

UNIVERZITA KARLOVA

**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA ORGANICKÉ A BIOORGANICKÉ CHEMIE**



Využití NMR při strukturní analýze alkaloidů izolovaných z

Magnolia × soulangeana

NMR Analysis of the Alkaloids Isolated from *Magnolia x soulangeana*

DIPLOMOVÁ PRÁCE

KATEŘINA MIKLÍK

Hradec Králové, 2019

PODĚKOVÁNÍ

Tímto děkuji vedoucímu této diplomové práce doc. PharmDr. Jiřímu Kunešovi, CSc. za veškerou pomoc a čas, který mi věnoval.

Dále děkuji svým rodičům a manželovi za veškerou pomoc a podporu při studiu.

PROHLÁŠENÍ

„Já, níže podepsaná Kateřina Miklík, 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 jsou v práci citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové dne 15. 5. 2019

Kateřina Miklík

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra organické a bioorganické chemie

Kandidát: Kateřina Miklík

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

Název diplomové práce: Využití NMR při strukturní analýze alkaloidů izolovaných z *Magnolia × soulangeana*

Klíčová slova: Magnolia, NMR spektroskopie, alkaloidy

Tato práce se věnuje problematice strukturní analýzy pomocí nukleární magnetické rezonance tří neznámých sloučenin izolovaných z *Magnolia × soulangeana*. Teoretická část práce je zaměřena na čeleď Magnoliaceae, do které *Magnolia × soulangeana* patří. V úvodu experimentální části jsou popsány obecné metody 1D NMR (^1H NMR, ^{13}C NMR) a 2D NMR (gHSQC, gHMBC, gCOSY, NOESY) spektroskopie. Následuje chronologický popis postupu při určování struktur neznámých látek. Poslední část práce shrnuje výsledky experimentů.

ABSTRACT

Charles University in Prague

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Organic and Bioorganic Chemistry

Candidate: Kateřina Miklík

Supervisor: doc. PharmDr. Jiří Kuneš, CSc.

Title of Thesis: NMR Analysis of the Alkaloids Isolated from *Magnolia x soulangeana*

Keywords: Magnolia, NMR spectroscopy, alkaloids

This diploma is devoted to structural analysis of the unknown chemical substances isolated from *Magnolia × soulangeana* employing NMR spectroscopy. Theoretical part of this diploma is focused on Magnoliaceae family, the family of *Magnolia × soulangeana*. General methods of NMR spectroscopy experiments - 1D NMR (^1H NMR, ^{13}C NMR) a 2D NMR (gHSQC, gHMBC, gCOSY, NOESY) are described at the beginning of the experimental part. Followed by chronological interpretation of the NMR spectra. The last part summarizes the experimental parts results.

OBSAH

1	Úvod.....	7
1.1	Čeleď Magnoliaceae	7
1.2	Rod Magnolia.....	7
1.3	Obsahové látky.....	7
1.4	Využití v medicíně	8
1.5	Magnolia × soulangeana Soul.-Bod.	9
1.6	Obsahové látky Magnolia × soulangeana Soul.-Bod.	10
1.6.1	Alkaloidy.....	10
1.6.2	Neolignany	11
1.6.3	Lignany	12
1.6.4	Další látky	13
2	Cíl práce	14
3	Experimentální část.....	15
3.1	¹ H-NMR experiment	15
3.2	¹³ C NMR	16
3.3	2D NMR experimenty.....	17
3.4	Instrumentální vybavení.....	17
4	Výsledky s komentářem.....	18
4.1	MagG3B.....	18
4.3	MAG-G1	27
4.4	MAG-H3	36
5	Závěr	44
6	Citovaná literatura.....	45
7	Přílohy.....	47
7.1	MagG3B.....	47
7.2	MAG-G1	53
7.3	MAG-H3	59

1 Úvod

1.1 Čeleď Magnoliaceae

Magnoliaceae, šácholánovité. Čeleď obsahující kolem 220 druhů opadavých nebo stálezelených keřů a stromů. Ty jsou domácí v subtropickém a tropickém klimatu jihovýchodní Asie, část pochází i z oblasti od jihu Severní Ameriky po Brazílii. V mírném klimatu, včetně České republiky, jsou pěstovány pro okrasu. Charakteristickým znakem jsou velké jednotlivé oboupohlavní květy, které mají často silnou vůni. Plodem jsou měchýřky nebo nažky, které skládají souplodí připomínající šišku. Listy jsou jednoduché, střídavé. ⁽¹⁾⁽²⁾

1.2 Rod Magnolia

Rod *Magnolia* L., šácholan, který má přibližně 75 druhů, byl pojmenován po francouzském botanikovi Pierru Magnolovi. Keře nebo stromy mají velké pupeny, listy jsou velké, eliptické až obvejčité, střídavé, na vrcholcích větví. Okvětní lístky se skládají až z 18 lupenů, které jsou spirálovitě nebo přeslenatě uspořádané. Plodem jsou charakteristické měchýřky v souplodích v podobě šištic, semena velká a červená. ⁽¹⁾⁽³⁾ Mezi populární druhy magnolií patří mimo jiné *M. officinalis*, *M. grandiflora*, *M. obovata*, *M. acuminata*, *M. kobus*, *M. salicifolia*, *M. virginiana*, *M. acuminata*, *M. stellata*. ⁽²⁾⁽⁴⁾

1.3 Obsahové látky

Byla izolována celá řada sekundárních metabolitů, jako jsou alkaloidy, flavonoidy, lignany a neolignany, terpeny nebo kumariny. ⁽⁵⁾ Isochinolinové alkaloidy jsou hlavní skupinou alkaloidů rodu *Magnolia*. ⁽⁶⁾ Biologicky jsou odvozeny od aminokyseliny tyrosinu. Mezi nejběžnější alkaloidy patří liriodenin. Tyto alkaloidy se dělí dle typu na:

- aporfinové a noraporfinové, mezi které patří např. anonain, anolobin, asimilobin, obovanin, lanuginosin, nornuciferin, oxolaurelin, liriodenin, roemerin,
- benzylisochinolinové, kam patří látky armepavin, koklaurin, norarmepavin, methylarmepavin, retikulin, magnoflorin, magnokurarin,
- bisbenzylisochinolinové, které jsou dimery benzylisochinolinových alkaloidů, např. magnolamin, magnolin. ⁽²⁾

Vyskytují se i protoalkaloidy, které mají atom dusíku mimo heterocyklický kruh, např. magnosprengerin, salicifolin, taspin. Největší skupinou sekundárních metabolitů nacházející se v rodu *Magnolia* jsou neolignany, které jsou odvozeny od dvou C₃-C₆ jednotek. Rozděleny jsou na několik typů:

- bifenyl-etherový: magnolianin, magnolignan,
- bifenylový: nejčastěji se vyskytující neolignany honokiol a magnolol, magnaldehydy, magnolignany, magnotriol A a B,
- terpenylový: vznikl spojením neolignanové a terpenické jednotky, např. bornylmagnolol,
- jiné neolignany, např. denudatin A, denudatin B, aurein, cyklohexadienon, liliflon, soulanganin.

Lignany jsou opticky aktivní látky složené ze dvou fenylypropanových jednotek, v rodu *Magnolia* se vyskytují lignany dvojího typu. Tetrahydrofurofuranový typ, do kterého patří např. eudesmin, sesamin, pinoresinol, fargesin a tetrahydrofuranový typ, např. veraguensin, magnolon, masnostellin A, magnon A a B.

Z terpenů se nejčastěji vyskytují seskviterpeny, přesněji seskviterpenické laktony, které jsou složené ze tří isoprenových jednotek, např. soulanganolid A B, parthenolid, magnolialid, kobusimin A a B. Dále se vyskytují monoterpeny, např. citral A a B, cineol, kafr, α a β pinen, vzácně pak tetraterpeny. ⁽²⁾

1.4 Využití v medicíně

Některé druhy se používaly a stále se používají v tradiční čínské a japonské medicíně na léčbu nemocí od jednoduchých bolestí hlavy přes sedativní a antikonvulzivní účinky až k závažným nádorovým onemocněním. *M. grandiflora* se používala k léčbě nachlazení, bolestí hlavy a břicha, *M. officinalis* se užívala k léčbě úzkosti, břišního tyfu nebo astma a *M. obovata* jako digestivum a analgetikum. *M. virginiana* k léčbě malárie. Nejčastěji se používala *Magnoliae cortex*. ⁽²⁾ Popisovány jsou také antipyretické, antibakteriální, antifungální a protinádorové vlastnosti, sedativní působení a zlepšení kognitivních funkcí. ⁽¹⁾⁽⁵⁾

Do dnešní doby byla izolována řada obsahových látek, např. nejznámější honokiol a magnolol, které mají sedativní účinky na centrální nervovou soustavu. Magnolol mimo jiné předchází žaludečním vředům způsobených stresem inhibicí sekrece kyseliny chlorovodíkové. Magnokurarin vykazuje myorelaxační účinky. ⁽²⁾ Magnoflorin má protizánětlivou, hypotenzní a parasymptomimetickou aktivitu. ⁽⁶⁾

1.5 *Magnolia* × *soulangeana* Soul.-Bod.

Magnolia × *soulangeana* Soul.-Bod., magnolie Soulangeova či šácholan Soulangeův z čeledi Magnoliaceae Juss. – šácholanovité. Vznikla křížením *Magnolia denudata* Desr. a *Magnolia liliiflora* Desr., které pocházejí z Japonska. Tento hybrid vyšlechtil Étienne Soulange-Bodin ve Francii kolem roku 1820. ⁽⁷⁾ Existuje velká řada kultivarů, např. *Alba superba*, *Brozzonii*, *Coates*, *Rustica Rubra*, *Speciosa*. ⁽³⁾ U nás byla poprvé vysazena roku 1844 v Praze v Královské oboře, dnešním parku Stromovka. ⁽⁸⁾

Jedná se o opadavý, široce protáhlý keř nebo strom, který je vysoký až 5 m. Kůra je popelavě šedá, letorosty a pupeny zelenavě plstnaté. Listy jsou zelené, obvejčité až eliptické, kožovité, 10–20 cm dlouhé a 7–10 cm široké, na rubu více nebo méně chlupaté.

Květy se vyvíjejí už před vyrašením listů v dubnu až květnu. Jsou velké, zvonkovité a vzpřímené, asi 10 cm dlouhé, nejčastěji bílé až růžové. Mají 6–9 dovnitř zahnutých plátků. Plodem jsou měchýřky ve vzpřímených, šiřticovitých, dřevnatějících souplodích. Semena sytě červená, zralá visí na stopkách z otevřených měchýřků.



Obrázek 1- *Magnolia* × *soulangeana* Soul.-Bod ⁽⁸⁾

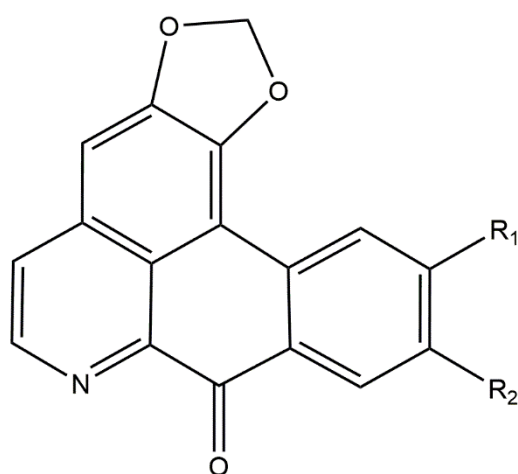
Jedná se o nepůvodní, pěstovaný druh, nejčastější magnolie v zahradách a parcích. Vyžaduje slunné podmínky, proto je nejlepší ji pěstovat soliterně, v propustné, nezamokřené půdě s menším obsahem vápníku. Jsou opylovány především brouky. Rozmnožují se předpěstováním, řízkováním, hřížením a roubováním. Jako podnož se používá *Magnolia kubus*. Mladé rostliny je dobré chránit před vymrzáním. Dobře snáší znečištěné městské ovzduší. Může způsobovat alergie. ^{(2) (8) (9) (10) (11)}

1.6 Obsahové látky *Magnolia × soulangeana* Soul.-Bod.

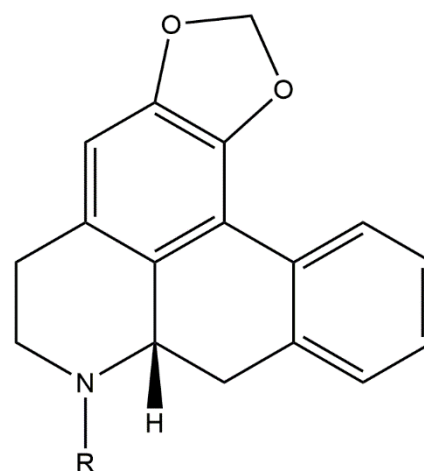
Nejhojněji zastoupené sekundární metabolity jsou isochinolinové alkaloidy, lignany a neolignany. Alkaloidy *M. × soulangeana* mají znatelný inhibiční potenciál proti acetylcholinesteráze. ^{(2) (12)}

1.6.1 Alkaloidy

- kůra – oxolaurelin ⁽¹³⁾
- listy, větve, kůra – anonain, liriodenin, remerin ^{(2) (13) (14)} asimilobin ⁽¹²⁾, magnoflorin ⁽⁶⁾, lanuginosin, kaaverin ⁽¹⁵⁾

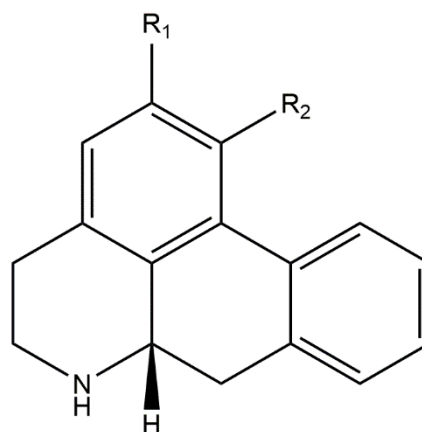
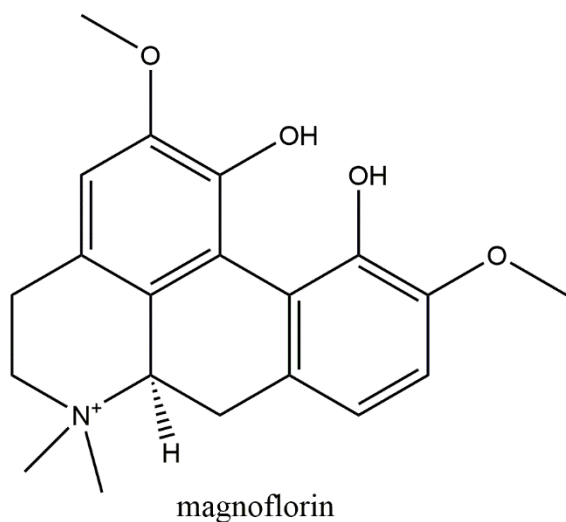


$R_1 = R_2 = H$ liriodenin
 $R_1 = OCH_3, R_2 = H$ oxolaurelin
 $R_1 = H, R_2 = OCH_3$ lanuginosin



$R = H$ anonain
 $R = CH_3$ remerin

Obrázek 2 - Alkaloidy *M. × soulangeana*

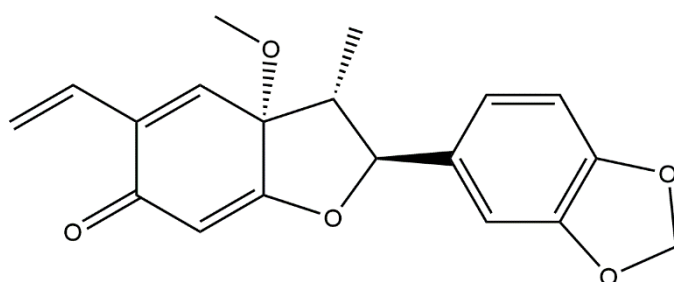


$R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{OH}$ kaaverin
 $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{OCH}_3$ asimilobin

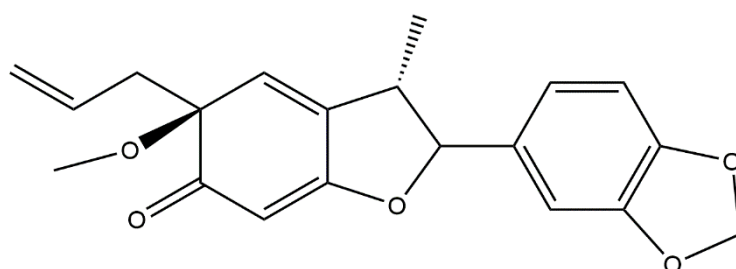
Obrázek 2 - Alkaloidy *M. × soulangeana* (pokračování)

1.6.2 Neolignany

- květní poupata – aurein, cyklohexadienon, denudatin A, denudatin B, saulangianin, liliflon, piperenon ^{(5) (2) (6) (16)}

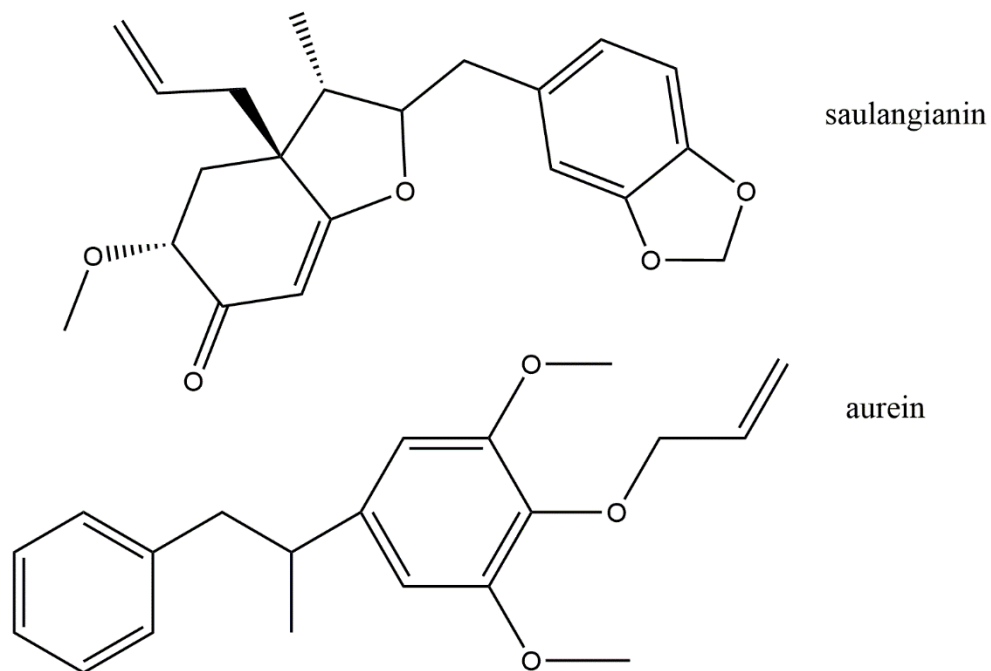


$R_1 = R_2 = -\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$ denudatin A
 $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$ denudatin B



cyklohexadienon

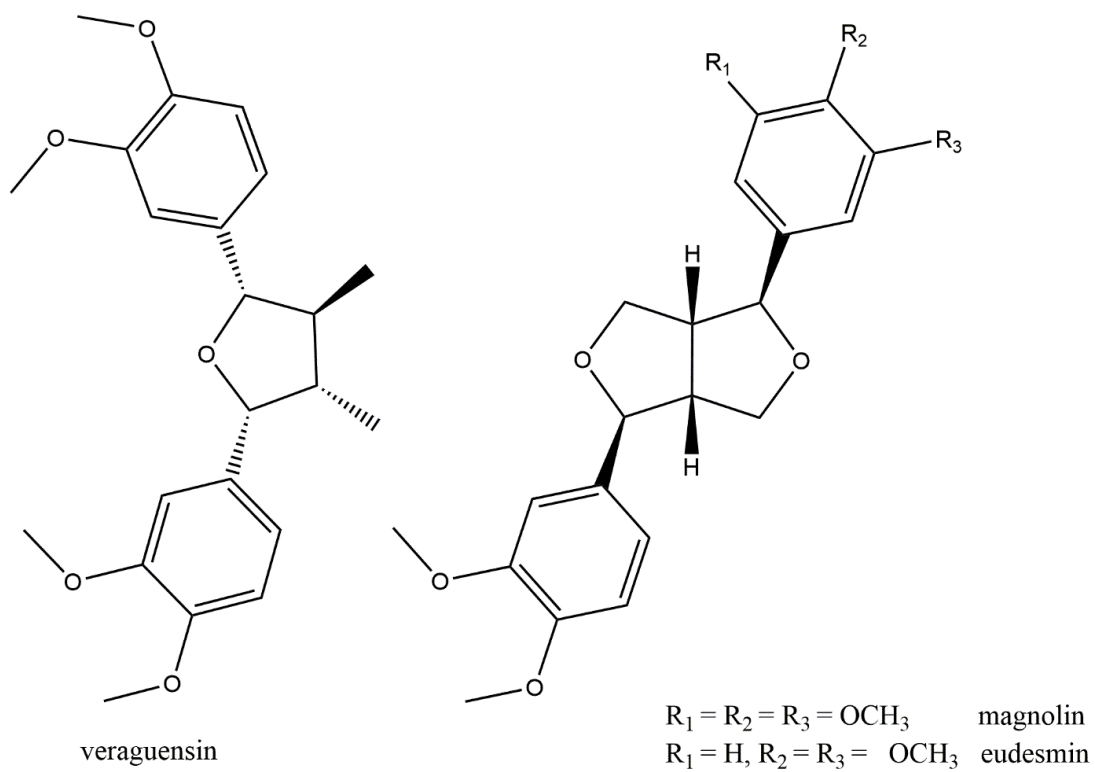
Obrázek 3 – Neolignany *M. × soulangeana*



Obrázek 3 - Neolignany *M. × soulangeana* (pokračování)

1.6.3 Lignany

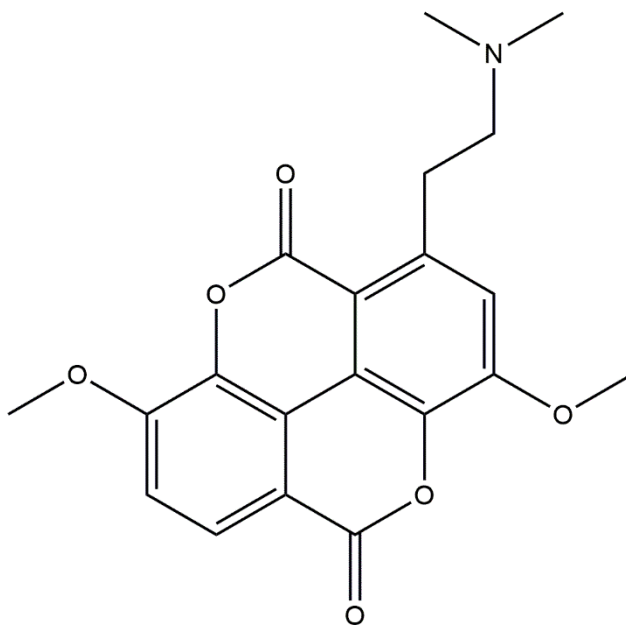
- květní poupata – eudesmin (pinoresinol dimethyl ether), veraguensin^{(2) (5) (16)}
- listy – magnolin⁽²⁾



Obrázek 4 - Lignany *M. × soulangeana*

1.6.4 Další látky

Mimo isochinolinových alkaloidů obsahuje i látku taspin, která nese na jednom aromatickém kruhu dimethylaminoethylovou skupinou, a proto patří mezi protoalkaloidy. ⁽¹²⁾ Dále obsahuje v plodech flavonoid poenidin-3,5-diglukosid, v květech rutin a v listech seskviterpeny soulangianolid A, soulangianolid B, dále chromanoly a α -tokoferol. ⁽²⁾



taspin

Obrázek 5 – Struktura taspinu

2 Cíl práce

Cílem této diplomové práce bylo určit strukturu tří neznámých látek izolovaných z *Magnolia × soulangeana*. Tyto látky nesou kódové označení MagG3B, MAG-G1 a MAG-H3.

3 Experimentální část

Nukleární magnetická rezonance je hojně využívanou analytickou metodou. Jedná se o instrumentální fyzikálně-chemickou metodu strukturního výzkumu. Základním principem této metody je zkoumání absorpce elektromagnetického záření chemickými látkami v magnetickém poli. Jedná se o významnou metodu, kterou lze aplikovat na nízkomolekulární i vysokomolekulární látky. Nutnou podmínkou je, aby zkoumaná látka obsahovala jádra s nenulovým magnetickým momentem ($\mu \neq 0$), a tím také nenulovým jaderným spinovým kvantovým číslem ($I \neq 0$).

Atomové jádro má vlastní moment hybnosti (spin). Tento celkový spin je dán součtem spinů všech částic atomového jádra. Každé jádro neustále rotuje kolem vlastní osy. Jestliže platí podmínka nenulového elektrického náboje jádra, vytváří se kolem něj vlastní magnetické pole. V případě, že se toto vlastní magnetické pole jádra ocitne ve vnějším magnetickém poli, zaujme pak určitou energeticky povolenou polohu. Pro atomová jádra se spinovým kvantovým číslem $I = \frac{1}{2}$ (^1H , ^{13}C) platí, že existují pouze dvě energeticky povolené orientace – spinový stav α a spinový stav β . Platí, že spinový stav α je stav o nižší energii vůči stavu β . Pokud na takto orientované jádro působí elektromagnetické záření o vhodné frekvenci (rezonanční frekvence), pak dochází k excitaci ze spinového stavu α do β . Při následné relaxaci a návratu do nižší energetické hladiny dochází k emitaci přebytečné energie, která je poté detekována.⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾

3.1 ^1H -NMR experiment

Jedná se o základní druh experimentu používaného ve strukturní analýze organických látek. Základními charakteristickými prvky jednodimenzionálního ^1H -NMR (1D ^1H -NMR) jsou:

- Počet signálů charakterizující počet chemicky neekvivalentních atomových jader vodíku v neznámé struktuře.
- Chemický posun, který je ovlivňován chemickým okolím jádra (např. heteroatomy, násobné vazby). Chemické funkční skupiny mají typické chemické posuny. Chemický posun (δ) je vyjádřen bezrozměrně v tzv. ppm (*parts per million*). Jedná se o veličinu relativně vztaženou ke standardu.
- Intenzita signálu se stanovuje integračně jako plocha pod křivou. Lze takto získat poměr jednotlivých signálů spektra a určit počet vodíkových atomů náležejících danému signálu.

- Spin-spinové interakce jsou výsledkem tzv. couplingu sousedních atomů, které se navzájem magneticky ovlivňují a dochází tak ke štěpení signálů atomu v blízkém okolí daného jádra. Ve spektru se pak projeví jako štěpení signálu na $n+1$ píků, kde n je počet jader v sousedství. Signál, který není štěpen, se nazývá singlet (s). Dublet (d) vzniká spin-spinovou interakcí s jedním jádrem. Oba signály jsou ekvivalentní. Pokud jsou do spin-spinové interakce zapojena 2 jádra, vzniká triplet (t) s ekvidistantními intenzitami signálů 1:2:1. Tři jádra pak štěpí signály jader v chemicky blízkém okolí na kvartet (q) s poměrem intenzit 1:3:3:1. Multiplet (m) charakterizuje násobné štěpení více jádry. Důležitou veličinou charakterizující štěpení je tzv. interakční konstanta (J) udávaná v Hertzích (Hz). Ke štěpení signálů dochází u obor jader vzájemně. Interakční konstanta je pro obě tato vzájemná štěpení shodná. ⁽¹⁸⁾

3.2 ¹³C NMR

V přírodě nejhojněji zastoupený izotop ¹²C má nulový magnetický moment. Není tedy detekovatelný pro NMR. Pro nukleární magnetickou rezonanci se tak musí užívat magnetický izotop ¹³C, který je přirozeně zastoupen pouze v 1.1% míře, což značně snižuje citlivost experimentu. Chemické posuny signálů nabývají vyšších hodnot. Experimenty se provádí většinou s tzv. širokopásmovým heteronukleárním decouplingem, čímž se zamezuje spin-spinové interakci s atomy vodíků. Výsledné spektrum pak obsahuje pouze singlety. Přičemž každý signál odpovídá danému chemicky ekvivalentnímu typu jader. Může se jednat o více jader (např. symetrie u benzenového jádra). ⁽¹⁸⁾

3.3 2D NMR experimenty

Nejčastěji používané dvoudimenzionální metody (2D NMR), můžeme dělit do dvou základních skupin:

- **Heterokorelované** – korelace mezi různými druhy atomů ($^1\text{H};^{13}\text{C}$ - gHSQC, gHMBC)
 - **gHSQC** (Heteronuclear Single Quantum Correlation) zobrazuje korelace mezi atomy ^1H a k nim přímo vázanými ^{13}C atomy.
 - **gHMBC** (Gradient Heteronuclear Multiple Bond Coherence) zobrazuje korelace mezi atomy ^1H a atomy ^{13}C atomy na vzdálenost tří chemických vazeb. Slabší interakce pak mohou odpovídat interakcím přes dvě nebo čtyři vazby. Intenzita korelace je ovlivňována substituenty na okolních atomech (hlavně heteroatomy), hybridizací a vazebnými úhly.⁽¹⁷⁾
- **Homokorelované** – korelace mezi shodnými atomy (^1H - ^1H – gCOSY, NOESY)
 - **gCOSY** (COrelated SpectroscopY) zobrazuje korelace mezi atomy ^1H především přes tři vazby.
 - **NOESY** (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy) zobrazuje korelace mezi atomy ^1H přes prostor na maximální vzdálenost 5 Å.⁽¹⁷⁾

3.4 Instrumentální vybavení

MS spektra byla měřena na přístroji ESI-MS Thermo Finnigan LCQ Duo (GenTech Scientific, Inc., New York).

NMR experimenty (^1H , ^{13}C , gHSQC, gHMBC, gCOSY a NOESY experimenty) byly provedeny na přístroji VNMR S500. Spektra těchto vzorků byla měřena v roztocích CD_3OD (^2H izotopicky obohacený methanol) při teplotě 25°C . Chemické posuny byly naměřeny jako hodnoty δ (v bezrozměrných jednotkách ppm) a byly nepřímo vztaženy k tetramethylsilanu (TMS) jako standardu pomocí zbytkového signálu rozpouštědla. Hodnoty chemického posunu pro CD_3OD jsou v ^1H spektrech $\delta = 3.30$ ppm, resp. $\delta = 49.0$ ppm ve ^{13}C .

4 Výsledky s komentářem

4.1 MagG3B

V ^1H NMR spektru neznámé látky MagG3B se nachází celkem dvanáct signálů. V alifatické části spektra se nachází skupina multiplétů. Multiplét $\delta = 2.79\text{--}2.82$ ppm odpovídá integračně dvěma atomům vodíku. Zbylé čtyři multiplety $\delta = 2.91\text{--}2.93$ ppm, $\delta = 2.93\text{--}2.98$ ppm, $\delta = 3.13\text{--}3.17$ ppm, $\delta = 3.25\text{--}3.28$ ppm v alifatické části spektra odpovídají každý jednomu atomu vodíku. Dva výrazné singlety $\delta = 3.69$ ppm a $\delta = 3.80$ ppm s vyššími chemickými posuny a integrální intenzitou odpovídající 3 atomům vodíku náleží dvěma methylovým skupinám vázaným na heteroatom. Multiplét s chemickým posunem $\delta = 4.18\text{--}4.20$ ppm odpovídající jednomu atomu vodíku se pravděpodobně nachází v blízkosti heteroatomu, což způsobuje jeho vyšší chemický posun. V aromatické části spektra se nacházejí čtyři signály. Dva singlety s chemickými posuny $\delta = 6.57$ ppm a $\delta = 6.70$ ppm, oba odpovídající jednomu atomu vodíku. Dále dva signály (AA'BB' systém) s chemickými posuny $\delta = 6.76\text{--}6.78$ ppm a $\delta = 7.07\text{--}7.09$ ppm odpovídající každý dvěma atomům vodíku. Tyto dva signály odpovídají *para*-disubstituovanému benzenovému jádru.

Ve ^{13}C NMR spektru se nachází celkem patnáct signálů. V alifatické části spektra následujících pět signálů – $\delta = 27.4$ ppm, $\delta = 39.4$ ppm, $\delta = 40.7$ ppm, $\delta = 55.0$ ppm, $\delta = 56.5$ ppm. V aromatické části spektra pak zbývajících deset signálů $\delta = 110.2$ ppm, $\delta = 111.8$ ppm, $\delta = 115.1$ ppm, $\delta = 126.2$ ppm, $\delta = 128.5$ ppm, $\delta = 128.6$ ppm, $\delta = 130.2$ ppm, $\delta = 147.2$ ppm, $\delta = 148.0$ ppm, $\delta = 156.0$ ppm.

Pomocí gHSQC experimentu byly, dle korelací, přiřazeny uhlíkovým atomům k nim přímo navázané vodíkové atomy (*Tabulka 1*).

C (ppm)	H (ppm)
27.4	2.79–2.82 (m, 2H)
39.4	2.93–2.98 (m, 1H); 3.25–3.28 (m, 1H)
40.7	2.91–2.93 (m, 1H); 3.13–3.17 (m, 1H)
55.0	3.69 (s, 3H)
55.0	3.80 (s, 3H)
56.5	4.18–4.20 ppm (m, 1H)
110.2	6.57 (s, 1H)
111.8	6.70 (s, 1H)
115.1	6.76–6.78 (m, 2H)
130.2	7.07–7.09 (m, 2H)
126.2, 128.5, 128.6, 147.2, 148.0, 156.0	–

Tabulka 1 – gHSQC korelace neznámé látky MagG3B

Ve struktuře neznámé látky se nachází tři methylenové skupiny, z nichž některé jsou diastereotopické, tedy na jeden atom uhlíku jsou vázány dva chemicky neekvivalentní atomy vodíku. Dvě methylové skupiny vázané k heteroatomům zdánlivě náleží jednomu chemicky ekvivalentnímu atomu uhlíku. Vzhledem k chemickým posunům se zřejmě jedná o dvě methoxyskupiny. Celkem šest aromatických signálů ^{13}C nemá korelace se žádnými signály ^1H , jsou to kvarterní aromatické uhlíky. Zbylé aromatické uhlíky jsou uhlíky terciárními (Tabulka 2).

C (ppm)	H (ppm)	Pravděpodobný strukturní motiv
27.4	2.79–2.82	Methylenová skupina
39.4	2.93–2.98; 3.25–3.28	Diastereotopická methylenová skupina
40.7	2.91–2.93; 3.13–3.17	
55.0	3.69	Methoxyskupina
55.0	3.80	
56.5	4.18–4.20	Terciární alifatický uhlíkový atom odstíněný heteroatomem
110.2	6.57	Terciární aromatické uhlíky
111.8	6.70	
115.1	6.76–6.78	
130.2	7.07–7.09	
126.2, 128.5, 128.6, 147.2, 148.0, 156.0	–	Kvarterní aromatické uhlíky

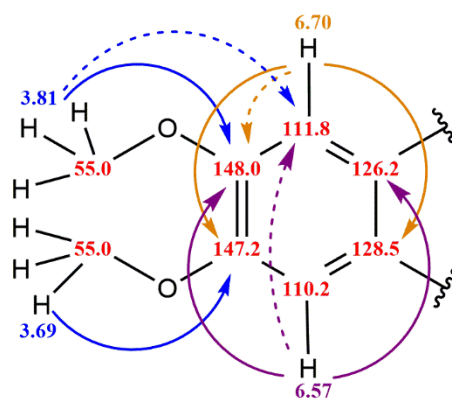
Tabulka 2 – Přehled pravděpodobných strukturních motivů neznámé látky MagG3B

Pomocí gHMBC experimentu byly určeny korelace vodíkových atomů s uhlíkovými přes 3 vazby. Slabší interakce odpovídají korelacím přes dvě nebo čtyři vazby (*Tabulka 3*).

¹ H(ppm)	¹³ C (ppm)		
	Korelace		
	přes 3 vazby	přes 2 vazby	přes 4 vazby
2.79–2.82	111.8, 128.5	39.4, 126.2	–
2.91–2.93	128.5, 130.2	56.5	–
2.93–2.98	56.5, 126.2	27.4	–
3.13–3.17	128.5, 130.2	56.5	–
3.25–3.28	56.5, 126.2	27.4	–
3.69	147.2	–	–
3.80	148.0	–	111.8
4.18–4.20	39.4, 110.2, 126.2, 128.5	40.7, 128.6	–
6.57	56.5, 126.2, 148.0	-	111.8
6.70	27.4, 128.5, 147.2	148.0	56.5
6.76–6.78	115.1, 128.6	–	156.0
7.07–7.09	40.7, 130.2, 156.0	115.1	–

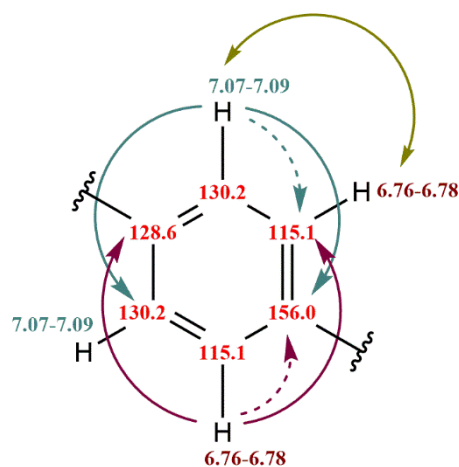
Tabulka 3 – gHMBC korelace neznámé látky MagG3B

Jak již bylo zmíněno výše, struktura neznámé látky obsahuje dvě aromtická, benzenová, jádra. Určování struktury bylo provedeno od více substituovaného kruhu. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.70$ ppm vázaný přímo na aromtický atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 111.8$ ppm vykazuje korelaci přes tři vazby se dvěma aromtickými kvarterními uhlíky s chemickými posuny $\delta = 128.5$ ppm a $\delta = 147.2$ ppm. Stejnou interakci vykazuje druhý vodík s chemickým posunem $\delta = 6.57$ ppm téhož aromtického jádra se dvěma kvarterními aromtickými uhlíky s chemickými posuny $\delta = 126.2$ ppm a $\delta = 148.0$ ppm. Tento atom vodíku dále vykazuje slabší interakci přes čtyři vazby s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 111.8$ ppm. Je tedy zřejmé, že vodíky benzenového jádra jsou ve vzájemné poloze 1,4. Atomy vodíků s chemickým posunem $\delta = 3.69$ ppm, resp. $\delta = 3.81$ ppm obou methylů methoxyskupin vykazují interakce přes tři vazby s kvarterními uhlíky s chemickým posunem $\delta = 147.2$ ppm, resp. $\delta = 148.0$ ppm benzenového jádra. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.81$ ppm navíc vykazuje slabší interakci přes čtyři vazby s terciárním uhlíkem s chemickým posunem $\delta = 111.8$ ppm. Struktura je navržena na *Obrázku 6*.



Obrázek 6 – Určování strukturního motivu I pro neznámou látku MagG3B

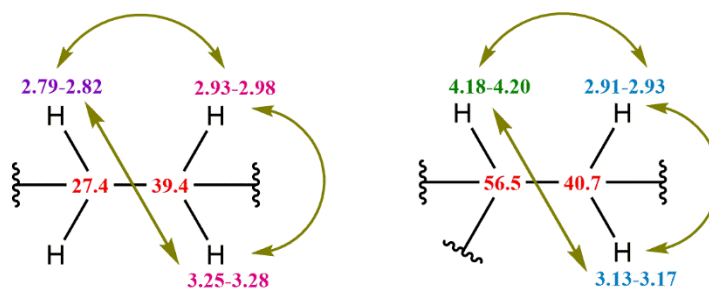
Jako další strukturní motiv byl určen druhý aromatický kruh. Experiment gCOSY ukazuje vzájemnou korelaci vodíkových atomů s chemickým posunem $\delta = 7.07\text{--}7.09$ ppm a $\delta = 6.76\text{--}6.78$ ppm benzenového jádra. Z ^1H NMR spektra je zřejmé, že toto benzenové jádro je tzv. *para*-disubstituované, protože tyto vodíky jsou ve vzájemné poloze 1,2. Dále atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.07\text{--}7.09$ interaguje přes tři vazby s atomy uhlíku s chemickým posunem $\delta = 130.2$ ppm a $\delta = 156.0$ ppm, také vykazuje slabší interakci přes dvě vazby s atomem uhlíku, který má chemický posun $\delta = 115.1$ ppm.



Obrázek 7 – Určování strukturního II pro neznámou látku MagG3B

Pomocí experimentu gCOSY byly určeny interakce mezi atomy vodíku alifatické části molekuly. Neznámá sloučenina obsahuje celkem šest diastereotopických atomů vodíku. Tyto atomy vodíku jsou chemicky neekvivalentní, což způsobuje mnoho spin-spinových interakcí. Ve spektru se tak píky překrývají a tvoří multiplety. Tento jev je zřejmě způsoben chirálním centrem na uhlíku s chemickým posunem $\delta = 56.5$ ppm a přítomností alifatického kruhu. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 2.79\text{--}2.82$ ppm interaguje navzájem s atomy vodíku

s chemickým posunem $\delta = 2.93\text{--}2.98$ ppm a $\delta = 3.25\text{--}3.28$ ppm, které náležejí jednomu atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 39.4$ ppm. Dále atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 4.18\text{--}4.20$ ppm vzájemně interaguje s atomy vodíku, které mají chemický posun $\delta = 2.91\text{--}2.93$ ppm a $\delta = 3.13\text{--}3.17$ ppm a náležejí jednomu atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 40.7$ ppm.



Obrázek 8 – Určování strukturního motivu III pro neznámou látku MagG3B, COSY korelace

Molekulová hmotnost neznámé sloučeniny MagG3B je 299. Známé strukturní motivy mají molekulovou hmotnost 267. Rozdíl 32 odpovídá jednomu atomu kyslíku, jednomu atomu dusíku a dvěma atomům vodíku. Vodíky nejsou v $^1\text{H-NMR}$ spektru pozorovány z důvodu rychlého proton-transferu v protickém prostředí deuterovaného methanolu. Jedná se tedy pravděpodobně o hydroxylovou, resp. sekundární aminovou funkční skupinu. Sumární vzorec je tedy $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_3$. Index nenasycenosti (U) pro tento sumární vzorec platí:

$$U = 1 + \frac{2 \cdot n_C + n_N - n_H}{2}$$

$$U = 1 + \frac{2 \cdot 18 + 1 - 21}{2}$$

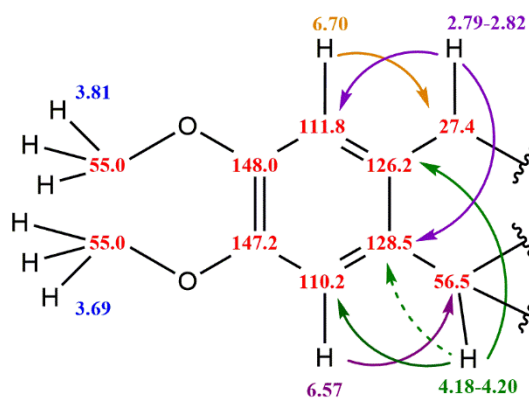
$$U = 9$$

Index nenasycenosti 9 odpovídá dvěma benzenovým jádrům (2×4) a jednomu alifatickému kruhu (1). Dvojná vazba není vzhledem ke strukturním motivům možná.

Vzhledem k indexu nenasycenosti neznámé sloučeniny musí být ve struktuře ještě jeden alifatický cyklus. Hydroxylová skupina může být navázána pouze na poslední kvarterní uhlík aromatického jádra s chemickým posunem $\delta = 156.0$ ppm. Následně byly spojeny již objasněné části v jeden celek.

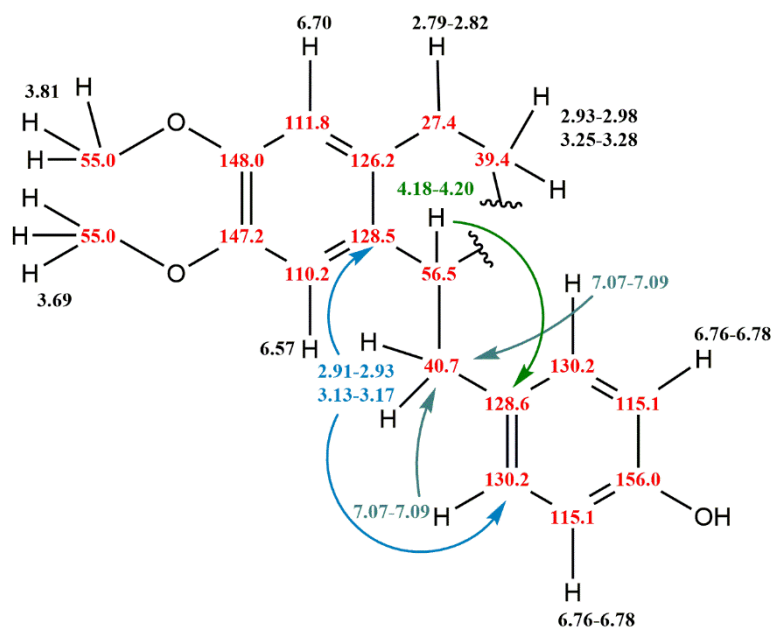
Zbývající dva kvarterní uhlíky z prvního aromatického kruhu jsou substituovány alifatickými atomy uhlíků. To dokazují korelace mezi atomem vodíku benzenového kruhu

s chemickým posunem $\delta = 6.70$ ppm s alifatickým uhlíkem s chemickým posunem $\delta = 27.4$ ppm. Potvrzení této substituce je také opačná korelace vodíku s chemickým posunem $\delta = 2.79-2.82$ ppm vázaného na tento alifatický uhlík s atomy uhlíku benzenového jádra s chemickými posuny $\delta = 111.8$ ppm a $\delta = 128.5$ ppm. Stejně tak atom vodíku aromatického kruhu s chemickým posunem $\delta = 6.57$ ppm vykazuje interakci s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 56.5$ ppm. Tato substituce je také potvrzena interakcí vodíku s chemickým posunem $\delta = 4.18-4.20$ ppm vázaného na tento alifatický uhlík s aromatickými uhlíky benzenového jádra s chemickými posuny $\delta = 126.2$ ppm a $\delta = 110.2$ ppm přes tři vazby a také slabší interakcí přes dvě vazby s uhlíkem s chemickým posunem $\delta = 128.5$ ppm. Pokrok v určování struktury je navržen na *Obrázku 9*.



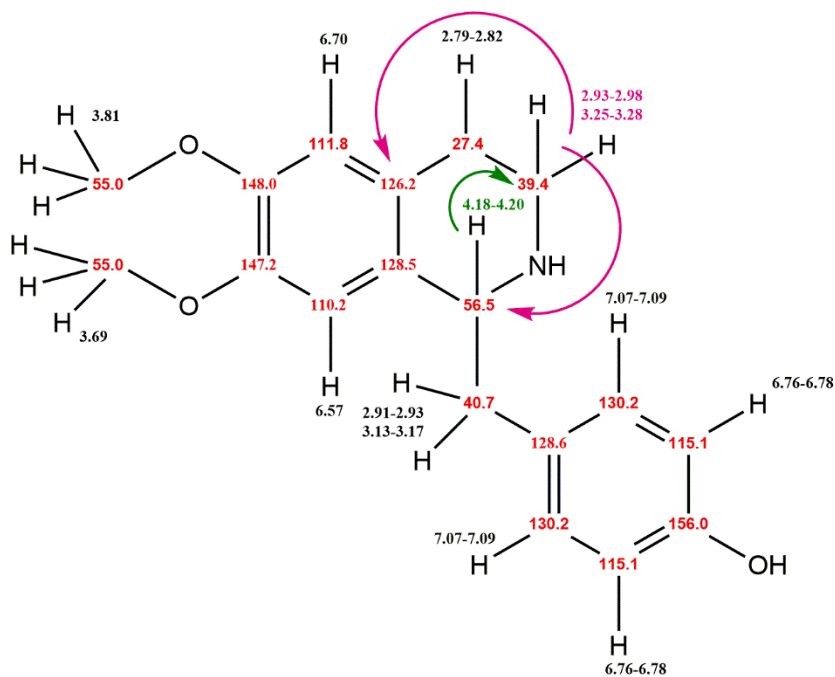
Obrázek 9 – Určování strukturního motivu IV pro neznámou látku MagG3B

Alifatický vodík s chemickým posunem $\delta = 4.18-4.20$ ppm vázaný na uhlík s chemickým posunem $\delta = 56.5$ ppm vykazuje interakci přes tři vazby s aromatickým uhlíkem druhého benzenového jádra, ten má chemický posun $\delta = 128.6$ ppm. Zároveň atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.07-7.09$ ppm tohoto druhého aromatického jádra vykazuje interakci přes tři vazby s alifatickým uhlíkem s chemickým posunem $\delta = 40.7$ ppm. Benzenová jádra jsou tedy spojena přes dva alifatické uhlíky s chemickými posuny $\delta = 56.5$ ppm a $\delta = 40.7$ ppm. Dva chemicky neekvivalentní atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 2.91-2.93$ ppm a $\delta = 3.13-3.17$ ppm, které náleží atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 40.7$ ppm, interagují s uhlíky obou aromatických jader s chemickým posunem $\delta = 128.5$ a $\delta = 130.2$ ppm. Interakce je potvrzena korelací atomu vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.07-7.09$ ppm přes tři vazby s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 40.7$ ppm. (*Obrázek 10*)



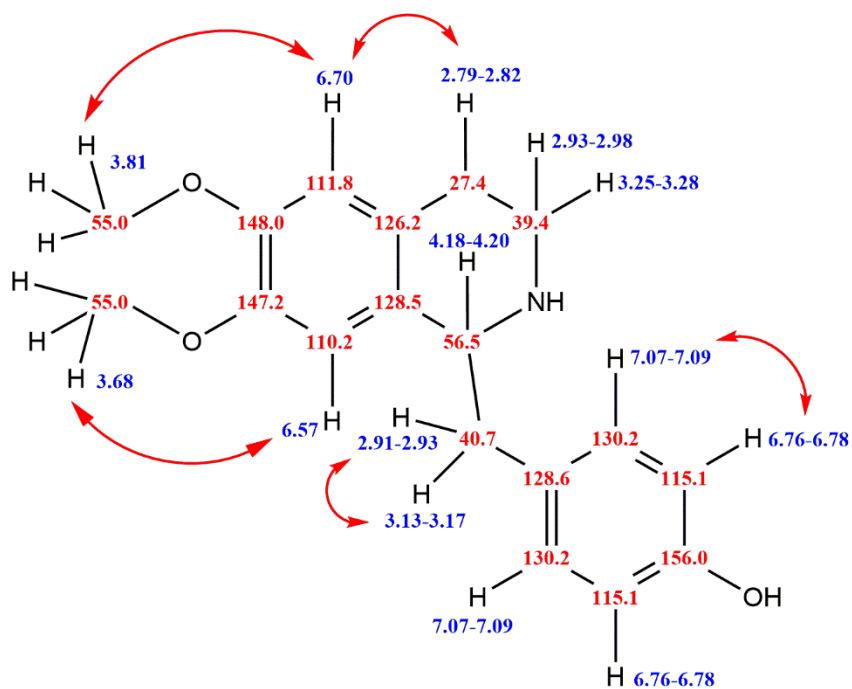
Obrázek 10 – Určování strukturního motivu V pro neznámou látku MagG3B

Zbývající sekundární amin je poslední spojující článek alifatického cyklu. Dle interakce diastereotopických vodíků s chemickým posunem $\delta = 2.93\text{--}2.98$ ppm a $\delta = 3.25\text{--}3.28$ ppm s aromatickým uhlíkem, který má chemický posun $\delta = 126.2$ ppm, a také s uhlíkem s chemickým posunem $\delta = 56.6$ ppm, lze určit polohu sekundárního aminu zcela jasně. (Obrázek 11). Jeho polohu potvrzuje i korelace atomu vodíku s chemickým posunem $\delta = 4.18\text{--}4.20$ ppm s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 39.4$ ppm.



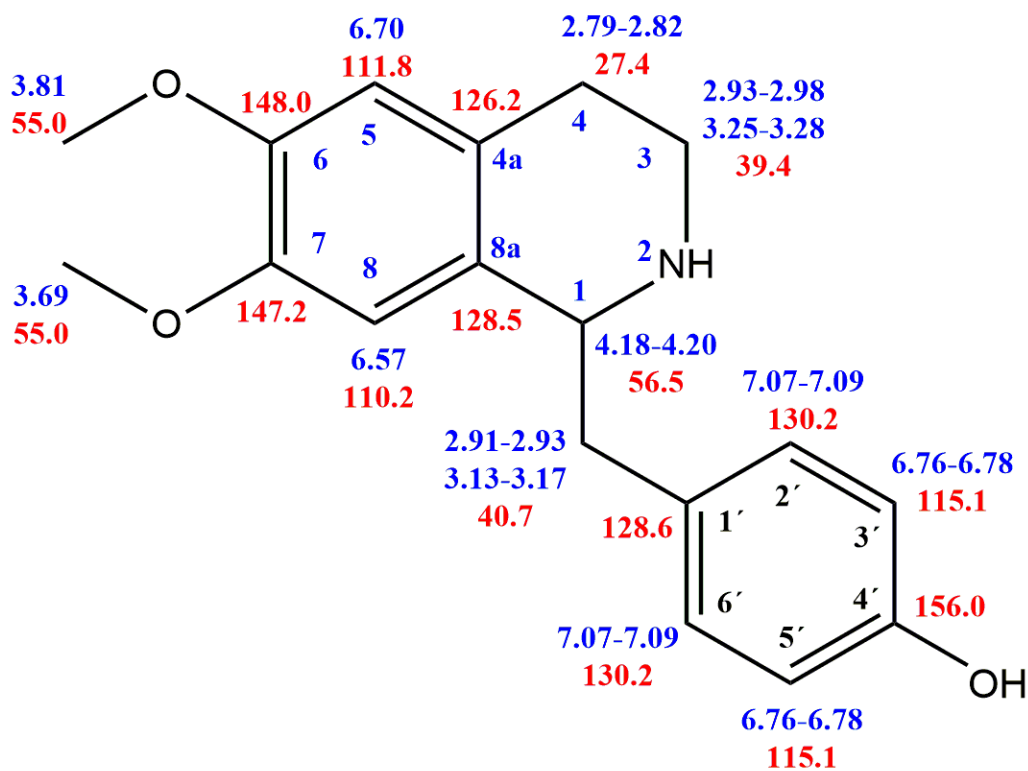
Obrázek 11 – Určování strukturního motivu VI pro neznámou látku MagG3B

Slabší korelace gHMBC a NOESY korelace (Obrázek 12) přes prostor jen potvrzují určenou strukturu.



Obrázek 12 – NOESY interakce neznámé látky MagG3B

Struktura neznámé sloučeniny s označením MagG3B se sumárním vzorcem $C_{18}H_{21}NO_3$ byla určena jako *N*-norarmepavin, 1-(4'-hydroxybenzyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (Obrázek 14).⁽¹⁹⁾



Obrázek 13 – Chemická struktura neznámé látky MagG3B

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD, 25 °C): δ = 2.79–2.82 (2H, m, H₄), 2.91–2.93 (1H, m, CH₂), 2.93–2.98 (1H, m, H₃), 3.13–3.17 (1H, m, CH₂), 3.25–3.28 (1H, m, H₃), 3.69 (3H, s, OCH₃), 3.81 (3H, s, OCH₃), 4.18–4.20 (1H, m, H₁), 6.57 (1H, s, H₈), 6.70 (1H, s, H₅), 6.76–6.78 (2H, m; H_{3'}, H_{5'}), 7.07–7.09 ppm (2H, m, H_{2'}, H_{6'}).

¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD, 25 °C): δ = 27.4 (C₄), 39.4 (C₃), 40.7 (CH₂), 55.0 (OCH₃), 56.5 (C₁), 110.2 (C₈), 111.8 (C₅), 115.1 (C_{3'}, C_{5'}), 126.2 (C_{4a}), 128.5 (C_{8a}), 128.6 (C_{1'}), 130.2 (C_{2'}, C_{6'}), 147.2 (C₇), 148.0 (C₆), 156.0 ppm (C_{4'}).

4.3 MAG-G1

^1H NMR spektrum neznámé sloučeniny MAG-G1 obsahuje celkem dvanáct signálů. Z toho celkem osm signálů se nachází v tzv. alifatické části spektra. Výrazný singlet s chemickým posunem $\delta = 2.63$ ppm odpovídá integrační intenzitou třem atomům vodíku. Vzhledem k chybějící spin-spinové interakci a integrační intenzitě se jedná o signál methylu vázaného přímo na heteroatom. Multiplet s chemickým posunem $\delta = 2.71\text{--}2.79$ ppm odpovídá dvěma atomům vodíku. Jedná se zřejmě o překryté signály odpovídající více chemicky neekvivalentním atomům vodíku. Další multiplet s chemickým posunem $\delta = 2.91\text{--}2.98$ ppm odpovídá dvěma atomům vodíku. U tohoto multipletu je také možné, že se jedná o překrytí signálů. Multiplet s chemickým posunem $\delta = 3.18\text{--}3.22$ ppm odpovídá jednomu atomu vodíku. Také multiplet s chemickým posunem $\delta = 3.34\text{--}3.36$ ppm odpovídá jednomu atomu vodíku. Další dva výrazné singlety odpovídající každý třem atomům vodíku s chemickými posuny $\delta = 3.44$ ppm a $\delta = 3.79$ ppm náleží opět methylům vázaným na heteroatom. Patrně se jedná o dvě methoxyskupiny. Posledním signálem v alifatické oblasti je multiplet s chemickým posunem $\delta = 3.87\text{--}3.90$ ppm odpovídající jednomu atomu vodíku. Na základě vyššího posunu lze odvodit, že atom je zřejmě odstíněn elektronegativním heteroatomem. V aromatické části spektra se nachází celkem čtyři signály. Dva singlety s chemickým posunem $\delta = 5.87$ ppm a $\delta = 6.70$ ppm odpovídají každý jednomu atomu vodíku. Dále dva multiplety (AA'BB' systém) s chemickým posunem $\delta = 6.71\text{--}6.73$ a $\delta = 6.89\text{--}6.91$ ppm odpovídají každý dvěma atomům vodíku. Jedná se o vodíky ve vzájemně sousedící poloze, jedná se tedy o *para*-disubstituované benzenové jádro.

Ve ^{13}C NMR spektru se nachází celkem sedm signálů v alifatické části spektra. Jedná se o signály s chemickými posuny $\delta = 24.0$ ppm, $\delta = 38.6$ ppm, $\delta = 40.7$ ppm, $\delta = 45.5$ ppm, $\delta = 54.5$ ppm, $\delta = 54.9$ a $\delta = 64.7$ ppm. Dalších deset signálů se pak nachází v části aromatické $\delta = 111.4$ ppm, $\delta = 111.6$ ppm, $\delta = 114.8$ ppm, $\delta = 124.4$ ppm, $\delta = 127.1$ ppm, $\delta = 129.1$ ppm, $\delta = 130.7$ ppm, $\delta = 146.3$ ppm, 148.0 ppm a $\delta = 155.8$ ppm. Vzhledem k určené *para*-disubstituci benzenového jádra dva z těchto signálů odpovídají dvěma atomům uhlíku.

Pomocí experimentu gHSQC byly přiřazeny k uhlíkovým atomům k nim přímo vázané atomy vodíku dle příslušných korelací (Tabulka 4). Experiment potvrdil, že multiplet s chemickým posunem $\delta = 2.71\text{--}2.79$ ppm vznikl překryvem dvou signálů. Překryv signálů se ukázal i u multipletu s chemickým posunem $\delta = 2.91\text{--}2.98$ ppm.

¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)
24.0	2.71–2.79; 2.91–2.98
38.6	2.71–2.79; 3.18–3.22
40.7	2.63
45.5	2.91–2.98; 3.34–3.36
54.5	3.44
54.9	3.79
64.7	3.87–3.90
111.4	6.70
111.6	5.87
114.8	6.71–6.73
130.7	6.89–6.91
124.4; 127.1; 129.1 146.3; 148.0, 155.8	–

Tabulka 4 – gHSQC korelace neznámé látky MAG-G1

Celkem tři uhlíky vykazují korelace se dvěma chemicky neekvivalentními atomy vodíku, z čehož vyplývá, že se jedná o šest tzv. diastereotopických vodíků. Neznámá sloučenina obsahuje tři methylové skupiny, které nevykazují v ¹H-NMR spektru žádné interakce s jinými vodíkovými atomy. Jedná se o methyly navázané přímo na heteroatomy. Singlet s chemickým posunem $\delta = 2.63$ ppm korelující s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 40.7$ ppm odpovídá methylové skupině vázané nejpravděpodobněji na atom dusíku. Další dva methyly vzhledem k vyšším chemickým posunům náleží dvěma methoxyskupinám, tedy atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.44$ ppm koreluje s uhlíkem s chemickým posunem $\delta = 54.5$ ppm a atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.79$ ppm koreluje s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 54.9$ ppm. Podle gHSQC experimentu bylo dále určeno šest kvarterních aromatických uhlíků, které nemají v tomto spektru žádné korelace, a čtyři terciární uhlíky. Doposud známé strukturní motivy jsou shrnuty v *Tabulce 5*.

¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)	Předpokládaný strukturní motiv
24.0	2.74–2.79; 2.94–2.98	Diastereotopická methylenová skupina
38.6	2.71–2.74; 3.18–3.22	
40.7	2.63	Methyl vázaný na dusík
45.5	2.91–2.94; 3.34–3.36	Diastereotopická methylenová skupina
54.5	3.44	Methoxyskupina
54.9	3.79	
64.7	3.87–3.90	Terciární alifatický uhlíkový atom odstíněný heteroatomem
111.4	6.70	Terciární aromatické uhlíky
111.6	5.87	
114.8	6.71–6.73	
130.7	6.89–6.91	
124.4; 127.1; 129.1 146.3; 148.0, 155.8	–	Kvarterní aromatické uhlíky

Tabulka 5 – Předpokládané strukturní motivy neznámé sloučeniny MAG-G1

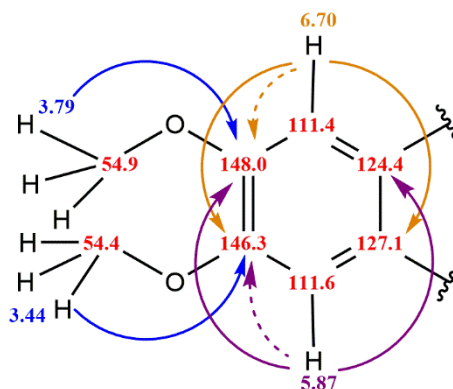
Dále byly pomocí gHMBC experimentu určeny vzájemné polohy těchto jednotlivých strukturních jednotek.

¹ H(ppm)	¹³ C (ppm)		
	Korelace		
	3 vazby	2 vazby	4 vazby
2.63	45.5; 64.7	–	–
2.71–2.74	130.7	129.1	–
2.74–2.79	127.1; 111.4	124.4	64.7
2.91–2.94	124.4	24.0	–
2.94–2.98	127.1; 111.4	45.5; 124.4	–
3.18–3.22	127.1; 130.7	64.7; 129.1	–
3.34–3.36	124.4	24.0	–
3.44	146.3	–	–
3.79	148.0	–	–
3.87–3.90	45.5; 124.4	127.1	–
5.87	64.7; 124.4; 148.0	146.3	–
6.70	24.0; 127.1; 146.3	148.0	–
6.71–6.73	114.8; 129.1	155.8	–
6.89–6.91	38.6; 130.7; 155.8	114.8	114.8

Tabulka 6 – gHMBC korelace neznámé sloučeniny MAG-G1

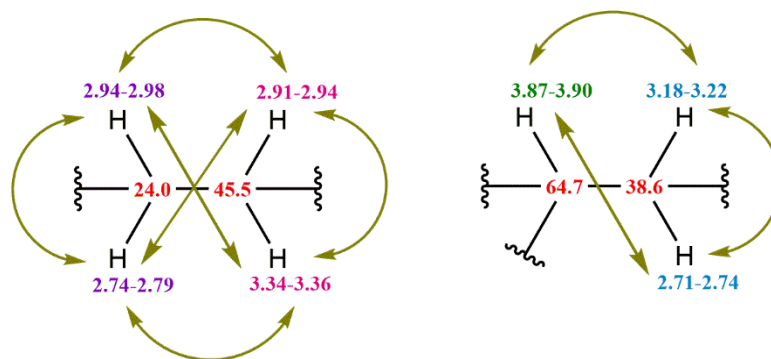
Určování struktury neznámé látky MAG-G1 bylo zahájeno od jednoho ze dvou benzenových jader. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 5.87$ ppm vázaný přímo na aromatický atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 111.6$ ppm vykazuje korelaci přes tři vazby se dvěma aromatickými kvarterními uhlíky s chemickými posuny $\delta = 124.4$ a $\delta = 148.0$ ppm. Druhý vodík s chemickým posunem $\delta = 6.70$ ppm téhož aromatického jádra, který je

přímo navázán na uhlík s chemickým posunem $\delta = 111.4$ ppm, interaguje přes tři vazby se dvěma kvarterními aromatickými uhlíky s chemickými posuny $\delta = 127.1$ ppm a $\delta = 146.3$ ppm. Je zřejmé, že vodíky benzenového jádra jsou ve vzájemné poloze *1,4*. Atomy vodíků obou methylů methoxyskupin s chemickými posuny $\delta = 3.44$ a $\delta = 3.79$ ppm vykazují interakce s kvarterními uhlíky s chemickými posuny $\delta = 146.3$, resp. 148.0 ppm zmiňovaného benzenového jádra. (Obrázek 14)



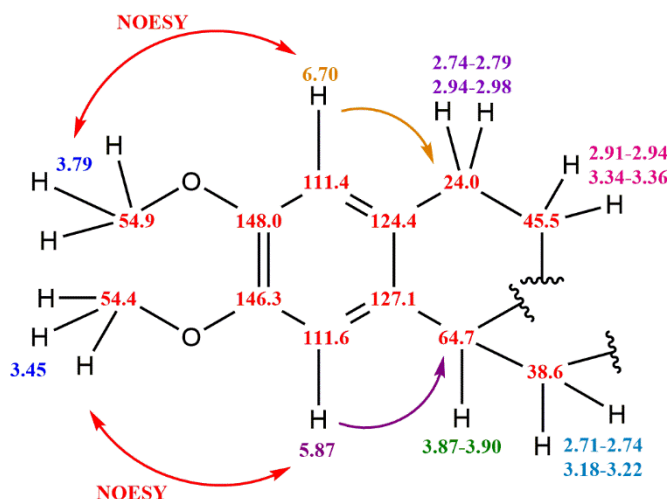
Obrázek 14 – Určování strukturního motivu *I* pro neznámou látku *MAG-G1*

Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 5.87$ také interaguje s alifatickým atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 64.7$ ppm. Vodík s posunem $\delta = 6.70$ ppm dále koreluje s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 24.0$ ppm. Na tomto uhlíku jsou navázány dva chemicky neekvivalentní atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 2.74$ – 2.79 ppm a $\delta = 2.94$ – 2.98 ppm (viz *Obrázek 16*). Neznámá sloučenina obsahuje celkem šest diastereotopických atomů vodíku. Tento jev je zřejmě způsoben chirálním centrem na uhlíku s chemickým posunem $\delta = 64.7$ ppm a případnou přítomností alifatického cyklu. Pomocí experimentu gCOSY byly určeny interakce atomů vodíku. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 2.74$ – 2.79 koreluje s atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 2.91$ – 2.94 ppm, $\delta = 2.94$ – 2.98 ppm a $\delta = 3.34$ – 3.36 ppm. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 2.91$ – 2.94 ppm interaguje dále s atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 2.94$ – 2.98 ppm a $\delta = 3.34$ – 3.36 ppm, tyto dva vodíky taktéž interagují mezi sebou. I vodík s chemickým posunem $\delta = 3.87$ – 3.90 ppm koreluje v gCOSY spektru s atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 2.71$ – 2.74 ppm a $\delta = 3.18$ – 3.22 ppm. Tyto dva vodíky také korelují mezi sebou navzájem. Korelace gCOSY jsou zakresleny na *Obrázku 15*.



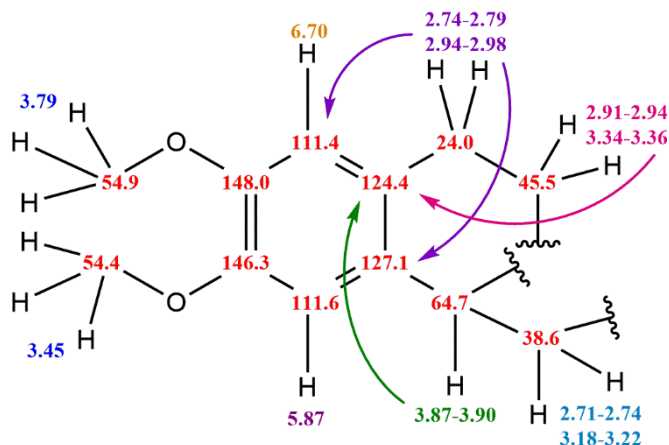
Obrázek 15 – Určování strukturního motivu II pro neznámou látku MAG-G1, COSY korelace

Postavení methoxyskupin potvrzuje i NOESY experiment, který ukazuje korelace přes prostor mezi atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.44$ ppm a $\delta = 5.87$, stejně tak $\delta = 3.79$ ppm s $\delta = 6.70$ ppm. Pokrok v objasnění struktury je navržen na *Obrázku 16*.



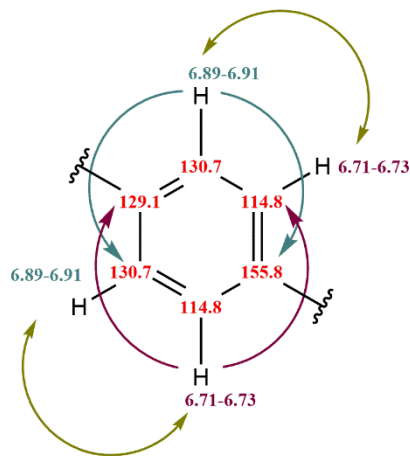
Obrázek 16 – Určování strukturního motivu III pro neznámou látku MAG-G1

Postavení alifatických uhlíků potvrzuje i gHMBC experiment. Atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 2.74$ – 2.79 ppm a $\delta = 2.94$ – 2.98 ppm navázané na jeden uhlík korelují přes tři vazby s atomy uhlíku s chemickým posunem $\delta = 127.1$ ppm a $\delta = 111.4$ ppm. Atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 2.91$ – 2.94 ppm a $\delta = 3.34$ – 3.36 ppm navázané na jeden uhlík korelují oba přes tři vazby s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 124.4$ ppm. S tímto atomem uhlíku interaguje přes tři vazby i atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.87$ – 3.90 ppm. (*Obrázek 17*)



Obrázek 17 – Určování strukturního motivu IV pro neznámou látku MAG-G1

Následně byl určen druhý aromatický kruh. Experiment gCOSY ukazuje vzájemnou korelaci vodíkových atomů s chemickým posunem $\delta = 6.89\text{--}6.91$ ppm a $\delta = 6.71\text{--}6.73$ ppm benzenového jádra. Vzhledem ke vzájemné poloze vodíků 1,2 je toto benzenové jádro tzv. *para*-disubstituované. Dále atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.89\text{--}6.91$ interaguje přes tři vazby s atomy uhlíku s chemickým posunem $\delta = 130.7$ ppm a $\delta = 155.8$ ppm. Obdobně interaguje atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.71\text{--}6.73$ ppm s atomy uhlíku s chemickým posunem $\delta = 114.8$ ppm a $\delta = 129.1$ ppm. (Obrázek 18)



Obrázek 18 – Určování strukturního motivu V pro neznámou látku MAG-G1

Neznámá sloučenina má molekulovou hmotnost 313. Molekulová hmotnost doposud určených strukturních motivů je 267. Rozdíl 46 odpovídá jednomu atomu dusíku, na který je navázán methyl, dále jednomu atomu kyslíku a vodíku. Methylové skupině vázané na atom dusíku odpovídá singlet s chemickým posunem $\delta = 2.63$ ppm korelující s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 40.7$ ppm. To jen potvrdilo výše uvedené informace. Vodík není z důvodu jeho rychlé výměny v protickém rozpouštědle ve spektru pozorovatelný. Jedná se o

vodík přímo vázaný na tento kyslík, tedy hydroxyskupinu. Sumární vzorec neznámé sloučeniny je $C_{19}H_{23}NO_3$.

Index nenasycenosti (U) pro tento sumární vzorec platí:

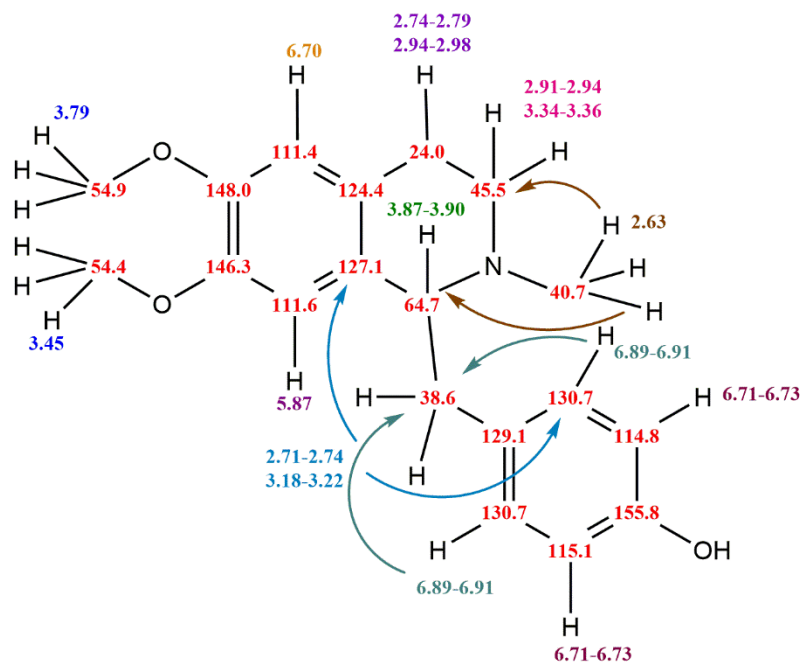
$$U = 1 + \frac{2 \cdot n_C + n_N - n_H}{2}$$

$$U = 1 + \frac{2 \cdot 19 + 1 - 23}{2}$$

$$U = 9$$

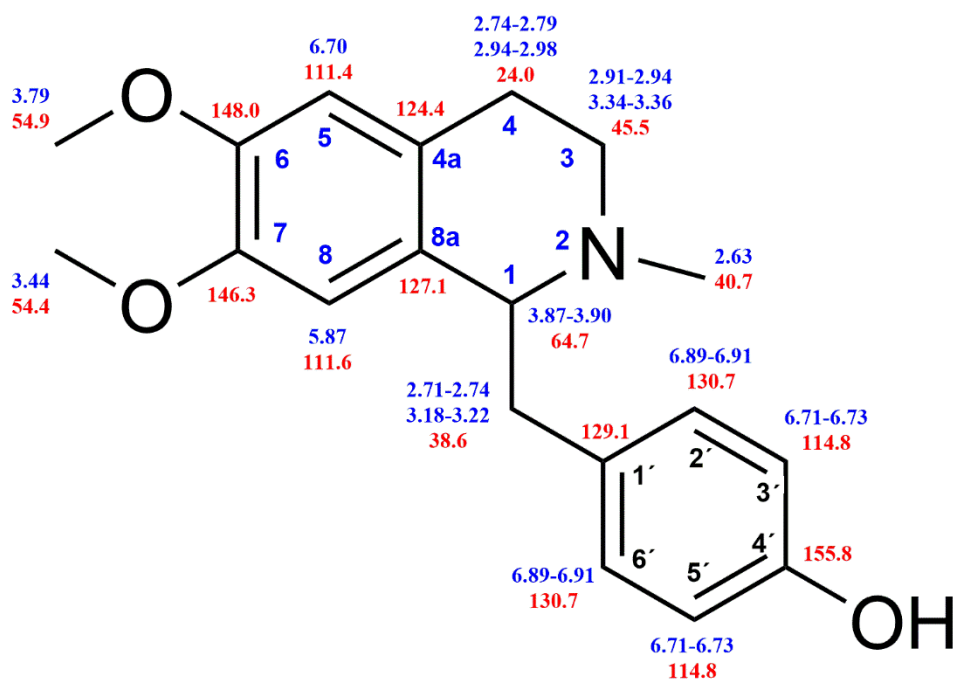
Ze spekter a indexu nenasycenosti lze vyvodit, že struktura neznámé sloučeniny obsahuje dvě benzenová jádra, což odpovídá indexu nenasycenosti 8 (2×4). Zbývající stupeň nenasycenosti tak odpovídá nejpravděpodobněji alifatickému kruhu. To jen potvrzuje zatím určenou strukturu.

Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 2.63$ ppm patřící methylu, který je navázaný na atom dusíku, interaguje přes tři vazby s atomy uhlíku s chemickým posunem $\delta = 64.7$ ppm a $\delta = 45.5$ ppm. Terciární amin tak uzavírá alifatický cyklus. Hydroxyskupina může být navázána pouze na poslední kvarterní uhlík aromatického jádra s vyšším chemickým posunem $\delta = 155.8$ ppm. Poslední částí je spojení molekuly v jeden celek. Atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.18$ – 3.22 ppm a $\delta = 2.71$ – 2.74 ppm navázané na jeden alifatický uhlík korelují s atomem uhlíku prvního benzenového jádra s chemickým posunem $\delta = 127.1$ ppm, také korelují s druhým benzenovým jádrem, tedy s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 130.7$ ppm. Naopak atom vodíku navázaný na tento aromatický uhlík s chemickým posunem $\delta = 6.89$ – 6.91 ppm koreluje s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 38.6$ ppm. Benzenová jádra jsou tedy spojena přes dva alifatické uhlíky s posuny $\delta = 38.6$ ppm a $\delta = 64.7$ ppm. (Obrázek 19)



Obrázek 19 – Určování strukturního motivu VI pro neznámou látku MAG-G1

Struktura neznámé sloučeniny s označením MAG-G1 se sumárním vzorcem $C_{19}H_{23}NO_3$ byla určena jako arnepavin, 1-(4'-hydroxybenzyl)-2-methyl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin. (Obrázek 20) ⁽²⁰⁾



Obrázek 20 – Struktura neznámé sloučeniny s označením MAG-G1

^1H -NMR (500 MHz, MeOD, 25 °C): 2.63 (3H, s, NCH₃) 2.71–2.74 (1H, m, CH₂), 2.74–2.79 (1H, m, H₄), 2.91–2.94 (1H, m, H₃), 3.18–3.22 (1H, m, CH₂), 3.34–3.36 (1H, m, H₃), 3.44 (3H, s, OCH₃), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.87–3.90 (1H, m, H₁), 5.87 (1H, s, H₈), 6.70 (1H, s, H₅), 6.71–6.73 (2H, m, H₃', H₅'), 6.89–6.91 ppm (2H, m, H₂', H₆').

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD, 25°C): 24.0 (C₄), 38.6 (CH₂), 40.7 (NCH₃), 45.5 (C₃), 54.4 (OCH₃), 54.9 (OCH₃), 64.7 (C₁), 111.4 (C₅), 111.6 (C₈), 114.8 (C₃', C₅'), 124.4 (C_{4a}), 127.1 (C_{8a}), 129.1 (C₁'), 130.7 (C₂', C₆'), 146.3 (C₇), 148.0 (C₆), 155.8 ppm (C₄').

4.4 MAG-H3

¹H-NMR spektrum obsahuje celkem jedenáct signálů, což znamená, že neznámá molekula obsahuje jedenáct chemicky neekvivalentních atomů vodíku. Následující signály se vyskytují v alifatické části spektra. Multiplet s chemickým posunem $\delta = 2.72\text{--}2.82$ ppm odpovídá integrační intenzitou dvěma atomům vodíku. V těsné blízkosti se pak vyskytuje další multiplet s chemickým posunem $\delta = 2.82\text{--}2.88$ ppm, který odpovídá jednomu atomu vodíku. Multiplet s chemickým posunem $\delta = 2.92\text{--}3.10$ ppm odpovídá jednomu atomu vodíku. Multiplet s chemickým posunem $\delta = 3.18\text{--}3.22$ ppm odpovídá integrační intenzitou jednomu atomu vodíku. Také multiplet s chemickým posunem $\delta = 3.22\text{--}3.25$ ppm odpovídá integračně jednomu atomu vodíku. Výrazný singlet s chemickým posunem $\delta = 3.81$ ppm s integrační intenzitou odpovídající třem atomům vodíku náleží zřejmě methylové skupině navázané na heteroatom. Multiplet s vyšším chemickým posunem $\delta = 4.16\text{--}4.20$ ppm odpovídá jednomu atomu vodíku, tento vodík je zřejmě elektronově odstíněn heteroatomem. Čtyři ze signálů se vyskytují v oblasti aromatické. Singlet s chemickým posunem $\delta = 6.68$ ppm odpovídá integračně jednomu atomu vodíku, stejně tak jednomu atomu vodíku odpovídá singlet s chemickým posunem $\delta = 6.69$ ppm. Multiplety s chemickým posunem $\delta = 7.09\text{--}7.11$ ppm a $\delta = 6.77\text{--}6.79$ ppm vykazují vzájemnou spin-spinovou interakci. Oba signály odpovídají integrální intenzitou každý dvěma atomům vodíku. Jedná se o typické signály atomů vodíků *para*-disubstituovaného benzenového jádra, kdy jsou vodíky ve vzájemné poloze 1,2.

Ve ¹³C NMR spektru se nachází celkem patnáct signálů. Pět signálů se vyskytuje v alifatické oblasti, jedná se o signály s chemickými posuny $\delta = 28.6$ ppm, $\delta = 41.3$ ppm, $\delta = 41.7$ ppm, $\delta = 56.4$ ppm a $\delta = 57.9$ ppm. Zbýlých deset signálů odpovídá atomům aromatického charakteru: $\delta = 112.9$ ppm, $\delta = 114.1$ ppm, $\delta = 116.6$ ppm, $\delta = 126.0$ ppm, $\delta = 129.5$ ppm, $\delta = 129.6$, $\delta = 131.5$ ppm, $\delta = 146.0$ ppm, $\delta = 148.3$ ppm a $\delta = 157.5$ ppm.

Pomocí gHSQC experimentu byly dle korelací přiřazeny uhlíkovým atomům navázané vodíkové atomy (*Tabulka 7*).

¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)
28.6	2.72–2.82
41.3	2.92–3.10; 3.22–3.25
41.7	2.82–2.88; 3.18–3.21
56.4	3.81
57.9	4.16–4.20
112.9	6.69
114.1	6.68
116.6	6.77–6.79
131.5	7.09–7.11
126.0; 146.0; 129.5 129.6; 148.3; 157.5	–

Tabulka 7 – gHSQC korelace neznámé látky MAG-H3

Uhlíku s chemickým posunem $\delta = 28.6$ ppm náleží vodík s chemickým posunem $\delta = 2.72\text{--}2.82$ ppm. Dvěma atomům uhlíku náleží dle korelace gHSQC po dvou chemicky neekvivalentních vodících. Tedy atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 41.3$ ppm náleží vodíky s chemickým posunem $\delta = 2.92\text{--}3.10$ ppm a $\delta = 3.22\text{--}3.25$ ppm, atomu uhlíku s chemickým posunem $\delta = 41.7$ ppm náleží dva vodíky s chemickým posunem $\delta = 2.82\text{--}2.88$ ppm a $\delta = 3.18\text{--}3.21$ ppm. Z tohoto je usuzováno, že se jedná o diastereotopické vodíky. Tento jev také vysvětluje značné štěpení signálů v alifatické části spektra. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.81$ ppm koreluje s uhlíkem s chemickým posunem $\delta = 56.4$ ppm. Tento methyl vzhledem k vyššímu chemickému posunu náleží pravděpodobně methoxyskupině. Podle gHSQC experimentu byly dále určeny terciární uhlíky, jeden alifatický a čtyři aromatické. Šest signálů kvarterních aromatických uhlíků odpovídá reálnému počtu signálů. Dosud známé strukturní motivy jsou shrnuty v *Tabulce 8*.

C (ppm)	H (ppm)	Struktura
28.6	2.72–2.82	Diastereotopická methylenová skupina
41.3	2.92–3.10; 3.22–3.25	
41.7	2.82–2.88; 3.18–3.21	
56.4	3.81	Methoxyskupina
57.9	4.16–4.20	Terciární alifatický uhlík odstíněn heteroatomem
112.9	6.69	Terciární aromatické uhlíky
114.1	6.68	
116.6	6.77–6.79	
131.5	7.09–7.11	
126.0; 146.0; 129.5 129.6; 148.2. 157.5	–	Kvarterní aromatické uhlíky

Tabulka 8 – Učené strukturální motivy neznámé látky MAG-H3

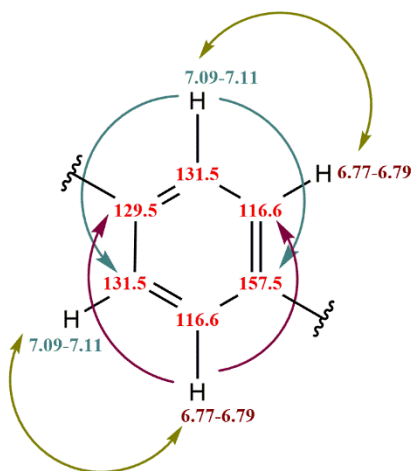
Pomocí gHMBC byly určeny korelace mezi atomy vodíku a uhlíku přes 3 vazby. Slabší signály pak odpovídají interakcím přes 2 nebo 4 vazby (Tabulka 9).

¹ H(ppm)	¹³ C (ppm)		
	Korelace		
	3 vazby	2 vazby	4 vazby
2.72–2.82	112.9, 129.6	41.3, 126.0	57.9, 148.3
2.82–2.88	129.6, 131.5	57.9	41.3
2.92–3.10	57.9, 126.0	28.6	–
3.18–3.21	129.6, 131.5	57.9	41.3
3.22–3.25	57.9, 126.0	28.6	–
3.81	148.3	–	–
4.16–4.20	114.1, 126.0	41.7, 129.6	
6.68	57.9, 126.0, 148.3	–	112.9
6.69	28.6, 129.6, 146.0	–	114.1
6.77–6.79	116.6, 129.5	157.5	–
7.09–7.11	41.7, 131.5, 157.5	116.6	–

Tabulka 9 – gHMBC korelace neznámé látky MAG-H3

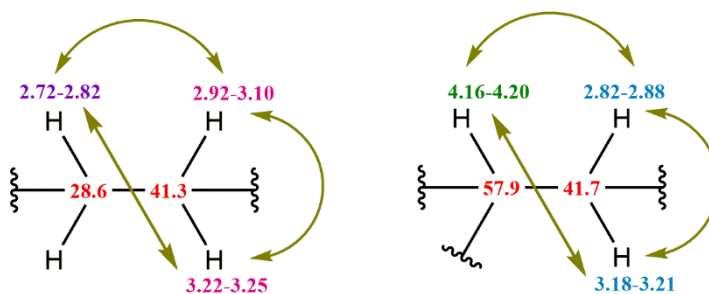
Určování struktury bylo opět započato od jednoho z benzenových jader. Aromatický atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.68$ ppm koreluje přes tři vazby se dvěma atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 126.0$ ppm a $\delta = 148.3$ ppm. Obdobnou korelaci se dvěma atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 129.6$ ppm a $\delta = 146.0$ ppm vykazuje druhý aromatický vodík téhož benzenového jádra s chemickým posunem $\delta = 6.69$ ppm. Signál atomu vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.81$ ppm patřící methoxyskupině vykazuje korelaci přes tři vazby s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 148.3$ ppm. Struktura sestavená podle těchto korelací je zobrazena na Obrázku 21.

Obdobně interaguje atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.09\text{--}7.11$ ppm s atomy uhlíku s chemickým posunem $\delta = 131.5$ ppm a $\delta = 157.5$ ppm. (Obrázek 23)



Obrázek 23 – Určování strukturního motivu II pro neznámou látku MAG-H3

Korelace atomů vodíku patřící alifatickým uhlíkům byly určeny pomocí gCOSY experimentu. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 2.72\text{--}2.82$ koreluje s atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 2.92\text{--}3.10$ ppm a $\delta = 3.22\text{--}3.25$ ppm. Atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 2.92\text{--}3.10$ ppm a $\delta = 3.22\text{--}3.25$ ppm vzájemně interagují. Vodík s chemickým posunem $\delta = 2.82\text{--}2.88$ ppm koreluje s atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 3.18\text{--}3.21$ ppm a $\delta = 4.16\text{--}4.20$ ppm. Tyto dva vodíky také vykazují vzájemnou korelaci. Tyto korelace gCOSY jsou znázorněny na Obrázku 24.



Obrázek 24 – Určování strukturního motivu III pro neznámou látku MAG-H3

Neznámá sloučenina má stanovenou molekulovou hmotnost 285. Molekulová hmotnost doposud určených strukturních motivů je 236. Rozdíl tedy odpovídá 49. Této zbývající molekulové hmotnosti odpovídá jeden atom dusíku s navázaným atomem vodíku, tedy sekundární aminoskupina, dále dva atomy kyslíku a dva atomy vodíku. Vodíky nejsou v $^1\text{H-NMR}$ spektru viditelné z důvodu rychlé výměny protonů v polárním protickém rozpouštědle. Jedná se tedy o dvě hydroxyskupiny, které jsou navázané na dva aromatické kvarterní uhlíky s vyššími chemickými posuny $\delta = 146.0$ ppm a $\delta = 157.5$ ppm, každý na jednom aromatickém jádře. Sumární vzorec neznámé sloučeniny je tedy $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_3$. Pro tento sumární vzorec platí index nenasycenosti (U):

$$U = 1 + \frac{2 \cdot n_C + n_N - n_H}{2}$$

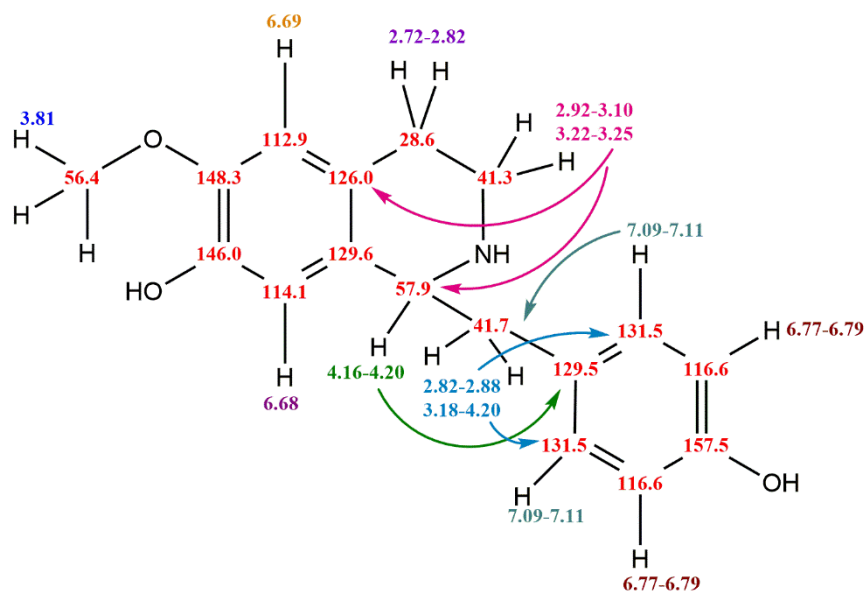
$$U = 1 + \frac{2 \cdot 17 + 1 - 19}{2}$$

$$U = 9$$

Vzhledem k celkovému počtu aromatických uhlíků a indexu nenasycenosti lze potvrdit strukturní prvky neznámé molekuly, kterými jsou dvě benzenová jádra ($U = 8$) a alifatický cyklus ($U = 1$).

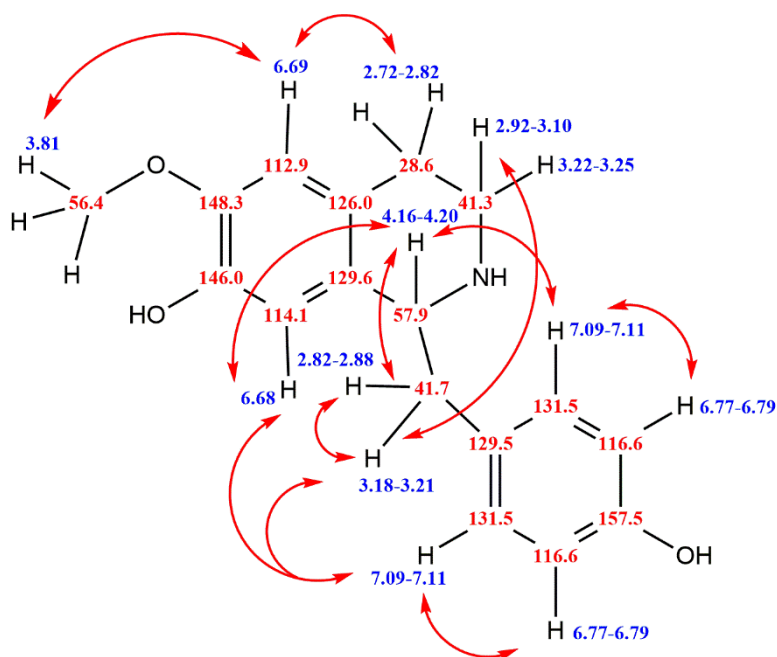
Postavení vodíků a uhlíků z gCOSY experimentu potvrzuje i gHMBC experiment, kde atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 2.92\text{--}3.10$ ppm a $\delta = 3.22\text{--}3.25$ ppm interagují přes tři vazby s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 126.0$ ppm prvního benzenového kruhu. Tyto atomy vodíku navázané na jeden uhlík interagují přes tři vazby i s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 57.9$ ppm, který je, jak už je dříve uvedeno, odstíněn heteroatomem. Tímto je objasněné postavení sekundární aminoskupiny.

K dokončení celé struktury zbývá propojit již známou část s druhým benzenovým jádrem. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 4.16\text{--}4.20$ ppm interaguje v gHMBC experimentu přes tři vazby s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 129.5$ ppm. Atomy vodíku, které patří jednomu atomu uhlíku, mají chemické posuny $\delta = 2.82\text{--}2.88$ ppm a $\delta = 3.18\text{--}3.21$ ppm interagují oba přes tři vazby s atomem uhlíku o chemickém posunu $\delta = 131.5$ ppm. Naopak atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.09\text{--}7.11$ ppm interaguje s atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 41.7$ ppm. Z toho vyplývá, že benzenová jádra jsou spojena přes dva uhlíky s chemickými posuny $\delta = 41.7$ ppm a $\delta = 57.9$ ppm. (Obrázek 25)



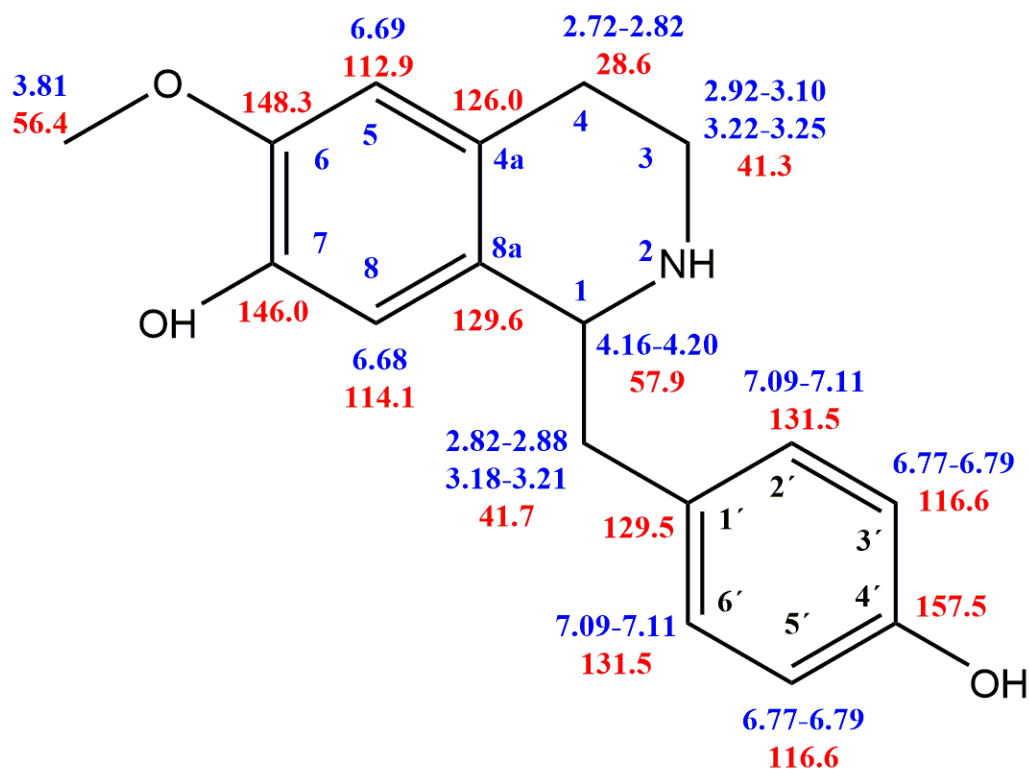
Obrázek 25 - Určování strukturního motivu IV pro neznámou látku MAG-H3

Určenou strukturu potvrdily i NOESY korelace přes prostor, které jsou vyznačeny na Obrázku 26.



Obrázek 26 – NOESY interakce neznámé sloučeniny MAG-H3

Struktura neznámé sloučeniny s označením MAG-H3 se sumárním vzorcem $C_{17}H_{19}NO_3$ byla určena jako koklaurin, 1-(4'-hydroxybenzyl)-6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-7-ol. (Obrázek 27) ⁽²¹⁾



Obrázek 27 – Struktura určené látky MAG-H3

¹H NMR (MeOD, 500 MHz, 25 °C): 2.72–2.82 (2H, m, *H*₄), 2.82–2.88 (1H, m, *CH*₂), 2.92–3.10 (1H, m, *H*₃), 3.18–3.21 (1H, m, *CH*₂), 3.22–3.25 (1H, m, *H*₃), 3.81 (3H, s, OCH₃), 4.16–4.20 (1H, m, *H*₁), 6.68 (1H, s, *H*₈), 6.69 (1H, s, *H*₅), 6.77–6.79 (2H, m, *H*₃', *H*₅'), 7.09–7.11 (2H, m, *H*₂', *H*₆') ppm.

¹³C NMR (MeOD, 125 MHz, 25 °C): 28.6 (*C*₄), 41.3 (*C*₃), 41.7 (*CH*₂), 56.4 (OCH₃), 57.9 (*C*₁), 112.9 (*C*₅), 114.1 (*C*₈), 116.6 (*C*₃', *C*₅'), 126.0 (*C*_{4a}), 129.5 (*C*₁'), 129.6 (*C*_{8a}), 131.5 (*C*₂', *C*₆'), 146.0 (*C*₇), 148.3 (*C*₆), 157.5 (*C*₄') ppm.

5 Závěr

Teoretická část této práce je zaměřena na stručný popis rodu *Magnolia* a látkám, které se v těchto rostlinách vyskytují.

V experimentální části byla pomocí NMR spektroskopie určena struktura tří neznámých látek izolovaných z *Magnolia × soulangeana* patřící do čeledi Magnoliaceae.

První neznámou látkou se sumárním vzorcem $C_{18}H_{21}NO_3$ kódově označenou jako MagG3B byl určen alkaloid *N*-norarmepavin.⁽¹⁹⁾

Druhou látkou se sumárním vzorcem $C_{19}H_{23}NO_3$ kódově označenou jako MAG-G1 byl určen alkaloid armepavin.⁽²⁰⁾

Třetí látka se sumárním vzorcem $C_{17}H_{19}NO_3$ kódově označená jako MAG-H3 byla určena jako alkaloid koklaurin.⁽²¹⁾

NMR spektra všech látek byla v literatuře již uvedena. Měření však byla prováděna v aprotických nepolárních rozpouštědlech (CD_2Cl_2 , $CDCl_3$). Spektra měřená v CD_3OD nebyla v žádné literatuře dostupná. Změřená spektra tedy nelze porovnat.

6 Citovaná literatura

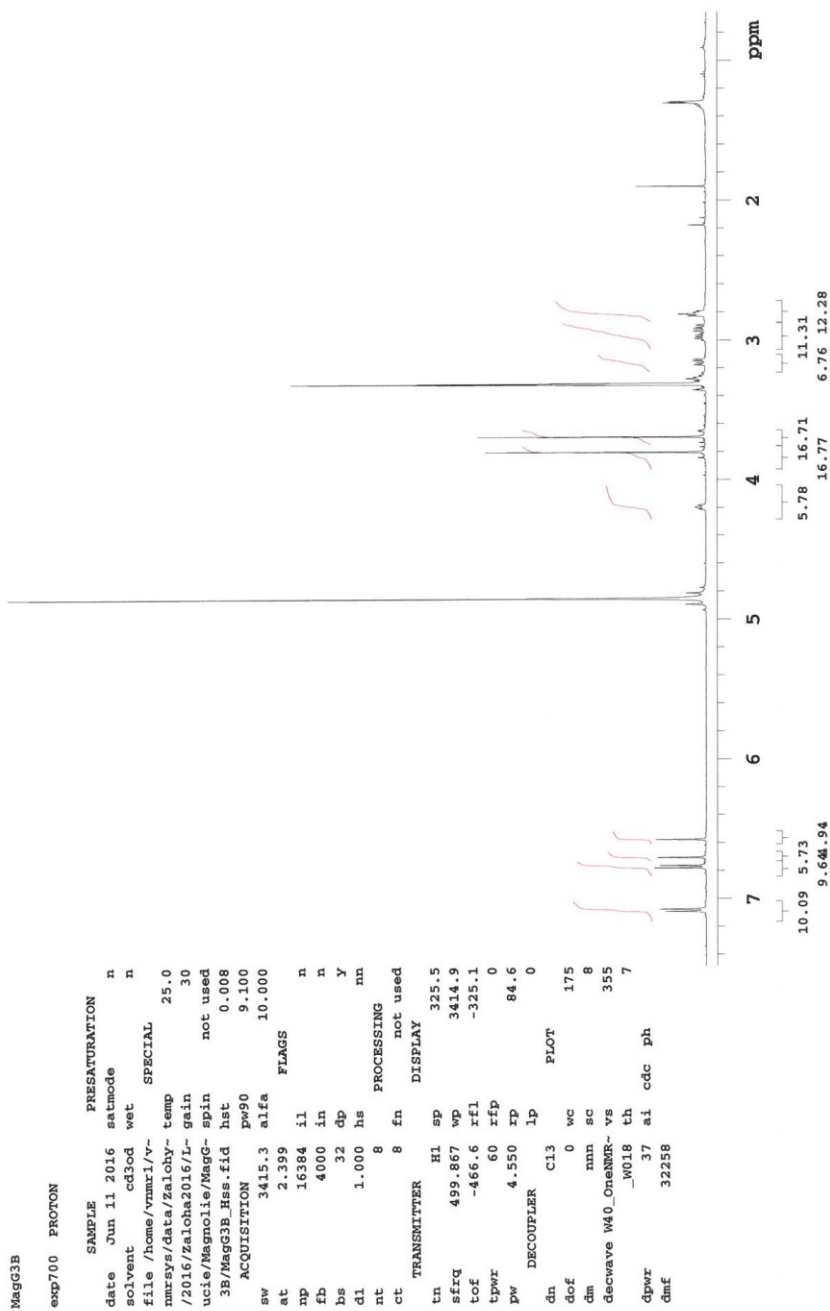
1. **Jahodář, L.** *Farmakobotanika: semenné rostliny*. Praha : Karolinum, 2011. str.37–39. ISBN 978-80-246-2015-2.
2. **Sarker, S. D., Maruyama, Y. (Eds.)**. *Magnolia: The Genus Magnolia*. London : Taylor&Francis, 2002. ISBN 0-203-21665-2.
3. **Horáček, P.** *Encyklopedie listnatým stromů a keřů*. Brno : Computer Press, 2007. str. 423–430. ISBN 80-251-1708-8.
4. **Musil, I. a Möllerová, J.** *Listnaté dřeviny, Přehled dřevin v rámci systému rostlin krytosemenných (Lesnická dendrologie 2)*. Praha : Česká zemědělská univerzita, 2005. str. 15. ISBN 80-213-1367-6.
5. **Abdallah, O. M.** Lignans in Flower Buds of Magnolia Soulangeana. *Phytochemistry*. 1993, Sv. 34, č. 4, str. 1185–1187.
6. **Slavík, J. a Slavíková, L.** Quaternary Isoquinoline Alkaloids and Some Diterpenoid Alkaloids in Plants of the Czech Republic. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 1995, Sv. 60, 6.
7. **Spongberg, S. A.** Some Old and New Interspecific Magnolia Hybrids. *Arnoldia*. 1976, Sv. 36, 4, str. 129–145, <https://www.jstor.org/stable/42954103>.
8. **Prančl, J.** botany.cz. [Online] [Citace: 09. duben 2019.] <https://botany.cz/cs/magnolia-soulangeana/>.
9. **Hejný, S. a Slavík, B.** *Květena České republiky 1*. 2. vydání. Praha : Academia, 1997. str. 347. ISBN 80-200-0643-5 .
10. **Beishen, E.** Magnolia x soulangeana (Saucer Magnolia) Magnoliaceae. *Environmental Studies*. [Online] Lake Forest Collage. [Citace: 16. duben 2019.] <https://www.lakeforest.edu/academics/programs/environmental/courses/es203/magnolia-x-soulangeana-saucer-magnolia-magnoliaceae.php>.
11. **Šimek, P. (garant)**. TAXON Magnolia soulangeana. *Taxon Web*. [Online] *Nonverbální a jiné inovativní formy podpory ve výuce na Zahradnické fakultě v Lednici*, reg. č.: CZ.1.07/2.2.00/15.0084. [Citace: 15. duben 2019.] <http://taxonweb.cz/t/1364>.

12. **Rollinger, J. M. et al.** Taspine: Bioactivity-Guided Isolation and Molecular Ligand - Target Insight of a Potent Acetylcholinesterase Inhibitor from *Magnolia x soulangiana*. *J. Nat. Prod.* 2006, Sv. 69, str. 1341–1346.
13. **Ziyaev, R. et al.** Alkaloids of *Magnolia soulangeana*. *Chemistry of Natural Compounds.* 1975, Sv. 11, 4, str. 560–561.
14. **Ziyaev, R. et al.** Alkaloids of Some *Magnolia* Species. *Chemistry of Natural Compounds.* 1999, Sv. 35, str. 366–367.
15. **Vachnadze, N. et al.** Analysis of some species of magnolia introduced to west georgia, on content of aporphine alkaloids and their biological activity. *Georgian Med. News.* 2015, Sv. 241, str. 84–88.
16. **Song, Q. a Fischer, N. H.** Biologically Active Lignans and Neolignans from *Magnolia* Species. *Revista de la Sociedad Química de México.* 1999, Sv. 43, č. 6, str. 211–218.
17. **Jardetzky, O. a Roberts, G. C. K.** *NMR in Molecular Biology.* New York : Academic Press, 1981. ISBN 0-12-380580-5.
18. **Waisser, K. a Pour, M.** *Organická chemie II.* Praha : Karolinum, 2003. ISBN 80-246-0703-4.
19. **Shigehisa, H. a Honda, T.** Unexpected unique behavior of spiro-isoquinolines with a cyclohexadienone system in attempted dienone-phenol rearrangement. *Heterocycles.* 2008, Sv. 75, 5, str. 1233–1239.
20. **Orejarena Pacheco, J. C. et al.** Synthesis of Alkaloids by Stevens Rearrangement of Nitrile-Stabilized Ammonium Ylides: (+/-)-Laudanosine, (+/-)-Laudanidine, (+/-)-Armapavine, (+/-)-7-Methoxycryptopleurine, and (+/-)-Xylopinine. *The Journal of Organic Chemistry.* 2013, Sv. 78, str. 10.
21. **Lu, S. T. et al.** Alkaloids of *Denaasia triandra*. *Phytochemistry.* 1989, Sv. 28, 2, str. 615–620.

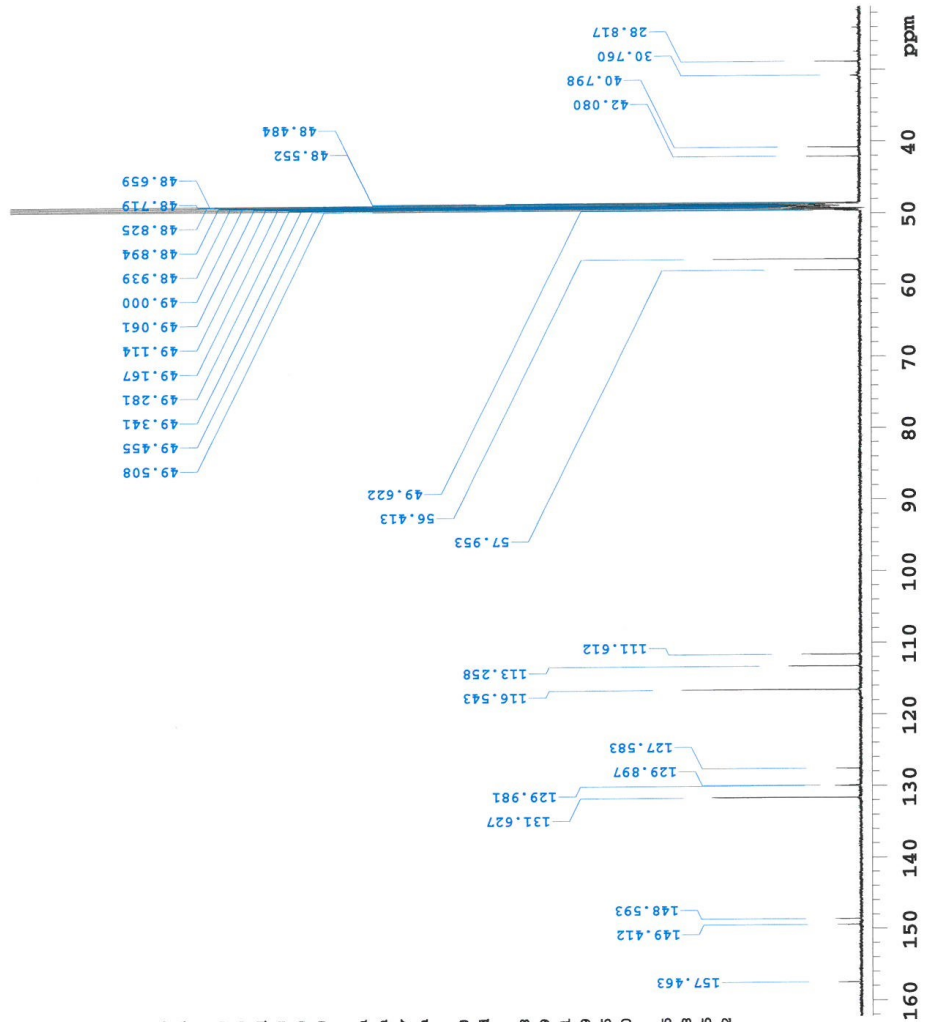
7 Přílohy

7.1 MagG3B

¹H NMR



¹³C NMR



```

MagG3B
exp701 CARBON
SAMPLE PRESATURATION
date Jun 11 2016 satmode n
solvent cd3od wet n
file /home/vnmr1/v~/SPECIAL
nmrSYS/data/Zaloha2016/L- gain 25.0
/2016/Zaloha2016/L- gain 30
ucie/Magnolie/MagG- spin not used
3B/MagG3B_C.fid hst 0.008
ACQUISITION pw90 11.300
sw 31250.0 alfa 10.000
at 1.049 FLAGS
np 65536 il n
fb 17000 in n
bs 1 dp y
d1 1.000 hs nn
nt 15000 lb 0.50
ct 15000 fn not used
TRANSMITTER C13 DISPLAY
sfrq 125.705 sp 2659.8
tof 1913.9 wp 17727.9
tpwr 55 rfl 7780.1
pw 5.650 rfp 6158.9
DECOUPLER rp 38.6
dn H1 lp 0
dof 0 PLOT
dm YYY wc 175
decwave w sc 8
dpxr 41 vs 505
dmf 12346 th 2
nm cdc ph
  
```


MagG3B

Sample Name:

Data Collected on:
vnmrs500--vnmrs500
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/probes/probe_calibs
Sample directory:

File: MagG3B_Het

Pulse Sequence: gHSQC

Solvent: cd3od

Data collected on: Jun 11 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.150 sec

Width 3415.3 Hz

2D Width 21367.5 Hz

16 repetitions

2 x 512 increments

OBSERVE H1, 499.8651827 MHz

DECOUPLE C13, 125.7006271 MHz

Power 37 dB

on during acquisition

off during delay

W40_OneNMR_W018 modulated

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.069 sec

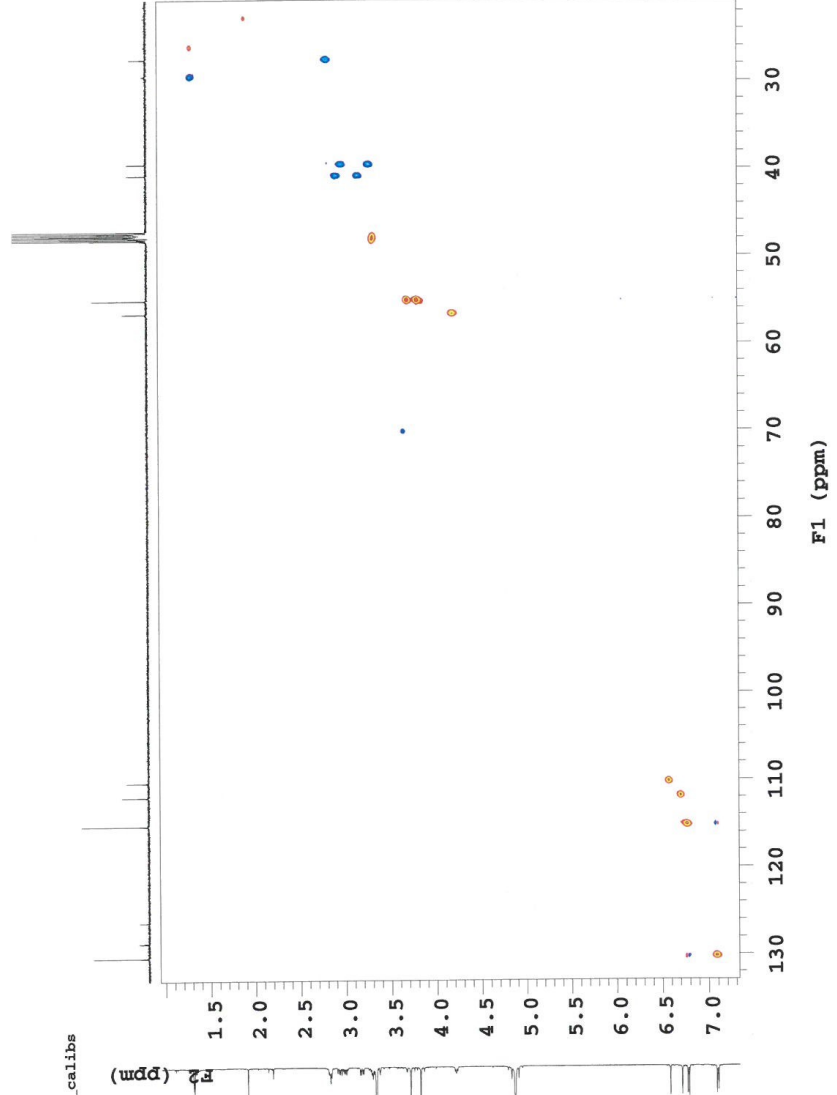
F1 DATA PROCESSING

Resol. enhancement 0.0 Hz

Gauss apodization 0.012 sec

FT size 4096 x 4096

Total time 5 hr, 27 min



gHSQC

MagG3B



Sample Name:

Data Collected on:
vmrs500-vmrs500
Archive directory:
/home/vmri/vmrsys/probes/probe_calibs
Sample directory:

FidFile: MagG3B_Cosy

Pulse Sequence: gCOSY
Solvent: cd3od
Data collected on: Jun 11 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vmri

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.150 sec
Width 3415.3 Hz
2D Width 3415.3 Hz
8 repetitions

512 increments
OBSERVE H1, 499.8651827 MHz

DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.075 sec

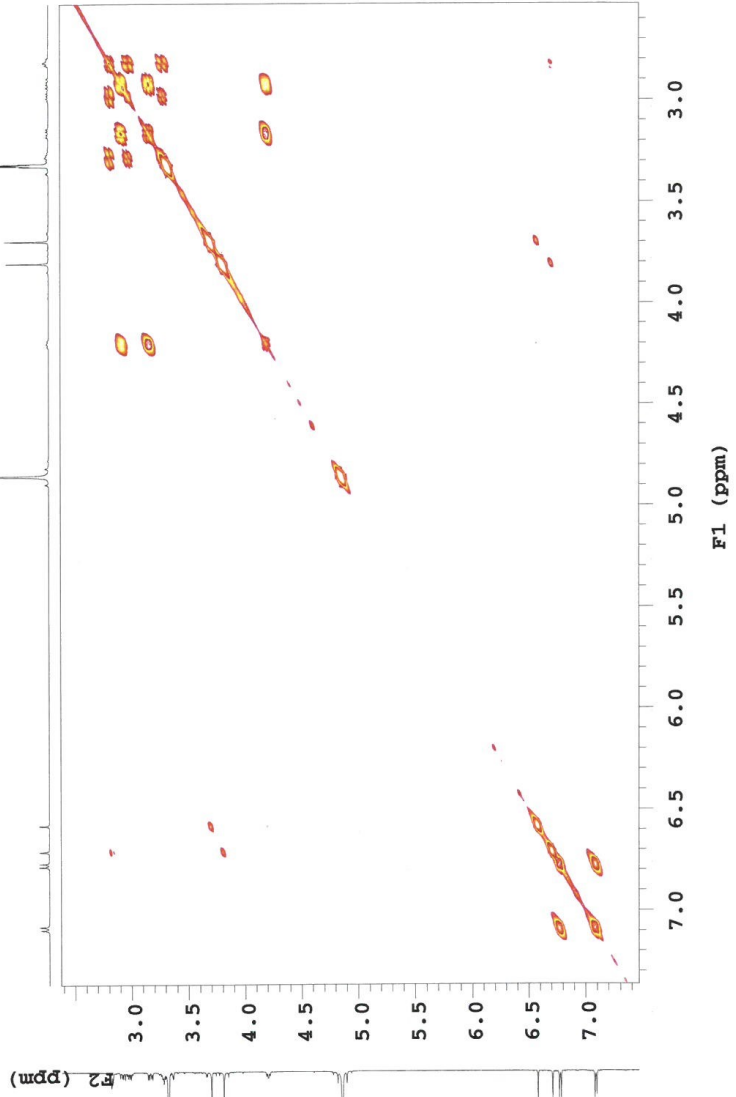
F1 DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.077 sec

FT size 4096 x 4096

Total time 1 hr, 26 min

gCOSY



MagG3B

Sample Name:

Data Collected on:
vnmrs500-vnmrs500
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/probes/probe_calibs
Sample directory:

File: MagG3B_LR

Pulse Sequence: gHMBCAD

Solvent: cd3od

Data collected on: Jun 11 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.150 sec

Width 3415.3 Hz

2D Width 30165.9 Hz

32 repetitions

2 x 512 increments

OBSERVE H1, 499.8651827 MHz

DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.075 sec

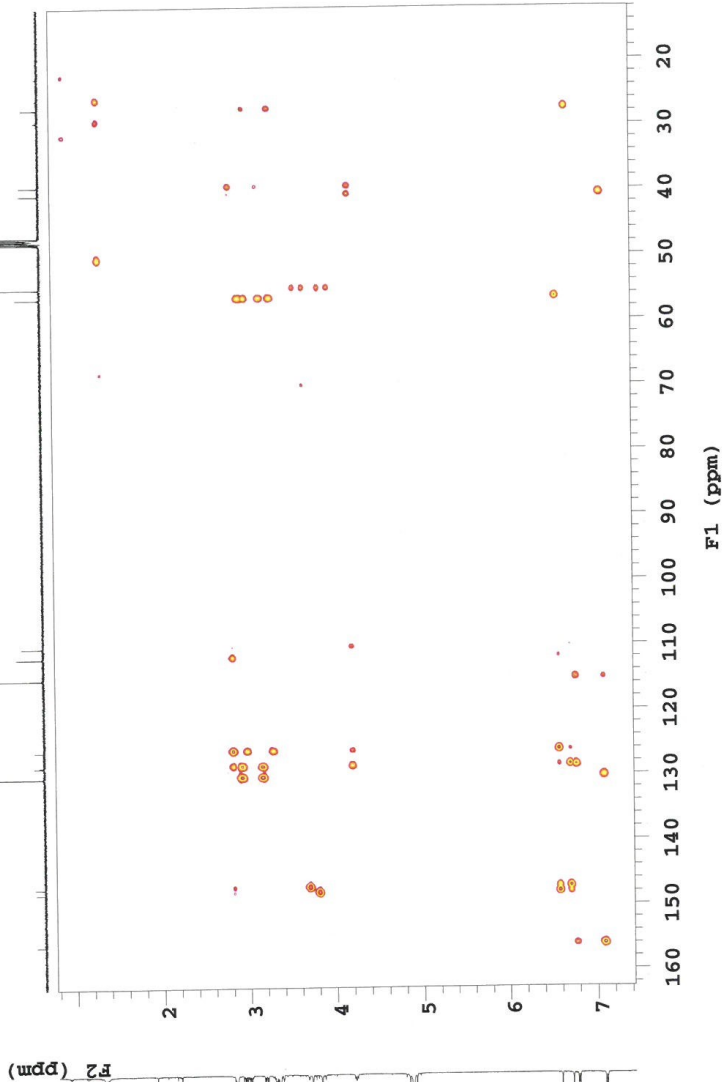
F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.007 sec

Ft size 4096 x 4096

Total time 11 hr, 17 min

Agilent Technologies



gHMBC

NOESY



MagG3B

Sample Name:

Data Collected on:
vmrs500-vmrs500
Archive directory:
/home/vmr1/vmrsys/probes/probe_calibs
Sample directory:

FidFile: MagG3B_NOE

Pulse Sequence: NOESY

Solvent: cd3od

Data collected on: Jun 11 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vmr1

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.150 sec

Width 3415.3 Hz

2D Width 3415.3 Hz

16 repetitions

2 x 512 increments

OBSERVE H1, 499.8651827 MHz

DATA PROCESSING

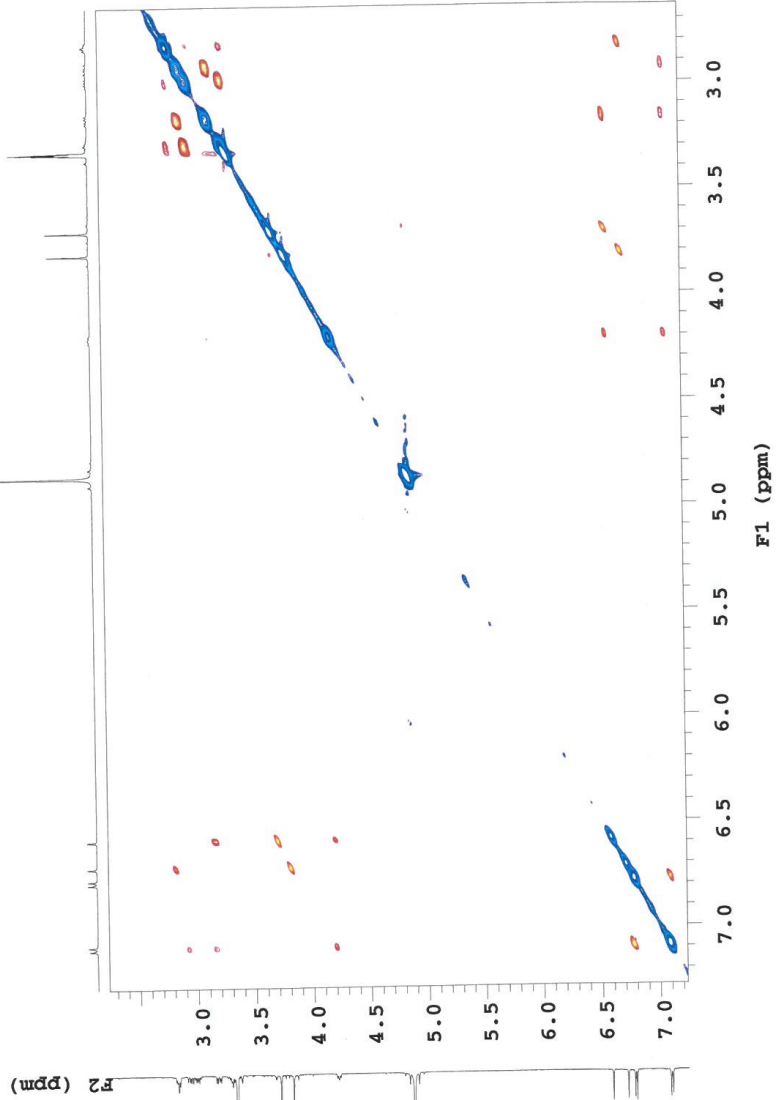
Gauss apodization 0.069 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.073 sec

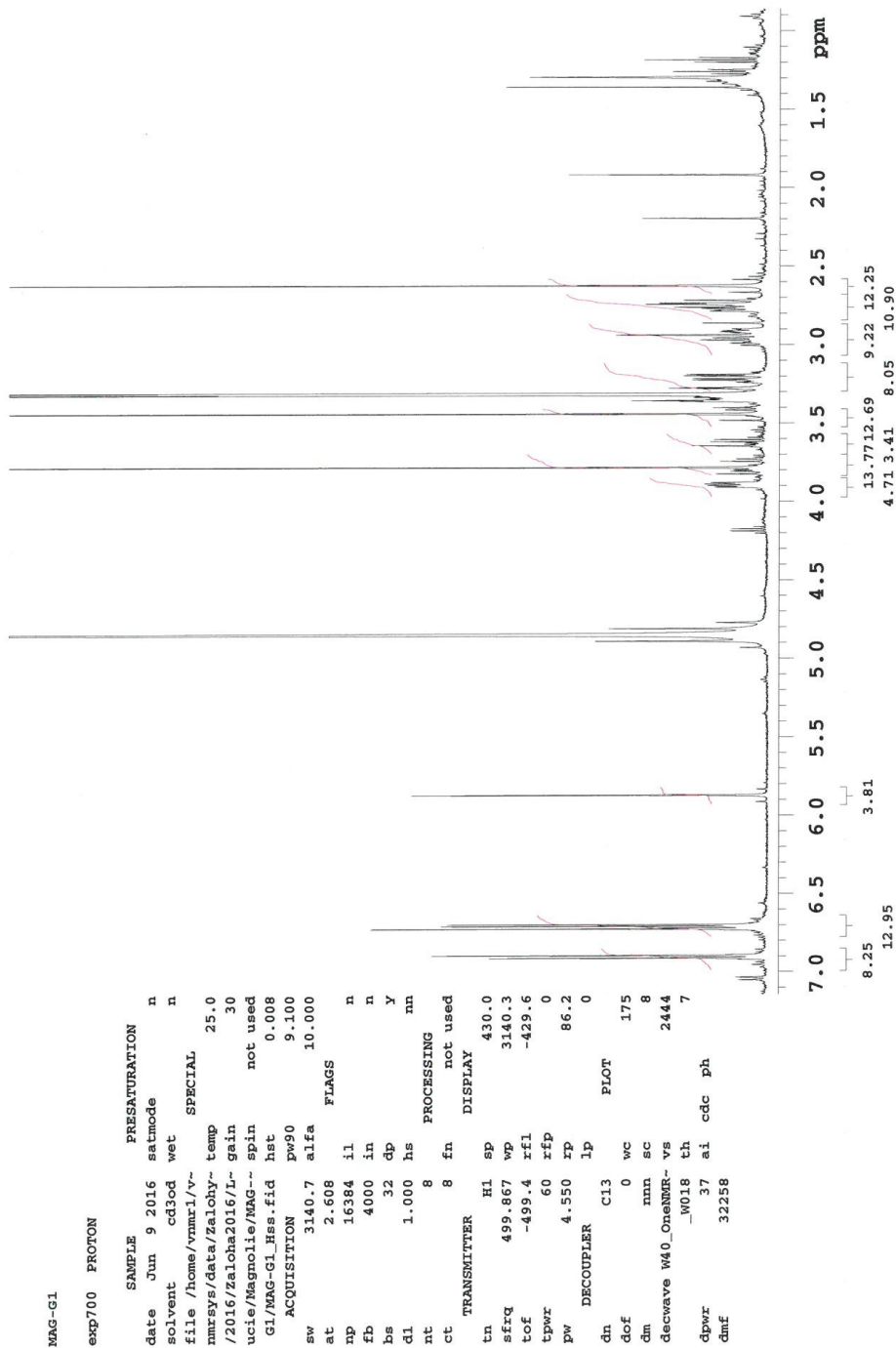
FT size 4096 x 4096

Total time 8 hr, 47 min



7.2 MAG-G1

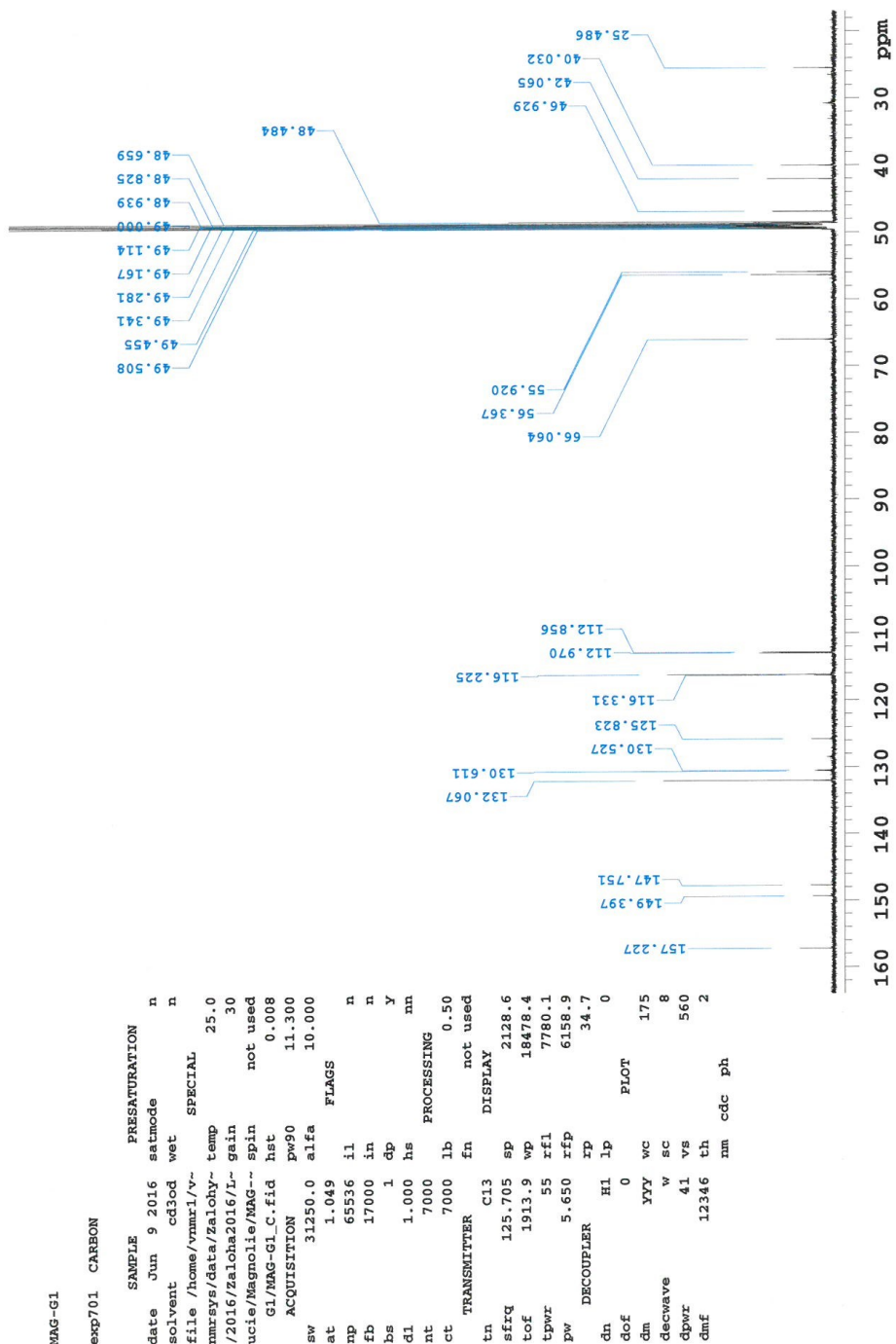
¹H-NMR



```

MAG-G1
exp700 PROTON
SAMPLE PRESATURATION
date Jun 9 2016 satmode n
solvent cd3od wet n
file /home/vmmr1/v~ SPECIAL
nmrSYS/data/Zaloha2016/L- temp 25.0
/2016/Zaloha2016/L- gain 30
ucle/Magnolie/MAG-~ spin not used
G1/MAG-G1.Hss.fid hst 0.008
ACQUISITION pw90 9.100
sw 3140.7 alfa 10.000
at 2.608
np 16384 il n
fb 4000 in n
bs 32 dp y
d1 1.000 hs nn
nt 8
ct 8 fn not used
TRANSMITTER H1 SP DISPLAY
tn 430.0
sfrq 499.867 wp 3140.3
tof -499.4 xfl -429.6
tpwr 60 rfp
pw 4.550 zp 86.2
DECOUPLER lp 0
dn C13 PLOT
dof 0 vc 175
dm nnn sc 8
decwave W40_OneNMR- vs 2444
_w018 th 7
dpwr 37 ai cdc ph
dmf 32258
  
```

13C-NMR



MAG-G1

Sample Name:

Data Collected on:
vnmrs500-vnmrs500
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/probes/probe_calibs
Sample directory:

FidFile: MAG-G1_Het

Pulse Sequence: gHSQC

Solvent: cd3od

Data collected on: Jun 9 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.150 sec

Width 3140.7 Hz

2D Width 21367.5 Hz

8 repetitions

2 x 512 increments

OBSERVE H1, 499.8651827 MHz

DECOUPLE C13, 125.7006271 MHz

Power 37 dB

on during acquisition

off during delay

W40 OneNMR W018 modulated

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.069 sec

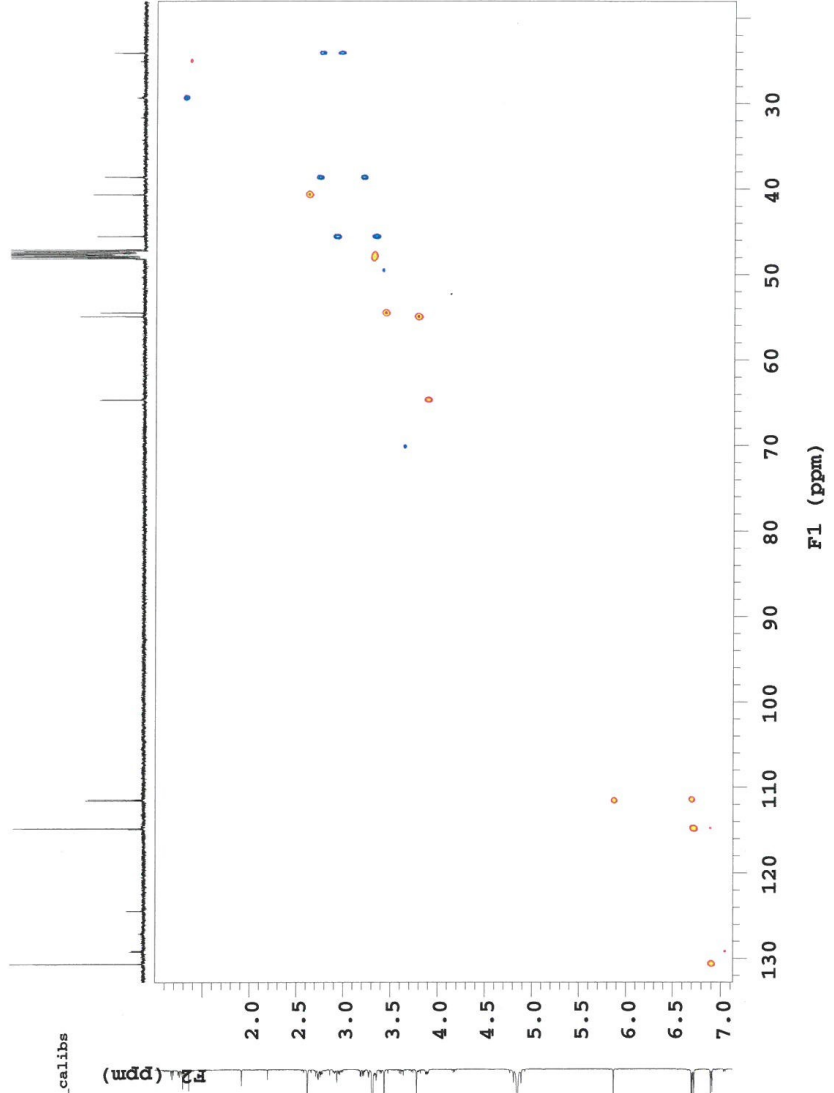
F1 DATA PROCESSING

Resol. enhancement 0.0 Hz

Gauss apodization 0.012 sec

FT size 4096 x 4096

Total time 2 hr, 44 min



gHSQC

MAG-G1



Sample Name:

Data Collected on:
vnmrs500-vnmrs500
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/probes/probe_calibs
Sample directory:

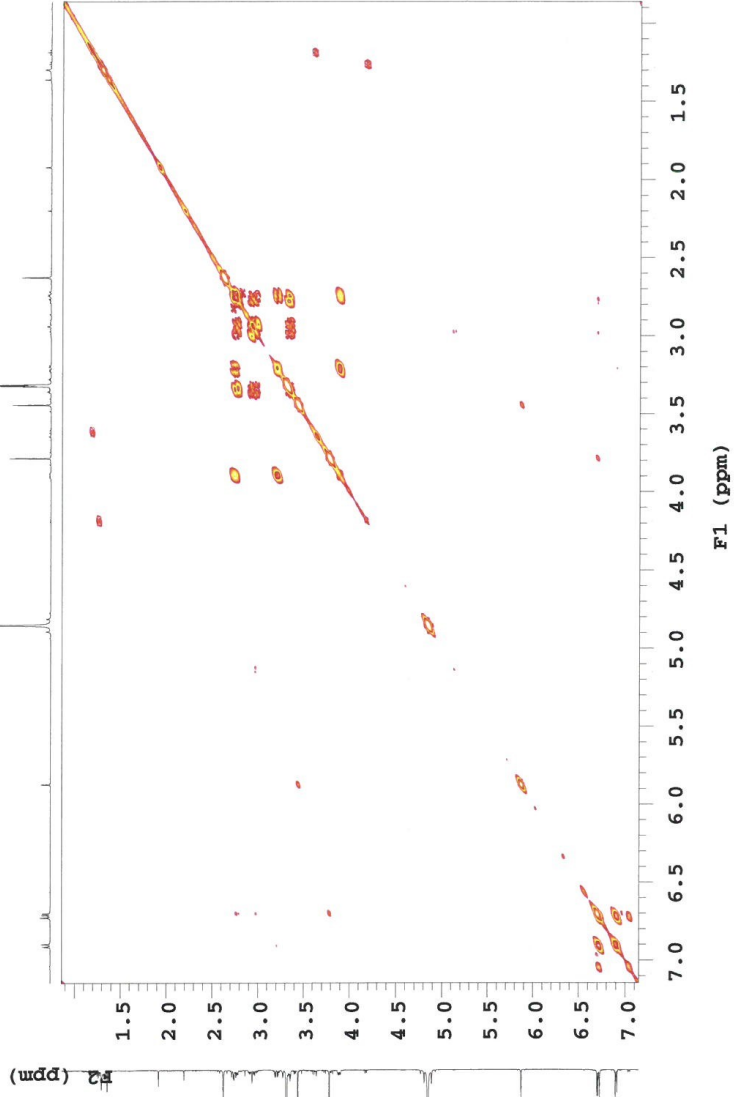
FidFile: MAG-G1_COSY

Pulse Sequence: gCOSY
Solvent: cd3od
Data collected on: Jun 9 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.150 sec
Width 3140.7 Hz
2D width 3140.7 Hz
4 repetitions

512 increments
OBSERVE H1, 499.8651827 MHz
DATA PROCESSING
Sg. sine bell 0.075 sec
F1 DATA PROCESSING
Sg. sine bell 0.085 sec
Ft size 4096 x 4096
Total time 43 min



gCOSY

MAG-G1

Sample Name:

Data Collected on:
vnmrs500-vnmrs500
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/probes/probe_calibs
Sample directory:

FidFile: MAG-G1_LR

Pulse Sequence: gHMBCAD

Solvent: cd3od

Data collected on: Jun 9 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.150 sec

Width 3140.7 Hz

2D Width 30165.9 Hz

16 repetitions

2 x 512 increments

OBSERVE H1, 499.8651827 MHz

DATA PROCESSING

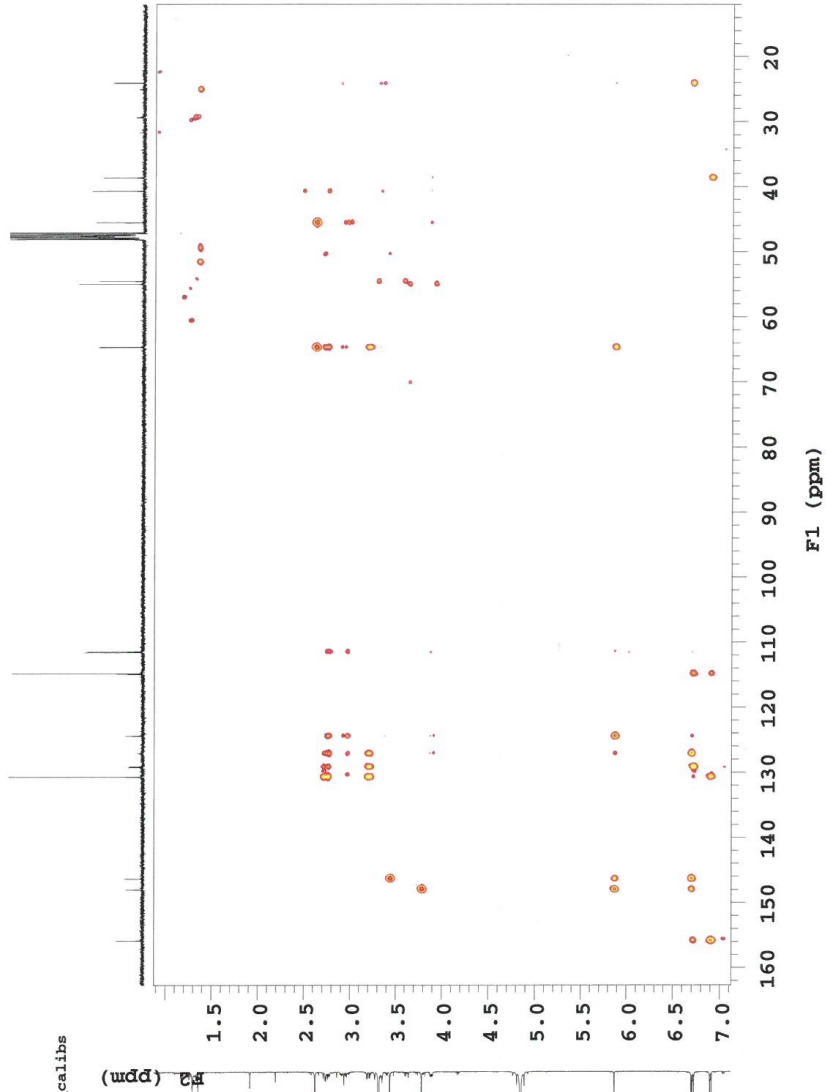
Sq. sine bell 0.075 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.008_sec

Ft size 4096 x 4096

Total time 5 hr, 39 min



gHMBC

NOESY



MAG-G1

Sample Name:

Data Collected on:
vnmrs500-vnmrs500
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/probes/probe_calibs
Sample directory:

FidFile: MAG-G1_NOE

Pulse Sequence: NOESY

Solvent: cd3od

Data collected on: Jun 9 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.150 sec

Width 3140.7 Hz

2D Width 3140.7 Hz

8 repetitions

2 x 512 increments

OBSERVE H1, 499.8651827 MHz

DATA PROCESSING

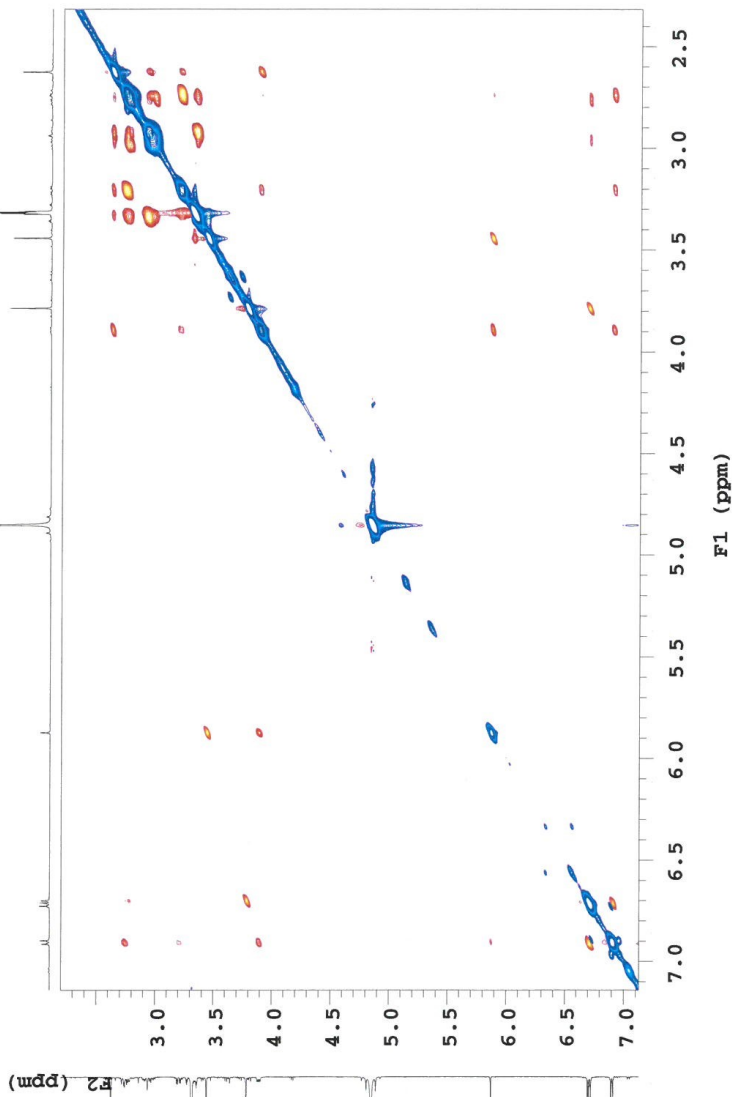
Gauss apodization 0.069 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.051 sec

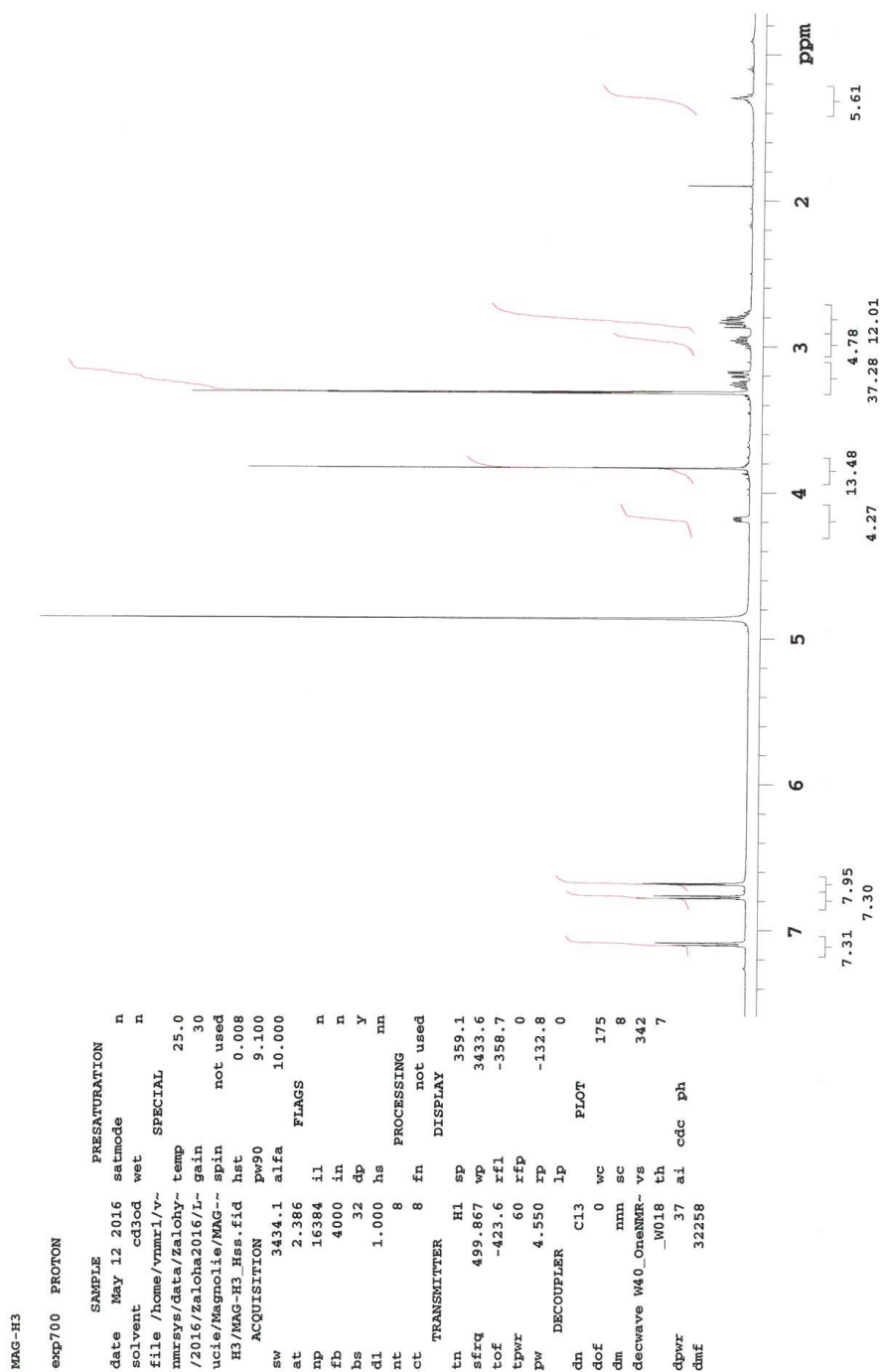
Ft size 4096 x 4096

Total time 4 hr, 25 min

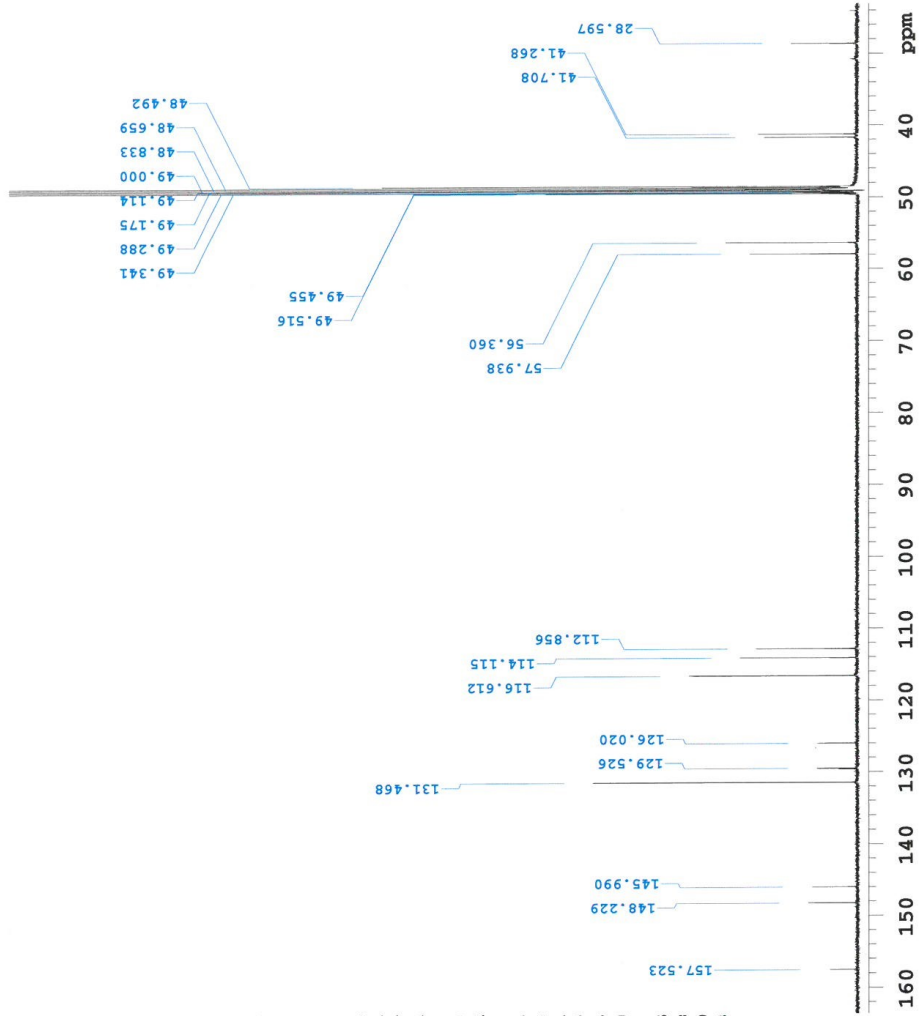


7.3 MAG-H3

¹H-NMR



¹³C-NMR



MAG-H3

exp701 CARBON

```

SAMPLE PRESATURATION
date May 12 2016 satmode n
solvent cd3od wet n
file /home/vnmr1/v- SPECIAL
nmreys/data/zaloha2016/L- gain 25.0
/2016/zaloha2016/L- gain 30
ucie/magnolie/MAG-- spin not used
H3/MAG-H3_C.fid hst 0.008
ACQUISITION Fw90 11.300
sw 31250.0 alfa 10.000
at 1.049 FLAGS
np 65536 il n
fb 17000 in n
bs 1 dp Y
d1 1.000 hs nm
nt 10000 PROCESSING
ct 10000 lb 0.50
TRANSMITTER fn not used
tn C13 DISPLAY
sfrq 125.705 sp 2902.1
tof 1913.9 wd 17655.4
tpwr 55 rfl 7780.1
pw 5.650 rfp 6158.9
DECOUPLER fp -48.5
dn H1 lp 0
dof 0 PLOT
dm YXY wc 175
decwave w sc 8
dpwr 41 vs 610
dmf 12346 th nm cdc ph 3
    
```

MAG-H3

Sample Name:

Data Collected on:
vmrs500-vmrs500
Archive directory:

Sample directory:

File: MAG-H3_Het

Pulse Sequence: gHSQC

Solvent: cd3od
Data collected on: May 12 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vmr1

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.150 sec
Width 3434.1 Hz
2D Width 21367.5 Hz
8 repetitions

2 x 512 increments
OBSERVE H1, 499.8651827 MHz
DECOUPLE C13, 125.7006271 MHz
Power 37 dB

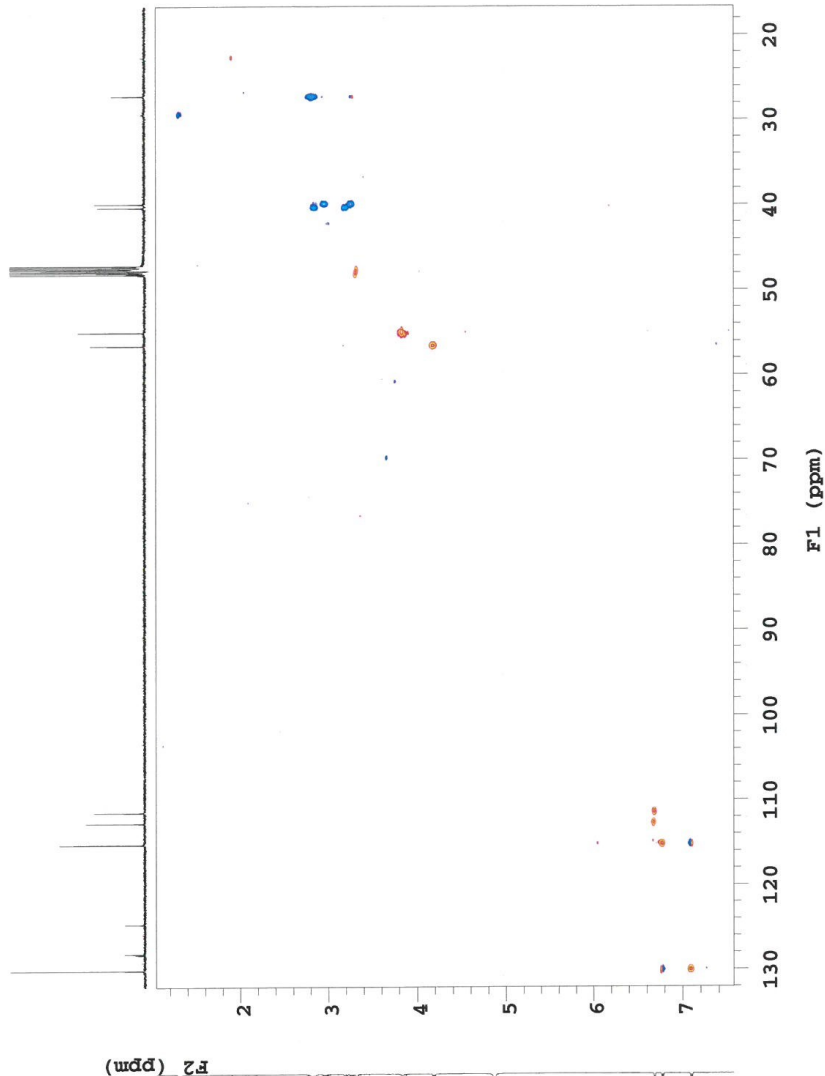
on during acquisition
off during delay

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

MAG-H3



Sample Name:

Data Collected on:
vmrs500-vmrs500
Archive directory:

Sample directory:

File: MAG-H3_Cosy

Pulse Sequence: gCOSY

Solvent: cd3od

Data collected on: May 12 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vmr1

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.150 sec

Width 3434.1 Hz

2D Width 3434.1 Hz

4 repetitions

512 increments

OBSERVE H1, 499.8651827 MHz

DATA PROCESSING

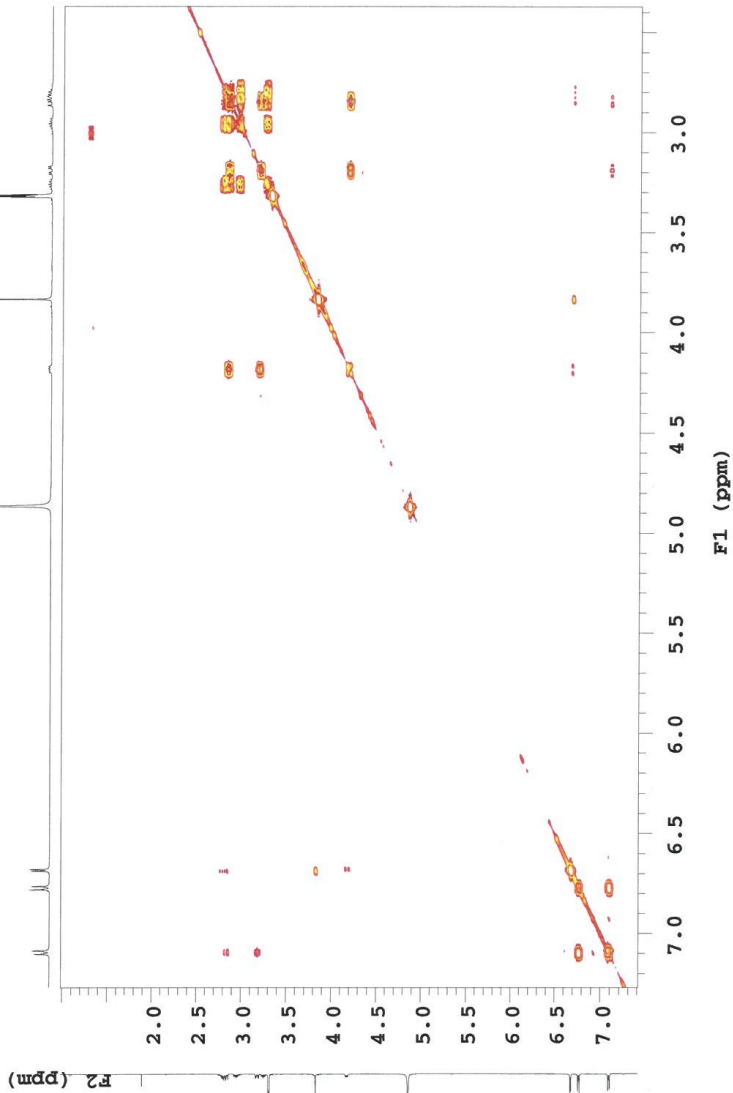
Sq. sine bell 0.075 sec

F1 DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.077 sec

Ft size 4096 x 4096

Total time 43 min



MAG-H3



Sample Name:

Data Collected on:
vmrs500-vmrs500
Archive directory:

Sample directory:

File: MAG-H3_LR

Pulse Sequence: gHMBCAD
Solvent: cd3od
Data collected on: May 12 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vmr1

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.150 sec
Width 3434.1 Hz
2D Width 30165.9 Hz
16 repetitions

2 x 512 increments
OBSERVE H1, 499.8651827 MHz
DATA PROCESSING

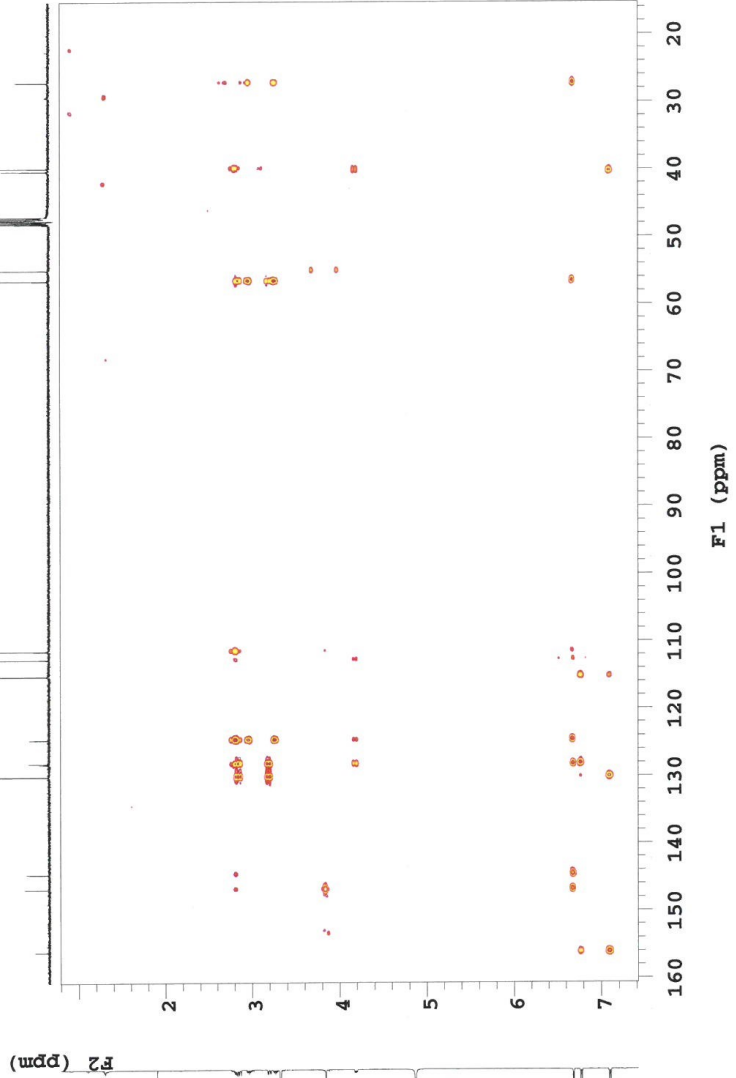
Sq. sine bell 0.075 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.009 sec

FT size 4096 x 4096

Total time 5 hr, 39 min



gHMBC

MAG-H3

Sample Name:

Data Collected on:
vmrs500-vmrs500

Archive directory:

Sample directory:

FidFile: MAG-H3_NOE

Pulse Sequence: NOESY

Solvent: cd3od

Data collected on: May 12 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vmr1

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.150 sec

Width 3434.1 Hz

2D Width 3434.1 Hz

4 repetitions

2 x 1024 increments

OBSERVE H1, 499.8651827 MHz

DATA PROCESSING

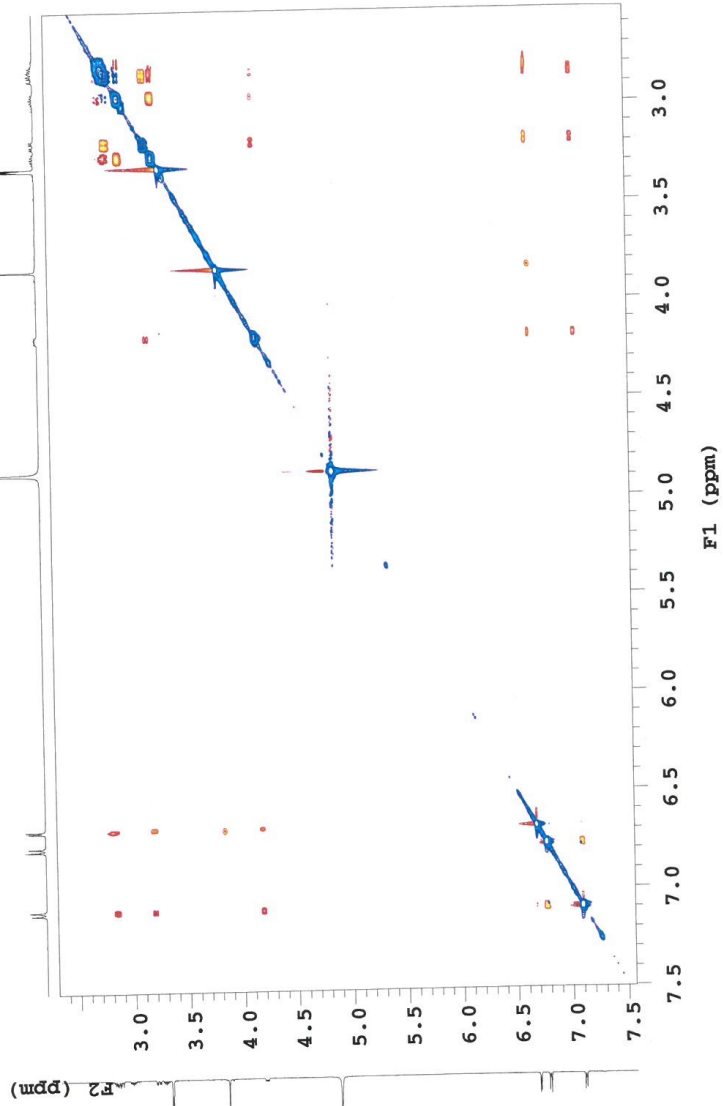
Gauss apodization 0.069 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.089 sec

Ft size 4096 x 4096

Total time 4 hr, 34 min



NOESY