

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA ANORGANICKÉ A ORGANICKÉ CHEMIE



RIGORÓZNÍ PRÁCE

Využití NMR při strukturní analýze látek izolovaných z *Corydalis cava* (Fumariaceae) a *Eschscholtzia californica* (Papaveraceae)

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

Za všestrannou a obětavou pomoc, cenné rady a připomínky při vypracování rigorózní práce děkuji Doc. PharmDr. Jiřímu Kunešovi, CSc. a Ing. Lucii Cahlíkové, Ph.D.

OBSAH

1. Abstrakt	5
2. Úvod	7
2.1. Corydalis cava	7
2.2. Obsahové látky Corydalis cava	8
2.3. Využití Corydalis cava	11
2.4. Eschscholtzia californica	12
2.5. Obsahové látky Eschscholtzia californica	13
2.6. Využití Eschscholtzia californica	18
3. Cíl práce	19
4. Výsledky s komentářem	20
4.1. Použité experimentální postupy	20
4.2. Pokročilé NMR experimenty	21
4.3. LC - 1	22
4.4. LC - 8D	31
4.5. LC - 25	40
5. Závěr	49
6. Literatura	50
7. Přílohy	52
7.1. NMR spektra sloučeniny LC - 1	52
7.2. NMR spektra sloučeniny LC - 8D	58
7.3. NMR spektra sloučeniny LC - 25	64

1. ABSTRAKT

Rigorózní práce je věnována určení struktury neznámých látek.

Na Katedře farmaceutické botaniky a ekologie Farmaceutické fakulty v Hradci Králové je úspěšně prováděna izolace alkaloidů z rostlin *Corydalis cava* z čeledi Fumariaceae a *Eschscholtzia californica* z čeledi Papaveraceae. Byla izolována celá řada alkaloidů různých strukturních typů. Některé z nich byly předány do Laboratoře struktury a interakcí biologicky aktivních molekul s žádostí o určení jejich struktury. Cílem rigorózní práce byla identifikace tří neznámých vzorků pomocí NMR analýzy.

U neznámých sloučenin byla na základě provedených NMR experimentů (^1H - NMR, ^{13}C - NMR, DEPT, ghmbc, ghsqc, ghmqfops a dpfgnoe) určena jejich struktura. Ta byla u jedné sloučeniny potvrzena na základě srovnání s údaji uvedenými v literatuře. Zbývající sloučeniny dosud v literatuře popsány nebyly. Identifikované sloučeniny patří mezi isochinolinové alkaloidy. Jedná se o *3-(1-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-1-yl)ethyl)-2,6-dimethoxyfenol*, *4-hydroxy-3,6-methoxy-N-methylmorfinan-7-on* (alkaloid OR1) a *3-(6,7-dimethoxyisochinolin-1-yl)-6,7-dimethoxy-3-methylisobenzofuran-1(3H)-on*.

ABSTRACT

This Rigorous work is dedicated to the determination of the structure of unknown substances.

The isolation of alkaloids from a *Corydalis Cava* plant (Fumariaceae) and from an *Eschscholtzia Californica* plant (Papaveraceae) is carried out successfully at the Department of Pharmaceutical Botanic and Ecology of the Pharmaceutical Faculty in Hradec Králové. A large number of alkaloids of several structural types was isolated there. Some of them were passed to the Laboratory of the structure and interaction of the biological active molecules along with the request for the structure analysis. The main object of this Rigorous work was the identification of three of unknown subjects by the help of NMR analysis.

The structures of unknown substances were identified on the basis of the NMR experiments (^1H - NMR, ^{13}C - NMR, DEPT, ghmbc, ghsqc, ghmqfcops a dpfgnoe). One structure was confirmed based on the comparison with the data provided in the subject publications. The remaining compounds haven't been described in the literature yet. Now identified substances belong to isochinoline alkaloids. Namely, it is *3-(1-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinolin-1-yl)ethyl)-2,6-dimethoxyphenole*, *4-hydroxy-3,6-methoxy-N-methylmorphinan-7-one* (alkaloid OR1) and *3-(6,7-dimethoxyisoquinolin-1-yl)-6,7-dimethoxy-3-methylisobenzofuran-1(3H)-one*.

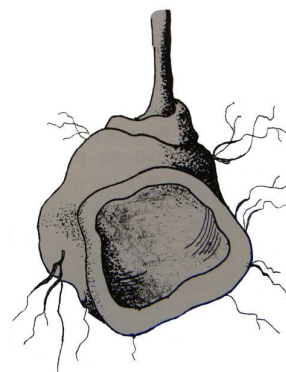
2. ÚVOD

2.1. Corydalis cava

Dymnivka dutá - *Corydalis cava* (L.) Schw. et Koerte z čeledi Fumariaceae je vytrvalá bylina rostoucí hlavně ve střední Evropě. Severně se vyskytuje až po jižní Švédsko¹. U nás roste roztroušeně, zejména v teplejších krajích. Patří k rostlinám hájů a světlých lesů, vyskytuje se i v křovinách a na lukách². S oblibou roste na kyprých, výživných hlinitých půdách s mulovou formou humusu³. Občas se dymnivka dutá vysazuje v zahradách, a to jako dekorativní bylina v polostínu pod stromy³.

Dymnivka dutá dosahuje výšky 15 - 30 cm⁴. Má zprvu kulovitou, později odspodu dutou až nálevkovitou hlízu². Z podzemní hlízy vyrůstá přímá lodyha, která je bez přízemní šupiny. Lodyha nese dva střídavé listy⁵. Listy jsou sivě zelené, řapíkaté, v obrysu široce trojboké, čepel je dvakrát trojčetná, lístky jsou obvejčité, hluboce laločnaté až dělené, tupé nebo špičaté⁴. Dymnivka kvete v březnu až květnu³. Květy jsou uspořádány v koncovém mnohokvětém hroznu, obsahujícím 10 - 20 květů^{3,4}. Květy jsou žlutobílé, nebo špinavě růžovofialové se zakřivenou ostruhou. Podpírají je celokrajné listeny vejčitého tvaru^{2,5}. Plody jsou až 25 mm dlouhé tobolky pozvolna zúžené v přímý zobánek⁴. Tobolka obsahuje několik černých semen². Semena mají výživný přívěsek, který požírají mravenci a ti také semena rozšiřují⁶.

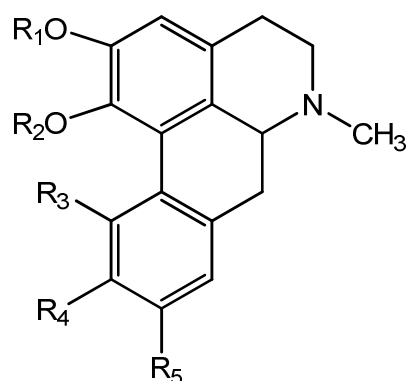
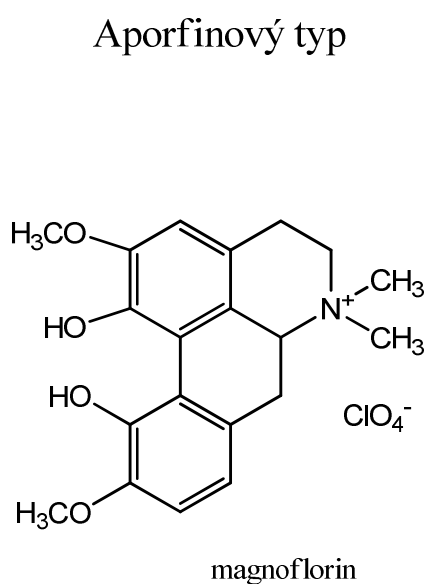
Latinský rodový název rostliny se odvozuje z řeckého *korydalos* = chocholouš (*korys* = přilba) pro podobnost vzhledu květu s chocholou (připomínající přilbu) chocholouše. Druhový název se vztahuje k duté hlíze (*cavus* = dutý). České jméno dymnivky patrně naznačuje vazbu k blízkce příbuznému zemědýmu, případně může souviset s poměrně rychlým zmižením (jako dým) rostliny po odkvětu².



2.2. Obsahové látky Corydalis cava

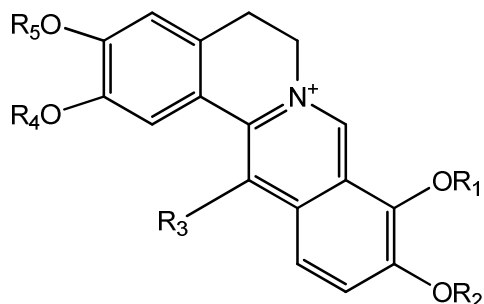
Ve všech částech dymnivky duté, ale hlavně v hlíze, jsou přítomny četné isochinolinové alkaloidy tvořící až 6 % sušiny. Izolované terciární a kvartérní alkaloidy patří do několika strukturních typů a v rostlině se spolu s kyselinou fumarovou hromadí ve specializovaných buňkách tzv. idioblastech. Základním alkaloidem rostliny je bulbokapnin^{2,7,8}.

Doposud izolované alkaloidy z *Corydalis cava* lze rozdělit do 6 strukturních typů: aporfinové alkaloidy, ftalylisochinolinové alkaloidy, protoberberinové a berberinové alkaloidy, protopinové alkaloidy, morfinanové alkaloidy a sekoberberinové alkaloidy. Nejvíce izolovaných alkaloidů se řadí k aporfinovému typu: *bulbokapnin*, *domesticin*, *glaucin*, *isoboldin*, *korydin*, *korytuberin*, *magnoflorin*, *nantenin*, *predicentrin* a k typu protoberberinovému a berberinovému: *apokavidin*, *berberin*, *kanadin*, *kolumbamin*, *coptisin*, *korydalin*, *korybulbin*, *palmatin*, *stylopin*, *tetrahydropalmatin*. K ftalylisochinolinovému typu alkaloidů patří z alkaloidů izolovaných z dymnivky duté *kapnoidin*. Mezi protoberberinové alkaloidy se řadí *allokryptopin*, *korykavin*, *korykavidin* a *protopin*. *Sinoakutin* patří k morfinanovým alkaloidům a *kanadalin* k alkaloidům sekoberberinovým⁸.

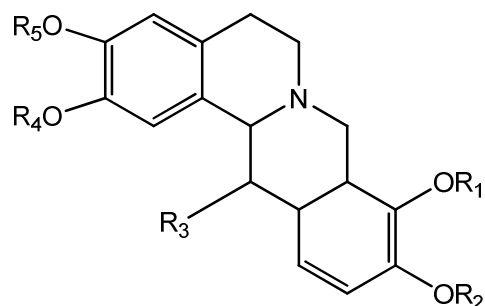


bulbokapnin	$R_1+R_2=CH_2$, $R_3=OH$, $R_4=OCH_3$, $R_5=H$
domesticin	$R_1=CH_3$, $R_2=H$, $R_3=H$, $R_4+R_5=CH_2$
glaucin	$R_1=CH_3$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=OCH_3$, $R_5=OCH_3$
isoboldin	$R_1=CH_3$, $R_2=H$, $R_3=H$, $R_4=OCH_3$, $R_5=OH$
korydin	$R_1=CH_3$, $R_2=H$, $R_3=OCH_3$, $R_4=OCH_3$, $R_5=H$
korytuberin	$R_1=CH_3$, $R_2=H$, $R_3=OH$, $R_4=OCH_3$, $R_5=H$
nantenin	$R_1=CH_3$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=R_5=CH_2$
predicentrin	$R_1=H$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=OCH_3$, $R_5=OCH_3$

Protoberberinový a berberinový typ

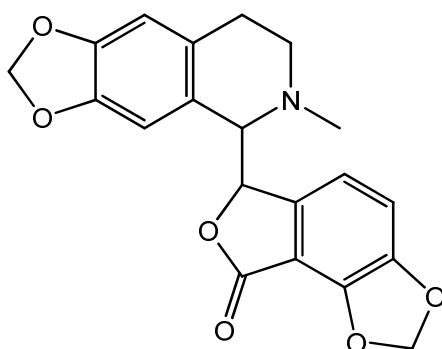


berberin	$R_1=CH_3, R_2=CH_3, R_3=H, R_4+R_5=CH_2$
kolumbamin	$R_1=CH_3, R_2=CH_3, R_3=H, R_4=H, R_5=CH_3$
coptisin	$R_1+R_2=CH_2, R_3=H, R_4+R_5=CH_2$
palmatin	$R_1=CH_3, R_2=CH_3, R_3=H, R_4=CH_3, R_5=CH_3$



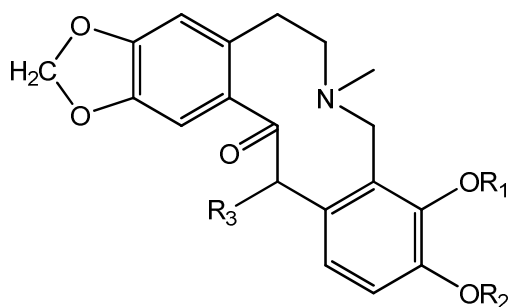
apokavidin	$R_1+R_2=CH_2, R_3=CH_3, R_4=H, R_5=CH_3$
kanadin	$R_1=CH_3, R_2=CH_3, R_3=H, R_4+R_5=CH_2$
korydalin	$R_1=CH_3, R_2=CH_3, R_3=CH_3, R_4=CH_3, R_5=CH_3$
korybulbin	$R_1=CH_3, R_2=CH_3, R_3=CH_3, R_4=CH_3, R_5=H$
stylopin	$R_1+R_2=CH_2, R_3=H, R_4+R_5=CH_2$
tetrahydropalmatin	$R_1=CH_3, R_2=CH_3, R_3=H, R_4=CH_3, R_5=CH_3$

Ftalylisochinolinový typ



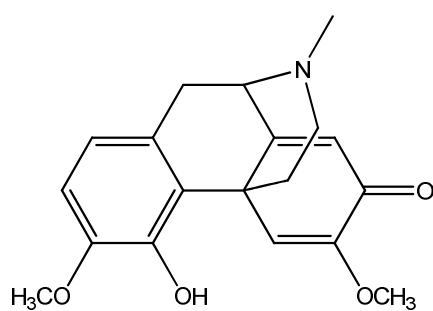
kapnoidin

Protopinový typ



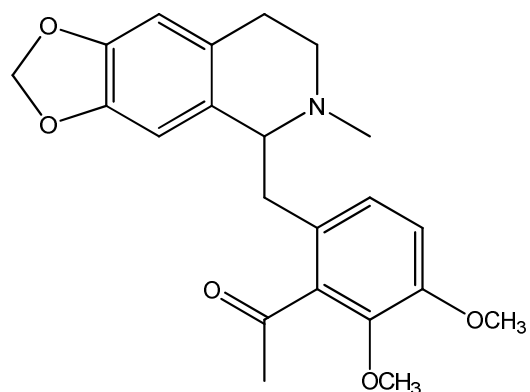
allokryptopin	$R_1=R_2=CH_3, R_3=H$
korykavin	$R_1+R_2=CH_2, R_3=CH_3$
korykavidin	$R_1=R_2=CH_3, R_3=CH_3$
protopin	$R_1+R_2=CH_2, R_3=H$

Morfinanový typ



sinoakutin

Sekoberberinový typ



kanadalin

Další látka izolovaná z *Corydalis cava* je kyselina fumarová. Jiným sekundárním metabolitům přítomným v *Corydalis cava* nebyla doposud věnována významná pozornost⁸.

2.3. Využití Corydalis cava

Dymnivka dutá je stará léčivá rostlina³. Byla známá svým léčivým účinkem při Parkinsonově chorobě a při zvýšeném krevním tlaku⁴. Tato rostlina je v lidovém léčitelství využívána především v Asii na zmírnění bolestí hlavy, kloubů, při gastrointestinálních obtížích a při léčbě chorob CNS⁸.

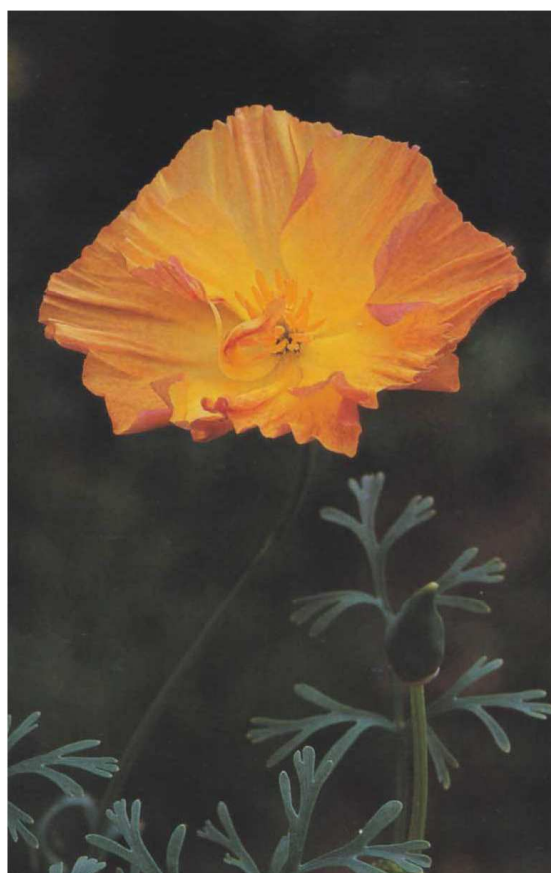
Dymnivka dutá se řadí mezi jedovaté rostliny. Jedovatý je hlavně *bulbokapnin*, vyvolávající stav fyzické a duševní strnulosti u člověka i zvířat. Například končetiny zvířat jeho působením zachovávají často bizarní polohu, do níž je člověk uvede. Otravy lidí nebyly dosud zaznamenány, mj. z důvodu menší dostupnosti hlíz uložených hluboko v zemi. Popsány však byly otravy u zvířat².

2.4. Eschscholtzia californica

Sluncovka kalifornská z čeledi Papaveraceae je jednoletá bylina rostoucí v Kalifornii, kde osidluje pobřežní duny i vyprahlé oblasti⁹. Je dokonce emblémovou „státní“ rostlinou státu Kalifornie¹⁰. Sluncovka divoce roste i v dalších oblastech Severní Ameriky od Oregonu po Mexiko¹¹. Do Evropy byla dovezena na počátku 19. století jako okrasná rostlina^{9,11} a stala se oblíbenou zahradní snadno pěstovatelnou letničkou¹².

Sluncovka kalifornská má těžko vyslovitelné vědecké rodové jméno *Eschscholtzia californica*. Pojmenoval ji německý básník a botanik Adelbert von Chamisso (1781 - 1838) na počest svého přítele fyzika a přírodovědce profesora Johanna Friedricha Eschscholtze (1793 - 1831). Eschscholtz se spolu s Chamissoem účastnil ruské expedice vedené Otto von Kotzebueem, která navštívila kromě jiných států i Kalifornii^{10,11,13,14}.

Sluncovka kalifornská má přímou, 20 - 40 cm vysokou lodyhu s šedozelenými až lehce namodralými listy, které jsou členěné v jemné čárkovité úkrojky. Nálevkovité, nebo mis-kovité oranžové květy jsou 5 - 6 cm široké. Jsou složeny ze čtyř korunních lístků a podobají se máku. Proto se rostlině lidově říká „kalifornský máček“. Rostlina kvete od června do září. Plodem je tobolka, 5 až 8 cm dlouhá. Jako zahradní letnička se sluncovka v Evropě pěstuje už dlouhá léta, ale na svou teplou vlast asi nikdy nezapomene. Květy se totiž otvírají až kolem 10. hodiny dopoledne a zavírají se kolem 16. hodiny a to pouze za plně slunečného dne^{12,15,16,17}.

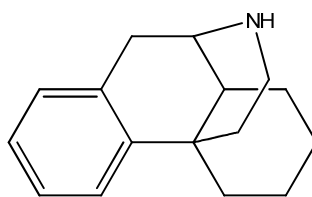


2.5. Obsahové látky Eschscholtzia californica

Eschscholtzia californica obsahuje komplexní směs terciárních a kvartérních isochinolinových alkaloidů s vyšším obsahem v kvetoucí rostlině⁹. Ačkoliv Eschscholtzia obsahuje alkaloidy v celé své rostlině a obsah alkaloidů je v kořenové části vyšší, jako droga se užívá pouze nadzemní část rostliny^{9,18}. Sklízí se kvetoucí nať a podává se nejčastěji ve formě tinktury, nebo čaje¹⁷.

Alkaloidy jsou látky známé desítky let. Alkaloidy (z arab.-řec. al-kal-oid; zásadám podobný) jsou přírodní dusíkaté organické látky zásadité povahy. Řada z nich je prudce jedovatá; často se jich používalo k travičství. Dnes se často jedná o drogy či o cenná léčiva. Mnoho alkaloidů vyniká mohutnými fyziologickými účinky, některé jsou v menších dávkách specifickými léky veliké důležitosti. První alkaloidy byly pro svůj výrazný fyziologický účinek izolovány již od roku 1806. Význam alkaloidů pro rostlinu není jednoznačně vyjasněn. Předpokládá se, že jejich prudký účinek může být ochranou před býložravci a parazity. Dále se uvažuje, že alkaloidy mohou být dusíkatými odpadními látkami rostlinného organismu, ale rostlinám se často dusík nedostává, pak by zřejmě měly umět metabolizovat alkaloidy zpět. Biosynthesa alkaloidů je pro rostlinu energeticky náročná a vyžaduje účast specifických enzymů (aminoxidasy), a proto musí mít nezanedbatelný význam. Ten nám ale prozatím uniká¹⁷.

Isochinolinové alkaloidy představují jednu z největších skupin alkaloidů s více než tisícem známých sloučenin. Jsou to fyziologicky aktivní produkty rostlin více než 40 čeledí, mikroorganismů, zvířat a dokonce i lidí. Isochinolinové alkaloidy se dělí do přibližně 20 skupin zahrnující také dobře známý morfinanový typ^{9,19}.

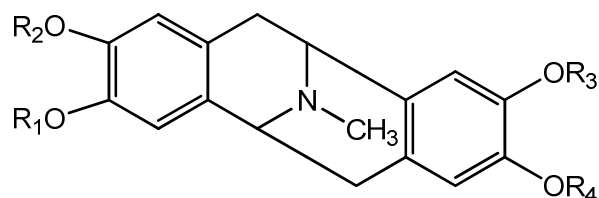
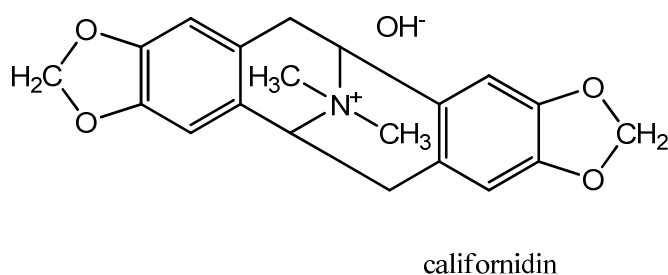


morfinanový typ

Sluncovka kalifornská obsahuje 0.29 - 0.38 % alkaloidů, jejichž chemické složení je velmi dobře známé^{1,9}. Dosud bylo z rostliny izolováno okolo 30 isochinolinových alkaloidů náležících do 6 strukturních typů¹. Největší zastoupení v rostlině mají pavinany, dále pak byly ze sluncovky izolovány alkaloidy struktury protoberberinové, benzyloisochinolinové, aporfionové, benzofenantridinové a protopinové¹. Rozšíření alkaloidů v jednotlivých rostlinných orgánech se značně liší¹¹.

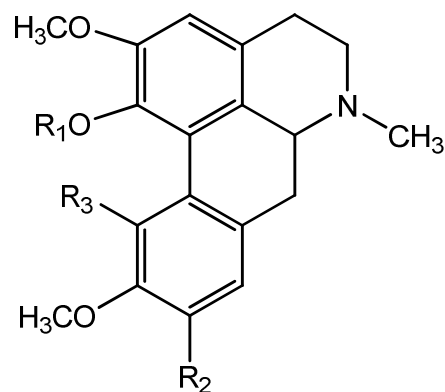
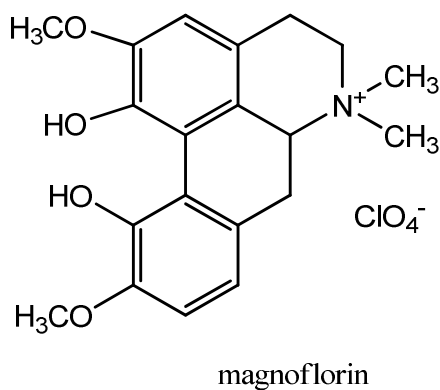
Hlavním alkaloidem izolovaným ze sluncovky kalifornské je kvartérní báze *californidin*, který se řadí do pavinanového typu. Jeho obsah v rostlině činí asi 0.19 - 0.23 % suchého rostlinného materiálu. Ze sluncovky byly izolovány také terciární alkaloidy (0.14 - 0.16 %). Převládajícími sloučeninami mezi terciárními nafenolickými bázemi jsou *eschscholtzin* (pavinanový typ), *allocryptopin* a *protopin* (protopinový typ), které se v rostlině vyskytují v přibližně stejném množství 0.02 – 0.03 %. *Eschscholtzin* je typický pro nadzemní část rostliny. V kořenech se nevyskytuje²⁰. V rostlině se v malých množstvích nachází aporfíny *lauroschoztzin*, *corydin* a *isocorydin*, stejně jako kvartérní benzofenantridiny *sanquinarin* a *chelilitrin*, doprovázené *chelirubinem*, *macarpinem* a *chelilutinem*¹⁸. Kvartérní aporfín *magnoflorin* se v nadzemní části rostliny vyskytuje ve stopách, přestože v kořenech patří k jednomu z dominantních alkaloidů kvartérní frakce²⁰. Ve velmi nepatrných množstvích se vyskytují pavinany *caryachin*, *isonorargemonin*, *norargemonin* a *bisnorargemonin*. Ve stopách v rostlině najdeme kvartérní protoberberiny *berberin*, *coptisin* a *corysamin*¹⁸. V zanedbatelném množství byly ve sluncovce detekovány také benzylochinolinové alkaloidy *escholamin* a *escholamidin*²⁰.

Pavinanový typ



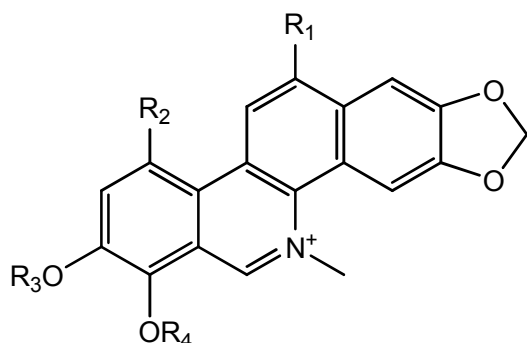
escholtzin	$R_1+R_2=R_3+R_4=CH_2$
karyachin	$R_1+R_2=CH_2, R_3=H, R_4=CH_3$
isokaryachin	$R_1+R_2=CH_2, R_3=CH_3, R_4=H$
norargemonin	$R_1=H, R_2=R_3=R_4=CH_3$
isonorargemonin	$R_1=R_2=R_3=CH_3, R_4=H$
bisnorargemonin	$R_1+R_4=H, R_2=R_3=CH_3$

Aporfínový typ



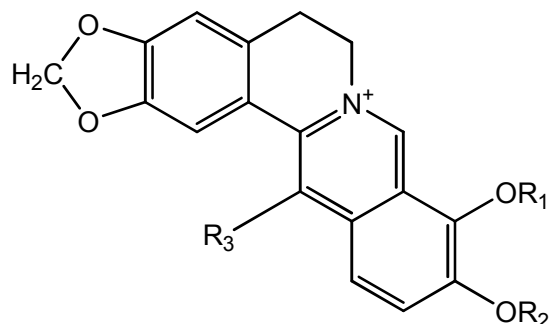
lauroschoztzin	$R_1=CH_3, R_2=OH, R_3=H$
korydin	$R_1=R_2=H, R_3=OCH_3$
isokorydin	$R_1=CH_3, R_2=H, R_3=OH$

Benzofenantridinový typ



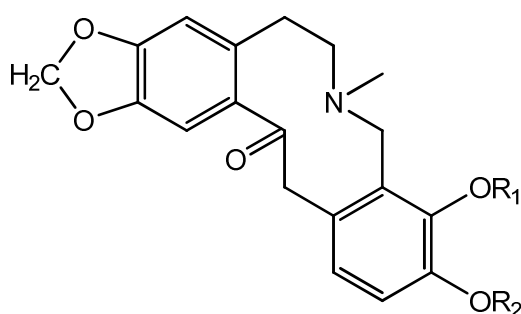
sanguinarin	$R_1=R_2=H, R_3+R_4=CH_2$
chelerythrin	$R_1=R_2=H, R_3=R_4=CH_3$
chelirubin	$R_1=H, R_2=OCH_3, R_3+R_4=CH_3$
chelilutin	$R_1=H, R_2=OCH_3, R_3=R_4=CH_3$
makarpin	$R_1=OCH_3, R_2=OCH_3, R_3+R_4=CH_2$

Protoberberinový typ



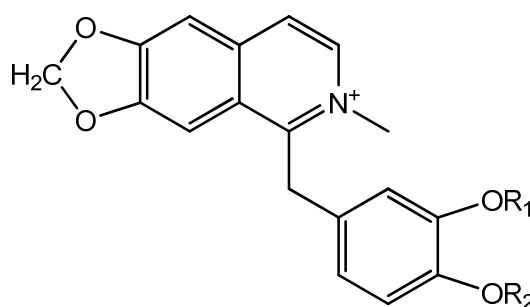
berberin	$R_1=CH_3, R_2=CH_3, R_3=H$
coptisin	$R_1=R_2=CH_2, R_3=H$
corysamin	$R_1=R_2=CH_2, R_3=CH_3$

Protopinový typ



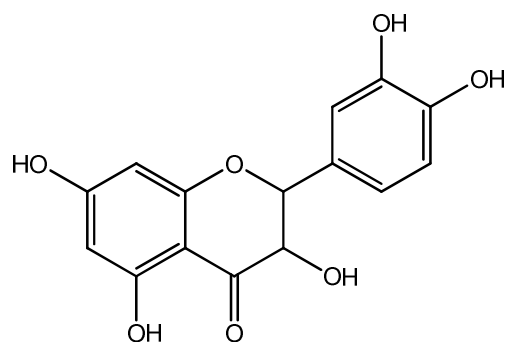
protopin	$R_1+R_2=CH_2$
allokryptopin	$R_1=R_2=CH_3$

Benzylochinolinový typ

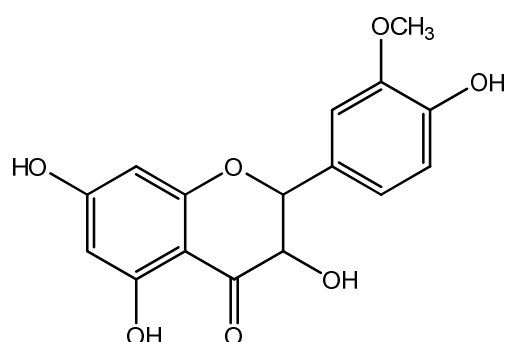


escholamin	$R_1+R_2=CH_2$
escholamidin	$R_1=CH_3, R_2=H$

Dalšími potenciálně aktivními sloučeninami kromě alkaloidů jsou flavonoidy, které se ve sluncovce vyskytují hlavně jako glykosidy *quercetinu* a *isorhamnetinu*²¹.

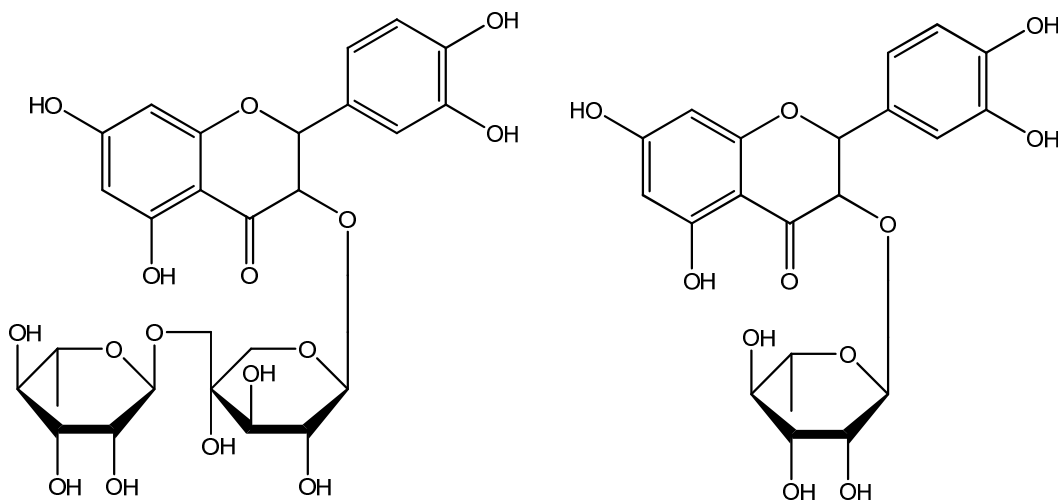


quercetin



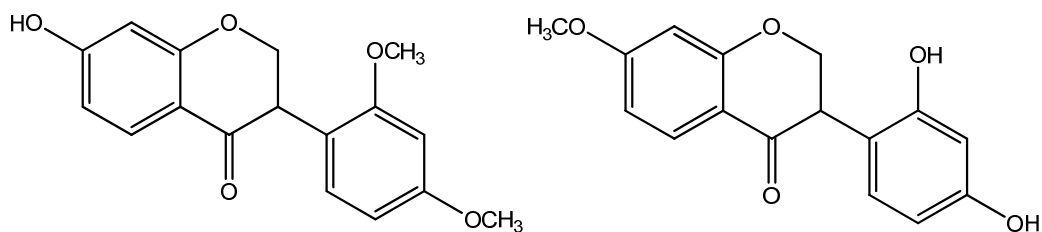
isorhamnetin

Nejdříve byly objeveny flavonolové glykosidy *rutin* (quercetin- β -L-rhamnosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glukosid) a *quercitrin* (quercetin-3-O- α -L-rhamnoside) a isoflavony 2'-methoxyformononetin a 7-methoxy-2',4'-dihydroxyisoflavon²².



rutin

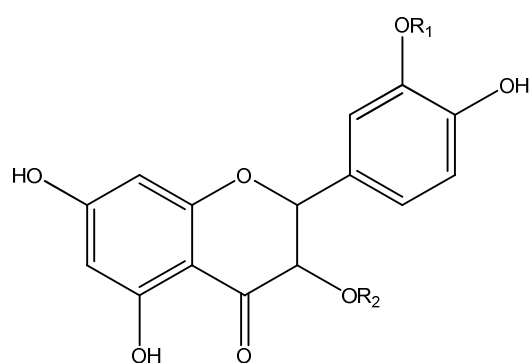
quercitrin



2'-methoxyformononetin

7-methoxy-2',4'-dihydroxyisoflavon

Později byly z rostliny izolovány další 3-O-glykosidy. Jednalo se o tři glykosidy *quercetinu* (jedním z nich byl již dříve izolovaný rutin) a tři glykosidy *isorhamnetinu*²².



	R ₁	R ₂
1	H	β-D-Glc
2	H	α-L-Rha(1-6)-β-D-Glc (<i>rutin</i>)
3	H	α-L-Rha(1-4)- α -L-Rha(1-6)-β-D-Glc
4	CH ₃	β-D-Glc
5	CH ₃	α-L-Rha(1-6)-β-D-Glc
6	CH ₃	α-L-Rha(1-4)- α-L-Rha(1-6)-β-D-Glc

2.6. Využití *Eschscholtzia californica*

V lidové medicíně má nadzemní část sluncovky kalifornské pověst analgeticky, diaforeticky, diureticky, sedativně a spasmolyticky účinné drogy¹. Američtí indiáni a prvotní osadníci ji vnitřně užívali pro její hypnotické a analgetické vlastnosti při bolestech zubů a k uvolnění napětí a zevně ji užívali proti vším na hlavě^{11,17,18}. Hlavní medicínské využití rostliny je jako sedativum a anxiolytikum. Tyto účinky byly potvrzeny v několika farmakologických studiích²¹. Studie také potvrdily nepřítomnost toxických účinků běžných dávek extraktu ze sluncovky kalifornské⁹. Sluncovka kalifornská má podobné účinky jako mák setý, ale jsou mírnější a není návyková, takže ji lze užít i u dětí, kdy může napomoci např. při psychicky podmíněném nočním pomočování¹⁷. Mechanismus sedativního a anxiolytického účinku nebyl dosud objasněn, ačkoliv některé práce naznačují zapojení benzodiazepinových receptorů. Některé aktivity drogy mohou být způsobeny inhibicí degradace katecholaminů inhibicí enzymů dopamin- β -hydroxylasy a monoaminoxidasy²¹. Obecně se soudí, že na aktivitě extraktu z *Eschscholtzia californica* se podílí isochinolinové alkaloidy, zatím to však nebylo potvrzeno žádnou studií s izolovanými sloučeninami⁹.

Droga je jen vzácně předepisována, je však součástí několika hromadně vyráběných přípravků vždy v kombinaci s rostlinnými sedativy¹⁸. Dosud se v Americe a v Evropě užívá jako mírné sedativum především v pediatrii^{11,19}. Ve Francii je využívána při léčbě nervozity¹⁸. Ve vyšších dávkách může způsobit otravu, která se projevuje nevolností, bolestí hlavy a mírně narkotickým stavem¹⁷.

Výjimečně je *Eschscholtzia* využívána jako náhradní droga za marihuanu. Po požití nebo vykouření navozuje mírnou euforii trvající 20 - 30 minut. Pravidelné a dlouhodobé užívání nevyvolává návyk¹¹.

3. CÍL PRÁCE

Cílem mé práce bylo určení struktury 3 látek s kódovým označením LC - 1, LC - 8D a LC - 25. Neznámé látky byly izolovány na Katedře farmaceutické botaniky a ekologie z rostliny *Corydalis cava* z čeledi Fumariaceae a rostliny *Eschscholtzia californica* z čeledi Papaveraceae.

4. VÝSLEDKY S KOMENTÁŘEM

4.1. Použité experimentální postupy

Neznámé látky, jejichž struktura byla v této rigorózní práci určována, byly izolovány na Katedře farmaceutické botaniky a ekologie Ing. Lucií Cahlíkovou, Ph.D., Pharm.Dr. Markem Sekulou v rámci rigorózní práce⁸ a Mgr. Janem Doležalem v rámci diplomové práce²³.

Měření hmotnostních spekter všech látek bylo provedeno na hmotnostním spektrometru Thermo Finningan LCQ Duo (ionizace elektrosprejem, analyzátor iontová past). NMR spektra (¹H, ¹³C, DEPT, ghmbc, ghsqc, ghmqfscps a dpfgnoe) všech látek byla měřena v roztocích CDCl₃ nebo CD₃OD při laboratorní teplotě na přístroji VARIAN – Mercury Vx BB 300 MHz pracujícím při 300 MHz pro ¹H a při 75 MHz pro ¹³C. Chemické posuny byly změřeny jako hodnoty δ v *parts per milion* (ppm) a byly nepřímo vztaženy k tetramethylsilanu (TMS) jako standardu pomocí zbytkového signálu rozpouštědla (7.26 pro ¹H a 77.0 pro ¹³C pro CDCl₃ resp. 3.30 pro ¹H a 49.0 pro ¹³C pro CD₃OD). Data jsou prezentována v následujícím pořadí: chemický posun (δ), integrovaná intenzita (v protonovaných spektrech), multiplicita (s: singlet, d: dublet, t: triplet, q: kvartet, qd: kvartet dubletů, bs: široký singlet, dd: dublet dubletů, m: multiplet), interakční konstanta (Hz) a přiřazení (v některých produktech).

4.2. Pokročilé NMR experimenty

DEPT je experiment, který poskytuje informace o počtu vodíkových atomů vázaných na jednotlivé atomy uhlíku v ^{13}C spektru²⁴. DEPT spektrum obsahuje 4 subspektra – subspektrum se všemi atomy uhlíku, subspektrum obsahující pouze methinové uhlíky, subspektrum methylenových uhlíků a subspektrum methylových uhlíků²⁵.

Experiment ghmqfcops (COSY) se řadí mezi 2D NMR experimenty a je klasickým zástupcem homokorelovaných spekter²⁵. Pro interpretaci spektra jsou důležité mimodiagonální korelace. Pokud mají dva různé atomy vodíku nebo skupiny atomů vodíku mimodiagonální korelaci v experimentu ghmqfcops, musí být tyto atomy vodíku, nebo skupiny atomů vodíku vázány na atomy uhlíku, které jsou ve struktuře dané sloučeniny vázány vedle sebe. Popř. se může jednat o diasterotopické atomy vodíku jedné methylenové skupiny, které mají různé chemické posuny.

Experiment ghsqc je dalším zástupcem 2D NMR experimentů. Řadí se mezi heterokorelovaná spektra. Interpretací ghsqc spekter lze získat informace o tom, které atomy vodíku jsou vázány na jednotlivé atomy uhlíku. Atom vodíku má v experimentu ghsqc korelaci na ten atom uhlíku, na který je ve struktuře neznámé sloučeniny navázaný.

2D NMR experiment ghmbc je zástupcem heterokorelovaných spekter. Pokud má atom vodíku v experimentu ghmbc korelaci na atom uhlíku, je tento atom vodíku ve struktuře neznámé látky navázan nejčastěji ve vzdálenosti tří vazeb od daného atomu uhlíku, na který má korelaci.

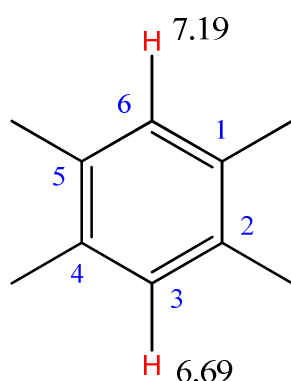
Experiment dpfgnoe se využívá k určení prostorové blízkosti jednotlivých atomů vodíku v případě, že k určení struktury neznámé látky nestačí 2D NMR experimenty.

4.3. LC - 1

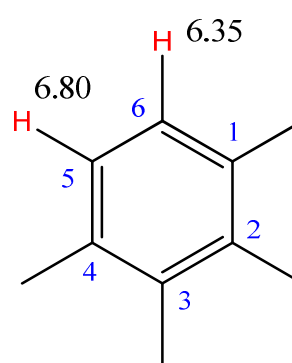
Neznámá sloučenina s kódovým označením LC - 1 byla izolována z rostliny *Corydalis cava* (Fumariaceae).

V ^1H - NMR spektru je patrných 9 signálů s chemickými posuny $\delta = 7.19 - 1.61$ ppm, odpovídajících 24 atomům vodíku. Z integrálu jednotlivých signálů jsem určila, že každý ze signálů s chemickými posuny $\delta = 7.19$ ppm, $\delta = 6.80$ ppm, $\delta = 6.69$ ppm, $\delta = 6.35$ ppm a $\delta = 4.33$ ppm odpovídá jednomu atomu vodíku, signály s chemickým posunem $\delta = 3.71 - 3.63$ ppm a $\delta = 2.70 - 2.61$ ppm odpovídají methylenovým atomům vodíku, signály s chemickým posunem $\delta = 3.91$ ppm, $\delta = 3.82$ ppm a $\delta = 1.61$ ppm odpovídají methylovým skupinám, přičemž signál s chemickým posunem $\delta = 3.91$ ppm odpovídá devíti atomům vodíku.

Podle chemických posunů je zřejmé, že atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 7.19$ ppm, $\delta = 6.80$ ppm, $\delta = 6.69$ ppm a $\delta = 6.35$ ppm jsou atomy vodíku vázané na aromatické jádro. Signály atomů vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.19$ ppm a $\delta = 6.69$ ppm mají tvar singletu. Jedná se tedy o atomy vodíku navázané na jedno aromatické jádro v polohách *para* (viz obr. 1), nebo se může jednat o atomy vodíku vázané na různá aromatická jádra. Signály atomů vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.80$ ppm a $\delta = 6.35$ ppm jsou štěpeny na dublety s interakční konstantou $J = 8.7$ Hz. Jedná se tedy o dva sousední aromatické atomy vodíku (viz obr. 2).



obr.1



obr.2

Singlety s chemickými posuny $\delta = 3.91$ ppm a $\delta = 3.82$ ppm odpovídají celkem 12 atomům vodíku. Jejich chemický posun je typický pro atomy vodíku methoxy skupin navázaných na aromatické jádro. Jedná se tedy o 4 methoxy skupiny.

Signály s chemickými posuny $\delta = 4.33 - 1.61$ ppm náležejí 8 alifatickým atomům vodíku.

V ^{13}C - NMR spektru je patrných 21 signálů atomů uhlíku. Nejvíce odstíněný atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 172.2$ ppm má chemický posun typický pro karbonylový atom uhlíku. 12 atomů uhlíku s chemickými posuny $\delta = 152.5 - 102.6$ ppm náležejí aromatickým atomům uhlíku, které vytvářejí dvě aromatická jádra neznámé sloučeniny. Z toho 4 atomy

uhlíku ($\delta = 152.5$ ppm, $\delta = 151.4$ ppm, $\delta = 150.6$ ppm a $\delta = 147.6$ ppm) mají chemický posun typický pro atomy aromatického jádra, na které je navázán atom kyslíku.

Ve spektru se nachází 3 signály atomů uhlíku s chemickým posunem okolo $\delta = 56$ ppm, jedná se o atomy uhlíku s chemickým posunem $\delta = 56.2$ ppm, $\delta = 56.0$ ppm a $\delta = 55.8$ ppm. Z klasického vodíkového spektra je patrné, že sloučenina obsahuje 4 methoxy skupiny. Atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 60.7$ ppm tedy také náleží methoxy skupině navázané na aromatické jádro.

Zbývající signály s chemickými posuny $\delta = 45.4 - 19.6$ ppm náleží alifatickým atomům uhlíku.

Z MS spektra vyplývá, že neznámá sloučenina má molekulovou hmotnost 371. Zatím jsem určila, že sloučenina obsahuje 21 atomů uhlíku, 24 atomů vodíku a 4 atomy kyslíku (4 methoxy skupiny). Součtem jejich molárních hmotností jsem získala číslo 340 a do celkové molekulové hmotnosti mi chybí 31, což je molární hmotnost jednoho atomu dusíku, jednoho atomu kyslíku a jednoho atomu vodíku. Tento atom vodíku nebyl v ^1H - NMR spektru pozorován, jedná se tedy o atom vodíku navázaný na heteroatom. Sumární vzorec neznámé sloučeniny bude $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_5$.

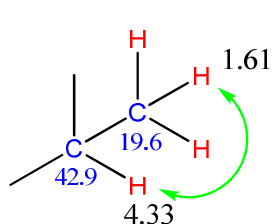
Pomocí experimentu ghsqc jsem určila přiřazení atomů uhlíku k jednotlivým atomům vodíku.

C (123.8).....	H(6.80)
C(110.5).....	H(6.69)
C(108.8).....	H(7.19)
C(102.6).....	H(6.35)
C(60.7, 56.2, 56.0, 55.8).....	H(3.91, 3.82)
C(45.4).....	H(3.71 - 3.63)
C(42.9).....	H(4.33)
C(25.8).....	H(2.70 - 2.61)
C(19.6).....	H(1.61)

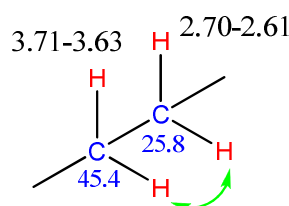
Ze vzájemných korelací v experimentu COSY vyplývá, že aromatické atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 6.80$ ppm a $\delta = 6.35$ ppm se musí ve struktuře neznámé sloučeniny nacházet vedle sebe, což odpovídá mému předpokladu, že leží vedle sebe na jednom aromatickém jádře (viz *obr. 2*). Ostatní aromatické atomy vodíku v experimentu COSY žádnou korelaci nemají, leží tedy izolovaně.

V COSY experimentu je v alifatické části patrná vzájemná korelace atomů vodíku s chemickým posunem $\delta = 4.33$ ppm a $\delta = 1.61$ ppm (viz *obr. 3*) a atomů vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.71 - 3.63$ ppm a $\delta = 2.70 - 2.61$ ppm (viz *obr. 4*), tyto atomy vodíku musí ve struktuře neznámé sloučeniny ležet vedle sebe. Umístění methylové skupiny s chemickým posunem $\delta = 1.61$ ppm vedle atomu uhlíku, na který je navázán atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 4.33$ ppm, odpovídá štěpení signálu této methylové skupiny na dublet s interakční konstantou $J = 7.1$ Hz. Signál atomu vodíku s chemickým posunem $\delta = 4.33$ ppm (na atomu uhlíku $\delta = 42.9$ ppm) je štěpen na kvartet s interakční konstantou $J = 7.1$ Hz třemi

atomy vodíku methylové skupiny. Atomy vodíku náležící methylenovým skupinám s chemickými posuny $\delta = 3.71 - 3.63$ ppm (atom uhlíku $\delta = 45.4$ ppm) a $\delta = 2.70 - 2.61$ ppm (na uhlíku $\delta = 25.8$ ppm) se vzájemně štěpí na multiplety.



obr.3

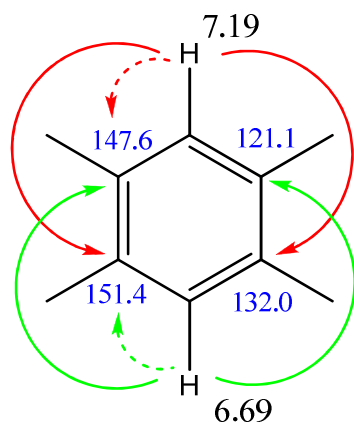


obr.4

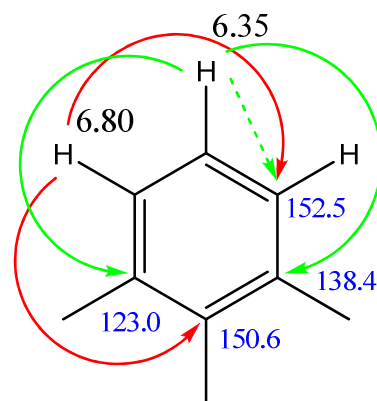
Podle korelací signálů aromatických atomů vodíku a aromatických atomů uhlíku v experimentu ghmbc jsem určila rozmístění aromatických atomů uhlíku na obou aromatických jádrech neznámé sloučeniny.

První aromatické jádro tvoří atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.19$ ppm (vázaný na atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 108.8$ ppm) a $\delta = 6.69$ ppm (atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 110.5$ ppm) v polohách *para* aromatického jádra. Zbývá tedy určit 4 atomy uhlíku v polohách 1, 2, 4 a 5 aromatického jádra. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.19$ ppm má výrazné korelace na atomy uhlíku $\delta = 151.4$ ppm a $\delta = 132.0$ ppm a slabší korelaci na atom uhlíku $\delta = 147.6$ ppm. Atomy uhlíku $\delta = 151.4$ ppm a $\delta = 132.0$ ppm budou na aromatickém jádře umístěny ve vzdálenosti 3 vazeb od atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 7.19$ ppm, tedy v polohách 2 a 4 aromatického jádra. Atom uhlíku $\delta = 147.6$ ppm se bude nacházet poloze 1, nebo 5, tedy ve vzdálenosti 2 vazeb. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.69$ ppm má výrazné korelace na atomy uhlíku $\delta = 147.6$ ppm a $\delta = 121.1$ ppm a slabší korelaci na atom uhlíku $\delta = 151.4$ ppm. Atomy uhlíku $\delta = 147.6$ ppm a $\delta = 121.1$ ppm budou na aromatickém jádře umístěny ve vzdálenosti 3 vazeb od atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 6.69$ ppm, tedy v polohách 1 a 5 aromatického jádra. Atom uhlíku $\delta = 151.4$ ppm se bude nacházet poloze 2, nebo 4, tedy ve vzdálenosti 2 vazeb (viz obr. 5).

Druhé aromatické jádro tvoří atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.80$ ppm (vázaný na atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 123.8$ ppm) a $\delta = 6.35$ ppm (atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 102.6$ ppm) v polohách *ortho* aromatického jádra. Zbývá tedy určit 4 atomy uhlíku v polohách 1, 2, 3 a 4. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.80$ ppm má výrazné korelace na atomy uhlíku $\delta = 152.5$ ppm a $\delta = 150.6$ ppm. Tyto atomy uhlíku budou na aromatickém jádře umístěny ve vzdálenosti 3 vazeb od atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 6.80$ ppm, tedy v polohách 1 a 3 aromatického jádra. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.35$ ppm má výrazné korelace na atomy uhlíku $\delta = 138.4$ ppm a $\delta = 123.0$ ppm a slabší korelaci na atom uhlíku $\delta = 152.5$ ppm. Atomy uhlíku $\delta = 138.4$ ppm a $\delta = 123.0$ ppm budou na aromatickém jádře umístěny ve vzdálenosti 3 vazeb od atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 6.35$ ppm, tedy v polohách 2 a 4 aromatického jádra. Atom uhlíku $\delta = 152.5$ ppm se bude nacházet poloze 1 aromatického jádra, tedy ve vzdálenosti 2 vazeb od atomu vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.35$ ppm (viz obr. 6).



obr.5

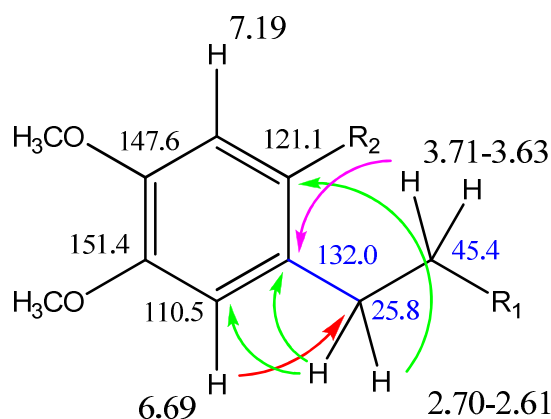


obr.6

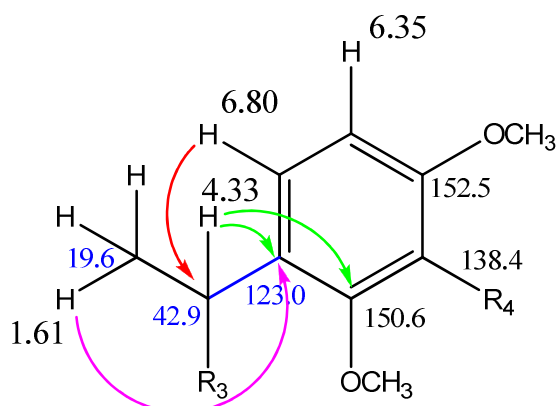
Již jsem určila, že aromatické atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 152.5$ ppm, $\delta = 151.4$ ppm, $\delta = 150.6$ ppm a $\delta = 147.6$ ppm jsou substituovány methoxy skupinami.

V dalším kroku jsem určila napojení alifatických dvouuhlíkatých řetězců na aromatická jádra. Aromatický atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.69$ ppm má v experimentu ghmbc korelaci na alifatický atom uhlíku $\delta = 25.8$ ppm. Tento alifatický atom uhlíku musí být na aromatické jádro navázán tak, aby se nacházel ve vzdálenosti 3 vazeb od aromatického atomu vodíku $\delta = 6.69$ ppm. V poloze 2 a 4 prvního aromatického jádra se nachází atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 132.0$ ppm a $\delta = 151.4$ ppm. Atom uhlíku $\delta = 151.4$ ppm je substituován methoxy skupinou, alifatický atom uhlíku musí být tedy na aromatické jádro navázán přes aromatický atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 132.0$ ppm (viz obr. 7). Napojení alifatického řetězce tvořeného atomy uhlíku $\delta = 25.8$ ppm a $\delta = 45.4$ ppm na aromatické jádro přes atom uhlíku $\delta = 132.0$ ppm potvrzují korelace atomu vodíku $\delta = 2.70 - 2.61$ ppm (atom uhlíku $\delta = 25.8$ ppm) na aromatické atomy uhlíku $\delta = 132.0$ ppm, $\delta = 121.1$ ppm a $\delta = 110.5$ ppm a korelace atomu vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.71 - 3.63$ ppm (atom uhlíku $\delta = 45.4$ ppm) na aromatický atom uhlíku $\delta = 132.0$ ppm.

Podle korelace atomu vodíku $\delta = 6.80$ ppm na atom uhlíku $\delta = 42.9$ ppm v experimentu ghmbc jsem určila, že dvouuhlíkatý alifatický řetězec tvořený atomy uhlíku $\delta = 42.9$ ppm a $\delta = 19.6$ ppm je napojen na druhé aromatické jádro. Na toto aromatické jádro musí být atom uhlíku $\delta = 42.9$ ppm napojen ve vzdálenosti 3 vazeb od atomu vodíku $\delta = 6.80$ ppm, tedy na atom uhlíku $\delta = 123.0$ ppm (viz obr. 8). Navázání atomu uhlíku $\delta = 42.9$ ppm na aromatické jádro přes atom uhlíku $\delta = 123.0$ ppm dokazují také korelace atomu vodíku $\delta = 4.33$ ppm (atom uhlíku $\delta = 42.9$ ppm) na atomy uhlíku $\delta = 150.6$ ppm a $\delta = 123.0$ ppm a korelace atomu vodíku $\delta = 1.61$ ppm (atom uhlíku $\delta = 19.6$ ppm) na atom uhlíku $\delta = 123.0$ ppm.



obr.7

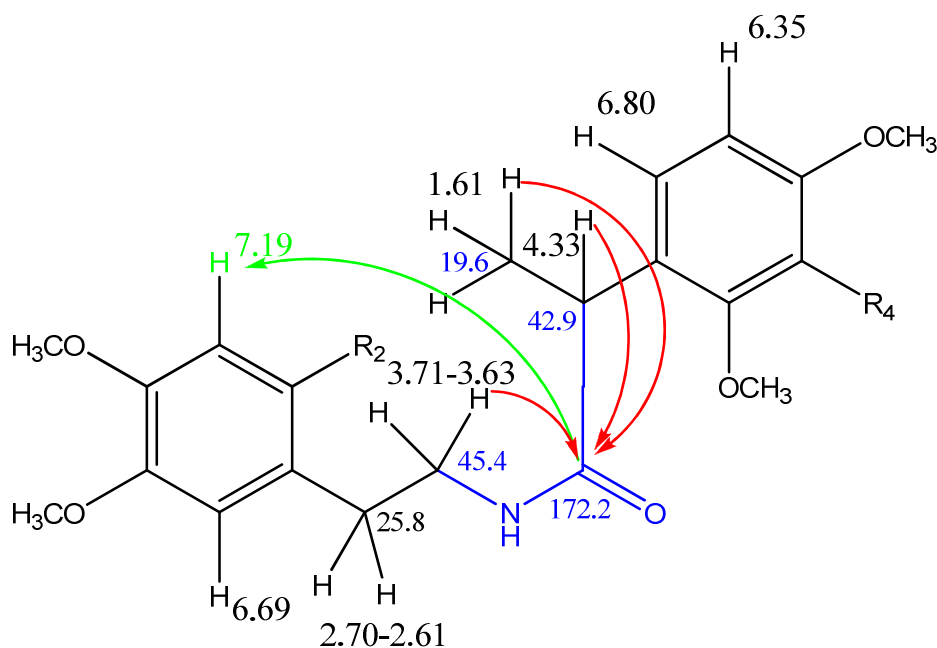


obr.8

Již jsem určila umístění všech atomů uhlíku kromě atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 172.2$ ppm. Chemický posun tohoto atomu uhlíku je typický pro karbonylovou skupinu. Signály karbonylových atomů uhlíku se v ^{13}C spektru nacházejí v oblastech chemických posunů $\delta = 220 - 150$ ppm. Signály aldehydických a ketonických atomů uhlíku jsou více odstíněné a nachází se v oblasti chemického posunu $\delta = 220 - 190$ ppm, karbonylový atom uhlíku karboxylové skupiny a jejích derivátů má chemický posun v oblasti $\delta = 185 - 150$ ppm²⁴. Z toho vyplývá, že atom uhlíku neznámé sloučeniny s chemickým posunem $\delta = 172.2$ ppm nemůže být aldehydický ani ketonický. Může se jednat o atom uhlíku karboxylové kyseliny ($\delta = 185 - 165$ ppm)²⁴, esterové skupiny ($\delta = 175 - 185$ ppm)²⁴, nebo amidické skupiny ($\delta = 175 - 150$ ppm)²⁴. Z hmotnostního spektra jsem již určila, že neznámá sloučenina z heteroatomů obsahuje 5 atomů kyslíku a 1 atom dusíku. 4 atomy kyslíku jsou součástí 4 methoxy skupin navázaných na aromatická jádra. Zbývá tedy 1 atom kyslíku a 1 atom dusíku. Karbonylový atom uhlíku bude tedy v neznámé sloučenině s největší pravděpodobností tvořit amidickou skupinu.

Na atom uhlíku $\delta = 172.2$ ppm jsou pozorovány korelace atomů vodíku navázaných na první aromatické jádro (korelace atomu vodíku $\delta = 3.71 - 3.63$ ppm, navázaném na atomu uhlíku $\delta = 45.4$ ppm) i korelace alifatických atomů vodíku napojených na druhé aromatické jádro (korelace atomu vodíku $\delta = 4.33$ ppm, navázaném na atomu uhlíku $\delta = 42.9$ ppm a korelace atomů vodíku $\delta = 1.61$ ppm, navázaných na atomu uhlíku $\delta = 19.6$ ppm). Amidická skupina bude tedy spojovat oba alifatické řetězce. Karbonylový atom uhlíku bude navázán na alifatický atom uhlíku $\delta = 42.9$ ppm, protože karbonylový atom uhlíku má korelaci na atomy vodíku navázané na oba atomy uhlíku tvořící alifatický řetězec (atomy $\delta = 42.9$ ppm i $\delta = 19.6$ ppm) a na atomy vodíku navázané na atom uhlíku $\delta = 25.8$ ppm, tvořící druhý článek druhého alifatického řetězce, korelaci nemá. Na sekundární alifatický atom uhlíku $\delta = 45.4$ ppm bude navázán atom dusíku (viz obr. 9).

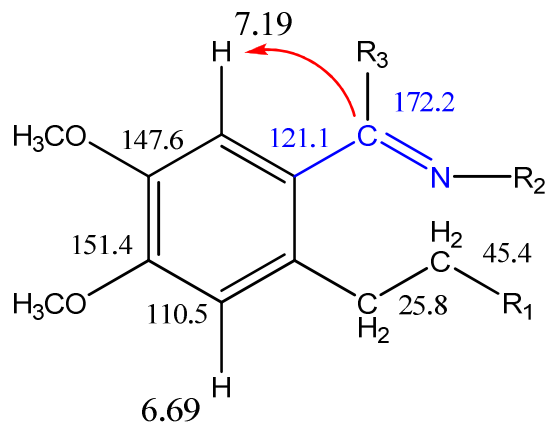
Atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 172.2$ ppm má však v experimentu ghmbc korelaci také na aromatický atom vodíku $\delta = 7.19$ ppm, od kterého je v mnou navrhované struktuře umístěn ve vzdálenosti 7 vazeb (viz obr. 9), což je příliš velká vzdálenost. Na základě této skutečnosti lze konstatovat, že atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 172.2$ ppm není karbonylová skupina.



obr.9

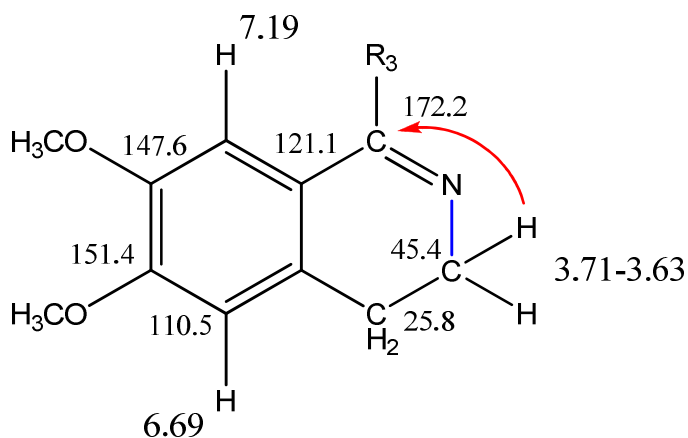
Atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 172.2$ ppm musí být určitě atom uhlíku, ze kterého vychází dvojná vazba. Atom uhlíku alkenové skupiny substituovaný pouze alkylovými skupinami absorbuje v oblasti $\delta = 150 - 110$ ppm²⁴. Atom uhlíku neznámé sloučeniny má chemický posun $\delta = 172.2$ ppm, musí být tedy výrazně odstíněn heteroatomem. Neznámá sloučenina ve své struktuře obsahuje pouze 2 typy heteroatomů, atom kyslíku a atom dusíku. Pokud by heteroatomy byly vázány na alkenylovou skupinu, nezpůsobily by dostatečně velké odstínění. Jeden heteroatom tedy musí být vázán dvojnou vazbou na atom uhlíku $\delta = 172.2$ ppm. Vzhledem k tomu, že se nejedná o karbonylovou skupinu, musí být na atom uhlíku $\delta = 172.2$ ppm dvojnou vazbou vázán atom dusíku.

Atom uhlíku $\delta = 172.2$ ppm má v experimentu ghmhc korelaci na aromatický atom vodíku $\delta = 7.19$ ppm. Tento atom uhlíku bude na aromatické jádro vázán ve vzdálenosti 3 vazeb od atomu vodíku $\delta = 7.19$ ppm, tedy v poloze 1 aromatického jádra přes atom uhlíku $\delta = 121.1$ ppm (viz obr. 10).



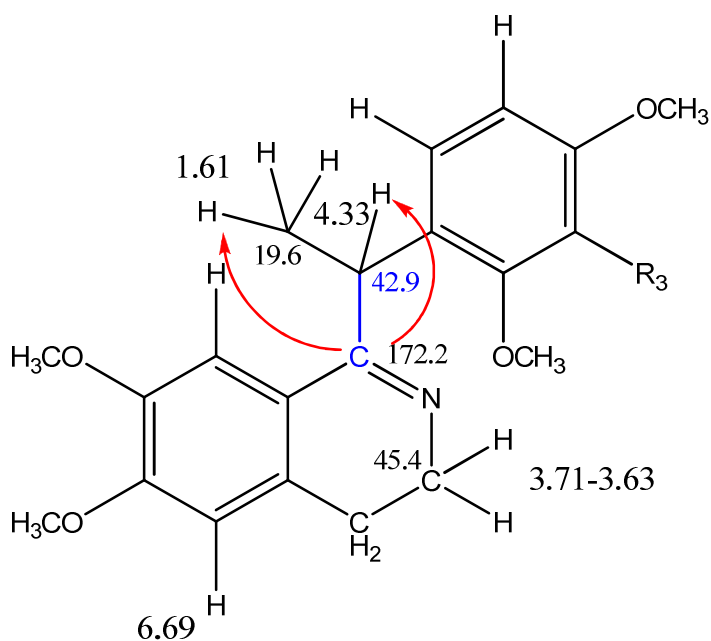
obr.10

Atom uhlíku $\delta = 172.2$ ppm má korelaci na atom vodíku $\delta = 3.71 - 3.63$ ppm (atom uhlíku $\delta = 45.4$ ppm). Atom uhlíku $\delta = 45.4$ ppm bude navázán na elektronegativní atom dusíku (viz obr. 11), který tento atom uhlíku odstíní. Tomu odpovídá chemický posun tohoto atomu uhlíku.



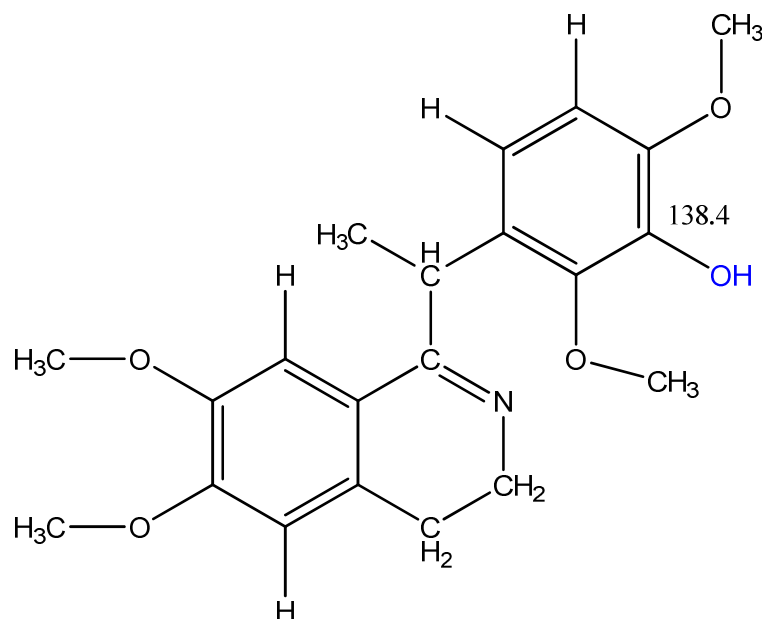
obr.11

Atom uhlíku $\delta = 172.2$ ppm má korelaci na atom vodíku $\delta = 4.33$ ppm (atom uhlíku $\delta = 42.9$ ppm) a na atom vodíku $\delta = 1.61$ ppm (na atomu uhlíku $\delta = 19.6$ ppm). Alifatický atom uhlíku $\delta = 42.9$ ppm bude tedy vázán na atom uhlíku $\delta = 172.2$ ppm (viz obr. 12) a tím dojde ke spojení obou aromatických jader.



obr.12

Z MS spektra jsem určila sumární vzorec sloučeniny - $C_{21}H_{25}NO_5$. Ještě mi zbývalo určit umístění jednoho atomu vodíku a jednoho atomu kyslíku. Substituent R_3 z obr. 12 tedy bude hydroxylová skupina (viz obr. 13).



obr.13

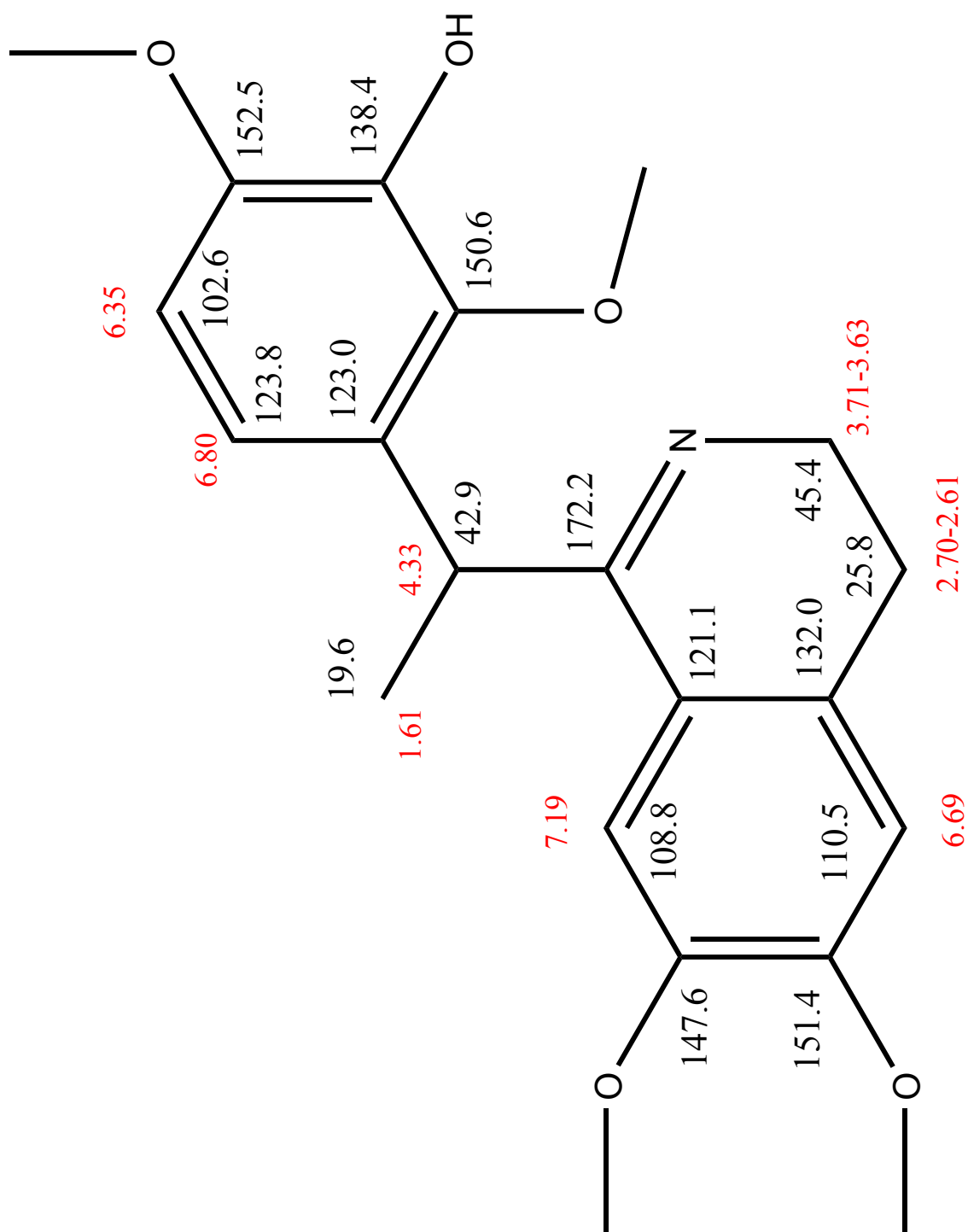
Tím jsem dokončila určení struktury sloučeniny s kódovým označením LC - 1, jedná se o 3-(1-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-1-yl)ethyl)-2,6-dimethoxyfenol.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.19 (1H, s, H8); 6.80 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H6 \prime); 6.69 (1H, s, H5); 6.35 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H5 \prime); 4.33 (1H, q, $J = 7.1$ Hz, CH); 3.91 (3H, s, OCH_3); 3.91 (6H, s, OCH_3); 3.82 (3H, s, OCH_3); 3.71-3.63 (2H, m, NCH_2); 2.70-2.61 (2H, m, CH_2); 1.61 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, CH_3)

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 172.2, 152.5, 151.4, 150.6, 147.6, 138.4, 132.0, 123.8, 123.0, 121.1, 110.5, 108.8, 102.6, 60.7, 56.2, 56.0, 55.8, 45.4, 42.9, 25.8, 19.6

ESI-MS m/z 372 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Sloučenina LC - 1



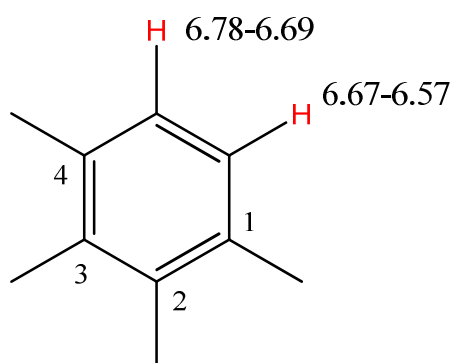
4.4. LC - 8D

Mým úkolem bylo určení struktury neznámé sloučeniny s kódovým označením LC - 8D, izolované z rostliny *Eschscholtzia californica* (Papaveraceae).

V ^1H - NMR a ^{13}C - NMR spektru se všechny signály vyskytují ve dvojicích. Z toho plyne, že vzorek neobsahuje jednu látku, ale racemickou směs dvou optických izomerů.

V ^1H - NMR spektru jsem pomocí integrálu signálů určila počet atomů vodíku, kterým jednotlivé signály odpovídají. Pro zjednodušení budu uvádět, že dvojice signálů 2 atomů vodíku (jeden atom vodíku z jednoho optického izomeru a druhý atom vodíku z druhého optického izomeru) odpovídají dohromady jednomu atomu vodíku neznámé sloučeniny.

V oblasti chemického posunu $\delta = 6.78 - 5.90$ ppm se nachází signály odpovídající čtyřem aromatickým atomům vodíku. Signál atomu vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.17; 6.01$ ppm má tvar širokého singletu, nejedná se tedy o aromatický atom vodíku, ale o atom vodíku na heteroatomu. Signál atomu vodíku s chemickým posunem $\delta = 5.94; 5.90$ ppm má tvar singletu, jedná se o izolovaný atom vodíku. Signály atomů vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.78 - 6.69$ ppm a $\delta = 6.67 - 6.57$ ppm jsou štěpeny na multiplet, budou se pravděpodobně nacházet na jednom aromatickém jádře, protože ve spektru se už nenachází žádný jiný aromatický atom vodíku, který by mohl způsobit jejich štěpení. Atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 6.78 - 6.69$ ppm a $\delta = 6.67 - 6.57$ ppm mají vzájemnou korelaci v COSY experimentu, což dokazuje jejich umístění vedle sebe. Budou tedy navázány na aromatickém jádře substituovaném v polohách 1, 2, 3 a 4 (viz *obr. 1*).



obr.1

V oblasti chemického posunu $\delta = 4.15 - 1.89$ ppm se nachází signály odpovídající podle integrálu 19 atomům vodíku. Ze skupiny signálů je výrazný singlet s chemickým posunem $\delta = 3.89; 3.86$ ppm odpovídající třem atomům vodíku. Jedná se o methoxy skupinu navázanou na aromatickém jádře. Výrazný signál je také singlet s chemickým posunem $\delta = 3.58; 3.50$ ppm odpovídající třem atomům vodíku. Z chemického posunu vyplývá, že se bude jednat o methoxy skupinu navázanou na alifatický řetězec. Další výrazný singlet s chemickým posunem $\delta = 2.40$ ppm odpovídá odstínění methylové skupiny, navázané na atom dusíku. Signál při chemickém posunu $\delta = 2.07 - 1.89$ ppm je štěpen na triplet, v sousedství atomů vodíku odpovídajících tomuto signálu se musí nacházet methylenová skupina.

V ^{13}C - NMR spektru se v oblasti chemického posunu $\delta = 200 - 100$ ppm nachází 9 signálů. Signál s chemickým posunem $\delta = 199.0; 198.7$ ppm je typický pro karbonylový atom uhlíku. V oblasti chemického posunu asi $\delta = 205 - 195$ ppm se nachází signály atomů uhlíku aldehydů, ketonů a α, β -nenasycených ketonů²⁴. Jelikož v ^1H - NMR se žádný aldehydický vodík nevyskytuje, bude signál s chemickým posunem $\delta = 199.0; 198.7$ ppm náležet α, β -nenasycenému ketonu.

Zbývajících 8 atomů uhlíku s chemickým posunem větším než $\delta = 100.0$ ppm náleží jednomu benzenovému jádru a jedné dvojně vazbě.

V oblasti chemického posunu $\delta = 79.1 - 30.3$ ppm se nachází 10 signálů alifatických atomů uhlíku.

Určila jsem, že neznámá sloučenina obsahuje 19 atomů uhlíku a 23 atomů vodíku. Z MS spektra vyplývá, že neznámá sloučenina má molekulovou hmotnost 329. Molekulová hmotnost 19 atomů uhlíku a molekulová hmotnost 23 atomů vodíku je dohromady 251. Do molekulové hmotnosti neznámé sloučeniny mi zbývá 78, což je přesně molekulová hmotnost čtyř atomů kyslíku a jednoho atomu dusíku. Neznámá sloučenina má sumární vzorec $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{NO}_4$.

Experiment ghsqc mi umožnil určit konkrétní atomy vodíku, které jsou navázány na jednotlivé atomy uhlíku.

C (120.1; 119.9)	H (5.94; 5.90)
C (118.6; 118.4)	H (6.67 - 6.57)
C (109.2; 109.2)	H (6.78 - 6.69)
C (79.1; 78.4)	H (4.15 - 3.95; 3.83 - 3.71)
C (61.4; 61.2)	H (3.63 - 3.46)
C (58.4; 57.8)	H (3.58; 3.50)
C (56.3; 56.2)	H (3.89; 3.86)
C (47.9; 46.6)	H (2.67 - 2.24)
C (42.0; 41.8)	H (2.67 - 2.24)
C (38.2; 36.5)	H (4.15 - 3.95; 3.63 - 3.46; 2.67 - 2.24; 2.07 - 1.89)
C (37.5; 34.9)	H (2.67 - 2.24; 2.20 - 2.10; 2.07 - 1.89)
C (32.9; 30.3)	H (3.40 - 3.17; 3.01 - 2.80)

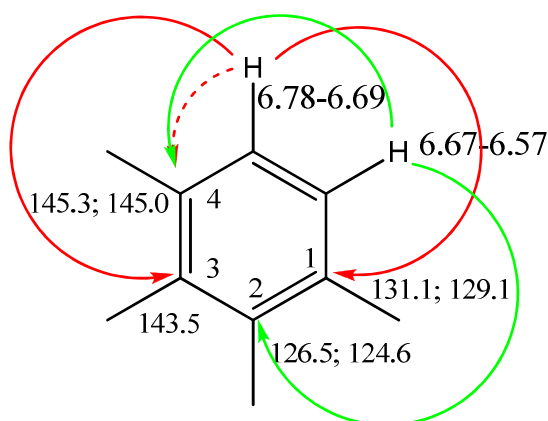
Atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 199.0; 198.7$ ppm, $\delta = 164.5; 162.0$ ppm, $\delta = 145.3; 145.0$ ppm, $\delta = 143.6; 143.5$ ppm, $\delta = 131.1; 129.1$ ppm, $\delta = 126.5; 124.6$ ppm a $\delta = 41.1; 41.0$ ppm jsou kvartérní.

Neznámá sloučenina obsahuje ve své struktuře jedno benzenové jádro a jednu dvojnou vazbu. Na nich jsou navázané atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 6.78 - 6.69$ ppm, $\delta = 6.67 - 6.57$ ppm a $\delta = 5.94; 5.90$ ppm. Atom vodíku $\delta = 5.94; 5.90$ ppm nemá v experimentu ghmhc žádné korelace na atomy uhlíku s chemickým posunem v aromatické oblasti a má korelace na alifatické atomy uhlíku. Z toho vyplývá, že atom vodíku $\delta = 5.94; 5.90$ ppm bude navázán na dvojně vazbě a atomy vodíku $\delta = 6.78 - 6.69$ ppm a $\delta = 6.67 - 6.57$ ppm budou navázány na aromatické jádro.

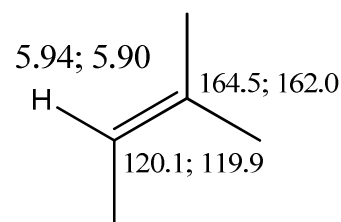
Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.78 - 6.69$ ppm má v experimentu ghmbc korelace na atomy uhlíku $\delta = 145.3; 145.0$ ppm, $\delta = 143.6; 143.5$ ppm a $\delta = 131.1; 129.1$ ppm. Korelace na atomy uhlíku $\delta = 143.6; 143.5$ ppm a $\delta = 131.1; 129.1$ ppm jsou silné korelace přes tři vazby. Tyto atomy uhlíku se musí nacházet na aromatickém jádře v polohách 1 a 3, podle číslování na *obr. 1*. Korelace na atom uhlíku $\delta = 145.3; 145.0$ ppm je slabší korelace přes dvě vazby. Tento atom uhlíku se tedy musí nacházet v poloze 4, protože v druhé možné poloze se nachází již určený atom uhlíku $\delta = 118.6; 118.4$ ppm nesoucí atom vodíku $\delta = 6.67-6.57$ ppm (viz *obr. 2*).

Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.67 - 6.57$ ppm má v experimentu ghmbc korelace na atomy uhlíku $\delta = 145.3; 145.0$ ppm a $\delta = 126.5; 124.6$ ppm. Jedná se o silné korelace přes tři vazby. Tyto atomy uhlíku se musí nacházet na aromatickém jádře v polohách 2 a 4 podle číslování na *obr. 1*, což neodporuje umístění atomu uhlíku $\delta = 145.3; 145.0$ ppm do polohy 4 podle předchozí úvahy (viz *obr. 2*).

Dvojnou vazbu tvoří atom uhlíku $\delta = 120.1; 119.9$ ppm nesoucí atom vodíku $\delta = 5.94; 5.90$ ppm a atom uhlíku $\delta = 164.5; 162.0$ ppm (viz *obr. 3*).



obr.2

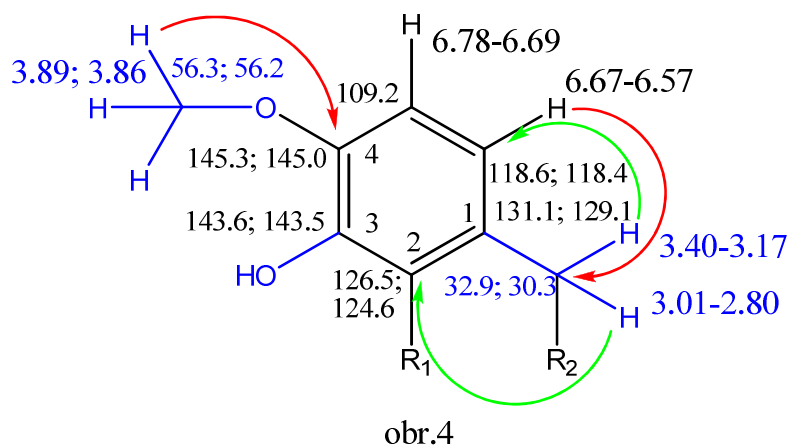


obr.3

Atom vodíku $\delta = 6.67 - 6.57$ ppm má korelaci na alifatický atom uhlíku $\delta = 32.9; 30.3$ ppm. Tento alifatický atom uhlíku musí být na aromatické jádro navázán ve vzdálenosti 3 vazeb od atomu vodíku $\delta = 6.67 - 6.57$ ppm. Musí substituovat atom uhlíku sousedící s atomem uhlíku nesoucím atom vodíku $\delta = 6.67 - 6.57$ ppm. V této poloze se může nacházet atom uhlíku $\delta = 143.6; 143.5$ ppm, nebo atom uhlíku $\delta = 131.1; 129.1$ ppm. Atom uhlíku $\delta = 143.6; 143.5$ ppm je výrazně odstíněn a jeho chemický posun odpovídá tomu, že bude substituován atomem kyslíku. Atom uhlíku $\delta = 32.9; 30.3$ ppm je na aromatické jádro navázán přes atom uhlíku $\delta = 131.1; 129.1$ ppm (viz *obr. 4*). Toto umístění potvrzují korelace atomů vodíku $\delta = 3.40 - 3.17$ ppm a $\delta = 3.01 - 2.80$ ppm navázaných na atomu uhlíku $\delta = 32.9; 30.3$ ppm na aromatické atomy uhlíku $\delta = 126.5; 124.6$ ppm a $\delta = 118.6; 118.4$ ppm.

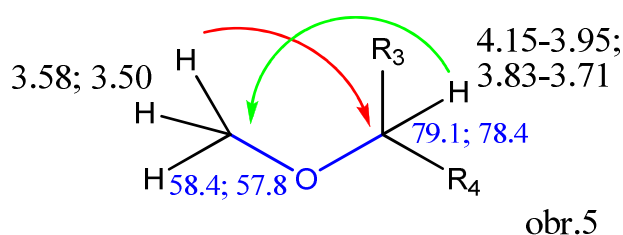
Atomy uhlíku $\delta = 145.3; 145.0$ ppm a $\delta = 143.6; 143.5$ ppm mají chemický posun typický pro aromatické atomy uhlíku, na nichž je navázán atom kyslíku. Atomy vodíku methoxy skupiny $\delta = 3.89; 3.86$ ppm, mají v experimentu ghmbc korelaci na aromatický atom uhlíku $\delta = 145.3; 145.0$ ppm. Atom uhlíku $\delta = 143.6; 143.5$ ppm ponese hydroxylovou skupi-

nu. Atomu vodíku hydroxylové skupiny náleží široký singlet v ^1H -NMR spektru s chemickým posunem $\delta = 6.17; 6.01$ ppm (viz obr. 4).



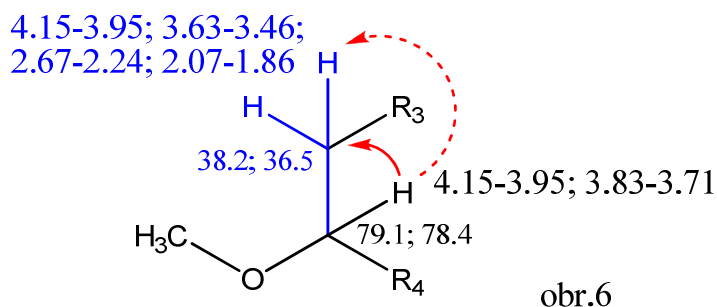
obr.4

Ze sumárního vzorce neznámé sloučeniny vím, že neznámá sloučenina obsahuje ve své struktuře 5 heteroatomů – 4 atomy kyslíku a 1 atom dusíku. Jeden atom kyslíku tvoří karbonylovou skupinu, sloučenina obsahuje jednu aromatickou methoxy skupinu, jednu aromatickou hydroxy skupinu a zbývající atom kyslíku náleží alifatické methoxy skupině ($\delta = 3.58; 3.50$ ppm) Atomy vodíku $\delta = 3.58; 3.50$ ppm mají v experimentu ghmbc korelaci na atom uhlíku $\delta = 79.1; 78.4$ ppm. Methoxy skupina bude navázána na atom uhlíku $\delta = 79.1; 78.4$ ppm (viz obr. 5). Tomu odpovídá i výrazný chemický posun atomu uhlíku $\delta = 79.1; 78.4$ ppm, který je způsoben odstíněním atomem kyslíku. Vazbu methoxy skupiny na atom uhlíku $\delta = 79.1; 78.4$ ppm potvrzují i korelace atomu vodíku $\delta = 4.15 - 3.95; 3.83 - 3.71$ ppm (na atomu uhlíku $\delta = 79.1; 78.4$ ppm) na atom uhlíku $\delta = 58.4; 57.8$ ppm.

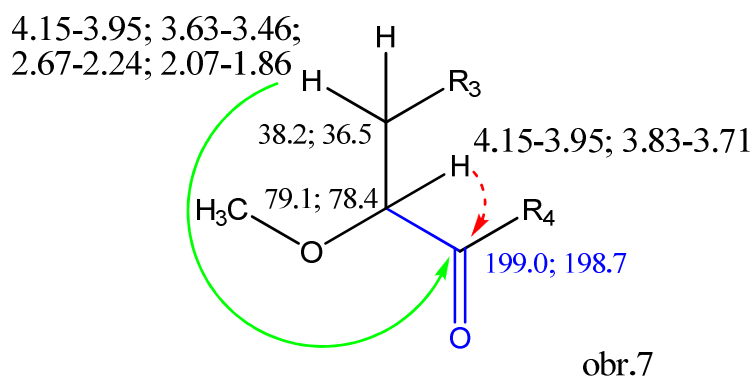


obr.5

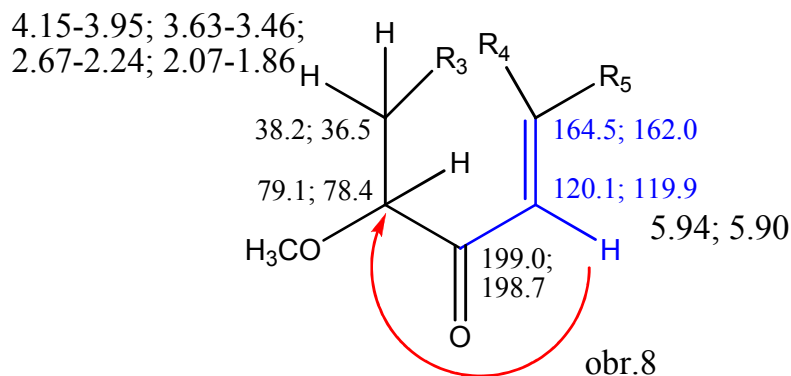
Atom vodíku $\delta = 4.15 - 3.95; 3.83 - 3.71$ ppm má v COSY experimentu korelaci na atom vodíku $\delta = 2.07 - 1.89$ ppm. Vedle atomu uhlíku $\delta = 79.1; 78.4$ ppm (nese atom vodíku $\delta = 4.15 - 3.95; 3.83 - 3.71$ ppm) bude umístěn atom uhlíku $\delta = 38.2; 36.5$ ppm, nebo atom uhlíku $\delta = 37.5; 34.9$ ppm (oba nesou atom vodíku $\delta = 2.07 - 1.89$ ppm). Atom vodíku $\delta = 4.15 - 3.95; 3.83 - 3.71$ ppm má v experimentu ghmbc korelaci na atom uhlíku $\delta = 38.2; 36.5$ ppm. Vedle atomu uhlíku $\delta = 79.1; 78.4$ ppm bude ve struktuře neznámé sloučeniny umístěn atom uhlíku $\delta = 38.2; 36.5$ ppm (viz obr. 6).



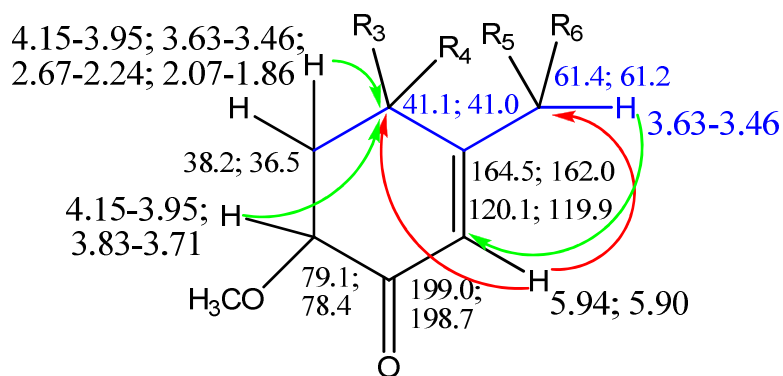
Atom vodíku $\delta = 4.15 - 3.95; 3.83 - 3.71$ ppm má v experimentu ghmbc korelaci na atom uhlíku $\delta = 199.0; 198.7$ ppm. Tato korelace je slabá, jedná se tedy o korelaci přes dvě vazby. Atom uhlíku $\delta = 199.0; 198.7$ ppm musí být ve struktuře neznámé sloučeniny umístěn vedle atomu uhlíku $\delta = 79.1; 78.4$ ppm (nese navázaný atom vodíku $\delta = 4.15 - 3.95; 3.83 - 3.71$ ppm). Toto umístění potvrzuje silná korelace přes tři vazby atomu uhlíku $\delta = 199.0; 198.7$ ppm na atom vodíku $\delta = 4.15 - 3.95; 3.63 - 3.46; 2.67 - 2.24; 2.07 - 1.86$ ppm (viz obr. 7).



Atom uhlíku $\delta = 79.1; 78.4$ ppm má korelaci na atom vodíku $\delta = 5.94; 5.90$ ppm dvojně vazby. Jedná se o silnou korelaci přes tři vazby. Atom uhlíku $\delta = 120.1; 119.9$ ppm dvojně vazby, nesoucí navázaný atom vodíku $\delta = 5.94; 5.90$ ppm, bude k fragmentu struktury neznámé sloučeniny z obr. 7 připojen v místě substituentu R_3 , nebo R_4 . Z chemického posunu karbonylového atomu uhlíku $\delta = 199.0; 198.7$ ppm jsem usoudila, že dvojná vazba bude připojena právě na tento atom uhlíku (viz obr. 8). V tomto případě dojde ke konjugaci karbonylové skupiny a dvojně vazby a dojde k delokalizaci elektronů. Karbonylový atom uhlíku bude proto méně odstíněn, než v případě, kdy by se jednalo o nekonjugovaný keton.

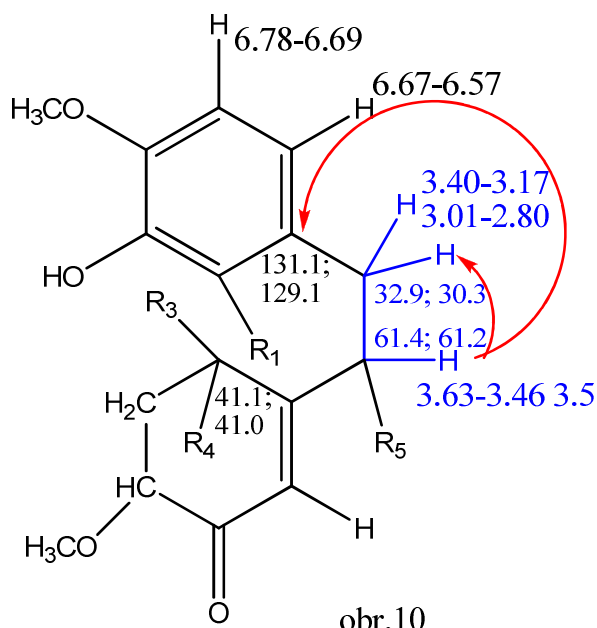


Atom vodíku $\delta = 5.94; 5.90$ ppm má v experimentu ghmbc korelaci na atomy uhlíku $\delta = 61.4; 61.2$ ppm a $\delta = 41.1; 41.0$ ppm. Tyto atomy uhlíku musí být ve struktuře neznámé sloučeniny umístěny ve vzdálenosti tří vazeb od atomu vodíku $\delta = 5.94; 5.90$ ppm. Na fragment struktury neznámé sloučeniny na *obr. 8* budou navázány v místě substituentů R_4 a R_5 . To potvrzuje i korelace atomu vodíku $\delta = 3.63 - 3.46$ ppm (na atomu uhlíku $\delta = 61.4; 61.2$ ppm) na atom uhlíku $\delta = 120.1; 119.9$ ppm. Atom uhlíku $\delta = 41.1; 41.0$ ppm má korelaci na atomy vodíku $\delta = 4.15 - 3.95; 3.63 - 3.46; 2.63 - 2.24; 2.07 - 1.86$ ppm (na atomu uhlíku $\delta = 38.2; 36.5$ ppm) a na atom vodíku $\delta = 4.15 - 3.95; 3.83 - 3.71$ ppm. Vzdálenost mezi substituentem R_4 a těmito atomy vodíku je příliš velká (6 a 5 vazeb) na to, aby se korelace ve spektru projevila. Atom uhlíku $\delta = 41.1; 41.0$ ppm bude zároveň substituentem R_3 a dojde k cyklizaci a vzniku šestičlenného cyklu (viz *obr. 9*).



obr.9

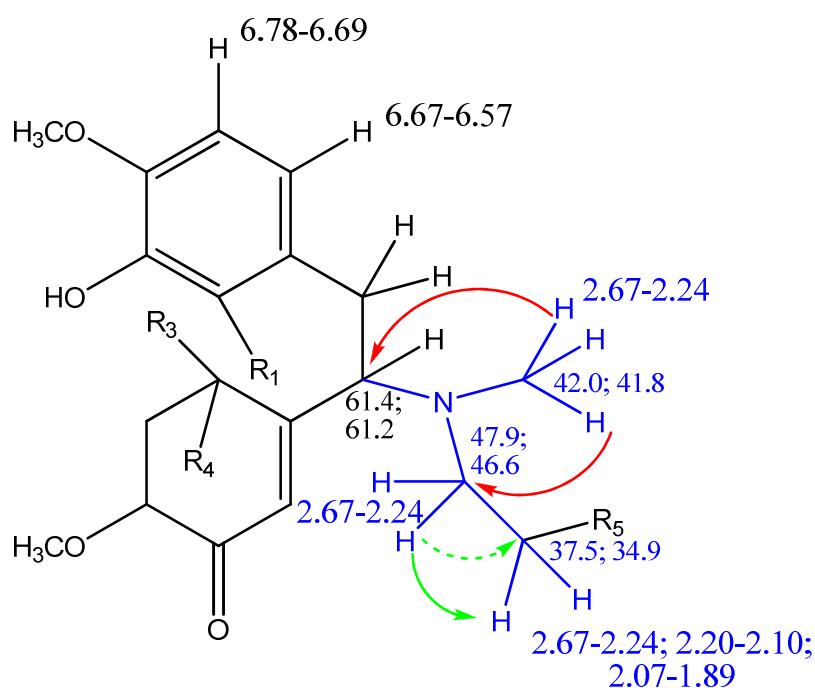
Atom vodíku $\delta = 3.63 - 3.46$ ppm (na atomu uhlíku $\delta = 61.4; 61.2$ ppm) má v COSY experimentu korelaci na atomy vodíku $\delta = 3.40 - 3.17; 3.01 - 2.80$ ppm (na atomu uhlíku $\delta = 32.9; 30.3$ ppm, který je navázán na benzenové jádro). Atomy uhlíku $\delta = 61.4; 61.2$ ppm a $\delta = 32.9; 30.3$ ppm musí ve struktuře neznámé sloučeniny ležet vedle sebe. Tím dojde ke spojení benzenového jádra a šestičlenného cyklu (viz *obr. 10*). Toto spojení potvrzuje korelace atomu vodíku $\delta = 3.63 - 3.46$ ppm (na atomu uhlíku $\delta = 61.4; 61.2$ ppm) na atom uhlíku $\delta = 131.1; 129.1$ ppm benzenového jádra.



obr.10

Na atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 61.4; 61.2$ ppm zbývá ještě jeden zatím neurčený substituent R_5 . Podle hodnoty chemického posunu signálu daného atomu uhlíku jsem určila, že substituent R_5 musí být heteroatom, který způsobí odstínění. Z heteroatomů, které neznámá sloučenina obsahuje, zbyl neumístěný pouze atom dusíku. Vazbě atomu dusíku na terciární atom uhlíku $\delta = 61.4; 61.2$ ppm odpovídá i hodnota chemického posunu. Již dříve jsem určila, že na atom dusíku je navázaná methylová skupina atomu uhlíku $\delta = 42.0; 41.8$ ppm, na který jsou navázané atomy vodíku $\delta = 2.67 - 2.24$ ppm. Toto uspořádání dokazuje korelace atomů vodíku s chemickým posunem $\delta = 2.67 - 2.24$ ppm v experimentu ghmbc na atom uhlíku $\delta = 61.4; 61.2$ ppm. Atomy vodíku $\delta = 2.67 - 2.24$ ppm mají korelaci také na atom uhlíku $\delta = 47.9; 46.6$ ppm. Atom uhlíku $\delta = 47.9; 46.6$ ppm bude třetím substituentem třívazného atomu dusíku (viz obr. 11).

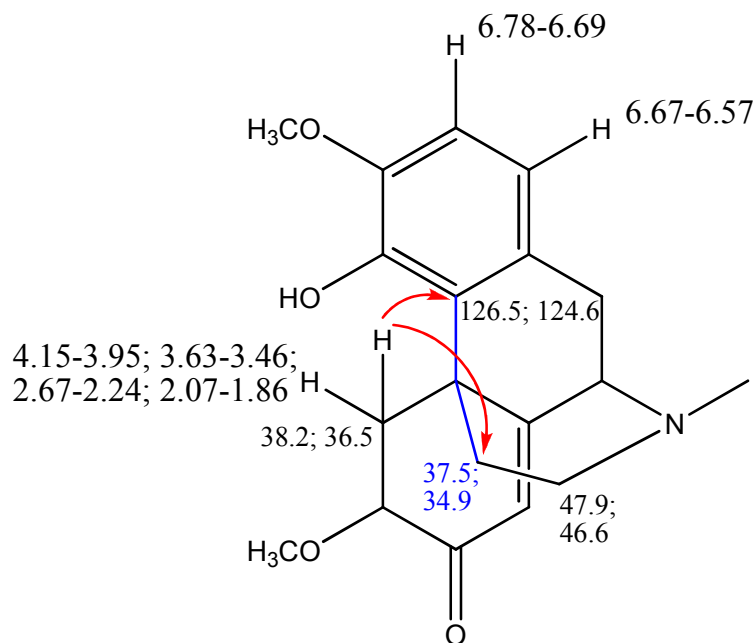
Atom vodíku $\delta = 2.67 - 2.24$ ppm (na atomu uhlíku $\delta = 47.9; 46.6$ ppm) má v COSY experimentu korelaci na atom vodíku s chemickým posunem asi $\delta = 2.40$ ppm. Může jít o atom vodíku navázaný na atomu uhlíku $\delta = 42.0; 41.8$ ppm, $\delta = 38.2; 36.5$ ppm, nebo $\delta = 37.5; 34.9$ ppm. Atom uhlíku $\delta = 42.0; 41.8$ ppm je součástí methylové skupiny navázané na atomu dusíku a oba substituenty sekundárního atomu uhlíku $\delta = 38.2; 36.5$ ppm jsem již určila. Atom uhlíku $\delta = 47.9; 46.6$ ppm se ve struktuře neznámé sloučeniny musí nacházet vedle atomu uhlíku $\delta = 37.5; 34.9$ ppm (viz obr. 11). Umístění atomu uhlíku $\delta = 47.9; 46.6$ ppm vedle atomu uhlíku $\delta = 37.5; 34.9$ ppm odpovídá korelace atomu vodíku $\delta = 2.67-2.24$ ppm (na atomu uhlíku $\delta = 47.9; 46.6$ ppm) přes dvě vazby na atom uhlíku $\delta = 37.5; 34.9$ ppm.



obr.11

Posledním krokem bylo určení substituentů R_1 na benzenovém jádře, R_3 a R_4 na kvartérním atomu uhlíku $\delta = 41.1; 41.0$ a substituentu R_5 na atomu uhlíku $\delta = 37.5; 34.9$ ppm. Protože všechny atomy uhlíku, vodíku, kyslíku i dusíku jsem ve sloučenině již umístila, jedi-

ným řešením, je cyklizace sloučeniny vazbou místo substituentů R_1 a R_3 a vazbou místo substituentů R_4 a R_5 (viz *obr. 12*). Vytvoření cyklu obsahujícího atom dusíku dokazuje korelace atomu vodíku $\delta = 4.15 - 3.95$; $3.63 - 3.46$; $2.67 - 2.24$; $2.07 - 1.86$ ppm (na atomu uhlíku $\delta = 38.2$; 36.5 ppm) na alifatický atom uhlíku $\delta = 37.5$; 34.9 ppm a na aromatický atom uhlíku $\delta = 126.5$; 124.6 ppm.



obr.12

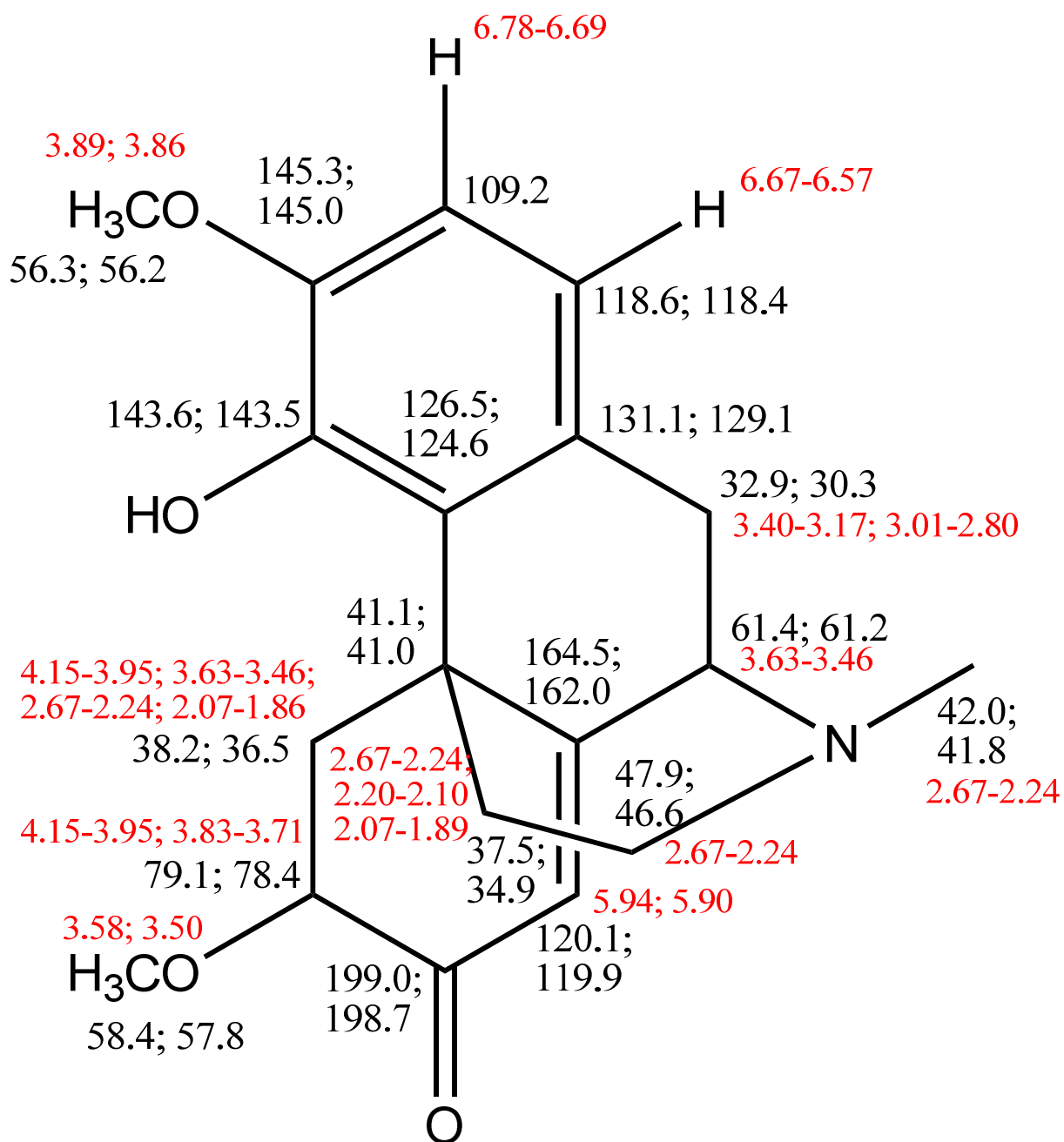
Tím jsem dokončila určení struktury neznámé sloučeniny s kódovým označením LC - 8D, jedná se o 4-hydroxy-3,6-methoxy-N-methylmorfinan-7-on.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 6.78 - 6.69 (1H, m, H2, A+B); 6.67 - 6.57 (1H, m, A+B); 6.17 (1H, bs, OH, A); 6.01 (1H, bs, OH, B); 5.94 (1H, s, H8 A); 5.90 (1H, s, H8, B), 4.15 - 3.95 (2H, m, H6+H5, B), 3.89 (3H, s, OCH_3 , A), 3.86 (3H, s, OCH_3 , B), 3.83 - 3.71 (1H, m, H6, A), 3.58 (3H, s, OCH_3 , A), 3.50 (3H, s, OCH_3 , B), 3.63 - 3.46 (3H, m, H5, A, H9, A+B), 3.40 - 3.17 (1H, m, H10, A+B), 3.01 - 2.80 (1H, m, H10, A+B), 2.67 - 2.24 (7H, m, H5, A, H15, B, H16, A+B, NCH_3), 2.20 - 2.10 (1H, m, H15, B), 2.07 - 1.89 (2H, m, H5, B, H15, A)

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 199.0, 198.7, 164.5, 162.0, 145.3, 145.0, 143.6, 143.5, 131.1, 129.1, 126.5, 124.6, 120.1, 119.9, 118.6, 118.4, 109.2, 109.2, 79.1, 78.4, 61.4, 61.2, 58.4, 57.8, 56.3, 56.2, 47.9, 46.6, 42.0, 41.8, 41.1, 41.0, 38.2, 37.5, 36.5, 34.9, 32.9, 30.3

ESI-MS m/z 330 $[\text{M}+\text{H}]^+$

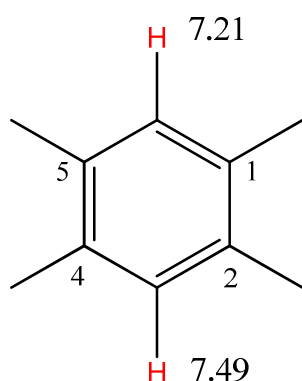
Sloučenina LC - 8D



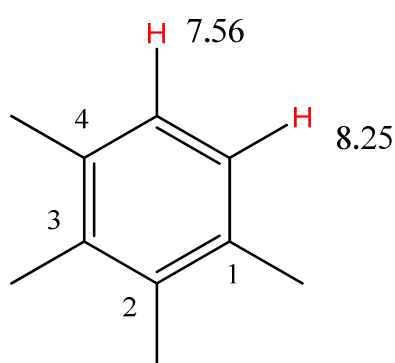
4.5. LC - 25

Mým úkolem byla identifikace neznámé sloučeniny s kódovým označením LC - 25, izolované z rostliny *Corydalis cava* (Fumariaceae).

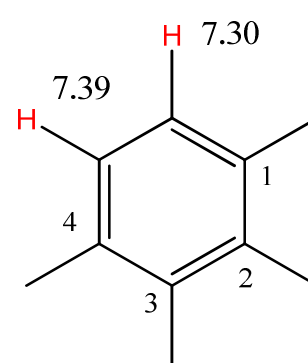
Pomocí integrálů jednotlivých signálů v ^1H -NMR spektru jsem určila, že neznámá sloučenina obsahuje 21 atomů vodíku. 6 atomů vodíku má signály posunuté ve spektru k nižšímu poli, jedná se o atomy vodíku navázané na aromatickém jádře. Po expanzi této oblasti spektra je vidět štěpení jednotlivých signálů. Signály s chemickým posunem $\delta = 7.49$ ppm a $\delta = 7.21$ ppm mají tvar singletu. Tyto atomy vodíku mohou být umístěny na izolovaných aromatických jádrech, nebo se může jednat o atomy vodíku na jednom aromatickém jádře substituovaném v polohách 1, 2, 4 a 5 (viz *obr. 1*). Signály zbylých 4 aromatických atomů vodíku mají tvar dubletu. Interakční konstanta atomů vodíku s chemickým posunem $\delta = 8.25$ ppm a $\delta = 7.56$ ppm je $J = 5.4$ Hz. Interakční konstanta atomů vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.39$ ppm a $\delta = 7.30$ ppm je $J = 8.4$ Hz. Tyto 4 aromatické atomy vodíku budou tedy navázané na 2 aromatická jádra. Na každé aromatické jádro bude navázaná dvojice atomů vodíku se stejnou interakční konstantou (viz *obr. 2* a *obr. 3*).



obr.1



obr.2



obr.3

V oblasti chemického posunu $\delta = 4.02 - 3.81$ ppm se nachází 4 singlety, které podle integrálu odpovídají 12 atomům vodíku. Singlety v této oblasti chemického posunu, z nichž každý odpovídá 3 atomům vodíku, jsou typické pro methoxy skupiny navázané na aromatickém jádře.

Poslední signál s chemickým posunem $\delta = 2.12$ ppm náleží alifatické methylové skupině.

Podle ^{13}C -NMR spektra obsahuje neznámá sloučenina 22 atomů uhlíku. Atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 169.6$ ppm je silně odstíněný. Tento chemický posun je typický pro karbonylový atom uhlíku.

V oblasti chemického posunu $\delta = 155.3 - 105.3$ ppm se nachází 15 aromatických atomů uhlíku, z čehož vyplývá, že sloučenina obsahuje 3 aromatická jádra.

Signál s chemickým posunem $\delta = 91.0$ ppm náleží alifatickému atomu uhlíku. Tento atom uhlíku je výrazně odstíněn, musí se tedy nacházet v blízkosti heteroatomu.

4 atomy uhlíku s chemickým posunem $\delta = 62.4 - 56.2$ ppm mají chemický posun typický pro methoxy skupinu navázanou na aromatickém jádře.

Signál s chemickým posunem $\delta = 29.4$ ppm náleží alifatickému atomu uhlíku.

Z MS spektra vyplývá, že neznámá sloučenina má molekulovou hmotnost 395. Již jsem určila, že sloučenina obsahuje 22 atomů uhlíku, 21 atomů vodíku a 4 atomy kyslíku (4 methoxy skupiny). Tyto atomy mají dohromady molekulovou hmotnost 349. Do molekulové hmotnosti neznámé sloučeniny zbývá 46, což je přesně molekulová hmotnost 1 atomu dusíku a 2 atomů kyslíku. Neznámá sloučenina má tedy sumární vzorec $C_{22}H_{21}NO_6$.

Experiment ghsqc mi umožnil určit konkrétní atomy vodíku, které jsou navázány na jednotlivé atomy uhlíku.

C (140.4).....	H (8.25)
C (122.0).....	H (7.56)
C (121.3).....	H (7.39)
C (120.8).....	H (7.30)
C (106.8).....	H (7.21)
C (105.3).....	H (7.49)
C (62.4).....	H (4.02)
C (57.3).....	H (3.92)
C (56.3).....	H (3.89)
C (56.2).....	H (3.81)
C (29.4).....	H (2.12)

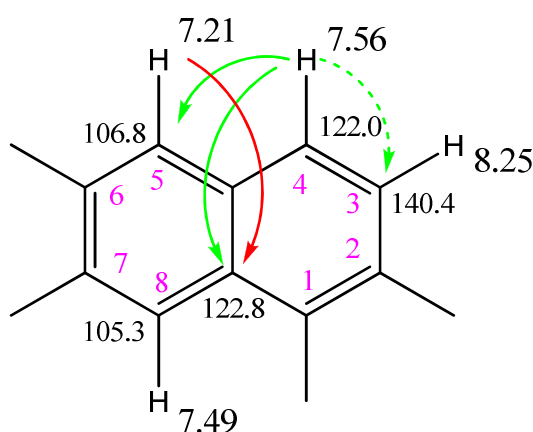
Atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta=169.6, 155.3, 154.0, 153.8, 151.2, 148.9, 148.4, 136.3, 122.8, 118.3$ a 91.0 ppm jsou kvartérní.

V experimentu COSY jsem si ověřila umístění aromatických atomů vodíku. Atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 8.25$ ppm a $\delta = 7.56$ ppm stejně jako atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.39$ ppm a $\delta = 7.30$ ppm mají v COSY experimentu vzájemnou korelaci, což odpovídá jejich umístění v sousedství na aromatických jádrech (viz *obr. 2* a *obr. 3*). Atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.49$ ppm a $\delta = 7.21$ ppm v experimentu COSY vzájemnou korelaci nemají, což odpovídá jejich umístění v poloze *para* na aromatickém jádře (viz *obr. 1*). Tyto atomy vodíku by také mohly být umístěny izolovaně na 2 aromatických jádrech, již jsem však určila, že sloučenina obsahuje pouze 3 aromatická jádra.

Pomocí experimentu ghmbc jsem určila umístění kvartérních aromatických atomů uhlíku na jednotlivých aromatických jádrech. Nejdříve jsem určila, která aromatická jádra z *obr. 1, 2 a 3* spolu vytváří jádro o-kondenzované a které aromatické jádro tvoří jádro benzenové. Musela jsem najít atomy uhlíku, které mají korelace na atomy vodíku z dvou různých aromatických jader. Takovým atomem uhlíku je např. atom uhlíku s chemickým posunem $\delta=122.8$ ppm. Tento atom uhlíku má v experimentu ghmbc korelace na atomy vodíku

s chemickým posunem $\delta = 7.21$ ppm a $\delta = 7.56$ ppm. Má tedy korelaci na atomy vodíku z aromatického jádra na *obr. 1* ($\delta = 7.21$ ppm) i na atom vodíku z aromatického jádra na *obr. 2* ($\delta = 7.56$ ppm). Dalšími atomy uhlíku, které mají v experimentu ghmbc korelaci na obě aromatická jádra jsou atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 155.3$ ppm (korelace na atom vodíku $\delta = 7.49$ ppm – aromatické jádro, *obr. 1* a na atom vodíku $\delta = 8.25$ ppm – aromatické jádro, *obr. 2*) a atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 136.3$ ppm (korelace na atom vodíku $\delta = 7.49$ ppm – aromatické jádro, *obr. 1* a na atom vodíku $\delta = 8.25$ ppm – aromatické jádro, *obr. 2*). Z toho plyne, že aromatická jádra na *obr. 1* a *obr. 2* vytváří *o*-kondenzovaný aromatický systém.

Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.56$ ppm má v experimentu ghmbc korelace na atomy uhlíku $\delta = 140.4$ ppm, $\delta = 122.8$ ppm a $\delta = 106.8$ ppm. Korelace na atom uhlíku $\delta = 140.4$ ppm je slabá, jedná se tedy o korelaci přes 2 vazby. Z experimentu ghsqc vyplývá, že na atomu uhlíku $\delta = 140.4$ ppm je na aromatické jádro navázán atom vodíku $\delta = 8.25$ ppm. Tato korelace tedy potvrzuje umístění atomů vodíku $\delta = 7.56$ ppm a $\delta = 8.25$ ppm na aromatickém jádře vedle sebe. Korelace na atomy uhlíku $\delta = 122.8$ ppm a $\delta = 106.8$ ppm jsou silnější, jedná se tedy o korelace přes 3 vazby. Z experimentu ghsqc je patrné, že na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 106.8$ ppm je navázán atom vodíku $\delta = 7.21$ ppm, tedy atom vodíku ze sousedního aromatického jádra. Obě aromatická jádra musí být do *o*-kondenzovaného cyklu spojena tak, aby atom vodíku $\delta = 7.56$ ppm jednoho aromatického jádra byl ve vzdálenosti 3 vazeb od atomu uhlíku $\delta = 106.8$ ppm druhého aromatického jádra. Pro obě aromatická jádra musí být společné atomy uhlíku v polohách 1 a 2 aromatických jáder na *obr. 1* a 3 a 4 na *obr. 2*. Vzniklý *o*-kondenzovaný cyklus má atomy vodíku umístěné v polohách 3, 4, 5 a 8 (viz *obr. 4*). Atom uhlíku $\delta = 122.8$ ppm bude na *o*-kondenzovaném cyklu umístěn v poloze 2, nebo vytvoří druhý společný atom uhlíku. Protože na tento atom uhlíku má v experimentu ghmbc korelaci také atom vodíku $\delta = 7.21$ ppm, tedy atom vodíku z druhého aromatického jádra, bude atom uhlíku $\delta = 122.8$ ppm společný oběma aromatickým jádrům.



obr.4

Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 8.25$ ppm má v experimentu ghmbc korelace na atomy uhlíku $\delta = 155.3$ ppm, $\delta = 136.3$ ppm a $\delta = 122.0$ ppm. Korelace na atom uhlíku $\delta = 122.0$ ppm (nese navázaný atom vodíku $\delta = 7.56$ ppm) je slabá korelace přes dvě vazby,

potvrzující umístění atomů vodíku $\delta = 7.56$ ppm a $\delta = 8.25$ ppm na aromatickém jádře vedle sebe. Korelace na atomy uhlíku $\delta = 155.3$ ppm a $\delta = 136.3$ ppm jsou silnější, jedná se tedy o korelace přes 3 vazby. Jeden z těchto dvou atomů uhlíku bude společný pro obě aromatická jádra a druhý z těchto atomů uhlíku se bude nacházet v poloze 1 naftalenového jádra.

Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.49$ ppm má v experimentu ghmbc korelace na atomy uhlíku $\delta = 155.3$ ppm, $\delta = 153.8$ ppm, $\delta = 151.2$ ppm a $\delta = 136.3$ ppm. Korelace na atom uhlíku $\delta = 151.2$ ppm je slabší, jedná se tedy o korelaci přes 2 vazby. Atom uhlíku $\delta = 151.2$ ppm se tedy musí nacházet ve vzdálenosti 2 vazeb od atomu vodíku $\delta = 7.49$ ppm. Musí se tedy nacházet v poloze 7 *o*-kondenzovaného cyklu, nebo tvořit společný atom oběma jádrům. Již jsem určila, že společný atom ve vzdálenosti dvou vazeb od atomu vodíku $\delta = 7.49$ ppm tvoří atom uhlíku $\delta = 122.8$ ppm. Atom uhlíku $\delta = 151.2$ ppm se tedy musí nacházet v poloze 7 *o*-kondenzovaného cyklu (viz obr. 5). Korelace atomu vodíku $\delta = 7.49$ ppm na atom uhlíku $\delta = 153.8$ ppm je silnější, tedy přes 3 vazby. Tento atom se musí nacházet v poloze 6 *o*-kondenzovaného cyklu (druhý společný atom uhlíku obou jader tvoří atom uhlíku $\delta = 155.3$ ppm, nebo $\delta = 136.3$ ppm). Korelace přes 3 vazby atomu vodíku $\delta = 7.49$ ppm na atomy uhlíku $\delta = 155.3$ ppm a $\delta = 136.3$ ppm neodporuje jejich umístění v poloze 1 *o*-kondenzovaného cyklu, nebo jako společný atom obou jader (viz. obr. 5).

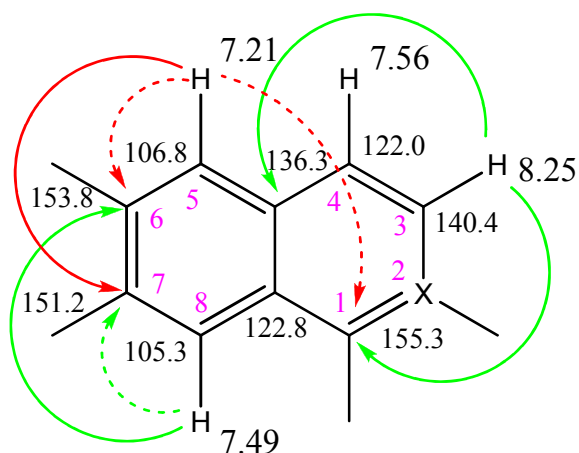
Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.21$ ppm má v experimentu ghmbc korelace na atomy uhlíku $\delta = 155.3$ ppm, $\delta = 153.8$ ppm, $\delta = 151.2$ ppm, $\delta = 122.8$ ppm a $\delta = 122.0$ ppm. Korelace přes tři vazby na atom uhlíku $\delta = 151.2$ ppm a korelace přes dvě vazby na atom uhlíku $\delta = 153.8$ ppm potvrzují jejich umístění v neznámé sloučenině podle předchozí úvahy (viz obr. 5). Slabší korelace na atom uhlíku $\delta = 155.3$ ppm bude korelace přes 2 vazby, pokud by byl atom uhlíku $\delta = 155.3$ ppm umístěn jako společný atom obou jader, nebo korelace přes 4, pokud by byl atom umístěn v poloze 1.

Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.39$ ppm má korelace na atomy uhlíku $\delta = 154.0$, 148.9 a 148.4 ppm. Korelace na atom uhlíku $\delta = 154.0$ ppm je slabá, jedná se tedy o korelaci přes 2 vazby. Tento atom uhlíku musí být umístěn v poloze 4 benzenového jádra, protože v poloze 6 je vázán atom vodíku $\delta = 7.30$ ppm přes atom uhlíku $\delta = 120.8$ ppm (viz obr. 6). Korelace na atomy uhlíku $\delta = 148.9$ a 148.4 ppm je silná, jedná se o korelaci přes 3 vazby, tyto atomy jsou na benzenové jádro navázány v polohách 1 a 3 (viz obr. 6).

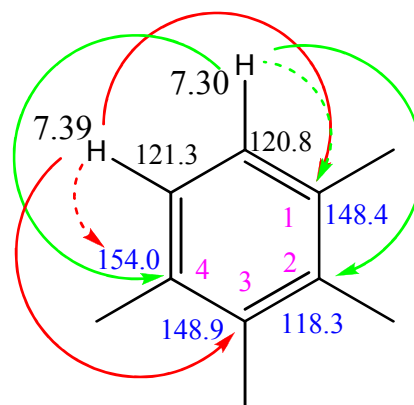
Atom vodíku $\delta = 7.30$ ppm má korelace na atomy uhlíku $\delta = 154.0$, 148.4 a 118.3 ppm. Korelace na atom uhlíku $\delta = 148.4$ ppm je slabá, jedná se tedy o korelaci přes 2 vazby. Tento atom uhlíku musí být umístěn v poloze 1 (viz obr. 6). Z toho vyplývá, že atom uhlíku $\delta = 148.9$ ppm se musí nacházet v poloze 3. Korelace atomu vodíku $\delta = 7.30$ ppm na atomy uhlíku $\delta = 154.0$ a 118.3 ppm jsou silné, jedná se o korelace přes 3 vazby. Tyto atomy uhlíku jsou na aromatické jádro navázány v polohách 2 a 4. Již jsem určila, že atom uhlíku $\delta = 154.0$ ppm se nachází v poloze 4, atom uhlíku $\delta = 118.3$ ppm se tedy nachází v poloze 2 (viz obr. 6).

Určila jsem, že jedno jádro obsahuje 6 atomů uhlíku a druhý aromatický systém 9 atomů uhlíku. V poloze 2 *o*-kondenzovaného cyklu se bude nacházet heteroatom. Tento heteroatom způsobí odstínění sousedních atomů uhlíku. Tomu odpovídá i chemický posun

sousedního atomu uhlíku $\delta = 140.4$ ppm, který je oproti ostatním protonovaným aromatickým atomům uhlíku relativně vysoký. Z důvodu silného odstínění heteroatomem jsem také určila, že v poloze 1 se nachází atom uhlíku $\delta = 155.3$ ppm, ne atom uhlíku $\delta = 136.3$ ppm (viz obr. 5).



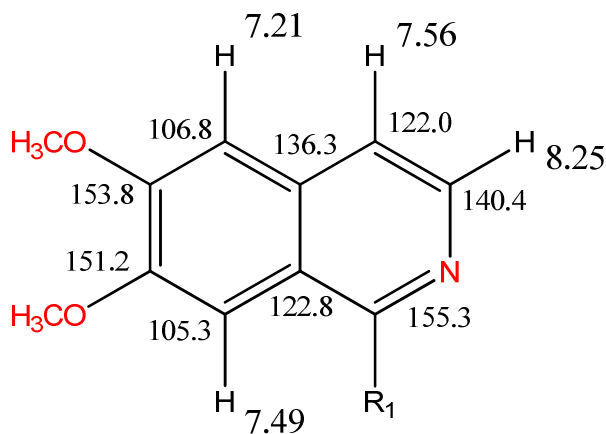
obr.5



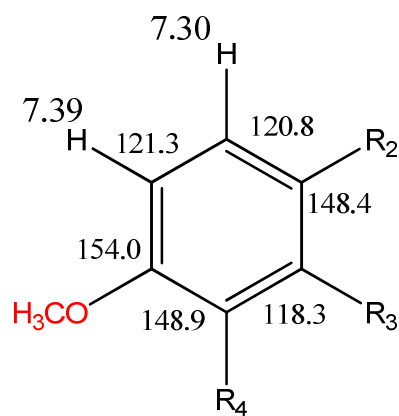
obr.6

Neznámá sloučenina má sumární vzorec $C_{22}H_{21}NO_6$. V její struktuře se tedy nachází 7 heteroatomů – 6 atomů kyslíku a 1 atom dusíku. Jeden z těchto heteroatomů musí být součástí aromatického systému. Dvojnásobný atom kyslíku to však být nemůže. Součástí cyklu musí být trojnásobný atom dusíku (viz obr. 7). Skelet neznámé sloučeniny tvoří kromě benzenového cyklu ještě isochinolinový systém.

Již jsem určila, že neznámá sloučenina obsahuje ve své struktuře 4 methoxy skupiny. Atomy uhlíku $\delta = 154.0$ ppm, $\delta = 153.8$ ppm a $\delta = 151.2$ ppm mají chemický posun typický pro aromatické atomy uhlíku, na kterých je navázaná methoxy skupina (viz obr. 7 a obr. 8). Čtvrtá methoxy skupina bude navázaná buď na atomu uhlíku $\delta = 148.9$ ppm, nebo $\delta = 148.4$ ppm.



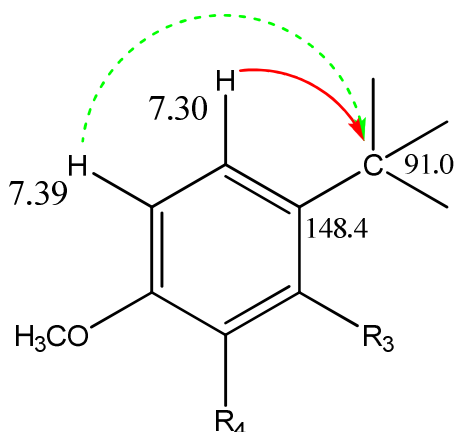
obr.7



obr.8

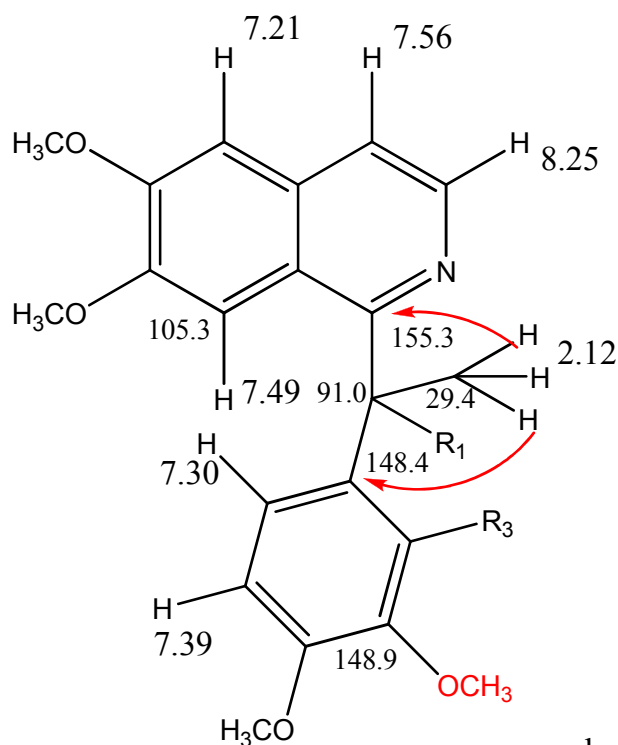
Ve struktuře neznámé sloučeniny mi ještě zbývalo určit neznámé substituenty R_1 na isochinolinovém cyklu, substituenty R_2 , R_3 a R_4 na benzenovém jádře a umístění karbonylové skupiny s chemickým posunem $\delta = 169.6$ ppm, kvartérního atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 91.0$ ppm, methylové skupiny s chemickým posunem $\delta = 29.4$ ppm a čtvrté aromatické methoxy skupiny.

Kvartérní atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 91.0$ ppm má v experimentu ghmbc silnou korelaci na atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.30$ ppm a slabší korelaci na atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.39$ ppm. Silná korelace na atom vodíku $\delta = 7.30$ ppm značí, že od něho bude vzdálen přes 3 vazby. Na benzenové jádro tedy musí být navázán přes atom uhlíku sousedící s atomem uhlíku $\delta = 120.8$ ppm, tedy buď na atom uhlíku $\delta = 148.4$ ppm, nebo na atom uhlíku $\delta = 121.3$ ppm. Atom uhlíku $\delta = 121.3$ ppm je však protonovaný, z čehož vyplývá, že atom uhlíku $\delta = 91.0$ ppm musí být na benzenové jádro navázán přes atom uhlíku $\delta = 148.4$ ppm (viz obr. 9).



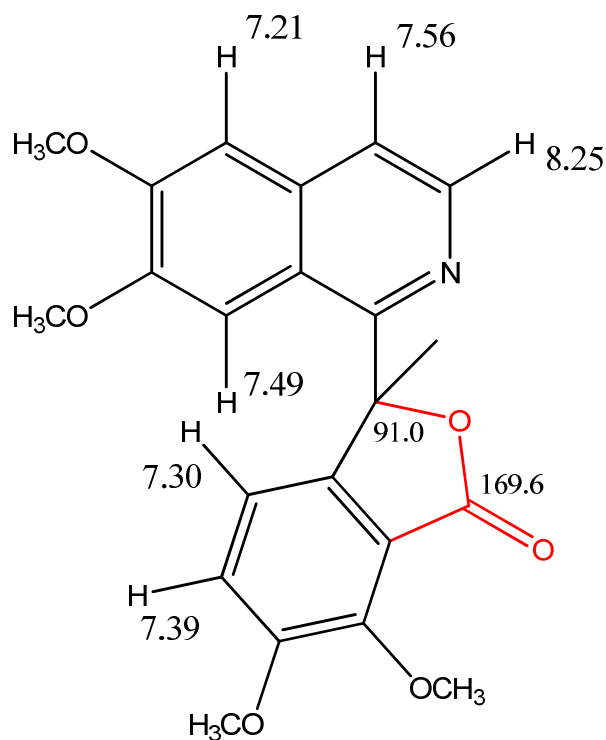
obr.9

Dále jsem pokračovala s určením umístění atomu uhlíku methylové skupiny s chemickým posunem $\delta = 29.4$ ppm. Chemický posun tohoto atomu uhlíku je příliš malý na to, aby byl navázán na heteroatomu. Tento atom uhlíku může být navázán na aromatické jádro, nebo na alifatický atom uhlíku. V experimentu ghmbc mají atomy vodíku $\delta = 2.12$ ppm navázané na tomto atomu uhlíku korelaci na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 155.3$ ppm a na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 148.4$ ppm. Atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 155.3$ ppm se nachází na isochinolinovém cyklu a atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 148.4$ ppm na benzenovém jádře. Aby atomy vodíku methylové skupiny byly ve vzdálenosti 3 vazeb od obou těchto atomů uhlíku, musí být methylový atom uhlíku navázán na atomu uhlíku, který tvoří spojnicí obou jader. Jedinou možností je, že methylový atom uhlíku bude navázán na kvartérní atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 91.0$ ppm, který spojí obě jádra přes atomy uhlíku $\delta = 155.3$ ppm a $\delta = 148.4$ ppm (viz obr. 10). Atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 148.9$ ppm nese navázanou čtvrtou methoxy skupinu.



obr.10

Atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 169.6$ ppm má chemický posun typický pro karbonylový atom uhlíku. Vzhledem k tomu, že ze sumárního vzorce zbývá přiřadit 2 kyslíkové atomy, bude se jednat o uhlík esterové skupiny. Ve struktuře neznámé sloučeniny mi už zbývá určit pouze substituent R₁ na kvartérním atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 91.0$ ppm a substituent R₃ na benzenovém jádře (viz obr. 10). Esterová skupina tedy vytvoří můstek mezi atomy uhlíku $\delta = 91.0$ ppm a $\delta = 118.3$ ppm a vznikne pětičlenný laktonový kruh. Atom uhlíku $\delta = 91.0$ ppm má chemický posun, který napovídá silnému odstínění, proto na něj bude navázán atom kyslíku laktonu. Atom uhlíku $\delta = 118.3$ ppm má příliš malý chemický posun na to, aby na něj byl navázán heteroatom, ponese tedy karbonylový atom uhlíku esterové skupiny (viz obr. 11).



obr.11

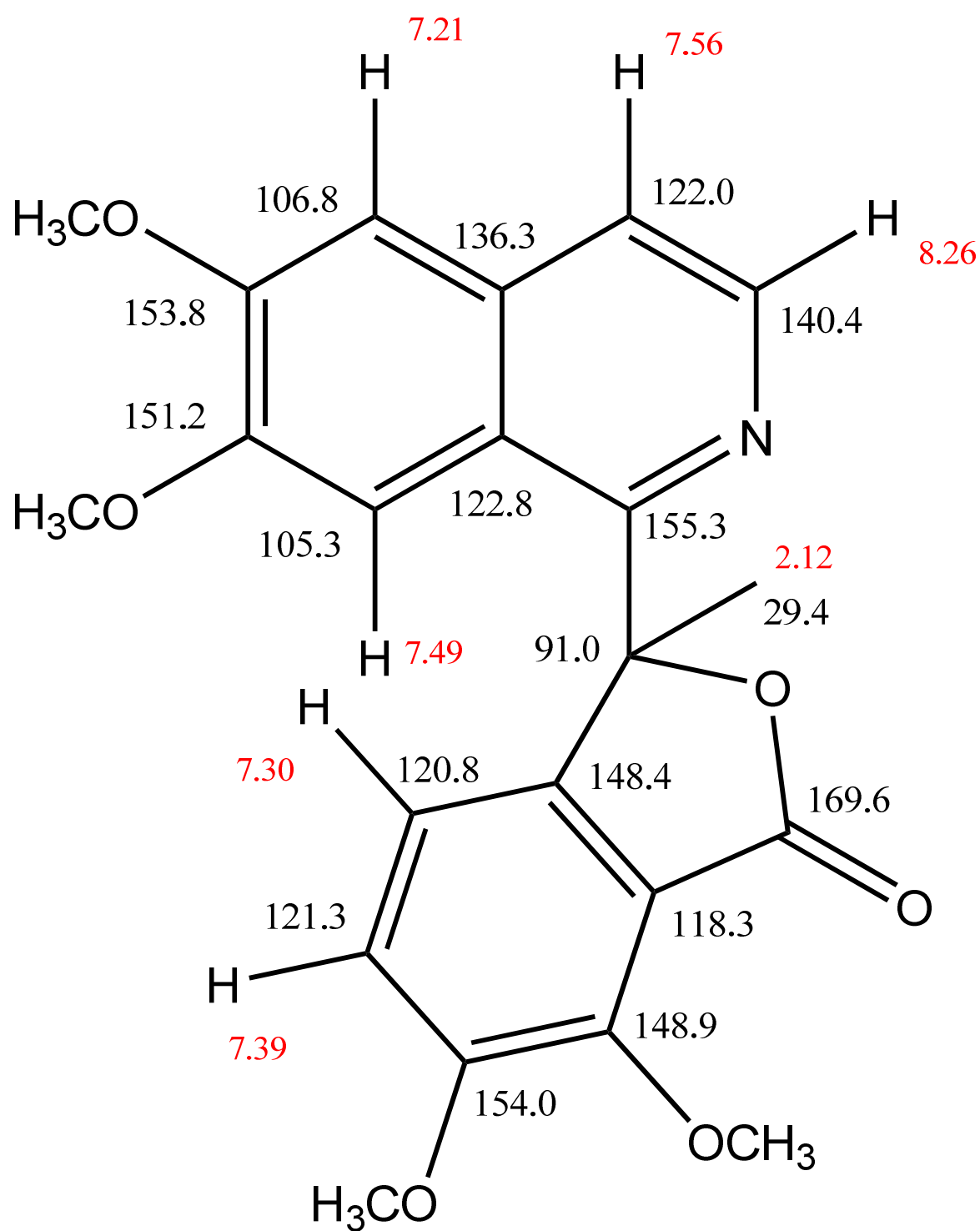
Tím jsem dokončila určení struktury neznámé sloučeniny s kódovým označení LC - 25, jedná se o 3-(6,7-dimethoxyisochinolin-1-yl)-6,7-dimethoxy-3-methylisobenzofuran-1(3H)-on.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.25 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H3); 7.56 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H4); 7.49 (1H, s, H8); 7.39 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H5 \prime); 7.30 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H4 \prime); 7.21 (1H, s, H5), 4.02 (3H, s, OCH_3), 3.92 (3H, s, OCH_3), 3.89 (3H, s, OCH_3), 3.81 (3H, s, OCH_3), 2.12 (3H, s, CH_3)

^{13}C NMR: (75 MHz, CD_3OD) δ 169.6, 155.3, 154.0, 153.8, 151.2, 148.9, 148.4, 140.4, 136.3, 122.8, 122.0, 121.3, 120.8, 118.3, 106.8, 105.3, 91.0, 62.4, 57.3, 56.3, 56.2, 29.4

ESI-MS m/z 396 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Sloučenina LC - 25



5. ZÁVĚR

V rámci této rigorózní práce byla určena struktura 3 neznámých sloučenin získaných izolací z rostliny *Corydalis cava* (dymnivka dutá) z čeledi (Fumariaceae) a rostliny *Eschscholtzia californica* (sluncovka kalifornská) z čeledi Papaveraceae provedenou na katedře farmaceutické botaniky a ekologie Farmaceutické fakulty v Hradci Králové.

Neznámá látka s kódovým označením LC - 1 byla identifikována jako 3-(1-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-1-yl)ethyl)-2,6-dimethoxyfenol. Tento alkaloid byl izolován a popsán vůbec poprvé⁸.

Struktura látky s kódovým označením LC - 8D, která byla v literatuře nazvána OR - 1, byla ověřena porovnáním naměřeného ¹H - NMR se spektrem v literatuře²⁶. Jedná se o 4-hydroxy-3,6-methoxy-N-methylmorfinan-7-on.

Neznámá látka s kódovým označením LC - 25 je 3-(6,7-dimethoxyisochinolin-1-yl)-6,7-dimethoxy-3-methyl-isobenzofuran-1(3H)-on. Tato sloučenina dosud v literatuře popsána nebyla.

6. LITERATURA

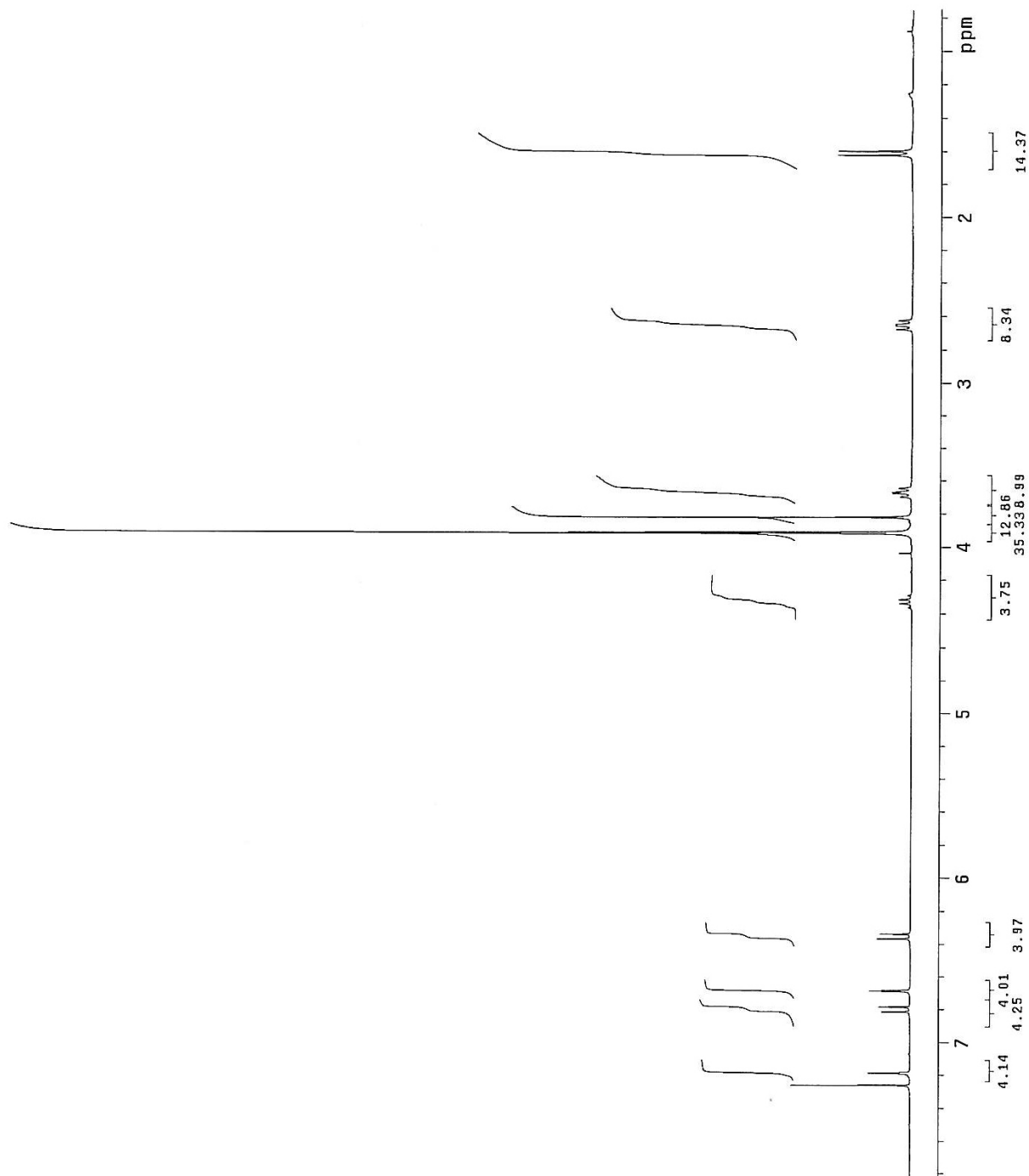
1. Schauer T., Svět rostlin [z německého originálu přeložil Volf M.], 1. vydání, Čestlice, Rebo Productions, 2007, 494 s., ISBN 978-80-7234-711-7, 72.
2. Novák J., Jedovaté rostliny kolem nás, 1. vydání, Praha, Grada Publishing, 2007, 176 s., ISBN 978-80-247-1549-0, 58-59.
3. Aichele D., Golte-Bechtle M., Co tu kvete? [z německého originálu přeložila Janáčková H.], 1. vydání, Praha, Ikar, 1996. 430 s. ISBN 80-85944-97-9, 236.
4. Randuška D. et al., Barevný atlas rostlin, 2. vydání, Bratislava, Obzor, 1983, 640 s., ISBN 735-21-85/8, 348.
5. Krejča J., Velká kniha rostlin, hornin, minerálů a zkamenělin [ze slovenského originálu přeložili. Chybová J. et al.], 1. vydání, Bratislava, Příroda, 1993, 384 s., ISBN 80-07-00595-1, 194.
6. Aichele D., Co tu kvete? [z německého originálu přeložil Miroslav Volf]. 1. vydání, Praha – Plzeň, Beta-Dobrovský & Ševčík, 2006, 446 s. ISBN 80-7306-243-7, 300.
7. Jahodář L., Farmakobotanika: semenné rostliny, 1. vydání, Praha, Karolinum, 2006, 258 s., ISBN 80-246-1225-9, 53.
8. Sekula M., Biologicky aktivní metabolity rostlin I. Alkaloidy *Corydalis cava* (L.) Schweigg&Körte (Fumariaceae) a screening jejich biologických vlastností. (Rigorózní práce) Hradec Králové, Univerzita Kalova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2010, 65 stran.
9. Fabre N. et al., *J.Chromatogr. A*, **2000**, 904, 35-46.
10. Větvička V., Letničky a dvouletky, 1. vydání, Praha, Aventinum, **1999**, 223 s., ISBN 80-7151-078-5, 92-93.
11. Paul L. D., Maurer H. H., *J.Chromatogr. B*, **2003**, 789, 43-57.
12. Vermeulen N., Encyklopedie letniček [z nizozemského originálu přeložil Volf M.], 1. vydání, Čestlice, Rebo Productions, 2001, 319 s., ISBN 80-7234-187-1, 120-123.
13. ---: Wikipedia.org: http://en.wikipedia.org/wiki/Adelbert_von_Chamisso, vystaveno dne 10. 6. 2010.

14. ---: Wikipedia.org: <http://en.wikipedia.org/wiki/Eschscholtz>, vystaveno dne 10. 6. 2010.
15. Pasečný P., Letničky a dvouletky pro zahrady a skalky, 1. vydání, Praha, Grada Publishing, 2004, 100 s., [20] s. obr. příl., ISBN 80-247-0827-2, 41-42.
16. Simon H., Letničky nejkrásnější jednoletky a dvouletky [z německého originálu přeložil Mašarák P.], 1. vydání, Čestlice, Rebo Productions, **2006**, 95 s., ISBN 80-7234-502-8, 52-53.
17. Mištová T., *Alkaloidy obsažené v rostlinách čeledi Papaveraceae Juss.* (Bakalářská práce) Zlín, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Technologická fakulta, 2009.
18. Blaschek, W. et al.: HagerROM 2006. Hagers Handbuch der Drogen und Arzneistoffe. CD-Realisierung: Informatik II, Universität Würzburg, [Programmversion 6.1], Springer Medizin Verlag Heidelberg **2006**.
19. Sturm S., Stuppner H., *Electrophoresis*, **1998**, 19, 3026-3032.
20. Slavík J., Slavíková L. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1986**, 51, 1743-1751.
21. Gafner S. et al., *J. Nat. Prod.* **2002**, 69, 432-435.
22. Beck M. A., Häberlein H., *Phytochemistry*, **1999**, 50, 329-332.
23. Doležal J., *Biologická aktivita obsahových látek VIII. Vliv alkaloidů z různých rostlinných taxonů na acetylcholinesterázu.* (Diplomová práce) Hradec Králové, Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta, 2008.
24. Silverstein R. M., Bassler G.C., Morrill T.C., Spectrometric identification of organic compound, 5.vydání, Singapore, John Wiley & Sons, Inc., **1991**, 420 s., ISBN 90-15514, 165-287.
25. Waisser K., Pour M., Organická chemie II, 2. opravené vydání, Praha, Karolinum, **2003**, 248 s., ISBN 80-246-0703-4, 58-91.
26. Shaffie A., Mahmoudi Z., Asgharian R., *J.Sci.I.R.Iran*, **1997**, 8, č.2, 1154-1156.

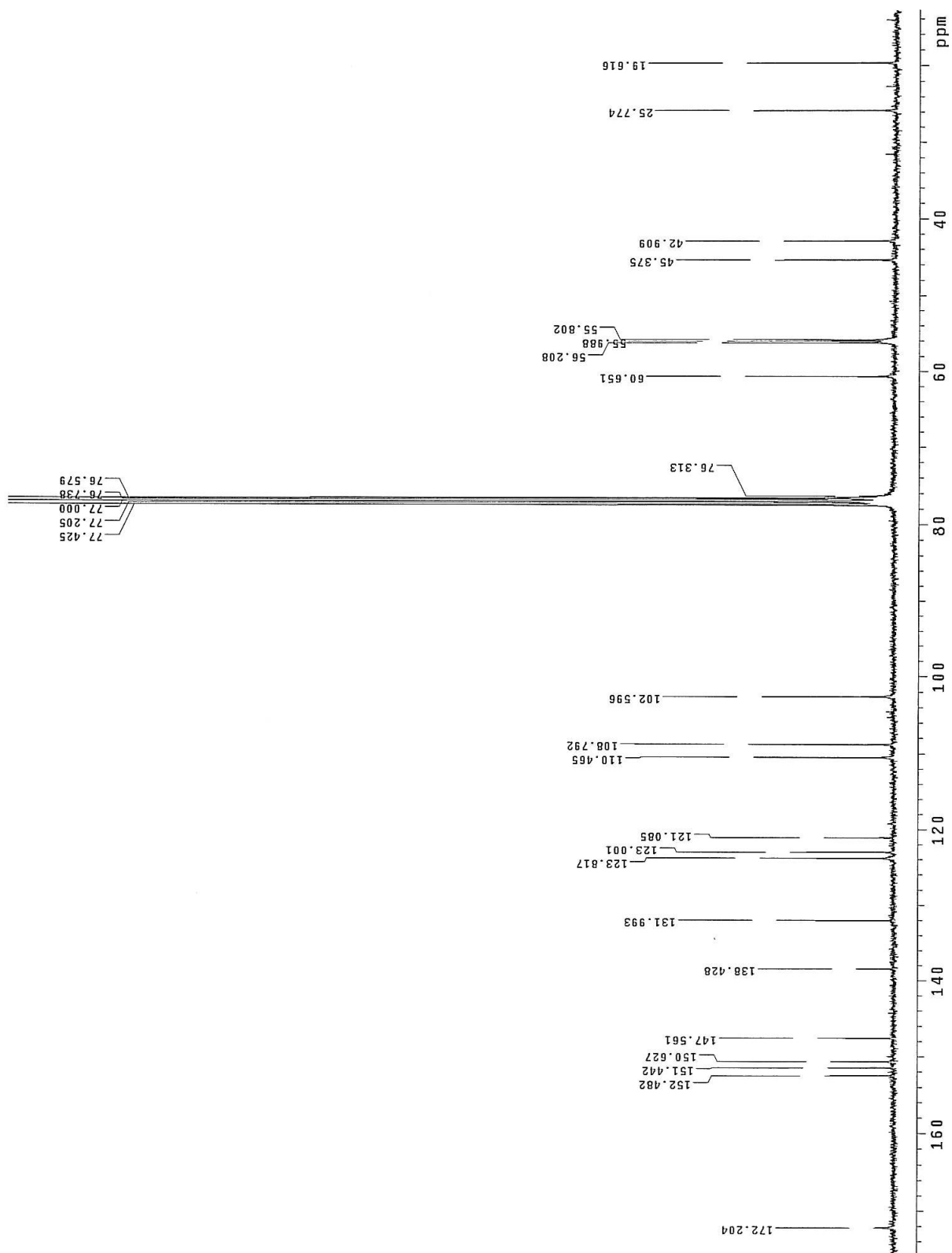
7. PŘÍLOHY

7.1. NMR spektra sloučeniny LC - 1

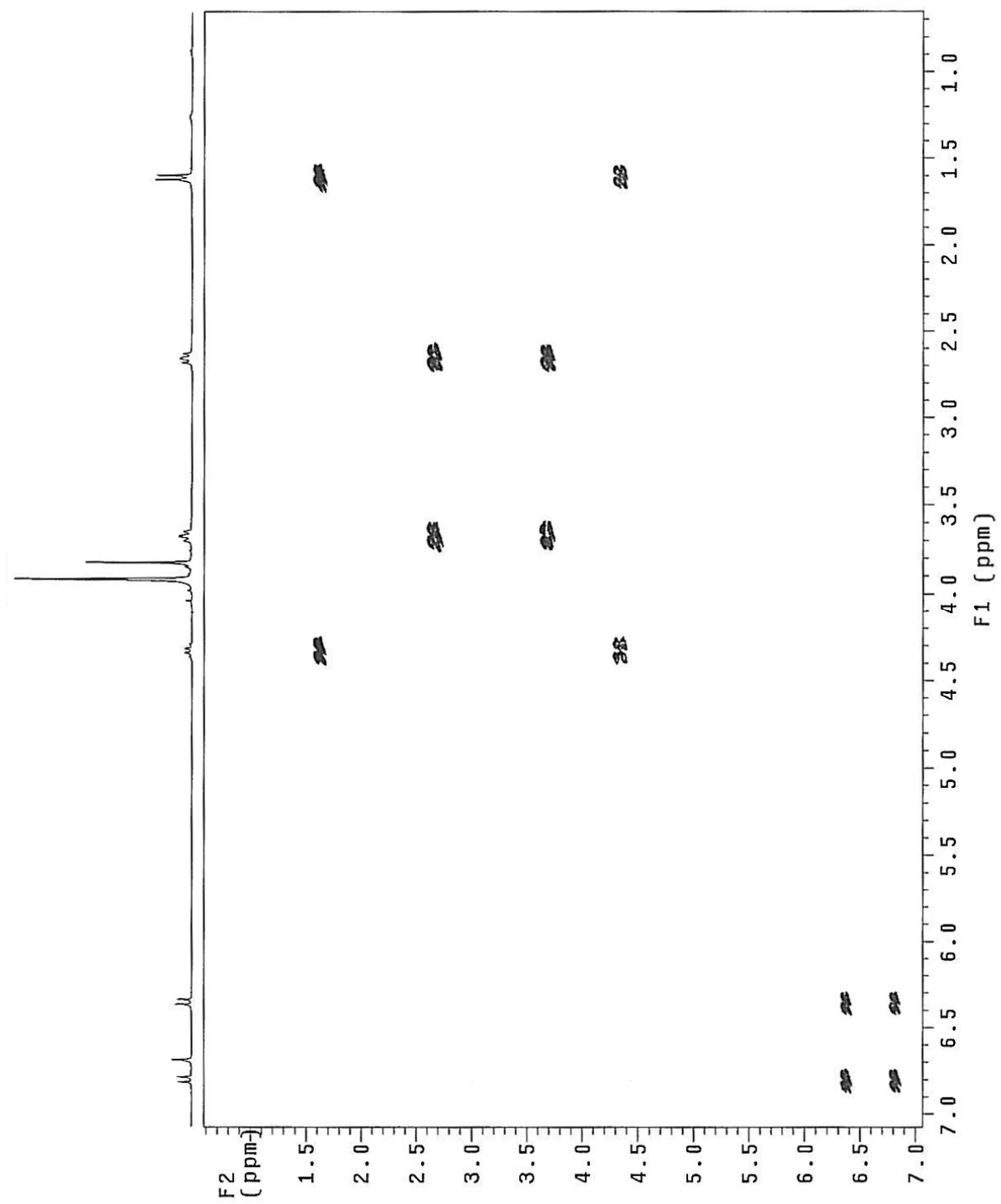
^1H - NMR



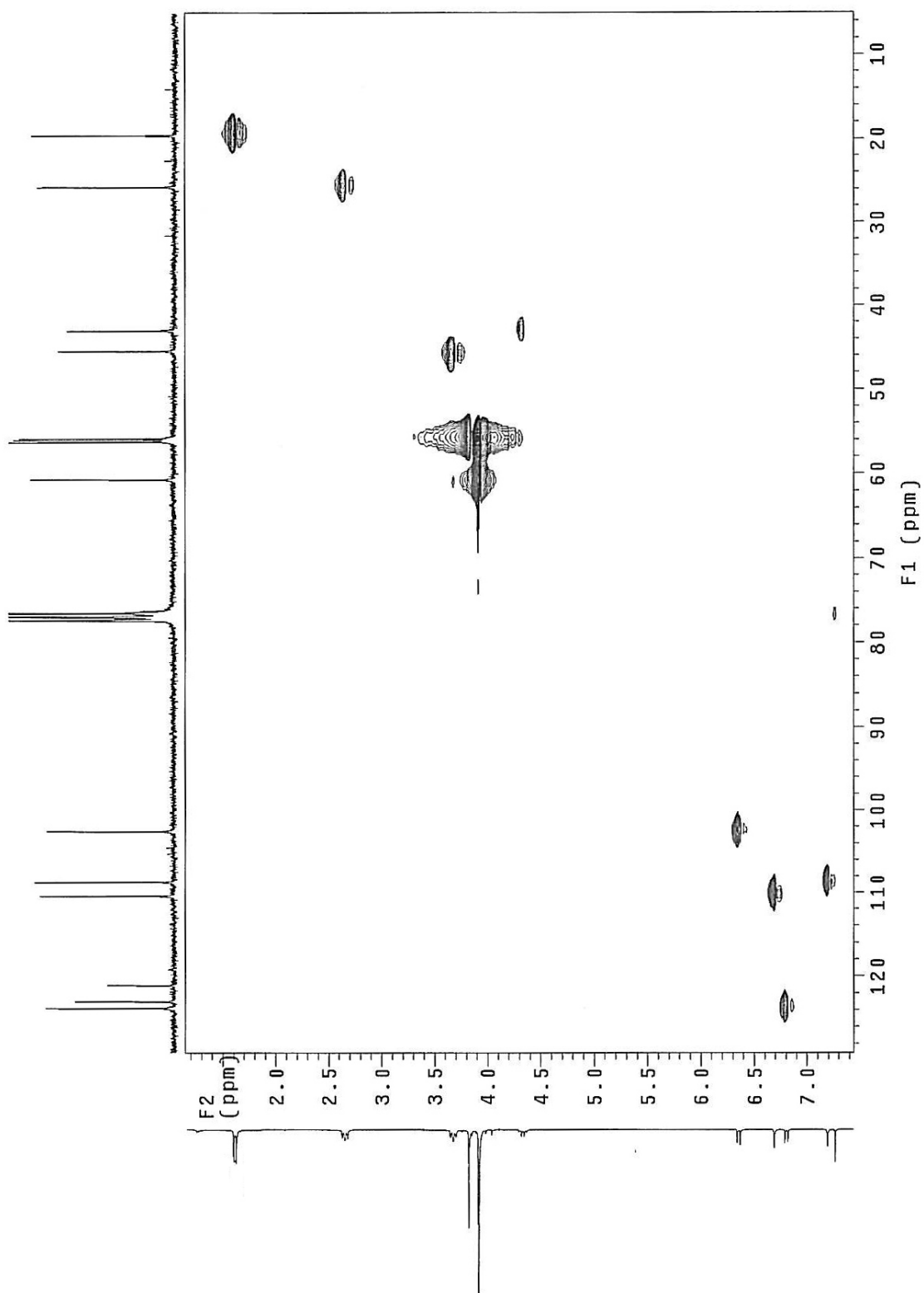
^{13}C - NMR



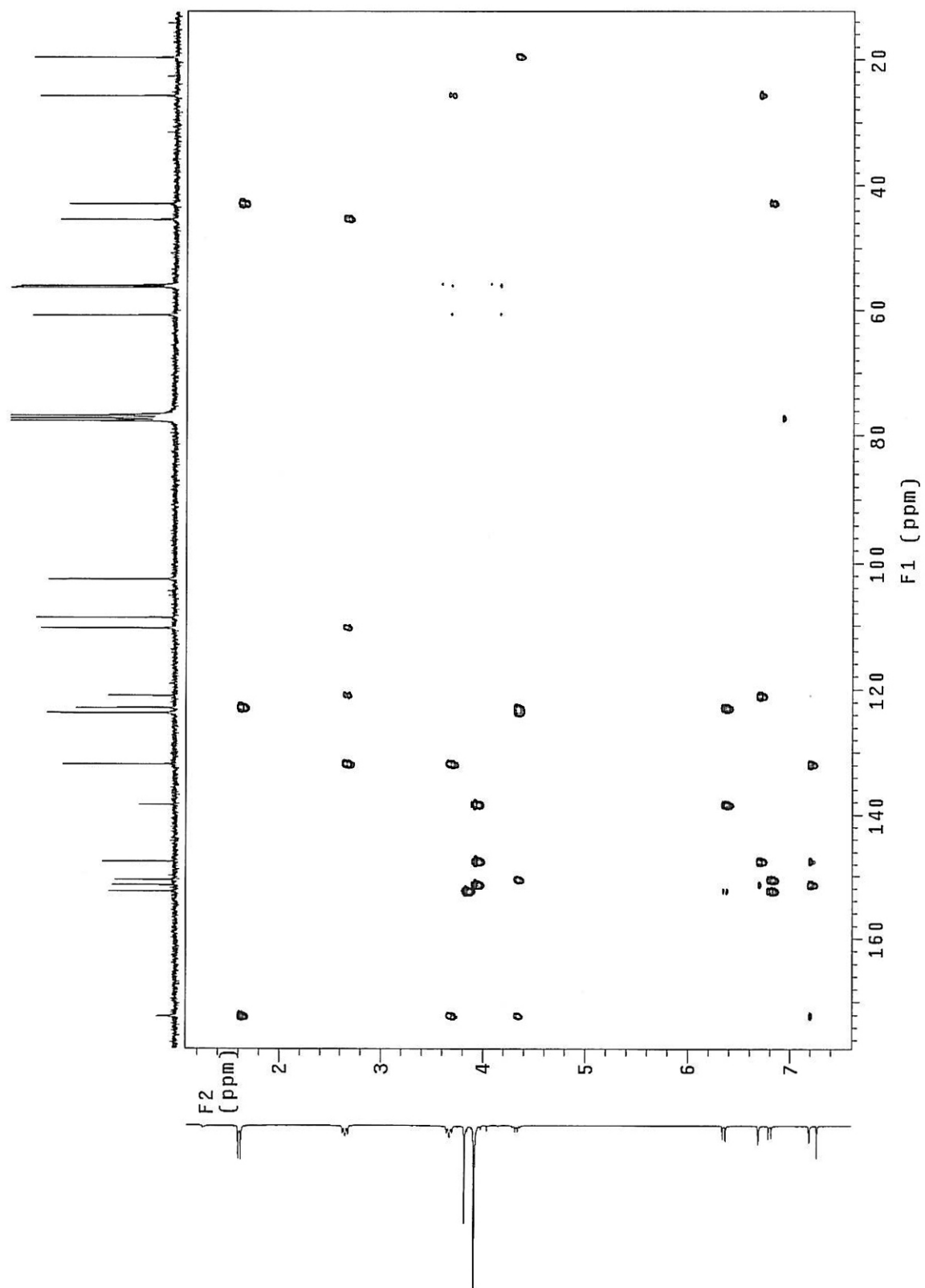
COSY



ghsqc

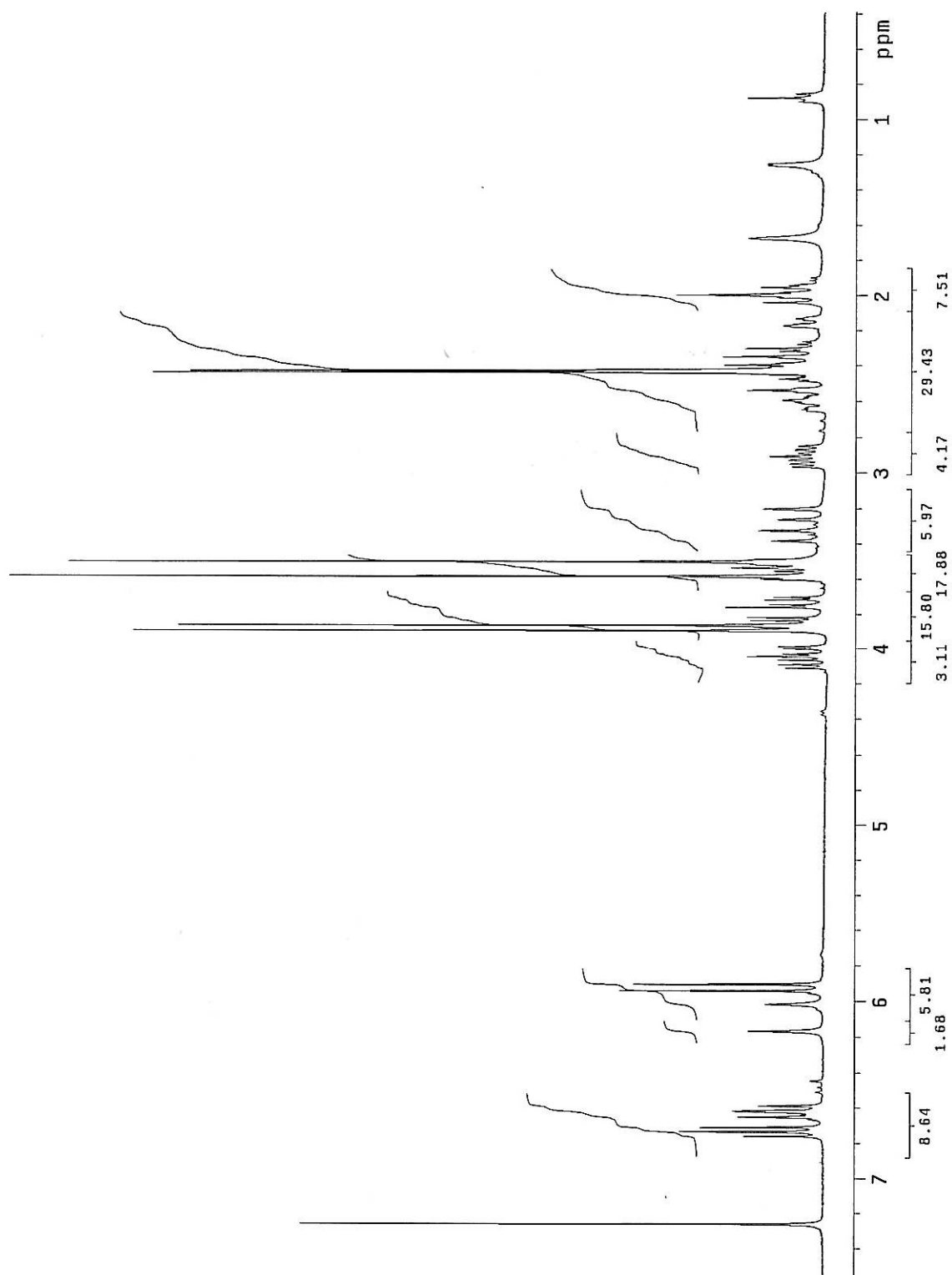


ghmbc

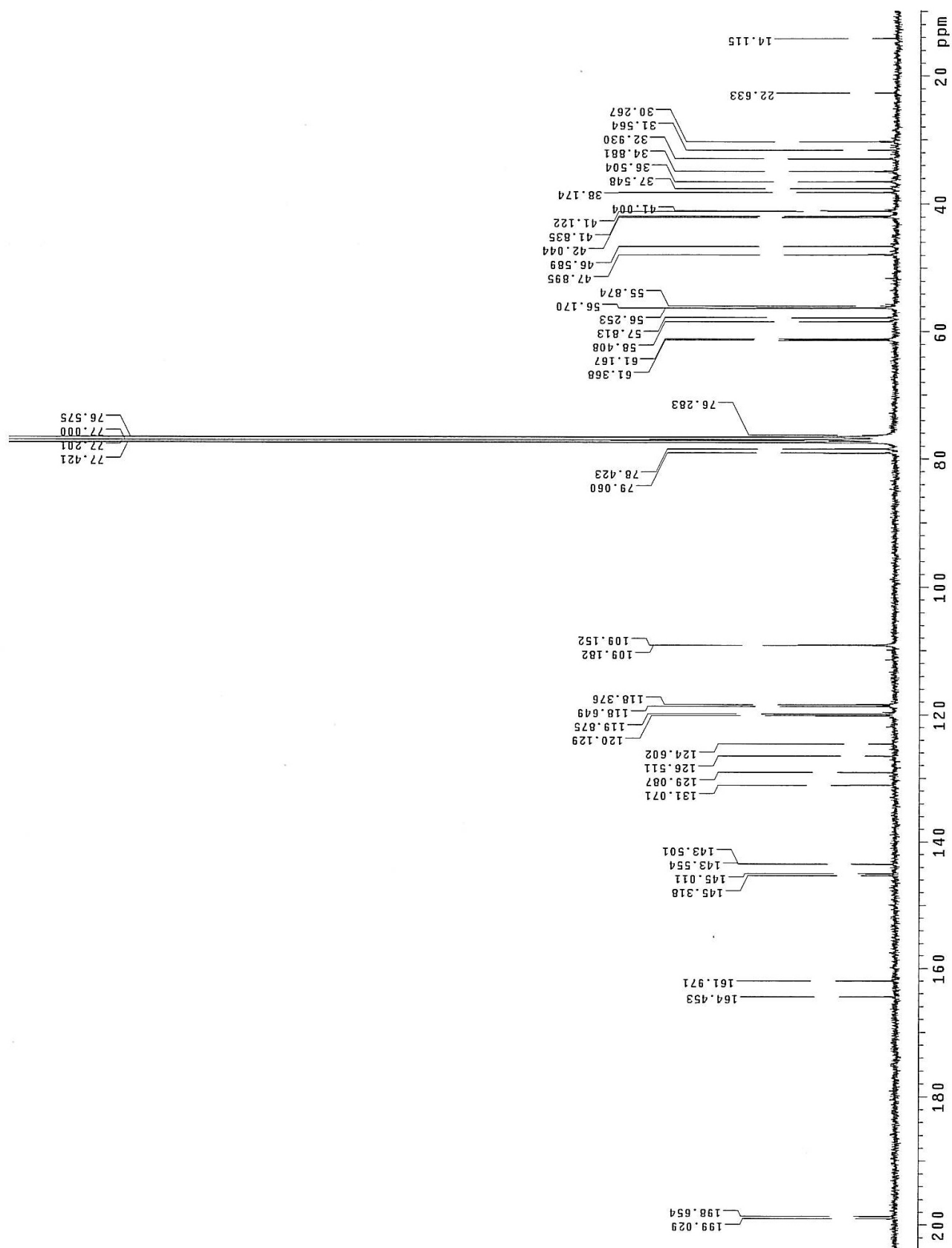


7.2. NMR spektra sloučeniny LC - 8D

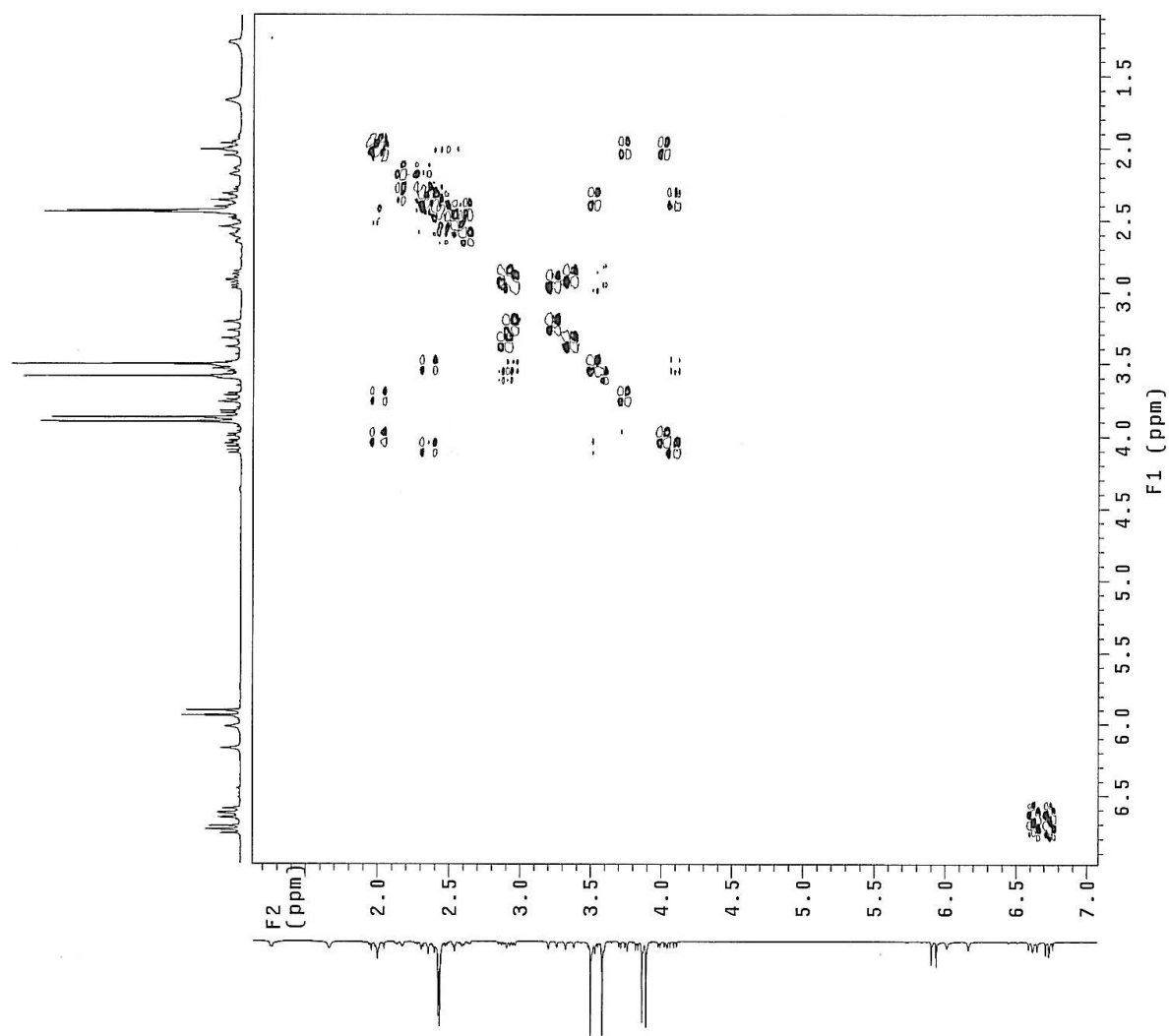
^1H - NMR



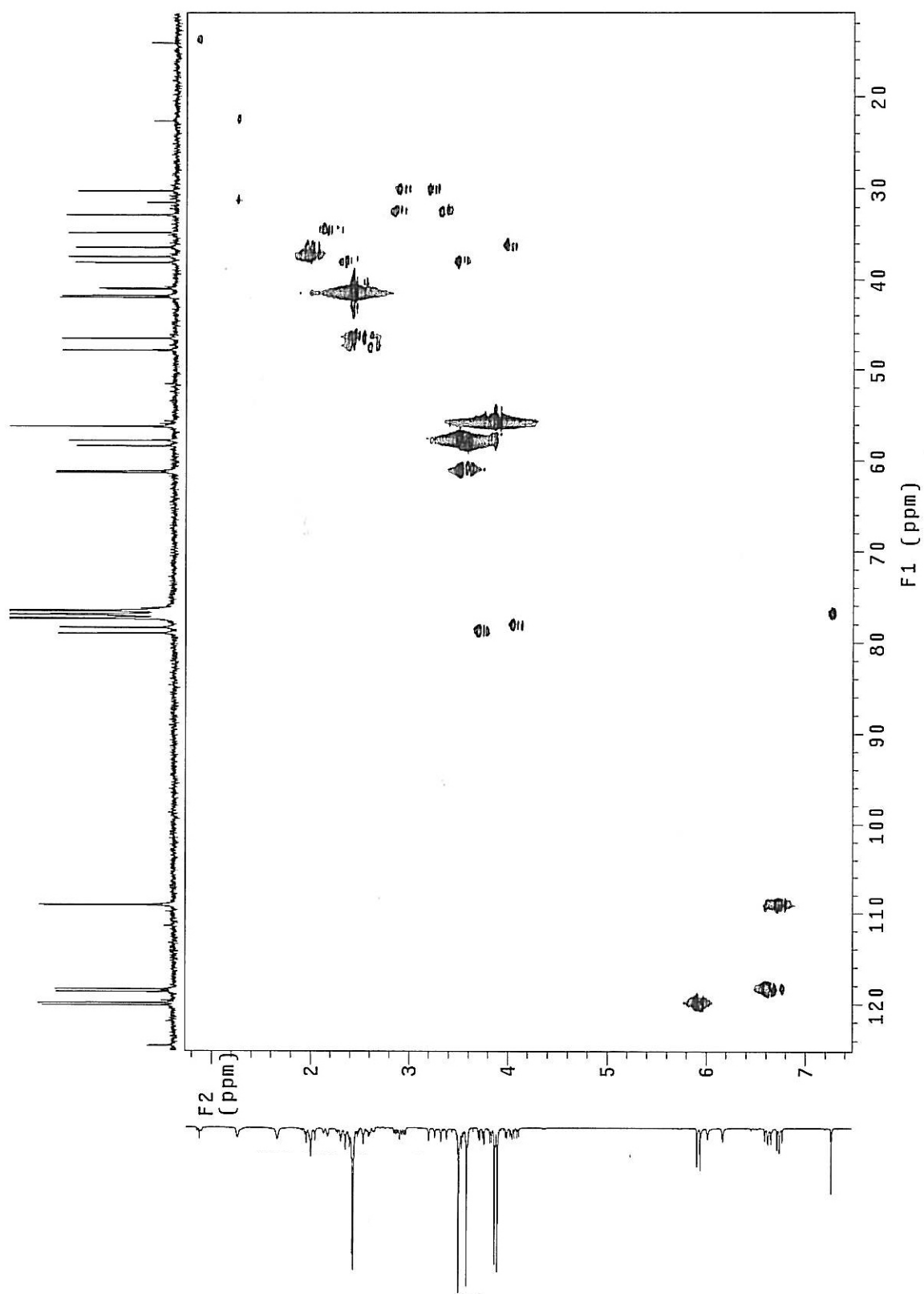
^{13}C - NMR



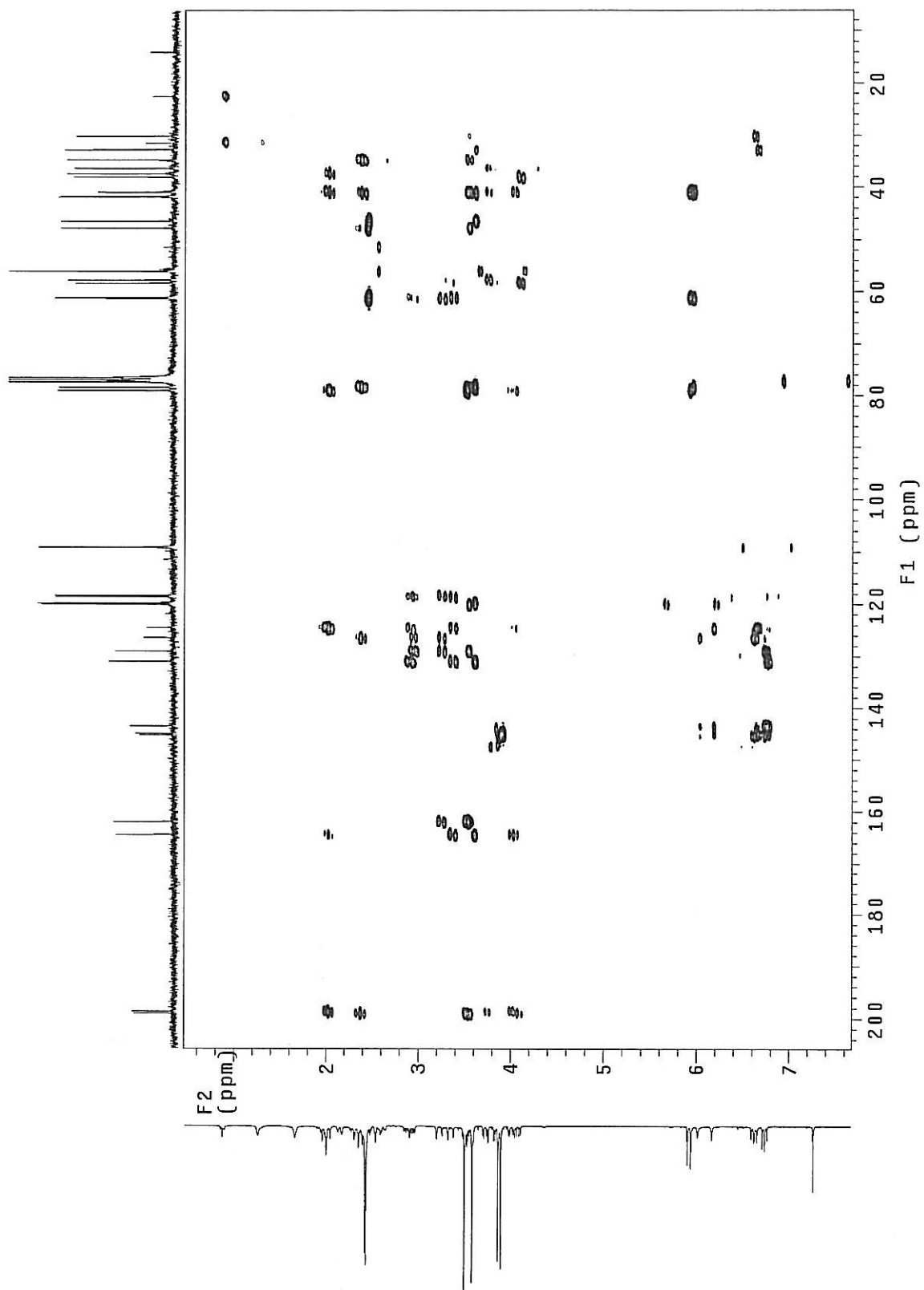
COSY



ghsqc

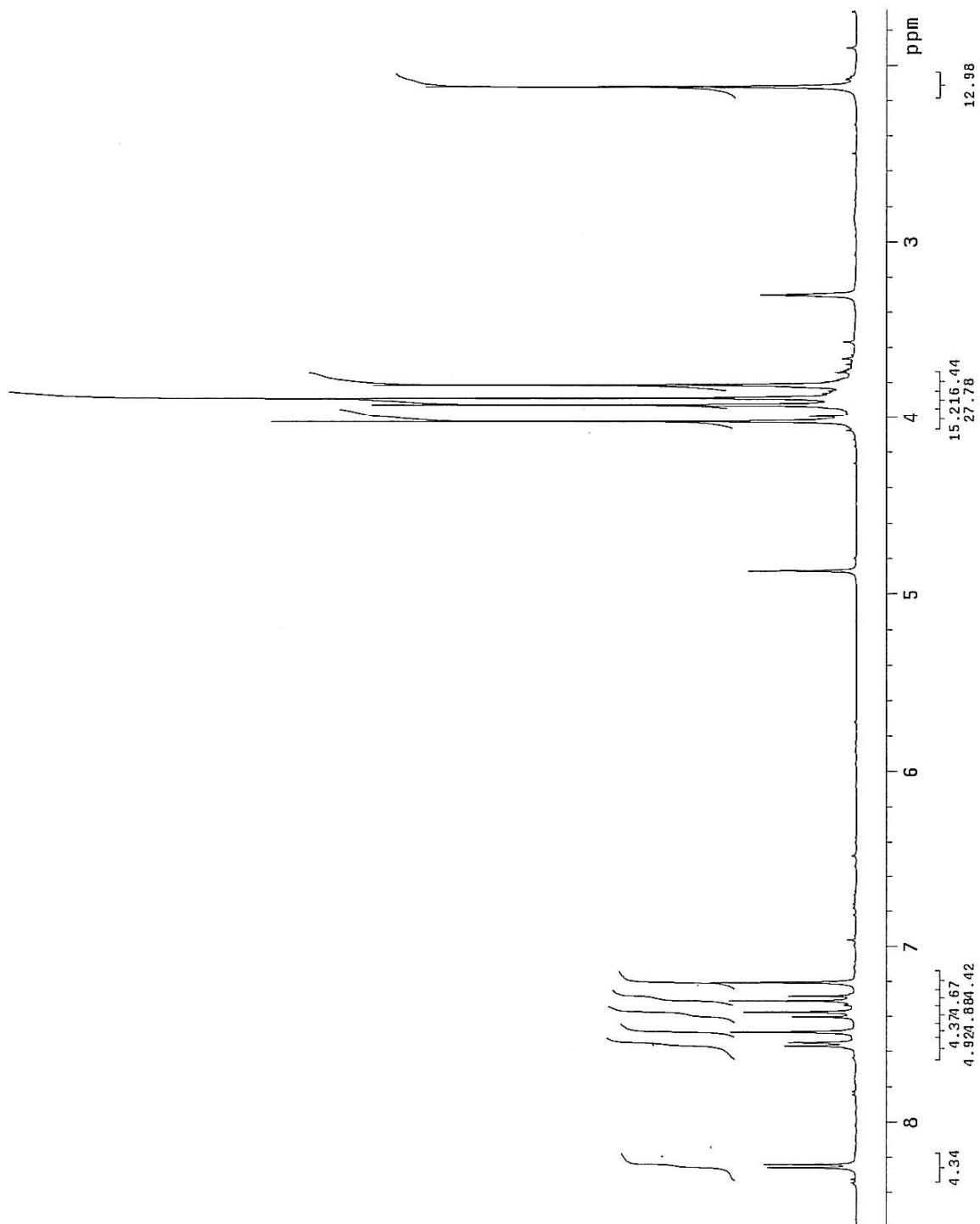


ghmbc

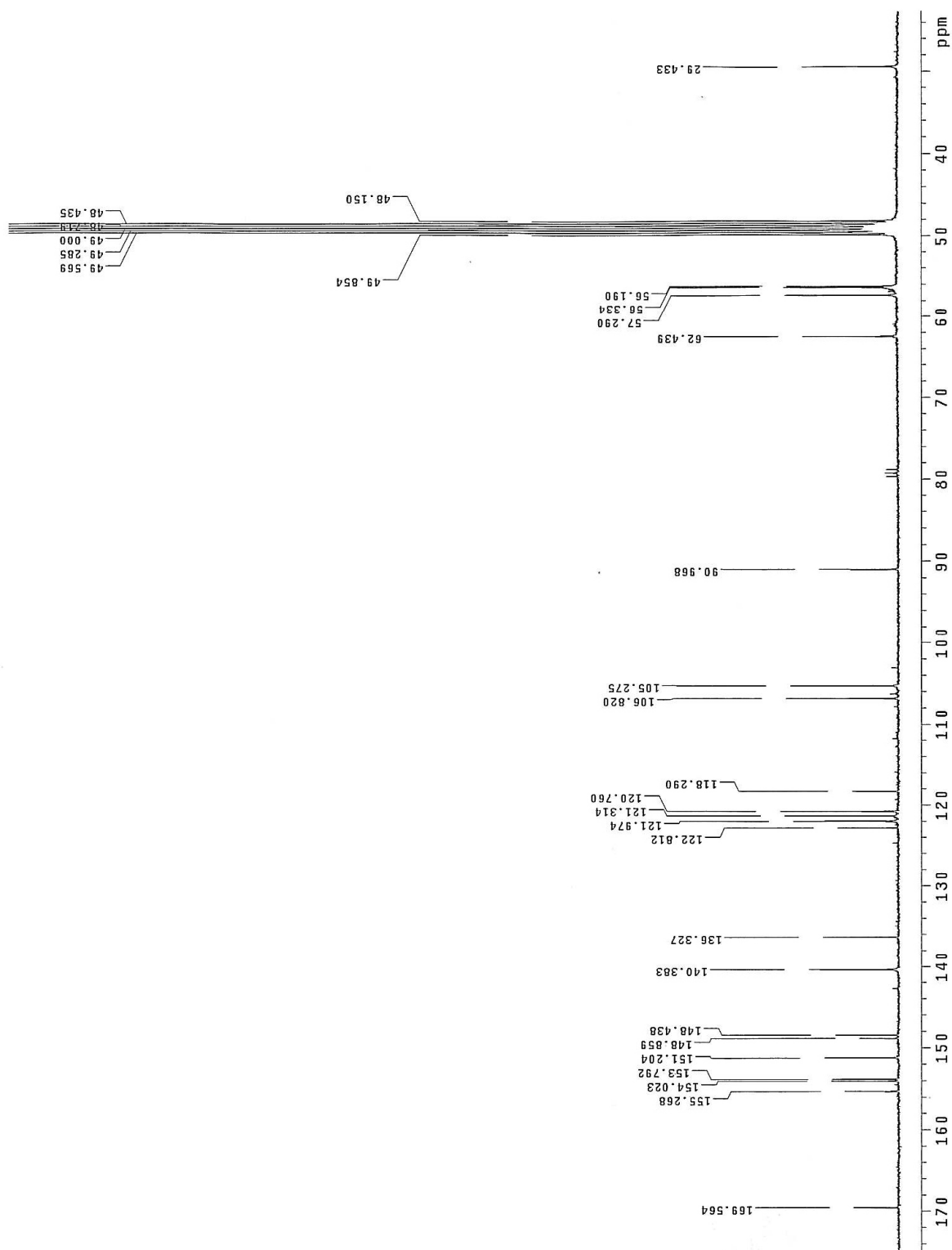


7.3. NMR spektra sloučeniny LC - 25

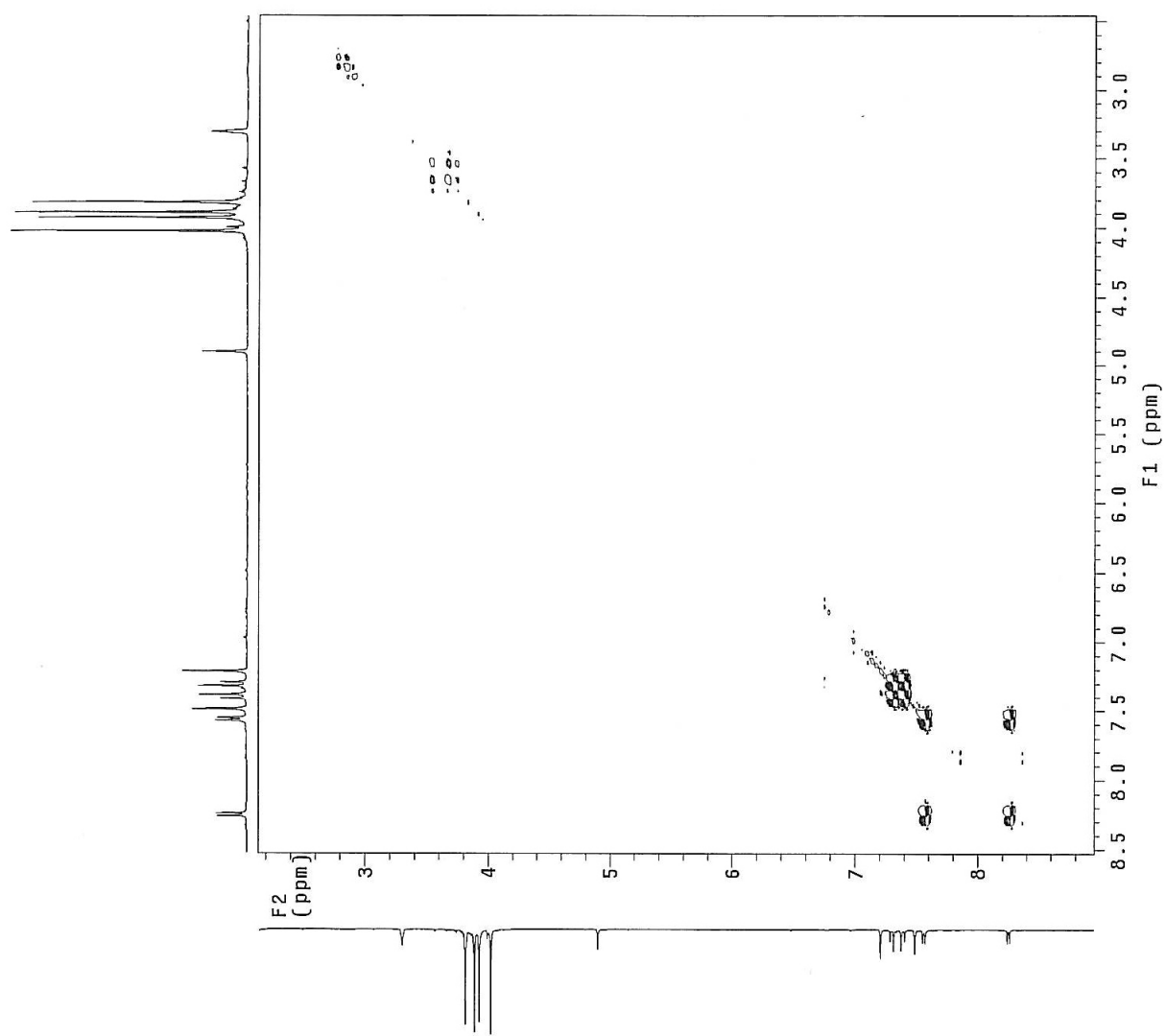
^1H - NMR



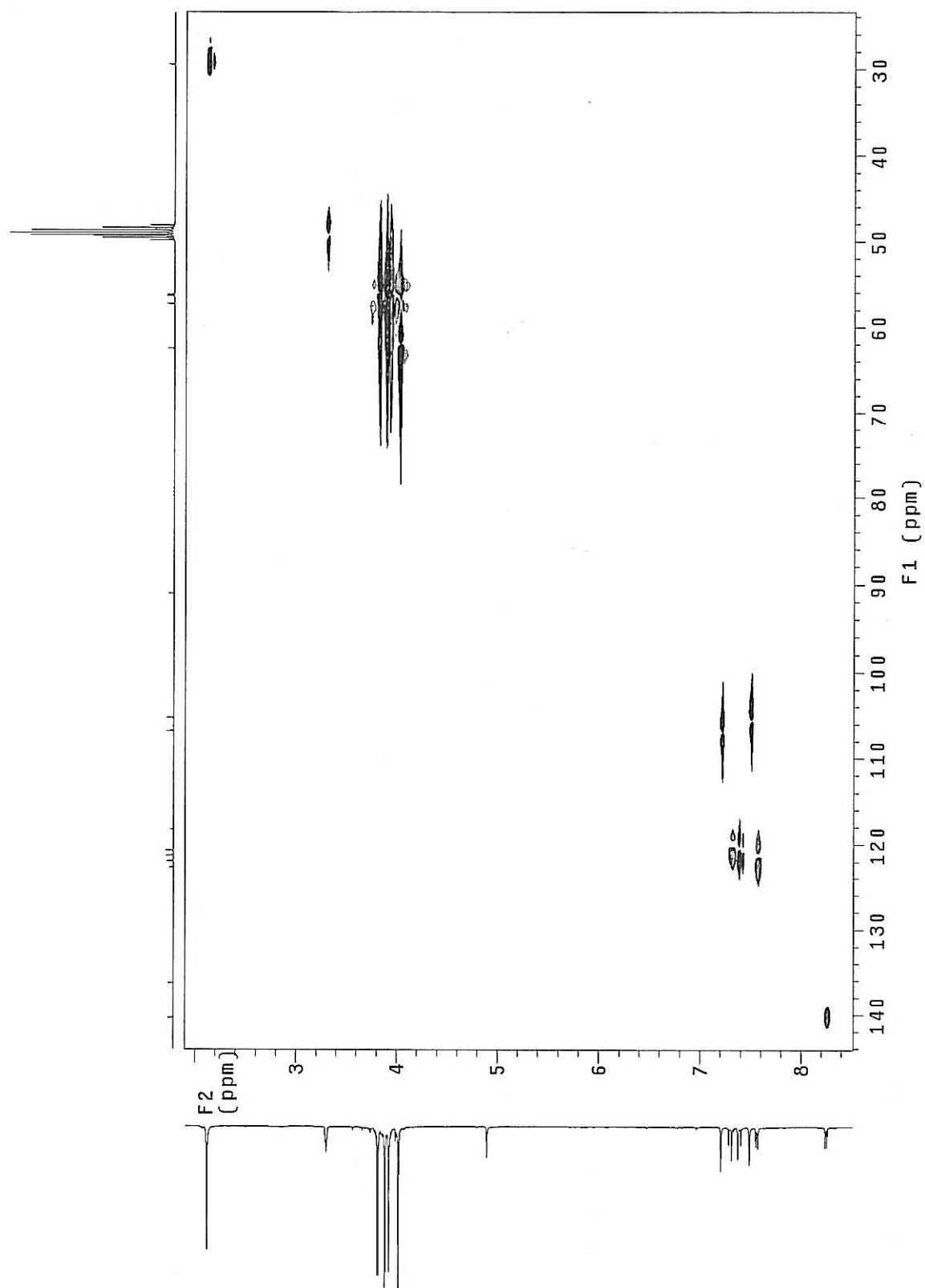
^{13}C - NMR



COSY



ghsqc



ghmbc

