

Univerzita Karlova  
Pedagogická fakulta  
Katedra chemie a didaktiky chemie

## DIPLOMOVÁ PRÁCE

Ověření reaktivity flaviniových solí s *N*- a *O*-nukleofily pro případnou transformaci boronových kyselin na odpovídající aminy

Verification of flavinium salts reactivity with *N*- and *O*-nucleophiles for eventual transformation of boronic acids to corresponding amines

Bc. Linda Honskusová

Vedoucí práce: Ing. Hana Kotoučová, Ph.D.  
Studijní program: Učitelství pro střední školy  
Studijní obor: Učitelství všeobecně vzdělávacích předmětů pro základní školy a střední školy chemie — výchova ke zdraví

2017

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Ověření reaktivity flaviniových solí s *N*- a *O*-nukleofily pro případnou transformaci boronových kyselin na odpovídající aminy vypracovala pod vedením vedoucí práce samostatně, za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále prohlašuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Praze dne 11. 7. 2017

.....  
podpis

*Mé díky patří Hance Kotoučové za odbornou a lidskou spolupráci při zpracování mé diplomové práce, Radku Cibulkovi za konzultace, osazenstvu celé laboratoře 255 na ÚOCH VŠCHT za milé pracovní prostředí a pomocnou ruku, Danielu Novákovi za jeho trpělivost, přístup k životu a inspirující lidskou otevřenost, Zuzce Čepelíkové za sdílení bohatých zkušeností a dlouholetou podporu mého profesního i osobního růstu.*

*V neposlední řadě si zaslouží poděkování moje maminka, bez které by mé studium nebylo umožněno a také sestry, nejbližší rodina a přátelé za jejich podporu.*

## ABSTRAKT

Předkládaná diplomová práce navazuje na dlouhodobě studovanou problematiku na Ústavu organické chemie VŠCHT Praha v oblasti využití flaviniových solí jako katalyzátorů oxidačních reakcí. Cílem bylo ověřit reaktivitu flaviniové soli **13** s různými typy *O*- a *N*-nukleofilů sledováním tvorby odpovídajících C4a-aduktů. V rámci diplomové práce byla připravena jednoduchá alloxaziniová sůl **13** a jeden z nukleofilů hydroxylamin **25**. Právě tento nukleofil jako jediný z nově testovaných tvoří dle výsledků získaných UV-VIS měřeními se solí **13** požadovaný C4a-adukt **13d**.

## KLÍČOVÁ SLOVA

flaviniová sůl, nukleofil, C4a-adukt, organokatalýza, BOV

## ABSTRACT

Presented diploma thesis follows the long-term study running at the Department of Organic Chemistry at the University of Chemistry and Technology Prague in the field of using flavinium salts as catalysts of oxidation reactions. The aim was to verify the reactivity of flavinium salt **13** with different types of *O*- and *N*-nucleophiles by monitoring of the corresponding C4a-adducts formation. In the thesis a simple alloxazinium salt **13** and one of the nucleophiles (hydroxylamine **25**) were prepared. According to the results obtained from the UV-VIS measurements nucleophile **25** is the only one of the newly tested which formed desired C4a-adduct **13d** with alloxazinium salt **13**.

## KEYWORDS

flavinium salt, nucleophile, C4a-adduct, organocatalysis, IBSE

## OBSAH

1	Úvod .....	7
1.1	Úvod – oborová stránka diplomové práce .....	7
1.2	Úvod – pohled budoucího učitele .....	10
2	Současný stav řešené problematiky .....	12
2.1	Flaviny a jejich katalytické schopnosti .....	12
2.1.1	Biokatalytické systémy .....	14
2.1.2	Využití flavinů a jejich solí v organické syntéze .....	17
2.2	Transformace boronových kyselin .....	20
2.2.1	Nekatalytické transformace boronových kyselin na fenoly .....	20
2.2.2	Katalytické transformace boronových kyselin na fenoly .....	21
2.2.3	Transformace boronových kyselin na aminy a amidy .....	25
3	Cíl práce .....	29
4	Výsledky a diskuze .....	30
4.1	Syntéza flaviniové soli 13 .....	31
4.2	Studium tvorby C4a-aduktů .....	33
4.2.1	Ověřovací studie: titrace flaviniové soli 13 benzylaminem .....	34
4.2.2	Titrace flaviniové soli 13 různými typy nukleofilů .....	35
5	Závěr .....	43
5.1	Závěr – oborová stránka diplomové práce .....	43
5.2	Závěr – pohled budoucího učitele .....	44
6	Experimentální část .....	45
6.1	Syntéza katalyzátoru .....	46
6.1.1	Alloxazin (18) .....	46
6.1.2	1,3-Dimethylalloxazin (19) .....	46
6.1.3	5-Ethyl-1,3-dimethylalloxazinium-perchlorát (13) .....	46
6.2	Syntéza nukleofilu .....	47
6.2.1	N-benzylhydroxylamin (25) .....	47
7	Literatura .....	48
8	Seznam zkratk .....	52
9	Přílohy .....	53
9.1	Tabulky přidavků pro UV-VIS titraci .....	53
9.2	NMR spektra .....	54
9.3	Model Technological Pedagogical Content Knowledge .....	56

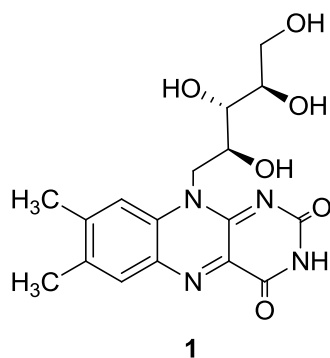
# 1 ÚVOD

## 1.1 ÚVOD – OBOROVÁ STRÁNKA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Předkládaná diplomová práce navazuje na dlouhodobě studovanou problematiku na Ústavu organické chemie VŠCHT Praha v oblasti využití flaviniových solí jako katalyzátorů oxidačních reakcí. Tato problematika je živá, protože v roce 2015 byla udělena Nobelova cena Tomasovi Lindahlvi, Paulu Modrichovi a Azizovi Sancarovi za mechanistickou studii oprav DNA, na niž se podílejí i flavinové jednotky.

Flaviny, vyskytující se ve formě flavoenzymů, jsou barevné oxidoreduktasy, které katalyzují velké množství různých typů reakcí. Dosud publikované výzkumné práce ukazují, že je možné flaviny a jejich soli považovat za poměrně perspektivní katalyzátory oxidačních a redukčních reakcí jak v přírodních, tak i v umělých systémech. V současné době se řada vědeckých týmů zabývá studiem strukturálních vlastností flavoenzymů a s tím související reaktivitou a mechanismem katalýzy. Jejich využití nabírá na síle a mohly by být využity i v průmyslových biokatalytických reakcích. Nové poznatky o flavoenzymech a zejména nově odvozené struktury vedou k jejich potenciální aplikaci ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu.

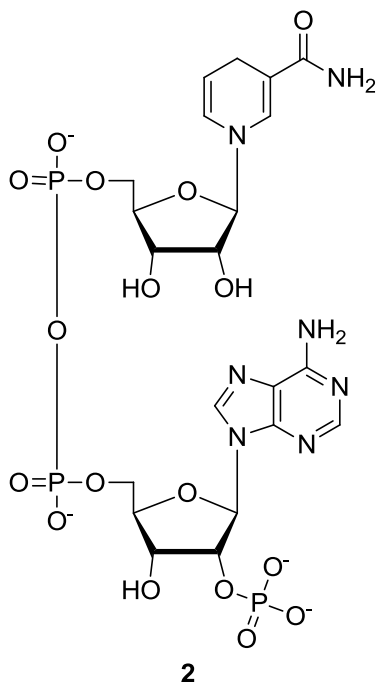
Mezi nejznámější zástupce ze skupiny flavinů patří riboflavin **1** (obr. 1), jež náleží do skupiny vitaminů B a pro člověka i další živočichy je zdrojem flavinů, jelikož si je nejsou schopni samostatně syntetizovat.



Obrázek 1: Riboflavin (vitamin B2)

Riboflavin byl poprvé izolován v roce 1879 z mléčné syrovátky a v následujících letech také ze slepičích vajec, masa a moči. Přesnou strukturu riboflavinu objasnil spolu se svým týmem Richard Kuhn roku 1933, za což dostal v roce 1938 Nobelovu cenu. Objevení

riboflavinu a jeho funkce v rámci biologické oxidace bylo důsledkem studia mechanismu buněčného dýchání. Ve dvacátých letech dvacátého století zkoumal Otto Warburg<sup>1-4</sup>, jakou úlohu hrají sloučeniny obsahující železo v oxidačně redukčních dějích. V rámci svého výzkumu oxidace glukózy-6-fosfátu v erythrocytech za přítomnosti methylenové modře potvrdil funkci a úlohu v té době ještě neidentifikovaného „old yellow“ enzymu a koenzymu (později identifikovaného jako NADPH 2 (obr. 2)).



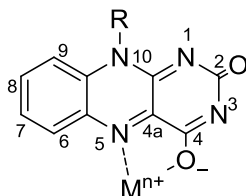
Obrázek 2: Struktura NADPH (redukovaná forma nikotinamidadenindinukleotidfosfátu)

Roku 1938 Axel Theorell prokázal, že tento původní „žlutý enzym“ („old yellow enzyme“) obsahuje flavinový koenzym riboflavin-5'-fosfát a při pozdějších pokusech s EDTA (kyselina ethylendiamintetraoctová) prokázal i úlohu přenosu vodíku v systému oxidačně-redukčních reakcí. V návaznosti na zmíněné výzkumy byla formulována koncepce dýchacího řetězce a úloha nikotinamidových a flavinových koenzymů jako kaskádových přenašečů vodíku. Flavinové koenzymy obsahují redoxně aktivní skupinu, která může přijmout až dva elektrony nebo dva protony. Díky dostatečně nízkému standardnímu redukčnímu potenciálu za fyziologických podmínek může následně přenášet elektrony na další vhodnou sloučeninu.

Bylo též prokázáno, že flaviny vytvářejí komplexy s kovy. Přítomnost kovů naznačuje, že pravděpodobně hrají určitou roli v mechanismu působení enzymu. Bylo

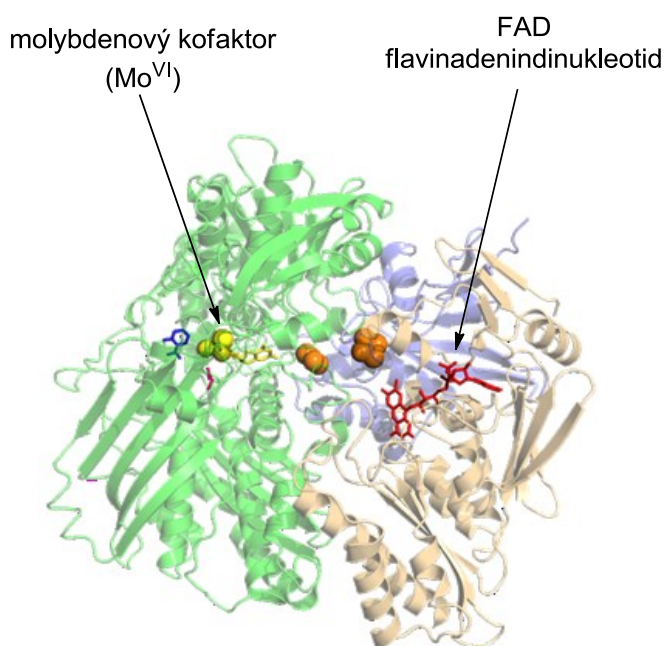


prokázáno, že v mnoha případech jsou ionty vázány bezprostředně na flavinový skelet. Možnost tvorby koordinační vazby kovu s atomy dusíku a kyslíku je znázorněna na obrázku 3.



Obrázek 3: Interakce kovu s atomem dusíku a s atomem kyslíku u flavinu typu isoalloxazinu

V případě, že iont kovu nese více než jeden kladný náboj (zpravidla dvojmocný kationt), dochází k toku elektronů mezi flavinem a substrátem právě prostřednictvím tohoto iontu. Jako příklad může posloužit působení enzymu xanthinoxidasy (obr. 4) v přítomnosti iontů molybdenu ( $Mo^{VI}$ ). Dalším příkladem jsou flavoproteiny obsahující komplexy železa a síry (NADH-dehydrogenasa a sukcinátdehydrogenasa). Jedná se o mitochondriální enzymy, které přenáší elektrony na systém cytochromů v dýchacím řetězci. Komplikovanějším příkladem může být laktátdehydrogenasa, která obsahuje také navíc Fe-S komplex a hem. Flavinový koenzym s hemem jsou vázány na polypeptidové řetězce molekuly enzymu, který si elektrony předává z redukované formy flavinu přes atom železa na hem. Akceptorem je posléze cytochrom c.<sup>5</sup>



Obrázek 4: Krystalografická struktura (monomeru) bovinní xanthinoxidasy: vázaný FAD (červená), Fe-S komplex (oranžová), molybdopterinový kofaktor s molybdenem (žlutý) a salicylát (modrý) (zdroj: Yikrazuul, licencováno CC BY-SA 3.0, 2009)

## 1.2 ÚVOD – POHLED BUDOUCÍHO UČITELE

Jak uvádí Teo et al.<sup>6</sup>, učitelské pojetí výuky spolu s koncepčními změnami patří k nejvíce publikovaným a pravděpodobně i nejvíce zaměřeným oblastem v rámci pedagogického výzkumu se zaměřením na vzdělávání v chemii (CER). Zároveň za jeden z nejdůležitějších aspektů v oblasti vzdělávání ze strany mnoha výzkumných pracovníků jsou považovány postoje žáků. Současný pokles zájmu žáků o vědu<sup>7-10</sup> ovlivňuje počty studentů, kteří se nakonec rozhodnou pro jednotlivé vědecké disciplíny, ať už jako hlavní směr kariéry, či pozdější cestu. Různí autoři zmiňují různé důvody, ale všichni se shodují, že klíčovým faktorem je průběh vzdělávání, konkrétní téma, metody a organizační formy, které učitelé používají při výuce vědy. Kupříkladu americké národní reformy v posledních třech desetiletích v oblasti vědeckého vzdělávání konstantně a dlouhodobě podporují badatelsky orientované vyučování (BOV) jako nejúčinnější způsob, jak žákům nastínit vědu a výzkum.<sup>11</sup> V návaznosti americké Národní normy pro vzdělávání v oblasti vědy (NSES, National Research Council)<sup>12</sup> definovaly již v roce 1996 dva rámce pro badatelsky orientované vyučování: 1) BOV je soubor integrovaných procesů reprezentujících různé způsoby, kterými vědci zkoumají přírodní vědy a poté předkládají vysvětlení založená na získaných výsledcích, 2) BOV je koncipováno jako výuková strategie a učební přístup, který by mohl doplňovat a ucelovat vědecké vzdělávání.

Cílem přírodovědného vzdělávání je dle OECD příprava přírodovědně gramotných žáků; tzn. naučit žáky využívat přírodovědných poznatků v profesním i občanském životě, klást si otázky o okolním světě a vyhledávat k nim relevantní a na důkazech založené odpovědi. Dle RVP ZV je cílem též naučit žáky způsobu myšlení, který vyžaduje ověřování vyslovovaných domněnek o přírodních faktech nezávislejšími způsoby, posuzování důležitosti, spolehlivosti a správnosti získaných přírodovědných dat pro potvrzení nebo vyvrácení vyslovovaných hypotéz či závěrů, zapojování do aktivit směřujících k šetrnému chování k přírodním systémům, ke svému zdraví i zdraví ostatních lidí, porozumění souvislostem mezi činnostmi lidí a stavem přírodního a životního prostředí aj.

Zároveň by však žáci měli během studia zažít nadšení, zájem, motivaci, chuť dozvědět se o jevech pozorovaných ve světě, přemýšlet sami o sobě jako o studentech vědy a též rozvíjet svoji vlastní identitu jako identitu někoho, kdo se ve vědě orientuje, využívá jí a může k ní určitým způsobem přispět.<sup>13</sup>

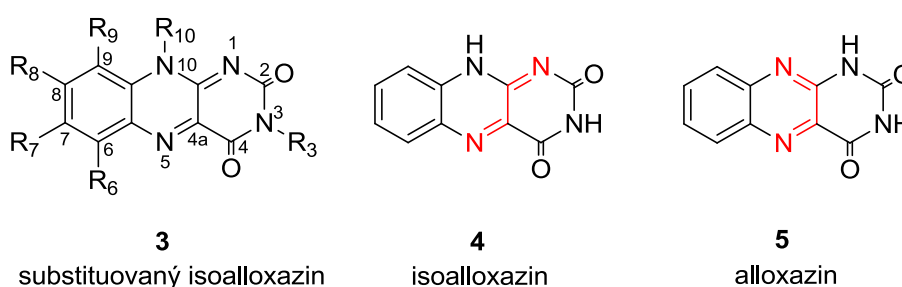
Je velmi dobře zdokumentováno, že učení se žáků přírodovědným předmětům závisí na tom, zda jejich učitelé mají dostatečné znalosti daného oboru.<sup>14</sup> "Znalost vědy" však znamená v tomto smyslu více, než jen pochopit vědecký obsah. Pouze tehdy, pokud se učitelé sžijí jak s obsahem vědy, tak i s ustálenými postupy, skrze které je vědecké poznání získáváno a ověřováno, budou schopni efektivně předávat své znalosti. Z toho vyplývá, že učitelé přírodních věd potřebují rozvíjet nejen technickou, pedagogickou a obsahovou znalost obsahu (TPACK)<sup>15</sup>, která se zabývá jak hmotným, tak syntaktickým rozměrem jejich disciplín, ale též se potřebují zaměřit na profesní rozvoj, v rámci kterého budou mít učitelé příležitost sami se učit vědeckým způsobům uvažování, analyzovat jevy, interpretovat důkazy a budou mít možnost zapojit se do smysluplné diskuse o platnosti získaných dat. Zmíněný způsob uvažování je běžný v rámci akademické vědecké půdy. Z tohoto důvodu je partnerství učitelů s vědci důležitým prvkem pro jejich zapojení do užívaných vědeckých postupů. Poskytnutí přímé zkušenosti učitelům modelované stejnými způsoby, jakými by bylo vhodné, aby vyučovali své žáky, je to, co míníme anglickým termínem „*Taking Science to School*“ („přenést vědu do škol“).<sup>14</sup>

Vzhledem k výše zmíněným skutečnostem, jasně vyplývají motivy, na základě kterých jsem se rozhodla pro odbornou diplomovou práci. S ohledem na ubývající atraktivitu přírodovědných oborů (včetně chemie), bylo mým cílem osobně si vyzkoušet základní principy odborného výzkumu, zažít atmosféru vědeckého prostředí a objevit běžné a praktické problémy při realizaci výzkumného záměru. Pouze vlastní zkušenost poskytuje autentickou interpretaci zážitku, včetně reprodukce emočních aspektů, jež v přenesené podobě mají konečný dopad na afektivní složku postojů žáků a na jejich motivaci studovat daný obor.

## 2 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

### 2.1 FLAVINY A JEJICH KATALYTICKÉ SCHOPNOSTI

Flaviniové soli tvoří skupinu biologicky aktivních látek odvozených od flavinu typu isoalloxazinu **3**. Svůj název získaly z latinského *flavus* – žlutý, což je příznačná barva pro tyto sloučeniny. Flaviny obsahují typické isoalloxaziniové **4** nebo alloxaziniové **5** uskupení.<sup>16-18</sup> Tento systém konjugovaných dvojných vazeb má za následek absorpci světla právě kolem oblasti 450 nm (obr. 5).

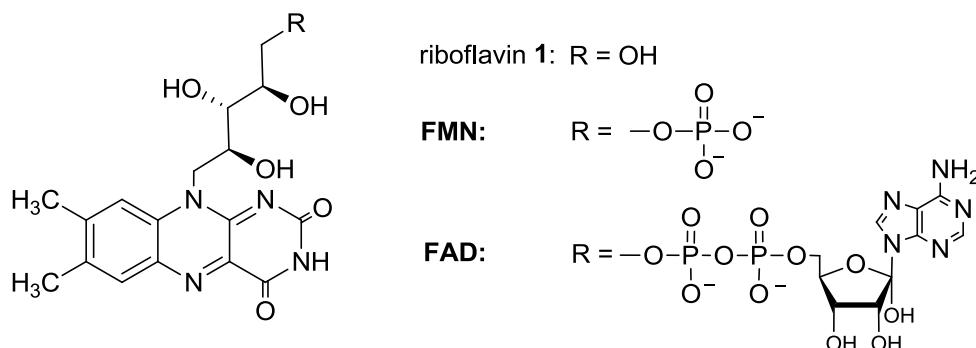


Obrázek 5: Struktura flavinu, isoalloxazinu a alloxazinu.  
Červeně je vyznačeno typické azedienové seskupení dvojných vazeb.

V biologických systémech flaviny působí jako univerzální oxidační či redukční činidla.<sup>19, 20</sup> Podílejí se na biodegradaci, opravě DNA, apoptóze, skládání proteinů, biosyntéze aj.<sup>20</sup> Jsou přítomny jako kofaktory v různých enzymech např. v oxidasach, elektron-transferasach, oxidoreduktasach, monooxygenasach. V DNA-fotolyasach hrají nezastupitelnou roli při dějích vyžadující pro vlastní činnost světlo. Mají tak důležitou funkci ve fotoreceptorech díky svým fotofyzikálním vlastnostem. Flaviny poměrně snadno přecházejí do excitovaného stavu a při přechodu zpět do základního stavu vykazují bioluminescenci. Proto jsou dnes flaviny využívány jako fluorescenční značky v bakteriích, rostlinách, houbách i řasách.<sup>21</sup>

Mezi neznámější zástupce ze skupiny flavinů patří riboflavin **1** (obr. 6). Riboflavin náleží do skupiny vitaminů B (6,7-dimethyl-9-(1-D-ribityl)isoalloxazin, vitamin B<sub>2</sub>) a pro člověka i další živočichy je zdrojem flavinů, jelikož si je nejsou schopni samostatně syntetizovat. Pro enzymatické činnosti v lidském organismu můžeme flaviny nalézt především ve formě flavinmononukleotidu FMN a flavinadenindinukleotidu FAD (obr. 6).

Toto poměrně široké uplatnění flavinů je dáno tím, že flaviny se mohou zúčastnit jedno- i dvouelektronových oxidací a redukci.<sup>17</sup>



Obrázek 6: Významní zástupci biologicky aktivních flavinů

Oxidačně-redukční děje mohou probíhat v přírodních systémech prostřednictvím azadienového seskupení následujícím radikálovým způsobem (schéma 1). Flavin **8** přijme jeden elektron a přechází na stabilní radikál **8-H•** (semichinon). Tento radikál mění v závislosti na pH barvu – v neutrální formě má modrou barvu; jako anion v bazickém prostředí je červený. Dalším přijetím dvou elektronů (případně hydridového iontu) se flavin zredukuje na dihydroderivát **8-H<sub>2</sub>**, který je bezbarvý.

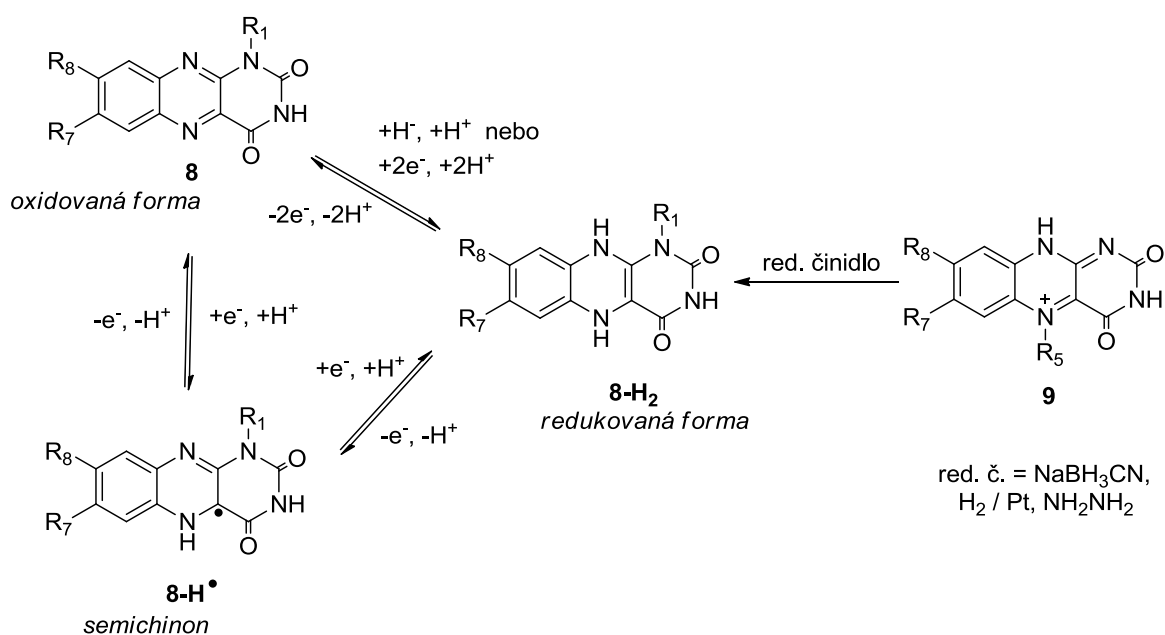
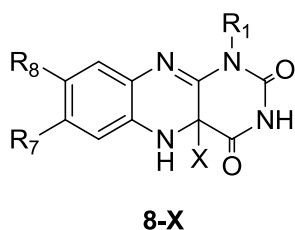


Schéma 1: Jedno a dvouelektronová redukce alloxazinu a redukce alloxaziniové soli 9

Principiálně lze dvouelektronovou redukci flavinů provést podobně i v uměle připravených systémech hydridovým iontem uvolněným např. z kyanoborohydridu sodného<sup>22</sup> nebo vodíkem v přítomnosti palladiového katalyzátoru (schéma 1).<sup>16</sup> Jako redukční činidlo lze použít i dithioničitan sodný<sup>16</sup> nebo hydrazin. Flaviny se taktéž podílejí na nukleofilních pochodech – nukleofily reagují s oxidovanými flaviny nejčastěji v polohách 5 a 4a (obr. 5). Možné jsou i elektrofilní reakce, kdy dochází k reakci s redukovánými flaviny, ale pouze v poloze 4a. Výhoda C4a-adtů **8-X** (obr. 7) spočívá v tom, že jsou poměrně stabilními sloučeninami.



X = NHR, SR, OH, OOH, aj.

*Obrázek 7: Struktura C4a-adtů flavinu*

### 2.1.1 BOKATALYTICKÉ SYSTÉMY

Pro funkci flavoenzymů v biologických systémech je podstatný pokaždé pouze jeden z redoxních dějů, jelikož ten druhý slouží pouze k regeneraci aktivní formy flavoenzymu. Nejtypičtějšími enzymy jsou monooxidas. U nich dochází ke vzniku redukované formy flavinu (dihydroflavin **8-H<sub>2</sub>**), která je oxidována kyslíkem. Tento mechanismus zahrnuje několik paralelně probíhajících cest, přičemž hlavním pochodem je tvorba flavin-4a-hydroperoxidu **8-OOH** adicí molekuly kyslíku na redukovanou formu flavinu **8-H<sub>2</sub>**. Kyslík pro reakce oxidas je obecně nezbytný, protože slouží k obnovování oxidované formy kofaktoru. Nicméně flavin **8-OOH** v organismech oxiduje elektrofilním mechanismem další substráty jako například sulfidy či terciální aminy. V konečné fázi se flavin-4a-hydroperoxid téměř okamžitě rozkládá na žádoucí produkty, vodu a oxidovaný flavin **8** (schéma 2).

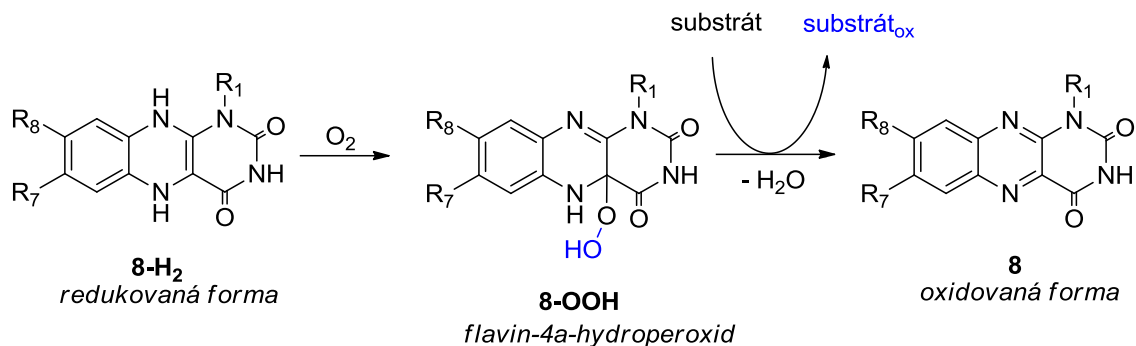


Schéma 2: Oxidace dihydroflavinu kyslíkem

Jak již bylo řečeno, prvním izolovaným flavoenzymem<sup>17, 23</sup> byl tzv. „old-yellow enzyme“ (OYE), jehož funkce není zcela objasněna. Tento enzym obsahuje FMN a jeho kofaktor se chová jako reduktasa (jako redukční činidlo využívá NADH). Nejvýznamnějším zástupcem monooxygenas využívaných v biokatalýze je však cyklohexanon-monooxygenasa (CHMO), která je od osmdesátých let široce testována pro možnost aplikace v uměle připravených systémech.<sup>24</sup> Aerobní oxidace katalyzované CHMO jsou také založeny na výše uvedeném principu. Regenerace CHMO je ve fyziologickém prostředí zajištěna koenzymaticky NADPH. Katalytický cyklus flavinmonooxygenas (FMO) u savců probíhá následujícím způsobem<sup>25</sup> (schéma 3):

1. Kofaktor **NADPH** se váže na oxidovanou prostetickou skupinu **FAD** a redukuje ji na **FADH<sub>2</sub>**.
2. Molekulární kyslík se váže na vytvořený **NADP<sup>+</sup>-FADH<sub>2</sub>** enzymový komplex a následně je redukován na flavin-4a-hydroperoxid (**FADH-OOH**). Tyto první dva kroky cyklu jsou rychlé.<sup>26</sup>
3. Ve třetím kroku dochází k oxidaci substrátu a **FAD-OOH** při této reakci přechází na flavin-4a-hydroxid (**FADH-OH**).
4. **FADH-OH** následně eliminuje vodu.
5. V důsledku nízké disociační konstanty **NADP<sup>+</sup>-enzymového komplexu**<sup>27</sup> se na konci cyklu **NADP<sup>+</sup>** uvolní a enzym se navrací do původního stavu. Krokem omezujícím rychlost je buď rozklad **FADH-OH** nebo uvolnění **NADP<sup>+</sup>**.<sup>28, 29</sup>

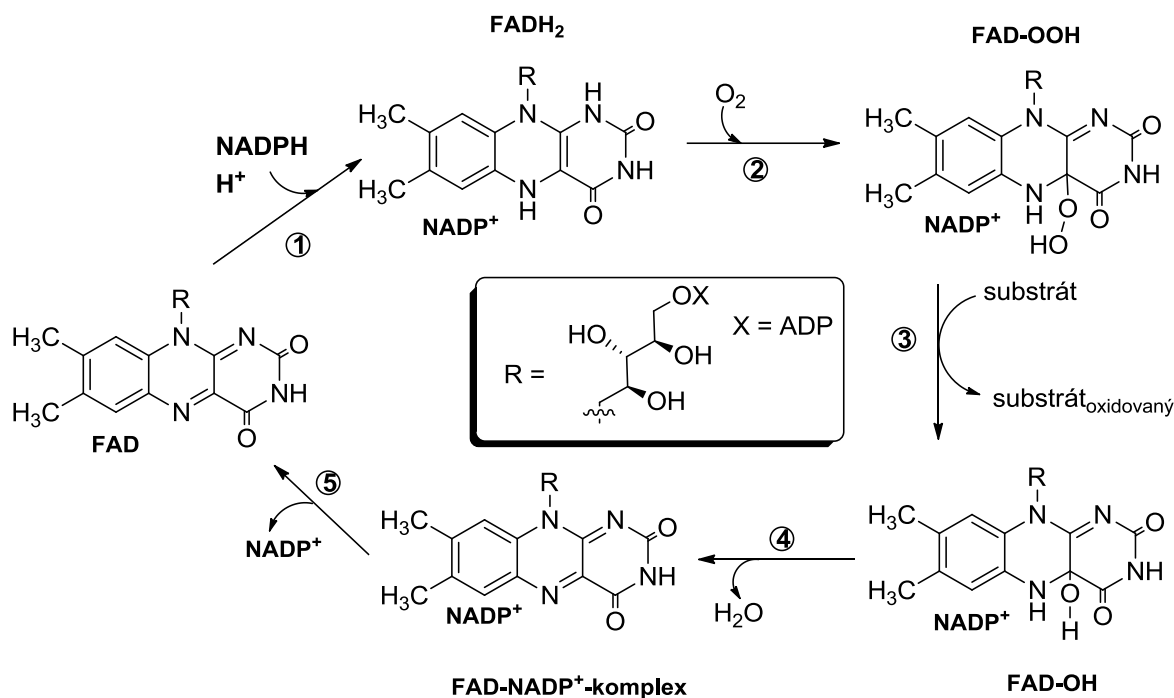


Schéma 3: Katalytický cyklus FMO

Nevýhodou je, že pro regeneraci kofaktoru *in vitro* je nutné využít další systém, jelikož je nezbytné stechiometrické množství NAD(P)H pro správný průběh syntéz. Mezi časté systémy patří například regenerace za využití systému alkohol-dehydrogenasa – propan-2-ol nebo glukóza-6-fosfát dehydrogenasa – glukóza-6-fosfát (schéma 4).<sup>30</sup> Využít lze také celé buňky, ve kterých dochází k regeneraci kofaktoru pomocí jejich enzymového aparátu. Kupříkladu CHMO z *E. coli* se využívala k produkci laktonů z cyklických ketonů až v množství kilogramů.<sup>31</sup>

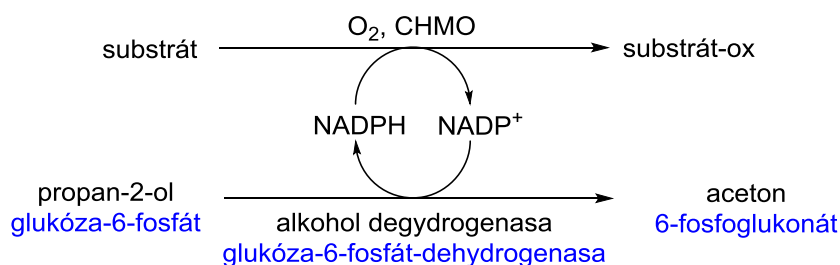


Schéma 4: Koenzymatická regenerace prostetické skupiny v CHMO



## 2.1.2 VYUŽITÍ FLAVINŮ A JEJICH SOLÍ V ORGANICKÉ SYNTÉZE

Dosud diskutovaných vlastností flavinů a jejich solí se čteně využívá při organických syntézách právě díky jejich oxidačně-redukčním vlastnostem. Značné množství flavoenzymů náležících mezi flavin-dependentní monooxygenasy katalyzuje Baeyerovu-Villigerovu oxidaci (BVO) ketonů na odpovídající estery (schéma 5) a jsou proto mnohdy nazývány Baeyerovy-Villigerovy monooxygenasy (BVMO).<sup>32, 33</sup>

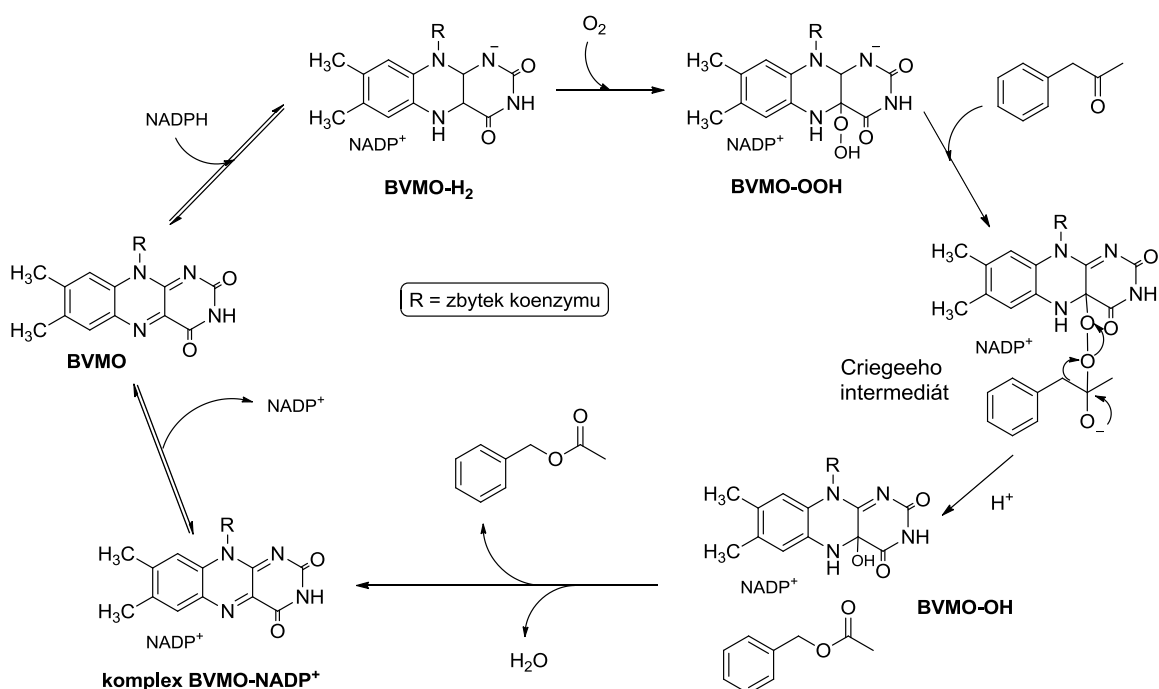


Schéma 5: Obecný mechanismus Baeyer-Villigerovy oxidace za přítomnosti BVMO s flavinovým kofaktorem

V uměle připravených systémech se dosud nepodařilo oxidovat substrát pomocí nesubstituovaného flavin-4a-hydroperoxidu, jelikož není velmi stabilní. Z tohoto důvodu se v praxi využívá stabilnější 5-alkyl-flavin-4a-hydroperoxid **9-OOH**, který je možný připravit z odpovídajících 5-alkylflaviniových solí **9** s peroxidem vodíku nebo reakcí 5-alkyldihydroflavinů **9-H<sub>2</sub>** s kyslíkem (schéma 6).<sup>34</sup>

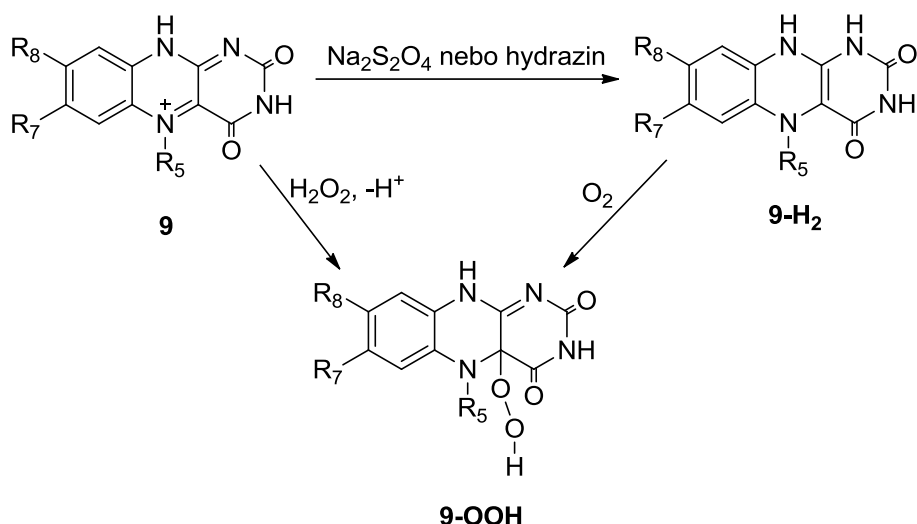


Schéma 6: Příprava 5-alkylflavin-4a-hydroperoxidů

CHMO a další enzymy tedy našly aplikaci pro již zmíněnou Baeyerovu-Villigerovu oxidaci<sup>35-37</sup> také díky regioselektivitě a stereoselektivitě; např. při oxidacích cyklobutanonů na laktony a při oxidaci cyklohexanonů. Mimo aplikací na cyklických ketonech<sup>38</sup> se BVMO uplatňují rovněž při oxidaci sulfidů na sulfoxidy, kdy reakce probíhají elektrofilním mechanismem (oproti BVO) (schéma 7).<sup>24, 34, 39-44</sup> Nukleofilní mechanismus naproti tomu pozoroval v roce 2002 Colonna<sup>45</sup> u epoxidace zprostředkované cyklohexanon-monooxygenasou a dokonce již v roce 1985 Branchaud a Walsh předpokládali nukleofilní cestu i u oxidace boru.<sup>46</sup>

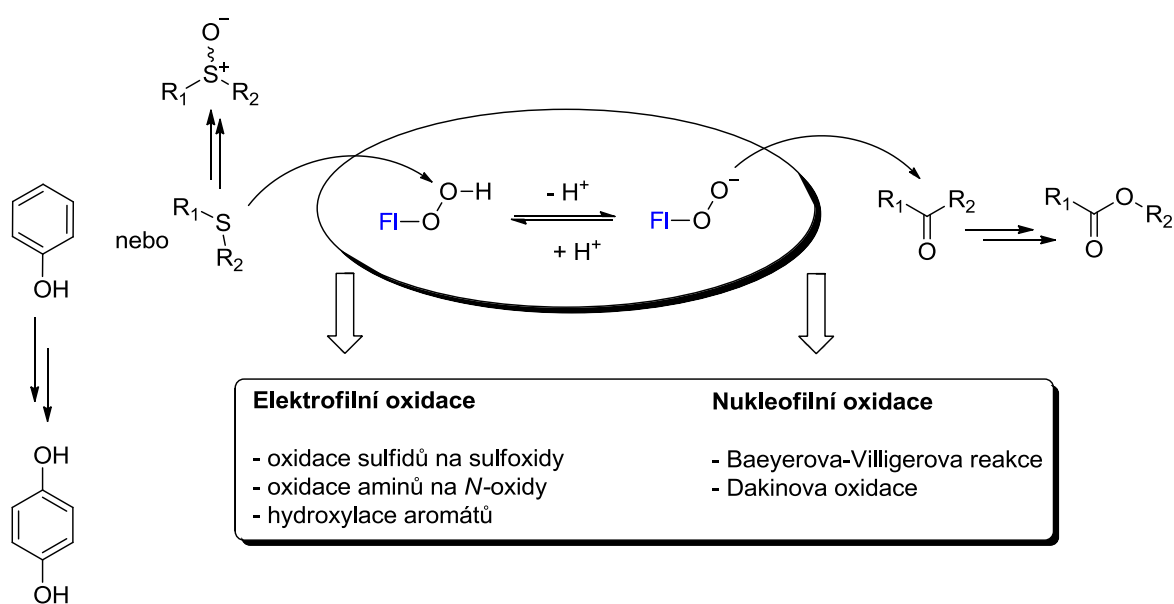


Schéma 7: Elektrofilní a nukleofilní oxidace flavin-4a-hydroperoxidem

V návaznosti na výzkumy oxidací sulfidů na sulfoxidy pomocí flaviniových solí Shinkai et al.<sup>47, 48</sup> ověřili, že katalyzátor s definovanou absolutní konfigurací může jednoznačně ovlivňovat stereospecifický průběh reakce za vzniku chirálních sulfoxidů. Mezi další oxidačně-redukční reakce můžeme zařadit ještě oxidace terciálních aminů na *N*-oxidy<sup>34, 43, 44, 49</sup> či thiolů na disulfidy.<sup>40</sup> Díky neustále se vyvíjejícímu výzkumu flaviniových systémů byly rozklíčovány i další typy oxidací, kupříkladu přeměna aldehydů na odpovídající karboxylové kyseliny<sup>50</sup> a eventuálně ještě přeměna karbaldehydů na fenoly.<sup>51</sup>

Mezi momentálně nejnovější výzkumy v této oblasti je zcela poprvé prokázána aplikace flavinového derivátu pro tvorbu C-C vazby za viditelného světla pro [2+2]cykloadici<sup>52</sup>, která je ještě stále považována za doménu působení vzácných kovů jako komplexních fotokatalyzátorů. Bylo prokázáno, že pokud se viditelným světlem ozáří 1-butyl-7,8-dimethoxy-3-methylalloxazin **A**, dochází k efektivní tvorbě cyklobutanového kruhu díky [2+2]cykloadici dvou styrenových dienů, které jsou považovány za elektronově bohaté substráty (schéma 8).

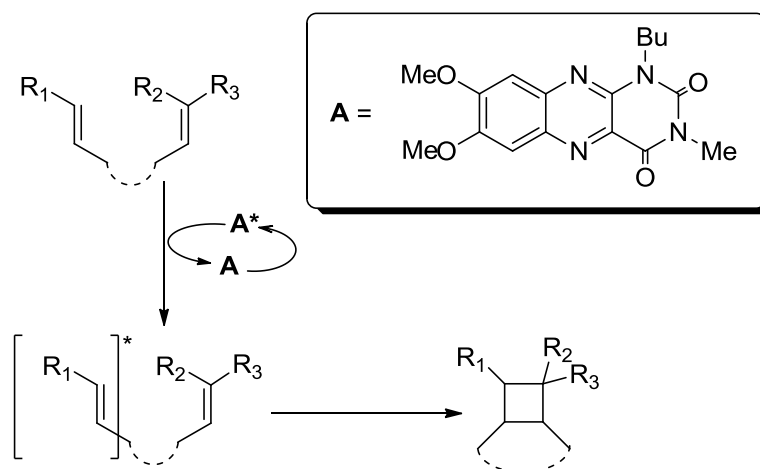


Schéma 8: Předpokládaný mechanismus [2+2]cykloadice

V roce 2016 Neveselý et al.<sup>53</sup> vyvinuli postup pro aerobní fotooxygencii sulfidů na sulfoxidy bez přítomnosti kovu zprostředkovanou fotokatalýzou a opět viditelným světlem (450 nm) ve směsi acetonitrilu a vody za přítomnosti riboflavintetraacetátu či riboflavinu (vitamin B2). Systém, který vyvinuli, vede k požadovaným přenosům, což umožňuje oxidaci elektronově chudých i elektronově bohatých thioanisolů, dialkylů sulfidů a stericky bráněných sulfidů. Tato metoda je chemicky selektivní a mezi další výhody patří snadné

zpracování reakční směsi, dostupnost a biologická rozložitelnost fotokatalyzátorů a mírné reakční podmínky.

## 2.2 TRANSFORMACE BORONOVÝCH KYSELIN

Jednou ze zajímavých a diskutovaných reakcí v organické syntéze je transformace fenyloboronových kyselin **10** na příslušné fenoly **11** (schéma 9).

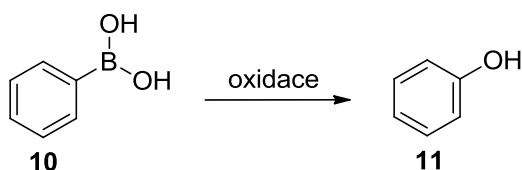


Schéma 9: Obecné schéma oxidativní transformace fenyloboronových kyselin na příslušné fenoly

Tato transformace může být prováděna jak prostou oxidací, tak katalyticky. Níže uvádím přehled těchto reakcí.

### 2.2.1 NEKATALYTICKÉ TRANSFORMACE BORONOVÝCH KYSELIN NA FENOLY

Běžnými způsoby přípravy fenolu bez využití katalyzátoru jsou např. hydrolyzáza diazoniových solí či nukleofilní aromatická substituce arylhalogenidů (schéma 10).

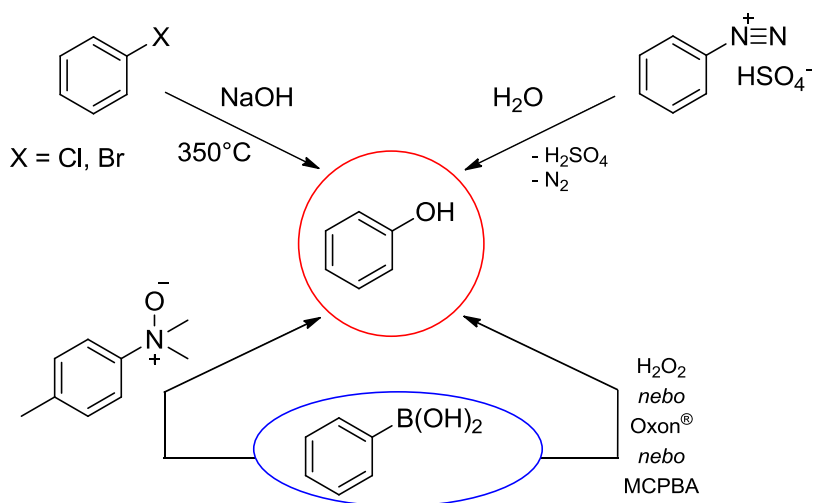


Schéma 10: Běžné způsoby přípravy fenolu bez využití katalyzátoru

Tyto způsoby však lze využít pouze pro omezený výběr vhodně substituovaných fenolů. V případě, že je výchozím materiálem fenyloboronová kyselina **10**, objevuje se i možnost hydroxylace pomocí silného oxidačního činidla jako je např. peroxid vodíku, Oxon® či MCPBA (kyselina *meta*-chlorperbenzoová) (schéma 10).

Tyto oxidace však nejsou tolerované některými funkčními skupinami.<sup>54-58</sup> Mírnější podmínky může poskytnout stechiometrická hydroxylace boronových kyselin a jejich pinakoly-esterů v přítomnosti směsi hydroxidu sodného a hydroxylaminu v ethanolu, kdy pravděpodobným zdrojem kyslíku ve fenolu je zmíněný hydroxylamin (schéma 11).<sup>59</sup>

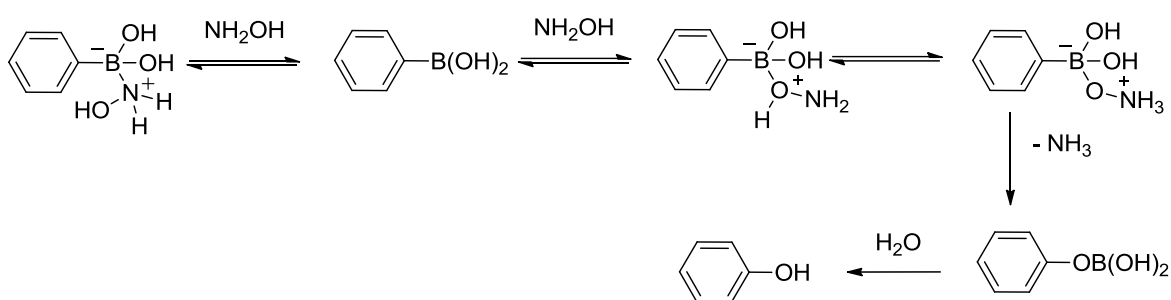


Schéma 11: Pravděpodobný mechanismus hydroxylace fenyloboronové kyseliny za přítomnosti hydroxylaminu

Dalším typem mírné transformace boronových kyselin na fenoly je oxidace *N*-oxidy, která probíhá za laboratorní teploty na vzduchu (schéma 10).<sup>60</sup> Arylboronové kyseliny, heteroarylboronové kyseliny a boronátové estery jsou rychle (zpravidla během několika minut) transformovány na odpovídající fenoly. Výhodou této transformace je její široká kompatibilita s různými funkčními skupinami.

## 2.2.2 KATALYTICKÉ TRANSFORMACE BORONOVÝCH KYSELIN NA FENOLY

Mnoho autorů se zabývá hydroxylací fenyloboronových kyselin molekulárním kyslíkem za přítomnosti měďných, měďnatých či palladnatých sloučenin.<sup>61-64</sup> Tento typ transformací již řadíme mezi katalytické systémy. Značná část výzkumů se také orientuje na mechanismy chemoselektivních reakcí s ohledem na další přítomné funkční skupiny, jež je třeba zachovat.

Jednou z oxidací fenyloboronových kyselin vzdušným kyslíkem v přítomnosti oxidu měďného a čpavku ve vodném prostředí se zabýval H. Yang et al.<sup>61</sup>, kdy lze po opakovaném použití katalyzátoru ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) dosáhnout výtěžku až 82 % (schéma 12).

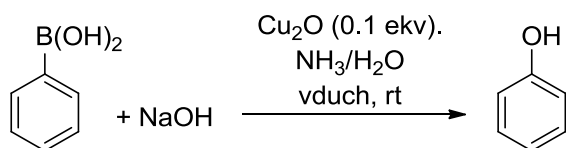


Schéma 12: Oxidace fenylboronové kyseliny vzdušným kyslíkem v přítomnosti oxidu měďného a amoniaku

Nevýhodou ale je, že nelze odhadnout snášenlivost této metody jinými funkčními skupinami, jelikož metoda byla provedena pouze na nesubstituované fenylboronové kyselině. S tímto problémem se však vypořádal K. Inamoto et al.<sup>62</sup>, který otestoval hydroxylaci rozličně substituovaných boronových kyselin s dobrými výtěžky. Využil spojení chloridu měďnatého s amfifilním micelárním katalyzátorem a jako oxidační činidlo byl opět využit kyslík. Podobnou škálu různě substituovaných kyselin otestoval i Chowdhury et al.<sup>64</sup>, který jako katalyzátor využil palladnatý komplex (schéma 13).

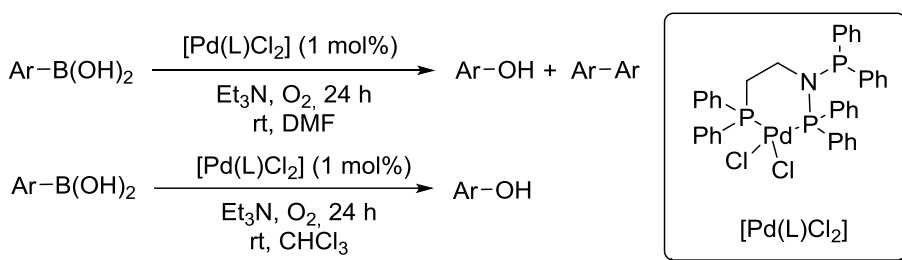


Schéma 13: Transformace boronové kyseliny na fenol v přítomnosti palladnatého komplexu

Pro hydroxylaci byla otestována také možnost elektrochemické transformace fenylboronové kyseliny na měděných elektrodách za přítomnosti amoniaku<sup>65</sup> s výtěžkem až 92 % (schéma 14).

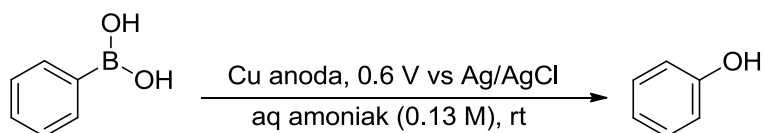


Schéma 14: Elektrochemická transformace fenylboronové kyseliny dle Quiho v přítomnosti amoniaku

Další úspěšně provedená metoda transformace byla provedena v atmosféře kyslíku Hosoiem et al.<sup>66</sup> na měděných katodách, kteří tak našli využití pro elektrochemicky generovaný superoxidový aniont (schéma 15).

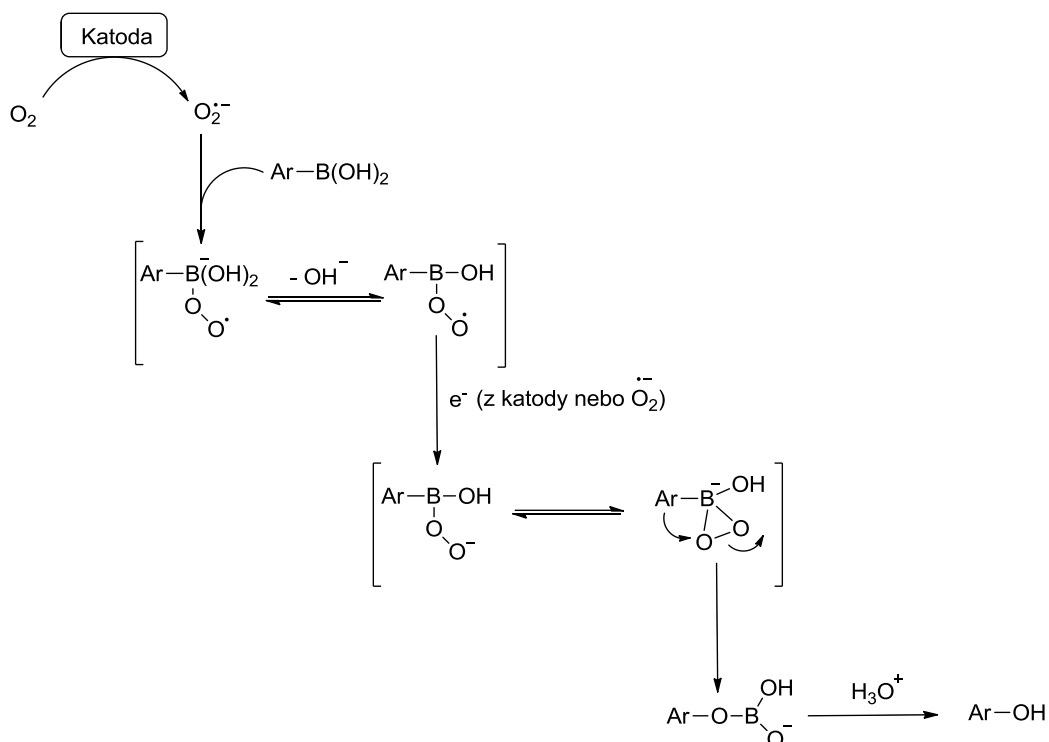


Schéma 15: Mechanismus transformace boronových kyselin za účasti superoxidového iontu

Mimo výše popsaných metod lze oxidace boronových kyselin na fenoly docílit i fotochemickou transformací prováděnou za přítomnosti methylenové modři<sup>67</sup> (schéma 16) nebo komplexu ruthenia s bipyridinem ( $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ ).<sup>68</sup>

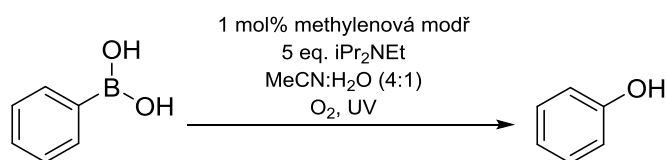
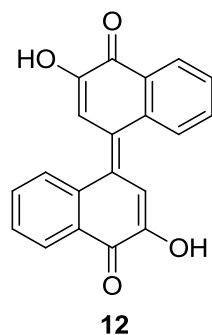


Schéma 16: Fotochemická transformace prováděná za přítomnosti methylenové modři

Jako příklad další organokatalytické hydroxylace až do roku 2014 lze zmínit pouze transformaci v přítomnosti substituovaného naftochinonu **12**<sup>69</sup> (obr. 8).



Obrázek 8: Substituovaný naftochinon pro organokatalytické hydroxylace

V roce 2014 Kotoučová et al.<sup>70</sup> představila katalyzovanou oxidační hydroxylaci substituovaných arylboronových kyselin v přítomnosti flaviniových solí, molekulárního kyslíku a hydrazinu nebo kyseliny askorbové vedoucí k syntéze široké škály fenolů ve vysokých výtěžcích. Tato metoda je kompatibilní s celou řadou funkčních skupin, probíhá i ve vodě a splňuje kritéria “green chemistry“. V tomto případě je reakčním centrem pro atak kyslíkem elektrondeficitní atom bóru a tudíž je tento typ hydroxylace mechanisticky analogický k Baeyerovým-Villigerovým oxidacím (schéma 17). Jako nejlepší katalyzátor se ukázala být alloxaziniová sůl **13**.

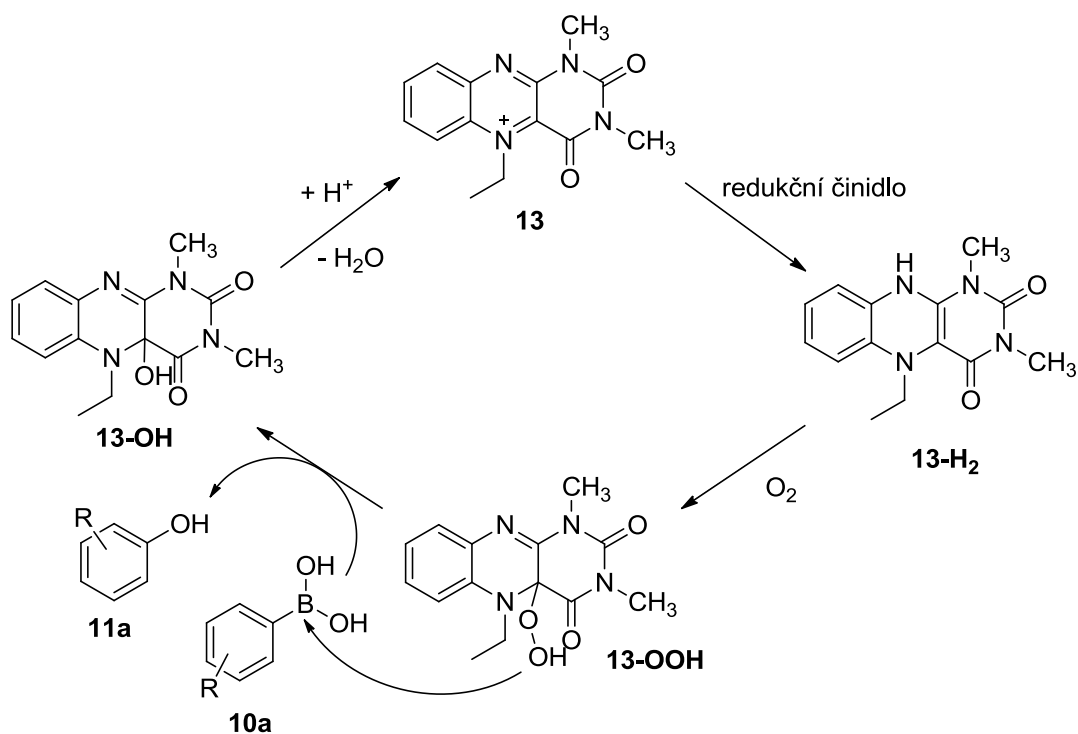


Schéma 17: Alloxaziniová sůl v katalytickém cyklu při oxidaci boronových kyselin



### 2.2.3 TRANSFORMACE BORONOVÝCH KYSELIN NA AMINY A AMIDY

Tvorba C-N vazeb na aromatickém jádře je jedna z nejdůležitějších a nejužitečnějších transformací v organické syntéze z toho důvodu, že výsledné arylaminy jsou rozšířené v mnoha přírodních produktech a jejich biologická aktivita je středem pozornosti ve farmaceutickém průmyslu, jelikož vedla k syntéze mnoha důležitých léků.<sup>71</sup> Dále jsou také klíčovými meziprodukty např. při syntéze polymerů. Nejčastěji se využívá aminace katalyzovaná palladiem, niklem nebo mědí.<sup>72</sup> Během posledních let se objevilo několik metod, které se snaží nahradit nedostatky syntézy Ullmanna<sup>73</sup> původně určené pro přípravu aromatických etherů (schéma 18) a Goldberga (schéma 19).<sup>74</sup>

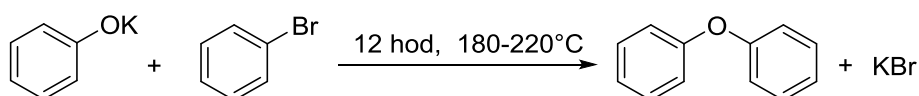


Schéma 18: Původní syntéza dle Ullmanna z roku 1905

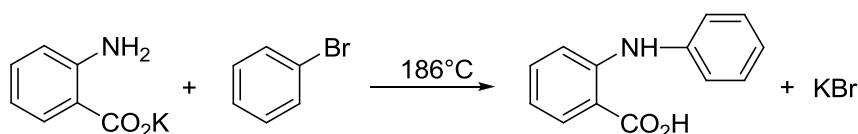


Schéma 19: Původní syntéza dle Goldberga z roku 1906

Buchwaldem<sup>75</sup> a Hartwingem<sup>76</sup> byla v roce 1994 objevena poměrně efektivní aminace katalyzovaná palladiem, která byla na tomto poli značným průlomem a umožnila tak syntézu mnoha aminů, které bylo v minulosti obtížné při syntéze získat. Přes tyto pokroky se však stále vyskytovaly problémy jako citlivost vůči vzduchu a vlhkosti, tolerance různých funkčních skupin a vysoká cena palladia. Čtyři roky poté nezávisle na sobě přišel Chan<sup>77</sup> a Lam<sup>78</sup> s poměrně revolučním postupem mědí katalyzované arylace *N*-nukleofilů. Oba zveřejnili obecně funkční postupy aminace za použití octanu měďnatého a boronových kyselin za laboratorní teploty s poměrně velkou variabilitou *N*-nukleofilů. Tento typ reakce navíc odbourává nutnost chránění dalších funkčních skupin na substrátu. Chan-Lam Coupling reakce (schéma 20) a její variace jsou proto v posledních několika letech hojně studovány (např. zlatem katalyzovaná adice boronových kyselin).<sup>79</sup>

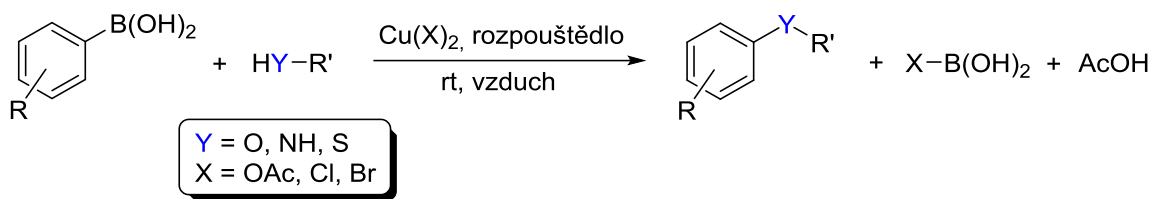


Schéma 20: Princip Chan-Lam Coupling reakce

Transformace arylboronových kyselin či jejich solí na arylaminy či arylamidy právě za přítomnosti sloučenin mědi je často využívána. Atraktivita těchto reakcí spočívá v komerční dostupnosti katalyzátoru, nízké toxicitě reaktantů a snadné kontrolovatelnosti průběhu reakce. Mezi těmito reakcemi můžeme například nalézt:

1. *N*-amidaci boronových kyselin *O*-acetylhydroxamovými kyselinami za katalýzy měďnými solemi (schéma 21).<sup>80</sup>

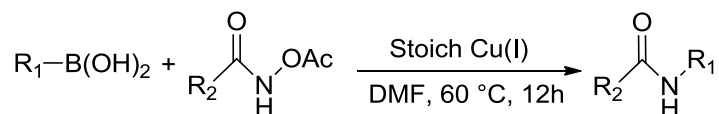


Schéma 21: *N*-amidace boronových kyselin *O*-acetylhydroxamovými kyselinami za katalýzy mědi

2. Přípravu arylaminů založenou na elektrofilní aminaci arylboronátů pomocí v přítomnosti měďnatých solí a *N,N*-dialkylhydroxylaminu, přičemž jsou tolerovány různé funkční skupiny (schéma 22).<sup>81</sup>

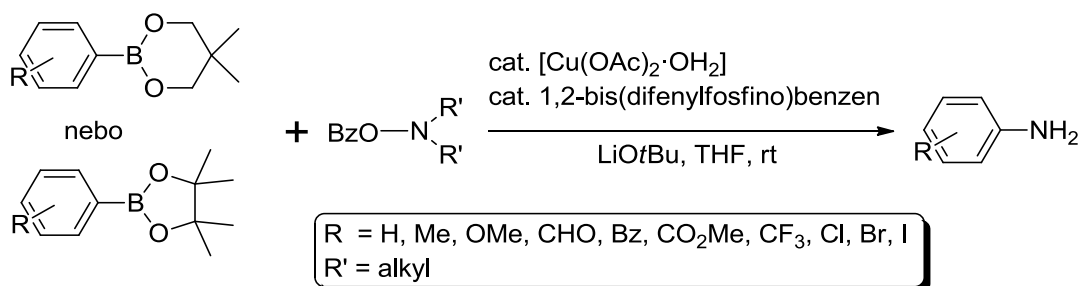


Schéma 22: Mědi katalyzovaná aminace arylboronátů pomocí *N,N*-dialkylhydroxylaminu

3. Jednoduchý vysoce efektivní a k životnímu prostředí šetrný postup vyvinutý Jiangem et al. Pro syntézu primárních aromatických aminů z aromatických boronových kyselin v přítomnosti vodného amoniaku byl v tomto případě jako katalyzátor použit komerčně dostupný a nenákladný  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (schéma 23).<sup>82</sup>

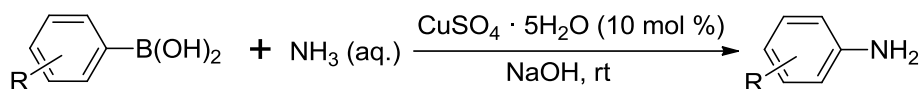


Schéma 23: Příprava aromatických aminů za katalýzy  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  vodným amoniakem

4. Chemoselektivní elektrosyntéza anilinu z arylboronové kyseliny ve vodném roztoku amoniaku objevenou Hong-Linem et al. (schéma 24).<sup>65</sup>

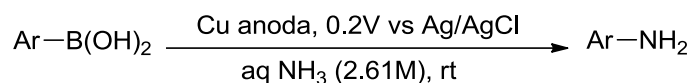


Schéma 24: Chemoselektivní elektrosyntéza anilinu

Syntéza sekundárních aminů bez přítomnosti kovu byla objevena Ouem et al. Jedná se o reakci mezi arylboronovými kyselinami a organickými azidy (schéma 25).<sup>83</sup>

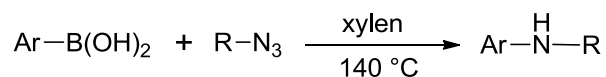


Schéma 25: Reakce mezi arylboronovými kyselinami a organickými azidy

Poprvé zveřejněná syntéza primárních aromatických aminů bez použití kovu byla zveřejněna v roce 2012 Zhuem et al.<sup>84</sup> Tento typ transformace poskytuje strukturně odlišné primární arylaminy s dobrým výtěžkem, včetně variací obsahujících halogenovou funkční skupinu. Pro syntézu je za potřebí pouze mírný nadbytek aminačního činidla a probíhá v neutrálním či bazickém prostředí (schéma 26).

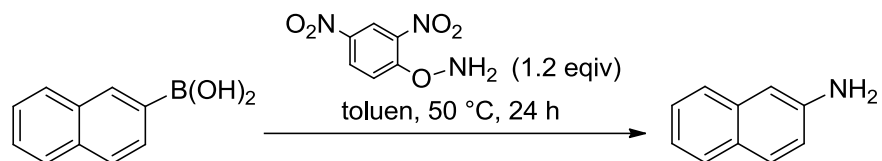


Schéma 26: Syntéza primárních aromatických aminů bez použití kovu

Novější studie z roku 2015 provedená Vothovou et al. odhaluje další způsob syntézy aminů z boronových kyselin bez využití kovového katalyzátoru.<sup>85</sup> Různorodě substituované aniliny se připravují reakcí s různě funkcionalizovanými arylboronovými kyselinami běžným a levným zdrojem elektrofilního dusíku ( $\text{H}_2\text{N-OSO}_3\text{H}$ , HSA) ve vodně alkalickém prostředí (schéma 27).

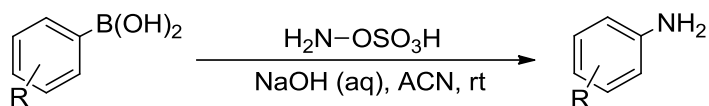


Schéma 27: Syntéza primárních anilinů bez katalýzy kovem

### 3 CÍL PRÁCE

Jak zmiňuji v kapitole 2, boronové kyseliny lze kromě transformace na fenoly převádět i na aminy a amidy. V souvislosti s ověřenou metodou transformace různě funkcionalizovaných boronových kyselin na odpovídající fenoly vzdušných kyslíkem za katalýzy flaviniovou solí **13**, vyvstává otázka, zda by bylo možné podobnou metodu použít i pro přípravu anilinů **14** z boronových kyselin **10a**. Možnost interakce dusíku a kyslíku jako nukleofilů s borem jakožto elektrondeficitním atomem v boronové kyselině byla výše uvedenými autory prokázána. Proto bylo cílem mého snažení ověřit reaktivitu flavinové soli s různými typy *O*- a *N*-nukleofilů a tvorbu odpovídajících C4a-adtů (Fl-4a-NH-OH **13a** nebo Fl-4a-O-NH<sub>2</sub> **13b**). Toto dílčí ověření by pak mohlo být rozšířeno o studium reaktivity vznikajících C4a-adtů ve smyslu katalytické transformace boronových kyselin na aniliny v přítomnosti hydroxylaminu (schéma 28).

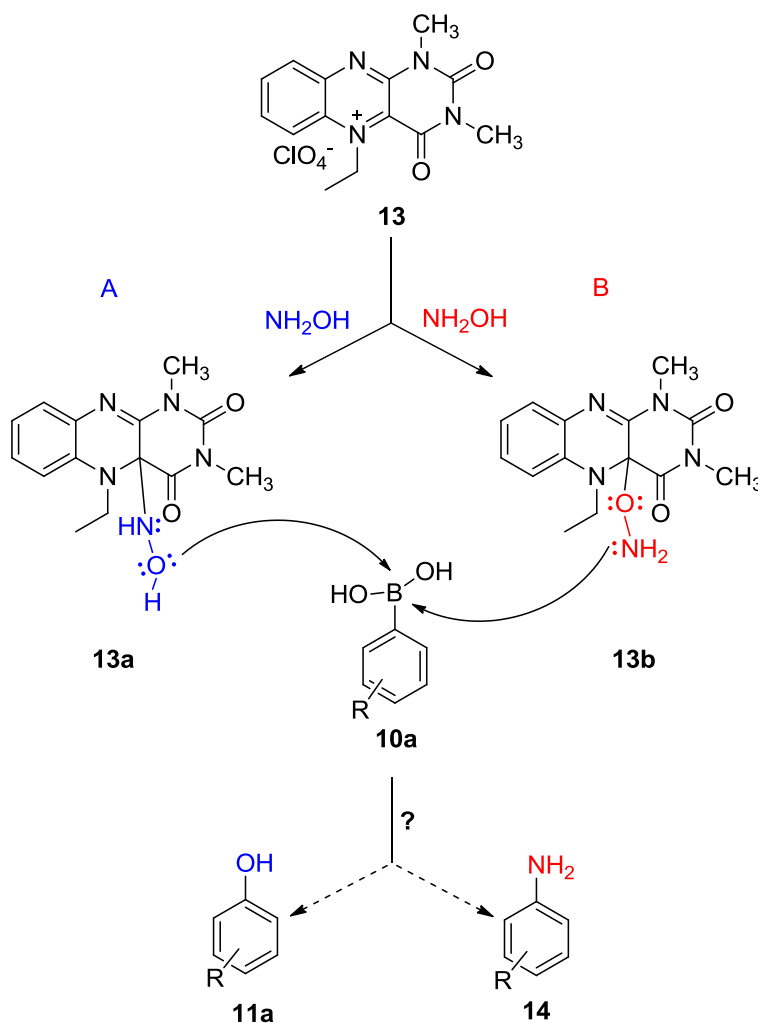


Schéma 28: Předpokládaný model transformace boronové kyseliny **10** na anilin **14**

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Podkladem k této diplomové práci byla studie Ménové<sup>86</sup>, která v roce 2010 testovala katalytickou účinnost různě substituovaných flaviniových solí při *S*- a *N*-oxidacích. Vyvinula obecnou metodu přípravy C4a-adtů flavinů v roztoku MeOH, MeCN nebo CHCl<sub>3</sub>. Její metoda byla využita pro přípravu aduktů alloxaziniové soli **13** a isoalloxaziniové soli **15** s methanolem, vodou, peroxidem vodíku, benzylaminem a benzylthiolem (schéma 29). Vzniklé adukty byly následně charakterizovány pomocí NMR, HRMS a UV-VIS technik. Adukty flavinových solí **13** a **15** s vodou a methanolem byly připraveny v krystalické podobě a charakterizovány prostřednictvím rentgenové difrakce.

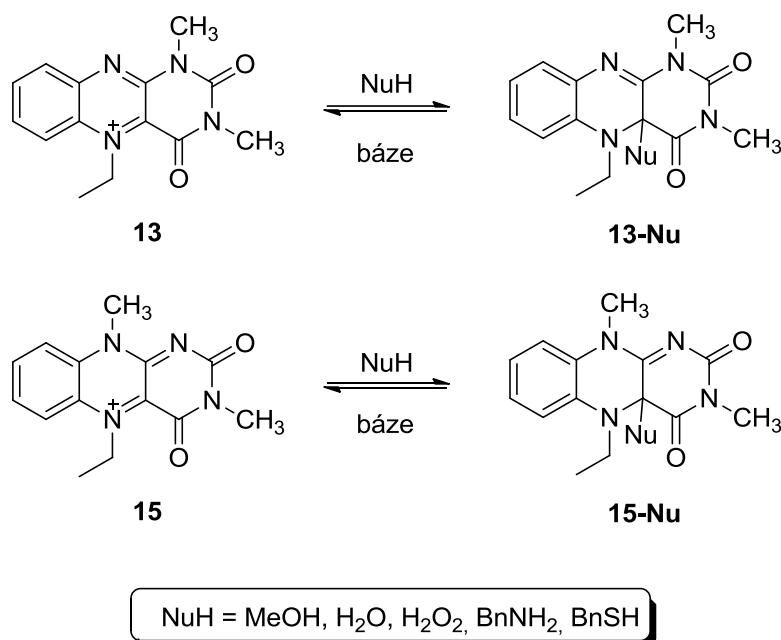


Schéma 29: Obecná příprava C4a-adtů flavinů v roztoku dle Ménové<sup>86</sup>

Dalším východiskem pro tuto práci je výzkum Kotoučové<sup>87</sup>, která se zabývala testováním jednoduché alloxaziniové **13** a isoalloxaziniové **15** soli jako katalyzátoru oxidativní hydroxylace fenyloboronových kyselin za použití kyslíku jako stechiometrického oxidačního činidla. V rámci této studie byly vyvinuty systémy pro oxidaci boronových kyselin jak v nevodném, tak ve vodném prostředí. Systém byl vyzkoušen na řadě boronových kyselin a vykazuje toleranci pro většinu k oxidacím citlivých skupin. Vzhledem k tomu, že je vhodný i pro vodné prostředí, lze jej zařadit mezi systémy „green chemistry“ (schéma 30).

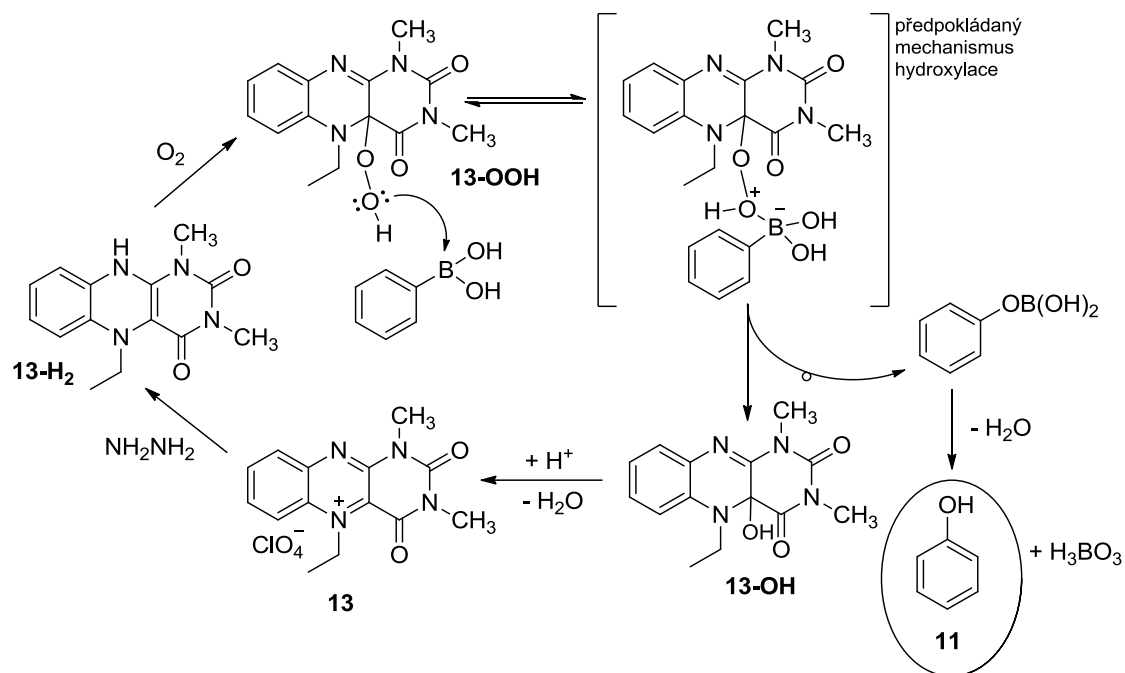


Schéma 300: Mechanismus transformace boronových kyselin na fenoly

Zatímco isoalloxaziniové soli se ukázaly být neúčinnými katalyzátory, dobrých výsledků bylo dosaženo v přítomnosti soli **13** v rozpouštědlovém systému  $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}/\text{CH}_3\text{OH}$  s hydrazinem jako redukčním činidlem (schéma 31). Jako redukční činidlo byla také úspěšně použita kyselina askorbová.

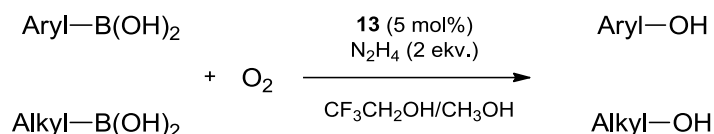


Schéma 311: Oxidativní hydroxylace boronových kyselin kyslíkem katalyzované soli **13**

#### 4.1 SYNTÉZA FLAVINIOVÉ SOLI **13**

Katalyzátor perchlorát **13** jsem připravila již ověřenou čtyřstupňovou syntézou. Výchozí látkou pro přípravu této soli byl 1,2-fenylendiamin **16**, který jsem reakcí s alloxanem monohydrátem **17** v přítomnosti kyseliny borité převedla na alloxazin **18** (schéma 32).

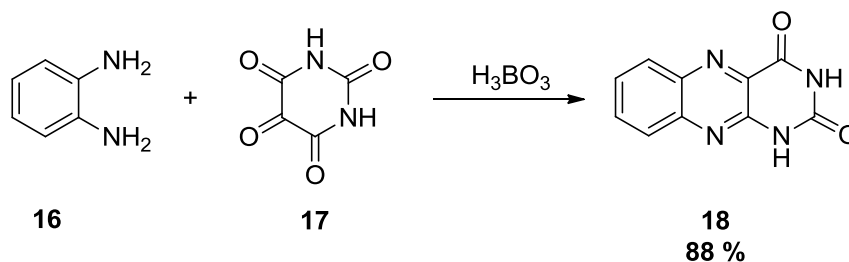


Schéma 32: Krok 1 – syntéza alloxazinu **18**

Tento alloxazin **18** jsem alkylovala methyljodidem v přítomnosti potaše na dimethylderivát **19** (schéma 33).

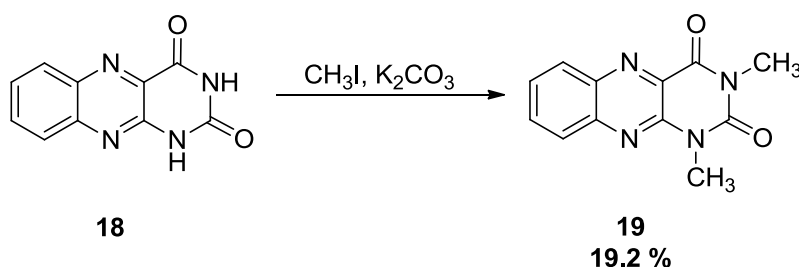


Schéma 33: Krok 2 – syntéza 1,3-dimethylalloxazinu

Následně jsem 1,3-dimethylalloxazin **19** podrobila reduktivní aminaci v přítomnosti acetaldehydu, kyseliny octové a vody. Produkt aminace **20** jsem bez izolace oxidovala dusitanem sodným v kyselina chloristé (schéma 34).

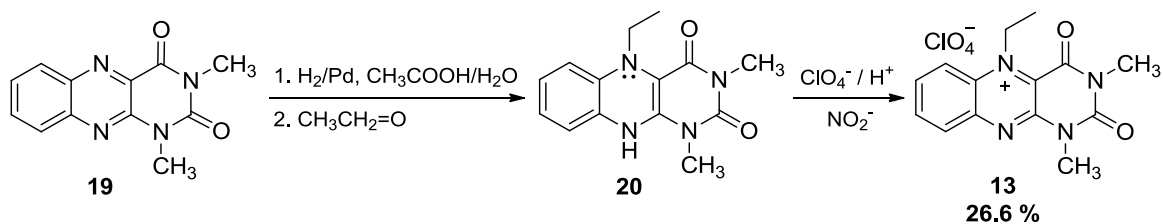


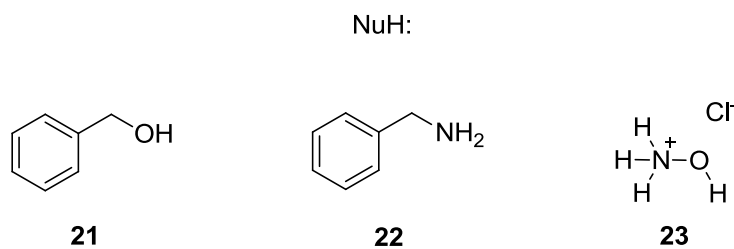
Schéma 34: Krok 3 – syntéza 5-ethyl-1,3--dimethylalloxazinium-perchlorátu **13**

Získanou alloxaziniovou sůl **13** jsem již jako známou látku charakterizovala NMR a b.t.



## 4.2 STUDIUM TVORBY C4a-ADUKTŮ

Pro studium tvorby C4a-aduktů jsem použila připravenou flaviniovou sůl **13** a pro prvotní testování reaktivity s nukleofily jsem vybrala benzylalkohol **21** (BnOH), benzylamin **22** (BnNH<sub>2</sub>) a hydroxylamin hydrochlorid **23** (NH<sub>2</sub>OH·HCl) (obr. 9).



Obrázek 9: Struktury nukleofilů využitých pro studium tvorby C4a-aduktů

Vznik aduktů jsem sledovala UV-VIS technikou. Jako rozpouštědlo jsem použila sušený MeCN. Při titraci je třeba zajistit bezvodé podmínky, aby byl vyloučen vznik hydroxyaduktu. Ze stejného důvodu nelze použít jako rozpouštědlo nukleofilní methanol. Vzorky pro analýzu jsem připravovala smísením alikvotních částí zásobních roztoků flaviniové soli **13** ( $c = 5 \cdot 10^{-3}$  mol/l v suchém MeCN) a příslušného nukleofilu ( $c = 1 \cdot 10^{-3}$  mol/l v suchém MeCN) a následným zředěním suchým acetonitrilem na konečný objem 2 ml v kyvetě. Roztok soli **13** jsem vždy připravovala bezprostředně před měřením, zpravidla do objemu 2 ml, jelikož je nutné předcházet jeho rozkladu, kterému ve formě roztoku poměrně snadno podléhá. Výsledná koncentrace soli **13** pro následnou titraci nukleofilem v UV-VIS kyvetě byla vždy  $1 \cdot 10^{-4}$  mol/l.

Spektra jsem zaznamenávala bezprostředně po smíchání, pokud není řečeno jinak. Škály spekter jsou vždy v poměrech látkových množství soli **13** : Nu<sup>-</sup> od 1 : 0.1 až po 1 : 10, pokud není řečeno jinak. V komentovaných obrázcích modrá datová linka značí čisté rozpouštědlo (blank), oranžová čistou flaviniovou sůl v sušeném MeCN. Další datové linky (černé) odpovídají přidávkům nukleofilů ve výše uvedených molárních poměrech. Detailní tabulky jsou v příloze č. 9.1.

#### 4.2.1 OVĚŘOVACÍ STUDIE: TITRACE FLAVINIOVÉ SOLI **13** BENZYLAMINEM

Abych mohla studovat případnou transformaci boronových kyselin na odpovídající aniliny při použití hydroxylaminu jako aminačního činidla, musela jsem nejdříve ověřit, zda hydroxylamin může vůbec interagovat s flaviniovou solí **13** za vzniku C4a-adtuku. Jako podklad jsem využila práci Ménové<sup>86</sup>, na jejímž základě byla provedena nejdříve ověřovací titrace soli **13** benzylaminem. V případě alloxaziniové soli (oproti isoalloxaziniové) je třeba pro vytvoření aduktu narušit aromatický pyrazinový kruh silným nukleofilem. Proto poskytuje benzylaminový adukt při reakci s benzylaminem a benzylthiolový adukt při reakci s benzylthiolem (schéma 35).<sup>86</sup>

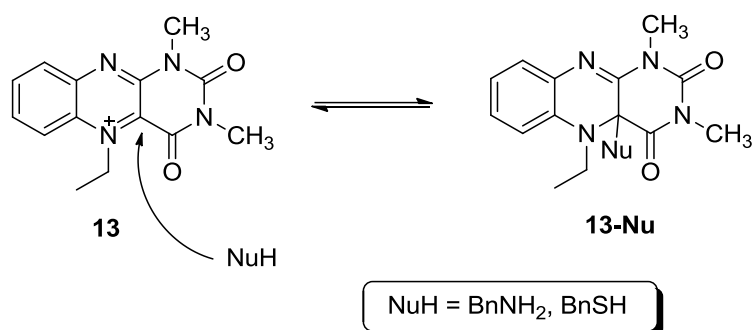
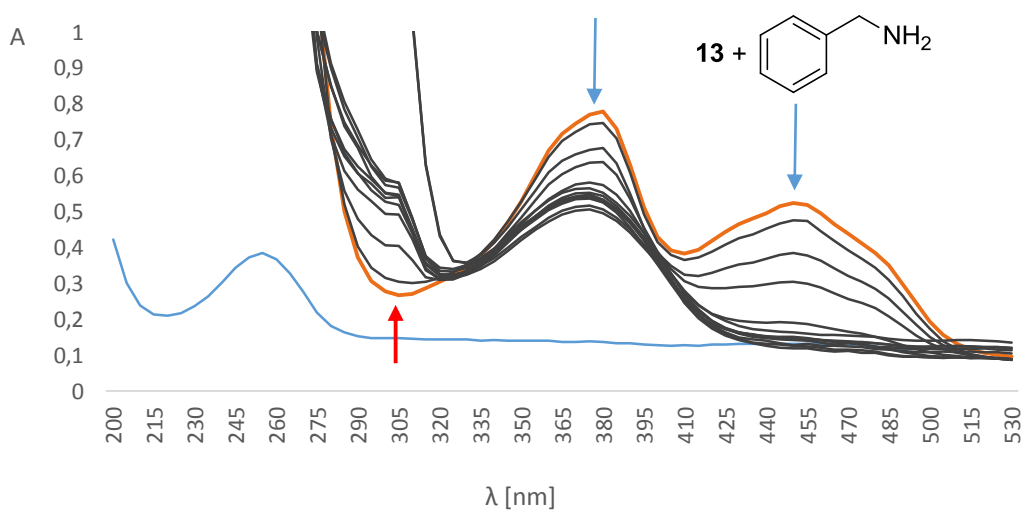


Schéma 35: Vznik benzylaminového a benzylthiolového aduktu

Přidání benzylaminu vedlo k okamžité reakci, která byla doprovázena zmizením absorpčních maxim pro sůl **13** (455 nm a 380 nm) a současným vznikem nového pásu (305 nm) (obr. 10).



Obrázek 10: UV-VIS spektrofotometrické sledování reakce **13** s benzylaminem v sušeném MeCN. Podmínky:  $n$  (**13** v kvjetě) =  $2 \cdot 10^{-7}$  mol,  $c$  (Nu<sup>-</sup> zásobní roztok) =  $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l,  $V$  (kvjeta) = 2000  $\mu$ l, rt, poměr látkových množství **13** : Nu<sup>-</sup> od 1 : 0.1 po 1 : 10.

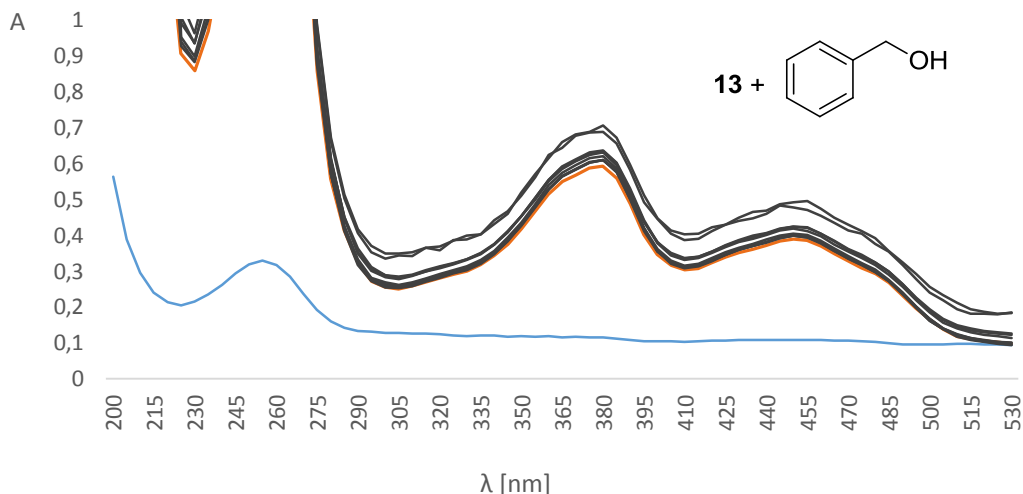
## 4.2.2 TITRACE FLAVINIOVÉ SOLI **13** RŮZNÝMI TYPY NUKLEOFILŮ

Na základě ověřovací titrace soli **13** benzylaminem jsem mohla přistoupit k další fázi testování. Cílem bylo sledovat reaktivitu různých typů *O*- a *N*-nukleofilů. Jelikož nukleofilita obecně stoupá s atomovým číslem a s bazicitou, bylo předpokládáno, že lepšími nukleofily budou *N*-nukleofily.

### 4.2.2.1 Ověření reaktivity *N*- vs *O*-nukleofilů

Pro  $\text{BnNH}_2$  byla tvorba C4a-aduktu jasně prokázána, pokračovala jsem tedy s ohledem na přítomnost *O*-nukleofilu v molekule hydroxylaminu v testování interakce flaviniové soli **13** s  $\text{BnOH}$ .

U benzylalkoholu tvorba aduktu prokázána nebyla (obr. 11). Na obrázku je vidět, že nedochází k zanikání výše uvedených absorpčních pásů flaviniové soli **13** a ani nedochází ke vzniku pásů nových.



Obrázek 11: UV-VIS spektrofotometrické sledování reakce **13** s benzylalkoholem v sušeném MeCN. Podmínky:  $n$  (**13** v kyvetě) =  $2 \cdot 10^{-7}$  mol,  $c$  (Nů zásobní roztok) =  $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l,  $V$  (kyveta) = 2000  $\mu\text{l}$ , rt, poměr látkových množství **13** : Nů od 1 : 0.1 po 1 : 10.

Dalším krokem byla titrace soli **13** deprotonovaným benzylalkoholem. Deprotonací jsem chtěla zvýšit nukleofilitu substrátu. Pro tento experiment byl benzylalkohol v malém množství sušeného hexanu ve vialce opatřené septem smíšen s butyllithiem v poměru látkových množství 1 : 1. Následně byl přidán 10% nadbytek benzylalkoholu a roztok byl

doplněn na požadovaný objem sušeným acetonitrilem. Nadbytek benzylalkoholu byl přidán, aby nedocházelo k možné vedlejší reakci butyllithia s acetonitrilem (schéma 36). K deprotonaci jsem použila záměrně butyllithium, protože vznikající butan nijak nenarušuje titraci a sledování vzniku C4a aduktu.

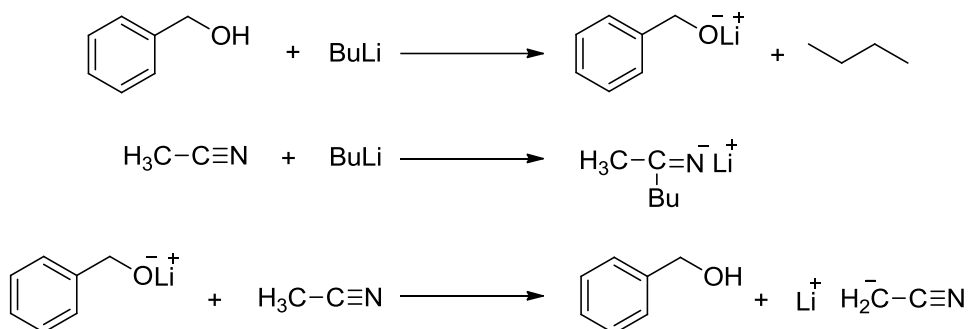
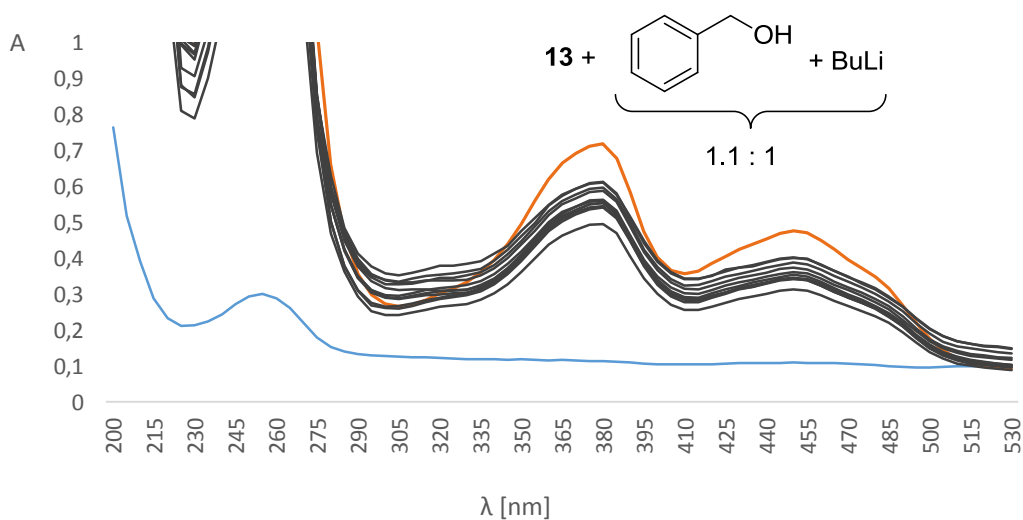


Schéma 36: Možné vedlejší reakci butyllithia s acetonitrilem

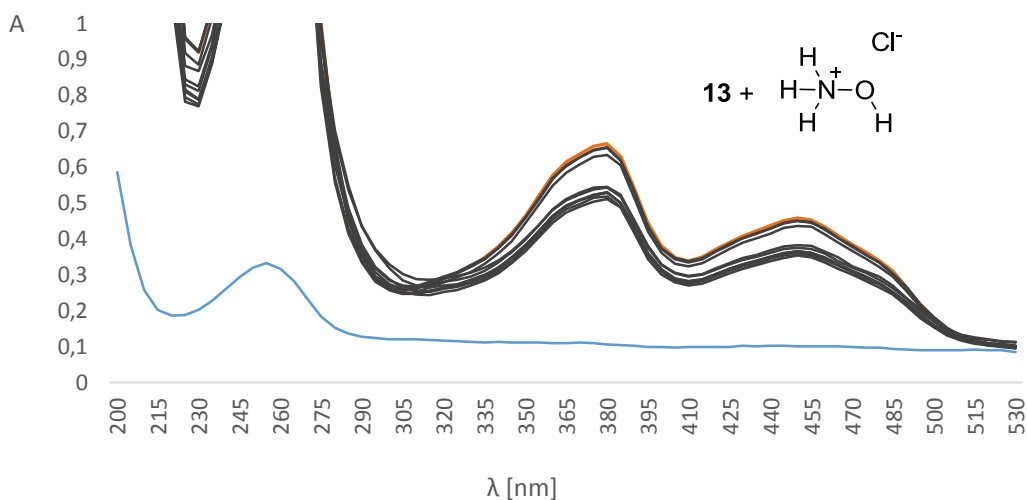
Ani v případě reakce s deprotonovaným benzylalkoholem však nedošlo ke tvorbě aduktu, opět jsem nepozorovala zánik pásů soli **13** ani vznik pásů nových (obr. 12).



Obrázek 12: UV-VIS spektrofotometrické sledování reakce **13** s benzylalkoholem a BuLi v nadbytku benzylalkoholu a v sušeném MeCN. Podmínky:  $n$  (**13** v kyvetě) =  $2 \cdot 10^{-7}$  mol,  $c$  (Nú zásobní roztok) =  $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l,  $V$  (kyveta) = 2000  $\mu$ l,  $r$ , poměr látkových množství **13** : Nú od 1 : 0.1 po 1 : 10.

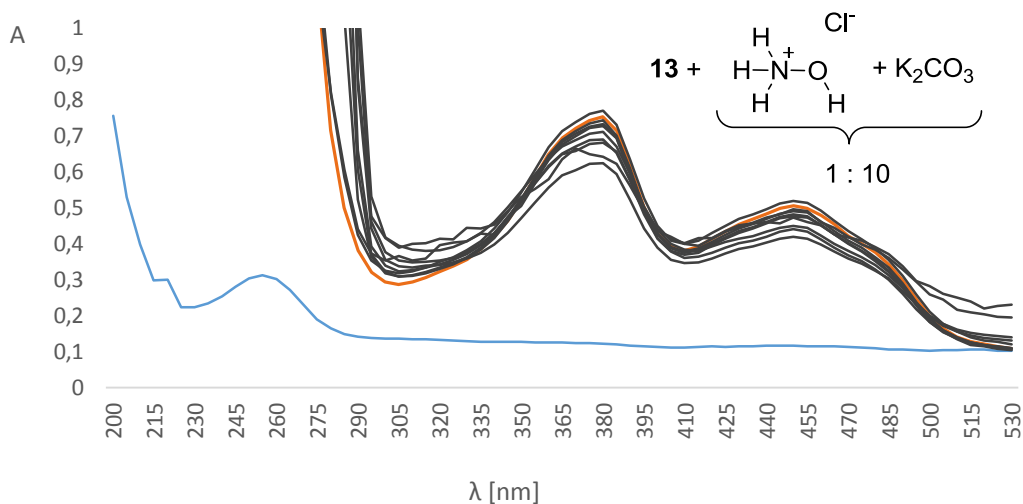
#### 4.2.2.2 Titrace hydroxylaminem

Právě hydroxylamin na rozdíl od peroxidu vodíku by mohl za určitých podmínek být buď *O*- nebo *N*-nukleofilem (schéma 28, str. 29). První titraci jsem prováděla hydroxylaminem hydrochloridem, tedy *O*-nukleofilem. Zásobní roztoky hydroxylaminu byly připravovány též o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l v suchém acetonitrilu, což naráželo na praktické problémy s rozpustností. Roztoky byly zpravidla sonifikovány či byly míchány v řádech dní na magnetické míchačce. Přestože nebylo možné dosáhnout rozpuštění celého podílu, doufala jsem alespoň v náznak čitelných změn ve spektrech. Nedošlo však k žádoucímu posunu pásem (obr. 13).



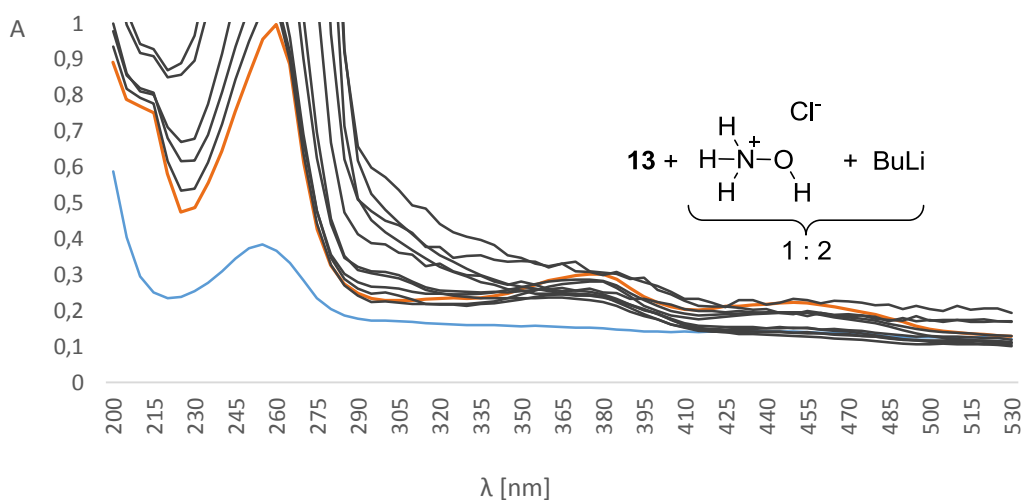
Obrázek 13: UV-VIS spektrofotometrické sledování reakce **13** s hydroxylaminem hydrochloridem v sušeném MeCN. Podmínky:  $n$  (**13** v kyvetě) =  $2 \cdot 10^{-7}$  mol,  $c$  (Nú zásobní roztok) =  $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l,  $V$  (kyveta) = 2000  $\mu$ l, rt, poměr látkových množství **13** : Nú od 1 : 0.1 po 1 : 10.

Pokusila jsem se o zvýšení nukleofility hydroxylaminu jeho uvolněním z hydrochloridu přidavkem potaše ( $pK_a$  hydroxylaminu hydrochloridu je cca 5.8 a samotného hydroxylaminu 13.7). Potaš byla přidávána orientačně přímo do kyvet po provedení titrace hydroxylaminem hydrochloridem. Nebyla však pozorována žádná změna v reaktivitě (obr. 14). Je možné, že nedochází k požadovanému uvolnění hydroxylaminu, protože se nejedná o vodné prostředí.



Obrázek 14: UV-VIS spektrofotometrické sledování reakce **13** s hydroxylaminem hydrochloridem s  $K_2CO_3$  (1 : 10) v sušeném MeCN. Podmínky:  $n$  (**13** v kyvetě) =  $2 \cdot 10^{-7}$  mol,  $c$  (Nú zásobní roztok) =  $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l,  $V$  (kyveta) = 2000  $\mu$ l, rt, poměr látkových množství **13** : Nú od 1 : 0.1 po 1 : 10.

Butyllithium (BuLi) je oproti potaši silnou bází, jehož výhody a nevýhody byly již popsány výše. Zásobní roztok byl připraven přidáním butyllithia do roztoku hydroxylaminu hydrochloridu ( $c = 1 \cdot 10^{-3}$  mol/l v suchém acetonitrilu) ve vialce opatřené septem v poměru látkových množství 1 : 2, aby došlo nejen k uvolnění hydroxylaminu, ale také k jeho deprotonaci na atomu kyslíku. Při titraci jsem však nepozorovala tvorbu aduktu, ale pravděpodobně rozpad soli **13**, protože zanikal typický pás při 455 nm. Vznik nového pásu však pozorován nebyl (obr. 15).



Obrázek 15: UV-VIS spektrofotometrické sledování reakce **13** s hydroxylaminem hydrochloridem s BuLi (1 : 2) v sušeném MeCN. Podmínky:  $n$  (**13** v kyvetě) =  $2 \cdot 10^{-7}$  mol,  $c$  (Nú zásobní roztok) =  $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l,  $V$  (kyveta) = 2000  $\mu$ l, rt, poměr látkových množství **13** : Nú od 1 : 0.1 po 1 : 10.

#### 4.2.2.3 Titrace chráněnými hydroxylaminy

Vzhledem k neprůkazným výsledkům interakce soli **13** hydroxylaminem a problémům s přípravou jeho roztoku v nevodném prostředí jsem se rozhodla použít nukleofily s vyšší lipofilitou. Zároveň jsem chtěla jeden z možných nukleofilních atomů „ochránit“ tak, aby se tvorby aduktu mohl účastnit jen jeden z atomů. Pro testování jsem zvolila nejprve komerčně dostupný *O*-benzylhydroxylamin **24** (schéma 37).

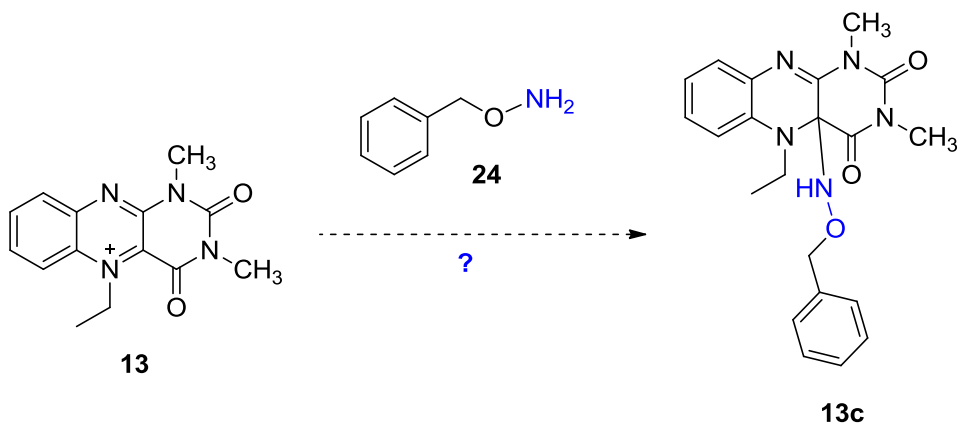
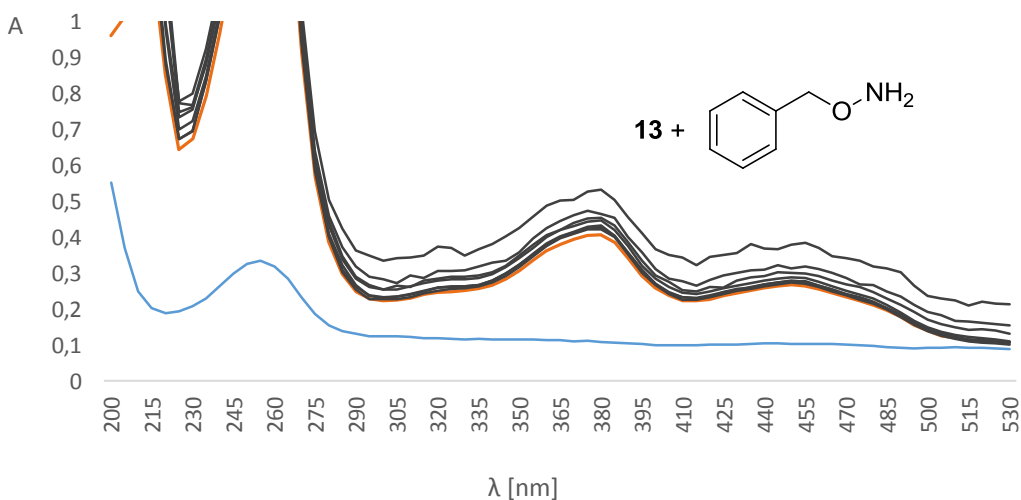


Schéma 37: Možnost tvorby C4a-aduktu s *O*-benzylhydroxylaminem

Provedla jsem titraci flaviniové soli **13** tímto nukleofilem, nepozorovala jsem však tvorbu žádaného aduktu (obr. 16). Dále jsem zjistila, že deprotonovaný nukleofil je ve studovaném systému nerozpustný, a tudíž dále nepoužitelný.



Obrázek 16: UV-VIS spektrofotometrické sledování reakce **13** s *O*-benzylhydroxylaminem v sušeném MeCN. Podmínky:  $n$  (**13** v kyvetě) =  $2 \cdot 10^{-7}$  mol,  $c$  (Nu<sup>-</sup> zásobní roztok) =  $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l,  $V$  (kyveta) = 2000  $\mu$ l, rt, poměr látkových množství **13** : Nu<sup>-</sup> od 1 : 0.1 po 1 : 10.

Z tohoto důvodu jsem následně provedla obdobné experimenty s *N*-benzylhydroxylaminem **25**, který jsem připravila redukcí benzaldoximu **26** kyanoborohydridem sodným v methanolu v kyselém prostředí (schéma 38 a 39). Komerčně dostupný nukleofil **25** je totiž drahý. Produkt **25** jsem jako známou látku charakterizovala NMR a b.t.

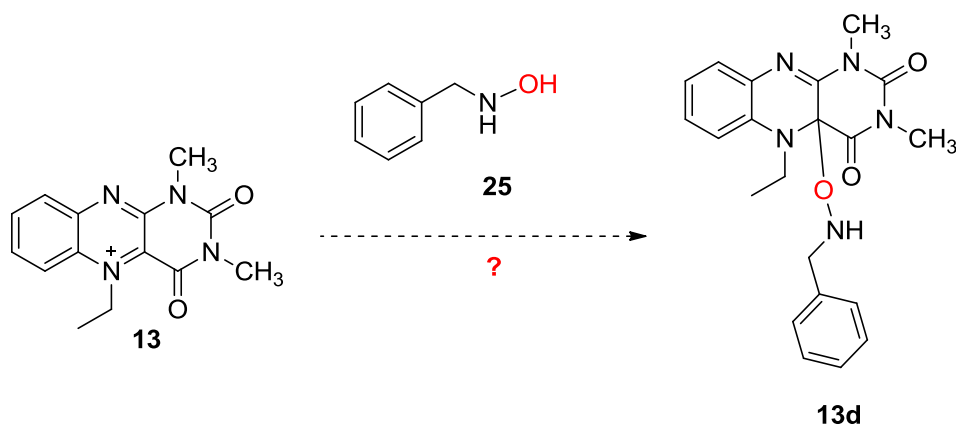


Schéma 38: Možnost tvorby C4a-aduktu s *N*-benzylhydroxylaminem

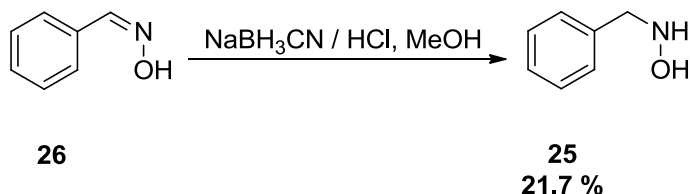


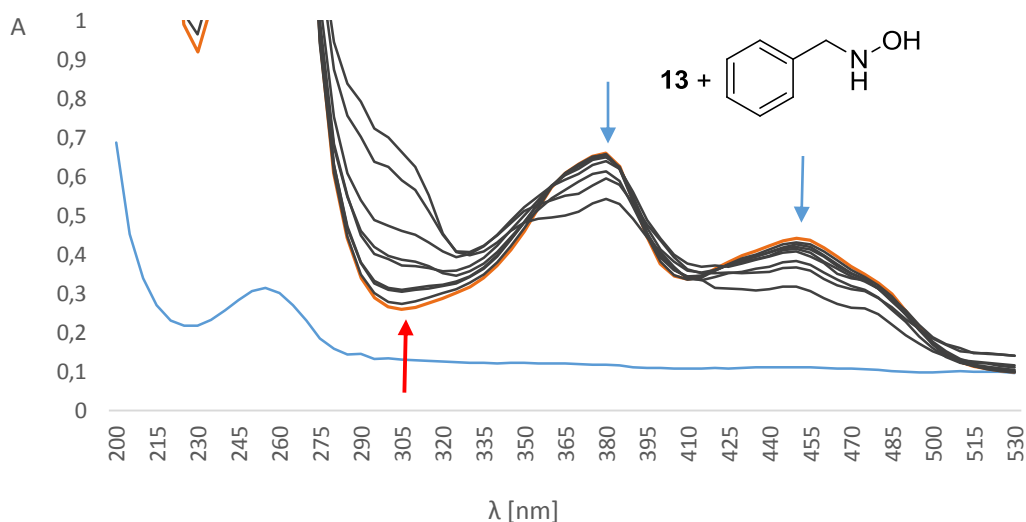
Schéma 39: Syntéza *N*-benzylhydroxylaminu

Následná titrace flaviniové soli **13** hydroxylaminem **25** byla úspěšná. Nejprve jsem provedla titraci v nízkých poměrech látkových množství soli **13** a nukleofilu 1 : 0.1 až 1 : 10. Přidání nukleofilu vedlo k okamžité reakci, která byla doprovázena zmizením absorpčních maxim pro sůl **13** a současným vznikem nových pásem, tedy dochází s největší pravděpodobností ke vzniku aduktu **13d**. Provedla jsem tedy ještě rozšíření titrace do vysokých přebytků nukleofilu od 1 : 10 až do 1 : 100 (obr. 17).

Domnívám se, že látka **25** je lepším nukleofilem, než látka **24**, protože v případě hydroxylaminu **24** sousedící atom kyslíku díky své elektronegativitě „přetahuje“

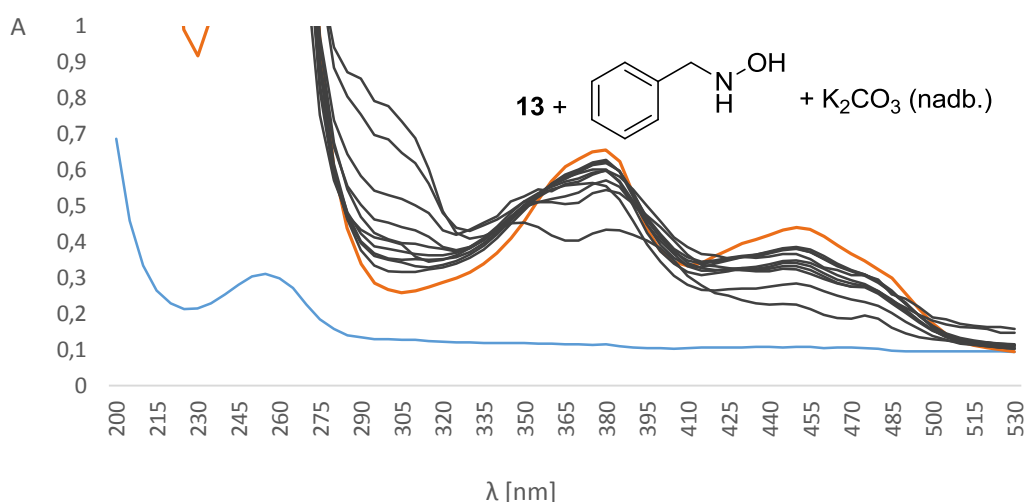


elektronovou hustotu po vazbě na svou stranu a snižuje tak nukleofilita atomu dusíku v NH<sub>2</sub> skupině.

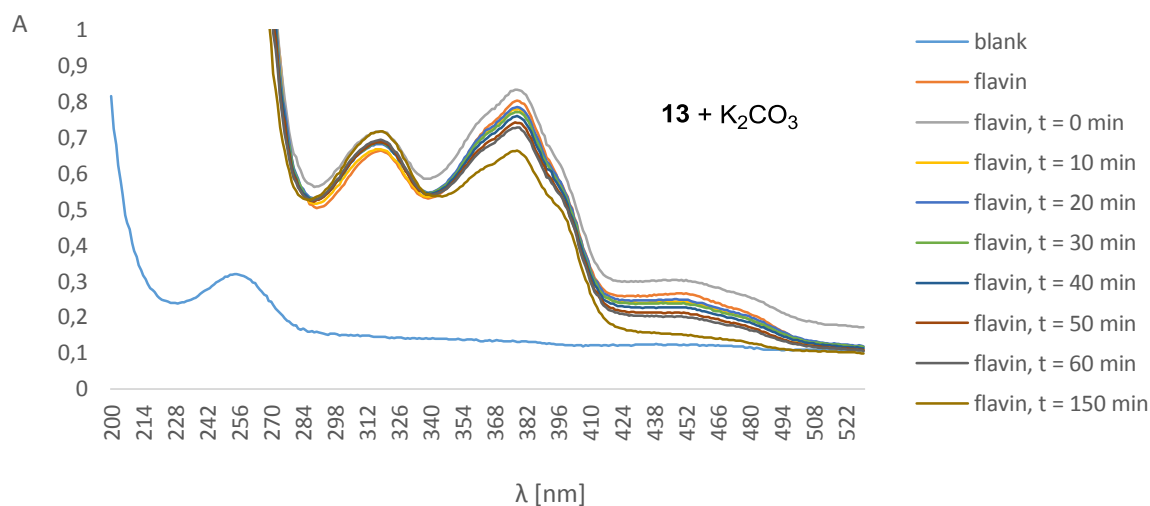


Obrázek 17: UV-VIS spektrofotometrické sledování reakce **13** s N-benzylhydroxylaminem v sušeném MeCN. Podmínky:  $n$  (**13** v kyvetě) =  $2 \cdot 10^{-7}$  mol,  $c$  (Nů zásobní roztok) =  $5 \cdot 10^{-1}$  mol/l,  $V$  (kyveta) = 2000  $\mu$ l, rt, poměr látkových množství **13** : Nů od 1 : 10 po 1 : 100.

Jelikož při titraci soli **13** hydroxylaminem **25** dochází ke vzniku isobestických bodů, zajímalo mne, zda je možné přidavkem potaše urychlit tvorbu aduktu (obr. 18). V titračních spektrech jsem nepozorovala výraznou změnu, pouze jsem zaznamenala změnu v absorbním pásu kolem 365 – 380 nm, která může naznačovat rozklad flaviniové soli v přítomnosti báze. Je to však pouze domněnka, protože jsem pracovala v bezvodém prostředí. Z tohoto důvodu jsem se rozhodla provést studii stálosti soli **13** v přítomnosti potaše, abych vyloučila případný vliv na její stabilitu. Z obr. 19 vyplývá, že samotná přítomnost potaše bez nukleofilu stabilitu flaviniové soli **13** nijak neovlivňuje a pozorovaná změna by mohla být přičítána stáří roztoku soli **13**. Nepracovala jsem totiž s identickými roztoky, protože jsem si je právě kvůli možnému rozkladu soli **13** připravovala pouze v malém množství.



Obrázek 18: UV-VIS spektrofotometrické sledování reakce **13** s *N*-benzylhydroxylaminem s nadbytkem  $K_2CO_3$  v sušeném MeCN. Podmínky:  $n$  (**13** v kyvetě) =  $2 \cdot 10^{-7}$  mol,  $c$  ( $Nu$  zásobní roztok) =  $5 \cdot 10^{-1}$  mol/l,  $V$  (kyveta) = 2000  $\mu$ l, rt, poměr látkových množství **13** :  $Nu$  od 1 : 0.1 po 1 : 10.



Obrázek 19: Časová závislost reakce soli **13** s  $K_2CO_3$  v sušeném MeCN. Podmínky:  $n$  (**13** v kyvetě) =  $2 \cdot 10^{-7}$  mol s nadbytkem  $K_2CO_3$  (cca 20 mg přímo do kyvety),  $V$  (kyveta) = 2000  $\mu$ l, rt

V návaznosti na předchozí měření jsem chtěla vyzkoušet taktéž titraci v přítomnosti butyllithia a deprotonovat nukleofil **25**, což však nebylo možné nakonec otestovat, jelikož při přípravě zásobního roztoku nukleofilu po přidavku BuLi došlo ke vzniku nerozpustné soli podobně jako v případě nukleofilu **24**.

## 5 ZÁVĚR

### 5.1 ZÁVĚR – OBOROVÁ STRÁNKA DIPLOMOVÉ PRÁCE

V rámci diplomové práce byla připravena jednoduchá alloxaziniová sůl **13**, která byla dále využita pro studii její reaktivity s různými nukleofily.

Provedená studie dle Ménové<sup>86</sup> potvrdila tvorbu C4a-aduktu soli **13** s benzylaminem. Při titraci této soli benzylalkoholem **21**, volným i deprotonovaným hydroxylaminem hydrochloridem **23** a hydroxylaminem **24** nedocházelo ke tvorbě odpovídajícího aduktu.

Jediný z testovaných nukleofilů – hydroxylamin **25** pravděpodobně tvoří se solí **13** odpovídající adukt **13d**. Vzhledem k tomu, že sousední atom dusíku podporuje svým +I efektem přesun elektronové hustoty na již sám o sobě elektronegativnější atom kyslíku, je podporována právě tvorba aduktu **13d**. Na základě těchto výsledků by bylo vhodné adukt **13d** izolovat a charakterizovat (schéma 40).

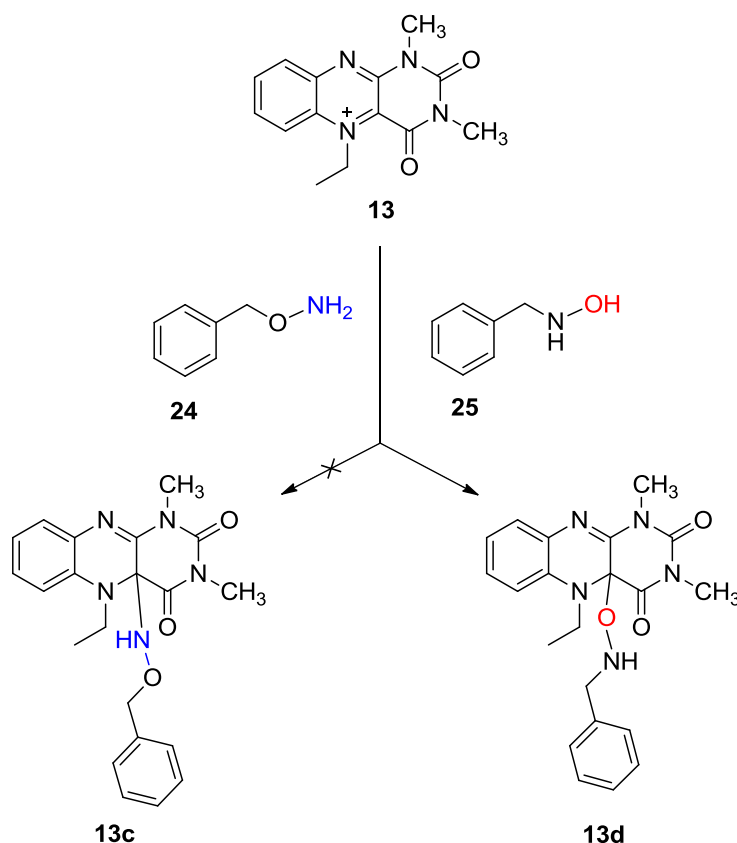


Schéma 40: Tvorba C4a-aduktu s chráněnými benzylaminy

## 5.2 ZÁVĚR – POHLED BUDOUCÍHO UČITELE

V rámci práce na studii jsem si potvrdila správnost motivů a s nimi spojené předpoklady, o kterých se na počátku práce zmiňuji. Z pohledu budoucího učitele musím konstatovat, že pro mě byla práce přínosná nejen ve směru rozvinutí odborných znalostí v rámci problematiky organické syntézy, katalýzy a analytických metod, ale též mi pomohla získat a rozvinout základní způsoby uvažování, které jsou typické pro pracovníky ve výzkumu, což pro budoucí výuku chemie považuji za důležité. Poskytnutí přímé zkušenosti učitelům modelované stejnými způsoby, jakými by bylo vhodné, aby vyučovali své žáky, je to, čím by měl projít každý, dobře připravený učitel chemie. Během práce na studii jsem měla možnost zažít neúspěch a frustraci, která je nedílnou součástí dlouhodobého výzkumu, což je však vyváženo i pozitivními emocemi v případě, že se daná studie posune žádoucím směrem. Uvědomit si i tato hlediska považuji za pozitivní zkušenost a stejně tak by měla být předávána dál žákům, čehož lze názorně využít při vlastních laboratorních pracích – je důležité žáky naučit, že ne vždy je výsledek jejich laboratorní práce pozitivní a že je to nedílnou a přirozenou součástí praxe.

Dalším praktickým a vítaným přínosem je rozvinutí akademických kontaktů, které bude možné využít pro navázání spolupráce v rámci odborných školních exkurzí a případných laboratorních cvičení pro žáky.

## 6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Teploty tání a varu nebyly korigovány. UV-VIS spektra byla měřena na spektrofotometrech Varian Cary 50 (VŠCHT) a Specord PLUS 710 Analytik Jena (UK PedF). NMR spektra byla změřena na přístroji Varian Mercury Plus 300 (300 MHz pro  $^1\text{H}$ , 75 MHz pro  $^{13}\text{C}$ ). Chemické posuny  $\delta$  jsou uvedeny v ppm s využitím signálu zbytkového rozpouštědla nebo tetramethylsilanu jako interního standardu. Preparativní sloupcové chromatografie byly prováděny na silikagelu 0.040 – 0.063 mm (Merck).

Následující látky byly v rámci této diplomové práce připraveny v laboratoři Ústavu organické chemie VŠCHT: alloxazin, 5-ethyl-1,3-dimethylalloxazinum-perchlorát, 1,3-dimethylalloxazin; *N*-benzylhydroxylamin. Nukleofily využité v rámci diplomové práce byly v kvalitě „čistý“ získány následovně: benzylalkohol (sklad PedF UK, přečištěn), benzylamin (sklad VŠCHT), hydroxylamin hydrochlorid (Lach-Ner), *O*-benzylhydroxylamin (Alfa Aesar). Benzaldoxim byl získán ze skladu VŠCHT.

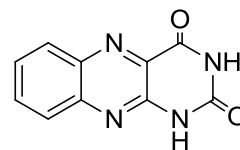
Další reaktanty byly v kvalitě „čistý“ zakoupeny od firem Sigma – Aldrich, Fluka, Lachema Brno, Lach-Ner a Penta: 1,2-fenylandiamin, acetaldehyd, acetonitril, alloxan monohydrát, diethylether, dichlormethan, dimethylformamid, dusitan sodný, ethanol, ethylacetát, fenol, hexan, hydroxid sodný, chlorid sodný, chloristan sodný, izopropylalkohol, kyanoborohydrid sodný, kyselina chloristá, kyselina chlorovodíková, kyselina octová, kyselina trihydrogenboritá, methanol, methyljodid, methylořanž, Pd-C. Fenyloboronová kyselina byla získána od firmy Sigma – Aldrich. Vodík a dusík byl dodán firmou Linde Industrial Gases. Rozpouštědla pro NMR měření byla zakoupena od firmy Eurorad - deuterovaná rozpouštědla:  $\text{CDCl}_3$ , DMSO. Ostatní rozpouštědla byla před použitím destilována a rozpouštědla označená jako sušená byla zbavena vody obvyklými laboratorními postupy.<sup>88</sup> Chemikálie ze skladu VŠCHT byly získány v kvalitě „čistý“.

Látky, které byly připravovány v sériích, byly syntetizovány vždy analogickou reakcí při zachování molárních poměrů reagujících látek a stejných reakčních podmínek.

## 6.1 SYNTÉZA KATALYZÁTORU

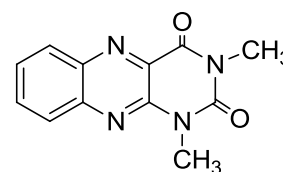
### 6.1.1 ALLOXAZIN (18)

5.0 g 1,2-fenylendiaminu **16** (46 mmol) bylo za stálého míchání rozpuštěno ve 100 ml kyseliny octové. K roztoku bylo přidáno 8.5 g alloxanu monohydrátu **17** (52 mmol) a 3.5 g kyselina borité. Směs byla míchána při laboratorní teplotě přes víkend a byla ponechána v lednici. Ze směsi se následně vyloučily oranžovo-žluté krystaly, které byly odsáty na fritě a následně dvakrát promyty kyselinou octovou a 3 x diethyletherem. Krystaly byly následně sušeny 3 hodiny na vakuové lince. Bylo získáno 8.8 g (88 %) alloxazinu **18**. Teplota tání: 214 – 216 °C (lit.<sup>51</sup> 400 °C). NMR: <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ = 11.92 (s, 1H), 11.74 (s, 1H), 8.16 (d, *J*=8.5, 1H), 7.92 (d, *J*=3.7, 2H), 7.78 (ddd, *J*=8.4, 4.7, 3.5, 1H).



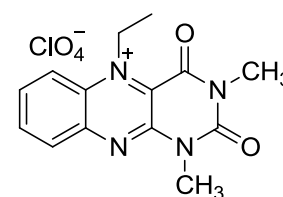
### 6.1.2 1,3-DIMETHYLALLOXAZIN (19)

3.5 g alloxazinu **18** (16 mmol) a 11.2 g K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (81 mmol) bylo suspendováno ve 130 ml DMF. Ke směsi bylo přidáno 2.4 ml methyljodidu (37 mmol) a směs byla míchána 2 hodiny pod dusíkovou atmosférou. Následně bylo ke směsi přilito 100 ml ethyl-acetátu a pevný podíl byl odfiltrován. Filtrát byl ponechán stát 6 dní. Posléze byla rozpouštědla odpařena na RVO. K odparku bylo přilito 300 ml vody a 350 ml DCM. Směs byla protřepána, organický podíl byl oddělen a vodná vrstva byla protřepána ještě čtyřikrát 100 ml DCM. Organické podíly byly spojeny, promyty solankou a 45 minut sušeny MgSO<sub>4</sub>. Sušidlo a zbytek solanky byl odfiltrován, DCM bylo odpařeno na RVO. Bylo získáno 0.7g (19.1 %) flavinu **19**. Teplota tání: 240.3 – 240.5 °C (lit.<sup>89</sup> 247-247.5 °C). NMR: <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 8.35 (d, *J*=8.5, 1H), 8.04 (d, *J*=8.5, 1H), 7.96 – 7.85 (m, 1H), 7.82 – 7.70 (m, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.64 (s, 3H).



### 6.1.3 5-ETHYL-1,3-DIMETHYLALLOXAZINIUM-PERCHLORÁT (13)

23.9 mg 1,3-dimethylalloxazinu **19** (0.9 mmol), 1.6 ml acetaldehydu (27.8 mmol) a 89 mg Pd/C (10 %) byly suspendovány v 15.5 ml kyseliny octové a v 1.6 ml vody. Vzniklý roztok byl míchán při laboratorní teplotě v autoklávu pod H<sub>2</sub> (0.6 MPa) po dobu 82 hodin. Následně bylo odfiltrováno Pd/C přes křemelinu a filtrát byl odpařen do sucha.

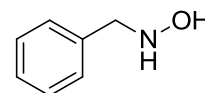


K odparku byla přidána kyselina chloristá (2M, 10.0 ml) a směs byla ochlazená na 0 °C. K roztoku bylo přidáno 515 mg dusitanu sodného (7.4 mmol) a směs byla míchána za laboratorní teploty 90 minut. Poté bylo k reakční směsi přidáno 1.3 g NaClO<sub>4</sub> (10.9 mmol) a směs byla míchána dalších 30 minut. Vyloučený pevný podíl byl odsát, promyt 2M HClO<sub>4</sub> a zbaven rozpoštědla na vakuové lince. Bylo získáno 76 mg (21.8 %) tmavě oranžového prášku **13**. Teplota tání: 223 – 225 °C. NMR: <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>CN) δ = 8.60 – 8.51 (m, 1H), 8.39 – 8.20 (m, 3H), 5.72 (bs, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.53 (s, 3H), 1.80 (t, *J*=7.1, 3H).

## 6.2 SYNTÉZA NUKLEOFILU

### 6.2.1 *N*-BENZYLHYDROXYLAMIN (**25**)

4.1 g benzaldoximu **26** (33 mmol) bylo smícháno s 3.6 g NaBH<sub>3</sub>CN (57 mmol) a rozpuštěno v 60 ml methanolu. Za stálého míchání bylo přidáno malé množství methyloranže a následně do směsi byla po kapkách přikapávána koncentrovaná kyselina chlorovodíková, dokud růžové zbarvení nezůstalo stabilní. Směs byla ponechána reagovat do druhého dne. Poté byl do směsi po kapkách přidáván 6 M roztok hydroxidu sodného až do pH ~10. Ke směsi bylo přidáno 60 ml vody a produkt byl třikrát extrahován 20 ml dichlormethanu. Následně byl promyt solankou, zfiltrován a odpařen na RVO. Produkt byl dvakrát přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel 0.040 – 0.063 mm (Merck), fáze DCM : MeOH = 100 : 2). Bylo získáno 885 mg (21.7 %) produktu **25**. Teplota tání: 43 – 45 °C. NMR: <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.47 – 7.20 (m, 5H), 4.00 (s, 2H).



## 7 LITERATURA

1. THE NOBEL PRICE FOUNDATION. Otto Warburg - Biographical. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1931 - Otto Warburg. In: [www.nobelprize.org](http://www.nobelprize.org) [online]. 2017 [cit. 2017]. Dostupné z: [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1931/warburg-bio.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1931/warburg-bio.html)
2. WARBURG, O., A.W. GEISSLER a S. LORENZ. [Action of riboflavin and lumino-flavin on growing tumor cells]. *Z Klin Chem Klin Biochem*. 1968, roč. 6, č. 5, s. 467-8.
3. WARBURG, O. THE CHEMICAL CONSTITUTION OF RESPIRATION FERMENT. *Science*. 1928, roč. 68, č. 1767, s. 437-43.
4. WARBURG, O. IRON, THE OXYGEN-CARRIER OF RESPIRATION-FERMENT. *Science*. 1925, roč. 61, č. 1588, s. 575-82.
5. GALENUS, I. Flavinové koenzymy. In: [online]. 2017 [cit. Dostupné z: <http://galenus.cz/clanky/biochemie/biochemie-biokatalyza-flavinove-koenzymy>
6. TEO, T.W., M.T. GOH a L.W. YEO. Chemistry education research trends: 2004-2013. *Chemistry Education Research and Practice*. 2014, roč. 15, č. 4, s. 470-487.
7. BÍLEK, M. Zájem žáků o přírodní vědy jako předmět výzkumných studií a problémy aplikace jejich výsledků v pedagogické praxi. *Acta Didactica* roč. 2008, č. 2, s. 1-5.
8. HÖFER, G. a E. SVOBODA. Některé výsledky celostátního výzkumu „Vztah žáků ZŠ a SŠ k výuce obecně a zvláště pak k výuce fyziky“. In: *Moderní trendy v přípravě učitelů fyziky 2*. 2005, s. 52-70.
9. KUBIATKO, M., K. ŠVANDOVÁ, J. ŠIBOR a J. ŠKODA. Vnímání chemie žáky druhého stupně základních škol. *Pedagogická orientace*. 2012, roč. 22, č. 1, s. 82-96.
10. SALTA, K. a C. TZOUGRAKI. Attitudes toward chemistry among 11th grade students in high schools in Greece. *Science Education*. 2004, roč. 88, č. 4, s. 535-547.
11. AAAS. (*American Association for the Advancement of Science*). *Project 2061: Science for all Americans*. Vyd. New York: Oxford University Press, 1989, ISBN
12. NRC. (*National Research Council*). *National Science Education standards*. Vyd. Washington, DC: The National Academies Press, 1996, ISBN
13. KRAJCIK, J.S. a C.M. CZERNIAK. *Teaching Science in Elementary and Middle School: A Project-Based Approach*. Vyd. 4. Routledge, 2013, ISBN 978-0415534055
14. NRC. (*National Research Council*). *Taking science to school: Learning and teaching science in grades K-8*. Vyd. Washington, DC: The National Academies Press, 2007, ISBN
15. KOEHLER, M.J. a P. MISHRA. What is technological pedagogical content knowledge? *Contemporary Issues in Technology and Teacher Education*. 2009, roč. 9, č. 1, s.
16. FRANZ, M. *Chemistry and Biochemistry of Flavoenzymes* Vyd. CRC Press 1991, 448 s. ISBN 9780849343933
17. MASSEY, V. The Chemical and Biological Versatility of Riboflavin. *Biochemical Society Transactions*. 2000, roč. 28, č. 4, s. 283-296.
18. PALFEY, B. a V. MASSEY. *Comprehensive Biological Catalysis*. Vyd. London: Academic Press, 1998, ISBN
19. MOONEN, M.J.H., M.W. FRAAIJE, I.M.C.M. RIETJENS, C. LAANE, et al. Flavoenzyme-Catalyzed Oxygenations and Oxidations of Phenolic Compounds. *Advanced Synthesis & Catalysis*. 2002, roč. 344, č. 10, s. 1023-1035.
20. JOOSTEN, V. a W.J.H. VAN BERKEL. Flavoenzymes. *Current Opinion in Chemical Biology*. 2007, roč. 11, č. 2, s. 195-202.
21. SILVA, E. a A.M. EDWARDS. *Flavins: photochemistry and photobiology*. Vyd. Cambridge: RSC Pub., 2006, 338 s. Comprehensive Series in Photochemical & Photobiological Sciences. ISBN 978-085-4043-316
22. CIBULKA, R. Flaviny - perspektivní katalyzátory oxidací a redukci. *Chemické listy : =Chemical papers (Prague)*. 2010, roč. 104, č. 5, s. 326-333.
23. WILLIAMS, R.E. a N.C. BRUCE. 'New uses for an Old Enzyme' – the Old Yellow Enzyme family of flavoenzymes. *Microbiology*. 2002, roč. 148, č. 6, s. 1607-1614.
24. CARREA, G., B. REDIGOLO, S. RIVA, S. COLONNA, et al. Effects of substrate structure on the enantioselectivity and stereochemical course of sulfoxidation catalyzed by cyclohexanone monooxygenase. *Tetrahedron: Asymmetry*. 1992, roč. 3, č. 8, s. 1063-1068.
25. SIDDENS, L.K., S.K. KRUEGER, M.C. HENDERSON a D.E. WILLIAMS. Mammalian flavin-containing monooxygenase (FMO) as a source of hydrogen peroxide. *Biochemical Pharmacology*. 2014, roč. 89, č. 1, s. 141-147.



26. ZIEGLER, D.M. Flavin-containing monooxygenases: enzymes adapted for multisubstrate specificity. *Trends in Pharmacological Sciences*. 1990, roč. 11, č. 8, s. 321-324.
27. TESTA, B. a S.D. KRÄMER. The Biochemistry of Drug Metabolism – An Introduction. *Chemistry & Biodiversity*. 2007, roč. 4, č. 3, s. 257-405.
28. POULSEN, L.L. a D.M. ZIEGLER. Multisubstrate flavin-containing monooxygenases (FMOs) Multisubstrate flavin-containing monooxygenases: applications of mechanism to specificity. *Chemico-Biological Interactions*. 1995, roč. 96, č. 1, s. 57-73.
29. KRUEGER, S.K. a D.E. WILLIAMS. Mammalian flavin-containing monooxygenases: structure/function, genetic polymorphisms and role in drug metabolism. *Pharmacology & Therapeutics*. 2005, roč. 106, č. 3, s. 357-387.
30. ZAMBIANCHI, F., P. PASTA, G. CARREA, S. COLONNA, et al. Use of isolated cyclohexanone monooxygenase from recombinant *Escherichia coli* as a biocatalyst for Baeyer–Villiger and sulfide oxidations. *Biotechnology and Bioengineering*. 2002, roč. 78, č. 5, s. 489-496.
31. HILKER, I., R. WOHLGEMUTH, V. ALPHAND a R. FURSTOSS. Microbial transformations 59: First kilogram scale asymmetric microbial Baeyer-Villiger oxidation with optimized productivity using a resin-based in situ SFPR strategy. *Biotechnology and Bioengineering*. 2005, roč. 92, č. 6, s. 702-710.
32. ORRU, R., H.M. DUDEK, C. MARTINOLI, D.E. TORRES PAZMINO, et al. Snapshots of enzymatic Baeyer-Villiger catalysis: oxygen activation and intermediate stabilization. *J Biol Chem*. 2011, roč. 286, č. 33, s. 29284-91.
33. VAN BERKEL, W.J., N.M. KAMERBEEK a M.W. FRAAIJE. Flavoprotein monooxygenases, a diverse class of oxidative biocatalysts. *J Biotechnol*. 2006, roč. 124, č. 4, s. 670-89.
34. GELALCHA, F.G. Heterocyclic Hydroperoxides in Selective Oxidations. *Chemical Reviews*. 2007, roč. 107, č. 7, s. 3338-3361.
35. CIBULKA, R. Artificial Flavin Systems for Chemoselective and Stereoselective Oxidations. *European Journal of Organic Chemistry*. 2015, roč. 2015, č. 5, s. 915-932.
36. KAMERBEEK, N.M., D.B. JANSSEN, W.J.H. VAN BERKEL a M.W. FRAAIJE. Baeyer–Villiger Monooxygenases, an Emerging Family of Flavin-Dependent Biocatalysts. *Advanced Synthesis & Catalysis*. 2003, roč. 345, č. 6-7, s. 667-678.
37. TORRES PAZMIÑO, D.E., H.M. DUDEK a M.W. FRAAIJE. Baeyer–Villiger monooxygenases: recent advances and future challenges. *Current Opinion in Chemical Biology*. 2010, roč. 14, č. 2, s. 138-144.
38. MURAHASHI, S.-I., S. ONO a Y. IMADA. Asymmetric Baeyer–Villiger Reaction with Hydrogen Peroxide Catalyzed by a Novel Planar-Chiral Bisflavin. *Angewandte Chemie International Edition*. 2002, roč. 41, č. 13, s. 2366-2368.
39. DAĐOVÁ, J., E. SVOBODOVÁ, M. SIKORSKI, B. KÖNIG, et al. Photooxidation of Sulfides to Sulfoxides Mediated by Tetra-O-Acetylriboflavin and Visible Light. *ChemCatChem*. 2012, roč. 4, č. 5, s. 620-623.
40. MURAHASHI, S.-I., D. ZHANG, H. IIDA, T. MIYAWAKI, et al. Flavin-catalyzed aerobic oxidation of sulfides and thiols with formic acid/triethylamine. *Chemical Communications*. 2014, roč. 50, č. 71, s. 10295-10298.
41. BAXOVÁ, L., R. CIBULKA a F. HAMPL. Organocatalytic sulfoxidation in micellar systems containing amphiphilic flavinium salts using hydrogen peroxide as a terminal oxidant. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 2007, roč. 277, č. 1–2, s. 53-60.
42. CIBULKA, R. a R. JUROK. Organokatalytické enantioselektivní oxidace sulfidů na sulfoxidy. *Chemické listy : =Chemical papers (Prague)*. 2012, roč. 106, č. 10, s. 896-902.
43. MURAHASHI, S., T. ODA a Y. MASUI. Flavin-catalyzed oxidation of amines and sulfur compounds with hydrogen peroxide. *Journal of the American Chemical Society*. 1989, roč. 111, č. 13, s. 5002-5003.
44. MĚNOVÁ, P. a R. CIBULKA. Insight into the catalytic activity of alloxazinium and isoalloxazinium salts in the oxidations of sulfides and amines with hydrogen peroxide. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 2012, roč. 363–364, s. 362-370.
45. COLONNA, S., N. GAGGERO, G. CARREA, G. OTTOLINA, et al. First asymmetric epoxidation catalysed by cyclohexanone monooxygenase. *Tetrahedron Letters*. 2002, roč. 43, č. 10, s. 1797-1799.
46. BRANCHAUD, B.P. a C.T. WALSH. Functional group diversity in enzymatic oxygenation reactions catalyzed by bacterial flavin-containing cyclohexanone oxygenase. *Journal of the American Chemical Society*. 1985, č. 107, s. 2153-3538.

47. SHINKAI, S., T. YAMAGUCHI, A. KAWASE, A. KITAMURA, et al. Asymmetric oxidation by new cyclic flavins with planar chirality (chiral flavinophanes). *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. 1987, č. 19, s. 1506-1508.
48. SHINKAI, S., T. YAMAGUCHI, O. MANABE a F. TODA. Enantioselective oxidation of sulphides with chiral 4a-hydroperoxyflavin. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. 1988, č. 21, s. 1399-1401.
49. BERGSTAD, K. a J.-E. BÄCKVALL. Mild and Efficient Flavin-Catalyzed H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Oxidation of Tertiary Amines to Amine N-Oxides. *The Journal of Organic Chemistry*. 1998, roč. 63, č. 19, s. 6650-6655.
50. MURRAY, A.T., P. MATTON, N.W.G. FAIRHURST, M.P. JOHN, et al. Biomimetic Flavin-Catalyzed Aldehyde Oxidation. *Organic Letters*. 2012, roč. 14, č. 14, s. 3656-3659.
51. CHEN, S., M.S. HOSSAIN a F.W. FOSS. Organocatalytic Dakin Oxidation by Nucleophilic Flavin Catalysts. *Organic Letters*. 2012, roč. 14, č. 11, s. 2806-2809.
52. MOJR, V., E. SVOBODOVA, K. STRAKOVA, T. NEVESELY, et al. Tailoring flavins for visible light photocatalysis: organocatalytic [2+2] cycloadditions mediated by a flavin derivative and visible light. *Chemical Communications*. 2015, roč. 51, č. 60, s. 12036-12039.
53. NEVESELY, T., E. SVOBODOVÁ, J. CHUDOBA, M. SIKORSKI, et al. Efficient Metal-Free Aerobic Photooxidation of Sulfides to Sulfoxides Mediated by a Vitamin B<sub>2</sub> Derivative and Visible Light. *Advanced Synthesis & Catalysis*. 2016, roč. 358, č. 10, s. 1654-1663.
54. GOGOI, A. a U. BORA. An Iodine-Promoted, Mild and Efficient Method for the Synthesis of Phenols from Arylboronic Acids. *Synlett*. 2012, roč. 23, č. 07, s. 1079-1081.
55. HAWTHORNE, M. Notes - Simple Procedure for the Conversion of Aryl Halides to the Corresponding Phenols. *The Journal of Organic Chemistry*. 1957, roč. 22, č. 8, s. 1001-1001.
56. CHEN, D.-S. a J.-M. HUANG. A Mild and Highly Efficient Conversion of Arylboronic Acids into Phenols by Oxidation with MCPBA. *Synlett*. 2013, roč. 24, č. 04, s. 499-501.
57. MULAKAYALA, N., ISMAIL, K.M. KUMAR, R.K. RAPOLU, et al. Catalysis by Amberlite IR-120 resin: a rapid and green method for the synthesis of phenols from arylboronic acids under metal, ligand, and base-free conditions. *Tetrahedron Letters*. 2012, roč. 53, č. 45, s. 6004-6007.
58. SIMON, J., S. SALZBRUNN, G.K. SURYA PRAKASH, N.A. PETASIS, et al. Regioselective Conversion of Arylboronic Acids to Phenols and Subsequent Coupling to Symmetrical Diaryl Ethers. *The Journal of Organic Chemistry*. 2001, roč. 66, č. 2, s. 633-634.
59. KIANMEHR, E., M. YAHYAEI a K. TABATABAI. A mild conversion of arylboronic acids and their pinacolyl boronate esters into phenols using hydroxylamine. *Tetrahedron Letters*. 2007, roč. 48, č. 15, s. 2713-2715.
60. ZHU, C., R. WANG a J.R. FALCK. Mild and Rapid Hydroxylation of Aryl/Heteroaryl Boronic Acids and Boronate Esters with N-Oxides. *Organic Letters*. 2012, roč. 14, č. 13, s. 3494-3497.
61. YANG, H., Y. LI, M. JIANG, J. WANG, et al. General Copper-Catalyzed Transformations of Functional Groups from Arylboronic Acids in Water. *Chemistry – A European Journal*. 2011, roč. 17, č. 20, s. 5652-5660.
62. INAMOTO, K., K. NOZAWA, M. YONEMOTO a Y. KONDO. Micellar system in copper-catalyzed hydroxylation of arylboronic acids: facile access to phenols. *Chemical Communications*. 2011, roč. 47, č. 42, s. 11775-11777.
63. XU, J., X. WANG, C. SHAO, D. SU, et al. Highly efficient synthesis of phenols by copper-catalyzed oxidative hydroxylation of arylboronic acids at room temperature in water. *Org Lett*. 2010, roč. 12, č. 9, s. 1964-7.
64. CHOWDHURY, A.D., S.M. MOBIN, S. MUKHERJEE, S. BHADURI, et al. [Pd(L)Cl<sub>2</sub>]-Catalyzed Selective Hydroxylation of Arylboronic Acids to Phenols. *European Journal of Inorganic Chemistry*. 2011, roč. 2011, č. 21, s. 3232-3239.
65. QI, H.-L., D.-S. CHEN, J.-S. YE a J.-M. HUANG. Electrochemical Technique and Copper-Promoted Transformations: Selective Hydroxylation and Amination of Arylboronic Acids. *The Journal of Organic Chemistry*. 2013, roč. 78, č. 15, s. 7482-7487.
66. HOSOI, K., Y. KURIYAMA, S. INAGI a T. FUCHIGAMI. Electrochemical hydroxylation of organoboron compounds. *Chemical Communications*. 2010, roč. 46, č. 8, s. 1284-1286.
67. PITRE, S.P., C.D. MCTIERNAN, H. ISMAILI a J.C. SCAIANO. Mechanistic Insights and Kinetic Analysis for the Oxidative Hydroxylation of Arylboronic Acids by Visible Light Photoredox Catalysis: A Metal-Free Alternative. *Journal of the American Chemical Society*. 2013, roč. 135, č. 36, s. 13286-13289.

68. ZOU, Y.-Q., J.-R. CHEN, X.-P. LIU, L.-Q. LU, et al. Highly Efficient Aerobic Oxidative Hydroxylation of Arylboronic Acids: Photoredox Catalysis Using Visible Light. *Angewandte Chemie International Edition*. 2012, roč. 51, č. 3, s. 784-788.
69. CAMMIDGE, A.N., V.H.M. GODDARD, C.P.J. SCHUBERT, H. GOPEE, et al. Unexpected Phenol Production from Arylboronic Acids under Palladium-Free Conditions; Organocatalyzed Air Oxidation. *Organic Letters*. 2011, roč. 13, č. 22, s. 6034-6037.
70. KOTOUCOVA, H., I. STRNADOVA, M. KOVANDOVA, J. CHUDOBA, et al. Biomimetic aerobic oxidative hydroxylation of arylboronic acids to phenols catalysed by a flavin derivative. *Organic & Biomolecular Chemistry*. 2014, roč. 12, č. 13, s. 2137-2142.
71. TASLER, S., J. MIES a M. LANG. Applicability Aspects of Transition Metal-Catalyzed Aromatic Amination Protocols in Medicinal Chemistry. *Advanced Synthesis & Catalysis*. 2007, roč. 349, č. 14-15, s. 2286-2300.
72. KIENLE, M., S. REDDY DUBBAKA, K. BRADE a P. KNOCHEL. Modern Amination Reactions. *European Journal of Organic Chemistry*. 2007, roč. 2007, č. 25, s. 4166-4176.
73. ULLMANN, F. a P. SPONAGEL. Ueber die Phenylirung von Phenolen. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. 1905, roč. 38, č. 2, s. 2211-2212.
74. GOLDBERG, I. Ueber Phenylirungen bei Gegenwart von Kupfer als Katalysator. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. 1906, roč. 39, č. 2, s. 1691-1692.
75. GURAM, A.S. a S.L. BUCHWALD. Palladium-Catalyzed Aromatic Aminations with in situ Generated Aminostannanes. *Journal of the American Chemical Society*. 1994, roč. 116, č. 17, s. 7901-7902.
76. PAUL, F., J. PATT a J.F. HARTWIG. Palladium-catalyzed formation of carbon-nitrogen bonds. Reaction intermediates and catalyst improvements in the hetero cross-coupling of aryl halides and tin amides. *Journal of the American Chemical Society*. 1994, roč. 116, č. 13, s. 5969-5970.
77. CHAN, D.M.T., K.L. MONACO, R.-P. WANG a M.P. WINTERS. New N- and O-arylations with phenylboronic acids and cupric acetate. *Tetrahedron Letters*. 1998, roč. 39, č. 19, s. 2933-2936.
78. LAM, P.Y.S., C.G. CLARK, S. SAUBERN, J. ADAMS, et al. New aryl/heteroaryl C-N bond cross-coupling reactions via arylboronic acid/cupric acetate arylation. *Tetrahedron Letters*. 1998, roč. 39, č. 19, s. 2941-2944.
79. KÖRNER, C., P. STARKOV a T.D. SHEPPARD. An Alternative Approach to Aldol Reactions: Gold-Catalyzed Formation of Boron Enolates from Alkynes. *Journal of the American Chemical Society*. 2010, roč. 132, č. 17, s. 5968-5969.
80. ZHANG, Z., Y. YU a L.S. LIEBESKIND. N-Amidation by Copper-Mediated Cross-Coupling of Organostannanes or Boronic Acids with O-Acetyl Hydroxamic Acids. *Organic Letters*. 2008, roč. 10, č. 14, s. 3005-3008.
81. MATSUDA, N., K. HIRANO, T. SATOH a M. MIURA. Copper-Catalyzed Amination of Arylboronates with N,N-Dialkylhydroxylamines. *Angewandte Chemie International Edition*. 2012, roč. 51, č. 15, s. 3642-3645.
82. JIANG, Z., Z. WU, L. WANG, D. WU, et al. Preparation of aromatic amines by copper-catalyzed coupling of boronic acids with aqueous ammonia. *Canadian Journal of Chemistry*. 2010, roč. 88, č. 9, s. 964-968.
83. OU, L., J. SHAO, G. ZHANG a Y. YU. Metal-free carbon-nitrogen bond-forming coupling reaction between arylboronic acids and organic azides. *Tetrahedron Letters*. 2011, roč. 52, č. 13, s. 1430-1431.
84. ZHU, C., G. LI, D.H. ESS, J.R. FALCK, et al. Elusive Metal-Free Primary Amination of Arylboronic Acids: Synthetic Studies and Mechanism by Density Functional Theory. *Journal of the American Chemical Society*. 2012, roč. 134, č. 44, s. 18253-18256.
85. VOTH, S., J.W. HOLLETT a J.A. MCCUBBIN. Transition-Metal-Free Access to Primary Anilines from Boronic Acids and a Common +NH<sub>2</sub> Equivalent. *The Journal of Organic Chemistry*. 2015, roč. 80, č. 5, s. 2545-2553.
86. MĚNOVÁ, P. *Study of Properties of Flavinium Salts and Their C4a-Adducts*. Prague, 2010. Diploma Thesis. Faculty of Chemical Technology, Department of Organic Chemistry.
87. KOTOUCOVÁ, H. *Stereoselektivní a chemoselektivní oxidace s využitím flavinových solí*. Praha, 2015. Disertační práce. VŠCHT, Ústav organické chemie.
88. ARMAREGO, W.L.F. *Purification of laboratory chemicals*. Vyd. 4. Oxford: Butterworth Heinemann, 1996, Purification of laboratory chemicals. ISBN
89. GOLDNER, H., G. DIETZ a E. CARSTENS. Neue Reaktionen mit Nitrosouracilderivaten, IV. Die Synthese von Alloxazinen und Alloxazin-5-N-oxiden. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*. 1966, roč. 694, č. 1, s. 142-148.

## 8 SEZNAM ZKRATEK

Bn-NH <sub>2</sub>	Benzylamin
Bn-NH-OH	<i>N</i> -benzylhydroxylamin
Bn-OH	Benzylalkohol
Bn-O-NH <sub>2</sub>	<i>O</i> -benzylhydroxylamin
BnSH	Benzylthiol
BOV	Badatelsky orientované vyučování
b.t.	bot tání
BuLi	Buthyllithium
BVMO	Baeyerova-Villigerova monooxygenasa
BVO	Baeyerova-Villigerova oxidace
CER	Chemistry Education Research (pedagogický výzkum se zaměřením na vzdělávání v chemii)
DCM	Dichlormethan
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	Dimethylsulfoxid
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová
EtOAc	Ethyl-acetát
FAD	Flavinadenindinukleotid
FMN	Flavinadeninmononukleotid
FMO	Flavinmonooxygenasa
HPLC	Vysokotlaká kaplinová chromatografie
HRMS	Vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie
HSA	2-amino-3-(1 <i>h</i> -imidazol-5-yl)propyl dihydrogen fosfát
CHMO	Cyklohexanon-monooxygenasa
MCPBA	<i>Meta</i> -chlorperbenzoová kyselina
MeCN	Acetonitril
NADH	Nikotinamidadenindinukleotid
NADPH	Nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NMR	Nukleární magnetická rezonance
NSES	National Research Council (USA) (Národní rada pro výzkum)
Nu <sup>-</sup>	nukleofil
OECD	Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj
Oxon®	Monopersulfátová sloučenina, KHSO <sub>5</sub> · ½ KHSO <sub>4</sub> · ½ K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
OYE	Old-yellow enzyme
RVO	Rotační vakuová odparka
RVP ZV	Rámcový vzdělávací program pro základní vzdělávání
THF	Tetrahydrofuran
TLC	Tenkvrstvá chromatografie
TPACK	Technological Pedagogical Content Knowledge (model integrace technologií do výuky)
UK PedF	Univerzita Karlova, Pedagogická fakulta
UV-VIS	Ultrafialovo-viditelná spektroskopie
VŠCHT	Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

## 9 PŘÍLOHY

### 9.1 TABULKY PŘÍDAVKŮ PRO UV-VIS TITRACI

Jednotlivé přídavky nukleofilů byly následující:

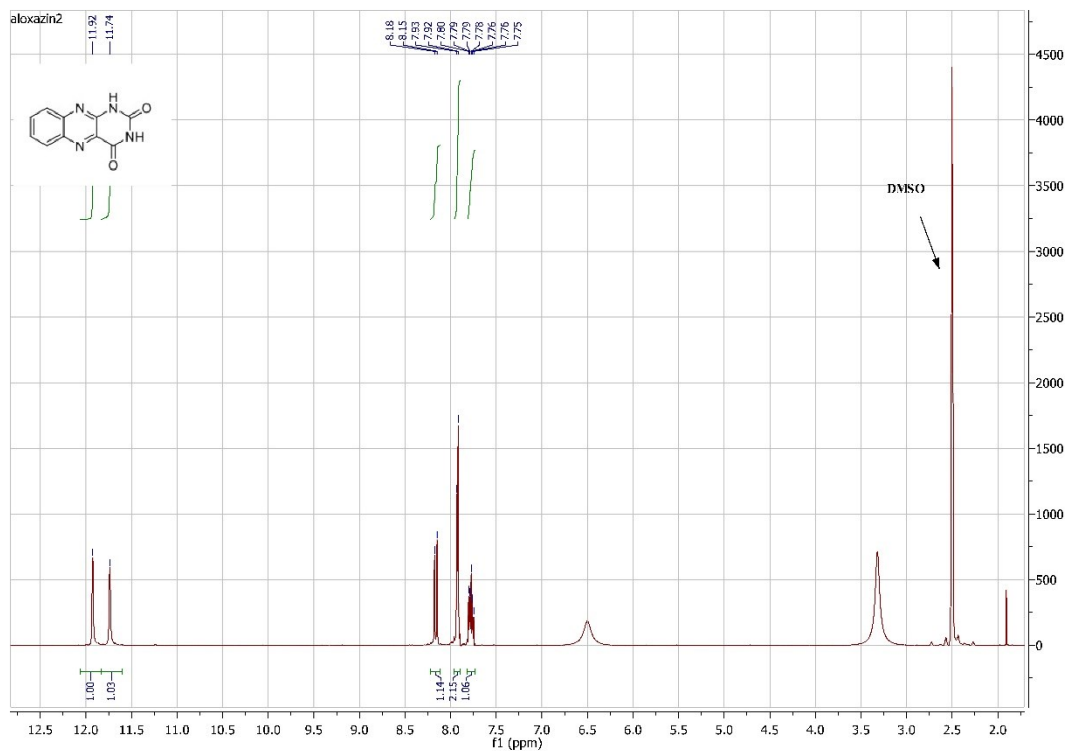
Kyveta	V (FI <sup>+</sup> 13) [μl]	V (Nu <sup>-</sup> ) [μl]	V (MeCN) [μl]	Poměr látkových množství (FI <sup>+</sup> 13 : Nu <sup>-</sup> )
1	0	0	2000	blank
2	40	0	1960	flavin
3	40	20	1940	1 : 0.1
4	40	40	1920	1 : 0.2
5	40	80	1880	1 : 0.4
6	40	160	1800	1 : 0.8
7	40	200	1760	1 : 1
8	40	400	1560	1 : 2
9	40	600	1360	1 : 3
10	40	800	1160	1 : 4
11	40	1200	760	1 : 6
12	40	1400	560	1 : 7
13	40	1600	360	1 : 8
14	40	2000	0	1 : 10

V případě *N*-benzylhydroxylaminu byla škála následující:

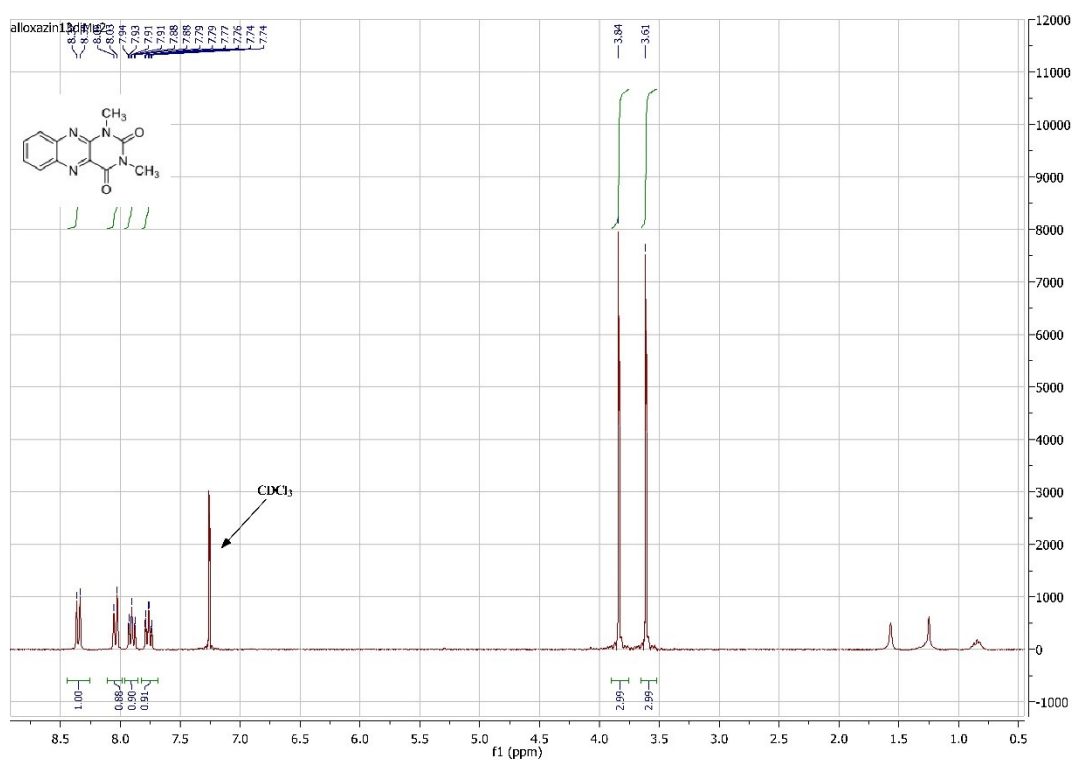
Kyveta	V (FI <sup>+</sup> 13) [μl]	V (Bn-NH-OH) [μl] c = 1 · 10 <sup>-3</sup> mol/l	V (MeCN) [μl]	Poměr látkových množství (FI <sup>+</sup> 13 : Nu <sup>-</sup> )
1	0	0	2000	blank
2	40	0	1960	flavin
3	40	20	1940	1 : 0.1
4	40	40	1920	1 : 0.2
5	40	80	1880	1 : 0.4
6	40	160	1800	1 : 0.8
7	40	200	1760	1 : 1
8	40	400	1560	1 : 2
9	40	600	1360	1 : 3
10	40	800	1160	1 : 4
11	40	1200	760	1 : 6
12	40	1400	560	1 : 7
13	40	1600	360	1 : 8

Kyveta	V (FI <sup>+</sup> 13) [μl]	V (Bn-NH-OH) [μl] c = 5 · 10 <sup>-1</sup> mol/l	V (MeCN) [μl]	Poměr látkových množství (FI <sup>+</sup> 13 : Nu <sup>-</sup> )
1	0	0	2000	blank
2	40	0	1960	flavin
3	40	4	1956	1 : 10
4	40	8	1952	1 : 20
5	40	12	1948	1 : 30
6	40	16	1944	1 : 40
7	40	20	1940	1 : 50
8	40	24	1936	1 : 60
9	40	28	1932	1 : 70
10	40	32	1928	1 : 80
11	40	36	1924	1 : 90
12	40	40	1920	1 : 100

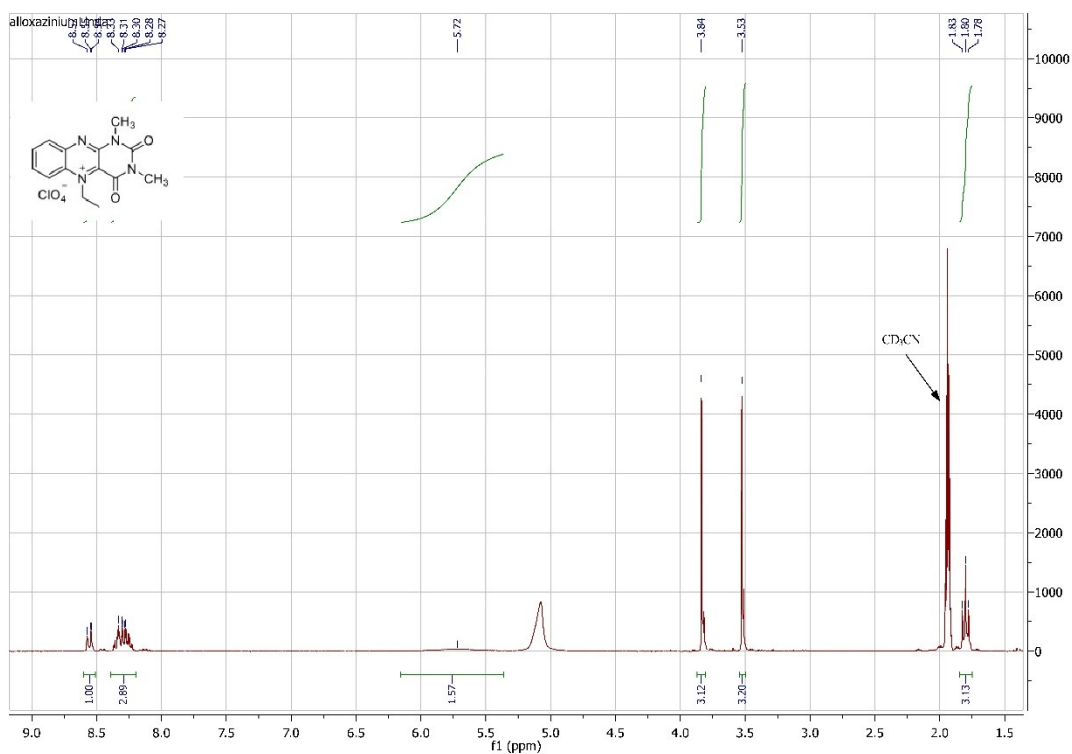
## 9.2 NMR SPEKTRA



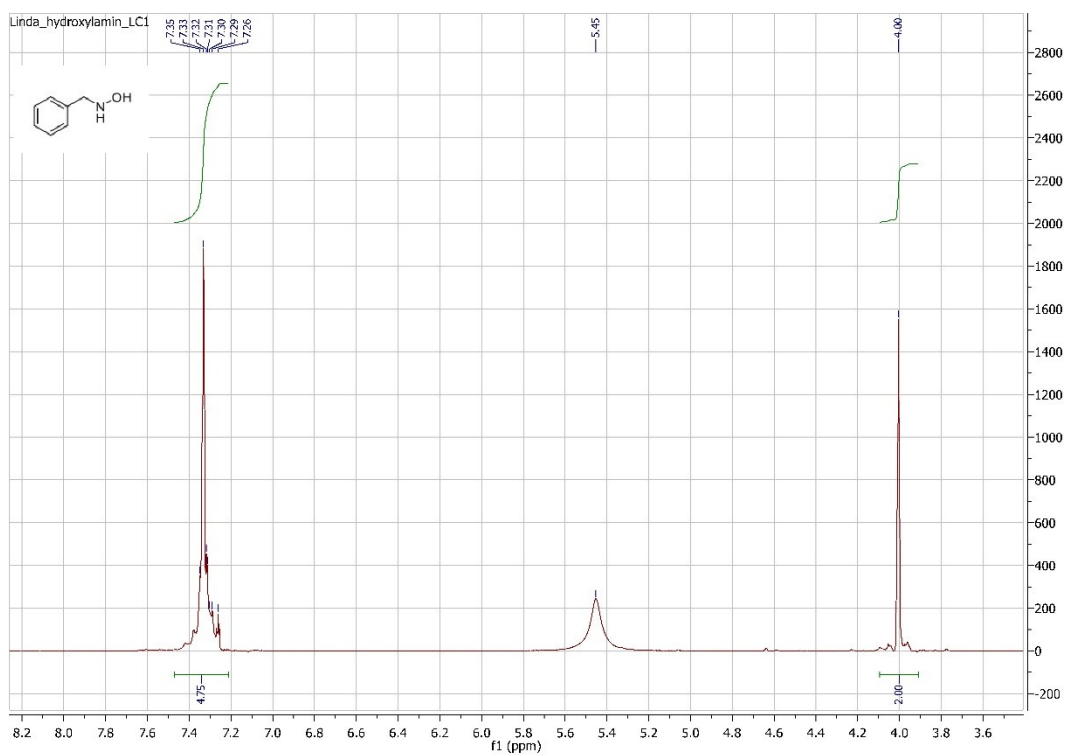
Obrázek 20: NMR spektrum látky 18



Obrázek 21: NMR spektrum látky 19



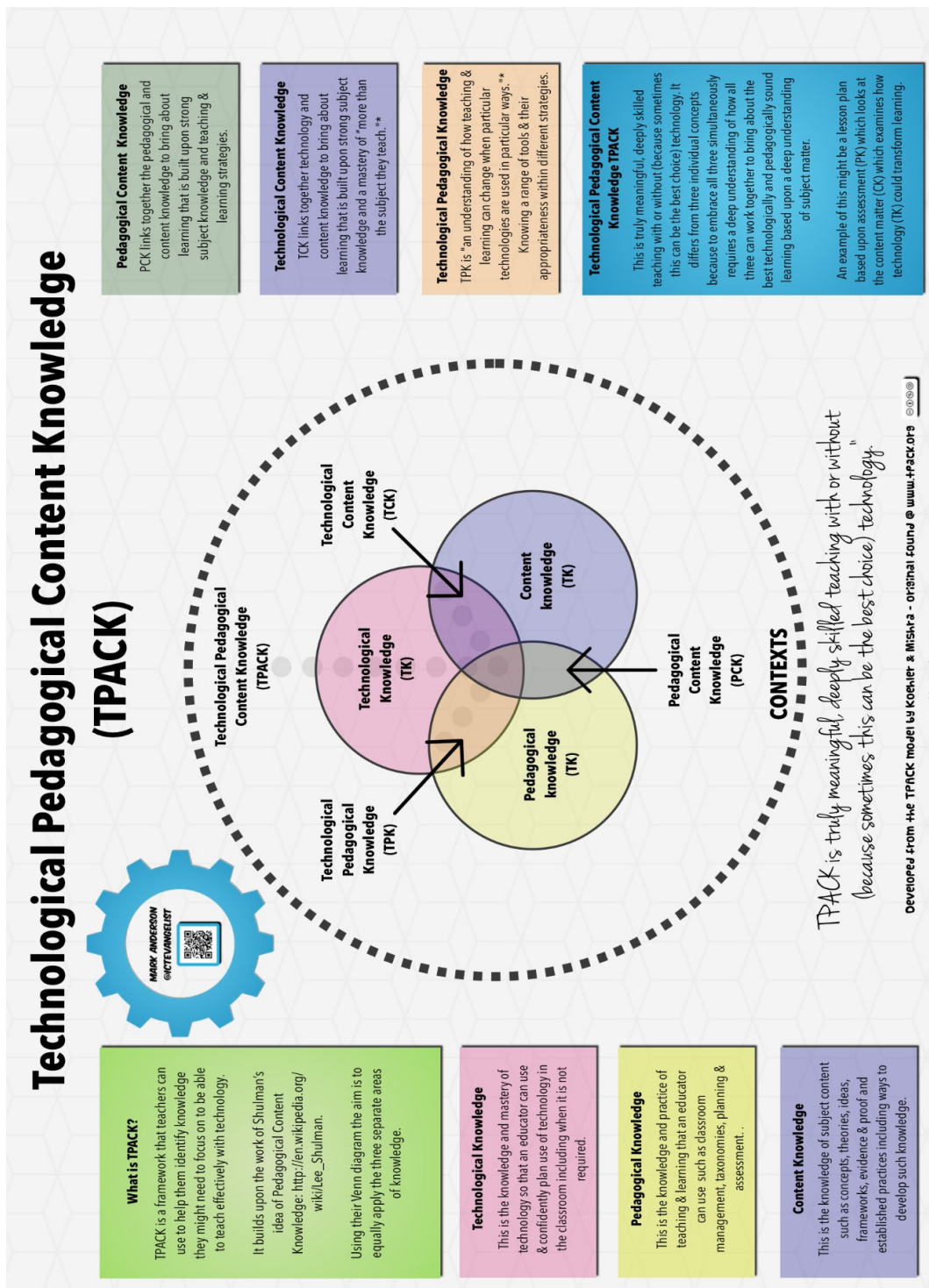
Obrázek 22: NMR spektrum látky 13



Obrázek 23: NMR spektrum látky 25

### 9.3 MODEL TECHNOLOGICAL PEDAGOGICAL CONTENT KNOWLEDGE

TPACK model vypracovali dva pedagogové Michiganské státní university, Punya Mishra a Matthew J. Koehler<sup>15</sup>. Vyšli z teorie profesora Lee S. Shulmana ze Stanfordské Univerzity, který v 80. letech 20. století formuloval potřebu pedagogicko-předmětových znalostí (Pedagogical Content Knowledge), a přidali k této Shulmanem definované odbornosti učitele třetí oblast, která mezitím získala na významu, totiž vliv technologií.



Obrázek 24: TPACK (zdroj: <https://ictevangelist.com/wp-content/uploads/2013/05/TPACK.png>)



**Univerzita Karlova v Praze, Pedagogická fakulta**

**M. Rettigové 4, 116 39 Praha 1**

**Evidenční list žadatelů o nahlédnutí do listinné podoby práce**

Jsem si vědom/a, že závěrečná práce je autorským dílem a že informace získané nahlédnutím do zveřejněné závěrečné práce nemohou být použity k výdělečným účelům, ani nemohou být vydávány za studijní, vědeckou nebo jinou tvůrčí činnost jiné osoby než autora.

Byl/a jsem seznámen/a se skutečností, že si mohu pořizovat výpisy, opisy nebo rozmnoženiny závěrečné práce, jsem však povinen/povinna s nimi nakládat jako s autorským dílem a zachovávat pravidla uvedená v předchozím odstavci tohoto prohlášení.

Poř. č.	Datum	Jméno a příjmení	Adresa trvalého bydliště	Podpis
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				
11.				
12.				
13.				
14.				
15.				