

Obecné experimentální postupy **General Experimental Methods**

Skupina syntetické organické chemie a NMR spektroskopie

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Vypracoval – PharmDr. Petr Matouš, Ph.D. a PharmDr. Michal Kadaník, Ph.D.

Únor 2026

Tento dokument shrnuje experimentální postupy používaných při pracích v laboratoři skupiny Syntetické organické chemie a NMR spektroskopie. Dokument slouží jako předloha obecných statí používaných v kvalifikačních pracích a odborných člancích. Text lze tedy bez omezení použít a upravit podle skutečnosti. Dokument je nutné v kvalifikačních pracích citovat např. následujícím způsobem:

Obecné experimentální postupy, Skupina syntetické organické chemie a NMR spektroskopie, 2025. web

General Experimental Methods, Synthetic organic chemistry and NMR spectroscopy group, 2026. web

Editovatelná verze (doc) k dispozici na vyžádání na mailu petr.matous@faf.cuni.cz

Veškeré chemikálie byly zakoupeny od firmy Merck KGaA (Darmstadt, Německo), BLDPharmatech GmbH (Reinbek, Německo), Fluorochem EU Limited (Cork, Irsko), BDL Czech Republic s.r.o (Turnov, ČR), abcr GmbH (Karlsruhe, Německo), LachNer (Neratovice, ČR) nebo Penta (Praha, ČR) a použity bez dalšího čištění. Bezvodé THF bylo připraveno v čas potřeby destilací pod inertní atmosférou z benzofenon-ketylu, bezvodý DCM byl v čas potřeby destilován pod inertní atmosférou z CaH₂ a ostatní rozpouštědla (benzen, methanol, acetonitril, DMF, DME, CCl₄) byla zakoupena jako bezvodá od firmy Merck KGaA a použita bez dalšího čištění. Z dříve připravených sloučenin naší výzkumnou skupinou byly použity zásoby *název sloučeniny (označení)*, *název sloučeniny (označení)*, ... a *název sloučeniny (označení)*.

Reakce v bezvodém prostředí byly prováděny pod ochrannou atmosférou argonu ve vyžíhaných baňkách za pomoci Schlenkovy linky. TLC analýza byla prováděna na deskách Merck Silica Gel 60 F₂₅₄ nebo Merck Silica gel 60 RP-18 F_{254S} s následnou vizualizací pod UV (254 nm a 366 nm) v kombinaci s chemickou detekcí (čínidlo 1: Ce(SO₄)₂·4H₂O (2 g), H₃[P(Mo₃O₁₀)₄] (4 g), koncentrovaná H₂SO₄ (10 ml), H₂O (200 ml) a následné zahřátí na 300 °C; čínidlo 2: KMnO₄ (2 g), KOH (0,176 g), K₂CO₃ (13,33 g), H₂O (204 ml) a následné zahřátí na 300 °C; případně čínidlo 3: H₃[P(Mo₃O₁₀)₄] (12 g), EtOH (100 ml) a následné zahřátí na 300 °C). Sloupcová chromatografie produktů byla prováděna na silikagelu Merck Silica gel 60 (0,040–0,063 mm) a Merck LiChroPrep RP-18 (0,025–0,040 mm).

¹H, ¹³C, ¹⁹F a ³¹P NMR spektra byla měřena na přístrojích Varian VNMR S500 a Jeol. JNM-ECZ600R. Chemické posuny (¹H a ¹³C) látek byly změřeny jako hodnoty δ v parts per million (ppm) a byly nepřímou vztaženy k tetramethylsilanu jako standardu pomocí zbytkového signálu rozpouštědla (CDCl₃: 7.24 ppm pro ¹H NMR, 77.0 ppm pro ¹³C NMR; CD₃OD: 3.30 ppm pro ¹H NMR, 49.0 ppm pro ¹³C NMR; acetonitril-*d*₆: 1.93 ppm pro ¹H NMR, 1.3 ppm pro ¹³C NMR; DMSO-*d*₆: 2.49 ppm pro ¹H NMR, 39.7 ppm pro ¹³C NMR; aceton-*d*₆: 2.04 ppm pro ¹H NMR, 29.8 ppm pro ¹³C NMR); chemické posuny ¹⁹F spekter byly nepřímou vztaženy k trifluoroctové kyselině jako externímu standardu (–76.87 ppm); chemické posuny ³¹P spektra byly nepřímou vztaženy k 85% kyselině fosforečné jako externímu standardu (0.00 ppm). Data jsou prezentována v následujícím pořadí: chemický posun (δ), multiplicita (s: singlet, bs /nebo brs/: široký singlet, d: dublet, t: triplet, q: kvartet, dd: dublet dubletů, dt: dublet tripletů, dq: dublet kvartetů, td: triplet dubletů, tt: triplet tripletů, qd: kvartet dubletů, ddd: dublet dubletů dubletů, ddt: dublet dubletů tripletů, dtd: dublet tripletů dubletů, m: multiplet), interakční konstanty (J) udávané v Hz a integrovaná intenzita (v ¹H spektrech).

Teploty tání byly měřeny na přístroji STUART SMP30 a nebyly korigovány. IČ spektra byla měřena na přístroji NICOLET 6700 FT-IR metodou jednodrazové zeslabené úplné reflektance (ATR) s krystalem germania. Hmotnostní spektrometrie byla provedena na přístroji Compact mass spectrometer Expression¹ CMS (Advion, Inc. USA) za využití metody chemické ionizace za atmosférického tlaku (APCI). Hmotnostní spektra s vysokým rozlišením byla měřena na hmotnostním spektrometru s elektrosprejovou ionizací (HR-MS systém Waters Acquity UPLC I-class spojený se Synapt G2Si Q-TOF). Rentgenová difrakční analýza byla provedena na pracovišti Univerzity Pardubice.

Preparativní chirální chromatografie byla provedena na pracovišti Cayman Pharma s.r.o. na aparatuře ECOM (kolona L13/19P – YMC sklo 25×250 mm; stacionární fáze: YMC chirální amyloza,

20 μm ; mobilní fáze: 60 % MeOH ve vodě, průtok 30 ml/min, detekce při $\lambda = 268 \text{ nm}$, tlak 15 bar). Chirální HPLC analýza byla provedena na pracovišti Cayman Pharma s.r.o. na přístroji Agilent 1260 Infinity za použití kolony YMC Chiral AMYLOSE (150 \times 4.6 mm, 5 μm) a 20–40 % ACN roztoku ve vodě jako mobilní fáze. Optická otáčivost byla stanovena na automatickém polarimetru A. Krüss Optronic P3000. Elektronový cirkulární dichroismus (ECD) byl stanoven v Ústavu přírodních léčiv na Farmaceutické fakultě Univerzity Masarykovy v Brně na přístroji JASCO J-815 CD spectrometer.

Výtěžky produktů jsou uváděny pro izolované sloučeniny vykazující jednu skvrnu na TLC desce a bez detekovatelných nečistot pomocí NMR. Identita produktů připravených jinými metodami byla ověřena porovnáním jejich NMR, IR a/nebo MS daty či chováním při TLC. Zahřívání reakčních směsí bylo prováděno na magnetických míchačkách za použití olejové lázně, pokud není uvedeno jinak. Chlazení na nízké teploty (méně než 0 °C) bylo prováděno pomocí chladicího zařízení Julabo FT902 FT Immersion Cooler v ethanolové lázni.

All reagents and solvents were purchased from Merck KGaA (Darmstadt, Germany), BLDPharmatech GmbH (Reinbek, Germany), Fluorochem EU Limited (Cork, Ireland), BDL Czech Republic s.r.o (Turnov, Czech Republic), abcr GmbH (Karlsruhe, Germany), LachNer (Neratovice, Czech Republic) nebo Penta (Praha, Czech Republic) and used without further purification. Solvents (DCM, THF) were dried prior to use: THF was distilled under inert atmosphere from benzophenone-ketyl; DCM was distilled under inert atmosphere from CaH₂, and the other solvents were purchased as anhydrous from Merck KGaA and used without further purification. *Name of compound (sign), name of compound (sign), ..., name of compound (sign)* were used from the laboratory's stock of previously prepared compounds according to the established methodology.

The reactions were carried out under an argon atmosphere in oven-dried glassware using Schlenk line techniques with magnetic stirring and dried solvents. TLC analyses were performed using Merck TLC silica gel F254 TLC plates or Merck Silica gel 60 RP-18 F_{254S} and visualized by UV (254 nm and 366 nm) in combination with staining (staining solution 1: Ce(SO₄)₂·4H₂O (2 g), H₃[P(Mo₃O₁₀)₄] (4 g), conc. H₂SO₄ (10 mL), and H₂O (200 mL) with subsequent heating to 300 °C; staining solution 2: KMnO₄ (2 g), KOH (0,176 g), K₂CO₃ (13,33 g), H₂O (204 ml) with subsequent heating to 300 °C; staining solution 3: H₃[P(Mo₃O₁₀)₄] (12 g), EtOH (100 ml) with subsequent heating to 300 °C). Column chromatography was carried out on Merck silica gel 60 (0.040–0.063 mm) and Merck LiChroPrep RP-18 (0,025–0,040 mm).

The ¹H, ¹³C, ¹⁹F and ³¹P NMR spectra were recorded on a Varian VNMR S500 or a JNM-ECZ600R instruments. The chemical shifts (¹H a ¹³C) were recorded as δ values in parts per million (ppm) reported relative to TMS and referenced to the residual solvent peaks (CDCl₃: 7.24 ppm for ¹H NMR, 77.0 ppm for ¹³C NMR; CD₃OD: 3.30 ppm for ¹H NMR, 49.0 ppm for ¹³C NMR; acetonitrile-*d*₆: 1.93 ppm for ¹H NMR, 1.3 ppm for ¹³C NMR; DMSO-*d*₆: 2.49 ppm for ¹H NMR, 39.7 ppm for ¹³C NMR; acetone-*d*₆: 2.04 ppm for ¹H NMR, 29.8 ppm for ¹³C NMR); the chemical shifts in ¹⁹F spectra were indirectly referenced to trifluoroacetic acid as an external standard (−76.87 ppm); Chemical shifts in ³¹P spectra were indirectly referenced to 85% H₃PO₄ as an external standard (0.00 ppm). The data is presented in the following order: chemical shift (δ), multiplicity (s: singlet, bs /or brs/: broad singlet, d: doublet, t: triplet, q: quartet, dd: doublet of doublets, dt: doublet of triplets, dq: doublet of quartets, td: triplet of doublets, tt: triplet of triplets, qd: quartet of doublets, ddd: doublet of doublets of doublets, ddt: doublet of doublets of triplets, dtd: doublet of triplets of doublets, m: multiplet), coupling constants (*J*) given in Hz and integrated intensity (¹H spectra).

IR spectra were recorded on a Nicolet 6700 FT-IR equipped with an ATR device on a Ge crystal. LR-MS data were obtained on Compact mass spectrometer Expression^L CMS (Advion, Inc. USA) using APCI or ESI. HR-MS data were recorded on a QTOF mass spectrometer using the electrospray ionization or microTOFq spectrometer using chemical ionization. Melting points were determined on a Stuart SMP30 apparatus and are uncorrected. Yields are given for isolated products showing one spot on a TLC plate and no impurities detectable in the NMR spectrum. The identity of the products prepared by different methods was checked by comparison of their NMR, IR, and MS data and by the TLC behavior. Heating of reaction mixtures was provided by an oil bath, unless stated otherwise. Cooling to subzero temperatures was provided by Julabo FT902 FT Immersion Cooler combined with an ethanol bath.