

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA ORGANICKÉ A BIOORGANICKÉ CHEMIE



**Strukturní analýza alkaloidů pomocí NMR
spektroskopie**

**Alcaloids: Structural analysis employing NMR
spectroscopy**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Bc. Veronika Mizerová

HRADEC KRÁLOVÉ, 2018

Poděkování

Ráda bych zde poděkovala vedoucímu diplomové práce doc. PharmDr. Jiřímu Kunešovi, CSc. za jeho cenné rady a čas, který mi věnoval při řešení dané problematiky. Dále Mgr. Janě Maříkové za její trpělivost a obětavou pomoc.

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

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

V Hradci Králové dne 1. 1. 2018

Veronika Mizerová

Abstrakt:

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra organické a bioorganické chemie

Kandidát: Veronika Mizerová

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

Název diplomové práce: Strukturní analýza alkaloidů pomocí NMR spektroskopie

Klíčová slova: NMR spektroskopie, analýza spekter, alkaloidy

Tato práce se věnuje problematice zjišťování struktury neznámých látek pomocí nukleární magnetické rezonance. V teoretické části obecně shrnuje popis rostlin, z nichž byly látky izolovány. V tomto případě šlo o alkaloidy, které byly izolovány na katedře farmaceutické botaniky a ekologie z rostlin *Papaver rhoeas* z čeledi *Papaveraceae* a *Narcissus cv. PROFESSOR EINSTEIN* z čeledi *Amaryllidaceae*. V experimentální části se zabývá nukleární magnetickou rezonancí a NMR experimenty, které byly využity ke zjištění struktur neznámých látek (^1H NMR, ^{13}C NMR, gHSQC, gHMBC, gCOSY a NOESY). V poslední části práce shrnuje výsledky experimentů.

Abstract:

Charles University in Prague

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Organic And Bioorganic Chemistry

Candidate: Veronika Mizerová

Supervisor: doc. PharmDr. Jiří Kuneš, CSc.

Title of Thesis: Alkaloids: Structural analysis employing NMR spectroscopy

Keywords: NMR spectroscopy, analysis of spectrum, alkaloids

This diploma thesis is devoted to the problematics of the structure detecting of unknown substances via nuclear magnetic resonance. In the theoretical part the thesis generally summarizes the characteristics of the plants, which were the substances isolated from. This case concerns alkaloids, that were isolated at the Department of Pharmaceutical Botany and Ecology from the plants called *Papaver Rhoeas* from the family of *Papaveraceae* and *Narcissus cv. PROFESSOR EINSTEIN* from the family of *Amaryllidaceae*. In the experimental part the thesis deals with the nuclear magnetic resonance and NMR experiments, which had been used for the structure detecting of unknown substances (^1H NMR, ^{13}C NMR, gHSQC, gHMBC, gCOSY a NOESY). In the last part the thesis summarizes the results of the experiments.

Obsah

1. Úvod.....	- 7 -
1.2 <i>Papaver rhoeas</i>	- 7 -
1.2.1 Obsahové látky <i>Papaver rhoeas</i>	- 8 -
1.3 <i>Narcissus cv. PROFESSOR EINSTEIN</i>	- 13 -
1.3.1 Obsahové látky <i>Narcissus cv. PROFESSOR EINSTEIN</i>	- 14 -
2 Cíl práce	- 20 -
3 Experimentální část.....	- 21 -
3.1 Nukleární magnetická rezonance	- 21 -
3.2 Přístrojové vybavení	- 24 -
4 Výsledky s komentářem.....	- 25 -
4.1 NPE-26-2.....	- 25 -
4.2 PR-20-27-3-5-2.....	- 32 -
4.3 NPE.....	- 40 -
5 Závěr	- 49 -
6 Citovaná literatura.....	- 50 -
7 Přílohy.....	- 53 -
7.1 NMR spektra sloučeniny NPE-26-2.....	- 53 -
7.2 NMR spektra sloučeniny PR-20-27-3-5-2.....	- 60 -
7.3 NMR spektra sloučeniny NPE.....	- 66 -

1. Úvod

1.2 *Papaver rhoeas*

Mák vlčí neboli *Papaver rhoeas* z čeledi *Papaveraceae*, je jednoletá rostlina měřící 20-90 cm s hustě štětinatou a jemně větvenou lodyhou, ronící ze všech částí bílé mléko. Spodní listy jsou řapíkaté a horní přisedlé, v obrysu podlouhlé. Květy vyrůstají na dlouhých, štětinatých stopkách se sytě červenými korunními lístky (vzácně bílými), které mají při bázi tmavě fialovou až černou skvrnu, viz obrázek 1. Tyčinky jsou nitkovité a fialovočerné. Plodem je 1-2 cm dlouhá vejcovitá tobolka, která po dozrání zdřevnatí. Semena jsou asi 1 mm velká, modrošedá, ledvinového tvaru se síťovitou strukturou. Na jedné rostlině dozraje zhruba 10 000-20 000 semen. Hojně se vyskytuje na polích, rumišťích, úhorech a okrajích komunikací. Roste na kyselých až mírně bazických půdách v nižších polohách a doba kvetení je od května do srpna, ojediněle i později. Mák vlčí je rozšířen po celé Evropě, hojně se vyskytuje i v Malé Asii a severní Africe (1), (2), (3).

Čeleď *Papaveraceae* – makovité čítá celkem 26 rodů s 420 druhy. Na našem území rostou 4 rody a přes 10 druhů. Dříve se k makovitým řadili i zástupci čeledi *Fumariaceae*, ale u všech zemědělmovitých se zjistila přítomnost kyseliny fumarové, kterou makovité neobsahují. Máky se pěstují jednak pro okrasné účely, ale své využití mají i v lékařství. V lidovém léčitelství byly využívány při léčbě zánětů, průjmů, poruch spánku či kašle (4). Okvětní lístky a látky v nich obsažené se využívají pro jejich tišící účinky, předávkování však může způsobit nepříjemné otravy. Extrakty z vlčího máku mají schopnost potlačovat abstinenci příznaky a způsobit znečítlivění. Mimo jiné se vlčímu máku připisují účinky sedativní a narkotické. Všichni zástupci čeledi *Papaveraceae* obsahují isochinolinové alkaloidy. *Papaver rhoeas* obsahuje isochinolinové alkaloidy papaverrubinového typu, přičemž hlavním alkaloidem je rhoeadin, (2), (3), (5). Lékopisnou rostlinnou drogou je *Flores rhoeados* a *Sirupus rhoeados* (6).

Obrázek 1 - Papaver rhoeas



*Květ vlčího máku
Zdroj: převzato z (1)*

1.2.1 Obsahové látky *Papaver rhoeas*

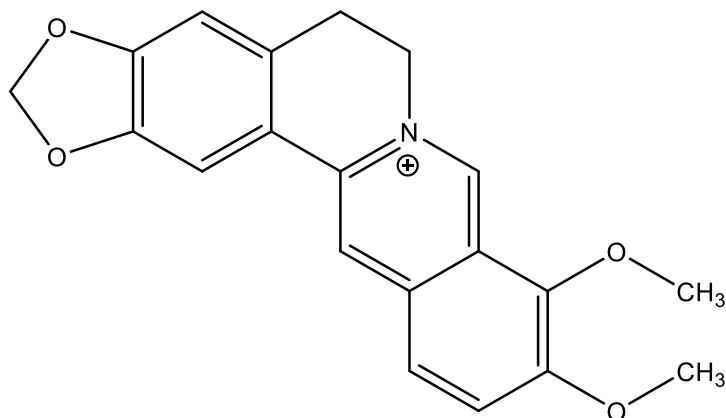
Okvětní lístky obsahují anthokyaniny, což jsou flavonoidy dávající máku jeho typickou červenou barvu. V malém množství obsahují i alkaloidy (0,07 %) (7). Ty lze na základě jejich struktury rozdělit do strukturních skupin. Mezi izochinolinové alkaloidy obsažené ve vlčím máku patří například: typ protoberberinový, proaporfínový, aporfínový, ftalidisochinolinový, protopinový a typ rhoeadinový (4). Alkaloidy z máku vlčího lze využít jako léčivé přípravky při poruchách srdečního rytmu u dospělých, dále u některých neurologicky podmíněných chorob (například nespavost) u dospělých i u dětí. V neposlední řadě lze alkaloidy z *Papaver rhoeas* použít při léčbě kašle; hojně jsou části rostlin přidávány do čajových směsí (7).

1. Protoberberinové alkaloidy

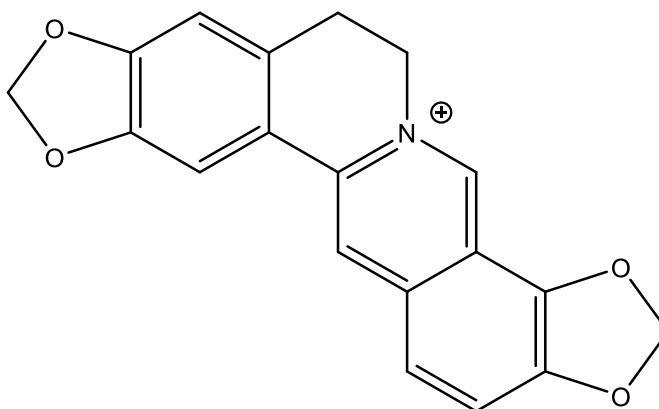
Prekurzorem protoberberinových alkaloidů je L-tyrosin (4). Protoberberinové alkaloidy tvoří tetrahydroberberinový základ, nebo se mohou vyskytovat jako kvarterní amoniové soli (8). Mezi tuto skupinu se řadí například: berberin, (–)-cheilanthifolin, koptisin, (–)-sinaktin, (–)-skulerin a (±)-stylopin (8). Tyto alkaloidy mají inhibiční vliv na viry a toxicky působí na

hmyz, bakterie a houby. Nejvýznamnější z nich je berberin, který má mimo jiné protizánětlivý účinek a stimuluje sekreci insulinu (4).

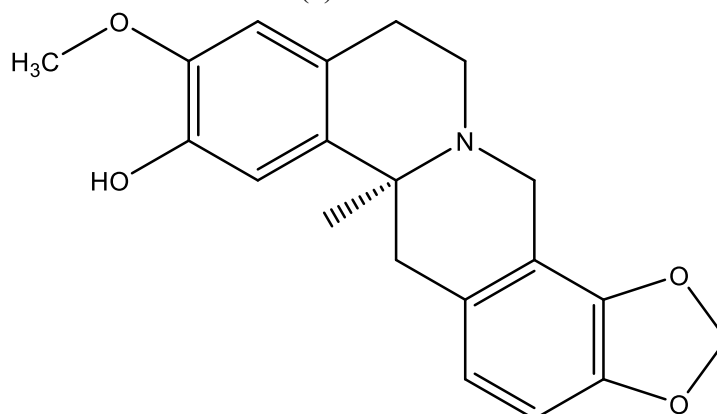
berberin



koptisin



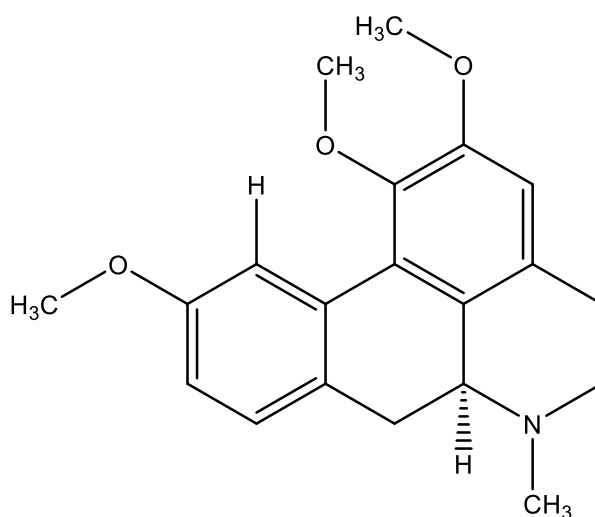
(-)-skulerin



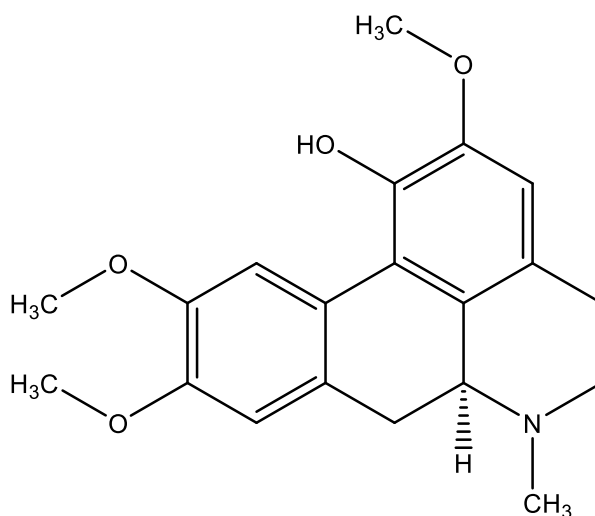
2. Aporfinové alkaloidy

Jedná se o velmi početnou skupinu isochinolinových alkaloidů, přičemž jich bylo izolováno více než 500 (9). Patří sem například dehydroroemerin, (+)-isokorydin, (+)-isoboldin, (+)-korytuberin, liriodenin, (+)-magnoflorin, (-)-N-methylasimilobin a (+)-roemerin (4). Ty to látky mají vliv na centrální nervovou soustavu, antagonizují adrenergní receptory a působí antiserotoninově. Působí též antioxidačně a protizánětlivě, čehož by se dalo využít při léčbě neurodegenerativních onemocnění (9). Dále působí cytotoxicky a antiagregačně; liriodenin má navíc antibakteriální účinky (4).

(+)-isokorydin



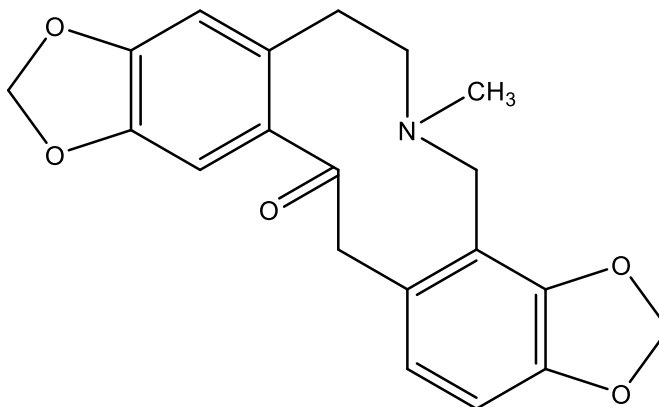
(+)-isoboldin



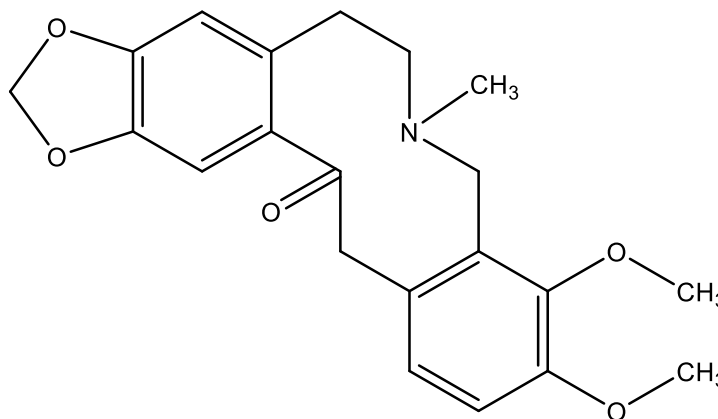
3. Protopinové alkaloidy

Prekurzorem protopinových alkaloidů jsou tetrahydroprotoberberiny, z nichž vznikají oxidací. Mezi tyto látky se řadí například protopin, allokryptopin, kryptopin a kulteropin (4). Protopin má antitrombotickou aktivitu a protizánětlivý účinek (10). Dále má pozitivní účinek na jaterní tkáň, působí antivirově a antibakteriálně (4).

protopin



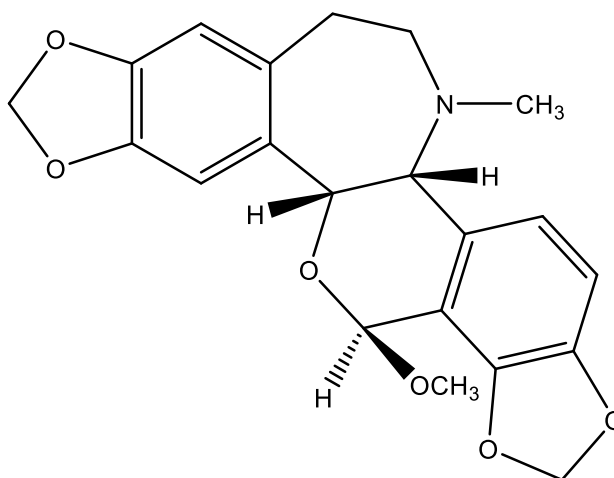
allokryptopin



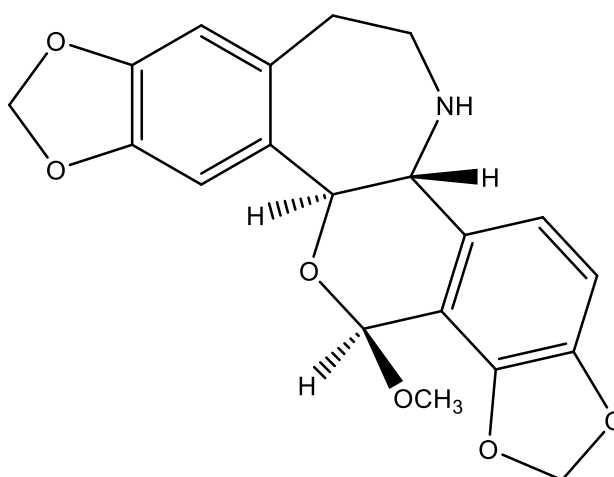
4. Rhoeadinové alkaloidy

Mezi rhoeadinové alkaloidy patří (+)-rhoeadin, který je z nich nejznámější. Má sedativní vlastnosti a pozitivně působí proti kašli (4). Jeho struktura byla poprvé rozluštěna na počátku šedesátých let minulého století profesorem Šantavým (11). Dále se mezi tyto alkaloidy mj. řadí papaverrubin, isorhoeadin a (+)-rhoeagenin (4).

rhoeadin



papaverrubin A



1.3 *Narcissus cv. PROFESSOR EINSTEIN*

Narcissus cv. PROFESSOR EINSTEIN z čeledi *Amaryllidaceae*, je vytrvalá bylina měřící přibližně 30-45 cm, která má přisedlé, čárkované listy se souběžnou žilnatinou. Tato rostlina má cibulovité kořeny. U tohoto kultivaru vyrůstají oboupohlavní květy ze stonku jednotlivě. Okvětní lístky vyrůstají v počtu šesti a mají bílou barvu, korunní jsou zbarveny do oranžova až do červena. Kvetou na jaře na přelomu března a dubna. Pro svou výjimečnou barvu jsou často využívány jako okrasné květiny (12), (13).

Čeď *Amaryllidaceae* – amarylkovité čítá zhruba 75 rodů a přibližně 1100 druhů. Mezi rody vyskytující se v České republice se například řadí sněženky, bledule a narcisy. Svůj původ mají v Africe a nejvíce rozšířené jsou v tropickém a subtropickém pásu. Tyto rostliny slouží nejen jako okrasné, ale mají významné lékařské využití. Už ve 4. století před naším letopočtem byl olej z narcisu použit pro léčbu rakoviny dělohy. Isochinolinové alkaloidy jsou obsaženy v různých částech rostliny, nejvíce však v cibulích. Účinky alkaloidů jsou antivirové, antibakteriální, antimykotické a protinádorové. V neposlední řadě mají schopnost inhibovat enzym acetylcholinesterázu, čehož lze využít při léčbě Alzheimerovi choroby, což je v dnešní době jedno z nejrozšířenějších neurodegenerativních onemocnění (12), (14).

Obrázek 2 - Narcissus cv. PROFESSOR EINSTEIN



*Květ Narcissus cv. PROFESSOR EINSTEIN
Zdroj: převzato z (13)*

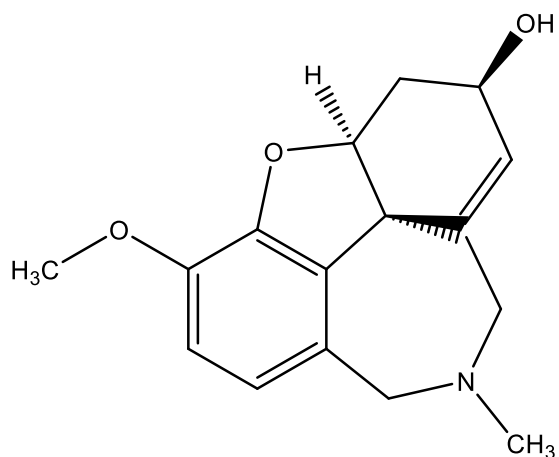
1.3.1 Obsahové látky *Narcissus cv. PROFESSOR EINSTEIN*

Mezi isochinolinové alkaloidy obsažené v *Narcissus cv. PROFESSOR EINSTEIN* řadíme tyto strukturní typy: galantaminový, haemanthaminový, homolykorinový, lykorinový a montaninový. Jedná se o sekundární metabolity a prekurzorem všech strukturních typů je norbelladin (12).

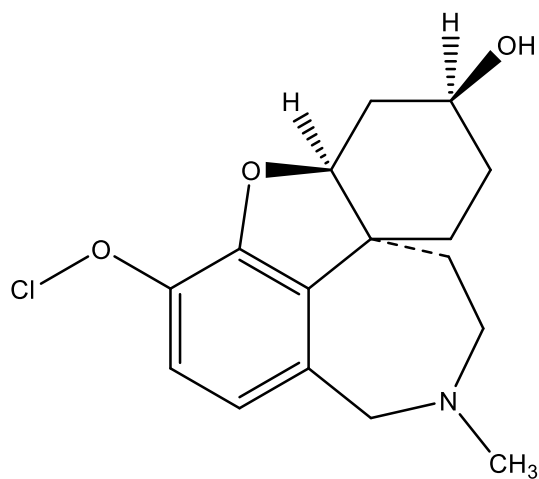
1. Galantaminové alkaloidy

Galantaminové alkaloidy mají schopnost inhibovat enzym acetylcholinesterázu, z tohoto důvodu se využívají například k léčbě Alzheimerovy choroby nebo myasthenia gravis. Lykoramin sice patří mezi galantaminové alkaloidy, ale tuto aktivitu nevykazuje (12).

galanthamin



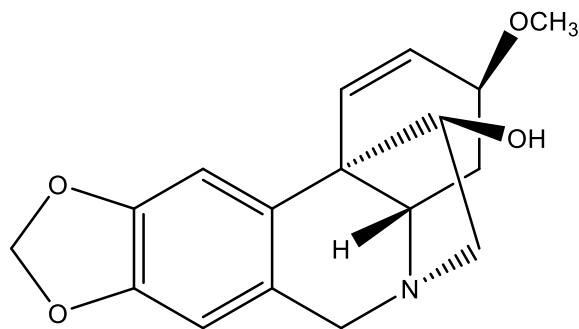
lykoramin



2. Haemanthaminové alkaloidy

Haemanthaminové alkaloidy mají protinádorové, antivirové a antimalarické účinky. Zástupcem této skupiny je haemanthamin (12).

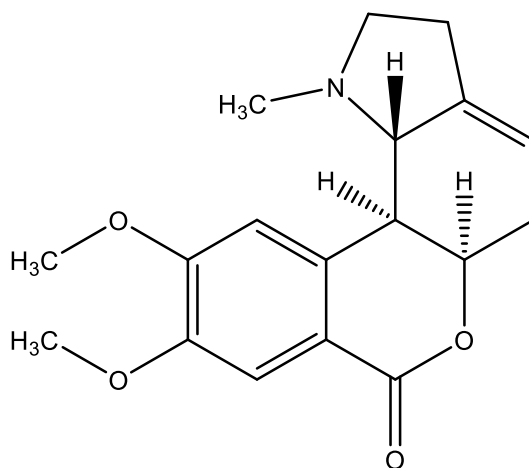
haemanthamin



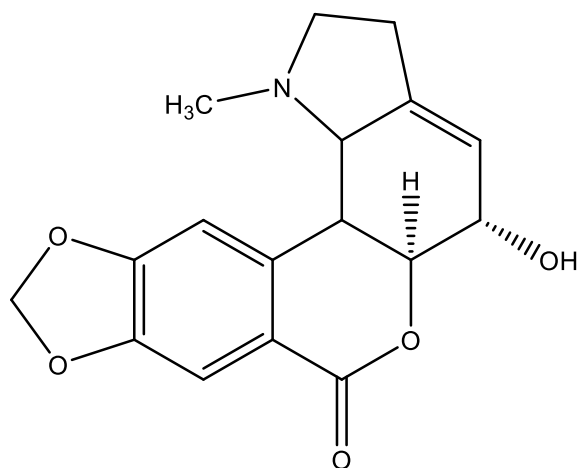
3. Homolykorinové alkaloidy

Tento typ alkaloidů nemá schopnost inhibovat acetylcholinesterázu. Ale naopak má antivirovou aktivitu. Do této skupiny řadíme mj. homolykorin, hippeastrin a 9-*O*-demethylhomolykorin (12), (15).

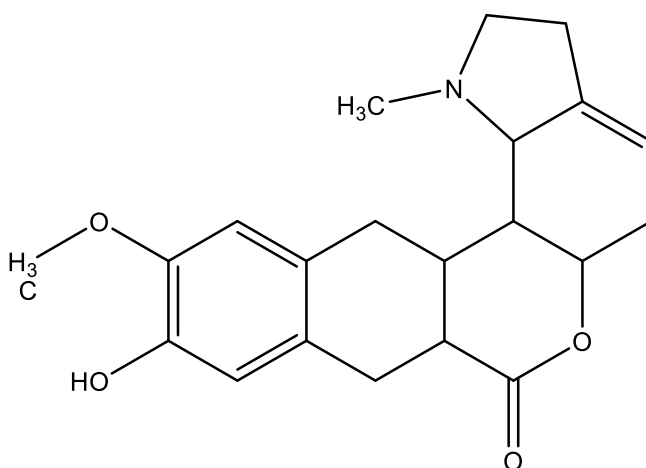
homolykorin



hippeastrin



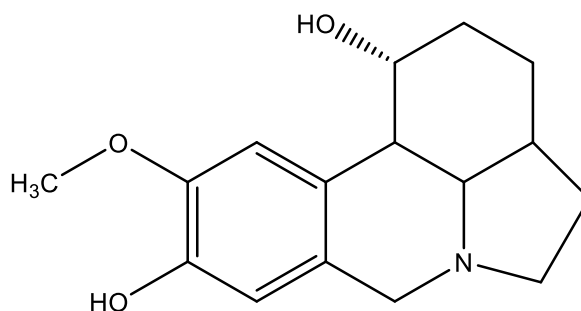
9-*O*-demethylhomolykorin



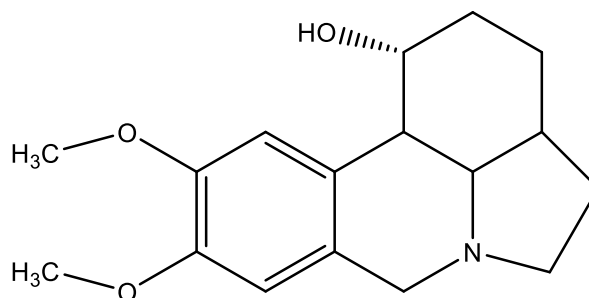
4. Lykorinové alkaloidy

Lykorin byl izolován již v roce 1877. Má významnou protinádorovou aktivitu a schopnost inhibovat enzym acetylcholinesterázu. Dalšími zástupci jsou například norpluviin, pluviin, 11, 12-didehydroanhydrolykorin a 9-*O*-methylpseudolykorin (12),

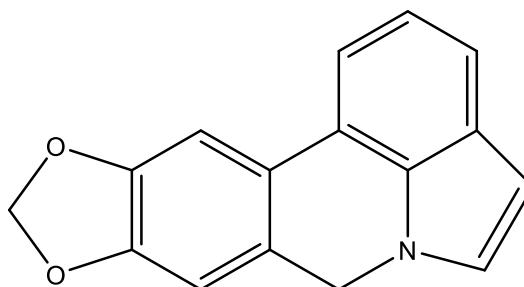
norpluviin



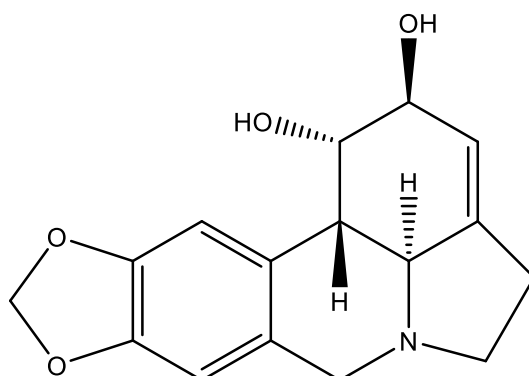
pluviin



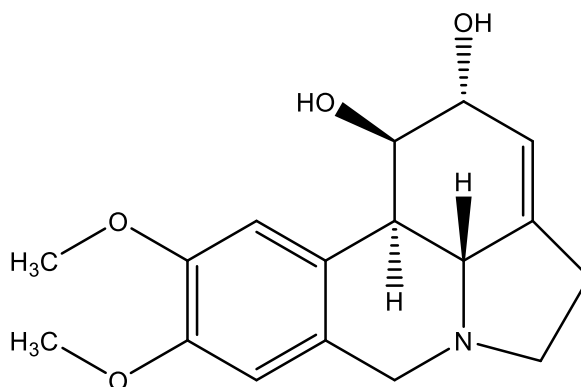
11, 12-didehydroanhydrolykorin



lykorin



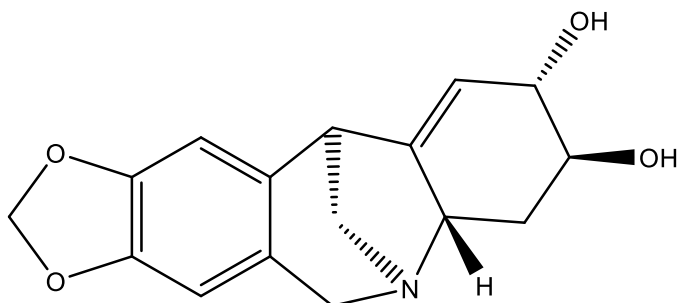
9-O-methylpseudolykorin



5. Montaninové alkaloidy

Mezi montaninové alkaloidy patří pankracin, ten má antimikrobiální aktivitu (14).

pankracín



2 Cíl práce

Cílem této práce je určení struktury alkaloidů izolovaných z rostlin *Papaver rhoeas* z čeledi *Papaveraceae* a *Narcissus cv. PROFESSOR EINSTEIN* z čeledi *Amaryllidaceae*, pomocí nukleární magnetické rezonance. Jedná se o vzorky s kódovým označením NPE- 26-2, PR-20-27-3-5-2 a NPE, pod tímto označením jsou v této práci popisovány.

3 Experimentální část

3.1 Nukleární magnetická rezonance

Jde o analytickou metodu využívající působení elektromagnetického záření na látky v magnetickém poli. Slouží k určování struktury organických látek a jejich prostorového uspořádání. Lze získat informace o nízkomolekulárních i vysokomolekulárních látkách obsahujících jádra s nenulovým spinem (16), (17).

Jádro má vlastní vnitřní moment hybnosti (tzv. spin), který je dán součtem spinů všech částic jádra. Jádro neustále rotuje kolem vlastní osy. Jelikož má elektrický náboj, vytváří kolem sebe magnetické pole s vlastním magnetickým momentem. V případě, že se jádro ocitne ve vnějším magnetickém poli, zaujme určitou polohu vůči tomuto poli. Pro ^1H a ^{13}C jsou možné pouze dvě orientace (spinový stav α a β). Přičemž spinový stav α je stav o nižší energii. Když na vzorek působí elektromagnetické záření, dojde k excitaci na spinový stav β . Jedná se o rezonanční frekvenci a mechanismus, kterým dochází k excitaci, se nazývá magnetická rezonance. Následnou deexcitaci poté měříme (16), (17), (18).

^1H NMR spektra

^1H NMR spektroskopie je jeden ze základních experimentů sloužící k určení struktury látek. Jednodimenzionální ^1H NMR spektrum je charakterizováno počtem a intenzitou signálů, chemickým posunem a štěpením signálů. Počet signálů ve spektru odpovídá počtu neekvivalentních vodíkových atomů ve vzorku. Intenzita signálů se stanovuje pomocí jejich integrace a poměr velikostí integrálů (ploch pod křivkou), vyjadřuje počet vodíkových atomů daného signálu. Chemický posun (poloha signálu) vypovídá o chemickém okolí daného jádra. Abychom mohli vyjádřit hodnotu chemického posunu, používáme k tomu δ -stupnici. Jednotky jsou bezrozměrné a značíme je ppm (pars per milion). Sousední vodíkové atomy se navzájem ovlivňují, dochází k tzv. spin-spinové interakci (coupling). Ve spektru se projeví rozštěpením na $n+1$ píků (splitting), v závislosti na okolí daného atomu. Neštěpený signál se nazývá singlet (s). Dublet (d) vzniká tehdy, pokud s měřeným jádrem interaguje jedno jádro, získáme tím dva ekvivalentní signály o stejné intenzitě. Pokud s jádrem reagují dvě jádra, štěpení bude odpovídat tripletu (t) a získáme tím tři signály s poměrem intenzit 1:2:1 (ekvidistantní). V případě tří jader získáme kvartet (q), tedy čtyři signály s poměrem intenzit 1:3:3:1. Pokud dochází k dalšímu štěpení, mluvíme o

multipletech (m). Interakční konstanta J , udávána v Hz charakterizuje míru štěpení (8), (16), (17).

^{13}C NMR spektra

Jednodimenzionální ^{13}C NMR spektroskopie je umožněna díky izotopu ^{13}C , ten je zastoupen pouze v 1,1 %. Počet signálů ve spektru odpovídá počtu uhlíkových atomů v daném vzorku. Oproti 1H NMR spektrům nabývá chemický posun vyšších hodnot. Princip je však stejný a chemický posun je ovlivněn chemickým okolím uhlíkového atomu. Výrazný rozdíl je ve štěpení signálů, které je nežádoucí. K odstraňování se využívá tzv. širokopásmového heteronukleárního decouplingu. Získáme tím spektrum s neštěpenými signály, kde každý z nich odpovídá jednomu uhlíkovému atomu (16), (8), (18).

Mezi nejběžnější dvoudimenzionální NMR experimenty patří heterokorelované (gHSQC, gHMBC) a homokorelované (gCOSY, NOESY) experimenty.

gHSQC spektra

Tento experiment zobrazuje přímé korelace mezi atomy vodíku a jimi náležícími uhlíkovými atomy (8).

gHMBC experiment

Experiment gHMBC zobrazuje korelace mezi atomy vodíku a uhlíku na vzdálenost tří vazeb. Pokud je korelace slabší, může se jednat o vzdálenost mezi atomy přes dvě, nebo přes čtyři vazby. Intenzita korelace závisí na určitých faktorech, například na substituentech na okolních atomech; významná je přítomnost heteroatomů. Dále na hybridizaci a vazebných úhlech (8).

gCOSY

Dvoudimenzionální gCOSY experiment zobrazuje korelace vodíků. Diagonální píky náleží původnímu 1D 1H NMR spektru. Ostatní píky popisují korelace přes tři vazby mezi vodíky na sousedních uhlíkových atomech (8).

NOESY

Tento experiment zobrazuje prostorové korelace atomů vodíku. Diagonální píky náleží původnímu 1D 1H NMR spektru, stejně jako u COSY experimentu. Mimodiagonální píky

3. Experimentální část

zobrazují interakce mezi vodíkovými jádry, na maximální vzdálenost 5 Å, což nám může pomoci řešit prostorovou orientaci dané sloučeniny (8).

3.2 Přístrojové vybavení

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

NMR experimenty byly provedeny na přístroji VNMR S500 (^1H , ^{13}C , gHSQC, gHMBC, gCOSY a NOESY experimenty). Spektra těchto vzorků byla měřena v roztocích CDCl_3 , nebo CD_2Cl_2 při teplotě 25°C . Chemické posuny byly naměřeny jako hodnoty δ (v bezrozměrných jednotkách pars per milion (ppm)) a byly nepřímo vztaženy k tetramethylsilanu (TMS) jako standardu pomocí zbytkového signálu rozpouštědla. Hodnoty chemických posunů jsou pro CDCl_3 u atomů vodíku ^1H $\delta = 7.26$ ppm a u atomů uhlíku ^{13}C $\delta = 77.0$ ppm. Pro CD_2Cl_2 je posun atomů vodíku ^1H $\delta = 5.32$ ppm a atomů uhlíku ^{13}C $\delta = 54.0$ ppm.

4 Výsledky s komentářem

4.1 NPE-26-2

Neznámá látka s kódovým označením NPE-26-2 byla izolována z rostliny *Narcissus cv. PROFESSOR EINSTEIN* náležící do čeledi *Narcissus*.

V ^1H NMR spektru se nachází dvanáct signálů, přičemž devět z nich je v alifatické oblasti. Signál s chemickým posunem $\delta = 2.00$ ppm náleží methylové skupině a velikost integrálu odpovídá třem atomům vodíku. Signál s chemickým posunem $\delta = 2.26$ ppm náleží jednomu vodíkovému atomu. Dále zde můžeme pozorovat signál s chemickým posunem $\delta = 2.53\text{--}2.47$ ppm, jehož velikost integrálu odpovídá dvěma atomům vodíku a má charakter multipletu. Signál s chemickým posunem $\delta = 2.62\text{--}2.58$ ppm má charakter multipletu a náleží dvě vodíkovým atomům. Signál s chemickým posunem $\delta = 2.66$ ppm náleží jednomu vodíkovému atomu. Signál s chemickým posunem $\delta = 2.76\text{--}2.70$ ppm má charakter multipletu a odpovídá jednomu vodíkovému atomu. Signál s chemickým posunem $\delta = 3.17\text{--}3.12$ ppm má charakter multipletu a velikost integrálu odpovídá jednomu vodíkovému atomu. Signál s chemickým posunem $\delta = 3.94$ ppm náleží methoxy skupině. Signál s chemickým posunem $\delta = 4.79\text{--}4.76$ ppm náleží jednomu vodíkovému atomu. Na rozhraní mezi alifatickou a aromatickou oblastí se nachází signál s chemickým posunem $\delta = 5.52\text{--}5.48$ ppm.

V aromatické oblasti můžeme najít dva singlety, odpovídající dvěma atomům vodíku s chemickými posuny $\delta = 6.98$ ppm a $\delta = 7.59$ ppm. Jedná se o vodíkové atomy v *para* poloze.

V ^{13}C NMR spektru se nachází sedmnáct signálů, z toho v alifatické oblasti jich je osm a v aromatické oblasti devět. Signály s chemickými posuny $\delta = 27.9$ ppm, $\delta = 31.2$ ppm, $\delta = 43.7$ ppm, $\delta = 44.0$ ppm, $\delta = 56.3$ ppm, $\delta = 56.5$ ppm, $\delta = 66.5$ ppm a $\delta = 77.5$ ppm náleží alifatickým uhlíkům. V aromatické oblasti jsou signály s chemickými posuny $\delta = 110.3$ ppm, $\delta = 115.4$ ppm, $\delta = 116.0$ ppm, $\delta = 117.6$ ppm, $\delta = 136.7$ ppm, $\delta = 140.6$ ppm, $\delta = 145.6$ ppm a $\delta = 150.8$ ppm. Signál s chemickým posunem $\delta = 165.6$ je typický pro karbonylový uhlíkový atom.

Neznámá sloučenina má molekulovou hmotnost $M_r = 301$. Z vodíkového a uhlíkového spektra lze vyčíst předpokládaný sumární vzorec. Po součtu molárních hmotností osmnácti vodíků a sedmnácti uhlíků je $M_r = 222$. Rozdíl molárních hmotností je $M_r = 79$, což

4. Výsledky s komentářem

odpovídá jednomu dusíkovému, čtyřem kyslíkovým a jednomu vodíkovému atomu. Vodíkový atom nemá signál ve spektru, což znamená, že je vázaný na heteroatom. Sumární vzorec neznámé sloučeniny je tedy $C_{17}H_{19}NO_4$.

Pomocí gHSQC experimentu jsem dle korelací přiřadila k uhlíkovým atomům jim náležící vodíkové atomy, viz tabulka.

Tabulka 1 – gHSQC – NPE-26-2

C [ppm]	H [ppm]
27.9	2.53-2.47
31.2	2.62-2.58
43.7	2.00
44.0	2.66
56.3	3.94
56.5	2.26, 3.17-3.12
66.5	2.76-2.70
77.5	4.75-4.76
110.3	6.98
115.4	5.52-5.48
116.0	7.59

Celkem šest uhlíků je kvarterních, ty nemají korelace v gHSQC experimentu a jejich chemické posuny jsou: $\delta = 117.6$ ppm, $\delta = 136.7$ ppm, $\delta = 140.6$ ppm, $\delta = 145.6$ ppm, $\delta = 150.8$ ppm a $\delta = 165.6$ ppm.

Doposud známé informace o struktuře uvádí tabulka 2.

Tabulka 2 – Známé informace- NPE-26-2

C [ppm]	H [ppm]	Známé informace
27.9	2.53-2.47	Methylenová skupina
31.2	2.62-2.58	Methylenová skupina
43.7	2.00	Methylová skupina navázána na heteroatom
44.0	2.66	Terciární atom uhlíku
56.3	3.94	Methoxy skupina

4. Výsledky s komentářem

56.5	2.26, 3.17-3.12	Methylenová skupina
66.5	2.76-2.70	Terciární uhlíkový atom odstíněný heteroatomem
77.5	4.75-4.76	Terciární atom uhlíku
110.3	6.98	Terciární atom uhlíku - v <i>para</i> poloze benzenového jádra
115.4	5.52-5.48	Atom uhlíku s dvojnou vazbou a jedním atomem vodíku
116.0	7.59	Terciární atom uhlíku - v <i>para</i> poloze benzenového jádra
117.6		Kvarterní atom uhlíku benzenového jádra
136.7		Kvarterní atom uhlíku benzenového jádra
140.6		Atom uhlíku s dvojnou vazbou
145.6		Atom uhlíku na benzenovém jádře odstíněný heteroatomem
150.8		Atom uhlíku na benzenovém jádře odstíněný heteroatomem
165.6		Karbonylový uhlíkový atom
		Jeden atom N, čtyři atomy O a jeden atom H vázaný na heteroatom

Z experimentu gHMBC jsem určila korelace vodíkových atomů na uhlíkové.

Tabulka 3 – Korelace v experimentu gHMBC – NPE-26-2

	Korelace přes tři vazby	Korelace přes dvě vazby	Korelace přes čtyři vazby
H [ppm]	C [ppm]	C [ppm]	C [ppm]
2.00	56.5, 65.5		
2.26	43.7	27.9	
2.53-2.47	66.5		
2.62-2.58			
2.66		66.5	
2.76-2.70	136.7		110.3, 117.6
3.17-3.12	66.5, 140.6		
3.94	150.8		
4.79-4.76			
5.52-5.48			
6.98	44.0, 117.6, 145.6		

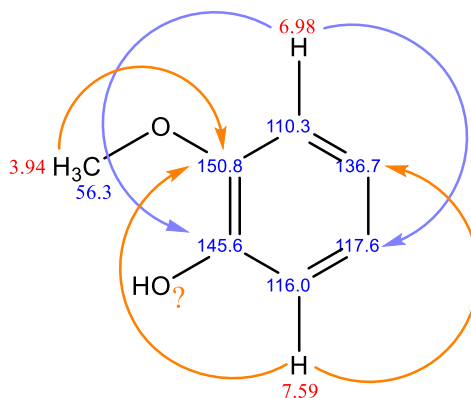
4. Výsledky s komentářem

7.59	136.7, 150.8, 165.6		
------	---------------------	--	--

V gHMBC experimentu jsem začala strukturu určovat od aromatické oblasti, a to od uhlíkových atomů s vodíky v *para* poloze benzenového jádra. Jsou to atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 110.3$ ppm a $\delta = 116.0$ ppm na něž jsou navázány atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 6.98$ ppm a $\delta = 7.59$ ppm.

Vodík s chemickým posunem $\delta = 3.94$ ppm, který náleží methoxy skupině a vodík s chemickým posunem $\delta = 7.59$ ppm mají korelaci přes tři vazby na uhlíkový atom s chemickým posunem $\delta = 150.8$ ppm. Vodík $\delta = 6.98$ ppm má korelaci přes tři vazby na uhlík s chemickým posunem $\delta = 145.6$ ppm. Vodík s $\delta = 7.59$ ppm má korelaci přes 3 vazby na uhlík s $\delta = 136.7$ ppm. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 6.98$ ppm má korelaci na uhlíkový atom s chemickým posunem $\delta = 117.6$ ppm. První část struktury je znázorněna na obrázku 3.

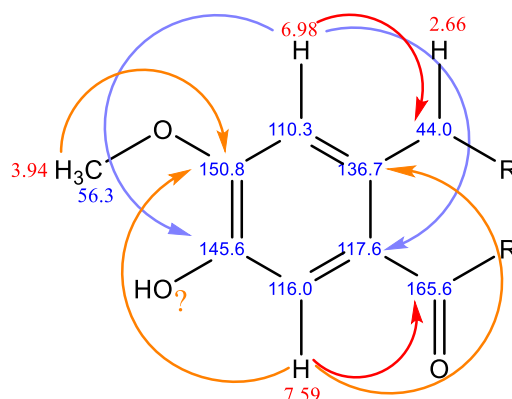
Obrázek 3



Dále jsem z gHMBC experimentu zjistila, že vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 7.59$ ppm má korelaci přes tři vazby na uhlíkový atom s $\delta = 165.6$ ppm. Jedná se o karbonylový uhlíkový atom.

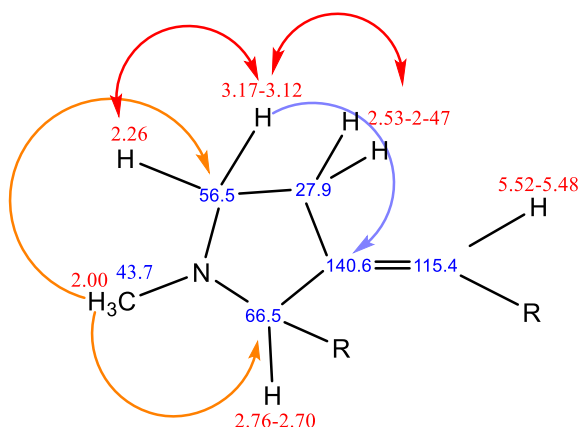
V alifatické oblasti má vodík s chemickým posunem $\delta = 6.98$ ppm korelaci přes tři vazby na uhlíkový atom s chemickým posunem $\delta = 44.0$ ppm, viz obrázek 4.

Obrázek 4



Dále jsem pokračovala s určováním neznáme struktury od dusíkového atomu s navázanou methylovou skupinou. Uhlíkový atom methylové skupiny má chemický posun $\delta = 43.7$ ppm. Vodík s chemickým posunem $\delta = 2.00$ ppm náležící methylové skupině, vázané na atom dusíku, má korelaci přes tři vazby na uhlík s chemickým posunem $\delta = 66.5$ ppm a na uhlík $\delta = 56.5$ ppm. A vodík s $\delta = 3.17-3.12$ ppm má korelaci přes tři vazby na uhlíkový atom $\delta = 140.6$ ppm. Z experimentu gCOSY vyplývá, že vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 3.17-3.12$ ppm má korelaci na vodíkové atomy s chemickými posuny $\delta = 2.26$ ppm a $\delta = 2.53-2.47$ ppm. Další fragment struktury je zobrazen na obrázku 5.

Obrázek 5

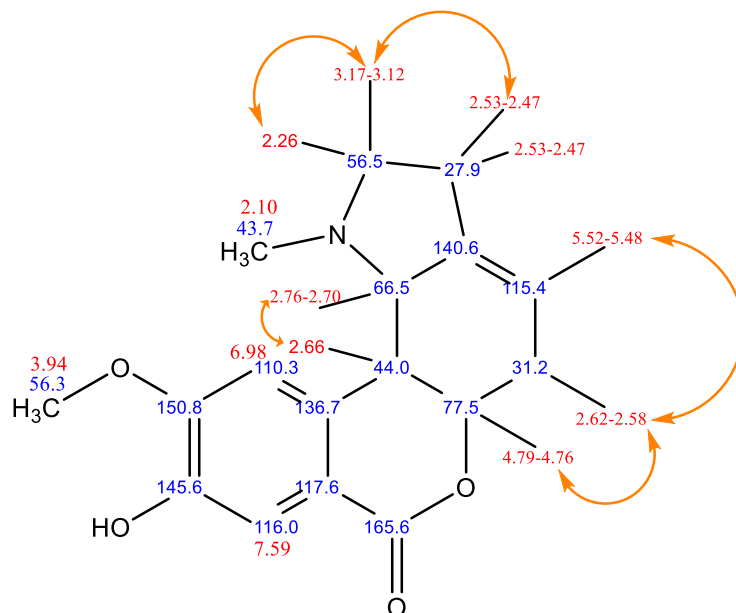


Vodík s chemickým posunem $\delta = 2.76-2.70$ ppm má korelaci na vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 2.66$ ppm náležící uhlíkovému atomu s chemickým posunem $\delta = 44.0$ ppm. Vodík s chemickým posunem $\delta = 5.52-5.48$ ppm má korelaci na vodík

4. Výsledky s komentářem

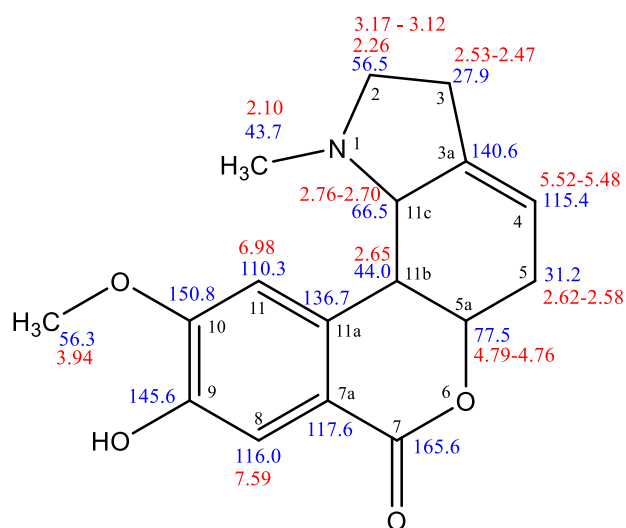
s chemickým posunem $\delta = 2.62\text{-}2.58$ ppm. Vodík s chemickým posunem $\delta = 4.79\text{-}4.76$ ppm má korelaci na vodík s $\delta = 2.62\text{-}2.58$ ppm., viz obrázek 6.

Obrázek 6



Celá neznámá struktura s kódovým označením NPE-26-2 se sumárním vzorcem $C_{17}H_{19}NO_4$ je zobrazena na obrázku 7. Jedná se o alkaloid s názvem 9-O-demethylhomolykorin (19).

Obrázek 7



¹H NMR (500MHz, CDCl₃): δ 7.59 (1H, s, H8), 6.98 (1H, s, H11), 5.52-5.48 (1H, m, H4), 4.79-4.76 (1H, m, H5a), 3.94 (3H, s, OCH₃), 3.17-3.12 (1H, m, H2), 2.76-2.70 (1H, m, H11c), 2.66 (1H, d, J=9.7 Hz, J=2.1 Hz, H11b), 2.62-2.58 (2H, m, H5), 2.53-2.47 (2H, m, H3), 2.26 (1H, q, J= 9.5 Hz, H2), 2.00 (3H, s, NCH₃).

¹³C NMR (125MHz, CDCl₃): δ 165.6 (C7), 150.8 (C10), 145.6 (C9), 140.6 (C3a), 136.7 (C11a), 117.6 (C7a), 116.0 (C8), 115.4 (C4), 110.3 (C11), 77.5 (C5a), 66.5 (C11c), 56.5 (C2), 56.3 (OCH₃), 44.0 (C11b), 43.7 (NCH₃), 31.2 (C5), 27.9 (C3).

4.2 PR-20-27-3-5-2

Neznámá látka s kódovým označením PR-20-27-3-5-2 byla izolována z rostliny *Papaver rhoeas* z čeledi *Papaveraceae*.

V ^1H NMR spektru se nachází celkem patnáct signálů, přičemž jedenáct z nich je v alifatické oblasti. Signál s chemickým posunem $\delta = 2.23$ ppm náleží methylové skupině. Dále zde můžeme najít signál s chemickým posunem $\delta = 2.34\text{--}2.27$ ppm, z velikosti integrálu vyplývá, že odpovídá jednomu vodíkovému atomu. Signály s chemickým posunem $\delta = 3.25\text{--}3.14$ ppm a $\delta = 3.45\text{--}3.37$ ppm mají charakter multiplétů. Signál s chemickým posunem $\delta = 3.67$ ppm náleží methoxy skupině. Signály s chemickými posuny $\delta = 4.05$ ppm a $\delta = 5.17$ ppm odpovídají štěpením dubletům. Na rozhraní mezi alifatickou a aromatickou oblastí se nachází signál s chemickým posunem $\delta = 5.75$ ppm, má charakter singletu a náleží jednomu vodíkovému atomu. Dále se zde nachází signál s chemickým posunem $\delta = 5.93$ ppm, který odpovídá dvěma vodíkovým atomům. Signály s chemickými posuny $\delta = 5.97$ ppm a $\delta = 6.07$ ppm náleží každý jednomu vodíkovému atomu.

V aromatické oblasti můžeme najít čtyři signály, odpovídající dvěma vodíkům na benzenovém kruhu s charakterem singletů a s chemickými posuny $\delta = 6.64$ ppm a $\delta = 7.28$ ppm. Jedná se tedy o vodíkové atomy v *para* poloze benzenového jádra. A dále dva signály s chemickými posuny $\delta = 6.82$ ppm a $\delta = 7.01$ ppm, které mají charakter dubletů a leží v *ortho* poloze druhého benzenového jádra.

V ^{13}C NMR spektru se nachází dvacet jedna signálů, z toho v alifatické oblasti jich je devět a v aromatické oblasti dvanáct. Signály s chemickými posuny $\delta = 31.5$ ppm, $\delta = 33.8$ ppm, $\delta = 55.1$ ppm, $\delta = 55.3$ ppm, $\delta = 62.1$ ppm, $\delta = 69.9$ ppm, $\delta = 98.2$ ppm, $\delta = 100.8$ ppm a $\delta = 101.3$ ppm náleží alifatickým uhlíkům.

V aromatické oblasti jsou signály s chemickými posuny $\delta = 105.5$ ppm, $\delta = 109.2$ ppm, $\delta = 109.8$ ppm, $\delta = 119.1$ ppm, $\delta = 122.2$ ppm, $\delta = 131.2$ ppm, $\delta = 132.5$ ppm, $\delta = 135.8$ ppm, $\delta = 143.0$ ppm, $\delta = 145.8$ ppm, $\delta = 145.9$ ppm a $\delta = 146.3$ ppm.

Vzorek má molekulovou hmotnost $M_r = 383$. Po součtu molárních hmotností dvaceti jedna atomů vodíku a dvaceti jedna atomů uhlíku je $M_r = 273$. Rozdíl molárních hmotností je $M_r = 110$, což odpovídá jednomu dusíkovému a šesti kyslíkovým atomům. Sumární vzorec neznámé sloučeniny je tedy $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{NO}_6$.

4. Výsledky s komentářem

Pomocí gHSQC experimentu jsem dle korelací přiřadila k uhlíkovým atomům jim náležící vodíkové atomy, viz tabulka 4.

Tabulka 4 – gHSQC- PR-20-27-3-5-2

C [ppm]	H [ppm]
31.5	2.34-2.27, 3.45-3.37
33.8	2.23
55.1	3.25-3.14
55.3	3.67
62.1	4.05
69.9	5.17
98.2	5.75
100.8	5.93
101.3	6.07, 5.97
105.5	7.28
109.2	6.82
109.8	6.64
122.2	7.01

Celkem sedm uhlíků je kvarterních, ty nemají korelace v gHSQC experimentu a jejich chemické posuny jsou: $\delta = 119.1$ ppm, $\delta = 131.2$ ppm, $\delta = 132.5$ ppm, $\delta = 143.0$ ppm, $\delta = 145.8$ ppm, $\delta = 145.9$ ppm a $\delta = 146.3$ ppm.

Doposud známé informace o struktuře uvádí tabulka 5.

Tabulka 5 – Známé informace - PR-20-27-3-5-2

C [ppm]	H [ppm]	Známé informace
31.5	2.34-2.27, 3.45-3.37	Methylenová skupina
33.8	2.23	Methylová skupina navázána na heteroatom
55.1	3.25-3.14	Methylenová skupina
55.3	3.67	Methoxy skupina
62.1	4.05	Terciární uhlíkový atom odstíněný heteroatomem
69.9	5.17	Terciární uhlíkový atom odstíněný heteroatomem

4. Výsledky s komentářem

98.2	5.75	Terciární uhlíkový atom odstíněný heteroatomem
100.8	5.93	Uhlíkový atom dioxolanového kruhu
101.3	6.07, 5.97	Uhlíkový atom dioxolanového kruhu
105.5	7.28	Terciární atom uhlíku- v <i>para</i> poloze benzenového jádra
109.2	6.82	Terciární atom uhlíku- v <i>ortho</i> poloze benzenového jádra
109.8	6.64	Terciární atom uhlíku- v <i>para</i> poloze benzenového jádra
119.1	7.01	Kvarterní atom uhlíku benzenového jádra
122.2		Terciární atom uhlíku- v <i>ortho</i> poloze benzenového jádra
131.2		Kvarterní atom uhlíku benzenového jádra
132.5		Kvarterní atom uhlíku benzenového jádra
135.8		Kvarterní atom uhlíku benzenového jádra
143.0		Kvarterní atom uhlíku benzenového jádra odstíněný heteroatomem
145.8		Kvarterní atom uhlíku benzenového jádra odstíněný heteroatomem
145.9		Kvarterní atom uhlíku benzenového jádra odstíněný heteroatomem
146.3		Kvarterní atom uhlíku benzenového jádra odstíněný heteroatomem
		Jeden atom N a šest atomů O.

Z experimentu gHMBC jsem určila korelace vodíkových atomů na uhlíkové.

Tabulka 6 - korelace v experimentu gHMBC - PR-20-27-3-5-2

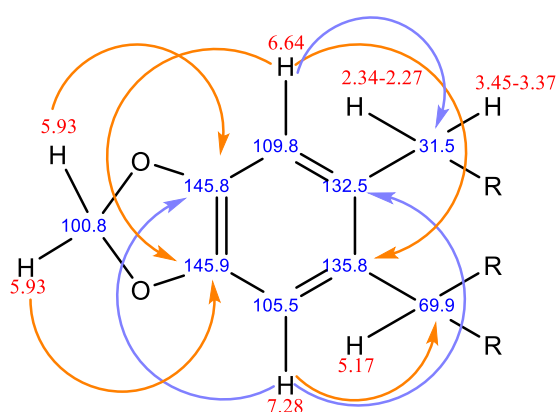
	Korelace přes tři vazby	Korelace přes dvě vazby	Korelace přes čtyři vazby
H [ppm]	C [ppm]	C [ppm]	C [ppm]
2.23	55.1, 62.1		
2.34-2.27	135.8,	132.5	
3.25-14	132.5,	31.5	
3.45-3.37		132.5	
3.67	98.2		
4.05	33.8, 119.1, 122.2	69.9, 131.2	105.5, 109.2

4. Výsledky s komentářem

5.17	98.2, 105.5		109.8
5.75	55.3, 69.9, 131.2, 143.0		
5.93	145.8, 145.9		
5.97	146.3		
6.07	146.3		
6.64	31.5, 135.8, 145.9		
6.82	131.2, 143.0	146.3	62.1
7.01	119.1, 146.3	109.2	
7.28	69.9, 132.5, 145.8		

V gHMBC experimentu jsem začala strukturu určovat od aromatické oblasti, a to od uhlíkových atomů dioxolanového kruhu. Atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 100.8$ ppm má navázány dva atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 5.93$ ppm. Atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 5.93$ ppm má korelaci přes tři vazby na uhlíky s chemickými posuny $\delta = 145.9$ ppm a $\delta = 145.8$ ppm. Vodík s chemickým posunem $\delta = 7.28$ ppm má korelaci přes tři vazby na atomy uhlíku a chemickými posuny $\delta = 145.8$ ppm, $\delta = 132.5$ ppm a $\delta = 69.9$ ppm. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.64$ ppm má korelaci přes tři vazby na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 145.9$ ppm, $\delta = 135.8$ ppm a $\delta = 31.5$ ppm. První část struktury je znázorněna na obrázku 8.

Obrázek 8

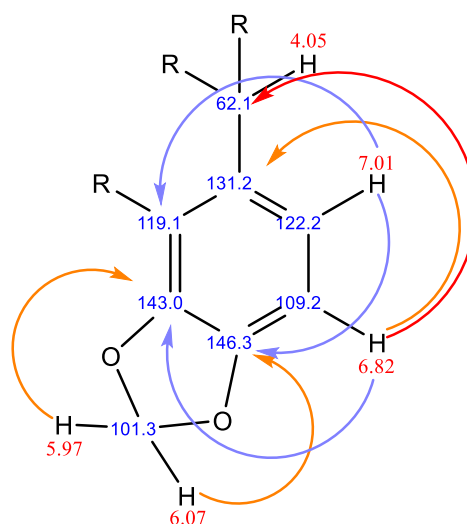


Další část struktury jsem začala určovat od druhého dioxolanového kruhu. Atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 101.3$ ppm má navázány dva atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.07$ ppm a $\delta = 5.97$ ppm. Atomy vodíku s chemickým posunem $\delta = 6.07$ ppm a $\delta = 5.97$ ppm má korelace přes tři vazby na uhlíky s chemickými posuny $\delta = 146.3$ ppm a

$\delta = 143.0$ ppm. Vodík s chemickým posunem $\delta = 6.82$ ppm má korelaci přes tři vazby na atomy uhlíku a chemickými posuny $\delta = 131.2$ ppm a $\delta = 143.0$ ppm. Tentýž vodík s chemickým posunem $\delta = 6.82$ ppm má korelaci přes dvě vazby na uhlík s chemickým posunem $\delta = 146.3$ ppm a slabou korelaci přes čtyři vazby na uhlík s chemickým posunem $\delta = 62.1$ ppm.

Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 7.01$ ppm má korelaci přes tři vazby na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 119.1$ ppm a $\delta = 146.3$ ppm, a přes dvě vazby na uhlíkový atom s chemickým posunem $\delta = 109.2$ ppm. Další část struktury je znázorněna na obrázku 9.

Obrázek 9

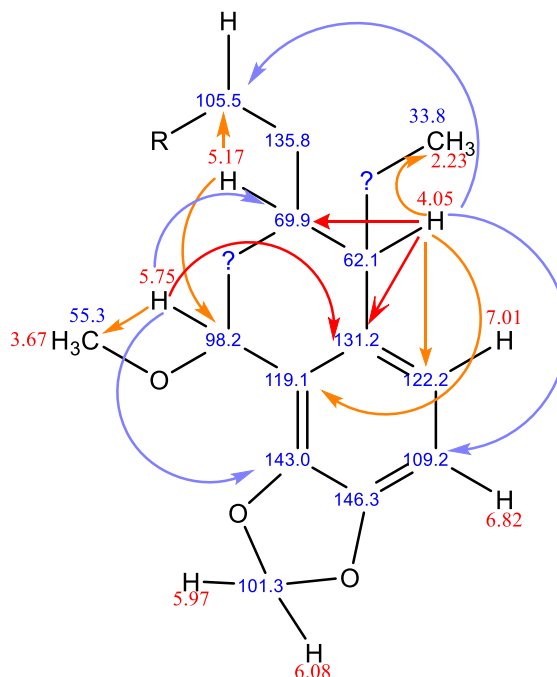


Dále jsem pokračovala atomem uhlíku s chemickým posunem $\delta = 62.1$ ppm, který má navázán atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 4.05$ ppm. Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 4.05$ ppm má korelaci přes tři vazby na uhlíky s chemickými posuny $\delta = 33.8$ ppm, $\delta = 119.1$ ppm a $\delta = 122.2$ ppm. Dále má korelace pře dvě vazby na uhlíkové atomy s chemickými posuny $\delta = 69.9$ ppm a $\delta = 131.2$ ppm a přes čtyři vazby na uhlíky s $\delta = 105.5$ ppm a $\delta = 109.2$ ppm.

Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 5.17$ ppm, který náleží uhlíkovému atomu chemickým posunem $\delta = 69.9$ ppm., má korelaci přes tři vazby na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 98.2$ ppm a $\delta = 105.5$ ppm. A přes čtyři vazby má korelaci na uhlíkový atom s chemickým posunem $\delta = 109.8$ ppm.

Atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 5.75$ ppm má korelaci přes tři vazby na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 55.3$ ppm, $\delta = 69.9$, $\delta = 131.2$ ppm a $\delta = 143.0$ ppm. Přičemž atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 55.3$ ppm je vázán přes atom kyslíku, jedná se o methoxy skupinu, viz obrázek 10.

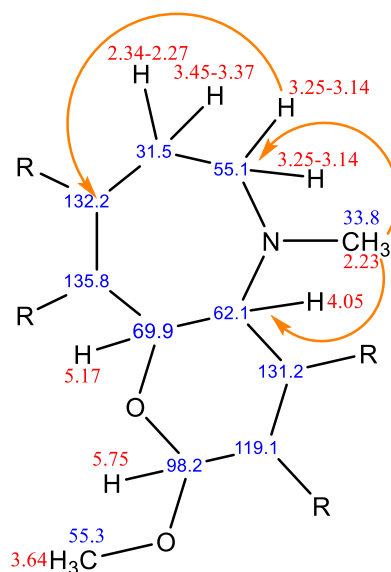
Obrázek 10



Poslední část struktury jsem určila pomocí korelací vodíkových atomů uhlíkové skupiny s chemickým posunem $\delta = 2.23$, ty mají korelaci přes tři vazby na uhlíky s $\delta = 55.1$ ppm a $\delta = 62.1$ ppm. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 3.25$ - 3.14 ppm má korelaci přes tři vazby na uhlík s $\delta = 132.2$ ppm.

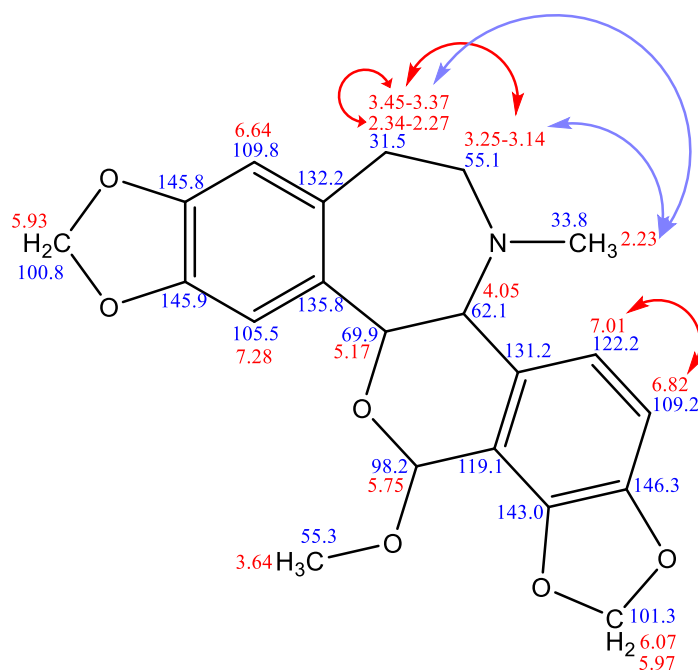
Ještě zbývá určit polohu jednoho kyslíkového a jednoho dusíkového atomu. Vzhledem hodnotě chemického posunu uhlíkového atomu $\delta = 33.8$ ppm, bude tato methylová skupina navázána na dusíkový atom. A zbývající kyslíkový atom bude v sousedství s uhlíkovými atomy s chemickými posuny $\delta = 98.2$ ppm a $\delta = 69.9$ ppm, viz obrázek 11.

Obrázek 11



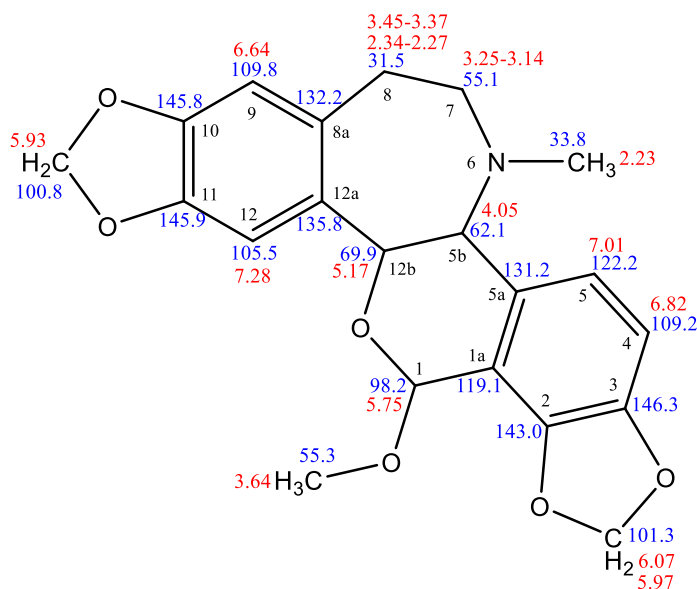
Pomocí experimentu gCOSY a NOESY jsem si ověřila vzájemnou polohu atomů. V experimentu gCOSY mají vodíkové atomy s chemickým posunem $\delta = 6.82$ ppm korelaci na vodíkové atomy s chemickým posunem $\delta = 7.01$ ppm. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 3.45\text{-}3.37$ ppm sousedí s vodíky s chemickým posunem $\delta = 3.25\text{-}3.14$ ppm. V experimentu NOESY mají vodíkové atomy s chemickým posunem $\delta = 2.23$ ppm korelaci na vodíkové atomy s chemickým posunem $\delta = 3.25\text{-}3.14$ ppm a $\delta = 3.45\text{-}3.37$ ppm viz obrázek 12.

Obrázek 12



Celá struktura s kódovým označením PR-20-27-3-5-2 je zobrazena na obrázku 13. Jedná se o alkaloid se sumárním vzorcem $C_{21}H_{21}NO_6$ a s chemickým názvem rhoeadin (20).

Obrázek 13



^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ : 7.28 (1H, s, H12), 7.01 (1H, d, $J=8.1\text{Hz}$, H5), 6.82 (1H, d, $J=8.1\text{Hz}$, H4), 6.64 (1H, s, H9), 6.07 (1H, d, $J=1.0\text{Hz}$, OCH₂O), 5.97 (1H, d, $J=1.0\text{Hz}$, OCH₂O), 5.93 (2H, s, OCH₂O), 5.75 (1H, s, H1), 5.17 (1H, d, $J=9.2\text{Hz}$, H12b), 4.05 (1H, d, $J=9.2\text{Hz}$, H5b), 3.67 (3H, s, OCH₃), 3.45-3.37 (1H, m, H8), 3.25-3.14 (2H, m, H7), 2.34-2.27 (1H, m, H8), 2.23 (3H, s, NCH₃).

^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ : 146.3 (C3), 145.9 (C11), 145.8 (C10), 143.0 (C2), 135.8 (C12a), 132.5 (C8a), 131.2 (C5a), 122.2 (C5), 119.1 (C1a), 109.8 (C9), 109.2 (C4), 105.5 (C12), 101.3 (OCH₂O), 100.8 (OCH₂O), 98.2 (C1), 69.9 (C12b), 62.1 (C5b), 55.3 (OCH₃), 55.1 (C7), 33.8 (NCH₃), 31.5 (C8).

4.3 NPE

Neznámá látka s kódovým označením NPE byla izolována z rostliny *Narcissus cv. PROFESSOR EINSTEI*, náležící do čeledi *Narcissus*.

V ^1H NMR spektru se nachází třináct signálů, přičemž deset z nich je v alifatické oblasti. Signály s chemickými posuny $\delta = 2.30$ ppm a $\delta = 2.39\text{-}2.33$ ppm náleží vždy jednomu atomu vodíku. Dále zde můžeme najít signál s chemickým posunem $\delta = 2.65\text{-}2.50$ ppm, jehož velikost signálu odpovídá čtyřem atomům vodíku a má charakter multipletu. Tyto čtyři vodíkové atomy náleží třem různým uhlíkovým atomům. Signál s chemickým posunem $\delta = 2.74\text{-}2.69$ ppm má charakter multipletu a z hodnoty integrálu lze vyčíst, že se jedná o jeden vodíkový atom. Signál s chemickým posunem $\delta = 3.33\text{-}3.28$ ppm má charakter multipletu a náleží jednomu vodíkovému atomu. Signál s chemickým posunem $\delta = 3.46$ ppm odpovídá štěpením dubletu, to znamená, že v jeho okolí se nachází jeden vodíkový atom. Signály s chemickými posuny $\delta = 3.80$ ppm a $\delta = 3.83$ ppm mají charakter singletů a velikosti integrálů odpovídají třem vodíkovým atomům. Signál s chemickým posunem $\delta = 4.11$ ppm odpovídá štěpením dubletu, to znamená, že v jeho okolí se nachází jeden vodíkový atom a velikost integrálu odpovídá jednomu vodíkovému atomu. Signál s chemickým posunem $\delta = 4.76\text{-}4.72$ ppm náleží jednomu vodíkovému atomu.

V aromatické oblasti můžeme najít tři signály. První z nich má chemický posun roven $\delta = 5.40\text{-}5.36$ ppm. Další dva náleží vodíkovým atomům na benzenovém jádře a mají charakter singletů. Jejich chemické posuny jsou $\delta = 6.63$ ppm a $\delta = 6.84$ ppm. Jedná se tedy o vodíkové atomy v *para* poloze.

V ^{13}C NMR spektru se nachází sedmnáct signálů, z toho v alifatické oblasti jich je devět a v aromatické oblasti osm. Signály s chemickými posuny $\delta = 29.1$ ppm, $\delta = 36.0$ ppm, $\delta = 45.5$ ppm, $\delta = 54.4$ ppm, $\delta = 56.4$ ppm, $\delta = 56.5$ ppm, $\delta = 57.3$ ppm, $\delta = 61.5$ ppm a $\delta = 65.3$ ppm náleží alifatickým uhlíkům. V aromatické oblasti jsou signály s chemickými posuny $\delta = 108.6$ ppm, $\delta = 111.6$ ppm, $\delta = 114.8$ ppm, $\delta = 127.6$ ppm, $\delta = 130.3$ ppm, $\delta = 140.0$ ppm, $\delta = 148.4$ ppm a $\delta = 148.5$ ppm.

Neznámá sloučenina má molekulovou hmotnost $M_r = 287$. Z vodíkového a uhlíkového spektra lze vyčíst předpokládaný sumární vzorec. Po součtu molárních hmotností dvaceti vodíků a sedmnácti uhlíků je $M_r = 224$. Rozdíl molárních hmotností je $M_r = 63$, což odpovídá jednomu dusíkovému, třem kyslíkovým a jednomu vodíkovému atomu. Vodíkový

4. Výsledky s komentářem

atom nemá signál ve spektru, to znamená, že je vázaný na heteroatom. Sumární vzorec neznámé sloučeniny je tedy $C_{17}H_{21}NO_3$.

Pomocí gHSQC experimentu jsem dle korelací přiřadila k uhlíkovým atomům jim náležící vodíkové atomy, viz tabulka 7.

Tabulka 7 – gHSQC – NPE

C [ppm]	H [ppm]
29.1	2.65-2.50
36.0	2.65-2.50, 2.39-2.33
45.5	2.65-2.50
54.4	2.30, 3.33-3.28
56.4	3.80
56.5	3.83
57.3	3.46, 4.11
61.5	2.74-2.69
65.3	4.76-4.72
108.6	6.84
111.6	6.63
114.8	5.40-5.36

Celkem pět uhlíků je kvarterních, ty nemají korelace v gHSQC experimentu a jejich chemické posuny jsou: $\delta = 127.6$ ppm, $\delta = 130.3$ ppm, $\delta = 140.0$ ppm, $\delta = 148.4$ ppm a $\delta = 148.5$ ppm.

Doposud známé informace o struktuře uvádí tabulka 8.

Tabulka 8 – Známé informace - NPE

C [ppm]	H [ppm]	Známé informace
29.1	2.65-2.50	Methylenová skupina
36.0	2.65-2.50, 2.39-2.33	Methylenová skupina
45.5	2.65-2.50	Terciární uhlíkový atom
54.4	2.30, 3.33	Methylenová skupina

4. Výsledky s komentářem

	3.28	
56.4	3.80	Methoxy skupina
56.5	3.83	Methoxy skupina
57.3	3.46, 4.11	Methylenová skupina
61.5	2.74-2.69	Terciární uhlíkový atom odstíněný heteroatomem
65.3	4.76-4.72	Terciární uhlíkový atom odstíněný heteroatomem
108.6	6.84	Terciární atom uhlíku- v <i>para</i> poloze benzenového jádra
111.6	6.63	Terciární atom uhlíku- v <i>para</i> poloze benzenového jádra
114.8	5.40-5.36	Terciární atom uhlíku
127.6		Kvarterní atom uhlíku benzenového jádra
130.3		Kvarterní atom uhlíku benzenového jádra
140.0		Kvarterní atom uhlíku
148.4		Kvarterní atom uhlíku benzenového jádra odstíněný heteroatomem
148.5		Kvarterní atom uhlíku benzenového jádra odstíněný heteroatomem
		Jeden atom N, tři atomy O a jeden atom vodíku

Z experimentu gHMBC jsem určila korelace vodíkových atomů na uhlíkové.

Tabulka 9 - korelace v experimentu gHMBC - NPE

	Korelace přes tři vazby	Korelace přes dvě vazby	Korelace přes čtyři vazby
H [ppm]	C [ppm]	C [ppm]	C [ppm]
2.30	57.3	29.1	
2.39-2.33			29.1
2.65-2.50	140.0, 127.6		114.8
2.74-2.69	130.3	140.0	127.6, 111.6
3.33-3.28	140.0, 61.5		
3.46	61.5, 54.4		
3.80	148.4		
3.83	148.5		
4.11	130.3, 108.6, 61.5	127.6	148.5

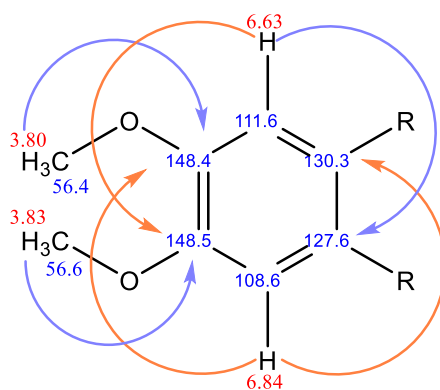
4. Výsledky s komentářem

4.76-4.72	114.8, 61.5		127.6
5.40-5.36			
6.63	148.5, 127.6		57.3
6.84	148.4, 130.3		45.5

V gHMBC experimentu jsem začala určovat strukturu od aromatické oblasti a to od uhlíkových atomů s vodíky v *para* poloze benzenového jádra. Jsou to atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 108.6$ ppm a $\delta = 111.6$ ppm, na něž jsou navázány atomy vodíku s chemickými posuny $\delta = 6.84$ ppm a $\delta = 6.63$ ppm.

Vodík s chemickým posunem $\delta = 3.80$ ppm, který náleží methoxy skupině a vodík s chemickým posunem $\delta = 6.84$ ppm mají korelaci přes tři vazby na uhlíkový atom s chemickým posunem $\delta = 148.4$ ppm. Dále vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 3.83$ ppm, který náleží druhé methoxy skupině a vodík s chemickým posunem $\delta = 6.63$ ppm mají korelaci přes tři vazby na uhlíkový atom s chemickým posunem $\delta = 148.5$ ppm. Vodík $\delta = 6.84$ ppm má dále korelaci přes tři vazby na uhlík s chemickým posunem $\delta = 130.3$ ppm. A vodík s chemickým posunem $\delta = 6.63$ ppm vykazuje korelaci přes tři vazby na uhlík s chemickým posunem $\delta = 127.6$ ppm. První část struktury je znázorněna na obrázku 14.

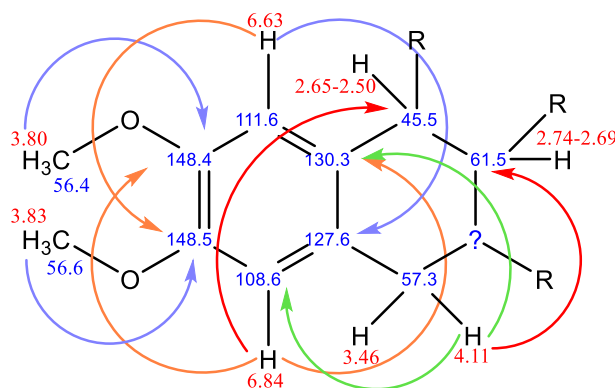
Obrázek 14



Dále jsem z gHMBC experimentu zjistila, že vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 6.84$ ppm má slabou korelaci na uhlíkový atom s $\delta = 45.5$ ppm. A vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 6.63$ ppm má slabou korelaci na uhlíkový atom s chemickým posunem $\delta = 57.3$ ppm, na kterém jsou navázány vodíkové atomy s chemickými posuny $\delta = 3.46$ ppm a $\delta = 4.11$ ppm. Vodíkový atom s $\delta = 4.11$ ppm má korelaci přes tři vazby na

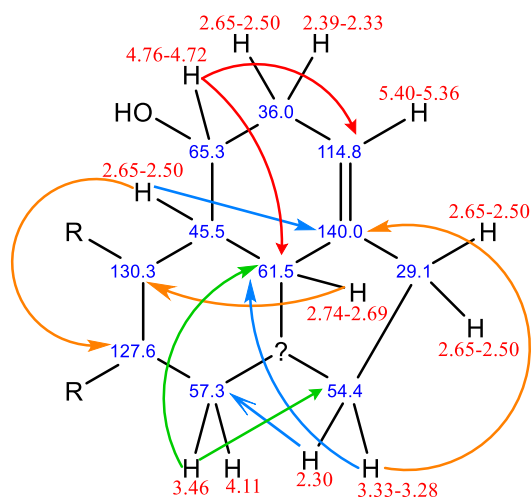
uhlíkové atomy s chemickými posuny $\delta = 130.3$ ppm, $\delta = 108.6$ ppm a $\delta = 61.5$ ppm dále má slabou korelaci na uhlíkové atomy s chemickými posuny $\delta = 127.6$ ppm a $\delta = 148.5$ ppm, viz obrázek 15.

Obrázek 15



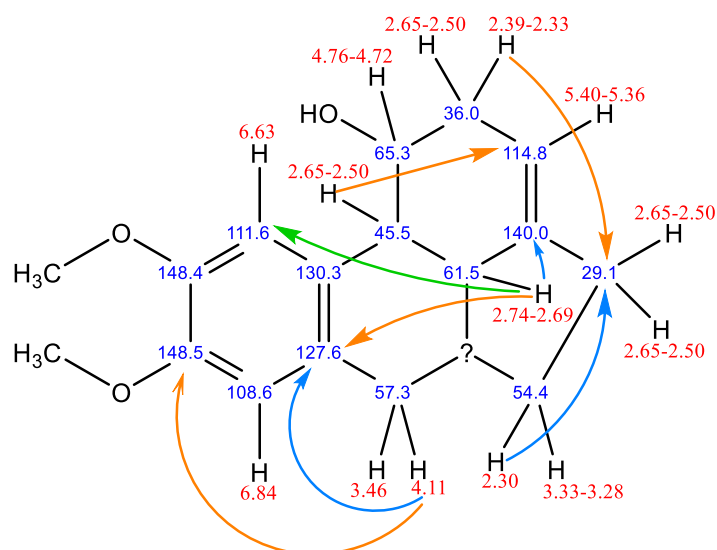
Hodnota chemického posunu $\delta = 65.3$ ppm terciárního atomu uhlíku je zvýšena vzhledem k navázanému heteroatomu hydroxylové skupiny, dále je na tento uhlík navázán atom vodíku s chemickým posunem $\delta = 4.76$ - 4.72 ppm. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 4.76$ - 4.72 ppm má korelaci přes tři vazby na atomy uhlíku a chemickými posuny $\delta = 61.5$ ppm a $\delta = 114.8$ ppm. Kvarterní uhlíkový atom s chemickým posunem $\delta = 140.0$ ppm je spojen dvojnou vazbou s uhlíkovým atomem s chemickým posunem $\delta = 114.8$ ppm na kterém je navázán vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 5.40$ - 5.36 ppm. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 3.33$ - 3.28 ppm má korelaci přes tři vazby na atomy uhlíku a chemickými posuny $\delta = 61.5$ ppm a $\delta = 140.0$ ppm. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 2.30$ ppm má korelaci přes tři vazby na atom uhlíku a chemickým posunem $\delta = 57.3$ ppm. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 3.46$ ppm má korelaci přes tři vazby na atomy uhlíku a chemickými posuny $\delta = 54.4$ ppm a $\delta = 61.5$ ppm. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 2.65$ - 2.50 ppm, který náleží uhlíkovému atomu s chemickým posunem $\delta = 45.5$ ppm, má korelaci přes tři vazby na atomy uhlíku a chemickými posuny $\delta = 127.6$ ppm a $\delta = 140.0$ ppm. Dále vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 2.74$ - 2.69 ppm má korelaci přes tři vazby na atom uhlíku a chemickým posunem $\delta = 130.3$ ppm, viz obrázek 16.

Obrázek 16



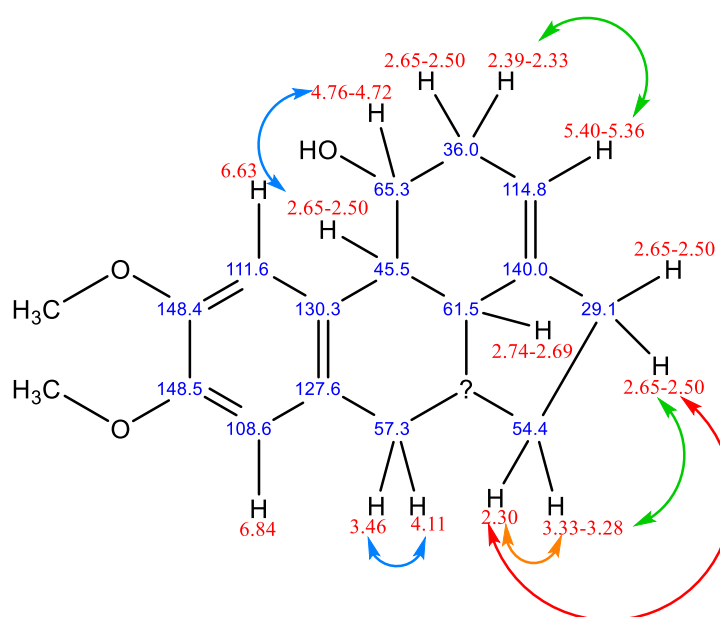
Další korelace mezi atomy vodíků a kyslíků jsou znázorněny na obrázku 17. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 2.39-2.33$ ppm má slabou korelaci přes čtyři vazby na atom uhlíku a chemickým posunem $\delta = 29.1$ ppm. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 2.30$ ppm má slabou korelaci přes dvě vazby na atom uhlíku a chemickým posunem $\delta = 29.1$ ppm. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 4.11$ ppm má korelaci přes dvě vazby na atom uhlíku a chemickým posunem $\delta = 127.6$ ppm a přes čtyři vazby na atom uhlíku s chemickým posunem $\delta = 148.5$ ppm. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 2.65-2.50$ ppm, který náleží uhlíkovému atomu s chemickým posunem $\delta = 45.5$ ppm, má slabou korelaci přes čtyři vazby na atom uhlíku a chemickým posunem $\delta = 114.8$ ppm. Dále vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 2.74-2.69$ ppm má slabou korelaci přes dvě vazby na atom uhlíku a chemickým posunem $\delta = 140.0$ ppm a slabou korelaci přes čtyři vazby na atomy uhlíku a chemickými posuny $\delta = 127.6$ ppm a $\delta = 111.6$ ppm.

Obrázek 17



Z experimentu gCOSY a NOESY jsem zjistila další informace. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 4.76-4.72$ ppm má korelaci na vodík s chemickým posunem $\delta = 2.65-2.50$ ppm, který náleží uhlíkovému atomu s chemickým posunem $\delta = 45.5$ ppm. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 5.40-5.36$ ppm má korelaci na vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 2.39-2.33$ ppm. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 3.33-3.28$ ppm má korelaci na vodík s chemickým posunem $\delta = 2.65-2.50$ ppm náležící uhlíkovému atomu s chemickým posunem $\delta = 29.1$ ppm. Vodíkový atom s chemickým posunem $\delta = 2.30$ ppm má korelaci na vodíkové atomy s chemickými posuny $\delta = 3.33-3.28$ ppm a $\delta = 2.65-2.50$ ppm, který náleží uhlíkovému atomu s chemickým posunem $\delta = 29.1$ ppm. A vodík s chemickým posunem $\delta = 4.11$ ppm má korelaci na vodík s $\delta = 3.46$ ppm, viz obrázek 18.

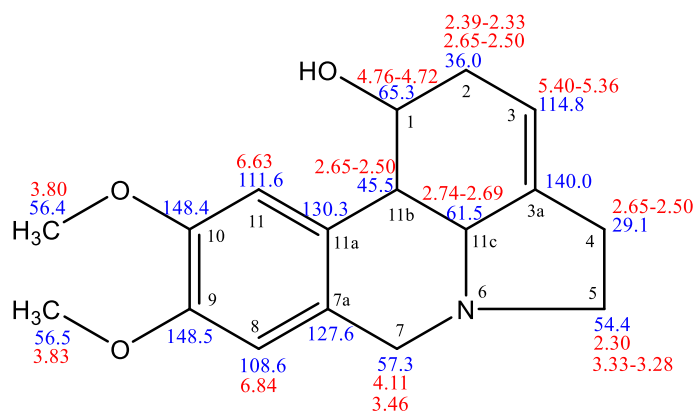
Obrázek 18



Zbývá určit polohu dusíkového atomu. Vzhledem k tomu, že poloha ostatních atomů je již určena, bude dusíkový atom navázán na atomy uhlíku s chemickými posuny $\delta = 57.3$ ppm, $\delta = 61.5$ ppm a $\delta = 54.4$ ppm.

Celá neznámá struktura s kódovým označením NPE se sumárním vzorcem $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_3$ je zobrazena na obrázku 19. Jedná se o alkaloid s chemickým názvem pluviin (21).

Obrázek 19



^1H NMR (500MHz, CD_2Cl_2) δ : 6.84 (1H, s, H8), 6.63 (1H, s, H11), 5.40-5.36 (1H, m, H3), 4.76-4.72 (1H, m, H1), 4.11 (1H, d, $J = 14.0\text{Hz}$, H7), 3.83 (3H, s, OCH_3), 3.80 (3H, s, OCH_3), 3.46 (1H, d, $J = 14.0\text{Hz}$, H7),

4. Výsledky s komentářem

3.33-3.28 (1H, m, H5), 2.74-2.69 (1H, m, H11c), 2.65-2.50 (4H, m, H2, H4, H11b), 2.39-2.33 (1H, m, H2), 2.30 (1H, q, $J = 8.8\text{Hz}$, H5).

^{13}C NMR (125MHz, CD_2Cl_2) δ : 148.5 (C9), 148.4 (C10), 140.0 (C3a), 130.3 (C11a), 127.6 (C7a), 114.8 (C3), 111.6 (C11), 108.6 (C8), 65.3 (C1), 61.5 (C11c), 57.3 (C7), 56.5 (OCH_3), 56.4 (OCH_3), 54.4 (C5), 45.5 (C11b), 36.0 (C2), 29.1 (C4).

5 Závěr

V rámci diplomové práce byla pomocí NMR spektroskopie určena struktura tří neznámých látek.

Jedna z nich byla izolována z rostliny *Papaver rhoeas* z čeledi *Papaveraceae*, v této práci byla označena pod kódem PR-20-27-3-5-2. Jedná se o alkaloid se sumárním vzorcem $C_{21}H_{21}NO_6$ a s chemickým názvem rhoeadin. Identifikovaná struktura látky vzorku s kódovým označením PR-20-27-3-5-2 je známá (20), avšak nebyla publikovaná její NMR spektra.

Další dvě látky byly izolovány z *Narcissus cv. PROFESSOR EINSTEIN* z čeledi *Amaryllidaceae*. Látka s kódovým označením NPE-26-2 se sumárním vzorcem $C_{17}H_{19}NO_4$ byla určena jako alkaloid s chemickým názvem 9-*O*-demethylhomolykorin (19). Neznámá struktura s kódovým označením NPE se sumárním vzorcem $C_{17}H_{21}NO_3$ byla určena jako alkaloid s chemickým názvem pluviin. Určená struktura látky vzorku s kódovým označením NPE je známá (21), avšak nebyla publikovaná její NMR spektra.

6 Citovaná literatura

1. **Plucar, B.** Toxicology. *Toxicology- Prof. RNDr. Jiří Patočka, DrSc.* [Online] 11. Listopad 2014. [Citace: 23. Květen 2017.] <http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=709>. United-Nuke.
2. **Hejný, S a Slavík, B.** *Květena České republiky 1., 2. vydání.* Praha : Academia, 1997. stránky 484-486. ISBN: 80-200-0643-5.
3. **Hoskovec, L.** Botany.cz. [Online] Copyright © www.botany.cz, 7. Červenec 2007. [Citace: 7. Říjen 2017.] <http://botany.cz/cs/papaver-rhoeas/>.
4. **Bulvová, L.** Alkaloidy *Papaver rhoeas* L. (Papaveraceae) a jejich biologická aktivita vztažená k Alzheimerově chorobě I. *Diplomová práce.* Hradec Králové : Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické botaniky a ekologie, 2017. stránky 26-49.
5. **Kocián, P.** Květena ČR. *Květena ČR.* [Online] 2003-2017 © Petr Kocián, 13. Červenec 2003. [Citace: 23. Květen 2017.] <http://www.kvetenacr.cz/celed.asp?IDceled=45>.
6. **Fochrová, J.** Národní ústav pro vzdělávání. <http://www.nuv.cz/>. [Online] 23. Srpen 2015. [Citace: 7. Říjen 2017.] Léčivé rostliny. www.nuv.cz/uploads/STU/rozhledy/1503/2015_16_R2_hotovo.docx.
7. **Bruneton, J.** *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants.* místo neznámé : Technique&Documentation-Lavoisier, 1995. str. 746. ISBN 2-7430-0028-7.
8. **Maříková, J.** Využití NMR spektroskopie při strukturní analýze Využití NMR spektroskopie při strukturní analýze. *Diplomová práce.* Hradec Králové : Karlova univerzita v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra anorganické a organické chemie, 2016.
9. **Hošková, A, Siatka, T, Chlebek, J, Opletal, L, Drašar, P a Cahlíková, L.** *Boldinové alkaloidy a perspektivy jejich využití.* Hradec Králové : Chemické listy, 2015. stránky 846-855. ISSN 1213-7103.
10. **Saeed, S, Gilanir, A, Majoob, U a Shah, B.** Science direct. *Pharmacological Research.* [Online] 15. Duben 2002. [Citace: 29. Říjen 2017.] Anti-trombotic and anti-

inflammatory activities of protopine.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S104366189790195X>.

11. **Wiegreb, W.** Chemické listy. *Ze života chemických společností*. [Online] Únor 2000. [Citace: 30. Říjen 2017.] <http://chemicke-listy.cz/Bulletin/bulletin312/bulletin312.html>.

12. **Hanusová, P.** Alkaloidy čeledi Amaryllidaceae: izolace, strukturní identifikace, biologická aktivita. III. *Diplomová práce*. Hradec Králové: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické botaniky a ekologie, Květen 2017. stránky 9-21.

13. **MBG.** Missouri Botanical Garden. *Narcissus 'Professor Einstein'*. [Online] [Citace: 2. Listopad 2017.] <http://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?taxonid=251151&isprofile=0&#AllImages>.

14. **Hrstka, V.** Alkaloidy rodu *Narcissus* (Amaryllidaceae) a jejich biologická aktivita. *Rigorózní práce*. Hradec Králové: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické botaniky a ekologie, 2017. stránky 11-32.

15. **Cordell, G.** *The Alkaloids: Chemistry and Biology*. 2006. str. 94. Sv. 63. ISBN: 978-0-12-469563-4.

16. **Waisser, K.** *Organická chemie I*. místo neznámé: Karolinum, 1999. ISBN 8071848743.

17. **Moravec, Z.** NMR laboratoř. *NMR spektroskopie*. [Online] [Citace: 4. Listopad 2017.] <http://nmrlab.chemi.muni.cz/img/NMR.pdf>.

18. **Brenner, D.** NMR - jaderná magnetická rezonance. *Studium chemie.cz*. [Online] 2011. [Citace: 4. Listopad 2017.] <http://www.studiumchemie.cz/NMR/skripta.pdf>.

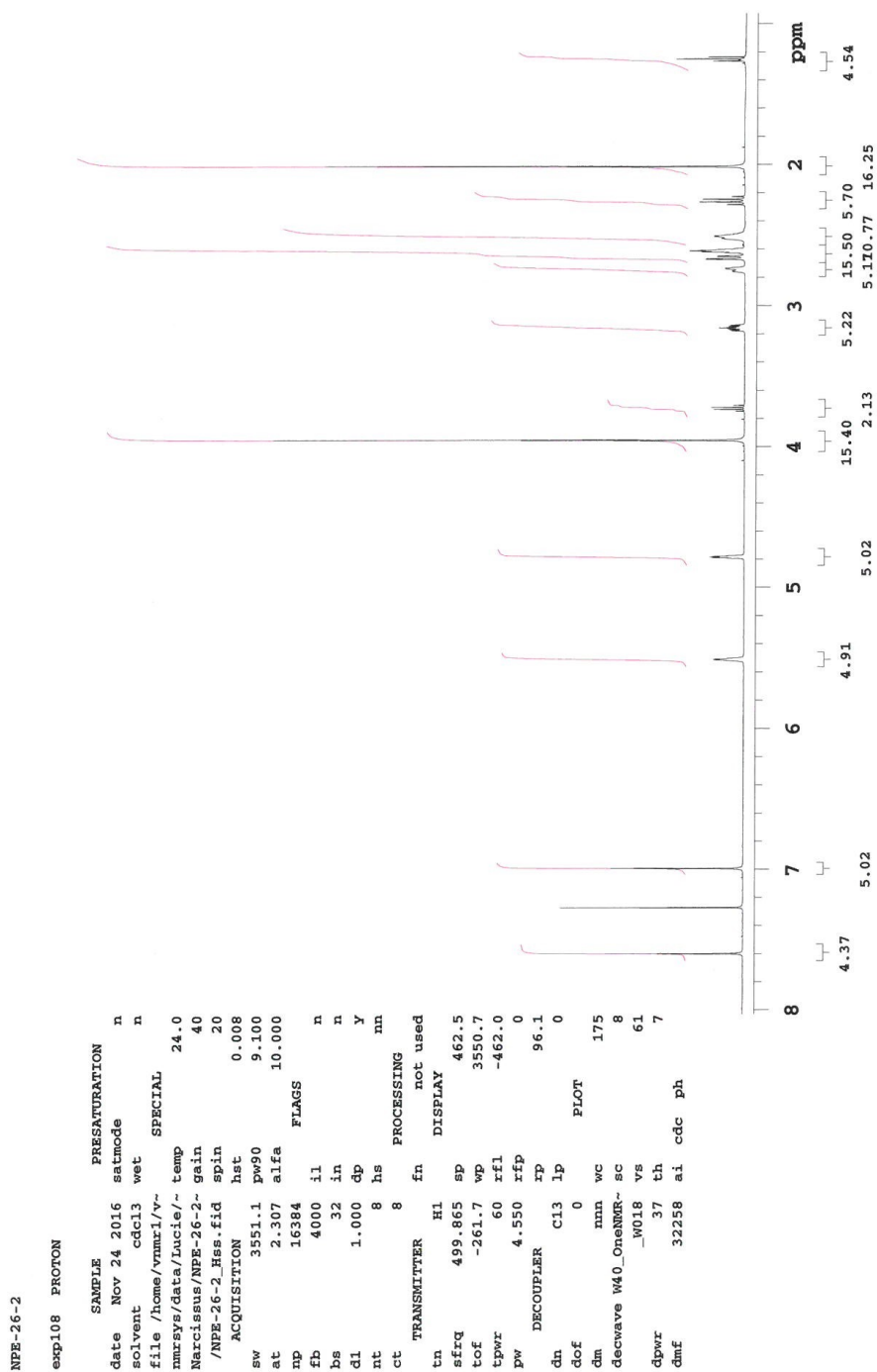
19. **Jeffs, W, Abou-Donia, A a Campau, D.** Structures of 9-O-Demethylhomolycorine and 5 α -Hydroxyhomolycorine. Alkaloids of *Crinum defixum*, *C. scabrum*, and *C. latifolium*. Assignment of Aromatic Substitution Patterns from 1H-Coupled 13C Spectra. *J. Org. Chem.* 1985, Sv. 50, stránky 1732-1737.

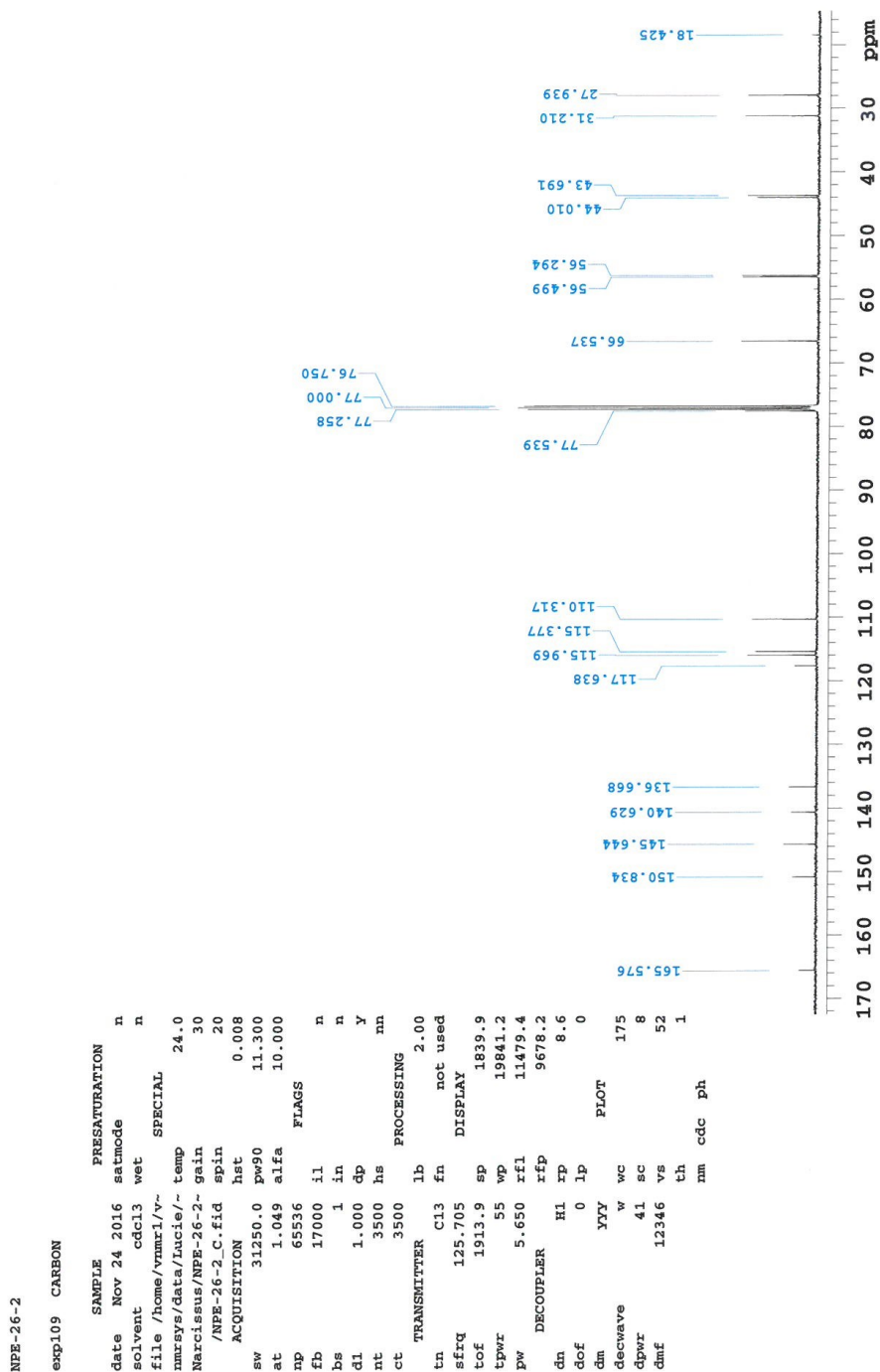
20. **Marek, R, Marek, J, Dostal, J, Taborska, E, Slavik, J a Dommise, R.** Isoquinoline alkaloids: a ¹⁵N NMR and x-ray study. Part 2. *Magn. Reson. Chem.* 2002, Sv. 40, stránky 687–692.

21. **Yongqiang, T, Chunyun, Z a Mingquan, G.** Comparative Analysis of Amaryllidaceae Alkaloids from Three Lycoris Species. . *Molecules.* 2015, 20(12), stránky 21854-21869.

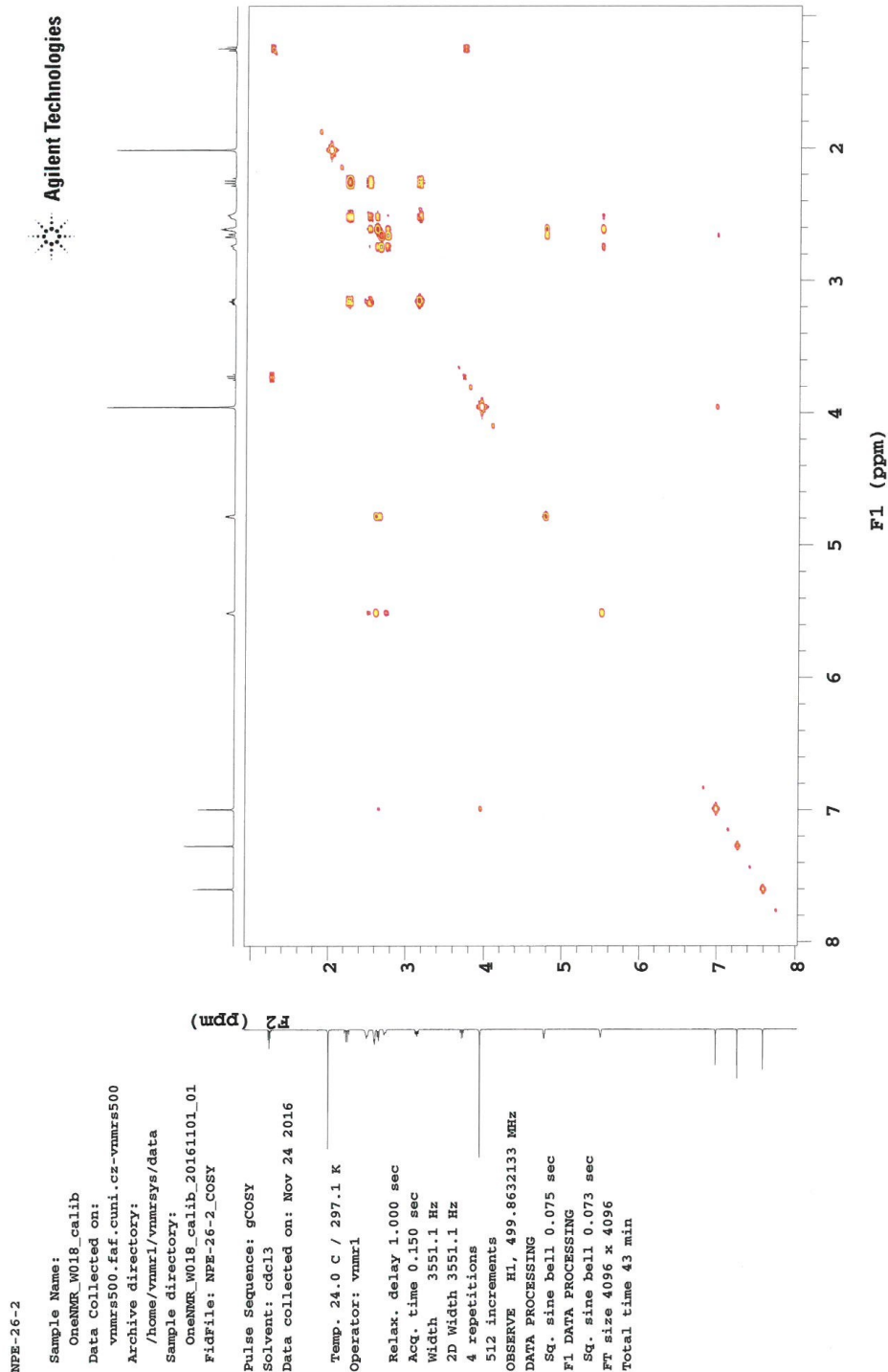
7 Přílohy

7.1 NMR spektra sloučeniny NPE-26-2

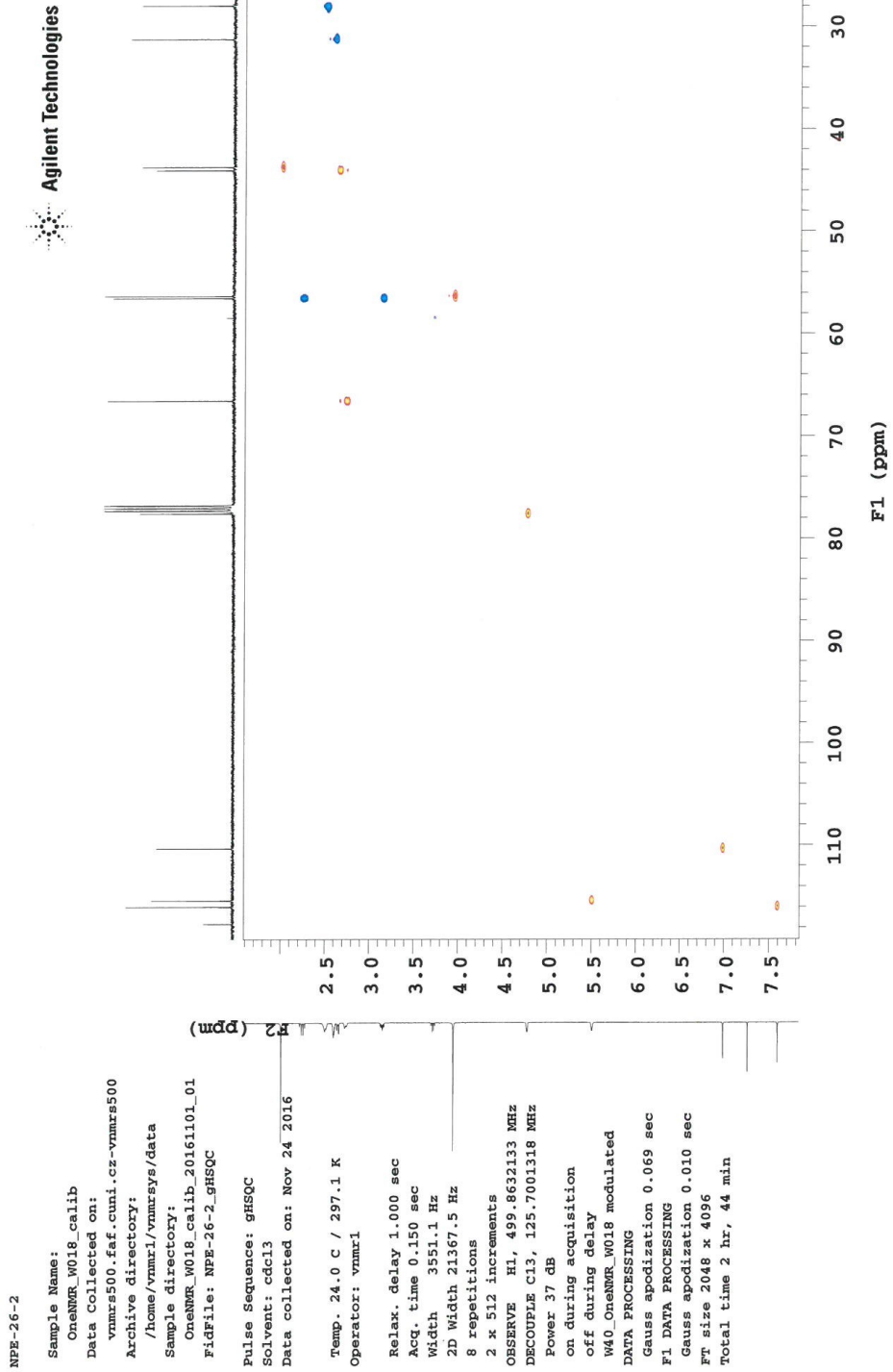
¹H - NMR

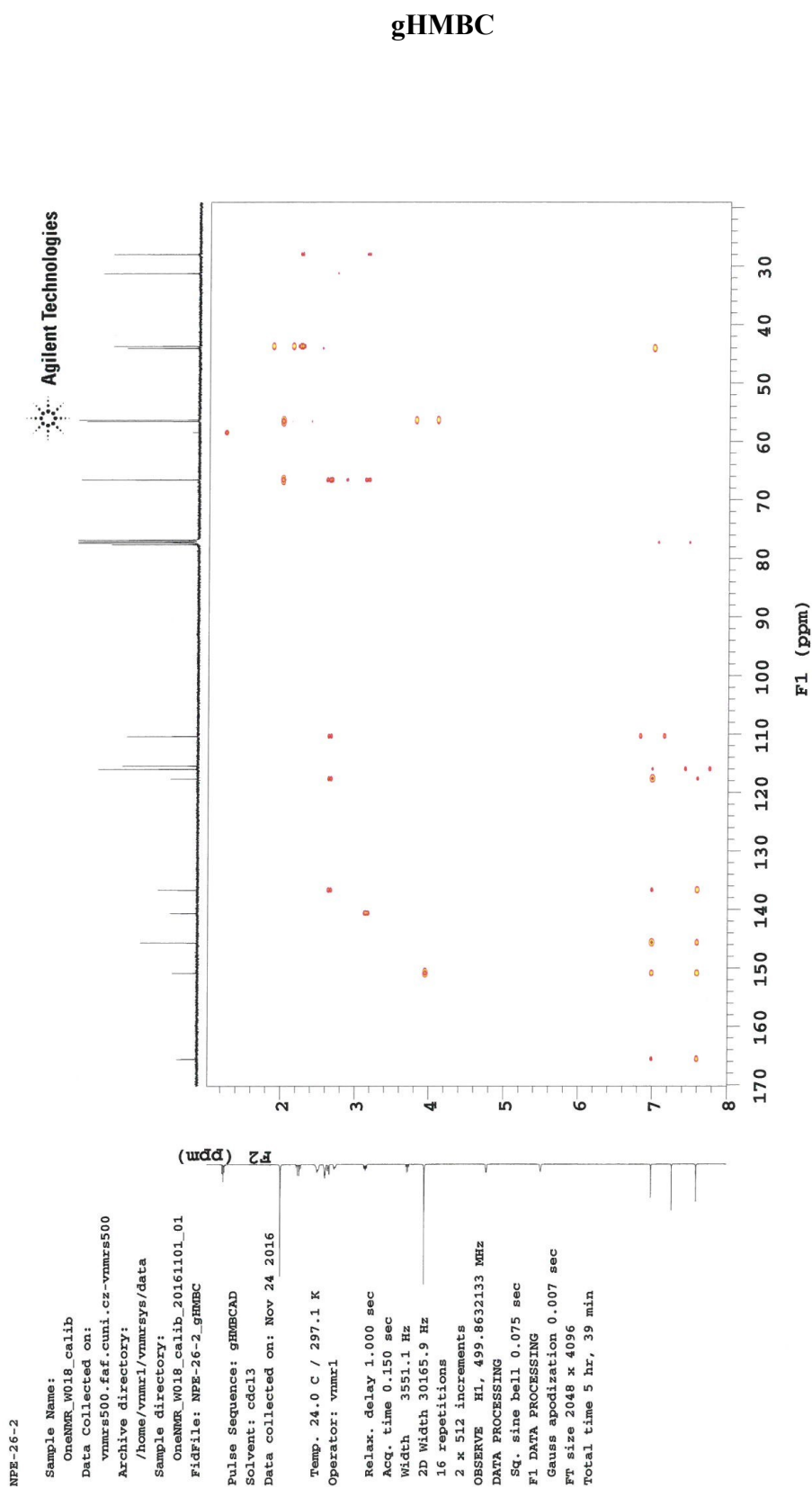
^{13}C - NMR

gCOSY

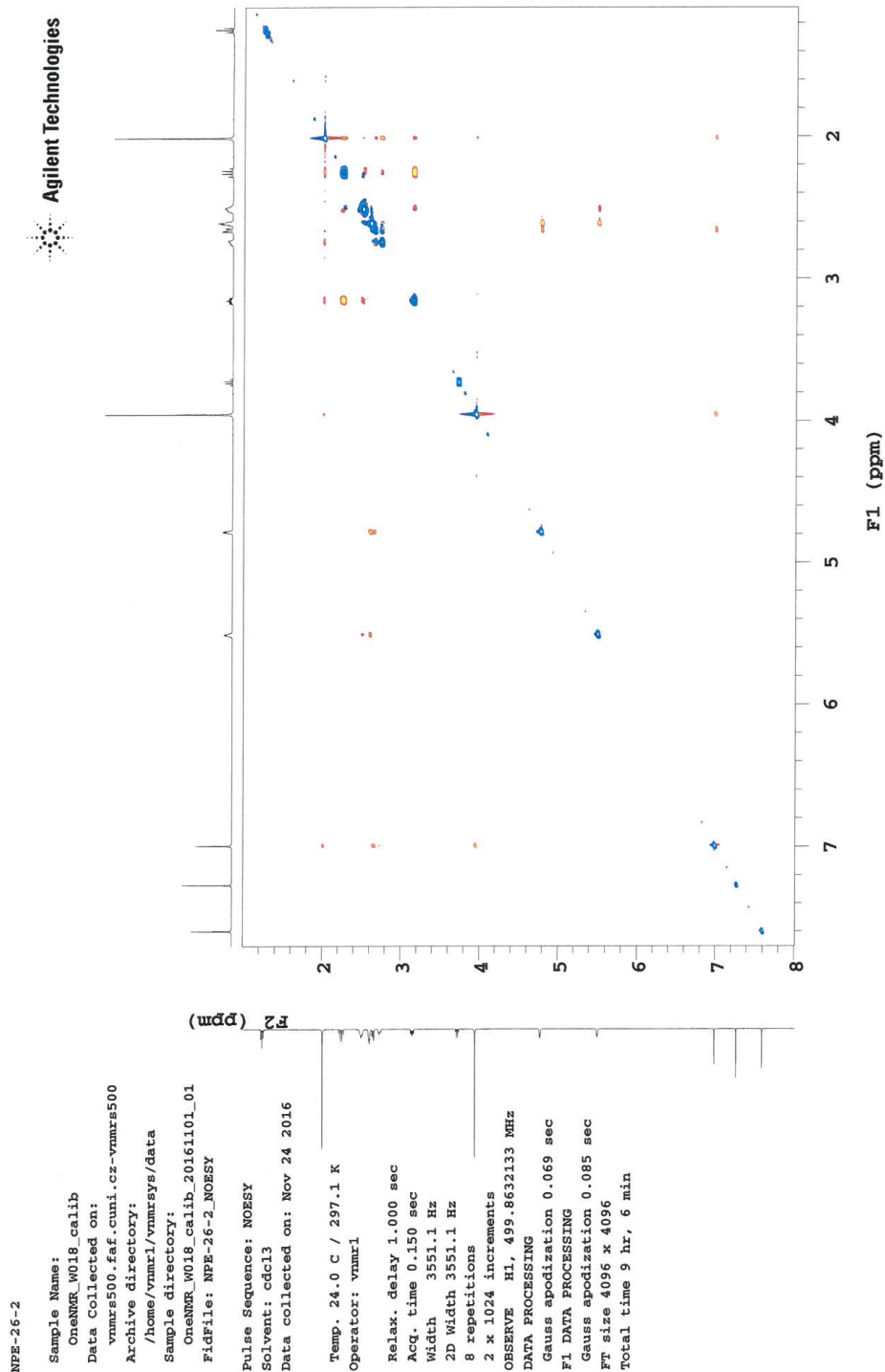


gHSQC

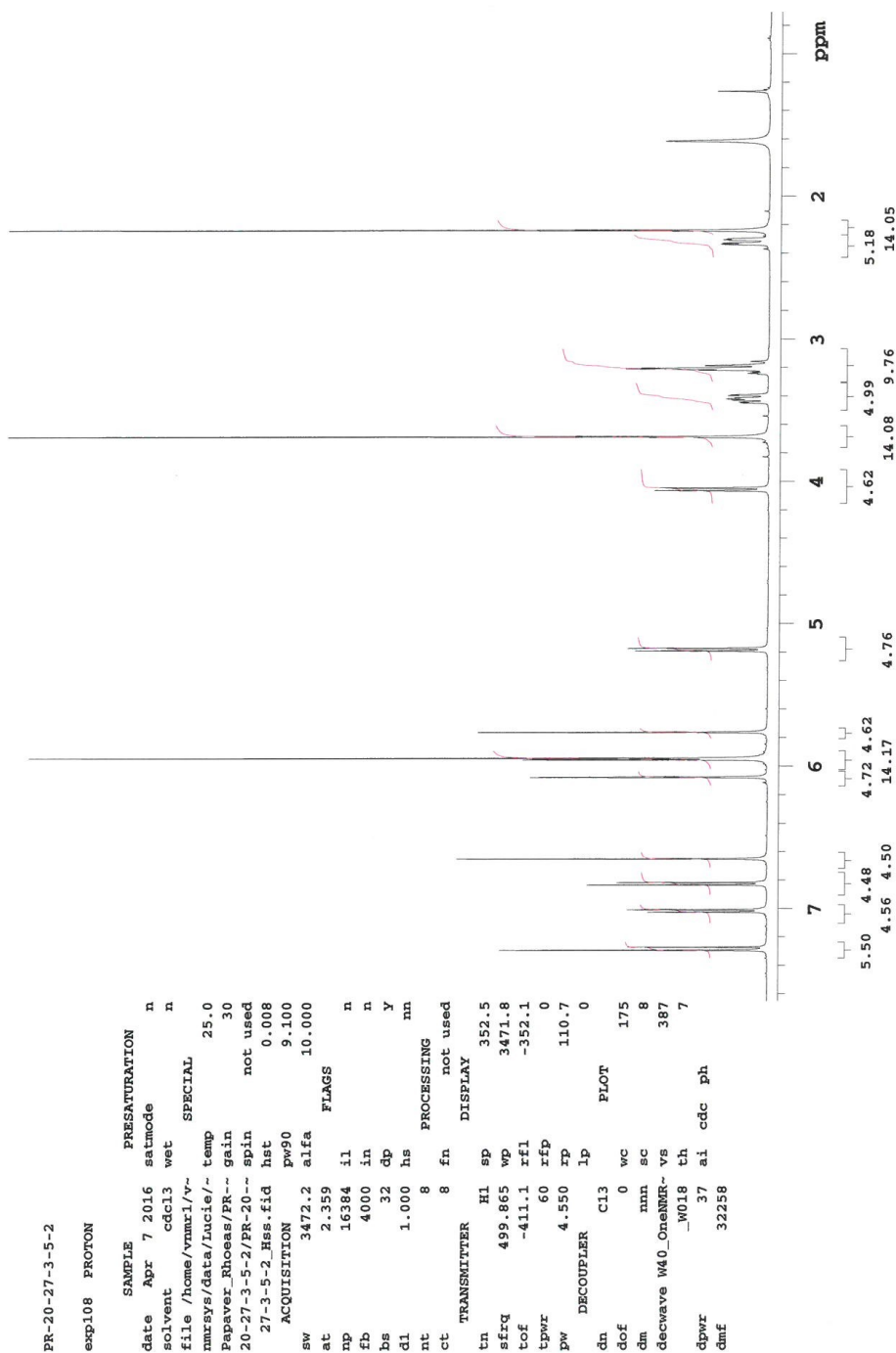




NOESY



7.2 NMR spektra sloučeniny PR-20-27-3-5-2

 ^1H – NMR

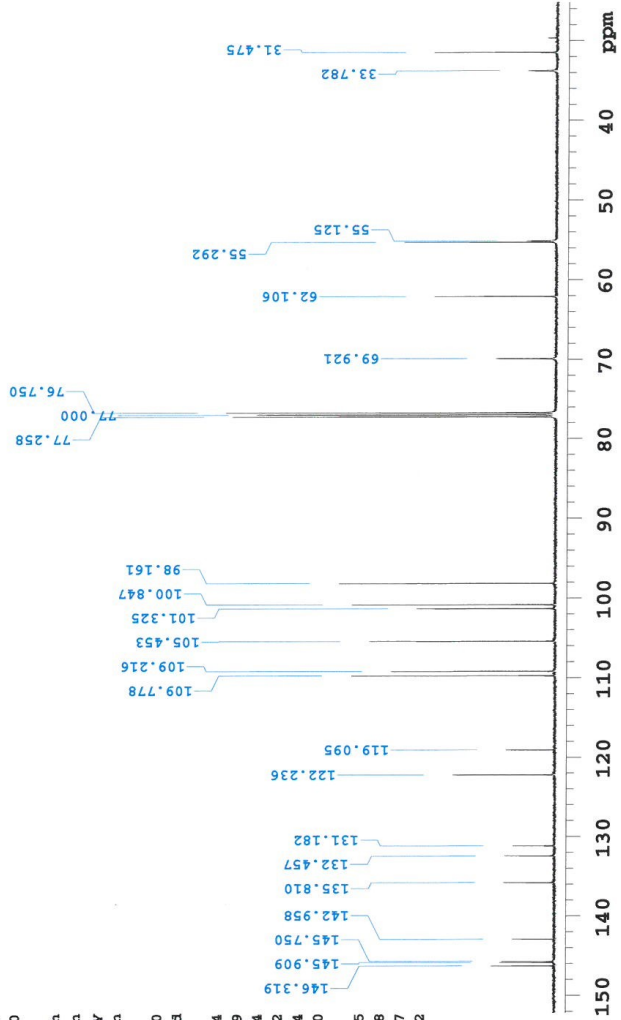
¹³C - NMR

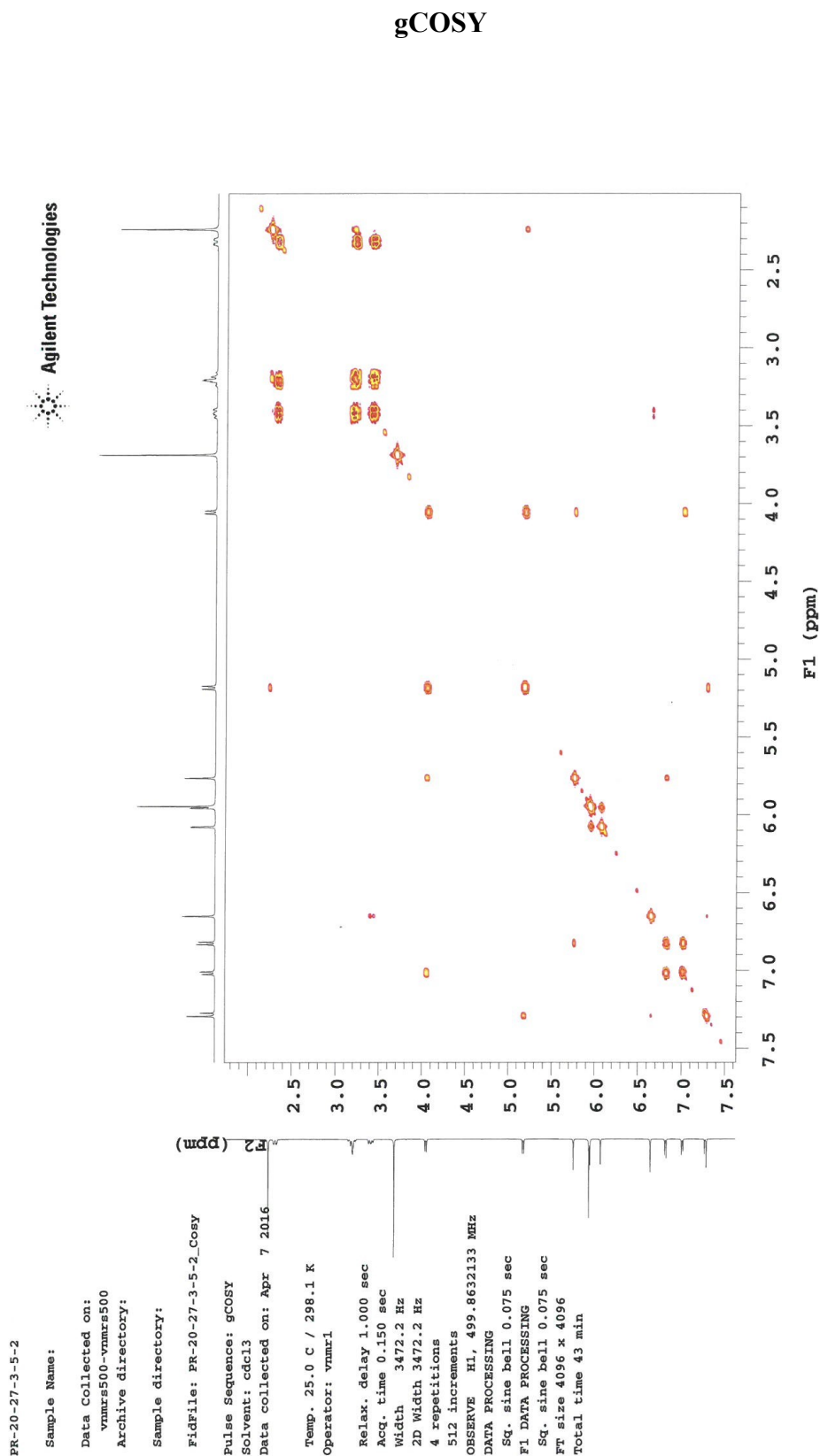
PR-20-27-3-5-2

expl09 CARBON

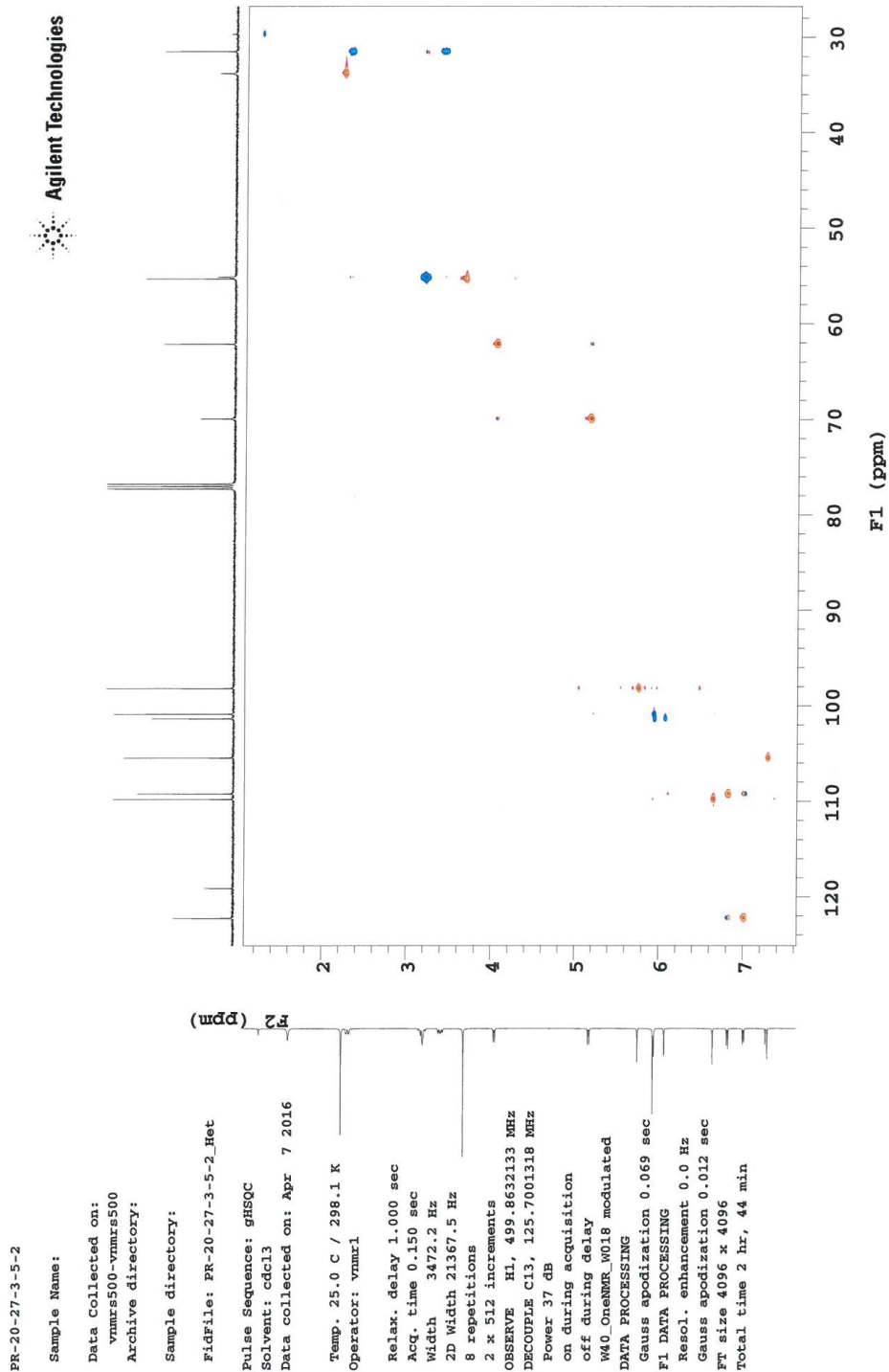
```

SAMPLE      PRESATURATION
date Apr 7 2016 satmode n
solvent cdcl3 wet n
file /home/vmrl/v~ SPECIAL
nmrSYS/data/lucie/~ temp 25.0
Papaver_Rhoeas/FR-- gain 30
20-27-3-5-2/PR-20-- spin not used
27-3-5-2.C.fid hst 0.008
ACQUISITION pw90 11.300
sw 31250.0 alfa 10.000
at 1.049
np 65536 il
fb 17000 in n
bs 1 dp y
d1 1.000 hs mn
nt 5000
ct 5000 lb 0.50
PROCESSING
TRANSMITTER fn not used
tn C13 DISPLAY
sfrq 125.705 sp 3168.4
tof 1913.9 wp 15956.9
tpwr 55 xfl 11479.4
pw 5.650 xfp 9678.2
DECOUPLER rp -177.4
dn H1 lp 0
dof 0 PLOT 175
dm YFY wc 8
decbw w sc 8
dppwr 41 vs 57
dmf 12346 th mn cdc ph 2
    
```

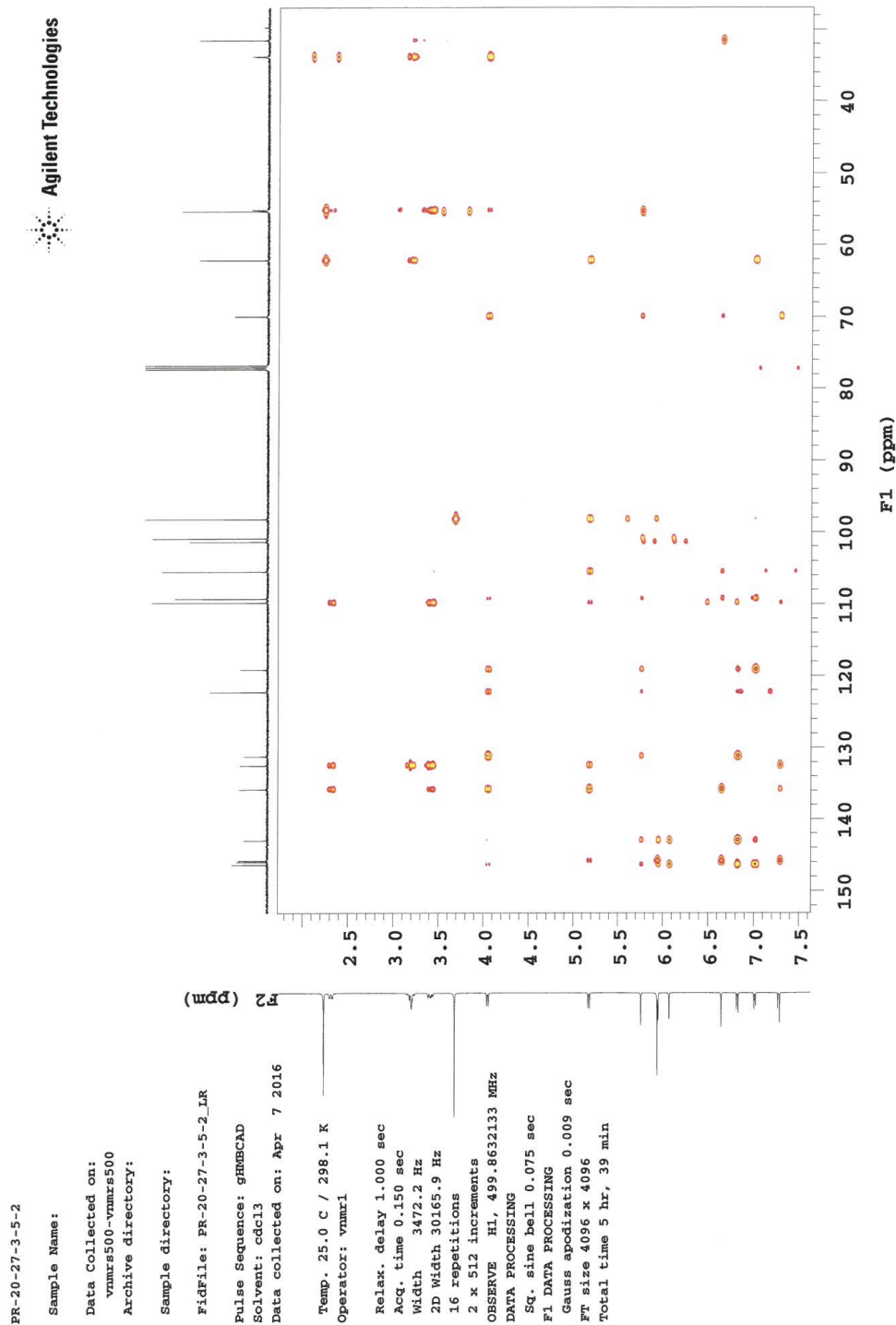




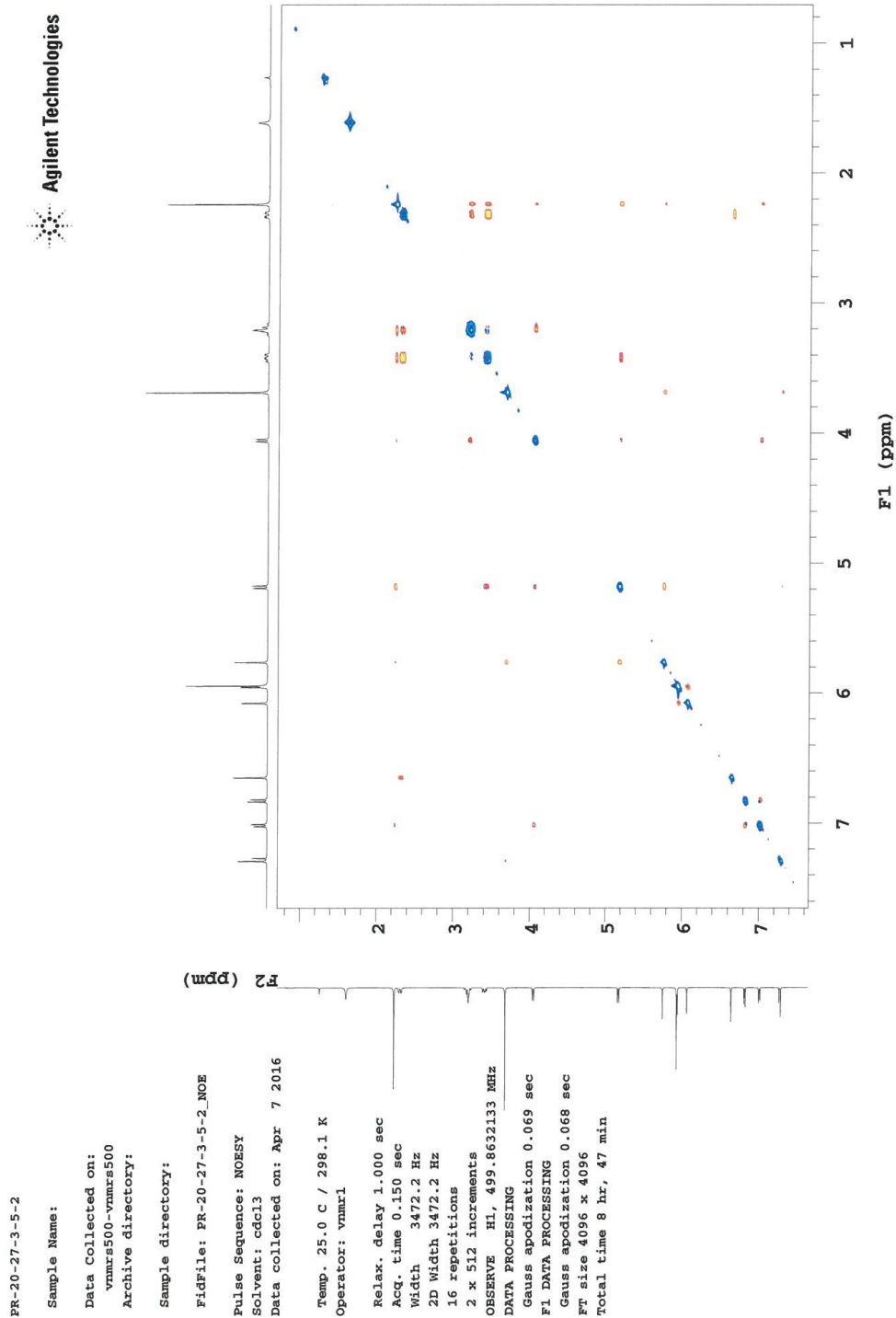
gHSQC



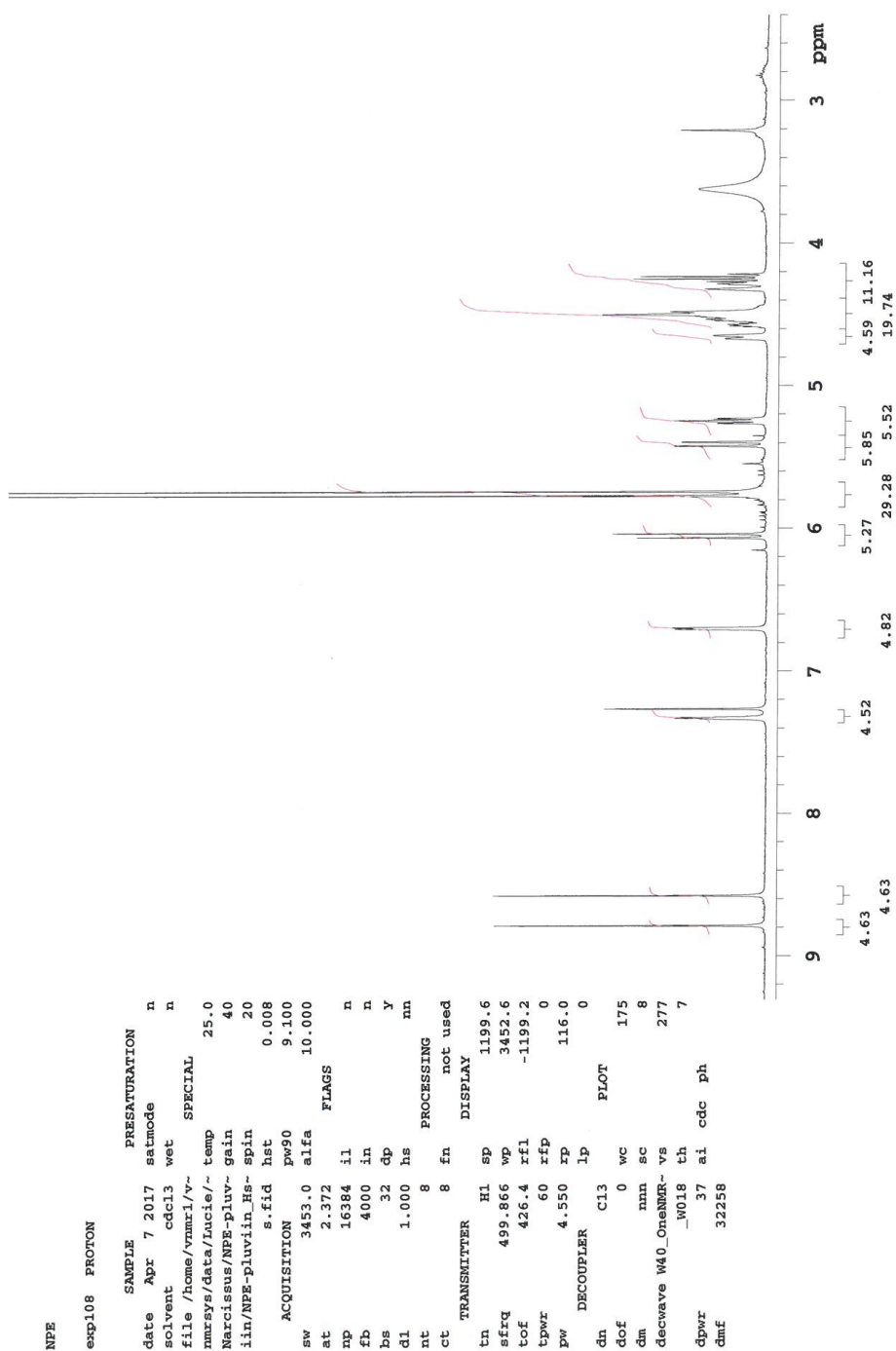
gHMBC



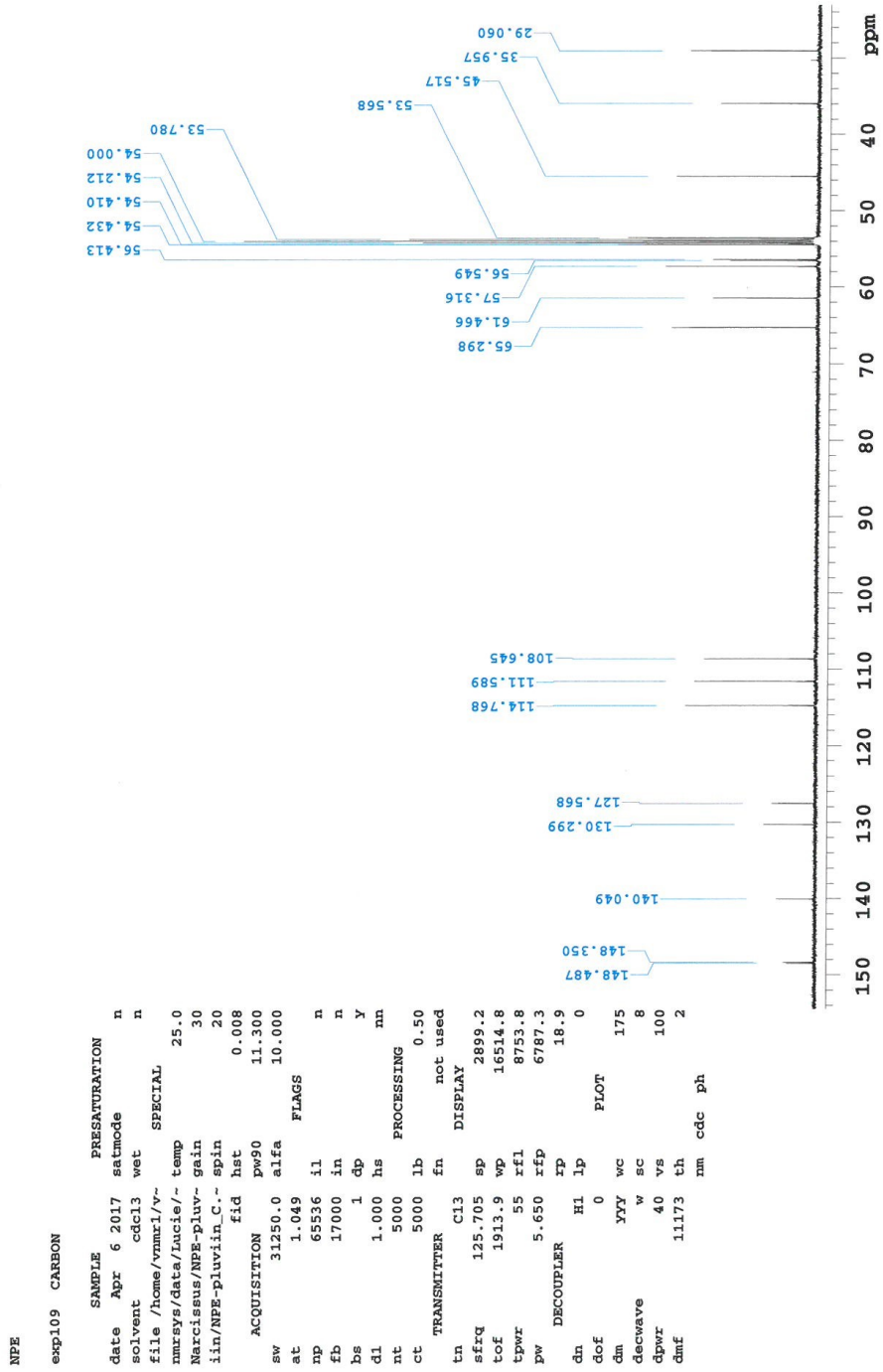
NOESY



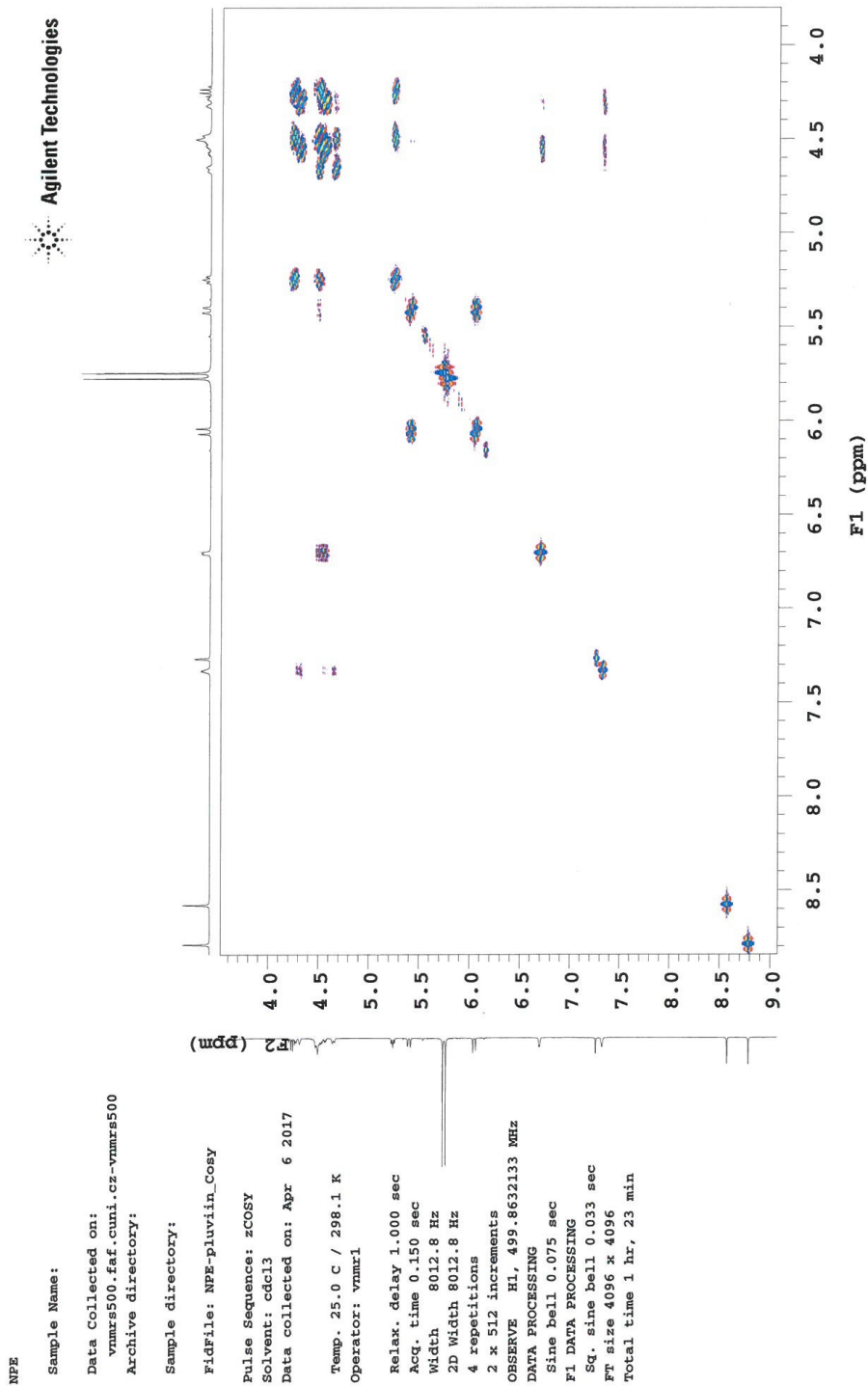
7.3 NMR spektra sloučeniny NPE

 ^1H - NMR

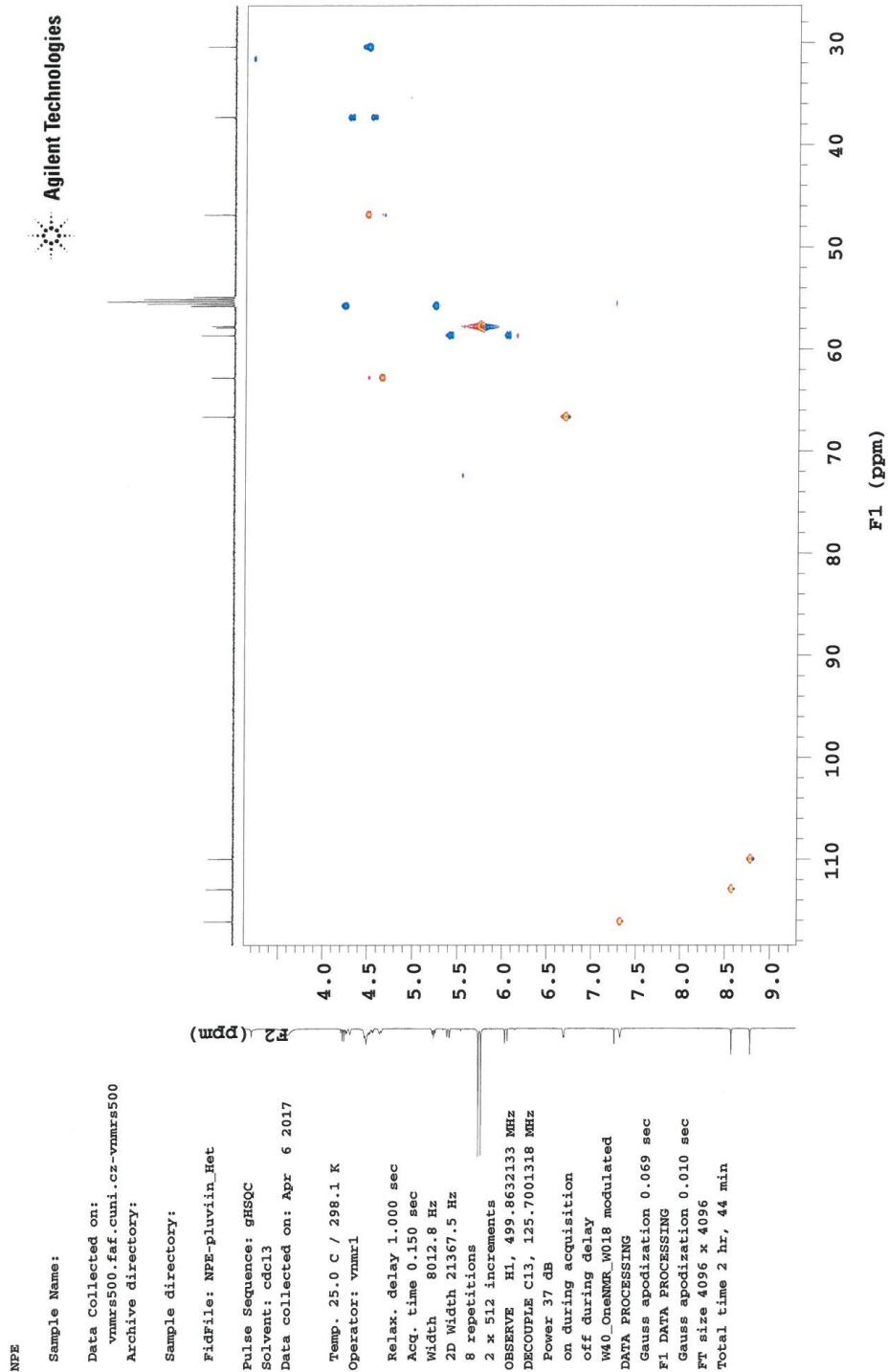
¹³C – NMR



gCOSY



gHSQC



NOESY

