

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA ORGANICKÉ A BIOORGANICKÉ CHEMIE



Strukturní analýza přírodních látek pomocí NMR spektroskopie

Hradec Králové, 2019

Veronika Maříková

Prohlášení

„Prohlašuji, že tato diplomová práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného, nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové, dne 1. 1. 2019

Veronika Maříková

Poděkování

Děkuji vedoucímu diplomové práce doc. PharmDr. Jiřímu Kunešovi, CSc. za cenné rady a připomínky při vypracovávání mé diplomové práce. Dále bych zde ráda poděkovala své sestřičce Mgr. Janče Maříkové za její trpělivost a všestrannou velmi obětavou pomoc. A Katedře farmaceutické botaniky za dodání vzorků.

V neposlední řadě bych ráda poděkovala za podporu během studia mé rodině, partnerovi a přátelům.

Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Katedra organické a bioorganické chemie

Kandidát **Veronika Maříková**

Vedoucí diplomové práce **doc. PharmDr. Jiří Kuneš, CSc.**

Název diplomové práce **Strukturní analýza přírodních látek pomocí NMR spektroskopie**

Tato diplomová práce se zabývá identifikací tří struktur sekundárních metabolitů rostlin pomocí nukleární magnetické rezonance.

Popisované alkaloidy byly izolovány z rostlin *Narcissus pseudonarcissus* L. (Amaryllidaceae) a *Papaver rhoeas* L. (Papaveraceae) na Katedře farmaceutické botaniky, Farmaceutické fakulty v Hradci Králové. Isochinolinový sktrukturní typ alkaloidů je charakteristický pro obě jmenované čeledi.

Struktury izolovaných látek byly určeny pomocí základních ^1H a ^{13}C NMR jednodimensionálních experimentů a také pomocí pokročilejších dvoudimensionálních experimentů, jmenovitě gHMBC, gHSQC, gCOSY a NOESY. NMR analýza byla doplněna MS analýzou.

Abstract

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department Department of Organic and Bioorganic Chemistry

Candidate **Veronika Maříková**

Supervisor **doc. PharmDr. Jiří Kuneš, CSc.**

Title of Thesis **Structural analysis of natural compounds employing NMR spectroscopy**

This diploma thesis is solving three unknown structure of natural products employing Nuclear Magnetic Resonance.

Presented alkaloids were isolated from *Narcissus pseudonarcissus* L. (Amaryllidaceae family) and *Papaver rhoeas* L. (Papaveraceae family) at the Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové. The isoquinoline alkaloids are most often obtained from plants of these families.

The isolated substances were characterized employing basic ^1H and ^{13}C NMR 1D experiments and advanced 2D experiments as gHMBC, gHSQC, gCOSY and NOESY, supported by MS spectra.

Obsah

1	Úvod.....	8
1.1	<i>Narcissus pseudonarcissus</i> L. (Amaryllidaceae).....	8
1.1.1	Obsahové látky rodu <i>Narcissus</i>	9
1.1.1.1	Galanthaminový typ	9
1.1.1.2	Lykorinový typ	10
1.1.1.3	Homolykorinový typ.....	10
1.1.1.4	Pankratistatinový typ	11
1.1.1.5	Tazettinový typ	11
1.1.1.6	Krininový a haemanthaminový typ	12
1.2	<i>Papaver rhoeas</i> L. (Papaveraceae).....	13
1.2.1	Obsahové látky <i>Papaver rhoeas</i> L.....	14
1.2.1.1	Rhoeadinový typ.....	14
1.2.1.2	Protoberberinový typ	15
1.2.1.3	Aporfinový typ	16
1.2.1.4	Proaporfinový typ	16
1.2.1.5	Protopinový typ	17
2	Cíl práce	18
3	Experimentální část	19
3.1	Nukleární magnetická rezonance	19
3.1.1	1D experimenty.....	19
3.1.1.1	¹ H NMR spektrum	19
3.1.1.2	¹³ C NMR spektrum.....	20
3.1.2	2D experimenty.....	20
3.1.2.1	gHSQC experiment.....	20
3.1.2.2	gHMBC experiment	20
3.1.2.3	gCOSY experiment.....	20
3.1.2.4	NOESY experiment.....	21
3.2	Přístrojové vybavení.....	21
4	Výsledky s komentářem	22
4.1	NPE25-F-51B	22
4.2	PR-75-97-2	30
4.3	PR-Et2O-9-5-2	38
5	Závěr.....	45

6	Seznam použité literatury	46
7	Přílohy	49
	7.1.1 NMR spektra sloučeniny NPE25-F-51B	49
	7.1.2 Strukturní rentgenová analýza sloučeniny NPE25-F-51B	55
7.2	NMR spektra sloučeniny PR-75-97-2	58
7.3	NMR spektra sloučeniny PR-Et2O-9-5-2	64

1 Úvod

1.1 *Narcissus pseudonarcissus* L. (Amaryllidaceae)

Narcissus pseudonarcissus L. (Obrázek 1), narcis žlutý, z čeledi Amaryllidaceae je vytrvalá bylina přibližně 20-40 cm vysoká, kvetoucí na přelomu března a dubna.¹ Květy mají charakteristické zlatožluté zbarvení. Typická pro tento trubkovitý narcis je pakorunka, která je delší než samotné okvětní lístky.² Oblast rozšíření má hlavně na Pyrenejském poloostrově, ve Velké Británii, ale i v západní Evropě.³

Přírodní látky obsažené *Narcissus pseudonarcissus* L. jsou intenzivně zkoumány na mnoha vědeckých pracovištích. Mohly by být využity k léčbě Alzheimerovy choroby a terapii nádorových onemocnění. Jedním z pracovišť, kde probíhá výzkum je i Katedra farmaceutické botaniky na Farmaceutické fakultě Univerzity Karlovy v Hradci Králové, kde se zabývají hledáním a studiem potenciálně využitelných přírodních sloučenin v léčbě Alzheimerovy choroby.⁴

Čeleď Amaryllidaceae (amarylkovité) obsahuje 75 rodů a přibližně 1100 druhů rozšířených po celé planetě. Nejvíce rostlin z této čeledi se vyskytuje v subtropickém a tropickém páse.¹ Tato vytrvalá bylina může mít listy přisedlé, řapíkaté, čárkovité, široce eliptické či kopinaté.⁵ Nápadné pravidelné oboupohlavné květy jsou pro amarylkovité charakteristické. Díky těmto nádherným květům jsou pěstovány rovněž jako okrasné rostliny. Některé odrůdy byly dokonce speciálně vyšlechtěny pro pěstitelské a zahradní účely.⁶ Tyto rostliny jsou též velmi ceněny v lidovém léčitelství a byly po tisíce let používány jako bylinné přípravky.⁷ Spojitost tradiční medicíny s čeledí Amaryllidaceae sahá až do dob starověkého Řecka; zde bylo poprvé zdokumentováno jejich lékařské využití.⁸ Dodnes se používají k léčení mentálních poruch. Jedná se například o výše zmiňovaný *Narcissus pseudonarcissus*, či *Narcissus jonquilla*, *Galanthus nivalis*, nebo *Lycoris radiata*.⁸ Shodně se v těchto rostlinách nacházejí isochinolinové alkaloidy. Ty jsou obsaženy ve všech částech rostliny, nejvíce však ve spodní části – a to v cibulích. Účinky těchto alkaloidů jsou antibakteriální, antivirové, antineoplastické a antimykotické.⁹ Za zmínku jistě stojí fakt, že galanthamin má schopnost reverzibilní inhibice acetylcholinesterázy, čehož se s oblibou využívá u léčby symptomů Alzheimerovy choroby.¹⁰ Na trh byl uveden na počátku 21. století pod obchodním názvem Reminyl.¹¹



Obrázek 1 – *Narcissus pseudonarcissus* L.¹²

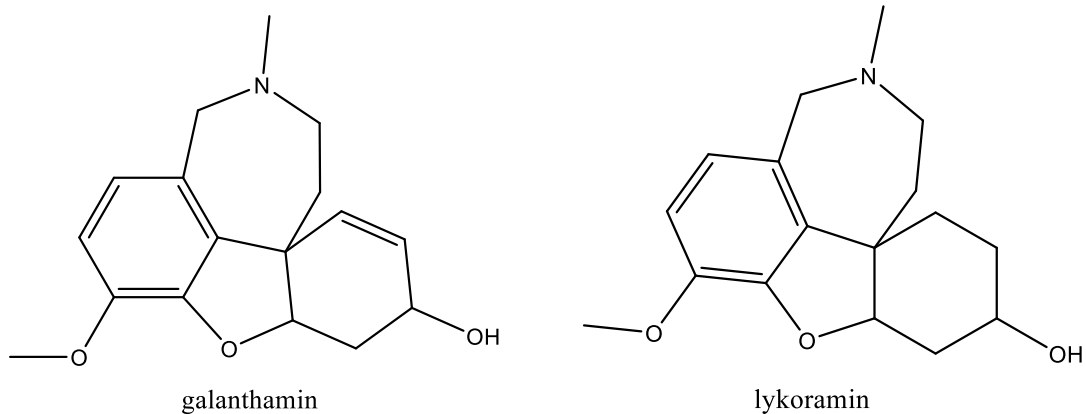
1.1.1 Obsahové látky rodu *Narcissus*

První alkaloid izolovaný již v roce 1877 z narcisu žlutého byl lykorin. Jeho struktura byla objasněna až o necelých osmdesát let později – v roce 1956.¹³ Z hlediska biosyntézy pochází isochinolinový typ alkaloidů obsažený v této rostlině z klíčového prekurzoru L-tyrosinu.¹¹ Známe několik strukturních typů sekundárních metabolitů této rostliny, nejdůležitějšími jsou galanthaminový, lykorinový, homolykorinový, pankratistatinový, tazettinový, krininový a haemanthaminový typ.¹⁴

Kromě alkaloidů se v rodu *Narcissus* vyskytují ve větší či menší míře i terpeny, flavonoidy, chromony, steroly, glukany, polysacharidy, mastné kyseliny (kyselina olejová, myristová, stearová) a jejich estery.¹⁵

1.1.1.1 Galanthaminový typ

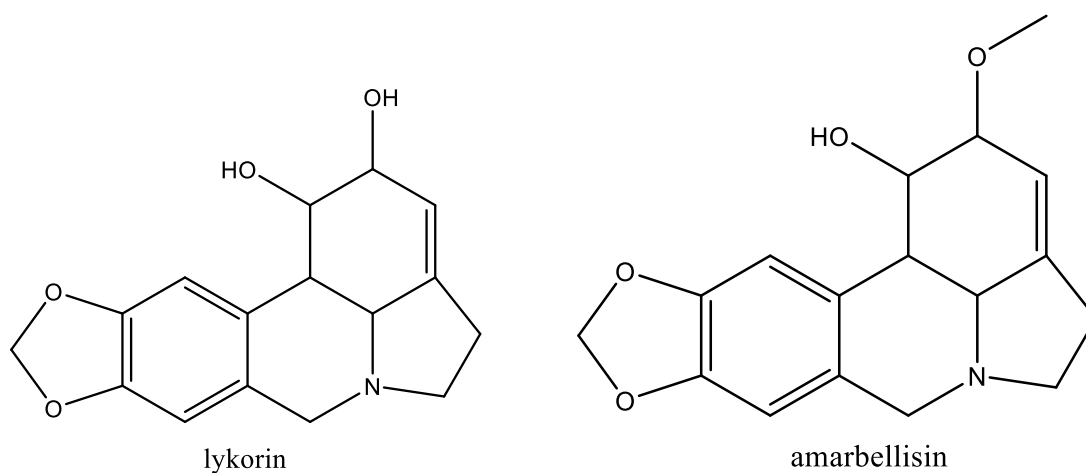
Alkaloidy tohoto typu jsou chemicky odvozené od dibenzofuranu. Nejdůležitějšími zástupci jsou galanthamin, epinorgalantamin a lykoramin.¹⁶



Obrázek 2 – Alkaloidy galanthaminového typu

1.1.1.2 Lykorinový typ

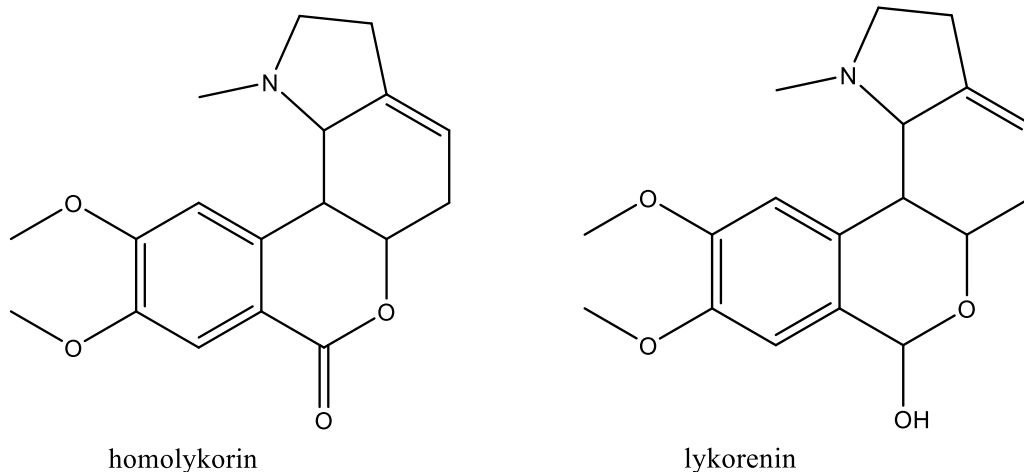
Nejznámějším zástupcem je pyrrolfenantridinový alkaloid lykorin. Sloučeniny, které patří do této skupiny, patří mezi cytotoxicky nejúčinnější alkaloidy této čeledi. Dalšími zástupci jsou například pseudolykorin, amarbellisin, galantin a anhydrolykorin.¹⁶



Obrázek 3 – Alkaloidy lykorinového typu

1.1.1.3 Homolykorinový typ

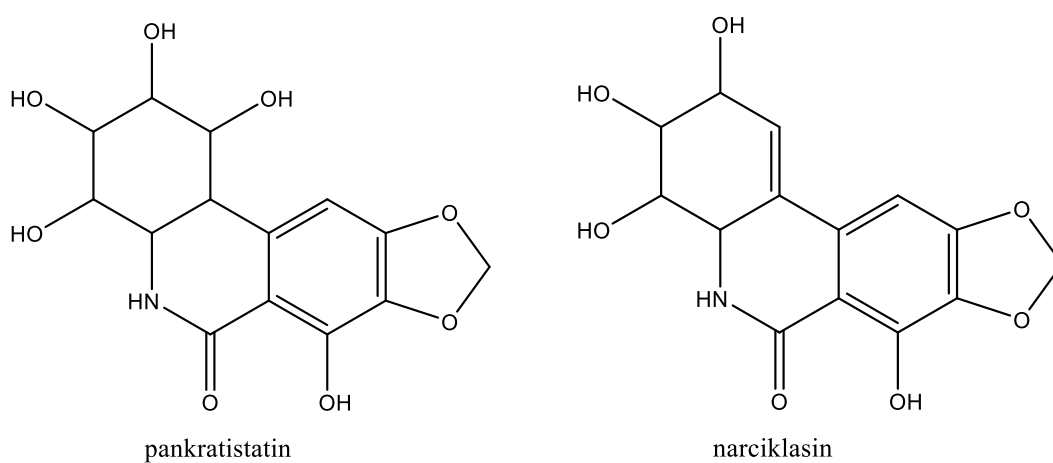
Tento typ alkaloidů je odvozený od 2-benzopyrano[3,4-g]indolu. Mezi zástupce této skupiny patří například – homolykorin, lykorenin, hippeastrin.¹⁶



Obrázek 4 – Alkaloidy homolykorinového typu

1.1.1.4 Pankratistatinový typ

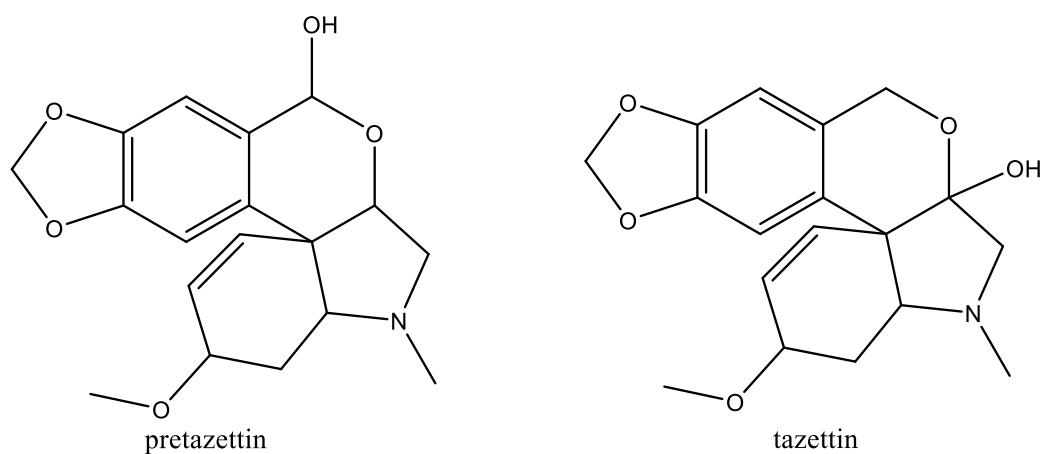
Pro tyto alkaloidy je typická struktura fenantridinu. Mezi nejvýznamnější zástupce patří narciklasin a pankratistatin.¹⁶



Obrázek 5 – Alkaloidy pakratistatinového typu

1.1.1.5 Tazettinový typ

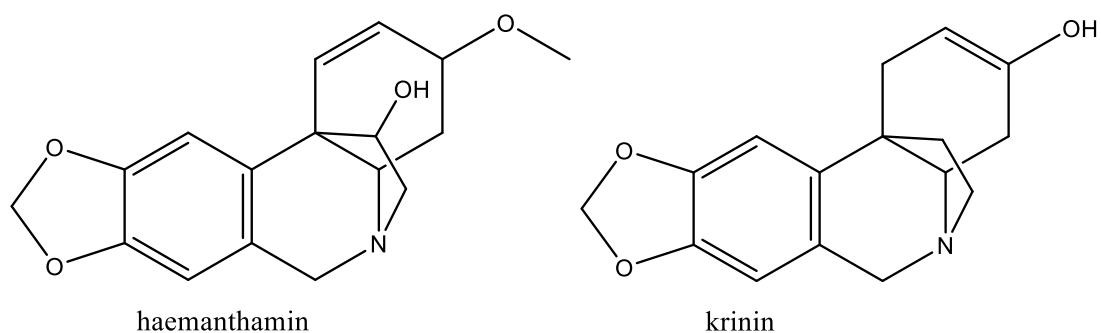
Tazettinový typ je odvozen od 2-benzopyrano[3,4-c]indolu. Nejznámějšími zástupci tohoto strukturního typu je tazettin a pretazettin.¹⁶



Obrázek 6 – Alkaloidy tazettinového typu

1.1.1.6 Krininový a haemanthaminový typ

Tento strukturní typ alkaloidů je odvozen od etanofenantridinu. Do této skupiny sekundárních metabolitů se řadí například - haemanthamin, haemanthidin, papyramin, krinin, krinamin a maritidin. Vykazují schopnost inhibice růstu různých typů nádorových buněk.¹⁶



Obrázek 7 – Alkaloidy krininového a haemanthaminového typu

1.2 *Papaver rhoeas* L. (Papaveraceae)

Papaver rhoeas L. (Obrázek 8) čili mák vlčí z čeledi Papaveraceae je jednoletá bylina měřící 20-90 centimetrů, v České republice kvetoucí od května do srpna, při teplém počasí až do října. Lodyha je hustě štětinatá a jemně větvená. Spodní listy jsou přisedlé, horní listy řapíkaté. Květy, vyrůstající z dlouhých štětinatých stopek, se skládají z červených korunních lístků, ve středu květu často s tmavofialovou až černou skvrnou. Plodem je tobolka (makovice). Při poranění dochází k uvolnění mléčné šťávy tzv. latexu obsahujícího alkaloidy.¹⁷

Čeď Papaveraceae čili mákovité obsahuje asi 42 rodů a přibližně 420 druhů s hlavním rozšířením v mírném až subtropickém pásu severní polokoule.¹⁸ Tato čeď se pěstuje nejen kvůli okrasnému využití, ale i kvůli lékařskému využití. V lidovém léčitelství byly extrakty z vlčího máku využívány při léčbě průjmů, zánětů, kašle či poruch spánku. Též se mu připisují narkotické a sedativní účinky. Při předávkování dochází k životohrožujícím otravám.^{19, 20}



Obrázek 8 – *Papaver rhoeas* L.²¹

1.2.1 Obsahové látky *Papaver rhoeas* L.

Hlavní obsahovou látkou *Papaver rhoeas* L. je alkaloid (+)-rheadin. V menších množstvích obsahuje i další alkaloidy jako například protopin, koulteropin, allokryptopin, kryptopin, berberin, koptisin, (-)-sinaktin, (+)-isokorydin, (+)-remerin, (±)-stylopin, (+)-rheagenin a další.²²

Kromě alkaloidů lze nalézt v *Papaver rhoeas* L. také kyselinu mekonovou, třísloviny, slizové látky a anthokyanová barviva cyanin a mekocyanin.²³

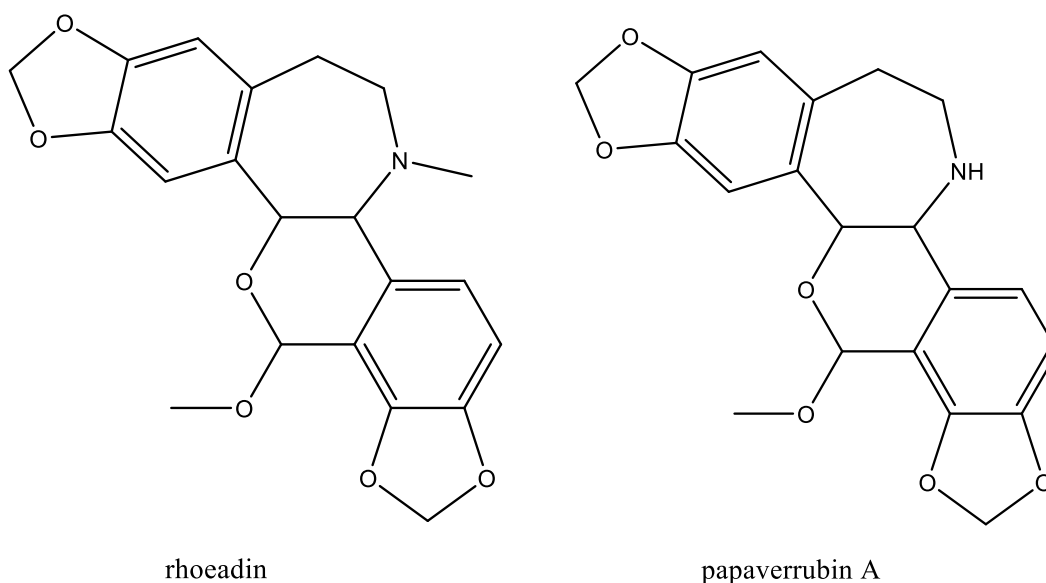
Velkou skupinou látek sekundárního metabolismu jsou právě isochinolinové alkaloidy. Skupina zahrnuje široký obsah strukturních typů látek, na rozdíl od jiných skupin alkaloidů.²⁴

Mezi typy isochinolinových alkaloidů obsažených ve vlčím máku patří například: rheadinový, protoberberinový, aporfinový, proaporfinový, ftalidisochinolinový a protopinový typ. Prekurzorem syntézy této skupiny alkaloidů je L-tyrosin.²⁵

1.2.1.1 Rheadinový typ

(+)-rheadin je nejvýznamnější alkaloid tohoto typu. Jeho struktura byla rozluštěna profesorem Šantavým na počátku šedesátých let minulého století.²⁶ Má antitusické a sedativní vlastnosti.

Mezi rheadinové alkaloidy patří mimo jiné i (+)-alpinigenin, alpinin, glaukamin, (+)-glaudin, epialpinin, (+)-epiglaudin, (+)-isorheadin, (+)-oreodin, (+)-oreogenin, N-methylporphyroxigenin, papaverrubin A-H, (+)-isorheagenin-D-glukosid, (+)-rheagenin a (+)-isorheagenin.²⁷

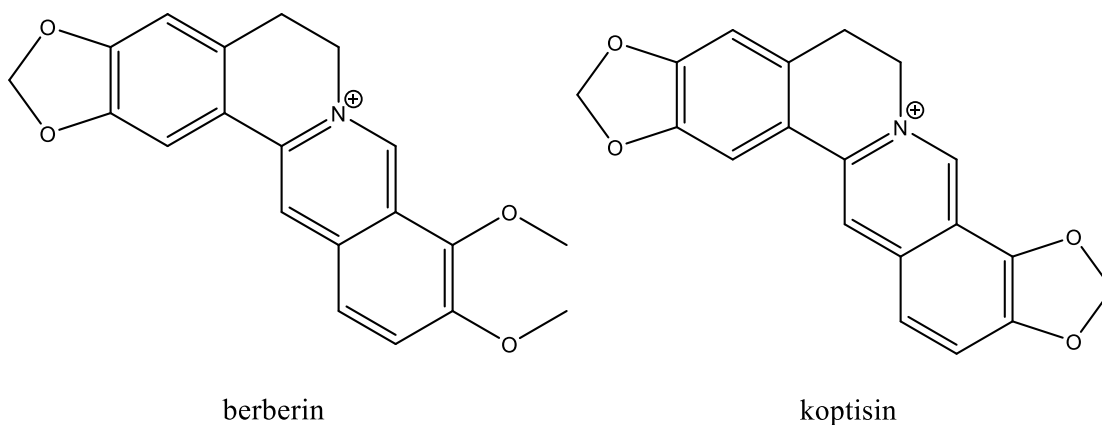


Obrázek 9 – alkaloidy rhoeadinového typu

1.2.1.2 Protoberberinový typ

Protoberberinový typ je modifikací benzyltetrahydroisochinolinových alkaloidů.²⁸ V *Papaver rhoeas* L. je obsažen mimo jiné i berberin. Díky velkému množství studií se ukázalo, že berberin má řadu biologických aktivit. V moderní medicíně je základem jeho využití terapie hypercholestémie, bakteriálních průjmů a neurodegenerativních onemocnění. Experimentálně se ukázalo, že má schopnost potlačit růst nádorových buněk rakoviny prsu, prostaty, ale i leukémie.²⁵ U léčivých rostlin obsahujících tento alkaloid se předpokládá, že jsou vhodnou volbou k fytotherapeutickému používání spolu se standartními postupy u prevence diabetu mellitu typu II. a u léčby metabolického syndromu. Bohužel, berberin je ve formě amoniové soli a proto se nepoužívá (nelze ho aplikovat perorálně). Je spíše veden jako lead compound pro objevování dalších struktur.²⁶

Mezi protoberberinové alkaloidy též patří (–)-cheilanthifolin, koptisin, (–)-skulerin, (–)-sinaktin a (±)-stylopin.²⁹

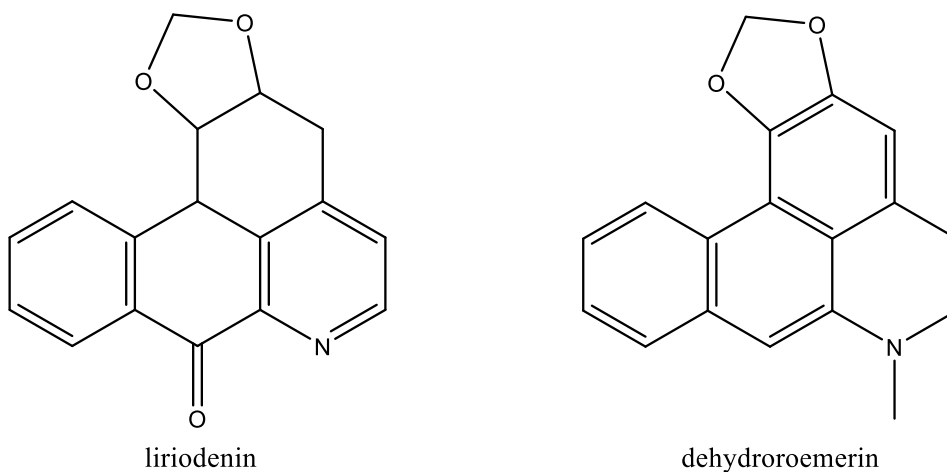


Obrázek 10 – Alkaloidy protoberberinového typu

1.2.1.3 Aporfinový typ

Pro aporfinový typ jsou typické antioxidantní, antitrombotické a cytotoxické účinky.³⁰

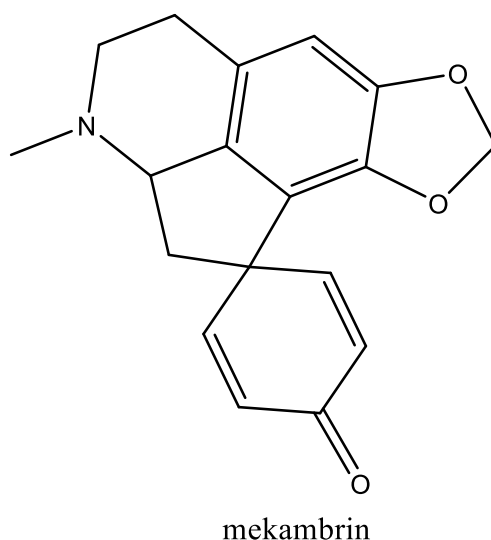
Do této skupiny patří (-)-N-methylasimilobin, liriodenin, caaverin, (+)-isokorydin, (+)-korytuberin, (+)-isoboldin, (+)-roemerin, (+)-magnoflorin, dehydroroemerin.³⁰



Obrázek 11 – Alkaloidy aporfinového typu

1.2.1.4 Proaporfinový typ

Jediný známý proaporfinový alkaloid, jenž je izolovaný z *Papaver rhoeas* L. je (-)-mekambrin.³⁰

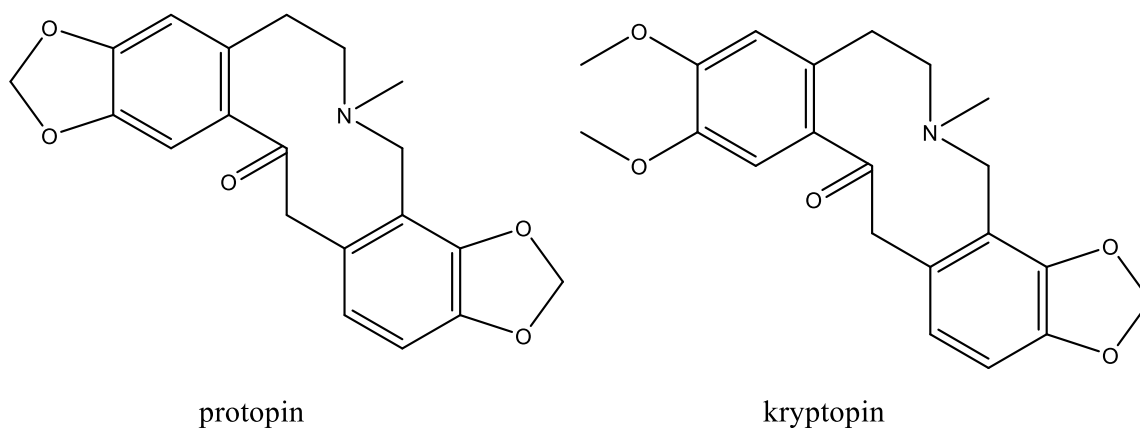


Obrázek 12 – Alkaloidy proaporphinového typu

1.2.1.5 Protopinový typ

Farmakologicky nejvýznamnější je právě protopin. Působí příznivě na kardiovaskulární systém zejména svým antiarytmickým a vasodilatačním účinkem.^{29,31} U tohoto alkaloidu byla testována i inhibice syntézy kyseliny arachidonové. Tento účinek se farmakologicky projevuje jako antitrombotický a protizánětlivý.³² Protopin má srovnatelný hepatoprotektivní účinek se standardním léčivem silymarinem.²⁷ Mimo jiné má účinky antiproliferativní, cytotoxické, antivirotické, antibakteriální, antioxidantivní a neuroprotektivní.²⁷

Do protopinových alkaloidů se řadí též allokryptopin, kryptopin a kulteropin.³³



Obrázek 13 – Alkaloidy protopinového typu

2 Cíl práce

Cílem této práce bylo určení struktur tří neznámých rostlinných metabolitů pomocí nukleární magnetické rezonance.

Jedna látka byla izolována z rostliny *Narcissus pseudonarcissus* L. z čeledi Amaryllidaceae pod kódovým označením **NPE25-F-51B** a další dvě z rostliny *Papaver rhoeas* L. z čeledi Papaveraceae označené kódovým označením **PR-75-97-2**, **PR-Et2O-9-5-2**.

3 Experimentální část

3.1 Nukleární magnetická rezonance

Nukleární magnetická rezonance (NMR) je analytická metoda využívající působení elektromagnetického záření na látky v magnetickém poli. Slouží k určování struktury organických látek a jejich prostorového uspořádání. Tato metoda umožňuje získat informace o nízkomolekulárních i vysokomolekulárních látkách obsahujících jádra atomů s nenulovým spinem.^{34, 35}

3.1.1 1D experimenty

Použitými základními jednodimezionálními experimenty byly ^1H NMR experiment a ^{13}C NMR experiment.

3.1.1.1 ^1H NMR spektrum

Jednodimenzionální ^1H NMR spektrum je charakterizováno počtem signálů, jejich intenzitou, chemickým posunem a štěpením. Počet signálů ve spektru odpovídá počtu neekvivalentních atomů vodíku ve vzorku. Intenzita signálů se stanovuje pomocí jejich integrace a poměru velikostí integrálů (plocha pod křivkou), takto se vyjadřuje počet vodíkových atomů daného signálu. Chemický posun (poloha signálu) vypovídá o chemickém okolí daného jádra atomu. Aby se dala vyjádřit hodnota chemického posunu, je nutno k tomu použít δ -stupnici. Jednotky jsou bezrozměrné a značíme je ppm (pars per milion).^{9, 35, 36}

Sousední atomy vodíku se navzájem ovlivňují, dochází k tzv. spin-spinové interakci (coupling). Ve spektru se projeví rozštěpením na $n+1$ píků (splitting), v závislosti na okolí daného atomu. Neštěpený signál se nazývá singlet (s). Dublet (d) vzniká tehdy, pokud s měřeným jádrem interaguje jedno jádro, získají se tím dva ekvivalentní signály o stejné intenzitě. Pokud s jádrem reagují dvě jádra, štěpení bude odpovídat tripletu (t) a získají se tím tři signály s poměrem intenzit $1 : 2 : 1$ (ekvidistantní). V případě tří jader se získá kvartet (q), tedy čtyři signály s poměrem intenzit $1 : 3 : 3 : 1$. Pokud dochází k dalšímu štěpení, mluví se o tzv. multipletech (m). Velikost interakční konstanty J se udává v hertzech (Hz). Konstanta charakterizuje míru štěpení signálu.^{9, 35, 36}

3.1.1.2 ^{13}C NMR spektrum

Jednodimenzionální ^{13}C NMR spektroskopii umožňuje izotop ^{13}C , který je zastoupen ve sloučenině pouze v 1,1 % zastoupeného uhlíku. Počet signálů ve spektru odpovídá počtu atomů uhlíku v daném vzorku. Chemický posun oproti ^1H NMR experimentu nabývá vyšších hodnot. Princip je však stejný a poloha signálu je ovlivněna chemickým okolím atomu uhlíku. Výrazný rozdíl je ve štěpení signálů, ten je totiž v ^{13}C experimentu nežádoucí. K odstraňování štěpení se využívá tzv. širokopásmového heteronukleárního decouplingu. Výsledkem je spektrum s neštěpenými signály, kde každý z nich odpovídá právě jednomu uhlíkovému atomu.^{36, 37}

3.1.2 2D experimenty

Tyto pokročilejší dvoudimenzionální experimenty jsou buď homokorelované (např.: gCOSY, NOESY) nebo heterokorelované (např.: gHSQC, gHMBC).

3.1.2.1 gHSQC experiment

Tento dvoudimenzionální gHSQC experiment poskytuje informace o přímých korelacích mezi atomy vodíku a jim náležícími atomy uhlíku.³⁷

3.1.2.2 gHMBC experiment

gHMBC experiment znázorňuje korelace mezi atomy vodíku a uhlíku na vzdálenost tří vazeb. Pokud je korelace slabší, může se jednat o vzdálenost mezi atomy přes dvě, nebo přes čtyři vazby. Nejvíce výjimek se obecně vyskytuje hlavně na pomezí alifatické a aromatické oblasti spektra, kdy silná korelace může představovat dvojvazebnou interakci. Intenzita korelace závisí na mnoha faktorech, například na substituentech okolních atomů (či přítomnosti heteroatomu v sousedství). Dále pak na hybridizaci a vazebných úhlech.⁹

3.1.2.3 gCOSY experiment

Dvoudimenzionální gCOSY experiment pojednává o korelaci vodíků. Diagonální píky náleží původnímu jednodimenzionálnímu ^1H NMR spektru. Mimodiagonální korelace zobrazují třívazebné interakce mezi atomy vodíků na sousedních uhlíkových atomech.⁹

3.1.2.4 NOESY experiment

NOESY je 2D NMR experiment, jenž znázorňuje interakce atomů vodíku v prostoru. Taktéž jako u experimentu gCOSY diagonální píky odpovídají původnímu 1D ^1H NMR spektru a mimodiagonální píky popisují interakce mezi jádry atomů vodíku. Tímto experimentem tedy lze potvrdit prostorovou orientaci struktury.³⁷

3.2 Přístrojové vybavení

Hmotnostní spektra byla měřena na přístroji EI-MS Agilent 7890A6C5975 inert MSD (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) pracujícím v režimu elektronové ionizace 70 eV a na ESI-MS Thermo Finnigan LCQ Duo (GenTech Scientific, Inc., New York).

NMR experimenty (^1H , ^{13}C , gHSQC, gHMBC, gCOSY a NOESY) těchto vzorků byly měřeny v roztocích CD_3OD popřípadě CDCl_3 při laboratorní teplotě na přístroji VNMR S500. Chemické posuny byly změřeny jako hodnoty δ v pars per milion (ppm) a také byly nepřímo vztaženy k tetramethylsilanu (TMS) jako standardu pomocí zbytkového signálu rozpouštědla (CD_3OD – 3.30 ppm pro ^1H a 49.0 ppm pro ^{13}C ; CDCl_3 – 7.26 ppm pro ^1H a 77.0 ppm pro ^{13}C).⁹

4 Výsledky s komentářem

4.1 NPE25-F-51B

Neznámá sloučenina s kódovým označením **NPE25-F-51B** byla získána izolací z rostliny *Narcissus pseudonarcissus* L. z čeledi Amaryllidaceae.

V ^{13}C NMR spektru je patrných šestnáct signálů. V oblasti 153.5–107.8 ppm se nachází osm aromatických atomů uhlíku. Je zřejmé, že v molekule se bude nacházet jedno aromatické jádro a jedna dvojná vazba. Chemický posun $\delta = 102.1$ ppm je charakteristický pro methylenovou skupinu odstíněnou dvěma atomy kyslíku. V alifatické oblasti spektra se nachází sedm atomů uhlíku.

Podle ^1H NMR spektra neznámá látka obsahuje tři aromatické atomy vodíku. V alifatické oblasti se jich nachází deset. Multiplet s chemickým posunem $\delta = 5.88\text{--}5.85$ ppm náleží methylenové skupině, která je silně odstíněna dvěma atomy kyslíku.

Z hodnot integrační křivky ^1H NMR spektra lze určit počty navázaných atomů vodíku v molekule.

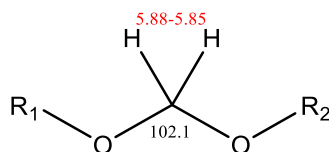
Vzorek neznámé sloučeniny tedy obsahuje patnáct atomů vodíku navázaných na atomy uhlíku, šestnáct atomů uhlíku, minimálně dva atomy kyslíku a jeden neurčený heteroatom. Z MS spektra je zřejmé, že molekulová hmotnost této sloučeniny je 287. Jelikož naměřená molekulová hmotnost je liché číslo, bude přítomen lichý počet atomů dusíku. V tomto případě jeden. Z těchto údajů je patrné, že vypočítaná molekulová hmotnost je prozatím 253. Rozdíl od požadované molekulové hmotnosti činí 34, což odpovídá dvěma hydroxylovým skupinám. Tímto způsobem je odvozen sumární vzorec neznámé látky: **C₁₆H₁₇NO₄**.

Pomocí gHSQC experimentu jsou přiřazeny jednotlivé atomy vodíku příslušným atomům uhlíku, na něž jsou navázány (Tabulka 1).

Atom uhlíku [ppm]	Atom vodíku [ppm]	Počet vodíků
31.6	1.58; 2.13–2.07	2H
46.7	3.39–3.37	1H
56.2	3.08–3.06	2H
59.5	3.53–3.46	1H
61.4	3.83; 4.32	2H
70.1	3.88–3.85	1H
72.5	3.97–3.94	1H
102.1	5.88–5.85	2H
107.8	6.54	1H
108.3	6.61	1H
116.4	5.55–5.52	1H
125.0	-	-
133.5	-	-
147.7	-	-
148.3	-	-
153.5	-	-

Tabulka 1

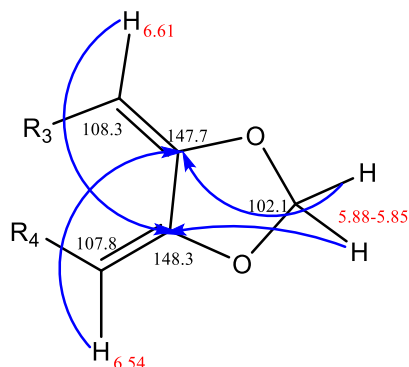
K identifikaci konstituce molekuly jsou využita především spektra gHMBC a gCOSY experimentu. Počátek určování struktury nabízí odstíněná methylenová skupina, která má typický chemický posun atomu uhlíku $\delta = 102.1$ ppm a atomů vodíku $\delta = 5.88\text{--}5.85$ ppm (Obrázek 14).



Obrázek 14

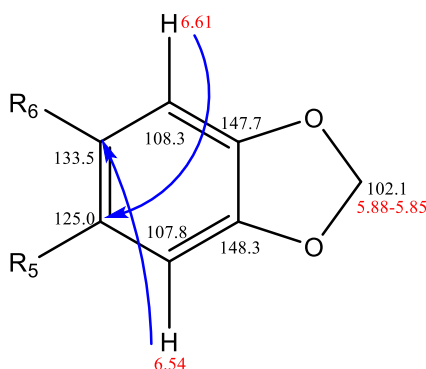
Vodíkové atomy vykazují silnou korelaci na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 147.7$ ppm a $\delta = 148.3$ ppm. Pro jejich umístění v dioxolenovém kruhu svědčí i jejich chemický posun v aromatické oblasti. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.54$ ppm má korelaci v gHMBC experimentu na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 147.7$ ppm. Tento atom vodíku náleží atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 107.8$ ppm. Též je zde zřejmá korelace atomu vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.61$ ppm na kvarterní atom

uhlíku s chemickým posunem $\delta = 148.3$ ppm. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.61$ ppm náleží atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 108.3$ ppm (Obrázek 15).



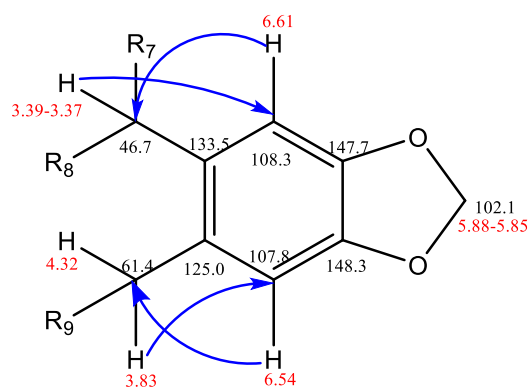
Obrázek 15

Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.54$ ppm vykazuje silnou korelaci na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 133.5$ ppm. Na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 125.0$ ppm koreluje přes tři vazby atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.61$ ppm. Na dioxolenový kruh je tedy přikondenzované benzenové jádro (Obrázek 16).



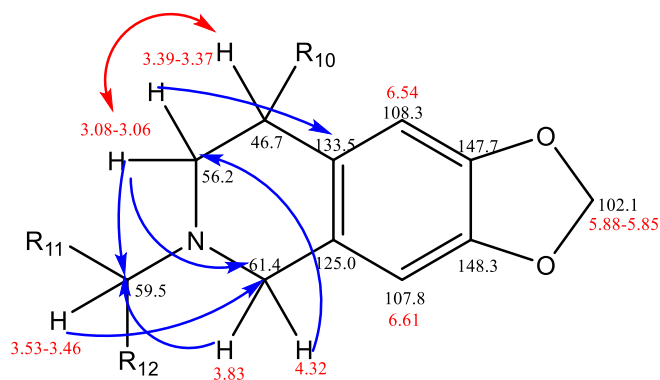
Obrázek 16

Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.61$ ppm má korelaci na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 108.3$ ppm. Pro atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.54$ ppm je zřejmá korelace přes tři vazby na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 125.0$ ppm. Methinový atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.39-3.37$ ppm koreluje na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 108.3$ ppm a atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.83$ ppm má korelaci na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 107.8$ ppm (Obrázek 17).



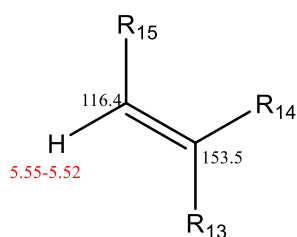
Obrázek 17

Ze spekter gCOSY experimentu je zřejmá korelace mezi vodíky s chemickými posuny $\delta = 3.08\text{--}3.06$ ppm a $\delta = 3.39\text{--}3.37$ ppm. Pro další objasnění struktury je nutné nahlédnout zpět do gHMBC spekter. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.08\text{--}3.06$ ppm má stejně silné korelace na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 61.4$ ppm, $\delta = 59.5$ ppm a $\delta = 133.5$ ppm. Z chemického posunu tohoto vodíku, potažmo uhlíku vyplývá, že bude navázán na heteroatom, v tomto případě na atom dusíku. Vodíkové atomy s chemickými posuny $\delta = 3.83$ ppm a $\delta = 4.32$ ppm silně korelují na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 56.2$ ppm a $\delta = 59.5$ ppm. To znamená, že tyto atomy jsou vzdálené přes tři vazby od zmíněných atomů vodíku. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.53\text{--}3.46$ ppm vykazuje korelaci na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 61.4$ ppm (Obrázek 18).



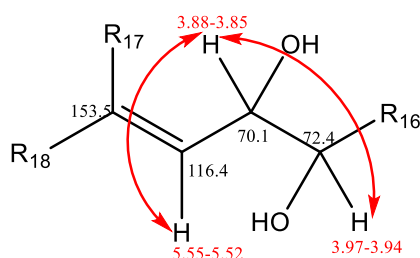
Obrázek 18

Specifickými posuny pro dvojnou vazbu v uhlíkovém spektru jsou $\delta = 153.5$ ppm a $\delta = 116.4$ ppm. Na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 116.4$ ppm je navázán atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 5.55\text{--}5.52$ ppm. (Obrázek 19).



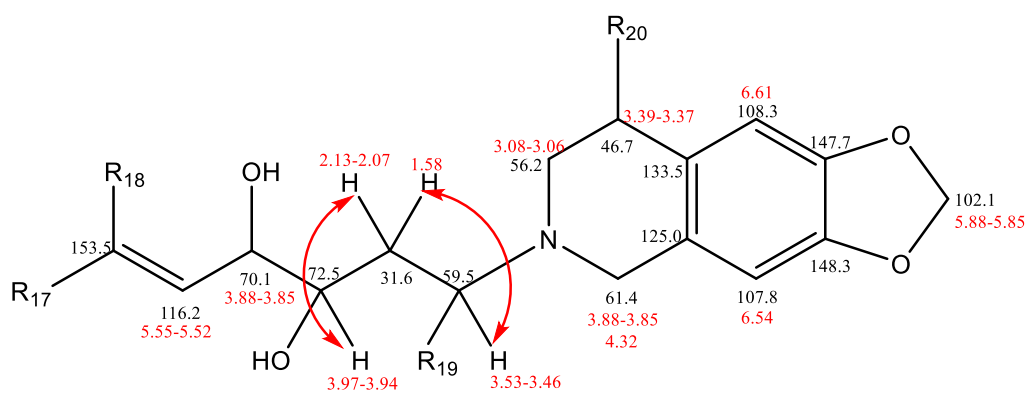
Obrázek 19

V gCOSY experimentu má atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 5.55\text{--}5.52$ ppm silnou korelaci na methinový atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.88\text{--}3.85$ ppm. Tento vodík koreluje na methinový atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.97\text{--}3.94$ ppm. Tyto korelace dokazují přítomnost čtyřhlíkatého fragmentu. Značné odstínění methinových uhlíků s chemickými posuny $\delta = 70.1$ ppm a $\delta = 72.5$ ppm je způsobeno vlivem elektronegativity navázaného kyslíku hydroxylové skupiny (Obrázek 20).



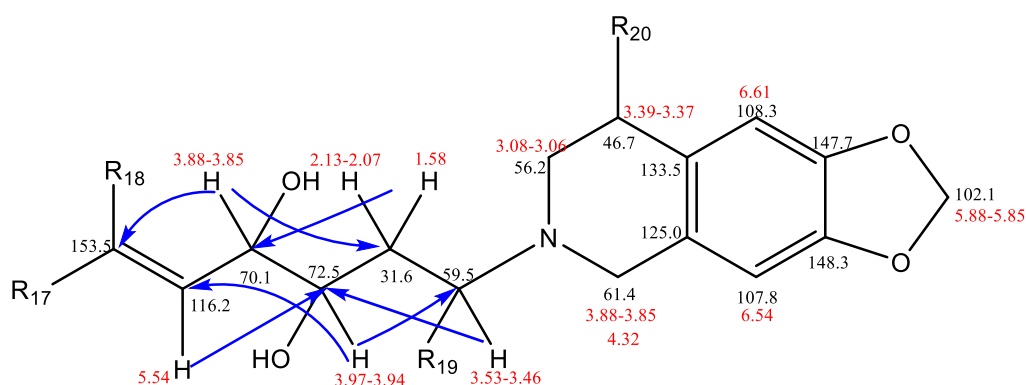
Obrázek 20

Další korelaci lze nalézt u atomů vodíku s chemickými posuny $\delta = 1.58$ ppm a $\delta = 2.13\text{--}2.07$ ppm, které náleží atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 31.6$ ppm, ve spektrech gCOSY experimentu je patrná jejich korelace s atomem vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.97\text{--}3.94$ ppm a dále s atomem vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.53\text{--}3.46$ ppm. Tyto korelace svědčí o propojení zatím popsaných substrukturálních fragmentů (Obrázek 21).



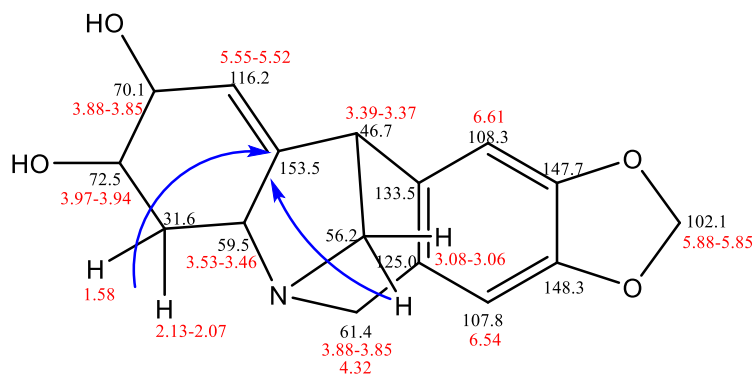
Obrázek 21

Navrženou strukturu podporují i důkazy z gHMBC experimentu (Obrázek 22). Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.53\text{--}3.46$ ppm vykazuje korelaci na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 72.5$ ppm. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.97\text{--}3.94$ ppm pak na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 59.5$ ppm a $\delta = 116.2$ ppm. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.88\text{--}3.85$ ppm má korelaci na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 31.6$ ppm a $\delta = 153.5$ ppm. Atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 1.58$ ppm a $\delta = 2.13\text{--}2.07$ ppm korelují na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 70.1$ ppm. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 5.54$ ppm má korelaci na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 72.5$ ppm.



Obrázek 22

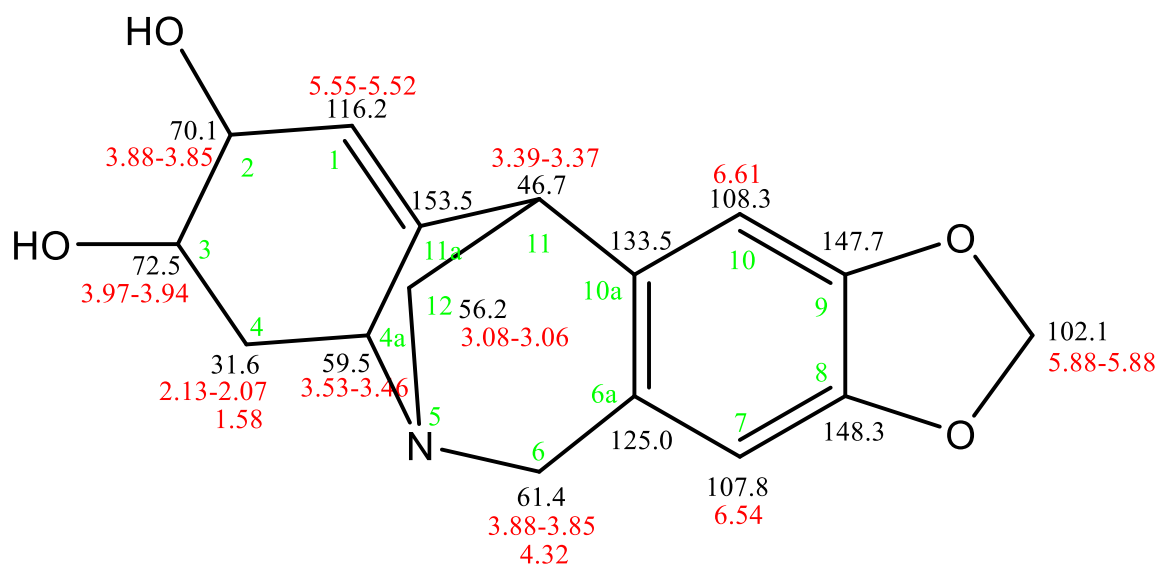
Zbývá určit substituenty R₁₇, R₁₈ kvarterního uhlíku s chemickým posunem $\delta = 153.5$ ppm a substituenty R₁₉, R₂₀ dvou methinových uhlíků s chemickými posuny $\delta = 59.5$ ppm, $\delta = 46.7$ ppm. Spektra gHMBC experimentu poskytují žádoucí odpověď. Na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 153.5$ ppm korelují přes tři vazby atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 3.08\text{--}3.06$ ppm, $\delta = 2.13\text{--}2.07$ ppm, $\delta = 1.58$ ppm. Čímž je určena konstituce této molekuly (Obrázek 23).



Obrázek 23

Tímto způsobem byla určena struktura sloučeniny s kódovým označením **NPE-25-F-51B** se sumárním vzorcem $C_{16}H_{17}NO_4$ a molekulovou hmotností 287 (Obrázek 24). Jedná se o publikovaný (-) – pancracine. Naměřená spektra byla porovnána se spektry (-) – pancracinu uvedenými v publikaci.³⁸ Absolutní konfigurace této molekuly byla potvrzena pomocí rentgenové strukturní analýzy (viz Přílohy).

NPE-25-F-51B



Obrázek 24

¹H NMR (500MHz, CD₃OD) δ: 6.61 (1H, s, H10), 6.54 (1H, s, H7), 5.88–5.85 (2H, m, OCH₂O), 5.55–5.52 (1H, m, H1), 4.32 (1H, d, *J* = 16.4 Hz, H6), 3.97–3.94 (1H, m, H3), 3.88–3.85 (1H, m, H2), 3.83 (1H, d, *J* = 16.4 Hz, H6), 3.53–3.46 (1H, m, H4a), 3.39–3.37 (1H, m, H11), 3.08–3.06 (2H, m, H12), 2.13–2.07 (1H, m, H4), 1.58 (1H, td, *J* = 12.2 Hz, *J* = 2.7 Hz, H4).

¹³C NMR (125MHz, CD₃OD) δ: 153.5 (C11a), 148.3 (C8), 147.7 (C9), 133.5 (C10a), 125.0 (C6a), 116.4 (C1), 108.3 (C10), 107.8 (C7), 102.1 (OCH₂O), 72.5 (C3), 70.1 (C2), 61.4 (C6), 59.5 (C4a), 56.2 (C12), 46.7 (C11), 31.6 (C4).

4.2 PR-75-97-2

Neznámá sloučenina s kódovým označením **PR-75-97-2** byla získána izolací z rostliny *Papaver rhoeas* L. z čeledi Papaveraceae.

V ^1H NMR spektru popisované sloučeniny se nachází čtrnáct signálů s chemickými posuny v rozsahu $\delta = 2.29$ ppm až $\delta = 7.18$ ppm. Tyto signály odpovídají osmnácti atomům vodíku. Singlet s chemickým posunem $\delta = 2.33$ ppm náleží methylové skupině. U atomů vodíku s chemickými posuny $\delta = 2.29$ ppm, $\delta = 3.51$ – 3.42 ppm a $\delta = 4.00$ ppm je z hodnot integrálu zřejmé, že každý ze signálů odpovídá právě jednomu atomu vodíku. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.28$ – 3.13 ppm patří methylenové skupině a je štěpen na mutliplet. Signál s chemickým posunem $\delta = 5.95$ – 5.90 ppm náleží dvěma atomům vodíku, které jsou odstíněné dvěma atomy kyslíku, totéž lze říci o signálu atomů vodíku s chemickými posuny $\delta = 6.09$ – 5.98 ppm. V aromatické části ^1H NMR spektra se nacházejí signály atomů vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.64$ ppm a $\delta = 7.18$ ppm, které nejsou štěpeny. Díky těmto signálům lze předpokládat, že ve struktuře bude přítomno 1,2,4,5-tetrasubstituované benzenové jádro s těmito atomy vodíku *p*-poloze. Tvar signálů atomů vodíku s chemickými posuny $\delta = 6.82$ ppm a $\delta = 7.03$ ppm má charakter dubletu, proto se bude v molekule nacházet ještě 1,2,3,4-tetrasubstituované benzenové jádro s těmito atomy vodíku v *o*-poloze.

V ^{13}C NMR spektru lze pozorovat dvacet signálů. V aromatické oblasti spektra je patrných patnáct signálů atomů uhlíku. Na pomezí mezi alifatickou a aromatickou částí spektra jsou signály s chemickými posuny $\delta = 100.8$ ppm a $\delta = 101.7$ ppm, které jsou charakteristické pro methylenové uhlíky dioxolenových kruhů. Chemický posun těchto atomů uhlíku je způsoben vazbou na dva atomy kyslíku, které svojí elektronegativitou způsobují jejich odstínění. Další atomy uhlíku aromatické části spektra mají chemické posuny $\delta = 105.8$ ppm, $\delta = 109.3$ ppm, $\delta = 109.7$ ppm, $\delta = 118.2$ ppm, $\delta = 121.9$ ppm, $\delta = 129.2$ ppm, $\delta = 132.9$ ppm, $\delta = 136.4$ ppm. Chemický posun atomů uhlíku $\delta = 143.3$ ppm, $\delta = 145.5$ ppm, $\delta = 145.88$ ppm, $\delta = 145.91$ ppm je způsoben substitucí těchto aromatických atomů elektronegativním atomem. Atomy uhlíku alifatické oblasti s vyššími chemickými posuny $\delta = 87.3$ ppm, $\delta = 63.9$ ppm, $\delta = 61.4$ ppm, $\delta = 55.7$ ppm jsou odstíněny elektronegativním substituentem, a to kyslíkem nebo dusíkem. Poslední dva atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 38.9$ ppm a $\delta = 31.4$ ppm patří do alifatické oblasti uhlíkového spektra.

Molekulová hmotnost neznámé sloučeniny v MS spektru je 369. Z ^1H a ^{13}C NMR spekter bylo identifikováno dvacet atomů uhlíku a osmnáct atomů vodíku navázaných na atomy

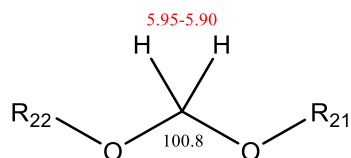
uhlíku a minimálně čtyři atomy kyslíku pro dva dioxolenové kruhy. Vzhledem k molekulové hmotnosti je zřejmé, že v molekule je přítomen lichý počet atomů dusíku. V tomto případě jeden. Z těch to údajů je zřejmé, že vypočítaná hmotnost neznámé molekuly je 336. Rozdíl s naměřenou hmotou v MS spektru činí 33. Tento rozdíl odpovídá přítomnosti ještě jednoho atomu kyslíku a jedné hydroxylové skupiny umístěné v alifatické oblasti molekuly. Struktura řešené molekuly bude mít sumární vzorec $C_{20}H_{19}NO_6$.

Ze spekter gHSQC experimentu byly přiřazeny jednotlivé atomy vodíku příslušným atomům uhlíku (Tabulka 2).

Atom uhlíku [ppm]	Atom vodíku [ppm]	Počet vodíků
31.4	2.29; 3.51–3.42	2H
33.9	2.33	3H
55.6	3.28–3.13	2H
61.4	4.00	1H
63.6	5.76	1H
87.3	6.29	1H
100.8	5.95–5.90	2H
101.7	6.09–5.98	2H
105.3	7.18	1H
109.3	6.82	1H
109.7	6.64	1H
118.2	-	-
121.9	7.03	1H
129.2	-	-
132.9	-	-
136.4	-	-
143.3	-	-
145.5	-	-
145.88	-	-
145.91	-	-

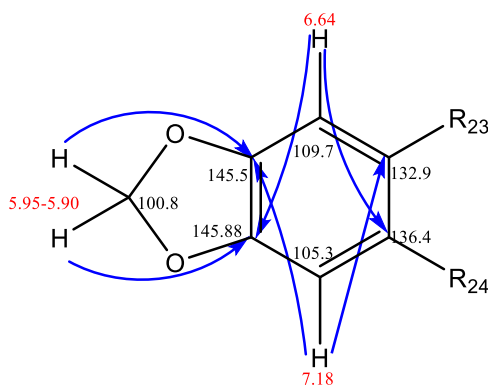
Tabulka 2

Dobrým odrazovým můstkem pro určování konstituce molekuly je odstíněná methylenová skupina, která má charakteristický posun uhlíku $\delta = 100.8$ ppm (Obrázek 25).



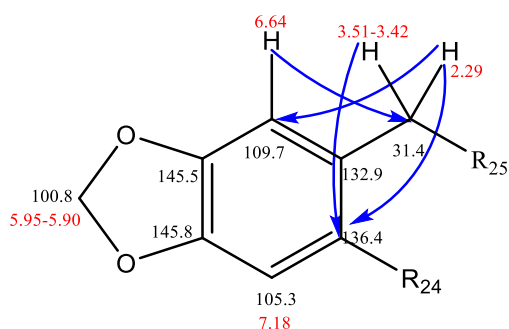
Obrázek 25

Vodíkové atomy mají silnou korelaci na uhlíky s chemickými posuny $\delta = 145.5$ ppm a $\delta = 145.88$ ppm. Na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 145.5$ ppm koreluje přes tři vazby atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.18$ ppm. Tento atom vodíku má korelaci též na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 132.9$ ppm. Na druhý atom uhlíku dioxolenového kruhu s chemickým posunem $\delta = 145.88$ ppm je v gHMBC spektru patrná korelace od atomu vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.64$ ppm. Tento atom vodíku koreluje i na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 136.4$ ppm (Obrázek 26).



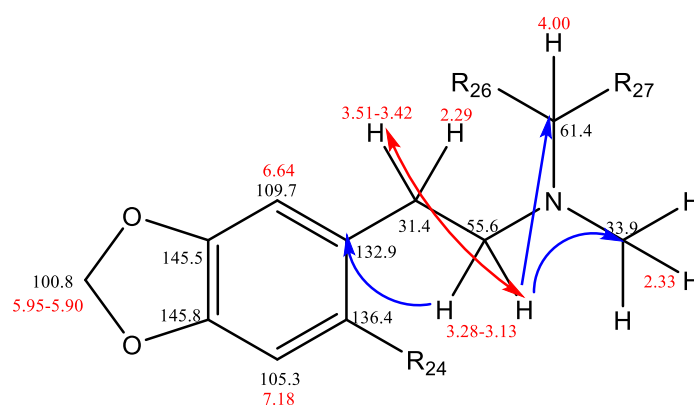
Obrázek 26

Na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 109.7$ ppm a $\delta = 136.4$ ppm mají silnou korelaci atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 2.29$ ppm a $\delta = 3.51-3.42$ ppm. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.64$ ppm koreluje na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 31.4$ ppm (Obrázek 27).



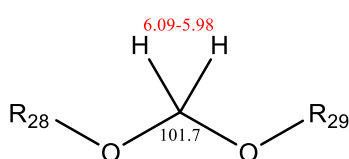
Obrázek 27

Ze spekter gCOSY experimentu vyplývá, že atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 2.29$ ppm a $\delta = 3.51\text{--}3.42$ ppm budou v sousedství s atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 3.28\text{--}3.13$ ppm. Tyto atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 3.28\text{--}3.13$ ppm mají v gHMBC spektrch tři stejně silné korelace přes tři vazby na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 132.9$ ppm, $\delta = 61.4$ ppm a $\delta = 33.9$ ppm. Vzhledem k odstíněným chemickým posunům atomů uhlíku $\delta = 61.4$ ppm, $\delta = 55.6$ ppm a $\delta = 33.9$ ppm, potažmo atomů vodíku, je zřejmé, že v jejich bude navázán elektronegativní heteroatom, v tomto případě atom dusíku (Obrázek 28).



Obrázek 28

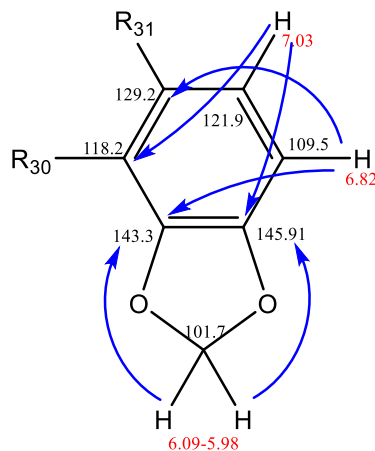
Další substrukturální fragment lze začít určovat od atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 101.7$ ppm. Tomu náleží atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.09\text{--}5.98$ ppm. Dle silného odstínění lze určit, že methylenový zbytek se nachází mezi dvěma atomy kyslíku (Obrázek 29).



Obrázek 29

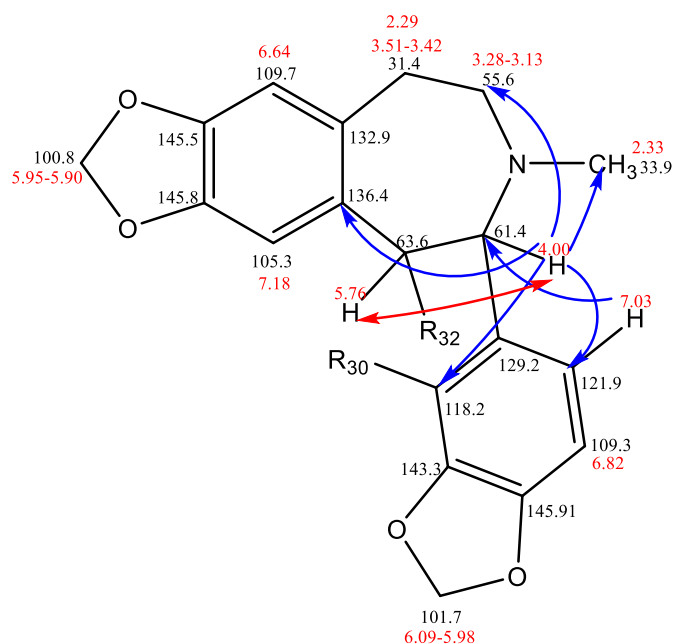
Atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.09\text{--}5.98$ ppm vykazují korelaci přes tři vazby na atomy uhlíku s chemickým posunem $\delta = 143.3$ ppm a $\delta = 145.91$ ppm. Na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 143.3$ ppm má také silnou korelaci atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.82$ ppm. Tento atom vodíku koreluje též na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 129.2$ ppm, jedná se o korelaci přes tři vazby. Na druhý atom uhlíku dioxolenového kruhu s chemickým posunem $\delta = 145.91$ ppm v gHMBC spektru koreluje atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.03$ ppm. Tento atom vodíku koreluje na atom uhlíku s chemickým posunem

$\delta = 118.2$ ppm. Takto je určené rozložení atomů 1,2,3,4-tetrasubstituovaného benzenového jádra na Obrázek 30.



Obrázek 30

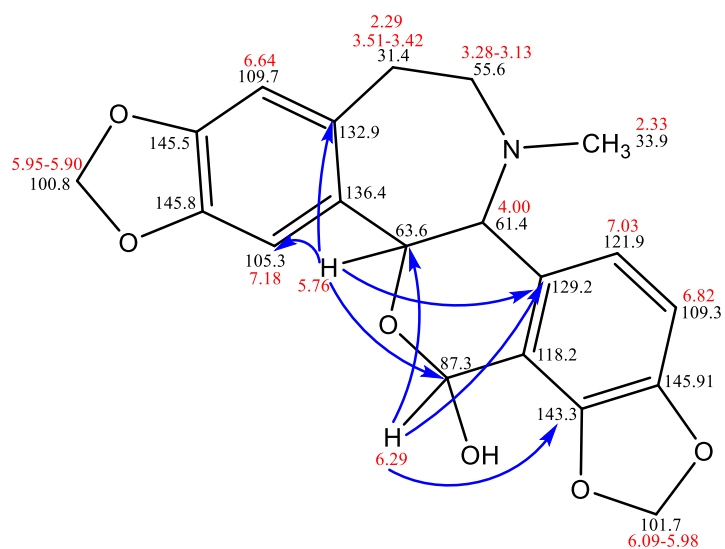
Na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 61.4$ ppm, nesoucí atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 4.00$ ppm, má silnou korelaci atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.03$ ppm. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 4.00$ ppm vykazuje pět stejně silných korelací přes tři uhlíky na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 33.9$ ppm, $\delta = 55.6$ ppm, $\delta = 118.2$ ppm, $\delta = 121.9$ ppm a $\delta = 136.4$ ppm. Korelace na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 136.4$ ppm a $\delta = 118.2$ ppm umožňuje propojit dosud určené substrukturální fragmenty (Obrázek 28). Tuto konstituci podporuje korelace atomů vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.28$ – 3.13 ppm na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 61.4$ ppm. V gCOSY experimentu je zřejmá silná korelace mezi atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 4.00$ ppm a $\delta = 5.76$ ppm (Obrázek 31).



Obrázek 31

Zbývá určit napojení substituentů R_{30} a R_{32} . Zbývající zatím nelocalizovaný atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.29$ ppm má tři stejně silné korelace přes tři vazby na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 63.6$ ppm, $\delta = 129.2$ ppm a $\delta = 143.3$ ppm. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.29$ ppm náleží atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 87.3$ ppm. Vzhledem k vysokému odstínění signálu v ^1H a ^{13}C experimentech je na atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 87.3$ ppm navázána hydroxylová skupina a atom kyslíku.

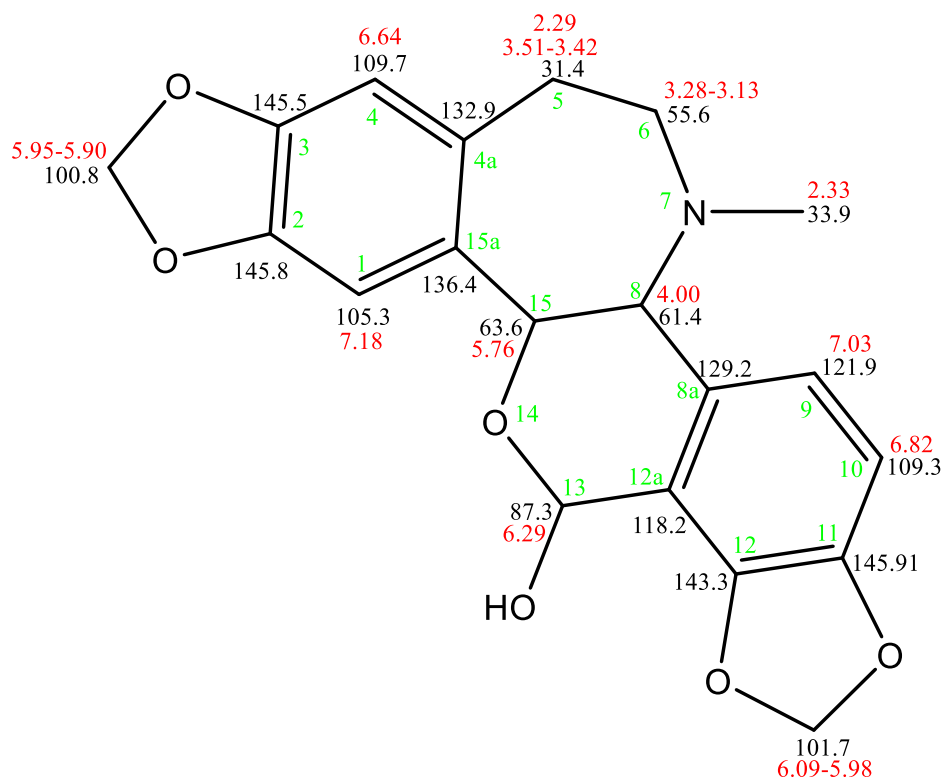
Správné napojení potvrzuje i fakt, že atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 5.76$ ppm koreluje čtyřmi stejně silnými korelacemi na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 87.3$ ppm, $\delta = 105.3$ ppm, $\delta = 129.2$ ppm a $\delta = 132.9$ ppm (Obrázek 32).



Obrázek 32

Takto byla vyřešena struktura neznámé sloučeniny s kódovým označením **PR-75-97-2** mající strukturální vzorec $C_{20}H_{19}NO_6$ a molekulovou hmotnost 369 (Obrázek 33).

V odborné literatuře tento alkaloid nese název rhoegenin. Zatím nejsou publikována referenční NMR spektra tohoto alkaloidu.



Obrázek 33

¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ: 7.18 (1H, s, H1), 7.03 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H9), 6.82 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H10), 6.64 (1H, s, H4), 6.29 (1H, s, H13), 6.09–5.98 (2H, m, OCH₂O), 5.95–5.90 (2H, m, OCH₂O), 5.76 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H15), 4.00 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H8), 3.51–3.42 (1H, m, H5), 3.28–3.13 (2H, m, H6), 2.33 (3H, s, NCH₃), 2.29 (1H, dd, *J* = 15.3 Hz, *J* = 5.2 Hz, H5).

¹³C NMR (125MHz, CDCl₃) δ: 145.91 (C11), 145.88 (C2), 145.5 (C3), 143.3 (C12), 136.4 (C15a), 132.9 (C4a), 129.2 (C8a), 121.9 (C9), 118.2 (C12a), 109.7 (C4), 109.3 (C10), 105.3 (C1), 101.7 (OCH₂O), 100.8 (OCH₂O), 87.3 (C13), 63.6 (C15), 61.4 (C8), 55.6 (C6), 33.9 (NCH₃), 31.4 (C5).

4.3 PR-Et2O-9-5-2

Neznámá sloučenina s kódovým označením **PR-Et2O-9-5-2** byla získána izolací z rostliny *Papaver rhoeas* L. z čeledi Papaveraceae.

V ^1H NMR spektru popisované sloučeniny se nachází deset signálů s chemickými posuny v rozsahu $\delta = 2.64$ ppm až $\delta = 8.42$ ppm. Tyto signály odpovídají patnácti atomům vodíku. Singlet s chemickým posunem $\delta = 3.89$ ppm náleží methoxyskupině. U atomů vodíku s chemickými posuny $\delta = 2.85$ ppm, $\delta = 3.37\text{--}3.29$ ppm, $\delta = 3.76$ ppm, $\delta = 6.68$ ppm, $\delta = 7.15$ ppm a $\delta = 8.42$ ppm lze z hodnot integrálu určit, že každému ze signálů náleží právě jeden atom vodíku. Z hodnot integrálu pro signály tvaru multipletu s chemickým posunem $\delta = 2.71\text{--}2.64$ ppm, $\delta = 3.06\text{--}2.90$ ppm a $\delta = 7.26\text{--}7.20$ ppm vyplývá, že odpovídají dvěma atomům vodíku.

V ^{13}C NMR spektru se nachází sedmnáct atomů uhlíku. V aromatické oblasti spektra je dvanáct signálů atomu uhlíku. Aromatické atomy uhlíku mají chemické posuny $\delta = 111.4$ ppm, $\delta = 120.5$ ppm, $\delta = 124.4$ ppm, $\delta = 127.5$ ppm, $\delta = 127.7$ ppm, $\delta = 128.5$ ppm, $\delta = 128.6$ ppm, $\delta = 129.8$ ppm, $\delta = 134.1$ ppm, $\delta = 136.6$ ppm. Odstíněné signály atomu uhlíku $\delta = 143.6$ ppm a $\delta = 148.5$ ppm dokazují přítomnost atomů kyslíku v molekule. Atom uhlíku odstíněné alifatické oblasti spektra $\delta = 56.6$ ppm představuje uhlík methoxy skupiny. Další odstíněné signály atomů uhlíku $\delta = 44.0$ ppm a $\delta = 54.8$ ppm svědčí o substituci elektronegativním atomem. Poslední dva atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 37.8$ ppm, $\delta = 29.0$ ppm, patří alifatické oblasti uhlíkového spektra.

Molekulová hmotnost neznámé sloučeniny v MS spektru má hodnotu 267. Z výše uvedené interpretace ^1H a ^{13}C plyne přítomnost sedmnácti atomů uhlíku, patnácti atomů vodíku navázané na atomy uhlíku a minimálně jeden atom kyslíku v methoxy skupině. Vzhledem k molekulové hmotnosti je přítomen lichý počet atomů dusíku, v tomto případě jeden. Vypočítaná hmotnost neznámé molekuly dle údajů z experimentů je 249. Rozdíl mezi skutečnou a teoretickou molekulovou hmotností činí 18. To znamená, že v molekule je přítomna jedna hydroxylová skupina a jeden atom vodíku, který je pravděpodobně vázaný na atom dusíku. Sumární vzorec řešené molekuly je $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_2$.

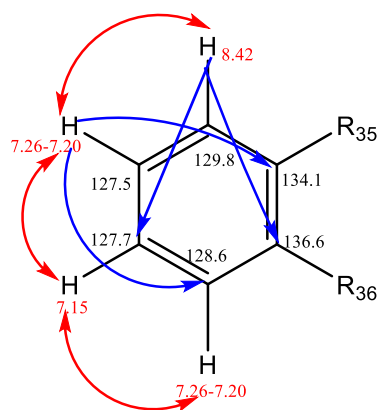
Pomocí HSQC experimentu jsou přiřazeny jednotlivé atomy vodíku k příslušným atomům uhlíku (Tabulka 3).

Atom uhlíku [ppm]	Atom vodíku [ppm]	Počet vodíků
29.0	2.71–2.64; 3.06–2.90	2H
37.8	2.71–2.64; 2.85	2H
44.0	3.06–2.90; 3.37–3.29	3H
54.8	3.76	1H
56.6	3.89	3H
111.4	6.68	1H
120.5	-	-
124.4	-	-
127.5	7.26–7.20	1H
127.7	7.15	1H
128.6	7.26–7.20	1H
128.7	-	-
129.8	8.42	1H
134.1	-	-
136.6	-	-
143.6	-	-
148.5	-	-

Tabulka 3

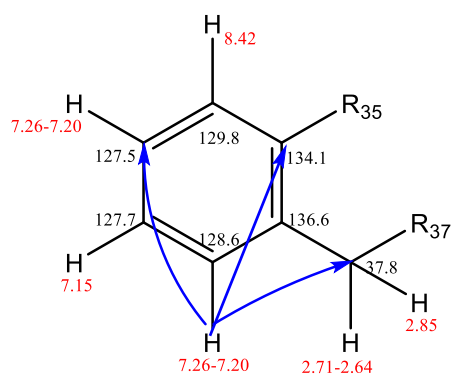
Řešení uspořádání neznámé struktury je možné započít v gCOSY experimentu. Zde je zřejmá silná korelace mezi atomem vodíku s chemickým posunem $\delta = 8.42$ ppm a atomem vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.26–7.20$ ppm. Dále pak mezi atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 7.26–7.20$ ppm a $\delta = 7.15$ ppm.

Uskupení na 1,2-disubstituovaném benzenovém jádře plynoucí z gCOSY spekter podporují korelace ze spekter gHMBC experimentu. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 8.42$ ppm má dvě stejně silné korelace přes tři vazby na atomy uhlíku s chemickým posunem $\delta = 127.7$ ppm a $\delta = 136.6$ ppm. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.26–7.20$ ppm má dvě silné korelace na atomy uhlíku s chemickým posunem $\delta = 128.6$ ppm a $\delta = 134.1$ ppm (Obrázek 34).



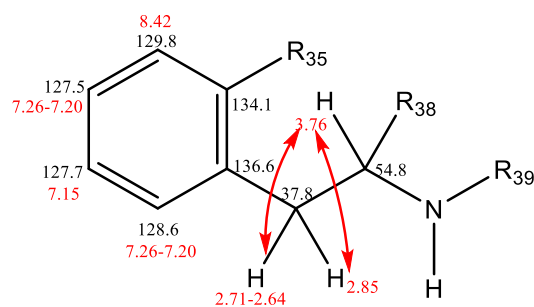
Obrázek 34

Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.26\text{--}7.20$ ppm má dvě silné a jednu slabší korelaci přes tři vazby na atomy uhlíku s chemickým posunem $\delta = 37.8$ ppm, $\delta = 127.5$ ppm a $\delta = 134.1$ ppm (Obrázek 35).



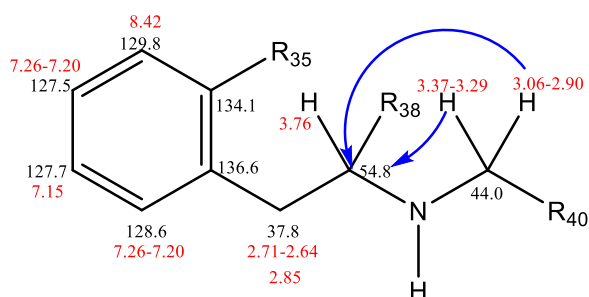
Obrázek 35

V gCOSY experimentu jsou zřejmé silné korelace mezi atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 2.71\text{--}2.64$ ppm, $\delta = 2.85$ ppm a $\delta = 3.76$ ppm. Atomu vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.76$ ppm náleží atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 54.8$ ppm. Odstínění signálů těchto atomů jak v ^1H , tak v ^{13}C NMR spektru nasvědčuje substituci dusíkovým atomem (Obrázek 36).



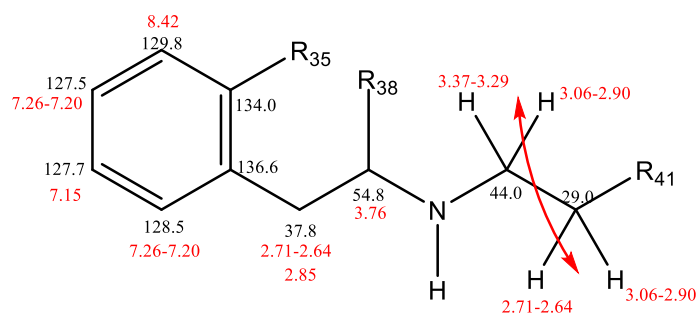
Obrázek 36

Na odstíněný uhlíkový atom s chemickým posunem $\delta = 54.8$ ppm ve spektrech gHMBC experimentu korelují atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 3.06\text{--}2.90$ ppm a $\delta = 3.37\text{--}3.29$ ppm (Obrázek 37).



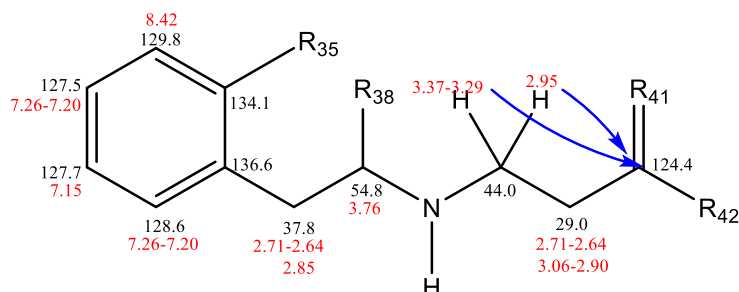
Obrázek 37

Ve spektrech gCOSY experimentu jsou patrné silné korelace mezi atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 3.37\text{--}3.29$ ppm, $\delta = 3.06\text{--}2.90$ ppm a $\delta = 2.71\text{--}2.64$ ppm (Obrázek 38).



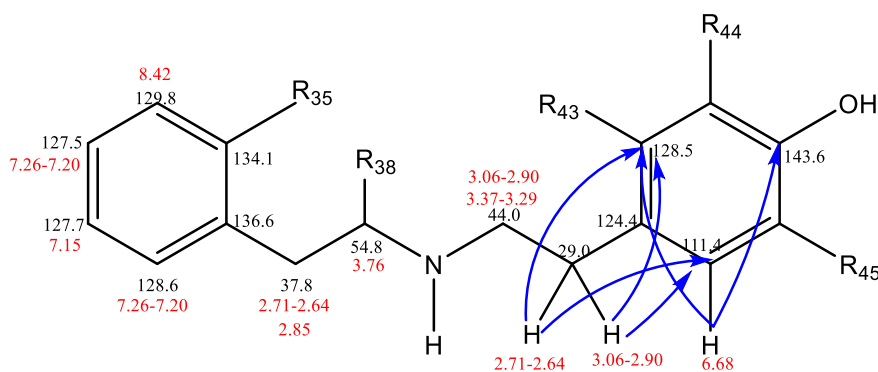
Obrázek 38

V gHMBC experimentu mají atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 3.06\text{--}2.90$ ppm a $\delta = 3.37\text{--}3.29$ ppm korelaci přes tři vazby na sp^2 -uhlíkový atom s chemickým posunem $\delta = 124.4$ ppm (Obrázek 39).



Obrázek 39

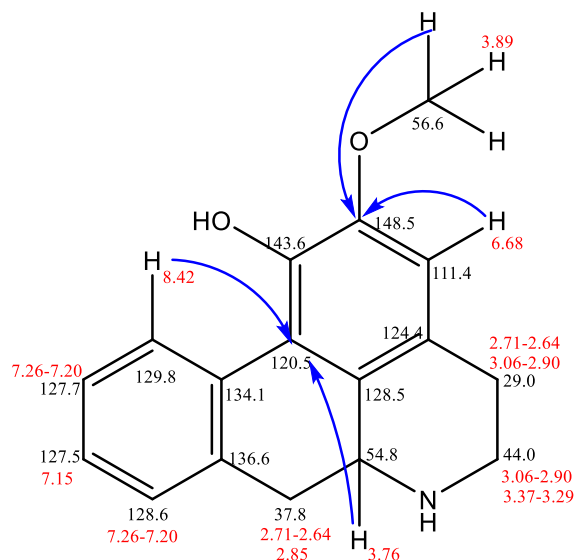
V gHMBC jsou zřejmé silné korelace atomů vodíku s chemickými posuny $\delta = 2.71\text{--}2.64$ ppm a $\delta = 3.06\text{--}2.90$ ppm na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 128.5$ ppm a $\delta = 111.4$ ppm. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.68$ ppm, náležící atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 111.4$ ppm, koreluje na sp^2 -atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 128.5$ ppm a $\delta = 143.6$ ppm. Atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 143.6$ ppm je silně odstíněn hydroxylovou skupinou, která je na něj navázána. Popsané korelace jsou uvedeny na Obrázek 40.



Obrázek 40

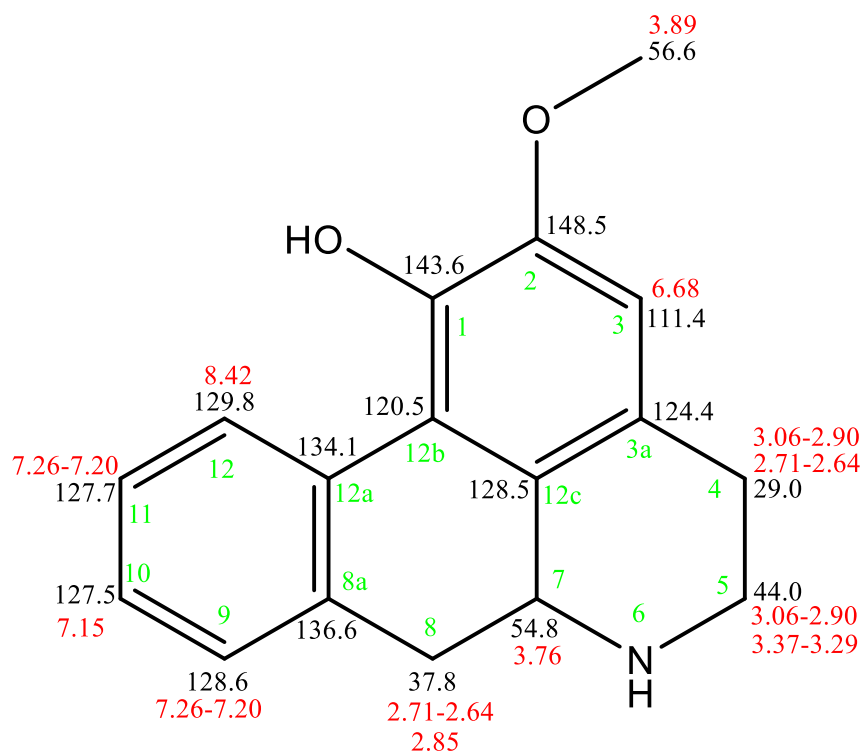
Zbývají určit dva uhlíky s chemickými posuny $\delta = 120.5$ ppm a $\delta = 148.5$ ppm. Atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 148.5$ ppm bude situován mezi atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 111.4$ ppm a $\delta = 143.6$ ppm, neboť na něj vykazuje slabou korelaci atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.68$ ppm. Velké odstínění atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 148.5$ ppm vypovídá o substituci kyslíkovým atomem, v tomto případě substituovaný

methylovou skupinou. V gHMBC experimentu je patrná korelace atomů vodíku methylové skupiny na atom uhlíku $\delta = 148.5$ ppm. Zbývá určit polohu uhlíkového atomu s chemickým posunem $\delta = 120.5$ ppm. Na tento atom korelují ve spektrech gHMBC experimentu atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 3.76$ ppm a $\delta = 8.42$ ppm (Obrázek 41).



Obrázek 41

Obrázek 42 zobrazuje identifikovanou strukturu látky s kódovým označením **PR-Et20-9-5-2** mající strukturní vzorec $C_{17}H_{17}NO_2$ a molekulovou hmotnost 267. Jedná se o známý alkaloid nesoucí název caaverin. Referenční spektra měřená v deuterovaném methanolu nejsou bohužel publikována.



Obrázek 42

^1H NMR (500MHz, CD₃OD) δ : 8.42 (1H, dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.2$ Hz, H12), 7.26–7.20 (2H, m, H11, H9), 7.15 (1H, td, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.2$ Hz, H10), 6.68 (1H, s, H3), 3.89 (3H, s, OCH₃), 3.76 (1H, dd, $J = 13.8$ Hz, $J = 4.4$ Hz, H7), 3.37–3.29 (1H, m, H5), 3.06–2.90 (2H, m, H5, H4), 2.85 (1H, dd, $J = 13.8$ Hz, $J = 4.4$ Hz, H8), 2.71–2.64 (2H, m, H8, H4).

^{13}C NMR (125MHz, CD₃OD) δ : 148.5 (C2), 143.6 (C1), 136.6 (C8a), 134.1 (C12a), 129.8 (C12), 128.7 (C12c), 128.6 (C9), 127.7 (C10), 127.5 (C11), 124.4 (C3a), 120.5 (C12b), 111.4 (C3), 56.6 (OCH₃), 54.8 (C7), 44.0 (C5), 37.8 (C8), 29.0 (C4).

5 Závěr

V rámci této diplomové práce byly identifikovány struktury tří neznámých sloučenin získaných izolací z rostliny *Narcissus pseudonarcissus* L. (narcis žlutý) z čeledi Amaryllidaceae a z rostliny *Papaver rhoeas* L. (mák vlčí) z čeledi Papaveraceae. Izolace byla provedena na Katedře farmaceutické botaniky Farmaceutické fakulty v Hradci Králové.

Jedna z látek s kódovým označením **NPE25-F-51B**, izolovaná z rostliny *Narcissus pseudonarcissus* L. z čeledi Amaryllidaceae a byla určena jako (-) - pancracin. Struktura této molekuly byla potvrzena rentgenovou strukturní analýzou ve spolupráci s Katedrou obecné a anorganické chemie Univerzity Pardubice. Spektra naměřená v DMSO se shodují s publikovanými referenčními spektry.³⁸

Další dvě látky byly izolovány z *Papaver rhoeas* L. patřící do čeledi Papaveraceae. Neznámá látka s kódovým označením **PR-75-97-2** nese název rhoeagenin. Zatím nejsou publikována referenční NMR spektra. Struktura látky s kódovým označením **PR-Et20-9-5-2** byla identifikována jako caaverin. Jedná se o známý alkaloid, ale bohužel nejsou publikována referenční NMR spektra v deuterovaném methanolu.

6 Seznam použité literatury

- ¹ Slavík, B., *Květena České republiky 7*. Academica: Praha, **2004**. ISBN 8020011617
- ² Burnie, G., *Botanika: ilustrovaný abecední atlas 10 000 zahradních rostlin s návodem, jak je pěstovat*. Slovart: Praha, **2007**. ISBN 9788072099368
- ³ Štursa, J., *Cibulové a hlíznaté rostliny*. Aventinum: Praha, **1997**. ISBN 8085277786
- ⁴ Schickerová, J., Alkaloidy *Narcissus pseudonarcissus* cv. Dutch Master: izolace, strukturní identifikace, příprava analog, biologická aktivita, Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Hradec Králové, 2018
- ⁵ Jahodář, L., *Farmakobotanika: semenné rostliny*. Karolinum: Praha, **2006**. ISBN 8024612259
- ⁶ Nair, J. J.; van Staden, J., Pharmacological and toxicological insights to the South African Amaryllidaceae. *Food Chem. Toxicol.* **2013**, *62*, 262–275
- ⁷ Bastida Armengol, J.; Berkov, S.; Torras Claveria, L.; Pigni, N. B.; Andradre, J. P.; Martínez, V.; Codina Mahrer, C.; Viladomat Meya, F., Chemical and biological aspects of Amaryllidaceae alkaloids. In *Recent Advances in Pharmaceutical Sciences*, Muñoz-Torrero, D., Ed. Transworld Research Network: Kerala, **2011**. 65–100. ISBN 9788178955285
- ⁸ Nair, J. J.; Van Staden, J., Traditional usage, phytochemistry and pharmacology of the South African medicinal plant *Boophone disticha* (L.f.) Herb. (Amaryllidaceae). *J. Ethnopharmacol.* **2014**, *151* (1), 12–26
- ⁹ Mizerová, V. Strukturní analýza alkaloidů pomocí NMR spektroskopie, Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Hradec Králové, 2018
- ¹⁰ Sramek, J. J.; Frackiewicz, E. J.; Cutler, N. R., Review of the acetylcholinesterase inhibitor galanthamine. *Expert Opin. Investig. Drugs.* **2000**, *9* (10), 2393–2402
- ¹¹ McNulty, J.; Nair, J. J.; Singh, M.; Crankshaw, D. J.; Holloway, A. C.; Bastida, J., Selective cytochrome P450 3A4 inhibitory activity of Amaryllidaceae alkaloids. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19* (12), 3233–3237
- ¹² <https://www.johnscheepers.com/narcissus-pseudo-narcissus-ssp-obvallaris.html> citováno dne: 7.11.2018
- ¹³ Nair, J. J.; Rarova, L.; Strnad, M.; Bastida, J.; van Staden, J., Mechanistic insights to the cytotoxicity of Amaryllidaceae alkaloids. *Nat. Prod. Commun.* **2015**, *10* (1), 171–182
- ¹⁴ Berkov, S.; Martíez-Francés, V.; Bastida, J.; Codina, C.; Rios, S.: Evolution of alkaloid biosynthesis in the genus *Narcissus*. *Phytochemistry.* **2014**, *99*, 95–106

-
- ¹⁵ Tram, N.; Titorenkova, T. V.; Bankova, V. ST.; Handijieva, N. V.; Popov, S. S.: *Crinum* L. (Amaryllidaceae). *Fitoterapia*. **2002**, 73 (3), 183–208
- ¹⁶ Dalecká, M.; Havelek, R.; Královec, K.; Brůčková, L.; Cáhliková, L., Alkaloidy rostlin čeledi Amaryllidaceae jako potenciální léčiva v terapii nádorových onemocnění. *Chem. Listy*. **2013**, 107, 701–708.
- ¹⁷ Hejný, S.; Slavík, B., *Květena České republiky I*. Academia: Praha, **1997**. ISBN 8020006435
- ¹⁸ <http://www.kvetena.com/makovite.html> citováno dne: 8.11.2018
- ¹⁹ Kostic, D. A.; Mitic, S. S.; Mitic, M. N.; Zarubica, A. R.; Velickovic, J. M.; Dordevic, A. S.; Randelovic, S. S., Phenolic contents, antioxidant and antimicrobial activity of *Papaver rhoeas* L. extracts from Southeast Serbia. *J. Med. Plants Res*. **2010**, 4 (17), 1727–1732.
- ²⁰ Günaydin, Y.K.; Dündar, Z.D.; Çekmen, B.; Akıllı, N.B.; Köylü, R.; Cander, B. Intoxication due to *Papaver rhoeas* (corn poppy): Five case reports. *Case Rep. Med*. **2015**, 2015, 321360
- ²¹ <https://botany.cz/cs/papaver-rhoeas/> citováno dne: 8.11.2018
- ²² Kalav, Y. N.; Sariyar, G., Alkaloids from Turkish *Papaver rhoeas*. *Planta Med*. **1989**, 55 (5), 488
- ²³ <http://botanika.wendys.cz/index.php/14-herbar-rostlin/129-papaver-rhoeas-mak-vlci> citováno dne: 9.11.2018
- ²⁴ Bentley, K. W., *Isoquinoline alkaloids*. CRC Press: Boca Raton, **1998**; Vol. 1. ISBN 9789057022296
- ²⁵ Tomko, J., *Farmakognózia: učebnica pre farmaceutické fakulty*. Osveta: Martin, **1999**. ISBN 9788080630140
- ²⁶ <http://chemicke-listy.cz/Bulletin/bulletin312/bulletin312.html> citováno dne: 9.11.2018
- ²⁷ Brossi, A., *The alkaloids: chemistry and pharmacology*. Academic Press: Cambridge, **1986**; Vol. 29. ISBN 9780080865539
- ²⁸ <http://toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=752> citováno dne: 9.11.2018
- ²⁹ Song, L. S.; Ren, G. J.; Chen, Z. L.; Chen, Z. H.; Zhou, Z. N.; Cheng, H. P., Electrophysiological effects of protopine in cardiac myocytes: inhibition of multiple cation channel currents. *Br. J. Pharmacol*. **2000**, 129 (5), 893–900
- ³⁰ Zhong, M.; Liu, Y. J.; Liu, J. X.; Di, D. L.; Xu, M. R.; Yang, Y. Y.; Li, W. G.; Chen, Y. L.; Liu, J. X., Isocorydine derivatives and their anticancer activities. *Molecules*. **2014**, 19 (8), 12099–12115
- ³¹ Vacek, J.; Walterova, D.; Vrubleova, E.; Simanek, V., The chemical and biological properties of protopine and allocryptopine. *Heterocycles*. **2010**, 81 (8), 1773–1789

-
- ³² Xiao, X. H.; Liu, J. T.; Hu, J. W.; Li, T. X.; Zhang, Y. H., Protective effect of protopine on the focal cerebral ischaemic injury in rats. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **2007**, *101* (2), 85–89
- ³³ Guinaudeau, H., Shamma, M.: The protopine alkaloids. *J. Nat. Prod.* **1982**, *45* (3), 237–246
- ³⁴ <http://nmrlab.chemi.muni.cz/img/NMR.pdf> citováno dne: 9.11.2018
- ³⁵ Waisser, K., *Organická chemie I*. Karolinum: Praha, **1999**. ISBN 9788071848745
- ³⁶ M., Buděšínský. Krátký kurs do NMR spektrometrie. ÚOCHB AV ČR: Praha, **2003**
- ³⁷ Maříková, J. Využití NMR spektroskopie při strukturní analýze Využití NMR spektroskopie při strukturní analýze. Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Hradec Králové, 2018
- ³⁸ Bao, X.; Cao, Y. X.; Chu, W. D.; Qu, H.; Du, J. Y.; Zhao, X. H.; Ma, X. Y.; Wang, C. T.; Fan, C. A., Bioinspired total synthesis of montanine-type Amaryllidaceae alkaloids. *Angew. Chem.-Int. Edit.* **2013**, *52* (52), 14167–14172

7 Přílohy

7.1.1 NMR spektra sloučeniny **NPE25-F-51B**

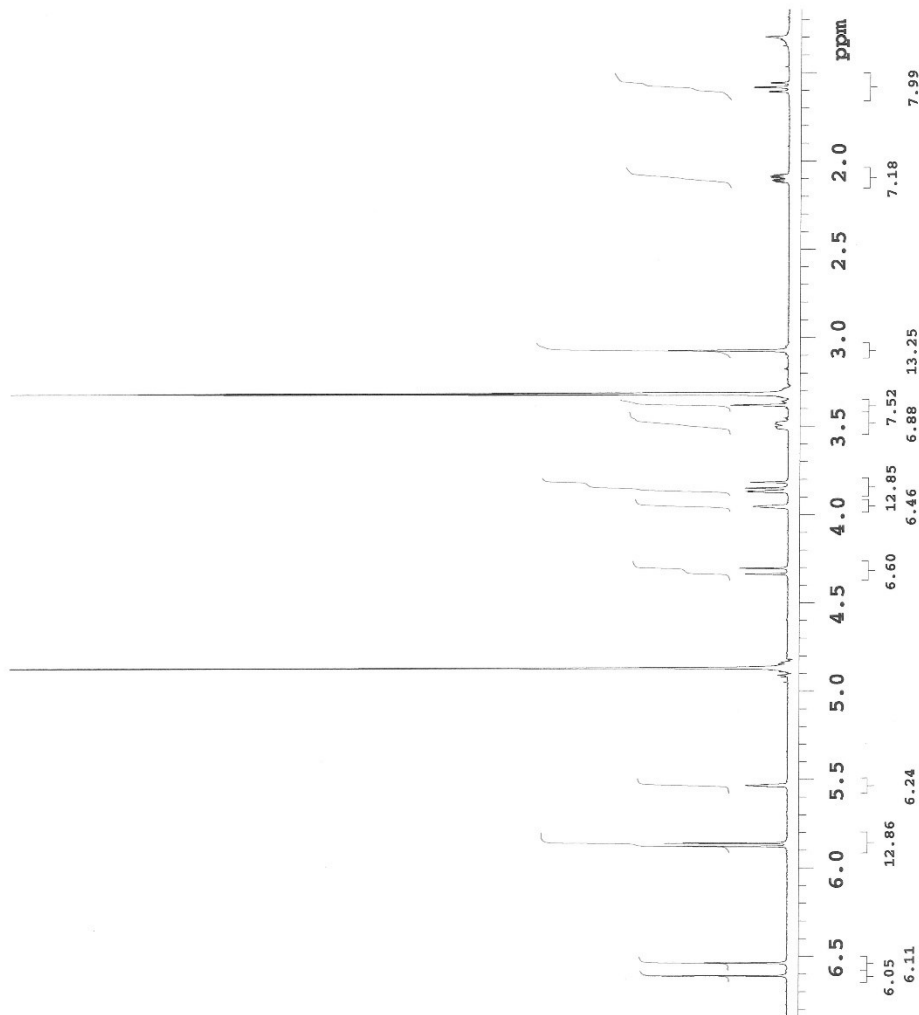
¹H - NMR

NPE25-F-51B

exp30 PROTON

```

SAMPLE          PRESATURATION
date   Dec 7 2016   satmode   n
solvent cd3cd      wet       n
file /home/vmxi/v- SPECIAL
nmrjys/data/lucie/~ temp 24.0
Narcissus/NPE-25-F- gain 46
-51B/Methanol/NPE2~ spIn 20
5-F-51B_Hss.fid hst 0.008
ACQUISITION pw90 9.100
sw 3125.0 alfa 10.000
at 2.621
np 16384 il
fb 4000 in n
bs 32 qp Y
dl 1.000 hs nn
nt 8
ct 8 fn not used
TRANSMITTER 8 fn not used
DISPLAY
tn H1 sp 571.9
strq 499.867 wp 2859.9
tof -594.2 rfl -342.7
tpwr 60 rfp 0
pw 4.550 rp 131.8
DECOUPLER lp 0
dn C13 PLOT
dof 0 wc 175
dm nnn sc 8
decwave W40_OneNMR~ vs 127
_W018 th 7
dprv 37 ai cdc ph
dmf 32258
    
```



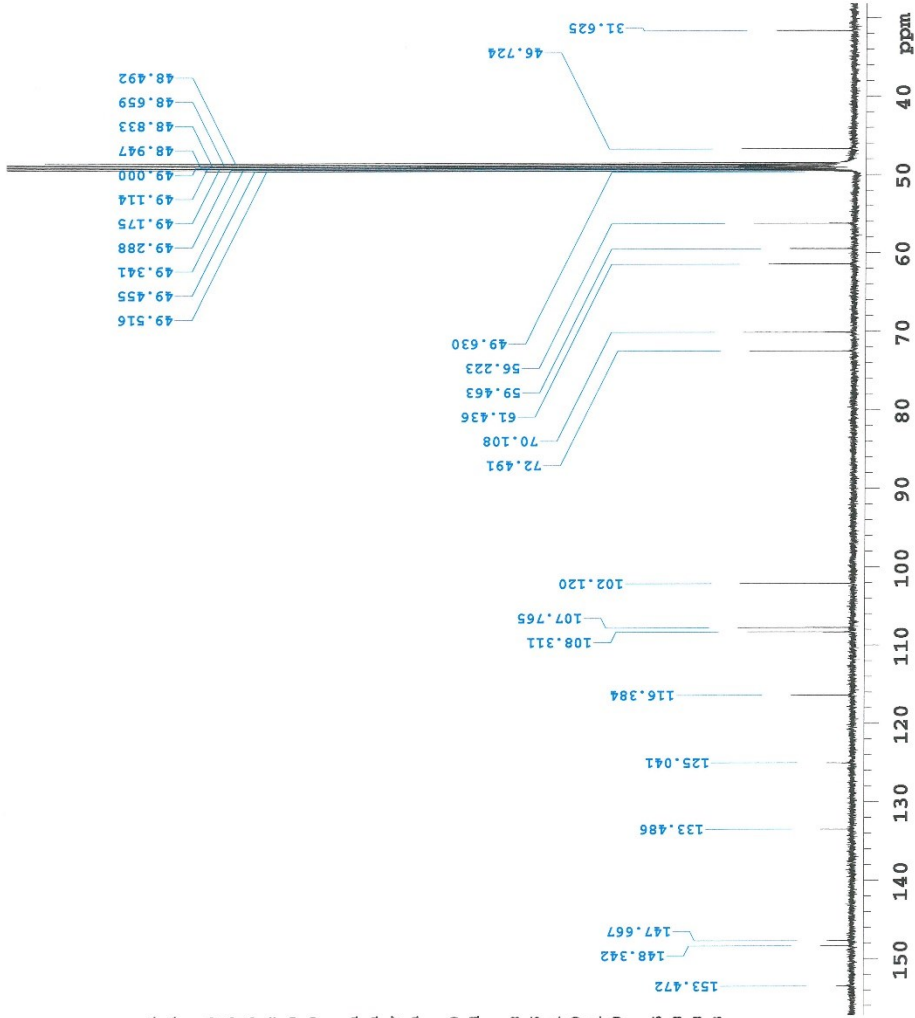
¹³C NMR

NPE25-F-51B

exp31 CARBON

```

SAMPLE PRESTURATION
date Dec 7 2016 satmode n
solvent cd3od wet n
file /home/vmxi/v~ SPECIAL
nmrSYS/data/lucie/~ temp 24.0
Narcissus/NPE-25-F~ gain 30
-51B/Methanol/NPE2~ spin 20
5-F-51B_C.fid hst 0.008
ACQUISITION pw90 11.300
sw 31250.0 alfa 10.000
at 1.049
np 65536 il n
fb 17000 in n
bs 1 dp y
dl 1.000 hs mn
nt 7000
ct 7000 lb 0.50
TRANSMITTER fn not used
tn C13 DISPLAY
sfrq 125.705 sp 3545.8
tof 1913.9 wp 16209.6
tpwr 55 rfl 7779.1
pw 5.650 xfp 6158.9
DECOUPLER xp 46.1
dn H1 lp 0
dof 0 PLOT
dm YXY wc 175
decwave w sc 8
dpwr 41 vs 798
dmf 12346 th nm cdc ph
    
```



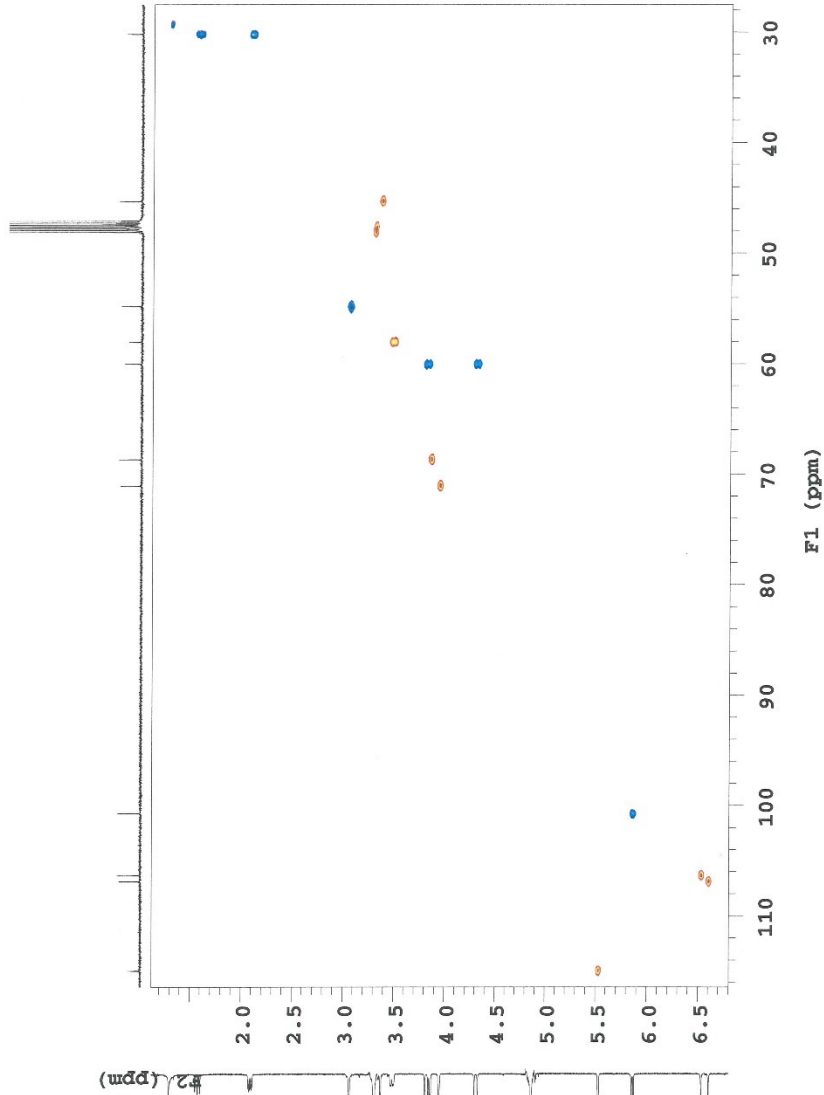
NPE25-F-51B

Sample Name:
OneNMR_W018_calib
Data Collected on:
vnmrs500.faf.cuni.cz-vnmrs500
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
OneNMR_W018_calib_20161101_01
FidFile: NPE25-F-51B_Het

Pulse Sequence: gHSQC
Solvent: cd3od
Data collected on: Dec 7 2016
Temp. 24.0 C / 297.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.150 sec
Width 3125.0 Hz
2D Width 21367.5 Hz
8 repetitions
2 x 512 increments
OBSERVE H1, 499.8651827 MHz
DECOUPLE C13, 125.7006270 MHz
Power 37 dB
on during acquisition
off during delay
W40_OneNMR_W018 modulated
DATA PROCESSING
Gauss apodization 0.069 sec
F1 DATA PROCESSING
Gauss apodization 0.011 sec
F1 size 1024 x 4096
Total time 2 hr, 44 min

Agilent Technologies



gHSQC

NPE25-F-51B

Sample Name:
OneNMR_W018_calib
Data Collected on:
vmrs500.faf.cuni.cz-vmrs500
Archive directory:
/home/vmnr1/vmrs500/data
Sample directory:
OneNMR_W018_calib_20161101_01
FidFile: NPE25-F-51B_LR

Pulse Sequence: gHMBCAD
Solvent: cd3od
Data collected on: Dec 7 2016

Temp. 24.0 C / 297.1 K
Operator: vmnr1

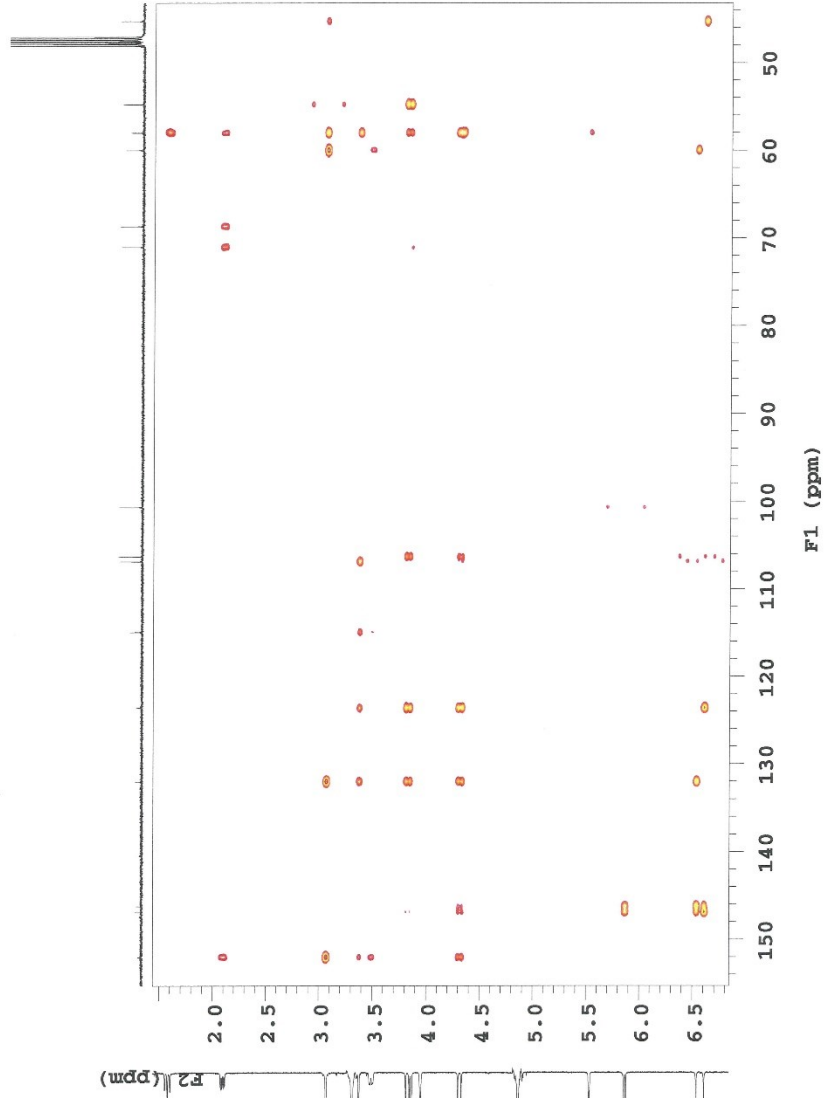
Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.150 sec
Width 3125.0 Hz
2D Width 30165.9 Hz
16 repetitions

2 x 512 increments
OBSERVE H1, 499.8651827 MHz
DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.075 sec
F1 DATA PROCESSING
Gauss apodization 0.007-sec
F1 size 1024 x 4096
Total time 5 hr, 39 min



gHMBC

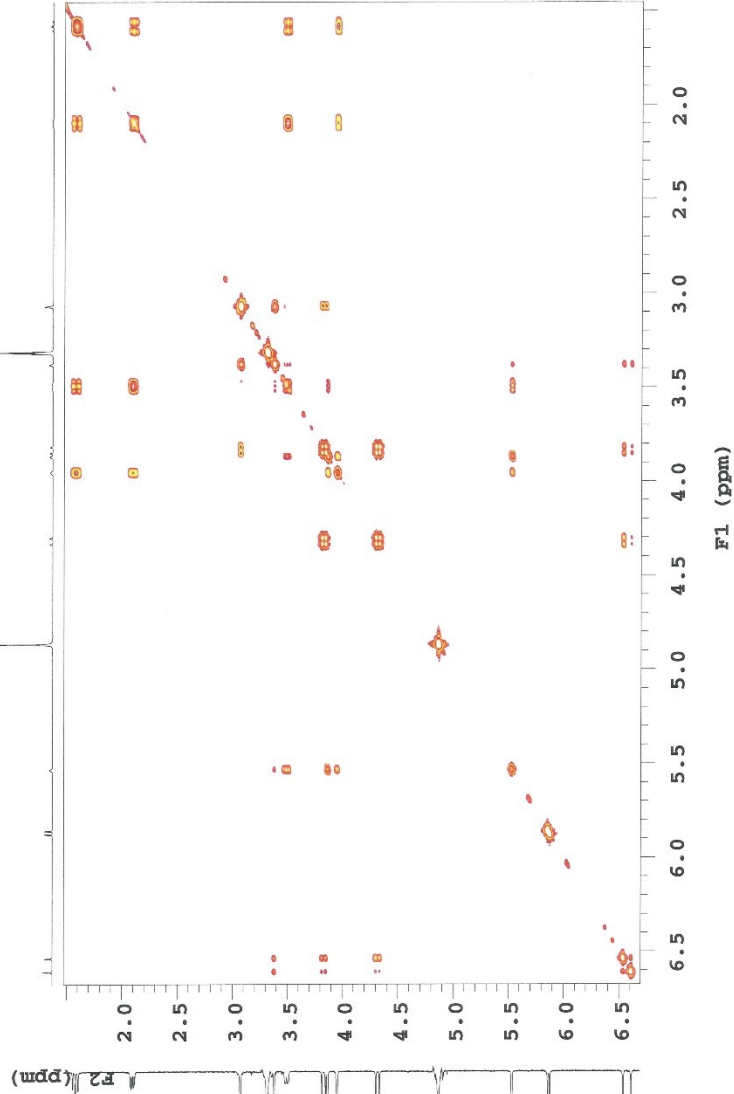


NPE25-F-51B



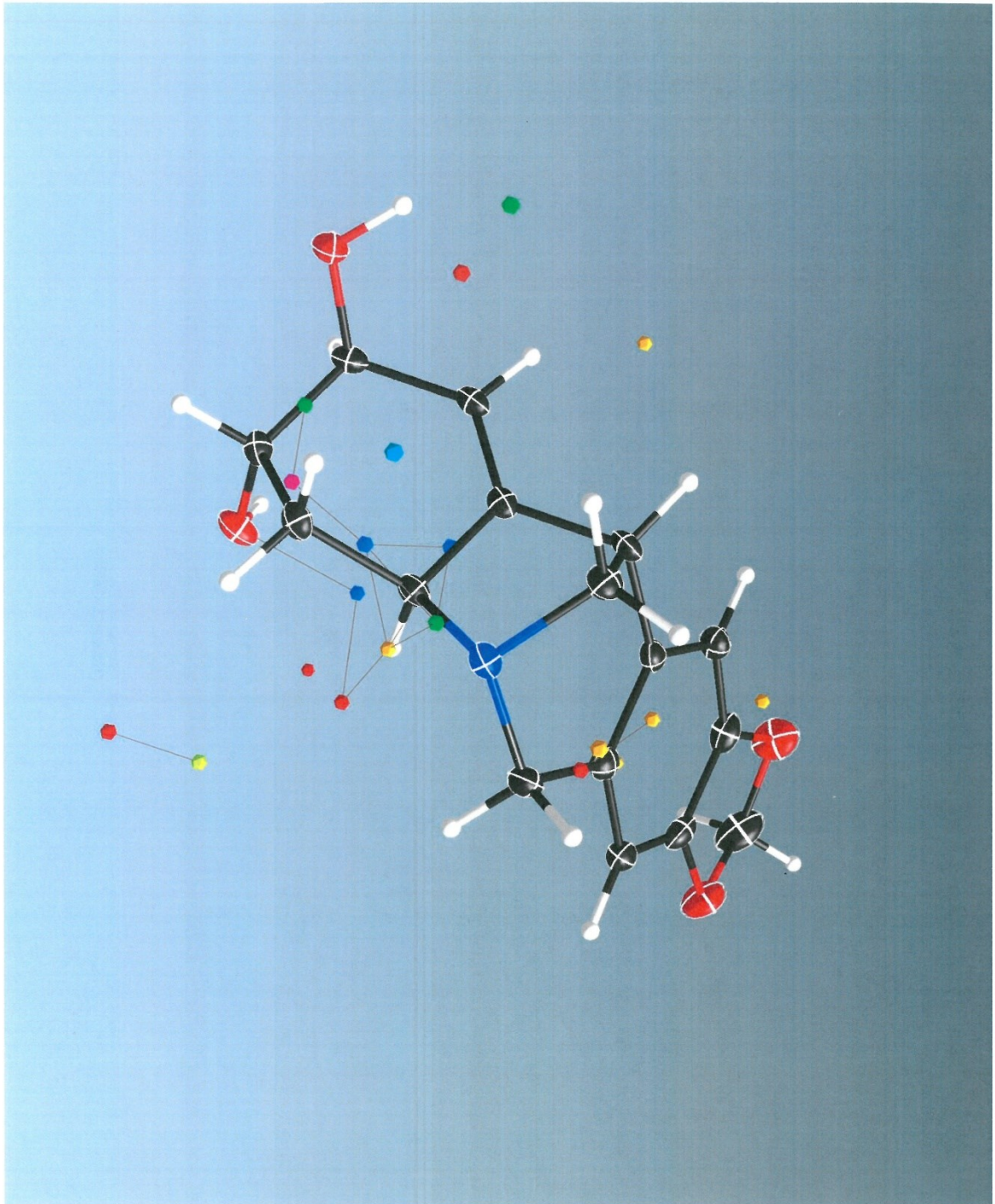
Sample Name:
OneNMR_W018_calib
Data Collected on:
vnmrs500.faf.cuni.cz-vnmrs500
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmr5ys/data
Sample directory:
OneNMR_W018_calib_20161101_01
Fidfile: NPE25-F-51B_Cosy

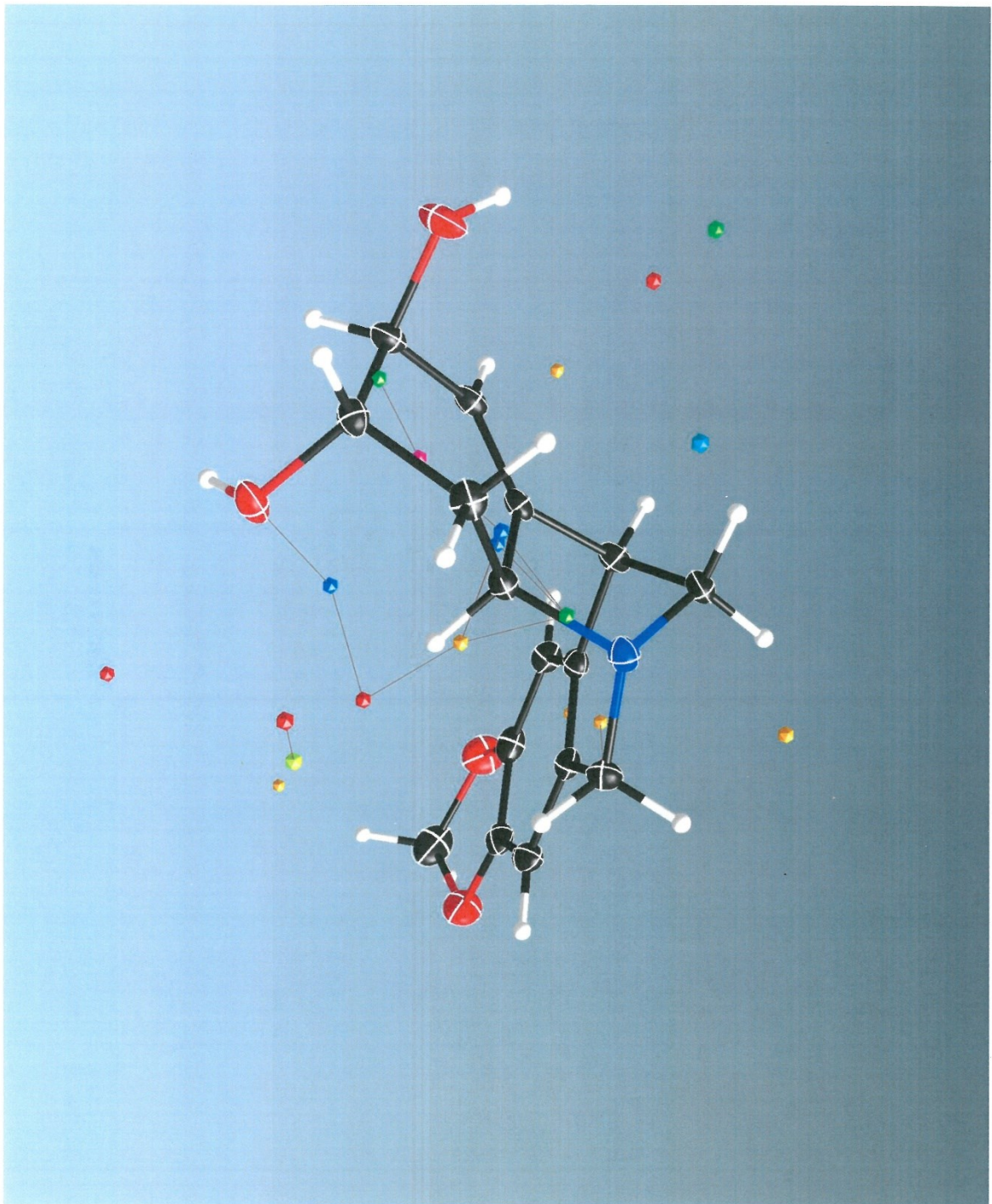
Pulse Sequence: gCOSY
Solvent: cd3od
Data collected on: Dec 7 2016
Temp. 24.0 C / 297.1 K
Operator: vnmr1
Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.150 sec
Width 3125.0 Hz
2D Width 3125.0 Hz
4 repetitions
512 increments
OBSERVE H1, 499.8651827 MHz
DATA PROCESSING
Sq. sine bell 0.075 sec
F1 DATA PROCESSING
Sq. sine bell 0.083 sec
Ft size 4096 x 4096
Total time 43 min



gCOSY

7.1.2 Strukturní rentgenová analýza sloučeniny **NPE25-F-51B**





7.2 NMR spektra sloučeniny **PR-75-97-2**

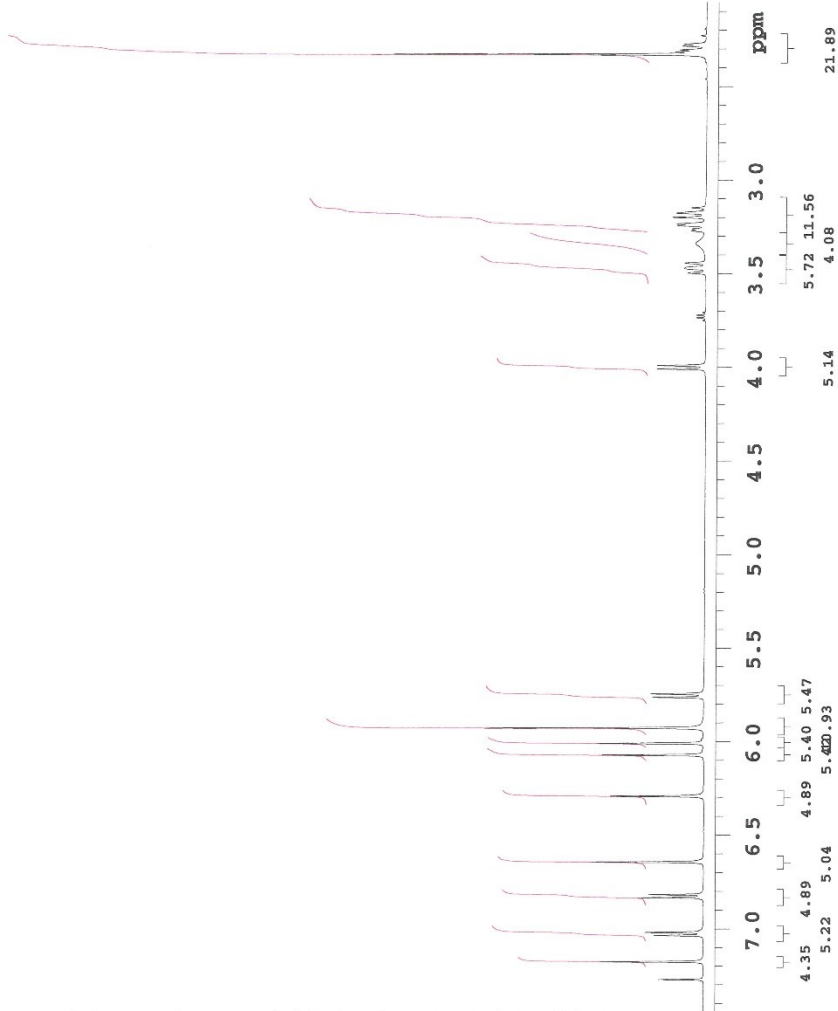
¹H NMR

PR-75-97-2

exp30 PROTON

```

SAMPLE PRESATURATION
date Apr 12 2016 satmode n
solvent cdcl3 wet n
file /home/vmnr1/v- SPECIAL
nmrsts/data/zalchy- temp 25.0
/2017/Lucie/Papave- gain 30
I_Rhoenag/PR-75-97- spin not used
2/PR-75-97-2_Hss.f- hst 0.008
id pw90 9.100
ACQUISITION alfa 10.000
sv 3289.5 FLAGS
at 2.490 il n
np 16384 in n
fb 4000 dp Y
bs 32 hs nn
di 1.000 PROCESSING
nt 8 fn not used
ct 8 DISPLAY
TRANSMITTER sp 1025.7
tn H1 wp 2702.4
sfrq 499.865 xfl -484.4
tof -370.2 xfp 0
tpwr 60 xp 114.1
pw 4.550 lp 0
DECOUPLER PLOT
dn C13 wc 175
dof 0 sc 8
dm nnn vs 142
decrwave W40_OneNMR- th 7
dpwr _W018 ai cdc ph
dmf 37 32258
    
```



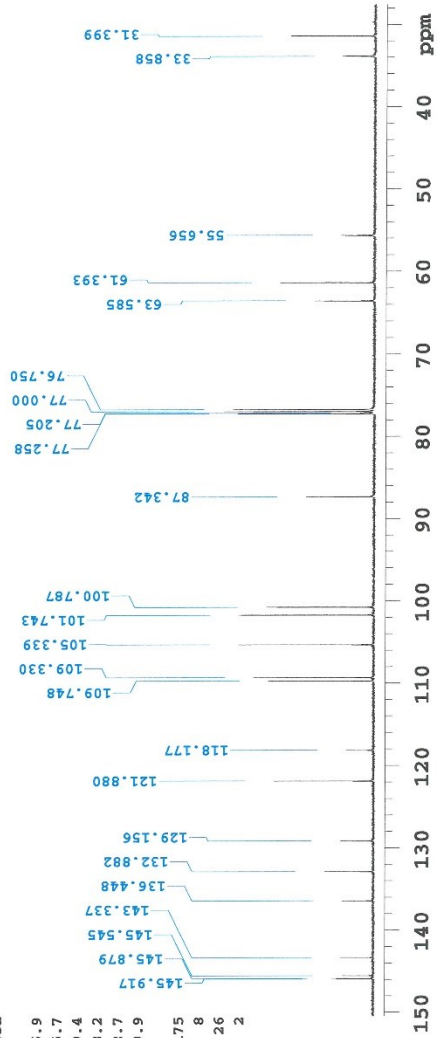
¹³C NMR

PR-75-97-2

exp31 CARBON

```

SAMPLE PRESATURATION
date Apr 12 2016 satmode n
solvent cdcl3 wet n
file /home/vmrl/V- SPECIAL
nmrSYS/data/Zalchy- temp 25.0
/2017/Lucie/Papave- gain 30
r_Rhoas/PR-75-97-2 not used
2/PR-75-97-2_C.Fid hst 0.008
ACQUISITION pw90 11.300
sw 31250.0 alfa 10.000
at 1.049 FLAGS
np 6536 il n
fb 17000 in n
bs 1 dp y
dl 1.000 hs nn
nt 5000 PROCESSING
ct 5000 lb 0.50
TRANSMITTER fn not used
DISPLAY
tn C13 3466.9
sfrc 125.705 sp 15445.7
tof 1913.9 wp 11479.4
tpwr 55 rfl 9678.2
pw 5.650 xfp -182.7
DECOUPLER xp -182.7
dn H1 lp 9.9
dof 0 PLOT 175
dm YYY wc 8
decwave w sc 26
dppwr 41 vs
dmf 12346 th nm cdc ph
    
```



PR-75-97-2

Sample Name:

Data Collected on:
vnmrs500-vnmrs500
Archive directory:

Sample directory:

File: PR-75-97-2_1et

Pulse Sequence: gHSQC

Solvent: cdcl3

Data collected on: Apr 12 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.150 sec
Width 3289.5 Hz
2D Width 21367.5 Hz

8 repetitions
2 x 512 increments

OBSERVE H1, 499.8632133 MHz
DECOUPLE C13, 125.7001318 MHz

Power 37 dB

on during acquisition

off during delay

W40_OneNMR_W018 modulated

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.069 sec

F1 DATA PROCESSING

Resol. enhancement 0.0 Hz

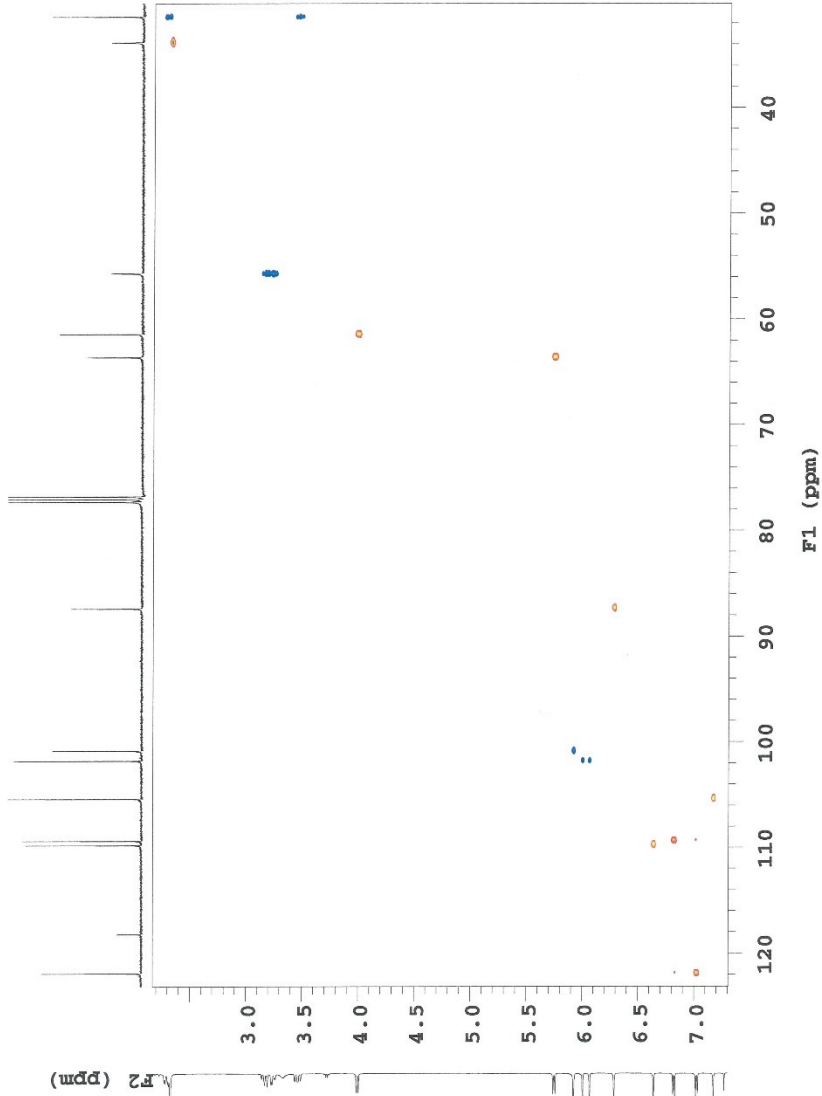
Gauss apodization 0.012 sec

FT size 4096 x 4096

Total time 2 hr, 44 min



gHSQC



PR-75-97-2

Sample Name:

Data Collected on:
vnmrs500-vnmrs500
Archive directory:

Sample directory:

F1File: PR-75-97-2_IR

Pulse Sequence: gHMBCAD

Solvent: cdcl3

Data collected on: Apr 12 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.150 sec

Width 3289.5 Hz

2D Width 30165.9 Hz

16 repetitions

2 x 512 increments

OBSERVE HL, 499.8632133 MHz

DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.075 sec

F1 DATA PROCESSING

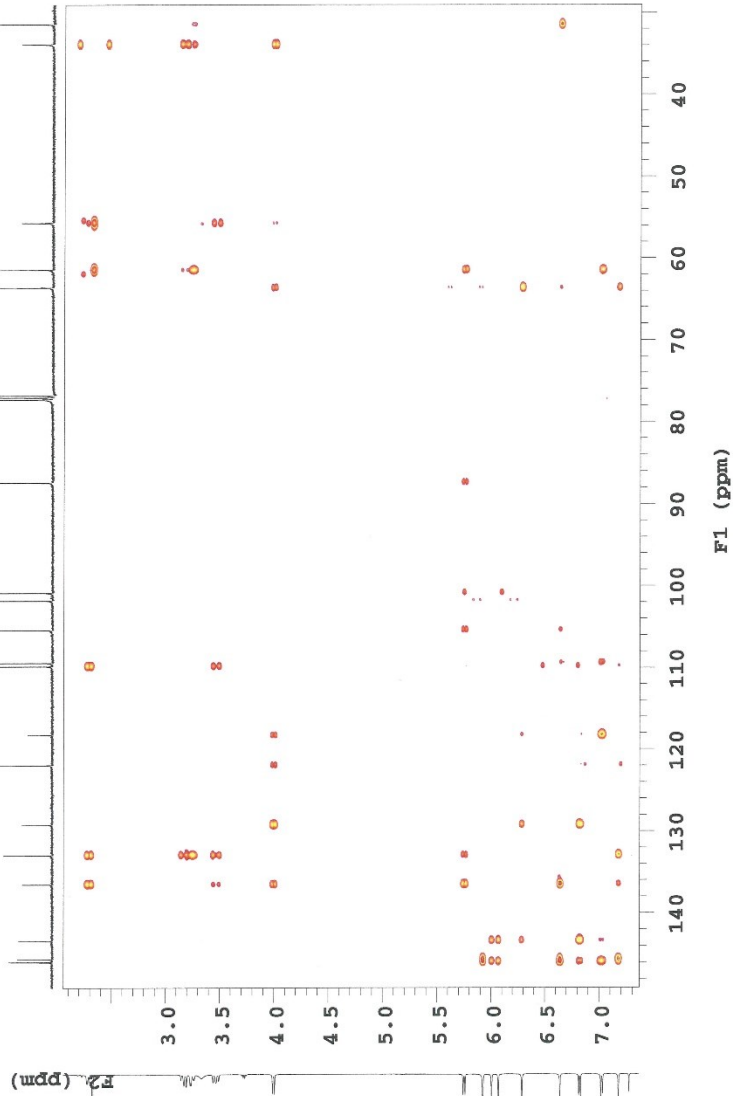
Gauss apodization 0.008 sec

Ft size 4096 x 4096

Total time 5 hr, 39 min



gHMBC



PR-75-97-2

Sample Name:

Data Collected on:
vnmrs500--vnmrs500
Archive directory:

Sample directory:

F1: PR-75-97-2_Cosy

Pulse Sequence: gCOSY

Solvent: cdc13

Data collected on: Apr 12 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.150 sec

Width 3289.5 Hz

2D Width 3289.5 Hz

4 repetitions

512 increments

OBSERVE H1, 499.8632133 MHz

DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.075 sec

F1 DATA PROCESSING

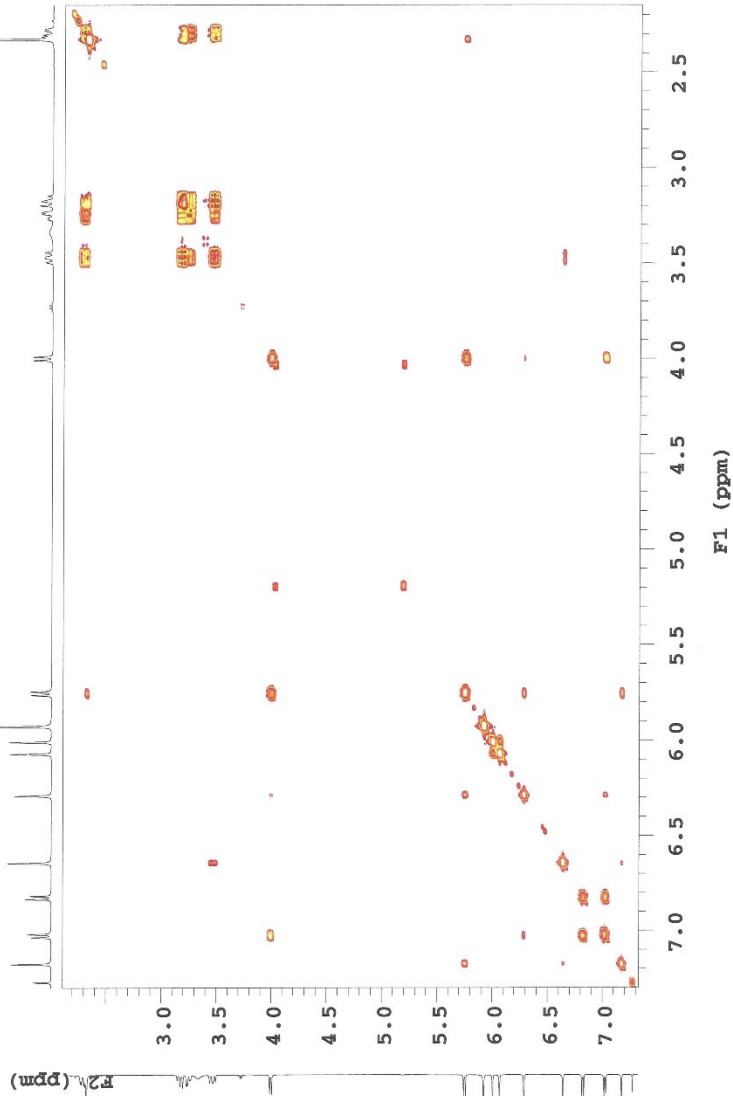
Sq. sine bell 0.077 sec

Ft size 4096 x 4096

Total time 43 min



gCOSY



7.3 NMR spektra sloučeniny **PR-Et2O-9-5-2**

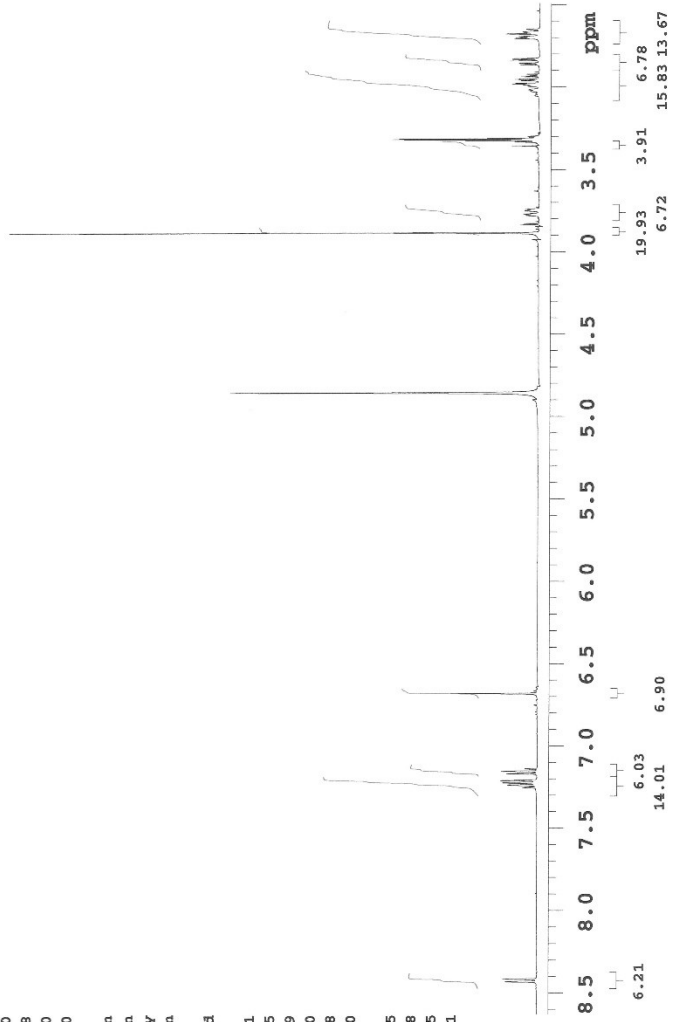
¹H NMR

PR-Et20-9-5-2

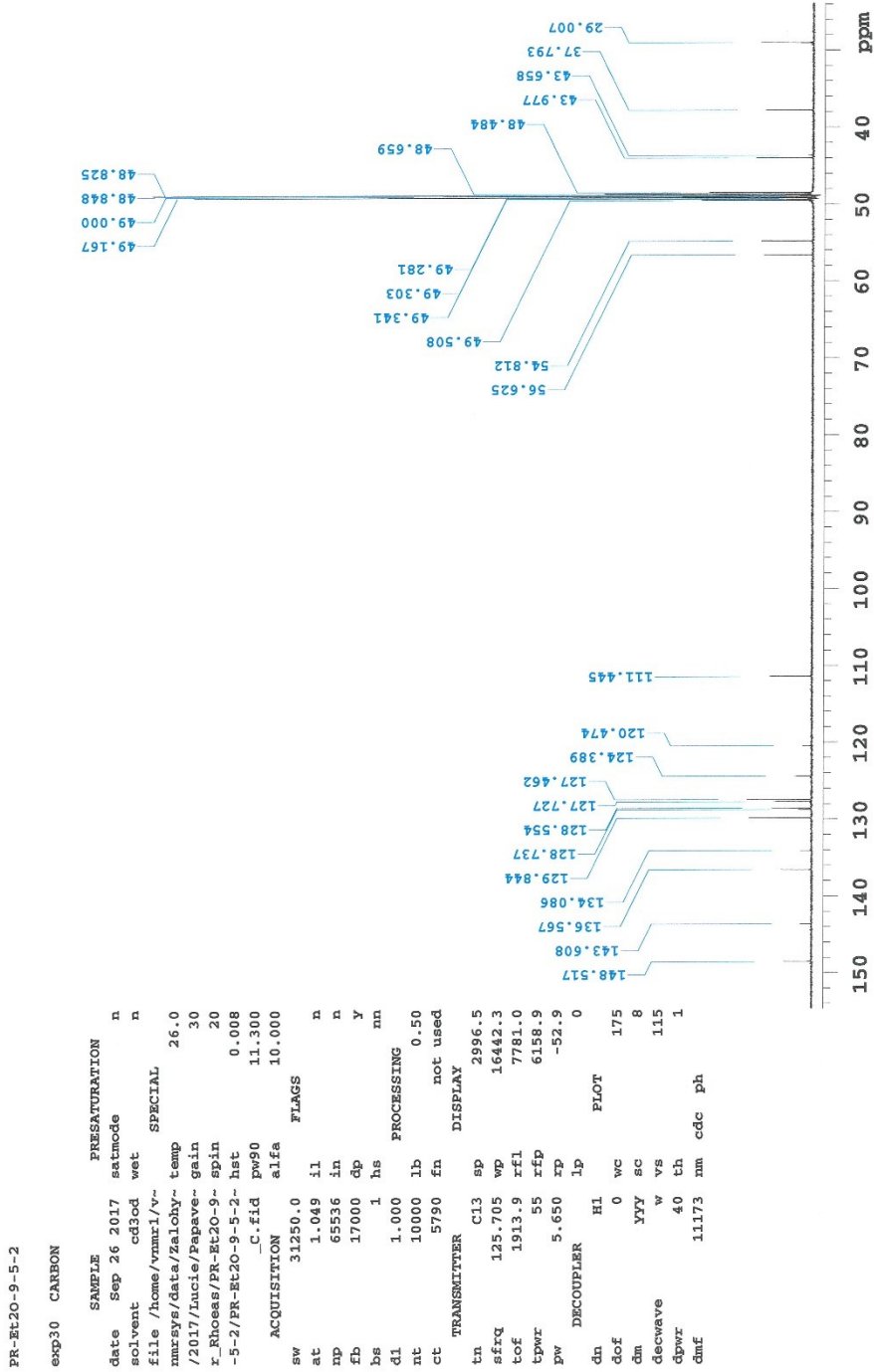
exp30 PROTON

```

SAMPLE PREPARATION
date Sep 26 2017 satmode n
solvent cd3cd wet n
file /home/vmmx1/v- SPECIAL
nmrsvs/data/zalchyl- temp 26.0
/2017/Lucile/Papave- gain 38
x_Rhodes/PR-Et20-9- spIn 20
-5-2/PR-Et20-9-5-2- hst 0.008
_hss.fid pw90 9.100
ACQUISITION alfa 10.000
sw 3811.0 FLAGS
at 2.150 il n
np 16384 in n
fb 4000 dp Y
bs 32 hs m
dl 1.000 PROCESSING
nt 8 fn not used
ct 8 DISPLAY
TRANSMITTER sp 1245.1
tn H1 wp 3068.5
sfrq 499.868 rfl -518.9
tof -75.0 rfp 0
tpwr 60 tp 57.8
pw 4.550 lp 0
DECOUPLER PLOT
dn C13 wc 175
dof 0 sc 8
dm nnn vs 45
decwave W40_OneNMR- th 11
_dpwr _W018 ai cdc ph
dmf 37
32258
    
```



¹³C NMR



PR-ET20-9-5-2

Sample Name:

Data Collected on:
vnmrs500.faf.cuni.cz-vnmrs500
Archive directory:

Sample directory:

FidFile: PR-ET20-9-5-2_Het

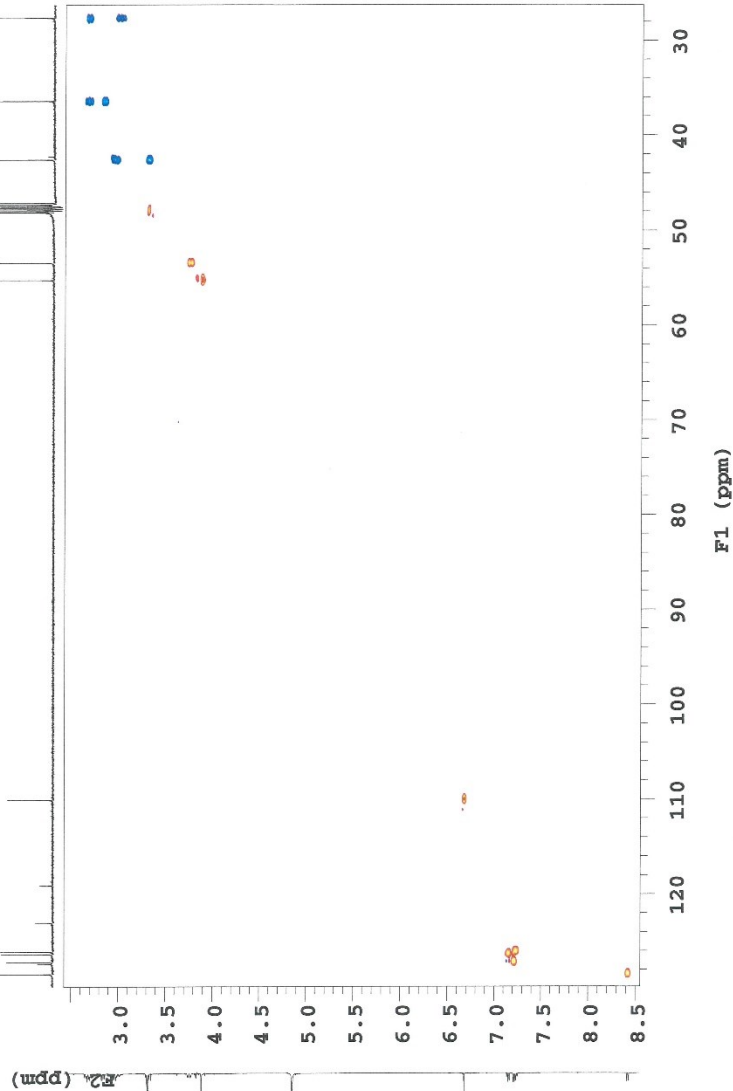
Pulse Sequence: gHSQCAD
Solvent: cd3od
Data collected on: Sep 26 2017

Temp. 26.0 C / 299.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.450 sec
Width 3811.0 Hz
2D Width 25141.4 Hz
8 repetitions
2 x 512 increments
OBSERVE H1, 499.8651827 MHz
DECOUPLE C13, 125.7025124 MHz
Power 37 dB
on during acquisition
off during delay
W40_OneNMR_W018 modulated
DATA PROCESSING
Gauss apodization 0.069 sec
F1 DATA PROCESSING
Gauss apodization 0.009 sec
FT size 2048 x 4096
Total time 2 hr, 44 min



gHSQC



PR-Et2O-9-5-2

Sample Name:

Data Collected on:
vnmrs500.faf.cuni.cz-vnmrs500
Archive directory:

Sample directory:

F1dFile: PR-Et2O-9-5-2_LR

Pulse Sequence: gHMBCAD

Solvent: cd3od

Data collected on: Sep 26 2017

Temp. 26.0 C / 289.1 K

Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.150 sec

Width 8012.8 Hz

2D Width 30165.9 Hz

16 repetitions

2 x 512 increments

OBSERVE H1, 499.8651827 MHz

DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.075 sec

F1 DATA PROCESSING

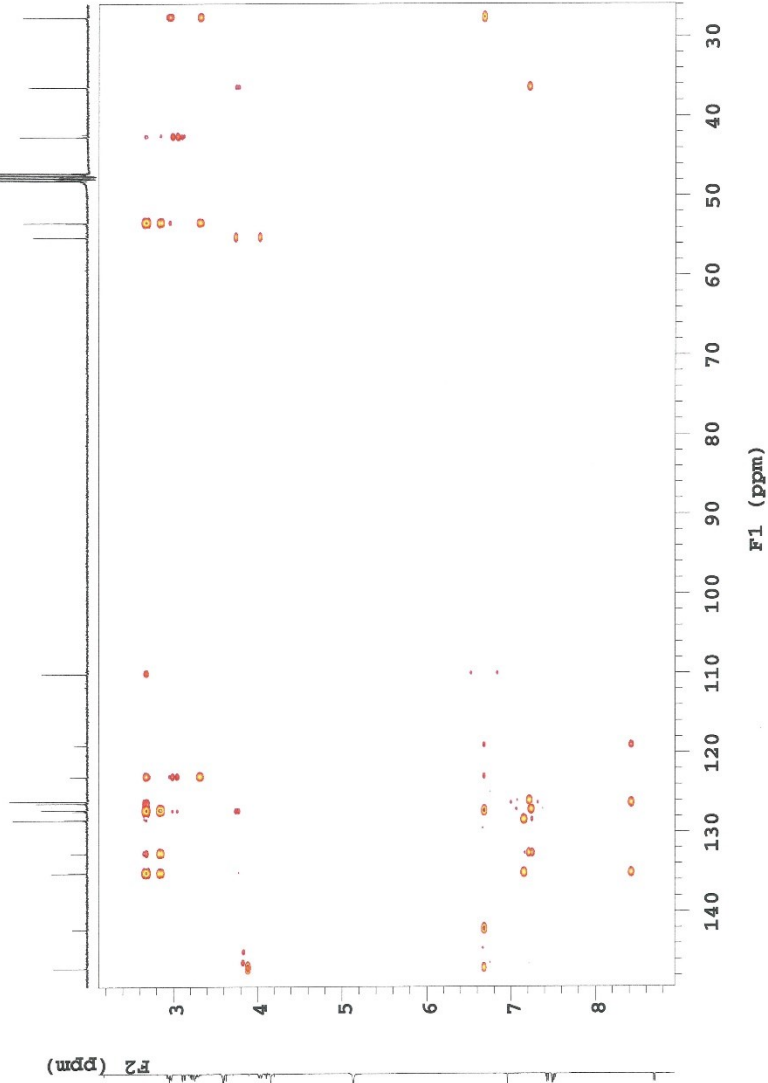
Gauss apodization 0.007 sec

FT size 4096 x 4096

Total time 5 hr, 39 min



gHMBC



PR-Et20-9-5-2

Sample Name:

Data Collected on:
vnmrs500.fsf.cuni.cz-vnmrs500
Archive directory:

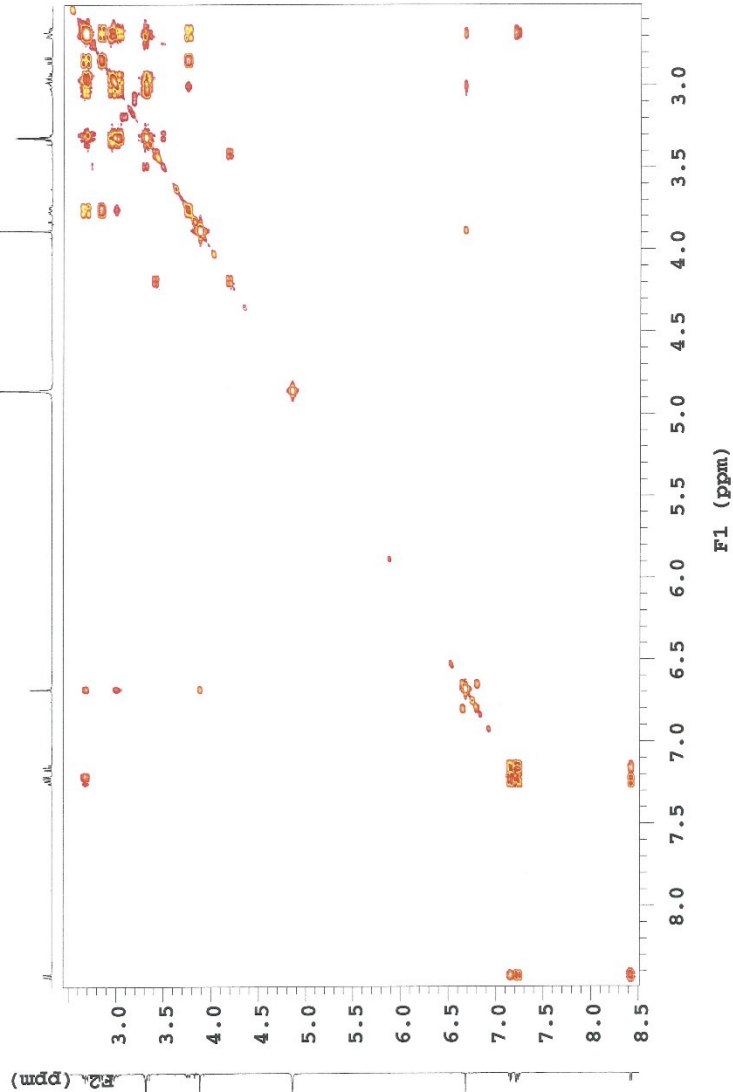
Sample directory:

File: PR-Et20-9-5-2_Cosy

Pulse Sequence: gCOSY
Solvent: cd3od
Data collected on: Sep 26 2017

Temp. 26.0 C / 299.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.150 sec
Width 3811.0 Hz
2D Width 3811.0 Hz
4 repetitions
512 increments
OBSERVE F1, 499.8651827 MHz
DATA PROCESSING
Sg. sine bell 0.075 sec
F1 DATA PROCESSING
Sg. sine bell 0.068 sec
F1 size 4096 x 4096
Total time 43 min



gCOSY