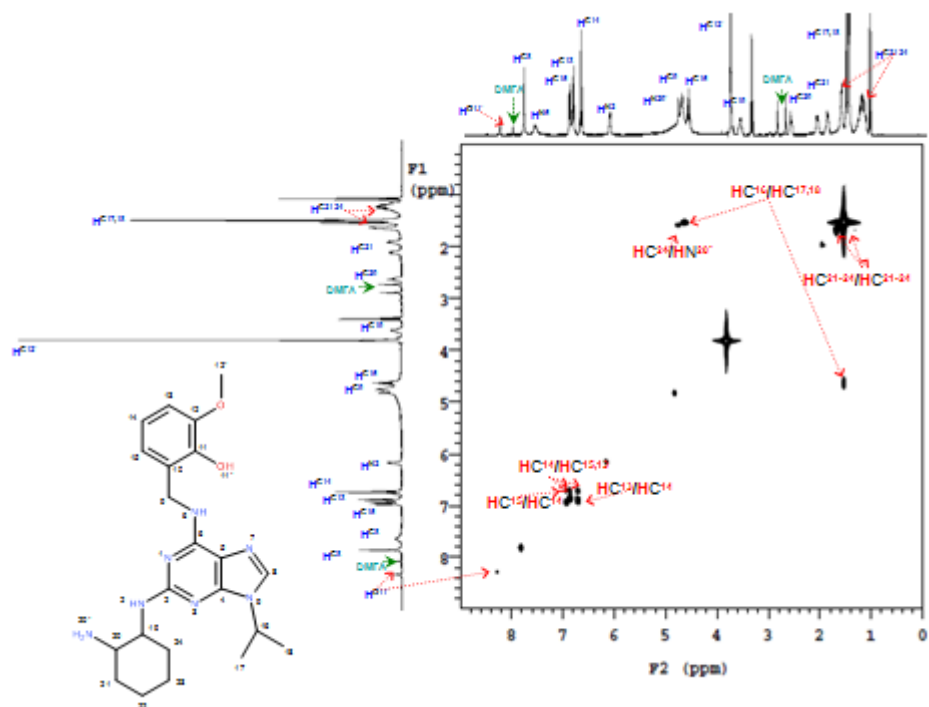


**Obrázek 57.**  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -*gHMBC* spektrum {N6-(4-brombenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně DMFA (104.7 ppm), při 25 °C.

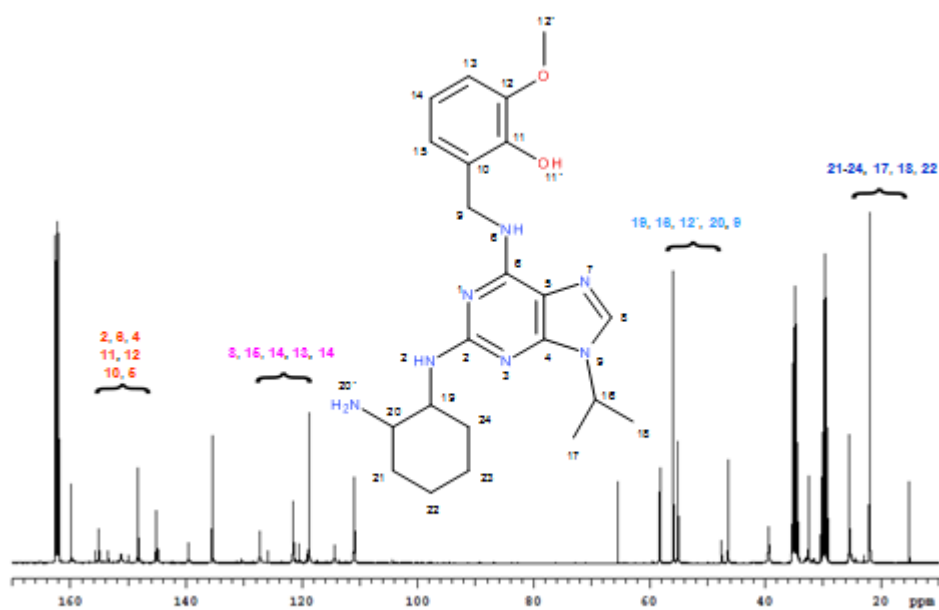


**Obrázek 58.**  $^1\text{H}$ -spektrum [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(6-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]-purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.

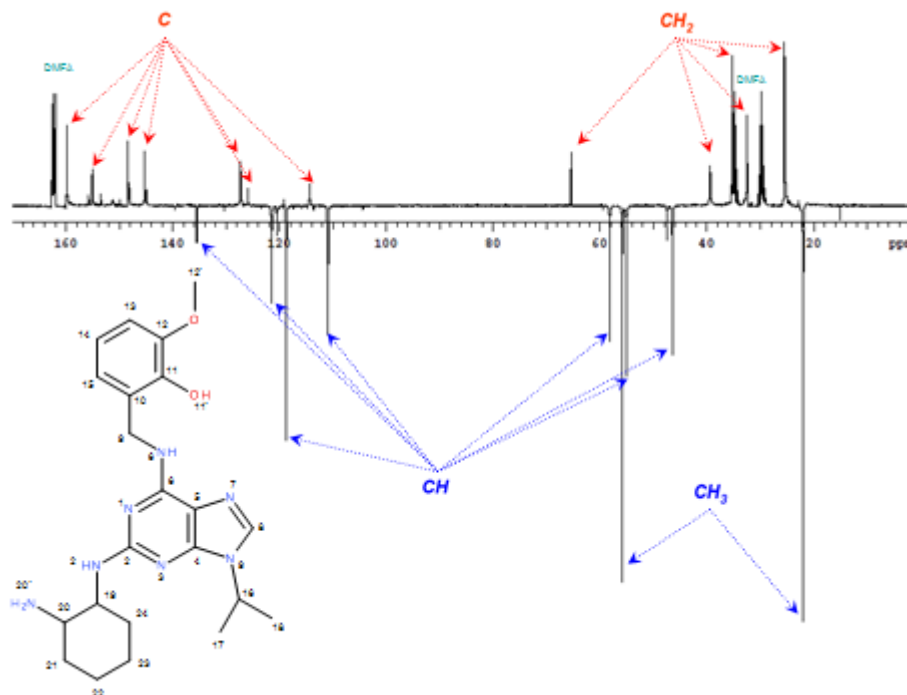




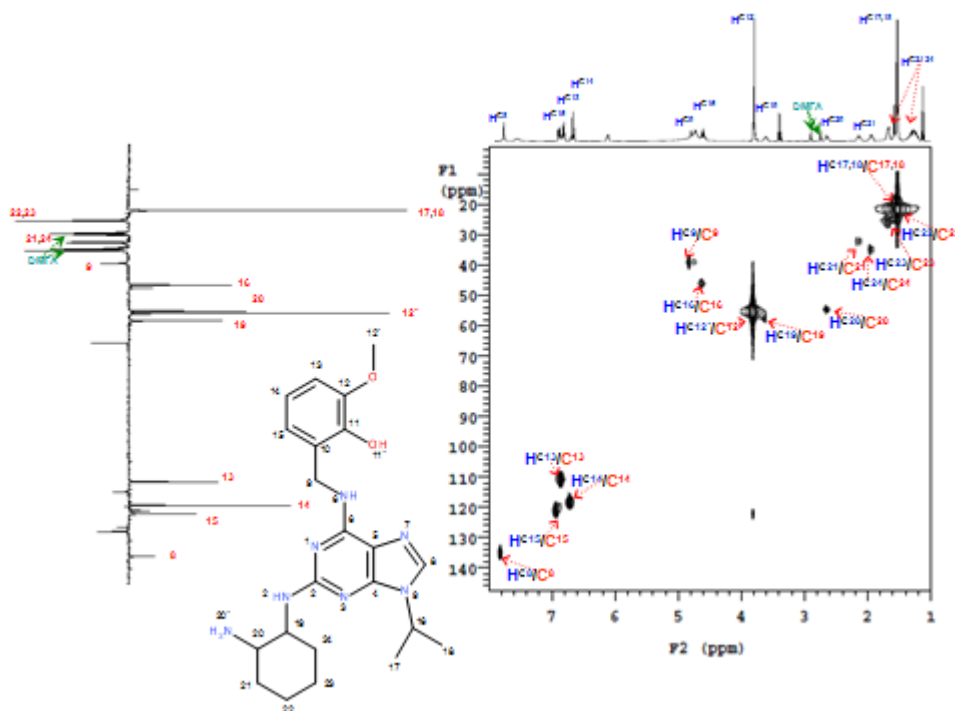
**Obrázek 59.**  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ - $g\text{COSY}$  ( $90^\circ$ ) spektrum [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(6-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .



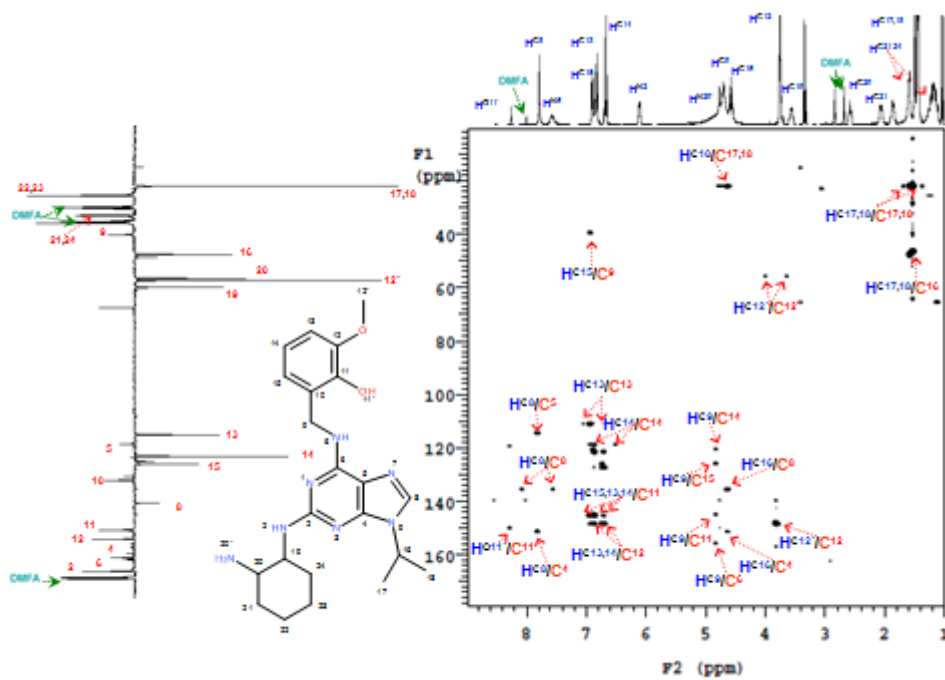
**Obrázek 60.**  $^{13}\text{C}$ -spektrum [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(6-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]-purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .



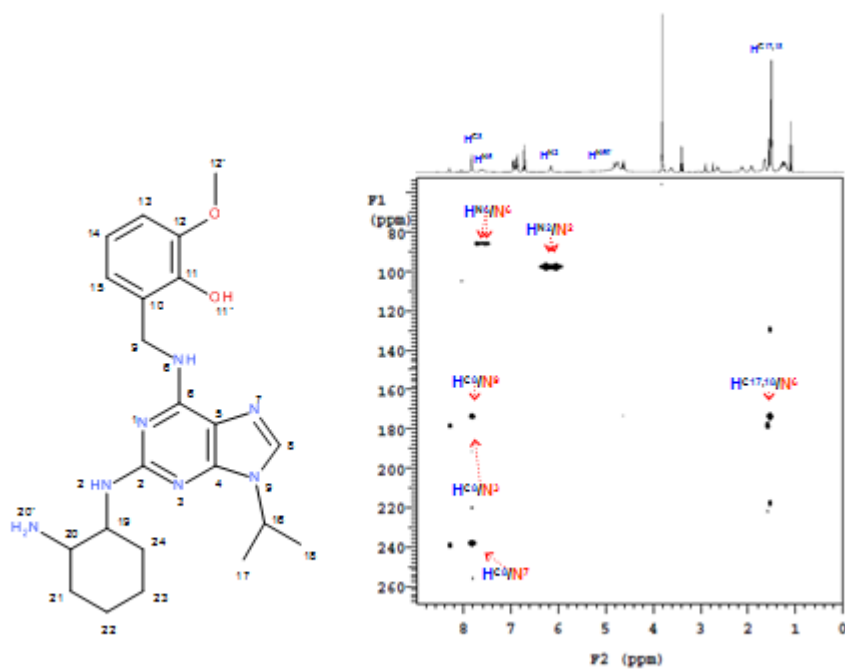
**Obrázek 61.**  $^{13}\text{C}$ -APT-spektrum [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(6-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



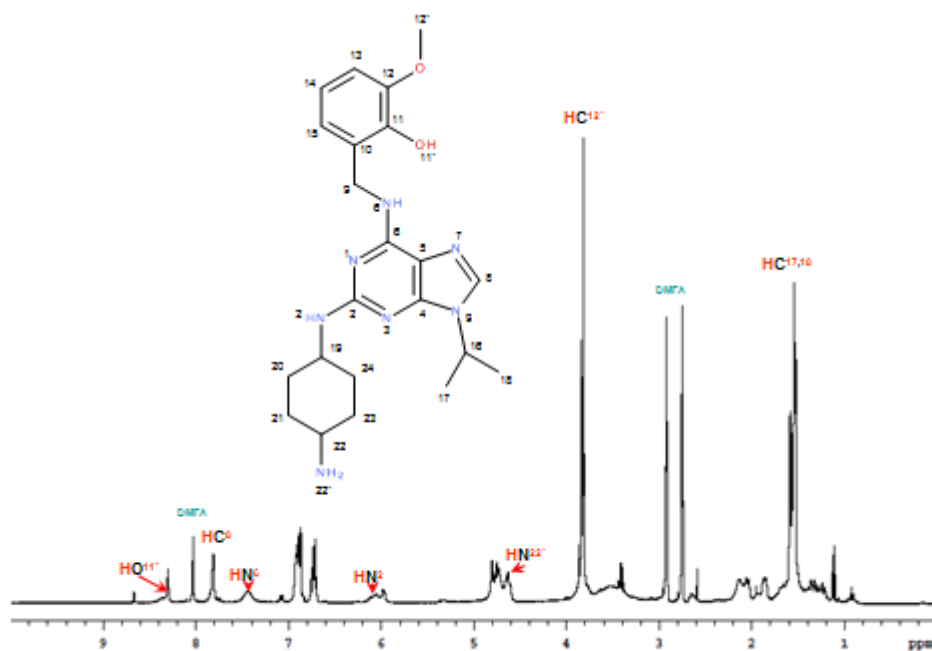
**Obrázek 62.**  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMOC spektrum [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(6-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



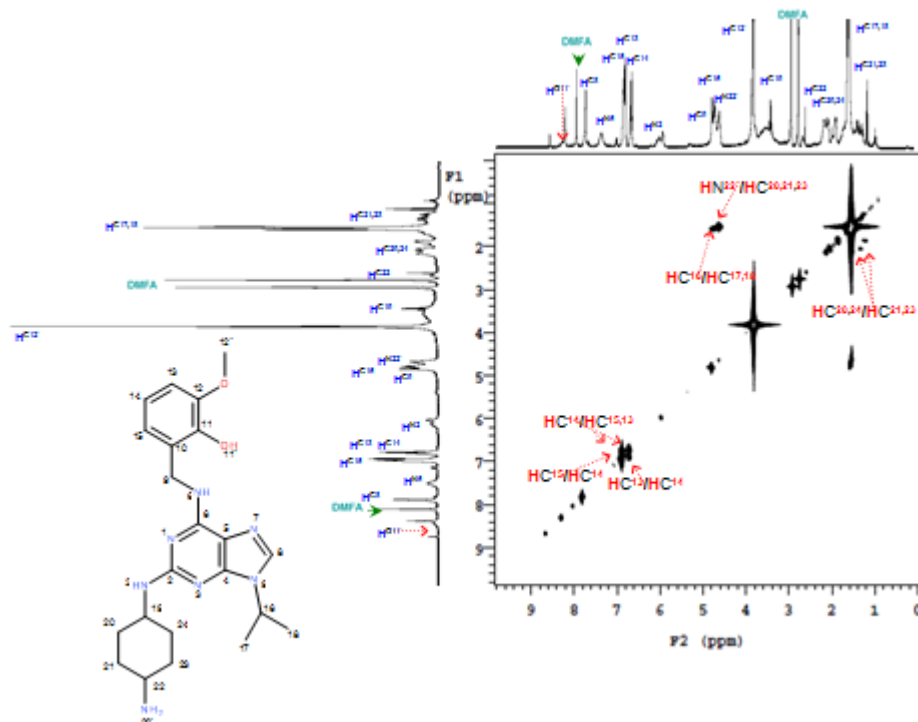
Obrázek 63.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMBC* spektrum [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(6-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



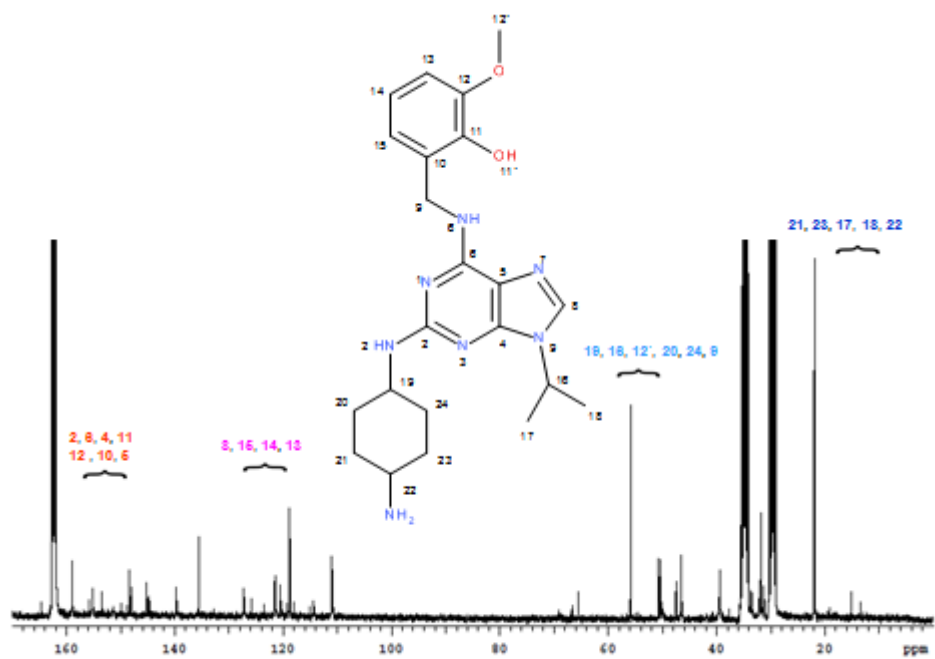
Obrázek 64.  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -*gHMBC* spektrum [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(6-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně DMFA (104.7 ppm), při 25 °C.



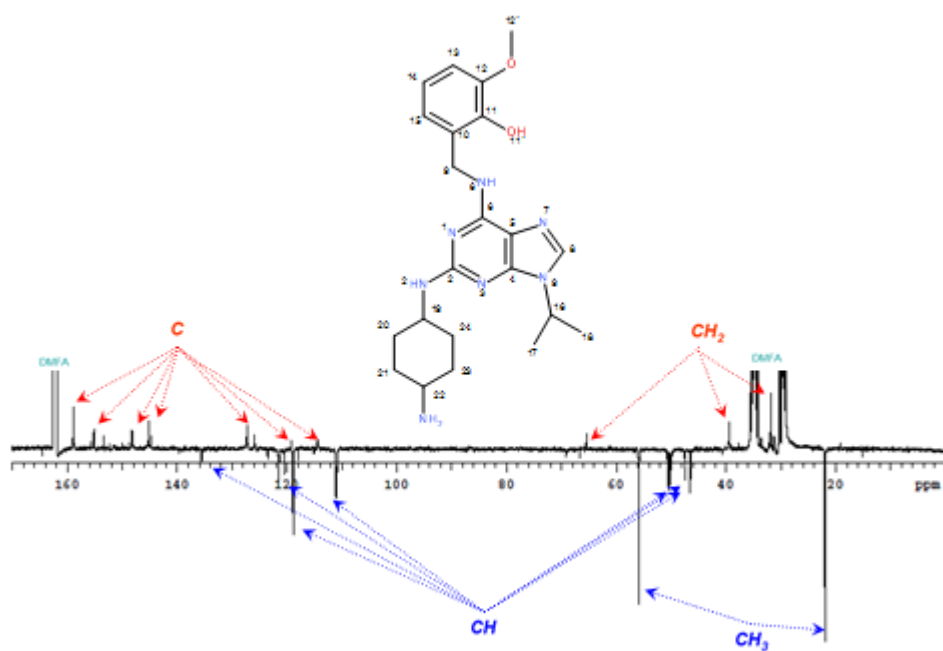
**Obrázek 65.**  $^1\text{H}$ -spektrum [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(4-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]-purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



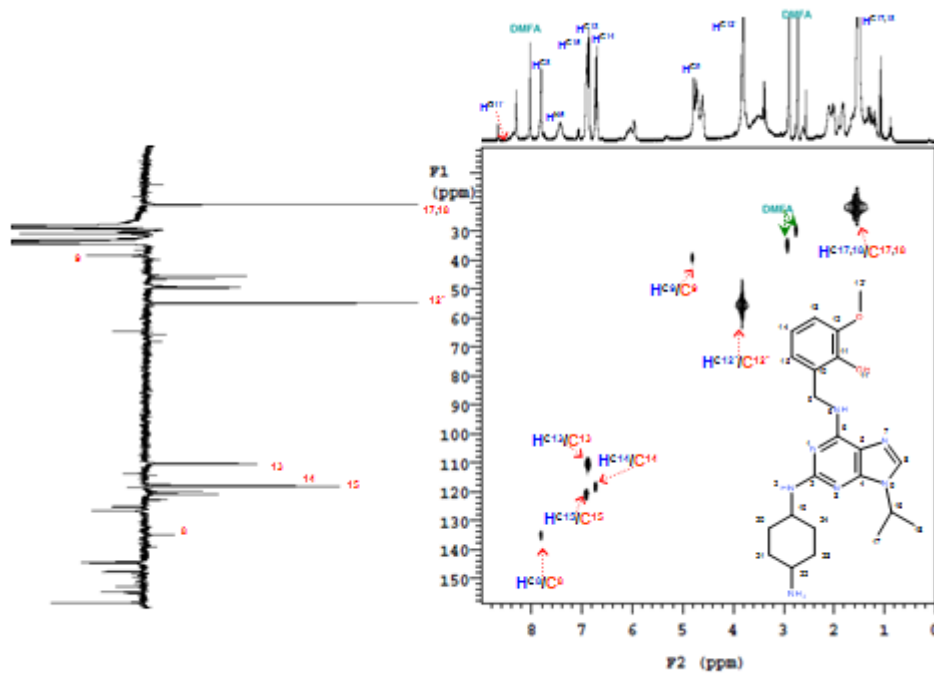
**Obrázek 66.**  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gCOSY ( $90^\circ$ ) spektrum [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(4-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



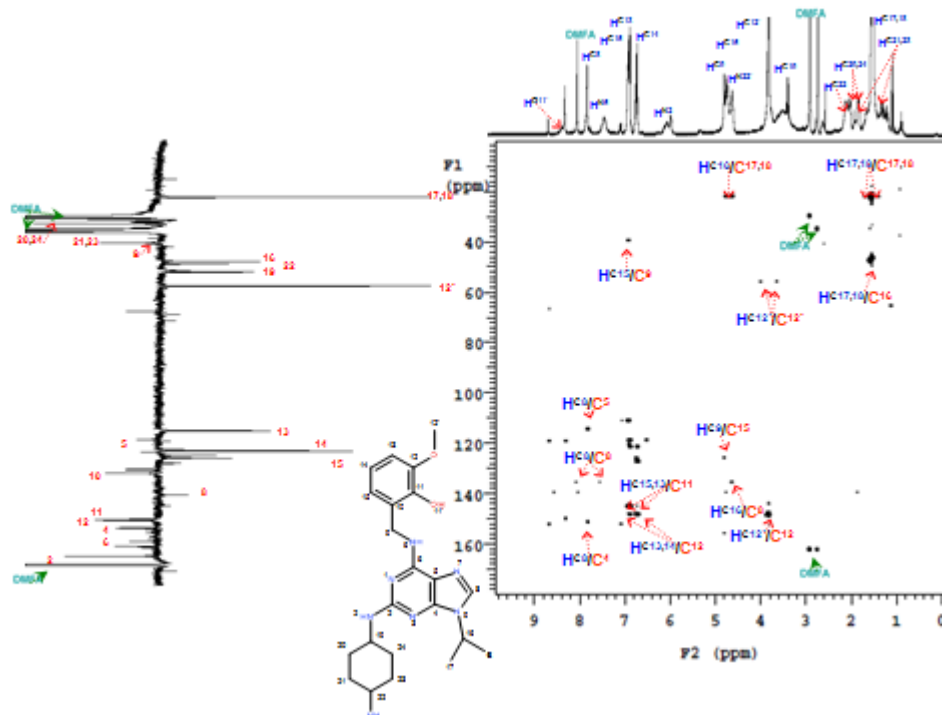
**Obrázek 67.**  $^{13}\text{C}$ -spektrum [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(4-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]-purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



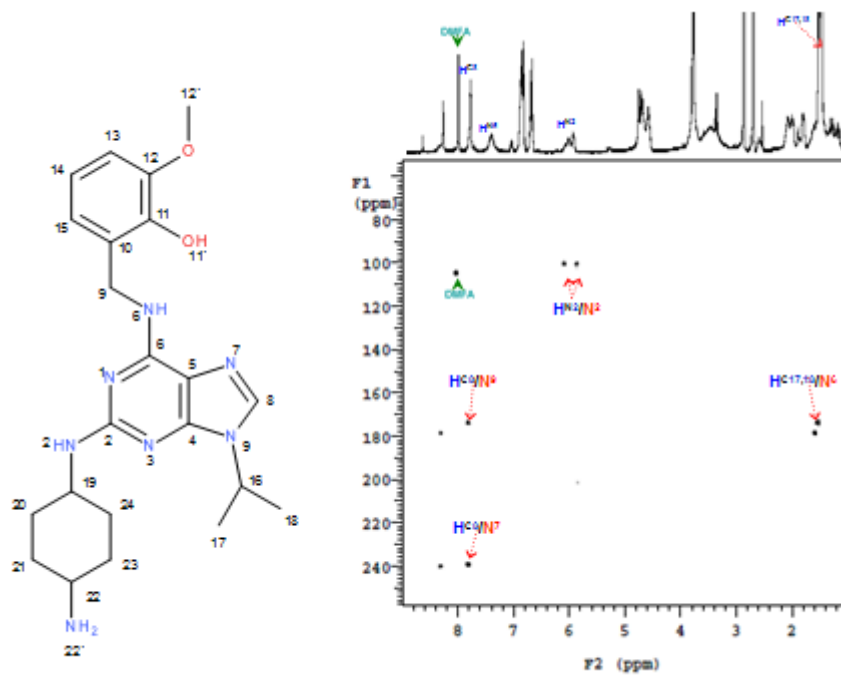
**Obrázek 68.**  $^{13}\text{C}$ -APT-spektrum [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(4-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



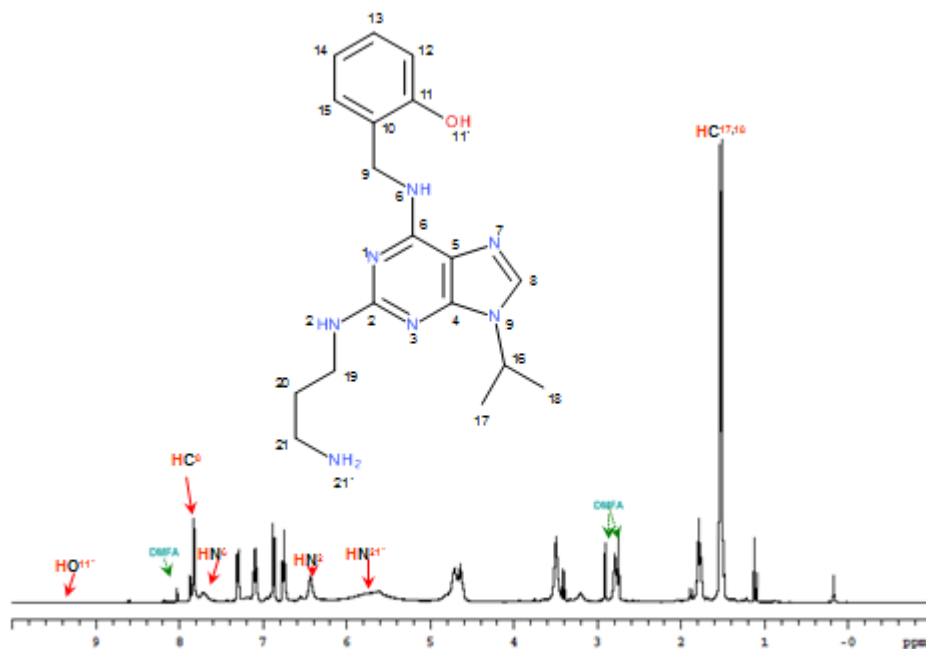
Obrázek 69.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMQC spektrum [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(4-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



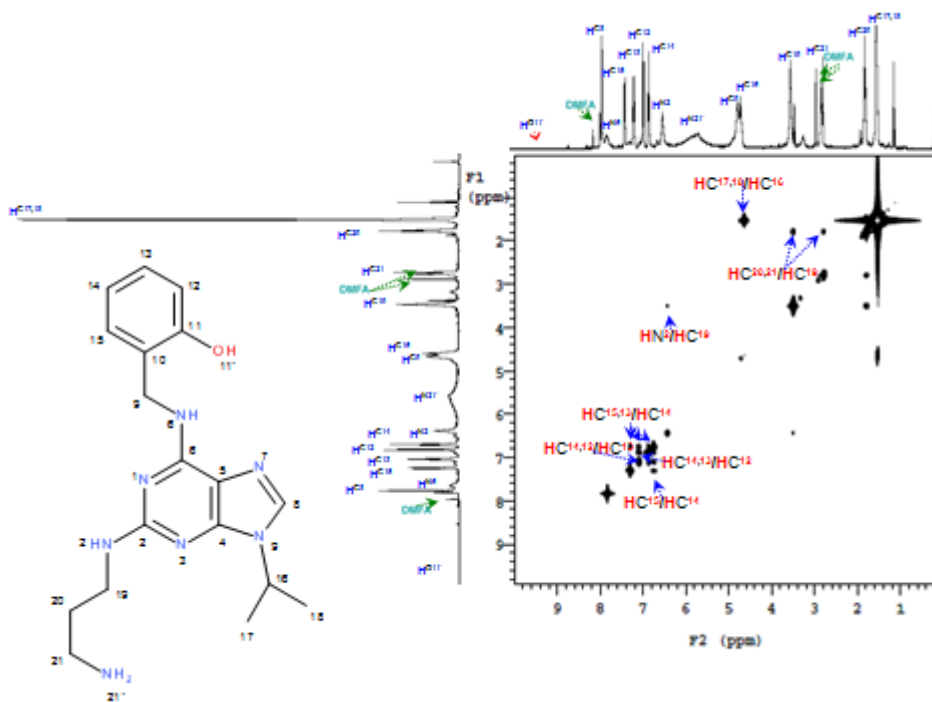
Obrázek 70.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMBC spektrum [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(4-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



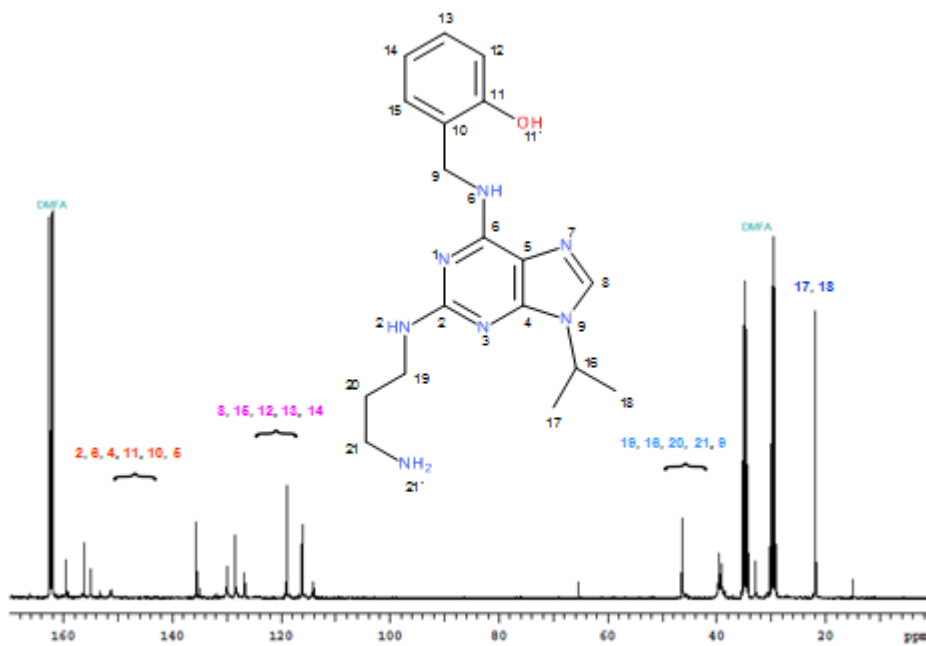
**Obrázek 71.**  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -*gHMBC* spektrum [N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-(4-amincyklohexylamin)-9-(isopropyl)]purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně DMFA (104.7 ppm), při 25 °C.



**Obrázek 72.**  $^1\text{H}$ -spektrum [N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-(1,3-propylendiamin)-9-(isopropyl)]purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



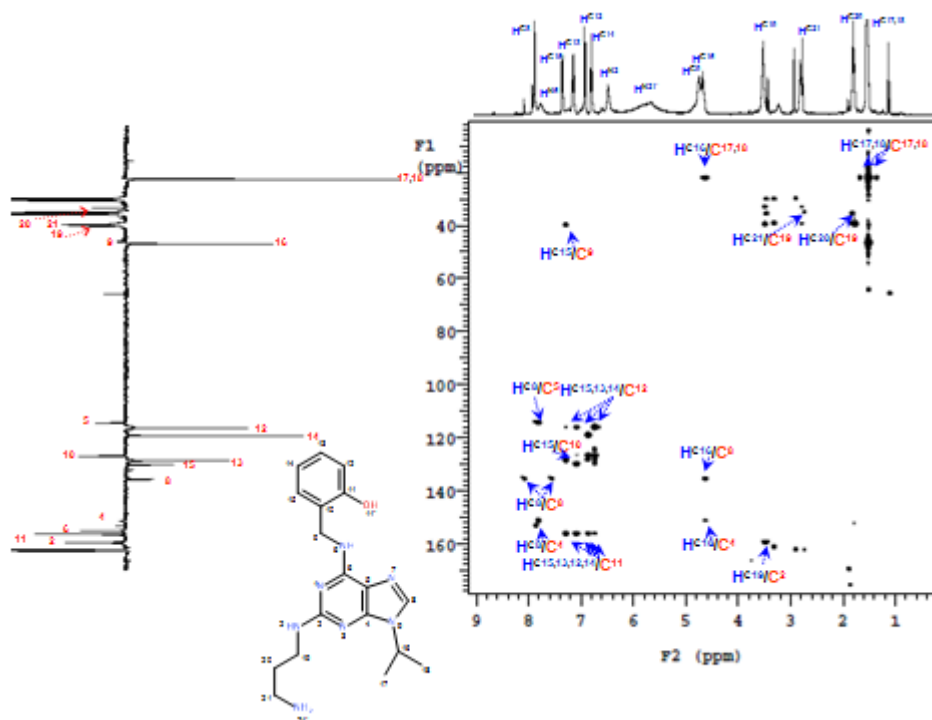
**Obrázek 73.**  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gCOSY ( $90^\circ$ ) spektrum [N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-(1,3-propylendiamin)-9-(isopropyl)]purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .



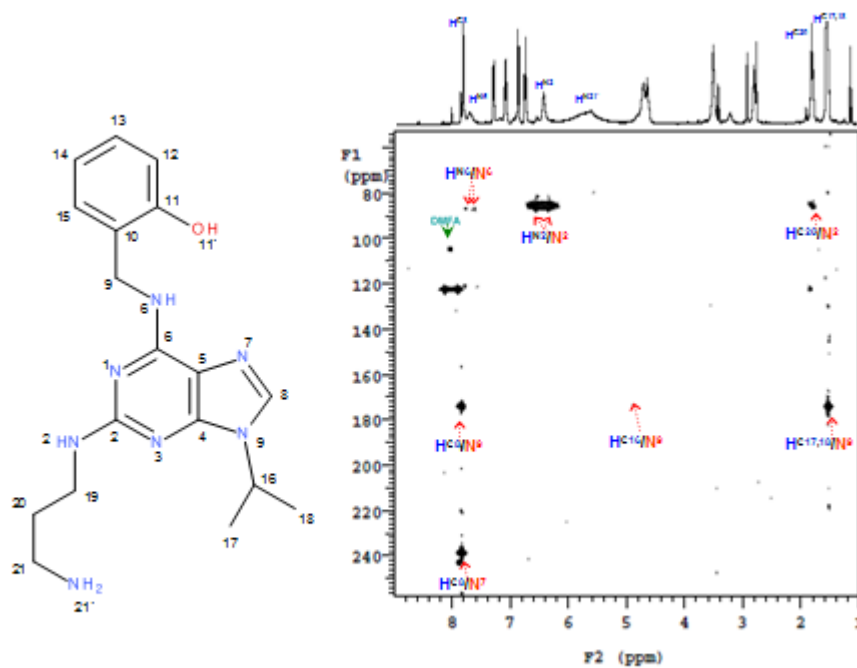
**Obrázek 74.**  $^{13}\text{C}$ -spektrum [N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-(1,3-propylendiamin)-9-(isopropyl)]purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .



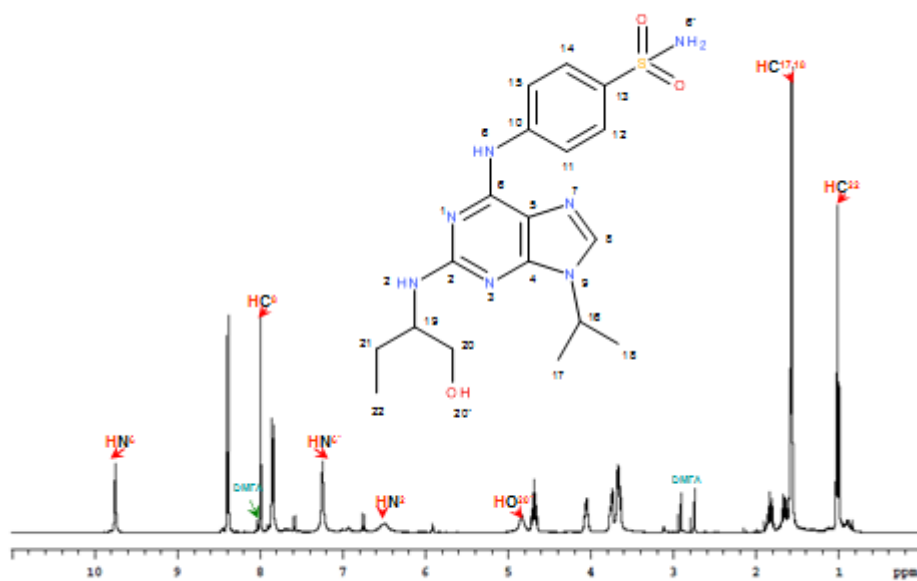




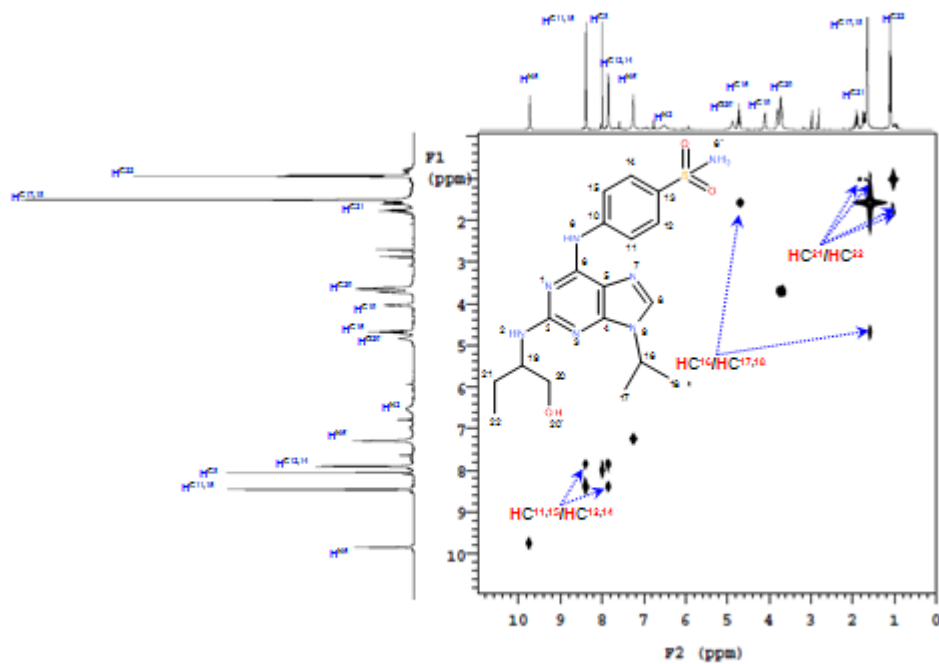
Obrázek 77.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMBC spektrum [N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-(1,3-propylendiamin)-9-(isopropyl)]-purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



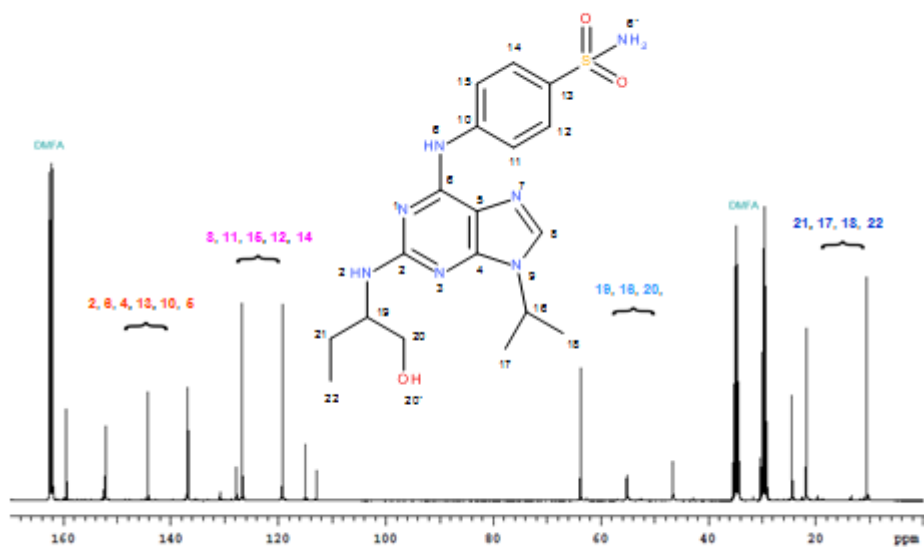
Obrázek 78.  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMBC spektrum [N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-(1,3-propylendiamin)-9-(isopropyl)]-purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně DMFA (104.7 ppm), při 25 °C.



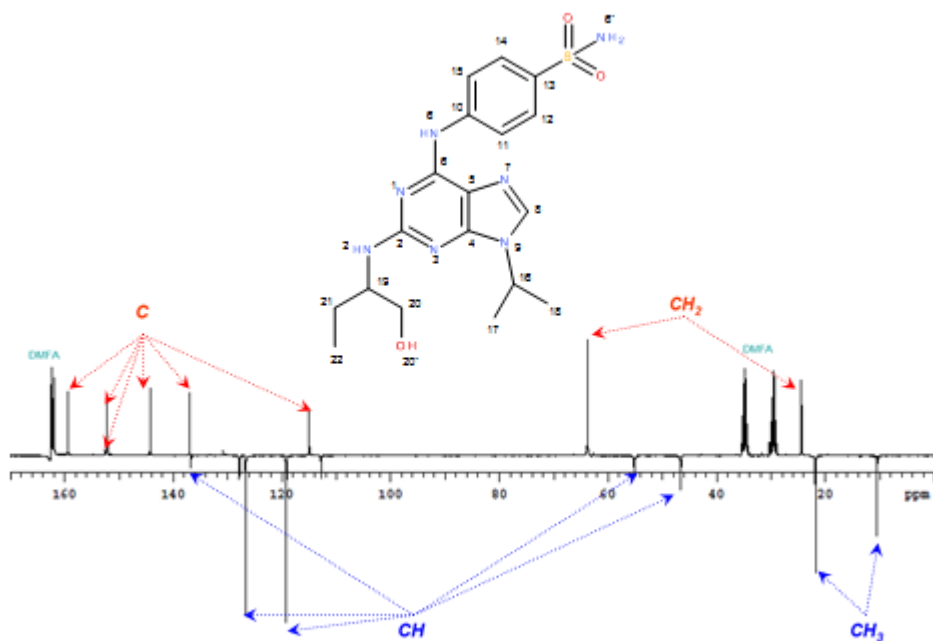
**Obrázek 79.**  $^1\text{H}$ -spektrum {N6-(4-aminobenzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}-purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



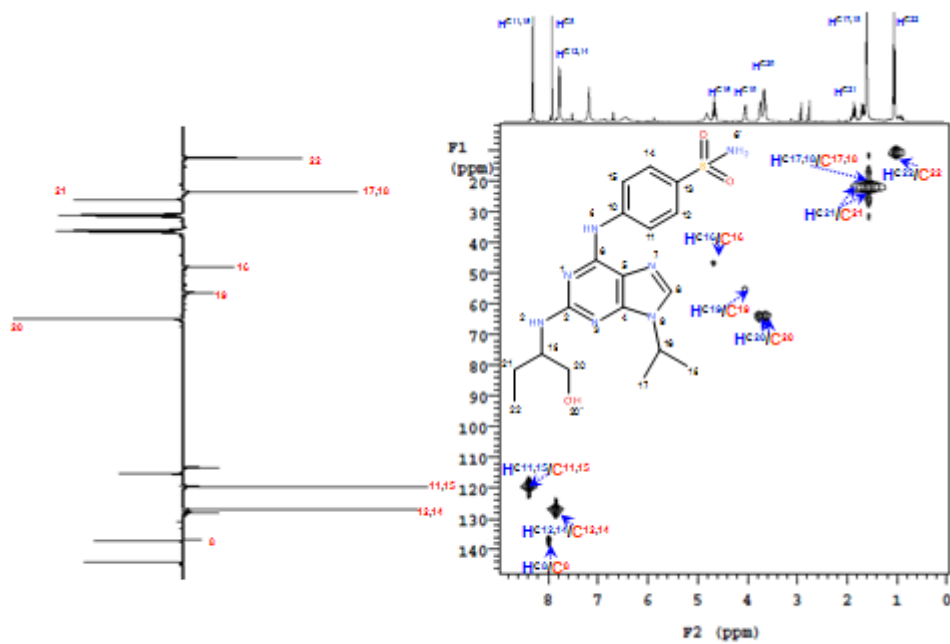
**Obrázek 80.**  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ - $g\text{COSY}$  ( $90^\circ$ ) spektrum {N6-(4-aminobenzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethylpropyl)-amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



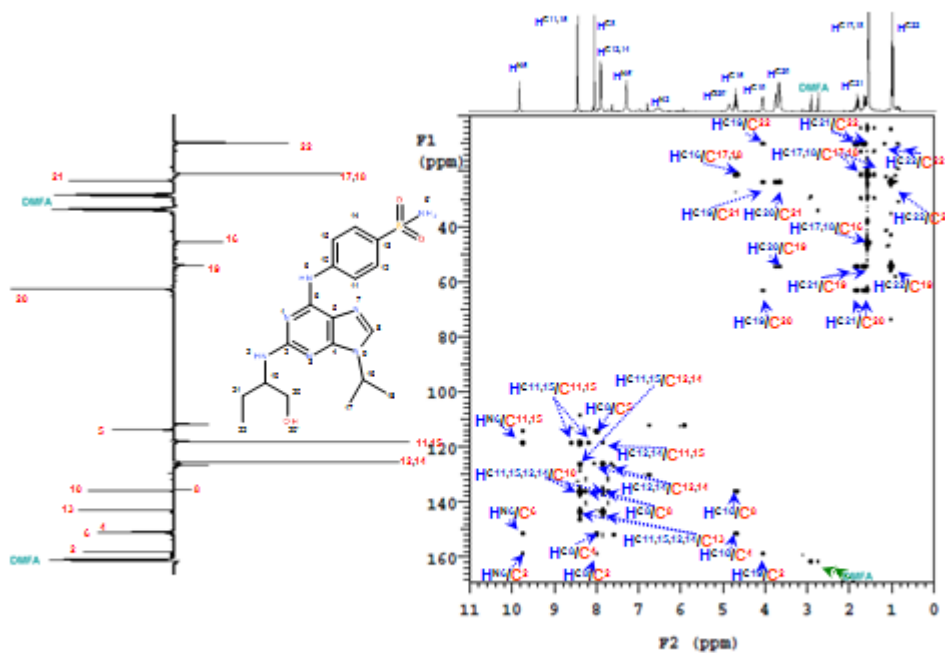
**Obrázek 81.**  $^{13}\text{C}$ -spektrum {N6-(4-aminobenzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}-purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



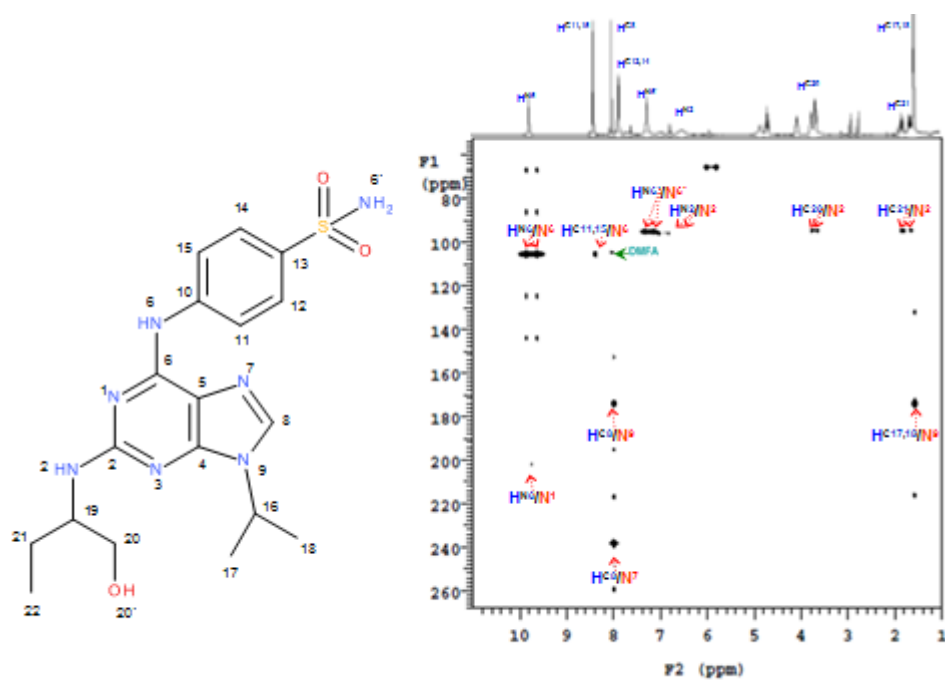
**Obrázek 82.**  $^{13}\text{C}$ -APT-spektrum {N6-(4-aminobenzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}-purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



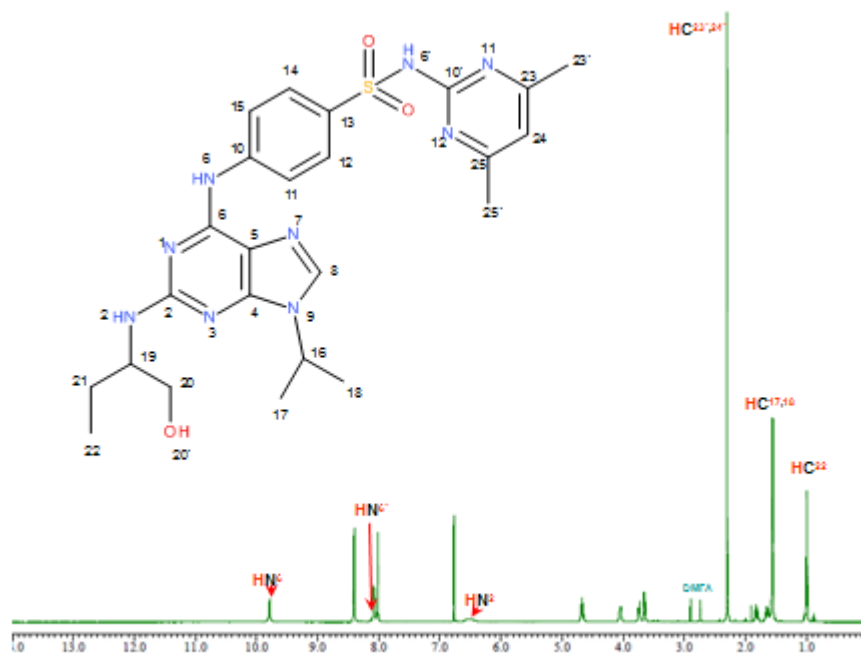
Obrázek 83.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMQC* spektrum {N6-(4-aminobenzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



Obrázek 84.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMBC* spektrum {N6-(4-aminobenzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.

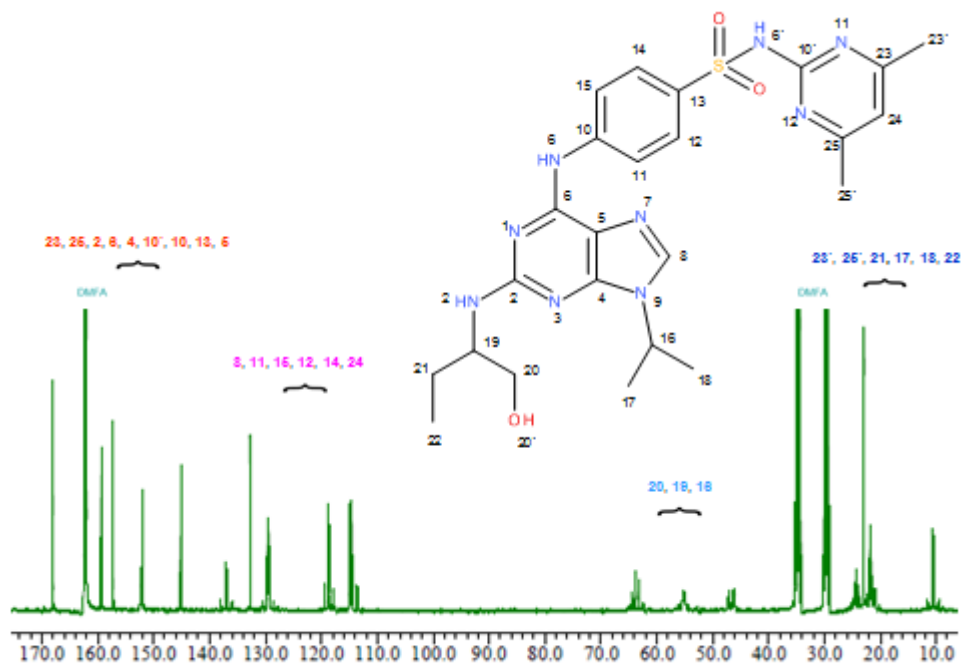


**Obrázek 85.**  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -*gHMBC* spektrum  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -*gHMBC* spektrum  $\{N6-(4\text{-aminobenzensulfonamid})-2-[(1\text{-hydroxymethyl-propyl)amin}] -9-(\text{isopropyl})\}$ purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně DMFA (104.7 ppm), při 25 °C.

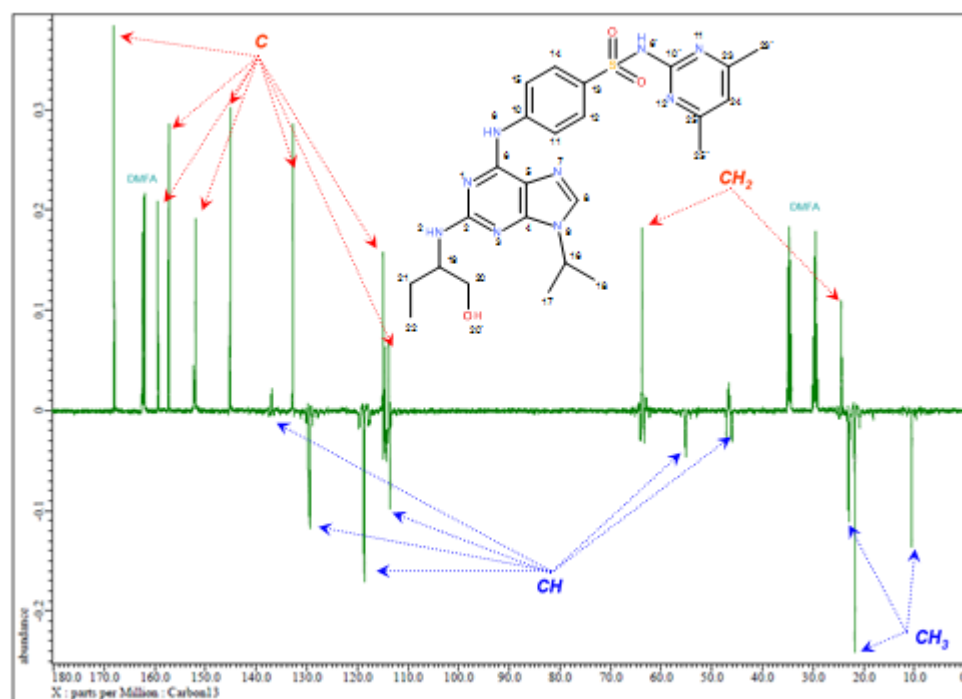


**Obrázek 86.**  $^1\text{H}$ -spektrum  $\{N6-(4\text{-amin}-N-3,5\text{-dimethylpyrimidin-benzensulfonamid})-2-[(1\text{-hydroxymethyl-propyl)amin}] -9-(\text{isopropyl})\}$ purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



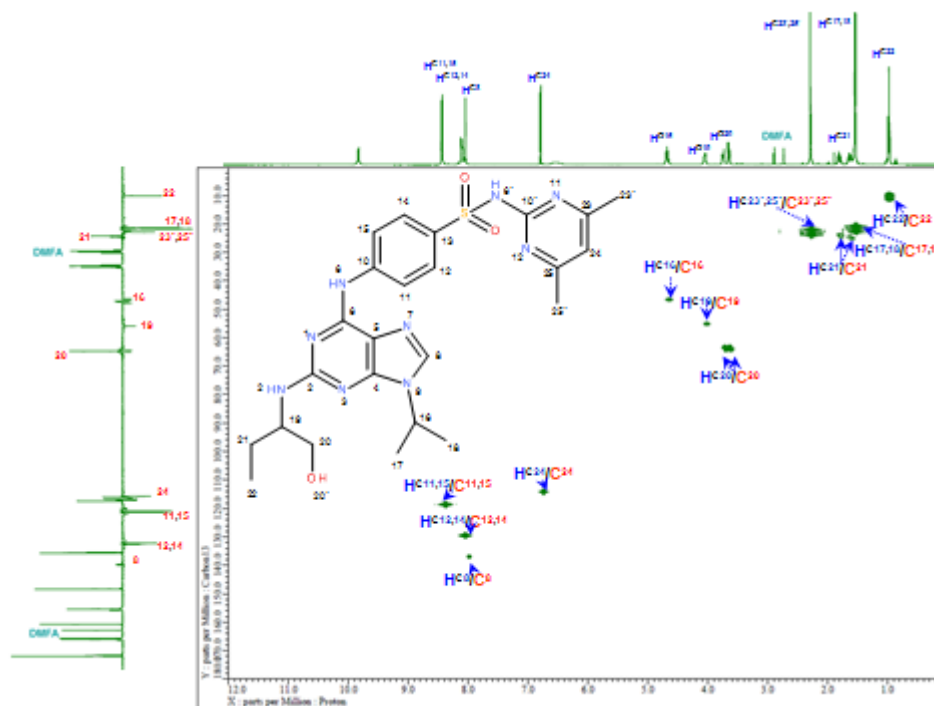


**Obrázek 89.**  $^{13}\text{C}$ -spektrum {N6-(4-amin-N-3,5-dimethylpyrimidin- benzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethylpropyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.

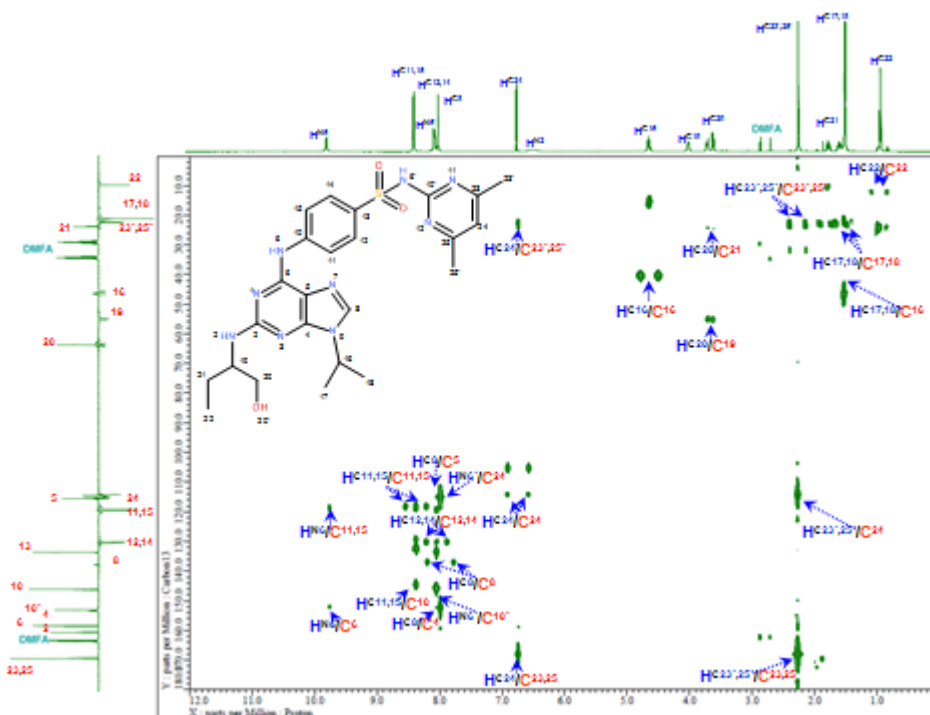


**Obrázek 90.**  $^{13}\text{C}$ -APT-spektrum {N6-(4-amin-N-3,5-dimethylpyrimidin- benzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethylpropyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.

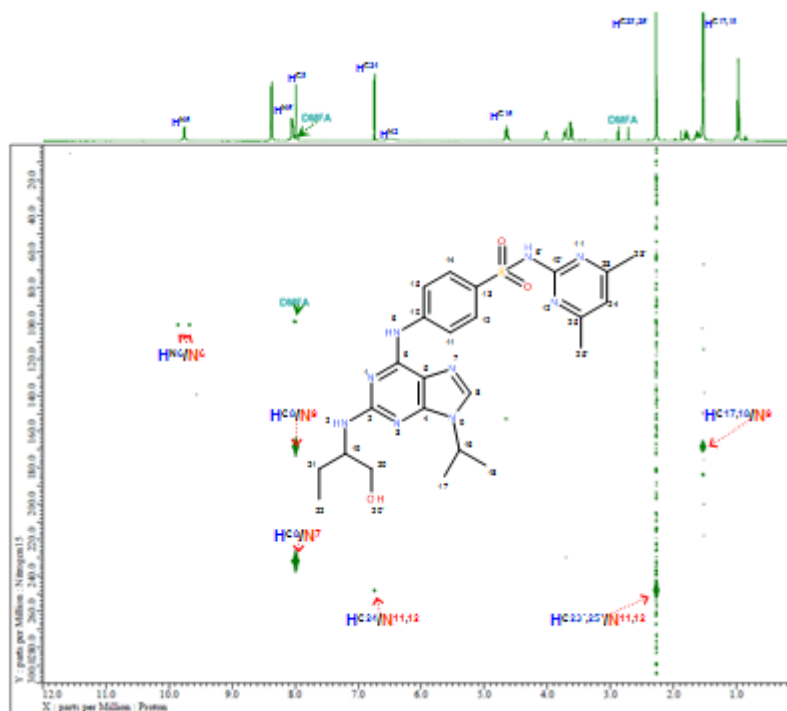




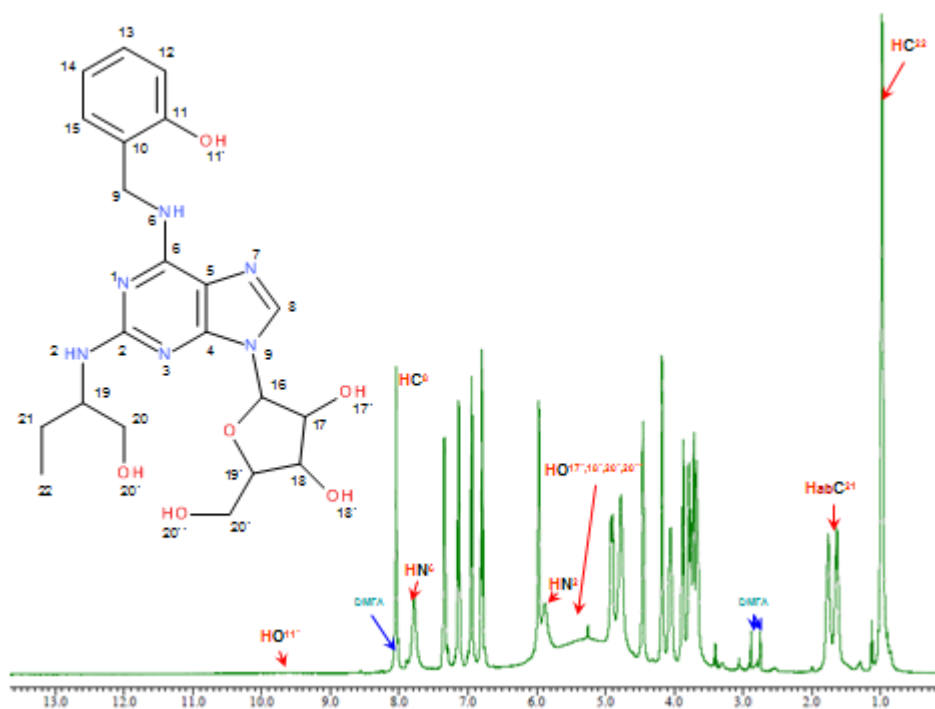
Obrázek 91.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMQC spektrum {N6-(4-amin-N-3,5-dimethylpyrimidin- benzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)} purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



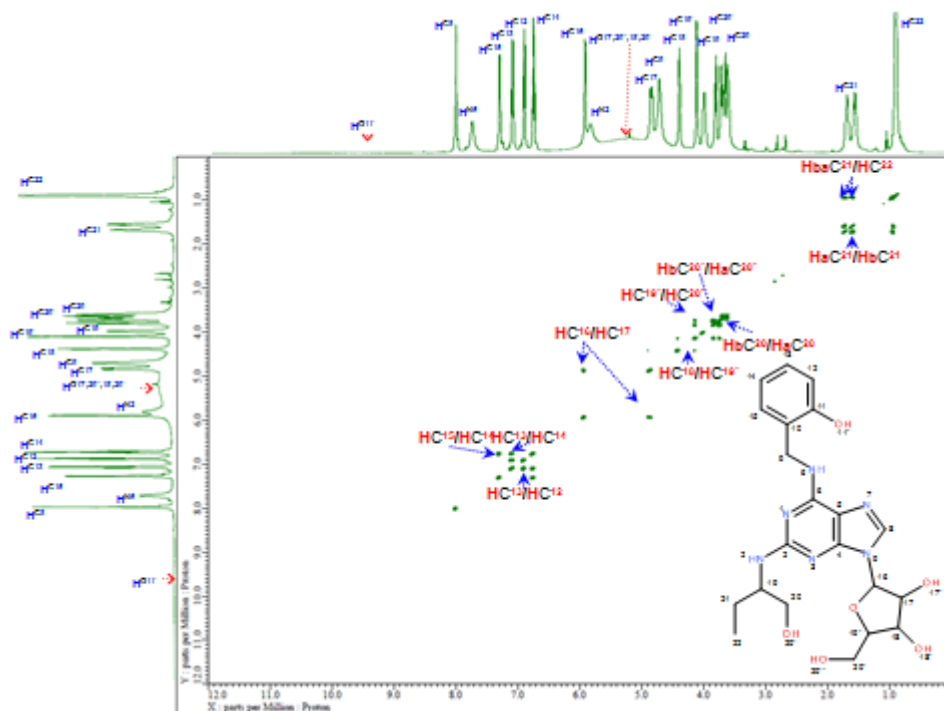
Obrázek 92.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMBC spektrum {N6-(4-amin-N-3,5-dimethylpyrimidin- benzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)} purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



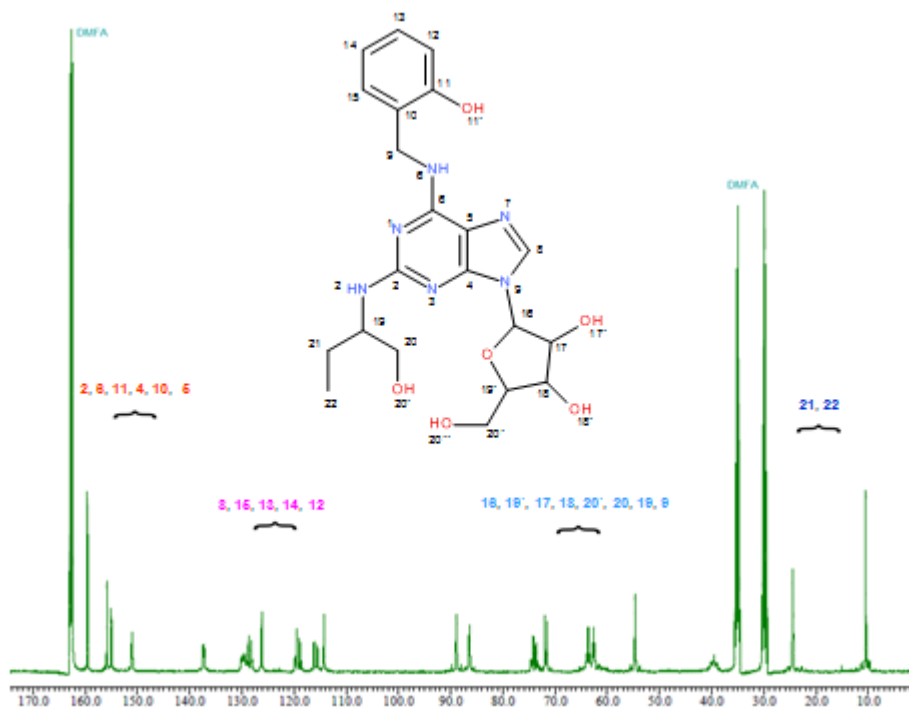
**Obrázek 93.**  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMBC spektrum {N6-(4-amin-N-3,5-dimethylpyrimidin- benzensulfonamid)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(isopropyl)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně DMFA (104.7 ppm), při 25 °C.



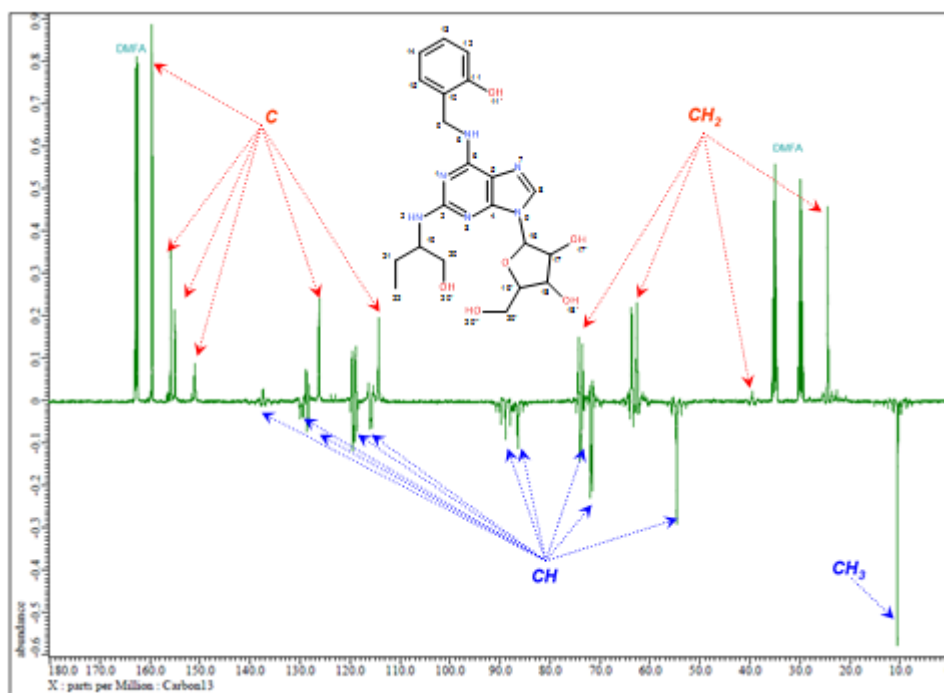
**Obrázek 94.**  $^1\text{H}$ -spektrum {N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



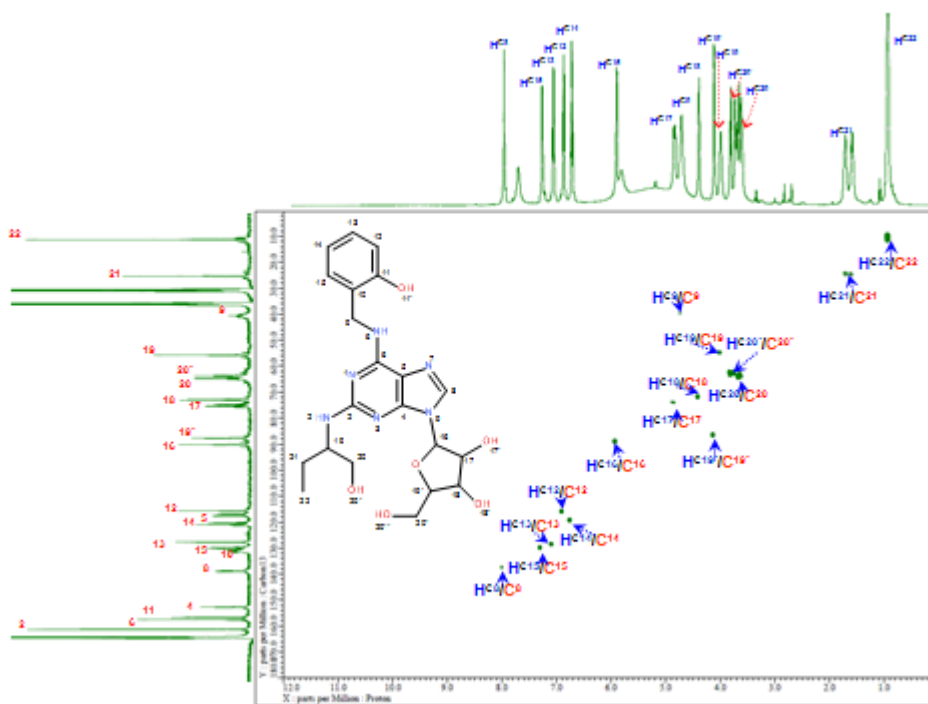
Obrázek 95.  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gCOSY ( $90^\circ$ ) spektrum  $\{N_6$ -(2-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribose) purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .



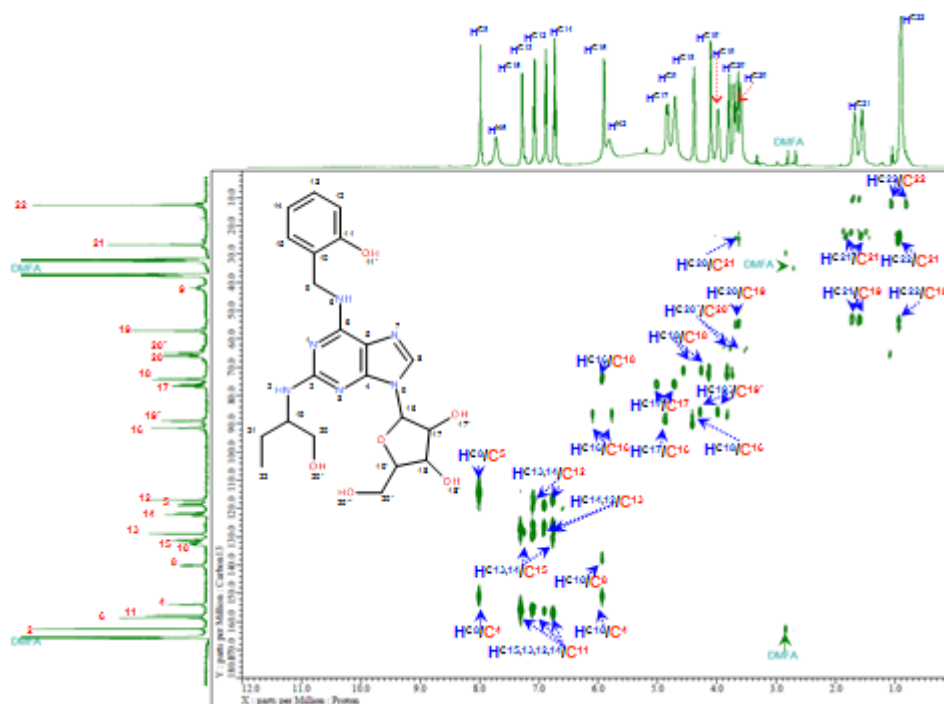
Obrázek 96.  $^{13}\text{C}$ -spektrum  $\{N_6$ -(2-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribose) purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .



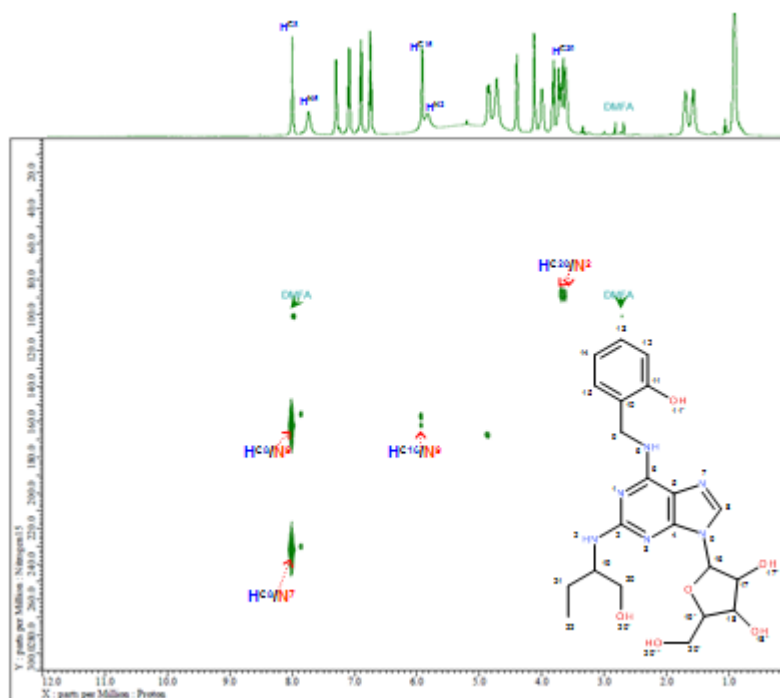
Obrázek 97.  $^{13}\text{C}$ -APT-spektrum {N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(riboseid)}-purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



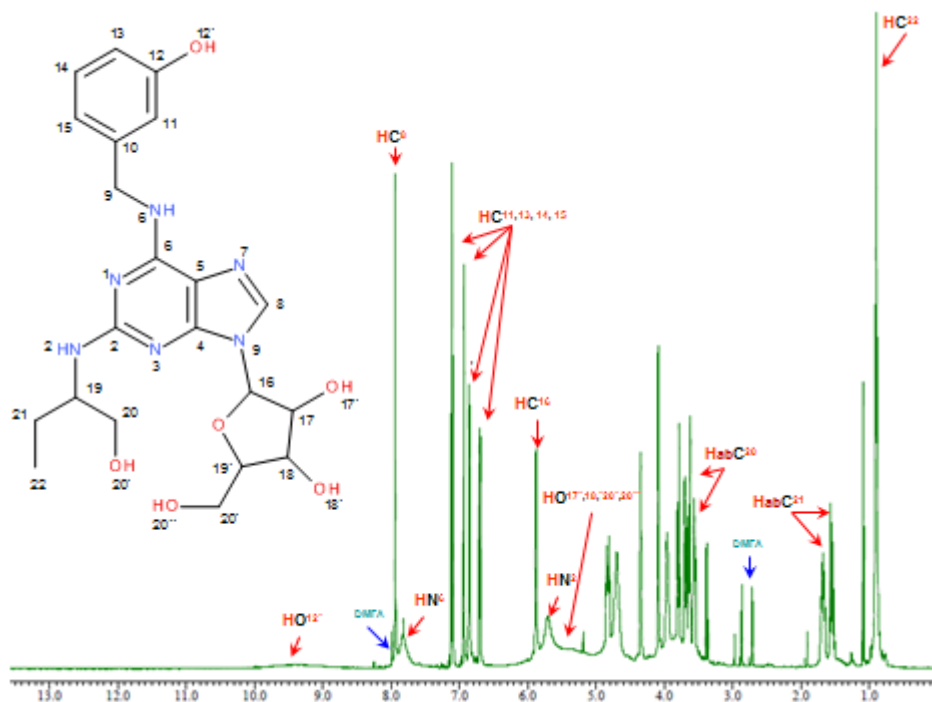
Obrázek 98.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMQC spektrum {N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(riboseid)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



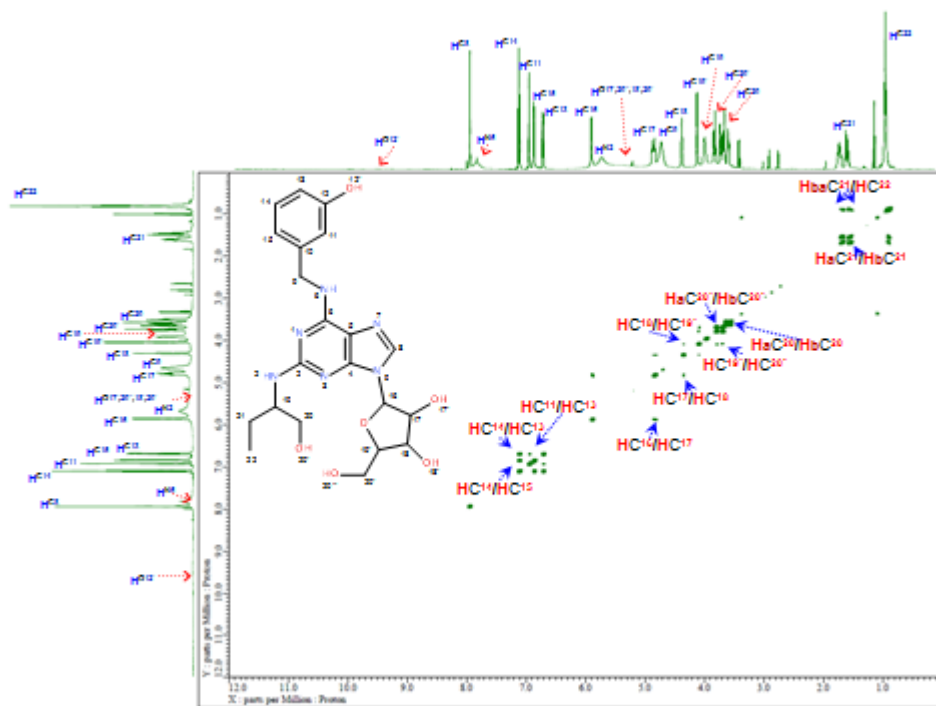
Obrázek 99.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMBC spektrum {N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



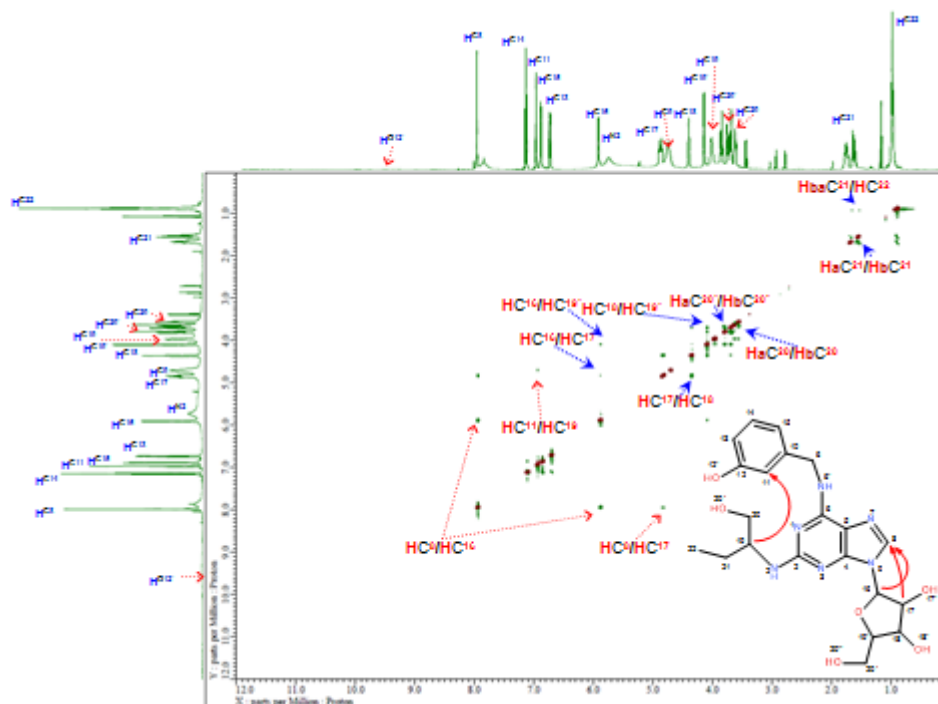
Obrázek 100.  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMBC spektrum {N6-(2-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně DMFA (104.7 ppm), při 25 °C.



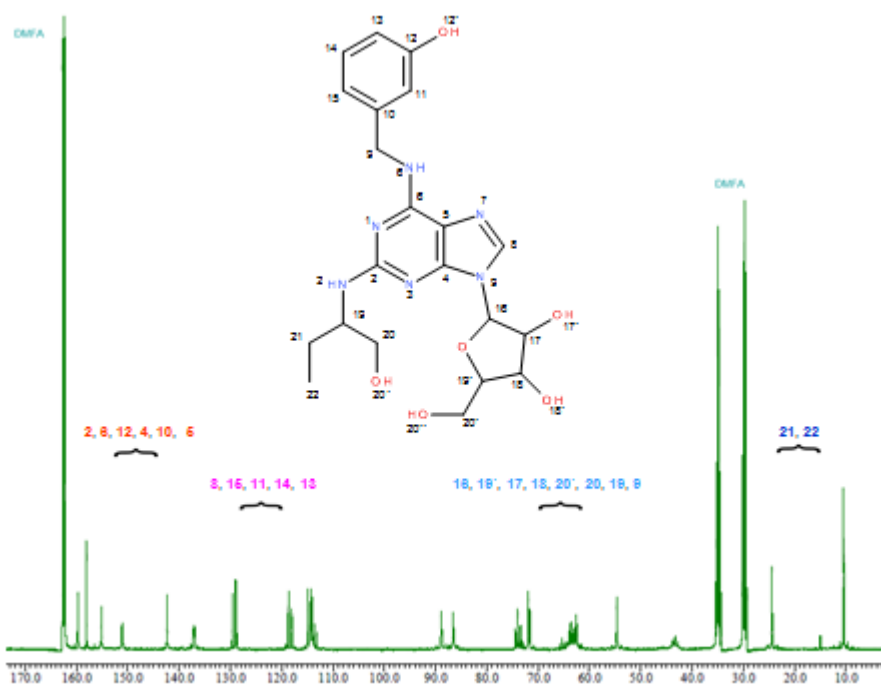
Obrázek 101.  $^1\text{H}$ -spektrum {N6-(3-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)} purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



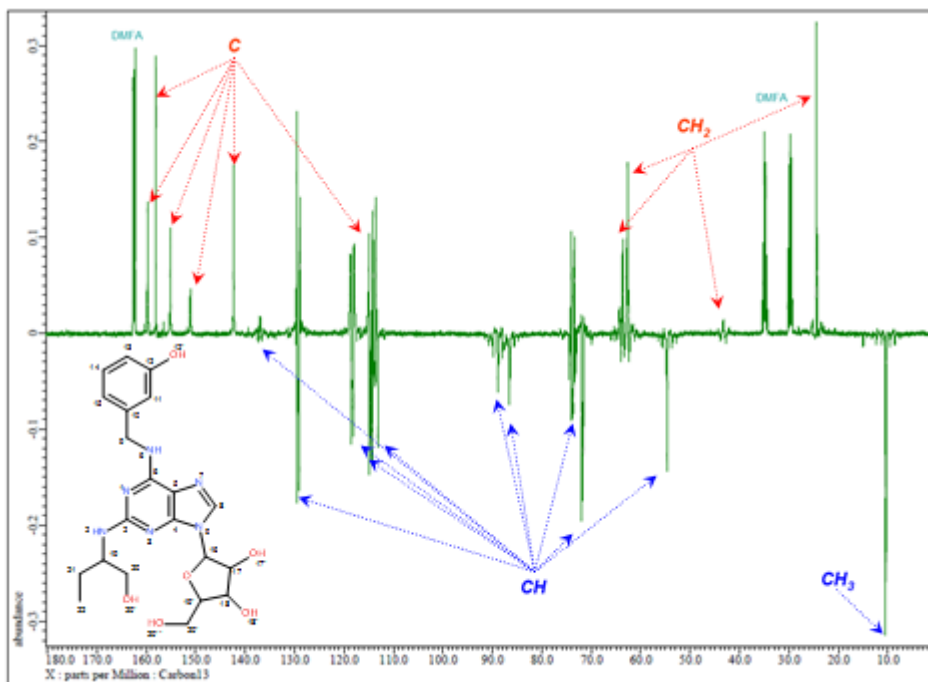
Obrázek 102.  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ - $g\text{COSY}$  ( $90^\circ$ ) spektrum {N6-(3-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)} purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



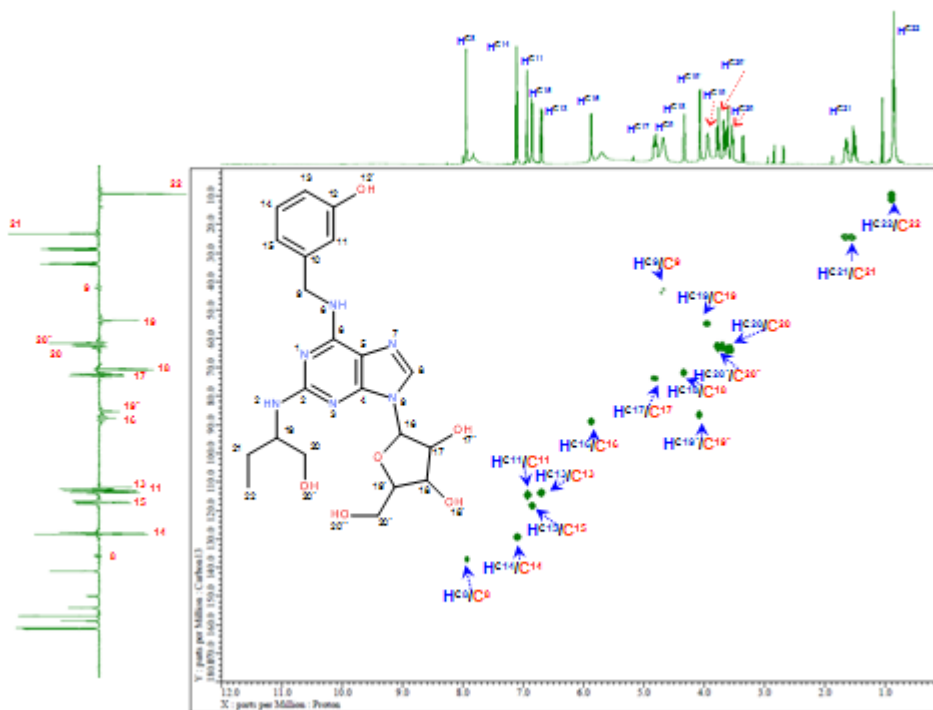
Obrázek 103.  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ -gROESY spektrum {N6-(3-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



Obrázek 104.  $^{13}\text{C}$ -spektrum {N6-(3-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.

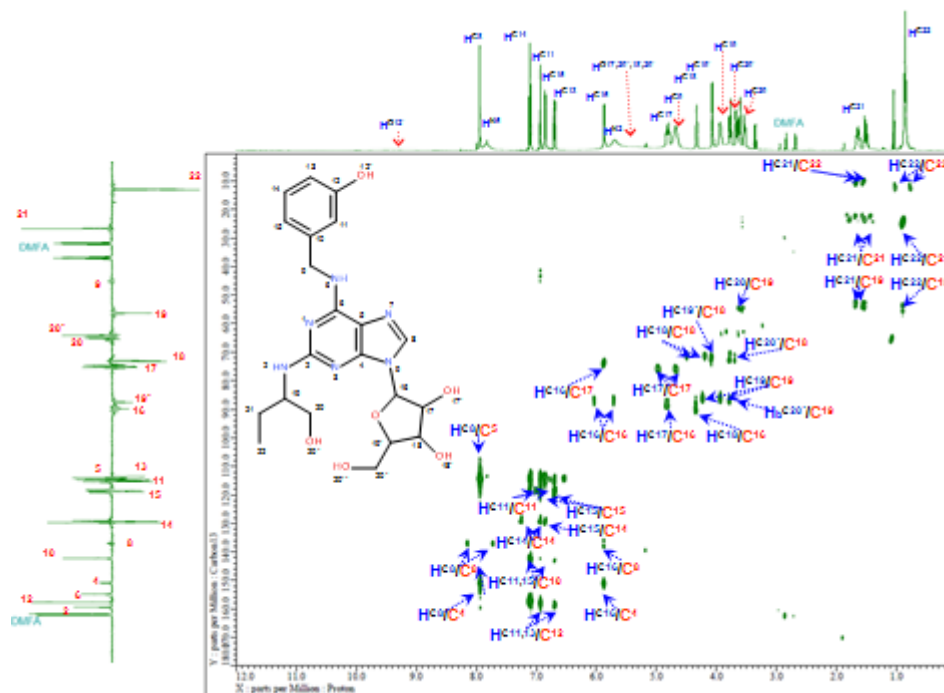


Obrázek 105.  $^{13}\text{C}$ -APT-spektrum {N6-(3-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(riboseid)-purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.

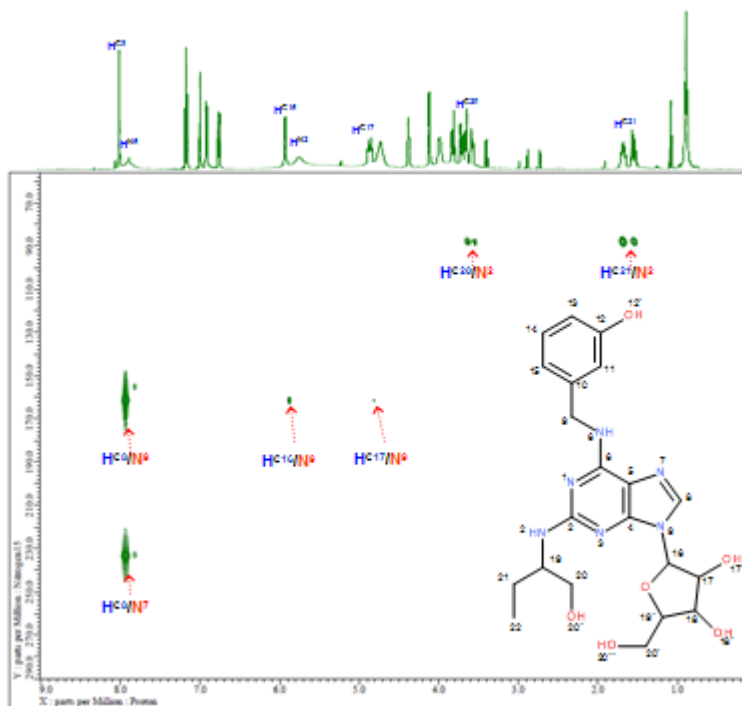


Obrázek 106.  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMQC spektrum {N6-(3-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(riboseid)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.

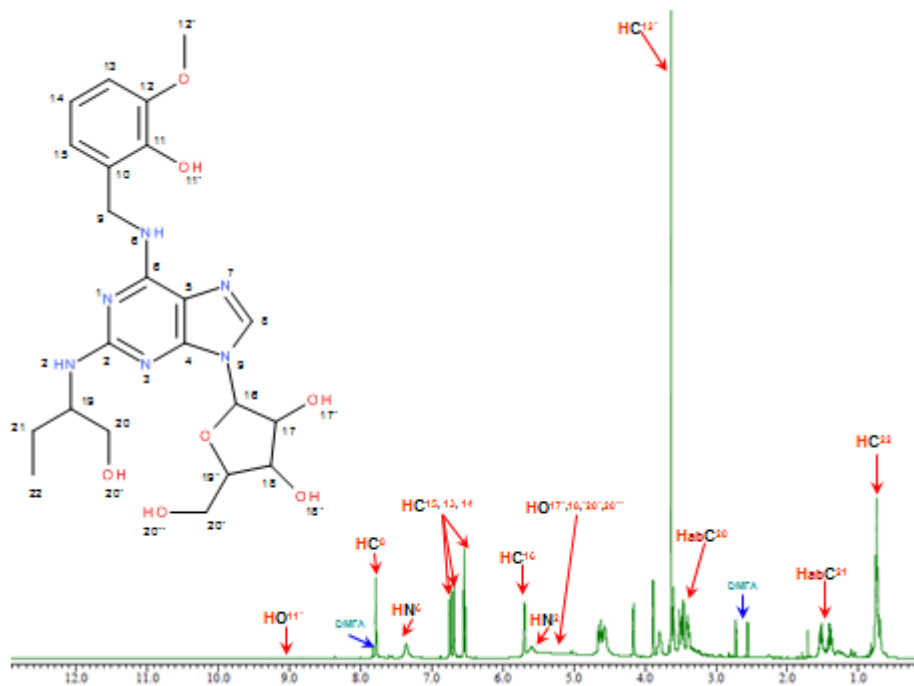




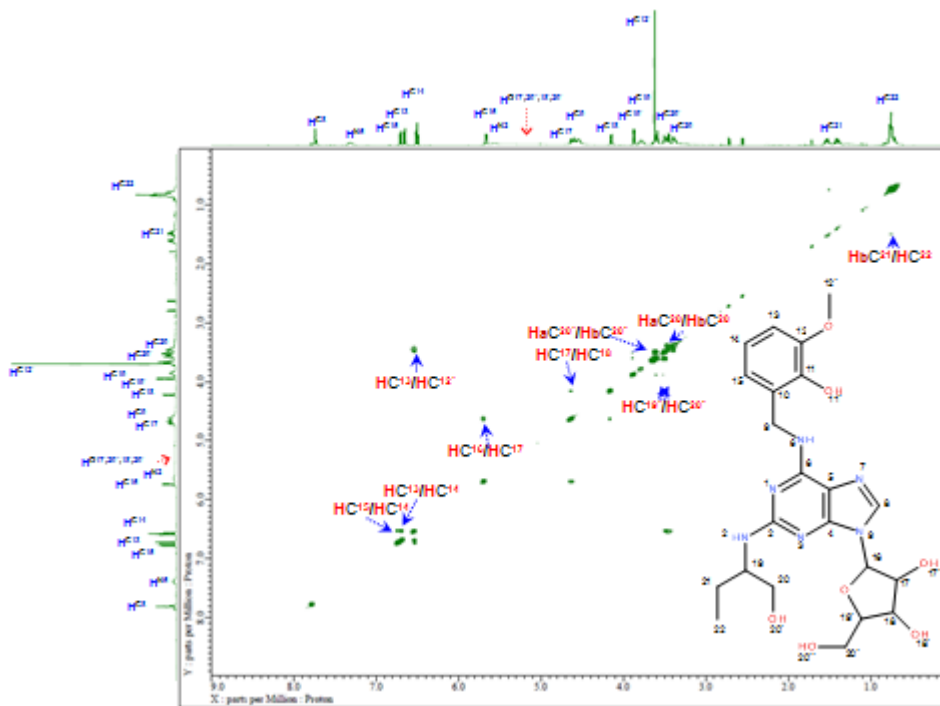
**Obrázek 107.**  $\{^1\text{H}-^{13}\text{C}\}$ -gHMBC spektrum {N6-(3-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



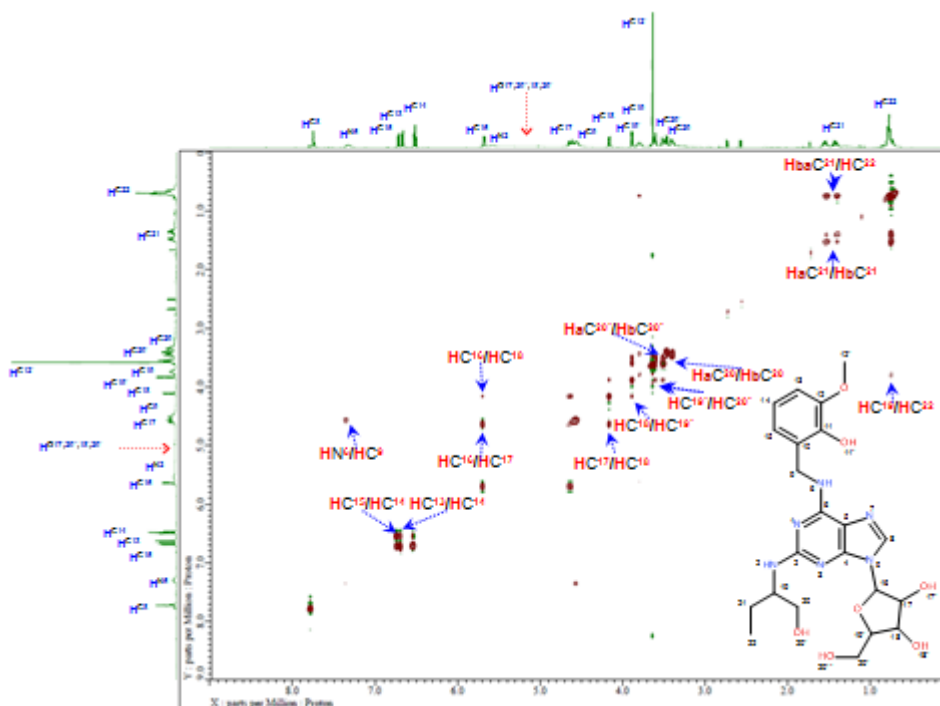
**Obrázek 108.**  $\{^1\text{H}-^{15}\text{N}\}$ -gHMBC spektrum {N6-(3-hydroxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně DMFA (104.7 ppm), při 25 °C.



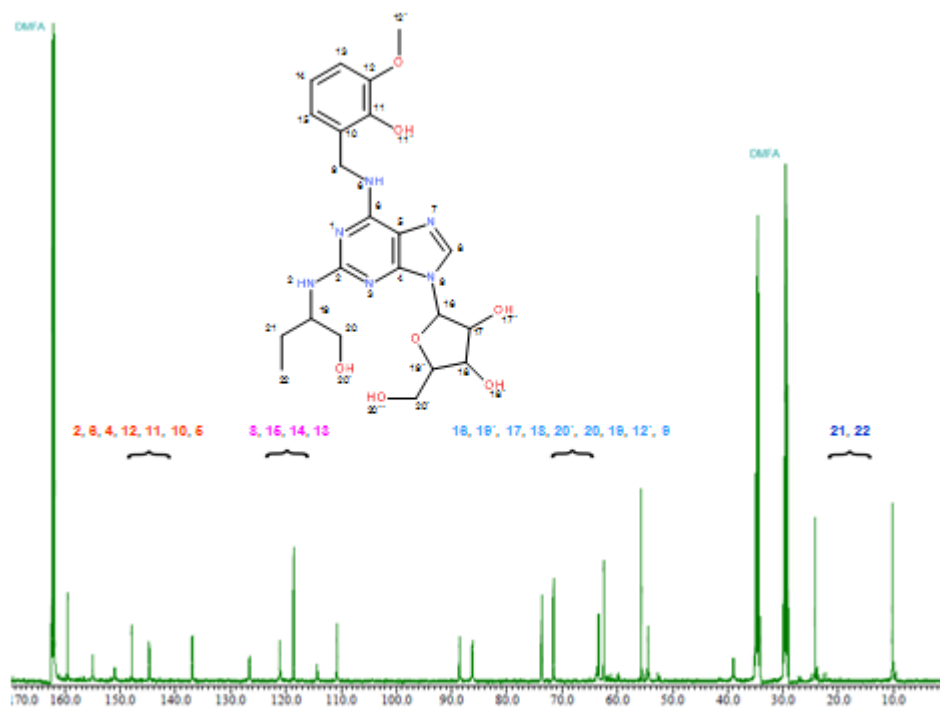
**Obrázek 109.**  $^1\text{H}$ -spektrum {N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



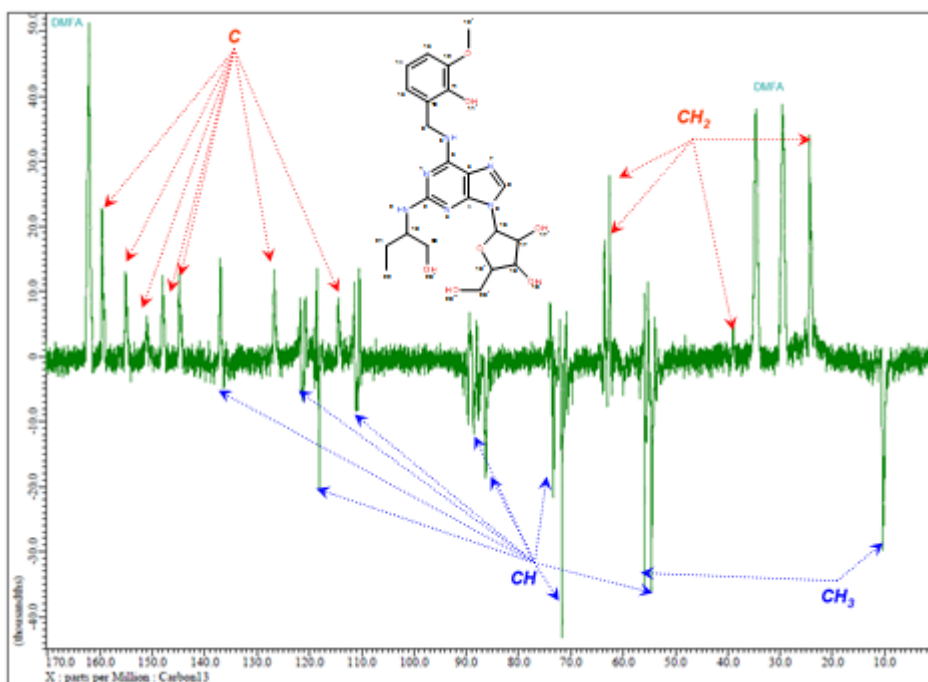
**Obrázek 110.**  $\{^1\text{H}\text{-}^1\text{H}\}$ - $g\text{COSY}$  ( $90^\circ$ ) spektrum {N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



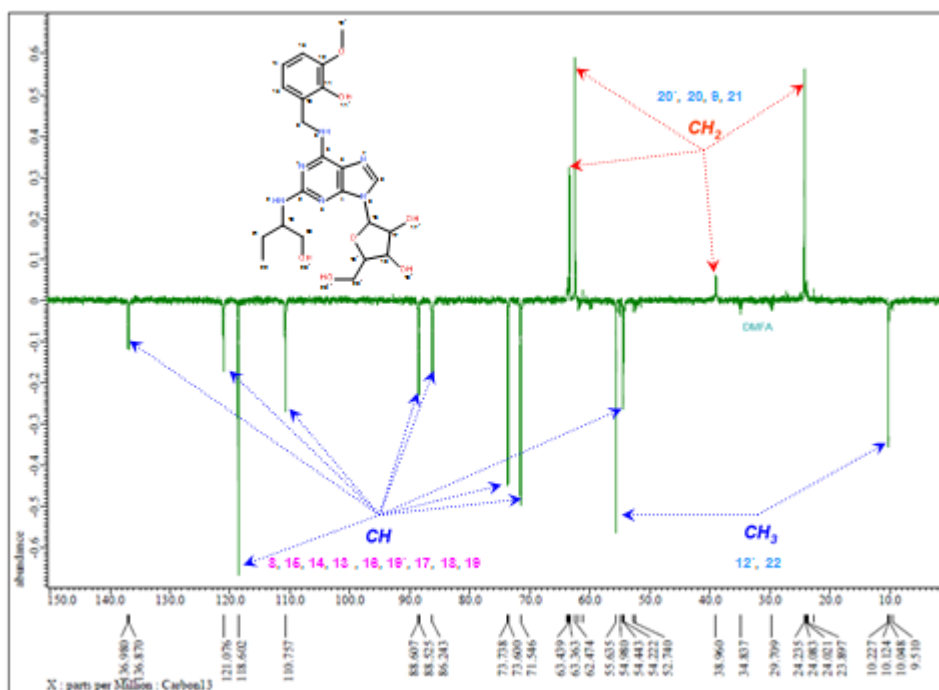
**Obrázek 111.**  $\{^1\text{H}-^1\text{H}\}$ - $g\text{TOCSY}$  ( $90^\circ$ ) spektrum  $\{N6-(2\text{-hydroxy-3-methoxybenzylamin})-2-[(1\text{-hydroxymethyl-propyl)amin}]-9-(\text{ribosid})\}$ purinu v  $d_7\text{-DMFA}$ , relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .



**Obrázek 112.**  $^{13}\text{C}$ -spektrum  $\{N6-(2\text{-hydroxy-3-methoxybenzylamin})-2-[(1\text{-hydroxymethyl-propyl)amin}]-9-(\text{ribosid})\}$ purinu v  $d_7\text{-DMFA}$ , relativně TMS, při  $25^\circ\text{C}$ .



**Obrázek 113.**  $^{13}\text{C}$ -APT-spektrum {N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.



**Obrázek 114.**  $^{13}\text{C}$ -DEPT-spektrum {N6-(2-hydroxy-3-methoxybenzylamin)-2-[(1-hydroxymethyl-propyl)amin]-9-(ribosid)}purinu v  $d_7$ -DMFA, relativně TMS, při 25 °C.