

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

EPR STUDIUM RADIKÁLOVÝCH MEZIPRODUKTŮ H-TRANSFERU Z
KYSLÍKATÝCH, UHLÍKATÝCH
A DUSÍKATÝCH DONORŮ.

DIZERTAČNÍ PRÁCE
DOCTORAL THESIS

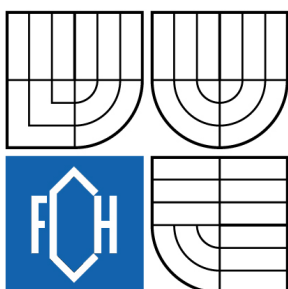
AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Ing. RENATA MAREŠOVÁ

BRNO 2009



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE
FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

EPR STUDIUM RADIKÁLOVÝCH MEZIPRODUKTŮ H-TRANSFERU Z KYSLÍKATÝCH, UHLÍKATÝCH A DUSÍKATÝCH DONORŮ.

EPR STUDY OF RADICAL INTERMEDIATES OF H-TRANSFER FROM OXYGENEOUS,
CARBONEOUS AND NITROGENEOUS DONORS

DIZERTAČNÍ PRÁCE
DOCTORAL THESIS

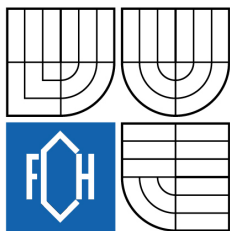
AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Ing. RENATA MAREŠOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

prof. Ing. LADISLAV OMELKA, DrSc.

BRNO 2009



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání dizertační práce

Číslo dizertační práce:	FCH-DIZ0001/2009	Akademický rok: 2009/2010
Ústav:	Ústav fyzikální a spotřební chemie	
Student(ka):	Ing. Renata Marešová	
Studijní program:	Fyzikální chemie (P1404)	
Studijní obor:	Fyzikální chemie (1404V001)	
Vedoucí dizertační práce:	prof. Ing. Ladislav Omelka, DrSc.	
Konzultanti dizertační práce:		

Název dizertační práce:

EPR studium radikálových meziproduktů H-transferu z kyslíkatých, uhlíkatých a dusíkatých donorů.

Zadání dizertační práce:

Metodou EPR spektroskopie budou sledovány procesy přenosu vodíku z vybraných typů fenolických a aminických sloučenin, jakož i sloučenin s kyselou CH vazbou, iniciované účinkem některých typů redox činidel

Termín odevzdání dizertační práce: 15.10.2009

Dizertační práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu dizertační práce. Toto zadání je přílohou dizertační práce.

Ing. Renata Marešová
Student(ka)

prof. Ing. Ladislav Omelka, DrSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.5.2009

doc. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

V rámci disertační práce byly studovány problémy přenosu vodíkového atomu z vybraných typů fenolů, aromatických sekundárních aminů a sloučenin s kyselými C-H vazbami. Tento proces byl iniciován účinkem redox činidel, především PbO_2 , v nepolárních rozpouštědlech. Výsledkem abstrakce vodíkového atomu je vznik radikálových meziproduktů, které byly detekovány metodou EPR spektroskopie. Vzhledem k tomu, že se jednalo většinou o vysoce nestabilní radikály, bylo nutné aplikovat techniku nepřímé detekce, tzv. spin-trapping. Uvedená metoda umožňuje interpretovat charakter generovaných radikálů na základě EPR parametrů aduktů, které vznikají jejich reakcí s vhodně zvolenými sloučeninami, spin-trapy, které se přidávají do reakčního systému. Jako spin-trapy byly použity především aromatické nitrososloučeniny. Jelikož EPR spektra radikálových aduktů jsou v mnoha případech velmi složitá, jejich interpretace byla možná jedině za použití simulace. Na tomto základě byly získány nové poznatky o charakteru adice fenoxylových radikálů na aromatické nitrososloučeniny, stabilitě alkylových substituentů v metylsubstituovaných fenolech a charakteru C-radikálů generovaných ze substituovaných kumarinů a β -diketonů. Zároveň byla u aromatických sekundárních aminů prokázána malá schopnost dusíkatých radikálů, primárních produktů štěpení N-H vazeb, vstupovat do reakce se spin-trapy.

ABSTRACT

Within the PhD. thesis the problems of H-transfer from selected types of phenols, aromatic secondary amines and compounds with acidic C-H bond were investigated. This process was initiated by the action of redox agents, mostly PbO_2 , in nonpolar solvents. The abstraction of hydrogen atom results in the formation of radical intermediates, which were detected by EPR spectroscopy. Because in most cases, highly unstable radicals were produced, it was necessary to apply the technique of indirect detection, so called spin-trapping. This method enables to interpret the character of generated radicals on the basis of EPR parameters of radical adducts, which are formed by their reaction with suitably chosen compounds, spin-traps, which are added to the reaction system. As spin-traps, the aromatic nitrosocompounds were preferentially used. Due to the fact that EPR spectra of radical adducts were in most cases very complex, their interpretation was possible only using the computer simulation. Based on this approach, new information about the character of addition of phenoxyl radicals to aromatic nitrosocompounds, stability of alkyl substituents in methyl substituted phenols and character of C-radicals, generated from substituted coumarines and β -diketones, was obtained. Simultaneously, the small ability of nitrogen radicals, primary products of the splitting of NH bond, to enter the reaction with spin-traps was proved by aromatic secondary amines.

KLÍČOVÁ SLOVA:

EPR spektroskopie; fenoxylové radikály; nitroxylové radikály; spin-trapping

KEYWORDS:

EPR spectroscopy; nitroxyl radicals, phenoxyl radicals; spin-trapping

MAREŠOVÁ, R. *EPR studium radikálových meziproduktů H-transferu z kyslíkatých, uhlikatých a dusíkatých donorů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 107 s. Vedoucí disertační práce prof. Ing. Ladislav Omelka, DrSc.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem disertační práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Disertační práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího disertační práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala vedoucímu mé disertační práce prof. Ing. Ladislavu Omelkovi, DrSc. za odborné vedení, cenné rady, energii a čas, který mi při vypracování disertační práce věnoval.

OBSAH

Obsah	5
1 Úvod	7
2 Cíle práce	8
3 Teoretická část	9
3.1 Fyzikální princip elektronové paramagnetické rezonance	9
3.1.1 Spinový a magnetický moment elektronu	10
3.1.2 Zeemanovo štěpení a rezonanční podmínka	11
3.1.3 Jaderný magnetismus	12
3.1.4 Hyperjemná struktura EPR spekter	13
3.1.5 Spinový hamiltonián	13
3.1.6 g-faktor	14
3.1.7 Analýza EPR spektra	14
3.1.8 EPR spektroskopie v kapalně fázi	16
3.2 Spin-trapping	17
3.3 Kyslíkaté radikály	19
3.3.1 Alkoxyradikály	19
3.3.2 Peroxyradikály	20
3.3.3 Fenoxylvé radikály	21
3.4 Dusíkaté radikály	25
3.4.1 Aminylové radikály	25
3.4.2 Nitroxylvé radikály	26
3.5 Uhlíkaté radikály	27
4 Experimentální část	29
4.1 Seznam chemikálií	29
4.1.1 Rozpouštědla	29
4.1.2 Spin-trapy	29
4.1.3 Redox činidla	29
4.1.4 Ostatní sloučeniny	29
4.2 Experimentální postupy	30
4.3 Metodika měření na EPR spektrometru SpectraNova (E-I-A Warenhandels GmbH, Vídeň)	30
5 Výsledky a diskuse	33

5.1	Radikálové meziprodukty H-transferu z uhlíkatých donorů	33
5.2	Radikálové meziprodukty H-transferu z kyslíkatých donorů.....	48
5.3	Radikálové meziprodukty H-transferu z dusíkatých donorů	64
6	<i>Závěr</i>	67
6.1	Radikálové meziprodukty H-transferu z uhlíkatých donorů.....	67
6.2	Radikálové meziprodukty H-transferu z kyslíkatých donorů.....	67
6.3	Radikálové meziprodukty H-transferu z dusíkatých donorů	68
7	<i>Summary</i>	69
7.1	Radical intermediates of H-transfer from C-donors.....	69
7.2	Radical intermediates of H-transfer from O-donors	69
7.3	Radical intermediates of H-transfer from N-donors.....	70
8	<i>Seznam použitých zdrojů</i>	71
9	<i>Přehled publikační činnosti</i>	74
10	<i>Seznam použitých zkratk</i>	75
11	<i>Seznam příloh</i>	76
12	<i>Přílohy</i>	77
12.1	Příloha č. 1 – Obrázky experimentálních a simulovaných EPR spekter	77
12.2	Příloha č. 2: Kopie publikovaných prací.....	109

1 ÚVOD

Radikálové reakce představují jednu z nejdůležitějších skupin chemických reakcí probíhajících v přírodě. Vysoká reaktivita radikálů je příčinou skutečnosti, že tyto částice vystupují v reakcích převážně jako meziprodukty, které následně vstupují do dalších reakcí, jejichž výsledkem je v konečné fázi vznik neradikálových produktů. Velmi významnou skupinu radikálových reakcí představují reakce přenosu vodíku z nejrůznějších typů H-donorů, přičemž tento přenos se nejčastěji uskutečňuje z donorů kyslíkatých, dusíkatých nebo uhlíkatých. Přenos vodíku z H-donoru na kyslíkaté $\text{RO}_2\cdot$ nebo $\text{RO}\cdot$ ($\text{R} = \text{H}$ nebo alkyl) radikály je základem celé řady významných přírodních procesů. Tento typ reakcí, označovaný v organické chemii jako $\text{S}_{\text{H}}2$ reakce, iniciuje např. u mnohých sloučenin s C-H vazbou (polymery, biopolymery, sloučeniny s polyenovými řetězci) řetězové iniciační mechanismy, jejichž výsledkem je následná totální destrukce těchto látek.

Je rovněž známa významná úloha peroxy- a alkoxyradikálů při procesech stárnutí živých organismů, kdy tyto radikály odštěpují vodík z lipidů jako složek buněčných membrán. Reakce přenosu vodíku z fenolických a aromatických aminických sloučenin představují v porovnání s výše uvedeným přenosem z C-H vazby odlišný problém, neboť výsledkem přenosu je vznik relativně stabilních fenoxylových nebo aminylových radikálů. Ty sice mohou vstupovat do následných reakcí, kterými bývají nejčastěji dimerizace, případně také rekombinace s dalšími kyslíkatými radikály, nicméně kyslíkaté radikály jsou tímto způsobem inaktivovány, čímž dochází k zastavení radikálové řetězové reakce. Tento mechanismus je základem použití celé řady fenolických a aminických sloučenin jako antioxidantů.

K abstrakci vodíku z O-H resp. N-H vazeb může však docházet také redox mechanismem. V jeho rámci vhodně zvolené činidlo působí na příslušný donor tak, že nejdříve dochází ke vzniku kation-radikálu příslušné sloučeniny, po které následuje odštěpení H^+ iontů. Odštěpení vodíku se tedy odehrává ve dvou po sobě jdoucích krocích. Detekce přechodně vznikajících kation-radikálů je právě v důsledku rychlého průběhu druhého stupně reakce velmi ztížená, může se však realizovat v silně kyselém prostředí. Konečnými produkty jsou za těchto podmínek O- nebo N-radikály, jejichž stabilita je ve velké většině případů příliš nízká na to, aby mohly být přímo identifikovány metodou EPR spektroskopie. Na jejich detekci je však možné použít některé speciální techniky, jakými jsou např. průtoková metoda nebo metoda spin-trappingu. U uhlíkatých H-donorů, kde není možné v důsledku absence volného elektronového páru na atomu uhlíku očekávat přechodný vznik kation-radikálu, je nutné předpokládat, že k odštěpení vodíku dochází na povrchu redoxního heterogenního činidla v důsledku zeslabení C-H vazby při jejich adsorpci.

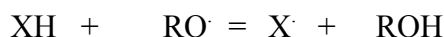
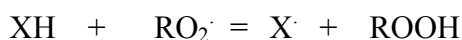
2 CÍLE PRÁCE

V rámci disertační práce „EPR studium radikálových meziproduktů H-transferu z uhlíkatých, kyslíkatých a dusíkatých donorů“ je pozornost zaměřena na identifikaci různých typů radikálových meziproduktů, vznikajících z vybraných organických sloučenin jejich rozkladem na tuhých površích. Radikálové meziprodukty jsou za těchto okolností generovány v heterogenním systému, kde ve funkci iniciátoru rozkladu vystupují redox sloučeniny typu PbO_2 , MnO_2 resp. TiO_2 . Společným znakem těchto reakcí je odštěpení vodíkového atomu z C-H, N-H a O-H vazeb vedoucí ke vzniku nestabilních C-, N- a O- radikálů. Cílem disertace je získání poznatků o charakteru těchto radikálů, a to na základě jejich detekce metodou EPR spektroskopie, přičemž ve většině případů je nutné v důsledku nízké stability vznikajících radikálů aplikovat metodu spin-trappingu. Na základě těchto uvedených cílů disertační práce jsou v rámci teoretické části diskutovány teoretické základy EPR spektroskopie a metody spin-trappingu, jakož i fyzikálně-chemické vlastnosti základních typů radikálových produktů, které jsou generovány v procesu H-transferu z vybraných typů sloučenin. V případě derivátů kumarínu, obsahujících ve své molekule boční řetězcí s kyselými CH-skupinami, se pozornost soustředí na detekci uhlíkatých radikálů jako produktů homolytického štěpení těchto vazeb. Při studiu homolytického štěpení fenolických O-H vazeb, vedoucích ke vzniku fenoxylových radikálů, jsou metodou spin-trappingu ověřovány základní principy, kterými se řídí jejich adice na nitroso-skupinu. Vzhledem k nízké stabilitě mnohých fenoxylových radikálů, zejména těch, které mají neobsazenou resp. částečně obsazenou *orto*-polohu, aplikace uvedené metody se ukazuje jako velmi vhodná pro tento způsob jejich identifikace. Nicméně, na rozdíl od radikálů s lokalizovanou spinovou hustotou, jakými jsou například alkyl-, alkoxy-, a alkylperoxyradikály, aromatický charakter struktury fenoxylových radikálů předurčuje možnost jejich adice v několika aktivních místech. Je tedy možné očekávat vznik několika možných aduktů s nitrososloučeninami. Uvedená složitost tohoto mechanismu je možnou příčinou toho, že spin-trapping fenoxylových radikálů je v literatuře popsán jen velmi skromně. Studium odštěpení vodíkového atomu z N-H vazby vybraných typů sekundárních aromatických aminů je orientováno na identifikaci vznikajících aminylových radikálů nepřímou cestou, metodou spin-trappingu nitrososloučeninami. Také u tohoto typu radikálů je možné v důsledku delokalizace nepárového elektronu po celém aromatickém systému předpokládat jeho adici na NO-skupinu spin-trapu na více aktivních místech.

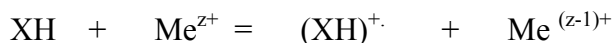
Ve všech studovaných případech jsou výsledkem reakce radikálů, vznikajících odštěpením vodíkového atomu z uhlíkatých, kyslíkatých resp. dusíkatých H-donorů, s molekulou spin-trapu stabilní adukty charakteru nitroxylových radikálů. Zaznamenaná experimentální EPR spektra jsou následně základem pro interpretaci struktury adovaného radikálu. Vzhledem k tomu, že se jedná o adukty, ve kterých nepárový elektron interaguje s velkým počtem jader, což vede k očekávané bohaté hyperjemné struktuře EPR spekter, tato interpretace vyžaduje ve většině případů zapojení metod spektrální simulace. Až na tomto základě je možné vyslovit jednoznačné závěry o struktuře generovaných radikálů.

3 TEORETICKÁ ČÁST

Vznik radikálových meziproduktů odštěpením vodíkového atomu z nejrůznějších H-donorů typu HX je základem mnoha v přírodě probíhajících procesů. Velmi často je tento proces iniciován prostřednictvím jiných typů radikálů, např. $\text{RO}_2^\cdot$, resp. $\text{RO}^\cdot$, které mají funkci H-akceptorů. Výsledkem této reakce je potom vznik radikálu $\text{X}^\cdot$ v průběhu homolytické bimolekulární $\text{S}_{\text{H}2}$ reakce.



Odštěpení vodíkového atomu však může proběhnout také při použití vhodných oxidačních činidel, jakými jsou např. sloučeniny Pb^{4+} (PbO_2 , $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_4$), ale i řada dalších (TiO_2 , MnO_2 , HgO , $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ a pod.). V tomto případě se předpokládá, že k abstrakci vodíkového atomu dochází ve dvou stupních, zahrnujících postupné odštěpení elektronu a H^+ iontu.



Obě uvedené reakce probíhají v neutrálním prostředí velkou rychlostí, čehož výsledkem je detekce $\text{X}^\cdot$ jako jediného radikálového produktu. V kyselém prostředí je možné volbou vhodných experimentálních podmínek pozorovat rovněž kation-radikál $(\text{XH})^{+\cdot}$. Tímto způsobem probíhá odštěpení vodíku především z kyslíkatých a dusíkatých donorů, tedy látek, u kterých je atom X nositelem volného elektronového páru jako zdroje elektronu pro první krok reakce. V případě odštěpení vodíku z uhlíkatých donorů je nutné uvažovat o štěpení C-H vazby jako důsledku komplexního procesu, probíhajícího na povrchu činidla po adsorpci sloučeniny HX.

Vznikající radikály $\text{X}^\cdot$, mající charakter kyslíkatých, dusíkatých resp. uhlíkatých radikálů, se vyznačují rozdílnou stabilitou. Jejich detekce za použití EPR spektroskopie jako nejefektivnější metody identifikace těchto radikálů je v případě nestabilních radikálů možná pouze za použití speciálních technik. Jednou z významných, relativně nenáročných metod je aplikace techniky tzv. spin-trappingu. Právě tato metoda je velmi intenzivně použita v rámci disertační práce. V této kapitole jsou spolu s teoretickými základy EPR spektroskopie popsány základní principy uvedené techniky nepřímého stanovení reaktivních radikálů. Následně jsou prezentovány literární informace o vlastnostech základních typů radikálů, které byly generovány z různých typů H-donorů.

3.1 Fyzikální princip elektronové paramagnetické rezonance

Elektronová paramagnetická rezonance náleží do skupiny magnetických rezonančních metod. Její použití je ale na rozdíl od širokého uplatnění nukleární magnetické rezonance omezené jen na systémy obsahující nepárové elektrony. Jedná se však o velmi citlivou

techniku, schopnou detekovat radikály v koncentracích řádově 10^{-8} M, která poskytuje velmi cenné informace o struktuře a vlastnostech látek.¹

3.1.1 Spinový a magnetický moment elektronu

Elektronu jako částici s nenulovým nábojem je přiřazen vnitřní orbitální (spinový) moment hybnosti krátce označovaný jako spin elektronu. Spinové kvantové číslo volného elektronu má hodnotu $S = 1/2$. V přítomnosti silného vnějšího magnetického pole $\vec{B}$, se uplatňuje magnetické kvantové číslo $M_s = +1/2$ ($\uparrow$) nebo $-1/2$ ($\downarrow$), a s ním spojené spinové funkce α respektive β . Magnetické kvantové číslo je projekcí spinového kvantového čísla do směru siločar vnějšího magnetického pole a celkem může nabývat $2S + 1$ hodnot ($S, S - 1, \dots, -S -$ dvě hodnoty pro elektron). Spin tedy v magnetickém poli zaujímá jen určité diskrétní orientace a to buď paralelně nebo antiparalelně se směrem vnějšího magnetického pole. Pro velikost vektoru spinového momentu platí:

$$|\vec{S}| = \hbar \sqrt{S(S+1)}, \quad (1)$$

kde $\hbar = h/2\pi$ a $h = 6,6262 \cdot 10^{-34}$ J.s je Planckova konstanta.

Složka S_z (ve směru vnějšího magnetického pole) je $S_z = \hbar M_s = +\hbar/2$ nebo $-\hbar/2$, paralelně či antiparalelně se směrem osy z.^{1,2,3}

S existencí spinového momentu hybnosti je spojen také magnetický moment elektronu jako částice s nenulovým nábojem $\vec{\mu}_e$, který je úměrný $\vec{S}$ podle vztahu:

$$\vec{\mu}_e = [g_e(-e)/(2m_e)]\vec{S}, \quad (2)$$

kde $|\vec{\mu}_e| = [g_e e/(2m_e)]\hbar \sqrt{S(S+1)}$ a hodnota ve směru vnějšího magnetického pole $\vec{B}$ je dána rovnicí:

$$\mu_{e,z} = [g_e e/(2m_e)]\hbar M_s. \quad (3)$$

g_e je g -faktor elektronu, který má pro volný elektron hodnotu 2,0023, $e = 1,6022 \cdot 10^{-19}$ C je náboj elektronu, $m_e = 9,1096 \cdot 10^{-31}$ kg je klidová hmotnost elektronu a Bohrov magneton $\mu_B = \hbar e/(2m_e) = 9.2741 \cdot 10^{-24}$ A.m² nebo J.T⁻¹.

Potom
$$\vec{\mu}_e = -[g_e \mu_B / \hbar] \vec{S}, \text{ kde } \mu_{e,z} = -g_e \mu_B M_s = -g_e \mu_B (\pm 1/2) \quad (4)$$

V důsledku záporného náboje elektronu je směr $\vec{\mu}_e$ opačný ke směru $\vec{S}$.

3.1.2 Zeemanovo štěpení a rezonanční podmínka

Na základě svého nenulového magnetického momentu $\vec{\mu}_e$ elektron reaguje s vnějším magnetickým polem $\vec{B}$, energie této interakce je rovna záporné hodnotě skalárního součinu $\vec{\mu}_e$ a $\vec{B}$. Platí tedy:

$$E = -\vec{\mu}_e \cdot \vec{B} = -\mu_{e,z} B = -(-g_e \mu_B M_s) B = +g_e \mu_B M_s B, \quad (5)$$

kde $|\vec{B}| = B$ je velikost indukce vnějšího magnetického pole.

Protože $M_s = \pm 1/2$, původně degenerovaná hladina se v důsledku přítomnosti magnetického pole rozštěpí na dvě hladiny o různé energii:

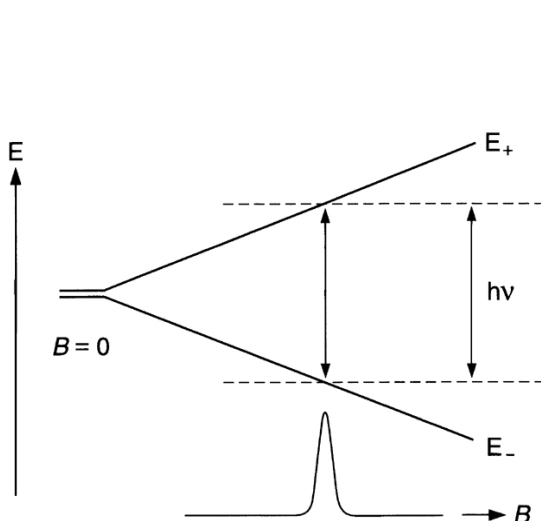
$$E_+ = (+1/2)g_e \mu_B B \text{ a } E_- = (-1/2)g_e \mu_B B \quad (6)$$

Rozdíl $E_+ - E_- = g_e \mu_B B$ se nazývá Zeemanovo štěpení, které je úměrné magnetické indukci B vnějšího magnetického pole. Přechod $E_+ \leftrightarrow E_-$ mezi dvěma hladinami, to znamená spinová inverze $\alpha \leftrightarrow \beta$, může být vyvolán elektromagnetickým zářením $h\nu$, pod podmínkou, že

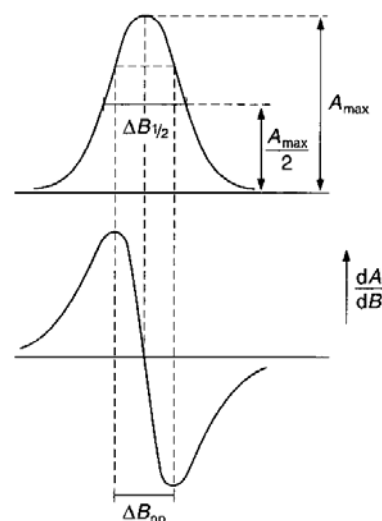
1. směr magnetického pole spojený s tímto zářením je kolmý k ose z vnějšího magnetického pole $\vec{B}$, to znamená, že leží v rovině xy .
2. energie záření je rovna energii Zeemanova štěpení, tedy že

$$h\nu = E_+ - E_- = g_e \mu_B B_r. \quad (7)$$

Tento vztah je zároveň rovnicí rezonanční podmínky v EPR spektroskopii. B_r představuje indukci statického magnetického pole, ν je frekvence zdroje záření, při které se pozoruje přechod elektronu mezi oběma energetickými hladinami (splnění rezonanční podmínky). Po vytvoření rezonanční podmínky tedy zaznamenáme absorpci mikrovlnné energie vzorkem. Rezonanční signál se zaznamenává jako první derivace absorpční křivky (Obr. 3.1.2.1, Obr. 3.1.2.2).



Obr. 3.1.2.1: Zeemanovo štěpení jako funkce magnetické indukce B , rezonanční podmínka.



Obr. 3.1.2.2: EPR absorpce A a první derivace absorpční křivky dA/dB jako funkce magnetické indukce B .

Rezonanční podmínka může být také vyjádřena jako:

$$\nu = g_e (\mu_B / h) B = \gamma_e B \text{ nebo } \omega = g_e (\mu_B / \hbar) B = 2\pi\gamma_e B \quad (8)$$

kde ν (ν Hz = s^{-1}) je frekvence elektromagnetického záření, $\omega = 2\pi\nu$ je úhlová frekvence rovna frekvenci precesního pohybu spinu $\vec{S}$ kolem $\vec{B}$ při rezonanci, jedná se o tzv. Larmorovu frekvenci. Poměr $\nu/B = \gamma_e = g_e \mu_B / h$ se nazývá gyromagnetický poměr elektronu. Pro $g_e = 2,0023$, $\gamma_e = 2,8024 \cdot 10^{10}$ Hz/T = 28,024 MHz/mT.

Rezonanční podmínky může být dosaženo buď změnou frekvence záření při konstantní indukci magnetického pole nebo plynulou změnou indukce magnetického pole při konstantní frekvenci zdroje. Z technických důvodů se volí konstantní frekvence záření při proměnlivém magnetickém poli. Užívá se zejména mikrovlnného záření v takzvaném X-pásmu o frekvenci kolem 9500 MHz, která vyžaduje velikost magnetické indukce kolem 340 mT.

3.1.3 Jaderný magnetismus

Spin a magnetické vlastnosti jádra mohou být popsány analogickými vztahy vztahům pro elektron. Spinová kvantová čísla jádra jsou I a M_I , kde $M_I = I, I-1, \dots, -I$, nabývá celkem $2I+1$ hodnot. Magnetický moment jádra a jeho složka ve směru vnějšího magnetického pole jsou dány vztahy:

$$\vec{\mu}_N = +[g_n \mu_N / \hbar] \vec{I} \text{ a } \mu_{n,z} = +g_n \mu_N M_I, \quad (9)$$

kde g_n a $\vec{\mu}_n$ jsou g -faktor a magnetický moment jádra, a $\mu_N = 5,0508 \cdot 10^{-27}$ A.m² nebo J.T⁻¹ je jaderný magneton.

Spinové kvantové číslo I úzce souvisí se složením jádra, přesněji s počtem neutronů a protonů v jádře. Jádra se sudým počtem neutronů i protonů mají $I = 0$. Patří k nim např. ^{12}C , ^{16}O , ^{32}S atd. Tato jádra jsou čistě nemagnetická a jejich spiny neinteragují se spiny elektronů ani s vnějším magnetickým polem. Méně se vyskytující izotopy ^{13}C , ^{17}O , ^{33}S atd. se sudým počtem protonů a lichým počtem neutronů mají I rovno lichému násobku $1/2$, stejně jako jádra s lichým počtem protonů a sudým počtem neutronů např. ^1H , ^7Li , ^{15}N atd. Konečně jádra s lichým počtem protonů i neutronů mají I rovno sudému násobku $1/2$. Všechna tato zmíněná jádra jsou díky faktu, že $I \neq 0$ magnetická a podléhají interakcím s elektrony i vnějším magnetickým polem.

Chování jader v magnetickém poli při ozáření $h\nu$ je popsáno analogickými vztahy jako chování elektronů. Energie interakce je dána podobným vztahem:

$$E = -\vec{\mu}_n \cdot \vec{B} = -\mu_{n,z} B = +g_n \mu_N M_I B \quad (10)$$

Velký význam jader ve spojení s EPR spektroskopii je v jejich interakci s nepárovým elektronem. Tato interakce způsobuje hyperjemné štěpení EPR spektra, jehož velikost charakterizuje konstanta hyperjemné interakce a_0 , která má pro určitou látku v daném izotropním prostředí charakteristickou hodnotu. Tak toto štěpení poskytuje důležité informace o struktuře organických radikálů.²

3.1.4 Hyperjemná struktura EPR spekter

Volný (nepárový) elektron může interagovat s magnetickými dipólovými momenty částic, jejichž spinový moment $I \neq 0$, např. s různými jádry.^{3,4} Tato interakce má dva příspěvky:

➤ *dipól-dipólová interakce*

má anizotropní povahu, její velikost a charakter tedy závisí na orientaci elektronu vzhledem k vnějšímu magnetickému poli a vzniká v důsledku interakce magnetického dipólového momentu elektronu s magnetickým dipólovým momentem jádra. Pozoruje se pouze u radikálů v tuhých látkách nebo viskóznějších kapalinách. V kapalně fázi zaniká v důsledku neuspořádaného pohybu molekul.

➤ *Fermiho kontaktní interakce*

je izotropní interakcí magnetické povahy, její velikost tedy nezávisí na orientaci radikálu v magnetickém poli. Projevuje se pouze za předpokladu, že alespoň část elektronové hustoty volných částic se nachází na orbitalu s .^{4,5}

3.1.5 Spinový hamiltonián

V EPR spektroskopii jsou zajímavé především ty energetické hladiny, které jsou v nepřítomnosti magnetického pole degenerované. Na popis kvantově-mechanických vlastností těchto energetických hladin ve vnějším magnetickém poli se používá tzv. spinový Hamiltonián, který je pro kapalně (izotropní) systémy zjednodušen na tvar:

$$\hat{H} = g_e \mu_B B \hat{S}_z - g_i \mu_I B \hat{H}_z + a_0 S \hat{H} \quad (11)$$

kde člen $g_e \mu_B B \hat{S}_z$ je funkcí elektronové Zeemanovy interakce, člen $g_i \mu_I B \hat{I}_z$ potom funkcí jaderné Zeemanovy interakce, která se většinou zanedbává, neboť je o několik řádů menší než elektronová. A konečně poslední člen $a_0 S \hat{I}$ je výsledkem působení Fermiho kontaktní interakce a a_0 je konstanta této interakce.¹

Pro magnetické spinové kvantové číslo elektronu platí v EPR spektroskopii výběrové pravidlo $\Delta M_S = \pm 1/2$, neboť v EPR spektrech odpovídá přechod $M_S \leftrightarrow M_S$ nulové změně energie. Jestliže spinový Hamiltonián obsahuje kombinaci jaderných i elektronových operátorů $\hat{I}$ a $\hat{S}$, potom pro povolený přechod platí $\Delta M_I = 0$. Tato výběrová pravidla jsou důsledkem tzv. poruchového řešení Schrödingerovy rovnice.⁶ Ve spektrech můžeme zaznamenat i tzv. zakázané přechody s $\Delta M_S = \pm 2, \pm 3$, $\Delta M_I = 0$, jejich intenzita je však mnohem menší.¹

3.1.6 g-faktor

Poloha signálu, která je charakterizována indukcí magnetického pole B_r , není univerzální veličinou, neboť je spojena s frekvencí ν_r a to vztahem

$$\nu_r = g_e (\mu_B / h) B_r \quad (12)$$

Polohu signálu je proto vhodnější charakterizovat tzv. g-faktorem. Jeho hodnota pro volný atom, ve kterém pohyb elektronů způsobuje vznik orbitálního i spinového magnetického momentu, je dána vztahem:

$$g = 1 + \frac{J(J+1) + S(S+1) - L(L+1)}{2J(J+1)}, \quad (13)$$

kde L , S , J jsou orbitální, spinové a sumární kvantová čísla atomu.¹

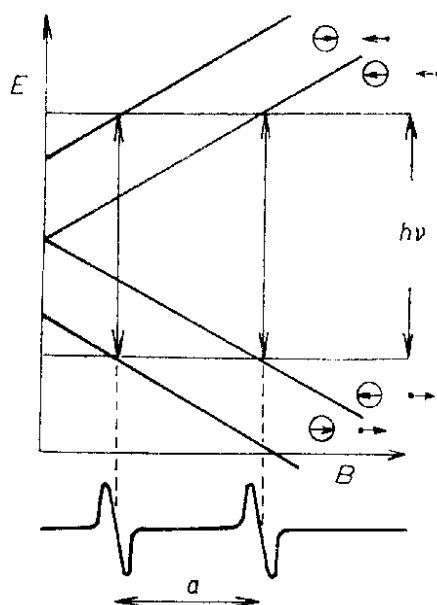
Charakteristickým rysem mnohých volných radikálů a některých přechodných kovů je, že jejich hodnota g je velmi blízká hodnotě g_e . Naopak některé jiné systémy i některé přechodné kovy vykazují od této teoretické hodnoty značné odchylky, ve výjimečných případech byly pozorovány i záporné hodnoty g-faktoru. Odchylka g od g_e závisí na schopnosti vnějšího magnetického pole indukovat v paramagnetické látce lokální magnetické pole.⁴ V případě anizotropních systémů je třeba počítat se závislostí hodnoty g-faktoru na orientaci látky v magnetickém poli. Hodnoty g se udávají v těchto případech v maticovém tvaru. V izotropních systémech je g-faktor identický se středem spektra.^{1,4}

3.1.7 Analýza EPR spektra

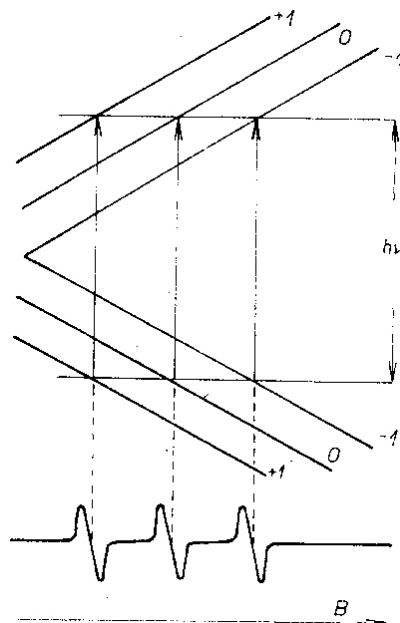
Jádro s $I = 1/2$

Nejjednodušším radikálem je atom vodíku. Magnetický spin protonu ($I = 1/2$), stejně jako spin elektronu ($S = 1/2$) je paralelně či antiparalelně orientovaný se směrem vnějšího magnetického pole. Magnetické pole v okolí elektronu je vzhledem k magnetickému momentu protonu trochu větší nebo menší než vnější pole. Vznikají tak čtyři energetické stavy a v souladu s výběrovými pravidly dva přechody: jedna rezonanční čára přísluší menší

a druhá větší hodnotě indukce magnetického pole, EPR spektrum má charakter dubletu (Obr. 3.1.7.1). Vzdálenost mezi čarami spektra se nazývá štěpící konstanta a zahrnuje mnoho užitečných informací.³



Obr. 3.1.7.1: Hyperjenné štěpení v EPR spektru atomu vodíku



Obr. 3.1.7.2: Schéma hyperjenného rozštěpení energetických hladin nepárového elektronu na jádře dusíku

Jádra s $I > 1/2$

Pokud spin elektronu ($S = 1/2$) interaguje s jádrem atomu, který má jednotkový spin ($I = 1$), jako např. ^{14}N a ^2H (D), vznikne šest spinových stavů a v souladu s výběrovými pravidly je získané spektrum triplet se stejnou intenzitou a vzdáleností čar (Obr. 3.1.7.2).

Systém $I = 3/2$ a $S = 1/2$ (např. ^{63}Cu) má analogicky k výše uvedeným případům osm spinových stavů se čtyřmi rezonančními poli. EPR spektrem je tedy kvartet se stejnou intenzitou a vzdáleností čar.

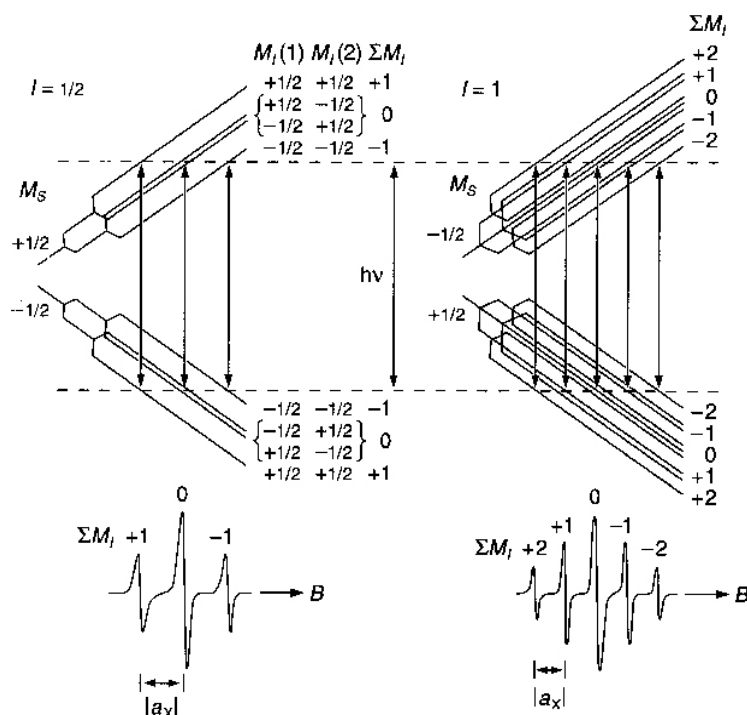
Obecně se tedy spektrum jader se spinovým číslem $I = n/2$ bude skládat z $2I + 1$ stejně vzdálených čar.

Více ekvivalentních jader

Interakce dvou rovnocenných jader s nepárovým elektronem poskytují větší počet orientací spinu, protože se berou v úvahu i jejich různé kombinace. Původně čtyři energetické hladiny pro jedno jádro ($M_S = \pm 1/2$, $M_I = \pm 1/2$) se rozštěpí na šest hladin odpovídajících různým orientacím jaderného spinu ($M_S = \pm 1/2$, $M_I = \pm 1, 0$). Podle výběrových pravidel jsou povoleny tři přechody a spektrem je tedy triplet se stejnou vzdáleností čar a poměry intenzit 1 : 2 : 1. Tento poměr je dán zdvojením hladiny s $M_I = 0$, která je dvojnásobná proti hladinám s $M_I = \pm 1$, neboť dvě kombinace spinu ($\uparrow\downarrow$, $\downarrow\uparrow$) mají stejné výsledné hodnoty.

Obecně tedy interakce s n rovnocennými jádry dává $2n + 1$ stejně vzdálených čar. Relativní výška jednotlivých čar se řídí koeficienty binomického rozvoje ($1 : 1; 1 : 2 : 1; 1 : 3 : 3 : 1; 1 : 4 : 6 : 4 : 1$ atd.). Např. spektrum metylového radikálu má čtyři čáry s příslušnými relativními výškami čar (Obr. 3.1.7.3).

Organické radikály často obsahují několik skupin vodíkových atomů (ekvivalentních jader), což teoreticky vede ke znásobení čar ve spektru a platí: $n = n_1 n_2 n_3 \dots$, kde n_1, n_2, n_3 je počet čar jednotlivých skupin. Ve skutečnosti se však počet čar ve spektru může zmenšovat, pokud štěpící konstanty jedné skupiny ekvivalentních jader jsou násobkem štěpící konstanty jiné skupiny. Potom může docházet ke sčítání čar ve spektru a k vzrůstu jejich intenzity.^{1,2,3}



Obr. 3.1.7.3: Vznik hyperjemné struktury pro dvě ekvivalentní jádra s $I = 1/2$ (vlevo) a $I = 1$ (vpravo).

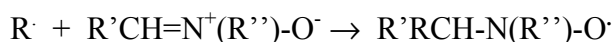
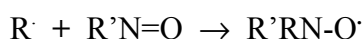
3.1.8 EPR spektroskopie v kapalně fázi

V EPR spektru pozorované hyperjemné štěpení vzorků v kapalně fázi umožňuje posoudit strukturu a distribuci elektronu v molekulách zkoumaných paramagnetických sloučenin. Metoda EPR spektroskopie je sice omezená pouze na systémy obsahující nepárový elektron, její vysoká citlivost však umožňuje studovat i radikálové meziprodukty s krátkou dobou života v chemických a biochemických systémech. Z důvodů velké lability některých radikálů jsou kladeny vysoké nároky jak na výběr vhodných rozpouštědel, tak i ostatních reakčních činidel.^{1,4} Spodní hranicí detekovatelnosti EPR spektroskopie, konkrétně přímé metody detekce, která se využívá při studiu fyziologických procesů, je koncentrace 10^{-8} mol/dm³. Využitím výpočetní techniky, která umožňuje provádět vícenásobnou akumulaci

zaznamenávaných EPR spekter, se potlačí velikost šumu a je možné detekovat koncentraci radikálů okolo 10^{-9} mol/dm³. Metodou nepřímé detekce tzv. spin-trappingu je možné tuto hranici posunout i k nižším hodnotám.^{1,7,8}

3.2 Spin-trapping

Přímé stanovení radikálů s krátkou dobou života v kapalných roztocích pomocí EPR spektroskopie je možné jedině v případě, že tyto radikály jsou produkovány v dostatečných koncentracích, kterých může být dosaženo generováním radikálů fotolyticky a jejich stanovením ve stavu zrodu nebo použitím složitých průtokových technik. Alternativní metodou je adice nestálých radikálů na molekuly vhodné struktury, přičemž vznikají adukty, které se vyznačují vlastnostmi stabilních radikálů, to znamená, že mají delší dobu života a jsou měřitelné při laboratorní teplotě. Proces adice je znám pod názvem spin-trapping a sloučeniny, na něž se radikály adují, se nazývají spin-trapy. Na základě EPR parametrů radikálového aduktu můžeme poukázat na charakter adovaného radikálu. Běžně používanými spin-trapy jsou nitrososloučeniny $R'N=O$ a nitrony $R'CH=N^+(R'')-O^-$, na něž se adují primární radikály s krátkou dobou života $R\cdot$ za tvorby stálých nitroxylových radikálů jako spin aduktů. Tyto reakce jsou velmi rychlé ($k = 10^6$ až 10^8 M⁻¹.s⁻¹).



2-metyl-2-nitrosopropan (t-BuN=O) a *α-fenyl-N-terc-butyl-nitron* jsou nejvíce používané spin-trapy, které reagují s různými typy krátce žijících radikálů, jakými jsou např. radikály alkylové, alkoxylové, acylové, amylové, thiylové, benzylové, stejně tak hydroxylové a fenylové radikály.

Výhodou použití *nitrososloučenin* jako spin trapů je v EPR spektru radikálového aduktu $R'RN-O$ dobře patrné štěpení pocházející od protonů jádra adovaného radikálu $R\cdot$. α protony původního alkylového radikálu se stávají β protony radikálového aduktu a jeho hyperjemné spektrum poukazuje na počet těchto protonů. Při adici fenoxyllových radikálů se štěpící konstanty protonů $|a_H|$ snižují v řadě *para* $\geq$ *orto* $\gg$ *meta*.

Štěpící konstanta a_N nitroxylu závisí na druhu adovaného radikálu resp. na jeho elektrondonorových či elektronakceptorových vlastnostech. V případě alkoxyradikálů se pohybuje od 2,7 do 2,8 mT, v případě thylradikálů od 1,7 do 1,85 mT a acylové radikály mají $a_N = 0,7 - 0,85$ mT.

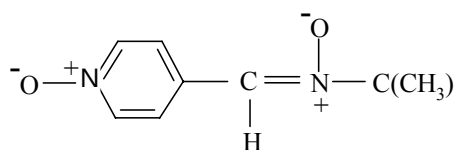
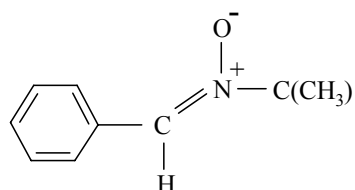
Nevýhodou nitrososloučenin R-NO jako spin-trapů je fakt, že snadno podléhají fotolýze za odštěpení NO a radikálu $R\cdot$, který se sám může adovat na původní trap. Nevýhodou je rovněž náchylnost jejich radikálových aduktů ke zpětnému štěpení na nitrososloučeninu a radikál lišící se od původně adovaného.

Často používané spin-trapy na bázi nitrososloučenin jsou také nitrosobenzen (NB), nitrosotoluen (NT) nebo 2,3,5,6-tetrametylnitrosobenzen (nitrosoduren, ND). Použití nitrosodurenu jako spin-trapu je výhodné z toho důvodu, že v důsledku sterických příčin dochází k vytočení durenového jádra z roviny -NO- a k potlačení konjugace, proto EPR spektra vznikajícího nitroxylového radikálu neobsahují štěpení pocházející od protonů

durenového jádra. Na základě EPR spektra tak může být jednoznačně určen charakter adovaného radikálu.⁹

Ačkoliv *nitrony* jako spin-trapy a adicí vznikající nitroxylové radikály se vyznačují větší stabilitou než tomu je v případě nitrososloučenin, identifikace primárních radikálů R[•] v případě použití nitronů není tak jednoduchá. Příčinou je skutečnost, že EPR spektrum vykazuje kromě štěpení pocházejícího od dusíku výrazné štěpení pocházející od β -protonu nitronového spin-trapu. Hyperjemné štěpení náležející protonům adovaného radikálu není proto příliš patrné. Tvar spektra i velikost štěpících konstant závisí na velikosti překryvu štěpících konstant dusíku nitroxylové skupiny a zmiňovaného β -vodíku. Hodnota štěpící konstanty β -vodíku a_H^β ve výsledném aduktu je ovlivněná zejména velikostí molekuly adovaného radikálu. Obecně lze říci, že pro malé radikály R[•] je štěpící konstanta a_H^β malá. Velikost štěpících konstant radikálových aduktů ovlivňuje i polarita použitého rozpouštědla, s rostoucí polaritou se zvyšuje spinová hustota na dusíku a s ní roste štěpící konstanta dusíku v aduktu.^{1,10,11,12}

Výše zmiňovaný α -fenyl-*N*-terc-butyl-nitron (PBN, Obr. 3.2.1a)) má lipofilní charakter, což omezuje jeho rozpustnost a tím i použití ve vodném prostředí. Na druhou stranu ho tato vlastnost předurčuje k využití jako spin-trapu např. v případě radikálů vznikajících při oxidačních procesech lipidů v buněčných stěnách.^{13,14} Ke studiu radikálových procesů probíhajících ve vodném prostředí se využívá hydrofilnějšího α -(4-pyridyl-1-oxid)-*N*-terc-butyl-nitronu (POBN, Obr. 3.2.1b). Využívá se jej ke spin-trappingu kyslíkem centrovaných radikálů, nevýhodou je však nižší selektivita štěpných konstant aduktů, což stěžuje přesnou charakterizaci adovaného radikálu.



Obr. 3.2.1: a) α -fenyl-*N*-terc-butyl-nitron, b) α -(4-pyridyl-1-oxid)-*N*-terc-butyl-nitron

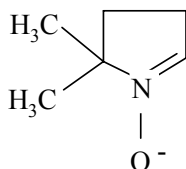
Technika spin-trappingu je často používána v radikálové chemii biologických systémů, kde meziprodukty, obzvláště ty odvozené od kyslíku, vstupují do reakcí ve velmi nízkých koncentracích jako komplexní látka.

Poslední výzkumy v oblasti spin-trappingu popisují aplikaci této techniky na živé buňky pro identifikaci C- a O-centrovaných radikálů ve stavu zrodu a zvětšující se význam této metody v oblasti biologie a medicíny.^{15,16}

Citlivost nitronových spin-trapů k protilátkám a specifita jejich reakcí s volnými radikály činí spin-trapping účinným nástrojem pro detekci proteinových radikálů v biologických systémech. Protilátky se váží na proteinové adukty nitronových spin-trapů např. na 5,5-dimetyl-1-pyrolin-*N*-oxid (DMPO – Obr. 3.2.2). Anti-DMPO byl použit k detekci DMPO-proteinových aduktů produkovaných na myoglobinu a hemoglobinu vznikajících samoperoxidací pomocí H₂O₂.¹⁷

Metoda spin-trappingu byla také použita k EPR studiu fotostability trimetylenových barviv, která se používají v textilním průmyslu k barvení různých materiálů, k barvení plastů, vosků i olejů i jako komponenty inkoustů aplikovaných na různé dokumenty. Vyznačují se

však nízkou fotostabilitou. Pomocí spin-trappingu byly detekovány oxylové radikály (hydroxylové radikály, superoxidy, singletový kyslík) produkované při ozáření vodných, etanolových a dimetylsulfoxidových roztoků trimetylenových barviv, stejně jako k EPR identifikaci $O_2^{\cdot-}$ a 1O_2 produkovaných fotoexcitací barviva na papírovém substrátu. Jako spin-trapy byly použity ND a DMPO (Obr. 3.2.2). Nevýhodou použití nitrosodurenu v tomto případě je jeho relativně malá rozpustnost v polárních rozpouštědlech a fakt, že spin-trapping O-centrovaných radikálů s nitrosodurenem je omezen nízkou stabilitou vzniklých aduktů.¹⁸



Obr. 3.2.2: 5,5-dimetyl-1-pyrrolin-N-oxid

Ke studiu fotodynamických vlastností ketoprofenu [(RS)-2-(3-benzoylphenyl)propanoic acid] resp. ke stanovení volných radikálů (hydroxylové radikály, superoxidy a singletový kyslík) vzniklých ozářením vzorku byl použit jako spin-trap opět DMPO. Ketoprofen se využívá při léčbě zánětlivých onemocnění a muskuloskeletálních zranění. Po styku se světlem se však mohou projevovat jeho nepříznivé účinky jako např. zarudnutí, otoky a nežádoucí pigmentace kůže. Z těchto důvodů byl sledován proces degradace vzorku a mechanismus vzniku volných radikálů po ozáření vzorku.¹⁹

Zajímavé je také použití techniky spin-trappingu ke studiu vlivu přísadky různých aditiv na stabilitu piva²⁰, kde jako spin trap byl použit PBN, ke studiu antioxidačních vlastností čaje²¹ a vína²² při použití POBN a DMPO jako spin trapů.

Technika spin-trappingu je použitelná ke studiu nejrozličnějších typů volných radikálů v rozličných prostředích. Bohužel ne vždy je EPR spektrometr okamžitě k dispozici, proto je důležité najít metodu, která zajistí delší životnost radikálových aduktů.

Byly popsány metody, při kterých byly vzorky spin aduktů zmrazeny a byla možná jejich přeprava k EPR spektrometru. Radikálové adukty 5-diethoxyphosphoryl-5-methyl-1-pyrroline N-oxidu (DEPMPO) byly zmrazeny a byla zkoumána jejich stabilita při 0° v různých intervalech po zmrazení. Radikálové adukty byly připraveny známými metodami a uskladněny při dvou teplotách -196 °C (kapalný dusík) a -80 °C (suchý led). Experimenty byly provedeny ve vodném roztoku v přítomnosti redukčního činidla i bez něj. Výsledky ukazují, že je možné uchovávat a transportovat spin adukty k následné analýze. Využitá metoda byla nazvána „distanční spin-trapping“ a rozšiřuje možnosti použití spin-trappingu v biologii a medicíně.²³

3.3 Kyslíkaté radikály

3.3.1 Alkoxyradikály

Homolytické štěpení O-H vazby ve sloučeninách typu ROH vede pouze tehdy ke stabilním paramagnetickým sloučeninám, když jsou vznikající oxyradikály $RO^{\cdot}$ stabilizovány aromatickým charakterem substituentu R. Z tohoto pohledu je možné považovat za relativně stabilní fenoxyllové radikály (R = fenylové jádro). Alifatické oxylové radikály jsou natolik

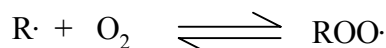
nestálé, že není možné jejich spektroskopické stanovení běžnými experimentálními technikami.²⁴ V těchto případech se osvědčuje např. fotolytický rozklad diperoxidů za nízkých teplot.²⁵ Pro přípravu alkoxyradikálů nelze obecně použít oxidaci alifatických alkoholů, neboť v tomto případě se přednostně štěpí vazba C-H a radikálovými produkty jsou za těchto okolností hydroxyalkylradikály. Terc.butoxylový radikál, který jako jediný vzniká z terc.butylalkoholu štěpením vazby O-H, se rychle rozpadá na aceton a metylradikál.²⁴

Hydroxylový radikál je malý, pohyblivý a velmi reaktivní. Vzniká reakcí superoxidového radikálu a peroxidu vodíku v přítomnosti iontů Fe^{2+} (tzv. Fentonova a Haberova-Weissova reakce). Lze jej připravit i radiolýzou vody nebo fotolýzou peroxidu vodíku. Obecně lze říci, že reakcemi hydroxylového radikálu vznikají nové radikály s nižší reaktivitou.^{26,27,28} Spektrum tohoto radikálu bylo v kapalně fázi zaznamenáno použitím průtokové techniky. Signál sestává z jedné čáry o šířce asi 3 G.

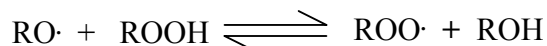
Ozářením odpovídajících hydroperoxidů se podařilo získat n-, sek.-, a terc.butoxylové radikály.²⁴ Obecně je však možné použít na detekci alkoxyradikálů i hydroxylových radikálů techniku spin-trappingu. Tak např. alkoxyradikály vznikající rozpadem ditercbutyperoxalátu byly nepřímo detekovány reakcí s 2-metyl-2-nitrosopropanem za tvorby nitroxylových radikálů.²⁹ V nepolárních rozpouštědlech byly terc.butoxylové radikály detekovány ve formě komplexů s cobaltacetylacetonátem jako singlet s $g = 2,0058$.³⁰

3.3.2 Peroxyradikály

Peroxyradikály mohou být připaveny reakcí alkylradikálů s kyslíkem,

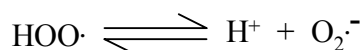


Pokud má radikál $\text{R}\cdot$ dostatečnou stabilitu, může být tato reakce vratná. Další možností přípravy je působení alkoxyradikálů na hydroperoxydy.



Výchozí $\text{R}\cdot$ a $\text{RO}\cdot$ radikály se připravují ozařováním vhodných diamagnetických sloučenin tak, aby byly získány dostatečné koncentrace peroxyradikálů. Peroxyradikály také vznikají reakcí peroxosloučenin se solemi těžkých kovů např. peroxidu vodíku, se solemi obsahujícími ionty Ce^{IV} nebo T^{III} v průtokovém systému.

Radikál peroxidu vodíku byl zkoumán v kapalně i pevné fázi. Signál sestávající pouze z jedné čáry má šířku 20 G a g -faktor od 2,015 – 2,016. Šířka čáry závisí na teplotě. Hyperjemná struktura nebyla pozorována, což je vysvětlováno rychlou výměnou protonů v kyselém prostředí, zatímco v neutrálních roztocích je rovnováha



posunuta na pravou stranu.

Alkylperoxyradikály se získávají ozařováním uhlovodíků, které nejsou zbaveny rozpuštěného kyslíku. Ve spektru se na počátku pozoruje hyperjemné štěpení, které s časem přechází v jedinou čáru o $g = 2,0148$ až 2,0155. Za tento signál vyskytující se pouze u vyšších uhlovodíků jsou zodpovědny peroxyradikály, které se tvoří reakcí alkylradikálů s kyslíkem.

Obdobně mohou být hydroxyalkylradikály vzniklé ozařováním alkoholů v přítomnosti peroxidu vodíku převedeny na peroxysloučeniny za účasti vzdušného kyslíku. Pokud jsou jako výchozí sloučeniny zvoleny alkyl-, n-propyl a etylalkohol, objevuje se ve spektru dublet o šířce několika gausů, který pochází od atomu vodíků navázaného na stejný uhlík jako peroxyskupina.

Ozářením CF_3OF nebo CF_3OOCF_3 při nízkých teplotách se získá spektrum *trifluormetylperoxylového* radikálu, jehož hyperjemná struktura sestává ze dvou tripletů ($a_F^{(1)} = 0,672 \text{ mT}$, $a_F^{(2)} = 0,054 \text{ mT}$). Hodnota g -faktoru $g = 2,0041$ je podstatně menší než v případě jiných radikálů tohoto typu. Pokud je fotolýza provedena v přítomnosti kyslíku vzniká radikál $\text{CF}_3\text{OOO}\cdot$.

Terc.butylperoxylové radikály vznikají ozářením ditercbutylperoxidu, který obsahuje asi 1% *terc.butylperoxidu*. Byla objevena závislost g -faktoru, šířky čáry a koncentrace radikálů na teplotě mezi -157°C a $+20^\circ\text{C}$.²⁴

Všeobecnou vlastností peroxylových radikálů je jejich vysoká reaktivita, z tohoto důvodu jsou volné peroxyradikály detekovatelné pouze za speciálních experimentálních podmínek, a to především EPR měřením za velmi nízkých teplot. Pokud jsou peroxyradikály generovány katalytickým způsobem v přítomnosti iontů přechodných kovů, dochází k prodloužení jejich stability jejich koordinací na katalyzátor. Tímto způsobem byly například detekovány hydroperoxylové radikály spolu s hydroxylovými radikály ve vodných roztocích peroxidu vodíku H_2O_2 za použití průtokové (flow) techniky.^{31,32,33}

Stabilita komplexů peroxyradikálů s katalyzátorem rozpadu peroxysloučenin je podstatně větší v nepolárním prostředí. Za těchto experimentálních podmínek není nutné používat průtokovou techniku a peroxyradikály jsou detekovány jako singletové EPR spektrum s hodnotou $g = 2,014$ za laboratorní teploty již po přidání peroxydické sloučeniny (*t*-butylhydroperoxid, kumenhydroperoxid) k benzenovému roztoku homogenního katalyzátoru (Co^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} -acetylacetonát).^{34,35,36}

3.3.3 Fenoxylvé radikály

Jako fenoxylvé radikály jsou označovány radikály vznikající odštěpením vodíku z molekuly nejen fenolu, ale i jeho různých substitučních derivátů.

Strukturu fenoxylvých radikálů je možné vyjádřit několika mezomerními formami, nepárový elektron molekuly těchto radikálů totiž není lokalizovaný na atomu kyslíku, ale vyznačuje se delokalizací elektronu po celém aromatickém systému (Schéma 13 viz kap. 5.2).^{37,38}

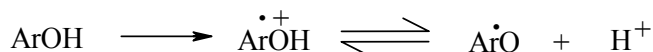
Co se týče stability radikálů tohoto typu, lze říci, že stabilní radikály vznikají, pokud původní sloučeniny obsahují v polohách 2, 4, 6 větší skupiny nebo pokud je přímo s aromatickým kruhem spojen terciární uhlíkový atom nebo uhlíkový atom heterocyklu. V ostatních případech vznikají více či méně nestabilní radikály. Prakticky všechny fenoxylvé radikály existují v jakési monomer-dimerní rovnováze, která je podle okamžitých sterických podmínek posunuta na jednu či druhou stranu.

Hodnoty g -faktoru jsou pro tyto radikály málo charakteristické a mění se s různými substituenty.

Obecně se fenoxylvé radikály připravují oxidací výchozích sloučenin nejrozličnějšími oxidačními činidly. Stabilní fenoxylvé radikály vznikají oxidací fenolů v organických

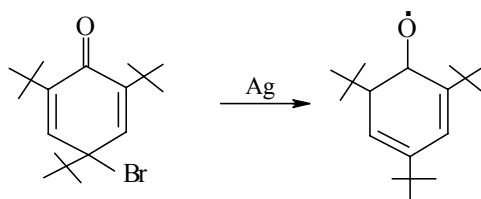
rozpouštědlech s alkalickým roztokem hexakynoželezitanu vápenatého, a to bez vedlejších produktů reakce. Metoda je však omezená na ve vodných zásaditých roztocích nerozpustné fenoly a vylučuje všechna s vodou mísitelná rozpouštědla.²⁴

Jinou variantou oxidace je potom použití oxidů těžkých kovů (PbO_2 , MnO_2 , Ag_2O), kdy se předpokládá, že prvním krokem vzniku fenoxylového radikálu, je vznik kation radikálu, který je následně deprotonizován. Reakce tedy probíhá podle schématu.³⁹



Stejně tak je možné na odštěpení vodíku z fenolické O-H vazby použít peroxy- nebo alkoxyradikály připravené buď fotolytickou nebo katalytickou cestou z různých typů peroxysloučenin. Při tomto způsobu přípravy v důsledku následných reakcí dochází ke vzniku molekulárního kyslíku, který způsobuje nežádoucí rozšíření čar EPR spekter. Abychom tomuto efektu zabránili, je žádoucí z hlediska získání kvalitních EPR spekter před měřením odstranit ze směsi oxidační činidla a zabránit přítomnosti kyslíku ve vzorku jeho probubláním dusíkem.

Další možným způsobem přípravy těchto radikálů je také reakce chinoidních sloučenin obsahujících atom halogenu s práškovým Ag.²⁴



Velmi blízkou metodou k tomuto způsobu přípravy je smíchání fenolu s vhodnou chinoidní sloučeninou, jejímž výsledkem je vznik dvou různých typů fenoxylových radikálů.^{40,41} Vznik radikálové směsi ztěžuje za těchto okolností interpretaci EPR spekter. Jedině v případě krátké životnosti jednoho ze vznikajících radikálů je interpretace výrazně zjednodušená.

Je možné použít i metodu ozařování příslušných fenolů přímo v dutině spektrometru, tak získáváme závislost koncentrace radikálů na čase ozařování.²⁴

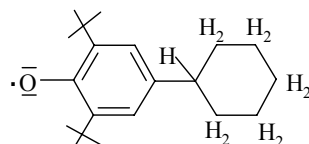
Fenoxyl a alkylfenoxylové radikály

Plně nesubstituovaný fenoxylový radikál je velice nestálý, proto jeho EPR spektrum je možné zaznamenat pouze použitím průtokové techniky. I v tomto případě je ale získán slabý signál, který však umožňuje zjištění příslušných EPR parametrů. Studium různých zástupců tohoto typu sloučenin byly získány štěpící konstanty: $a_{\text{H}_{2,6}}^{(2)} = 0,66 \text{ mT}$, $a_{\text{H}_{3,5}}^{(2)} = 0,18 \text{ mT}$, $a_{\text{H}_4}^{(1)} = 1,01 \text{ mT}$. Uhlovodíkové substituenty mohou nepatrně měnit rozdělení spinové hustoty v těchto radikálech, avšak na výše uvedených hodnotách se to nijak zásadně neprojeví.

Kvalitativně se dá vzájemné působení mezi aromatickým systémem a uhlovodíkovými zbytky jen tehdy lehce prokázat, pokud je na spojovací atom přímo navázán alespoň jeden

vodík. Tak můžeme v EPR spektru jak *2-metylfenoxylu*, tak *4-metylfenoxylu* pozorovat kvartet, který pochází od vodíků metylové skupiny. Jejich štěpící konstanty zhruba odpovídají hodnotám pro nesubstituovaný fenoxyl v příslušných polohách. Pokud jsou ale na uhlík jako spojovací atom napojeny alkylové zbytky (4-etyl, 4-propyl, nebo 4-isopropyl) vykazují jejich β -protony ze sterických důvodů podstatně menší štěpení.

Možnost podrobného zkoumání tohoto problému v případě monosubstituovaných fenoxylů je podstatně snížena jejich nízkou stabilitou. Substitucí těchto radikálů dalšími alkylovými skupinami stabilita značně stoupá a může být použita i teplota do asi 180 °C. Tak byla stanovena štěpící konstanta α -protonu cyklohexylového kruhu *4-cyklohexyl-2,6-diterc.butylfenoxylu* $a_H^\alpha = 0,46$ mT (Obr. 3.3.3.1).



Obr. 3.3.3.1: 4-cyklohexyl-2,6-diterc.butylfenoxyl

Další studií se zjistila závislost této štěpící konstanty na teplotě, kdy s rostoucí teplotou od -50°C do $+180^\circ\text{C}$ roste konstanta od 0,46 do 0,53 mT. Tento vliv teploty je připisován sterickému stínění mezi β -vodíky cyklohexylového kruhu a *meta*-protony fenoxylvého aromatického systému, které při nízkých teplotách způsobuje uspořádání molekul, při kterém jsou α -protony zadržovány v blízkosti roviny fenoxylu. Dodáním energie se aktivuje torzní kmitání kolem vazby $\text{C}_{\text{arom}} - \text{C}_{\text{cyklohexyl}}$, kterým se uvažovaný proton dostává do polohy vhodné pro zapojení do hyperkonjugace.

Kromě toho je ve spektru *4-cyklohexyl-2,6-di-tert.butylfenoxylu* patrné další malé štěpení (kolem 0,05 mT) mající svůj původ ve vzájemné interakci elektronu se čtyřmi protony v β -polohách cyklohexylového kruhu. Podobné malé štěpení můžeme pozorovat u alkylní radikálů jako γ -štěpení. V případě *2,4,6-triterc.butylfenoxylvého* radikálu je ve spektru kromě tripletu přítomno i další štěpení, které je patrné jen při měření roztoků absolutně zbavených kyslíku. Tento příklad názorně ukazuje, jak může mít obsah vzdušného kyslíku ve vzorku vliv na rozlišení spektra.

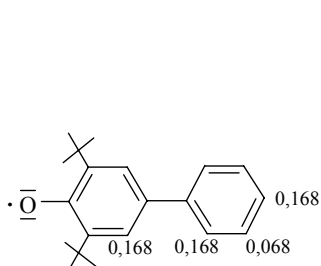
Náročnými experimentálními postupy bylo zjištěno rozmístění spinové hustoty po skeletu fenoxylvého jádra, nejmenší spinová hustota se nachází v *meta*-poloze, zatímco nejvyšší výskyt elektronové hustoty byl nalezen v poloze *para*.

Fenoxylvé radikály s mezomerními substituenty

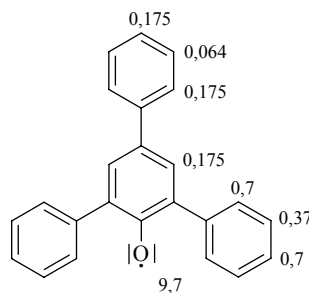
Zavedením vhodných substituentů na aromatický systém se rozšíří konjugace kruhu na tyto substituenty. Na řadě aromaticky substituovaných sloučenin byl v EPR spektru pozorován vliv substituentů na hyperjemnou strukturu. Zatímco v případě *4-fenyl-2,6-diterc.butylfenoxylvého* radikálu (Obr. 3.3.3.2, hodnoty v mT) v EPR spektru pozorujeme hyperjemnou strukturu pocházející od protonů substituentů, vyskytuje se v odpovídajících *orto*-sloučeninách v podstatě jedna čára pouze s náznakem hyperjemného štěpení. Je to dáno sníženou spinovou hustotou v polohách 2 a 6, proto je přeneseno méně elektronové hustoty na substituenty. Mimoto mohou být rozhodující i sterické faktory, např. úhel natočení mezi

aromatickým systémem a fenylovým kruhem poskytují rozdílné hodnoty pro polohy 2 a 4. Obecně však substituenty neovlivňují nijak podstatně štěpící konstanty zjištěné u nesubstituované sloučeniny.

Příkladem fenoxylového radikálu s více jak dvěma substituenty je *2,4,6-trifenylfenoxyl* (Obr. 3.3.3.3, hodnoty v mT), v jehož případě bylo složitými postupy získáno dobře rozlišené spektrum, které bylo podrobně teoreticky zvládnuto pomocí simulací a srovnáním se spektry podobných typů sloučenin a obsahuje asi 100 stejně vzdálených čar.

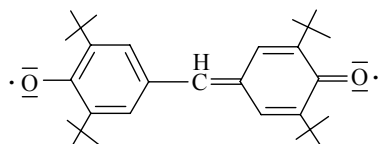


Obr. 3.3.3.2: 2,4,6-trifenylfenoxyl



Obr. 3.3.3.3: 4-fenyl-2,6-ditercbutylfenoxylový radikál

Fenoxylové radikály, u kterých jsou substituenty zcela zahrnuty do konjugace, a které vykazují prakticky zcela symetrické rozdělení spinové hustoty, jsou radikály galvinoxylového typu (Obr 3.3.3.4).



Obr. 3.3.3.4: Radikál odvozený od 3,3',5,5'-tetratercbutyl-4,4'-dihydroxydifenylnmetanu

Oxidací 3,3',5,5'-tetratercbutyl-4,4'-dihydroxydifenylnmetanu vzniká radikál, jehož EPR spektrum obsahuje dublet štěpený na kvintet (jeden vodík z C-H skupiny $a_H^{(1)} = 0,57$ mT, čtyři ekvivalentní protony fenylového kruhu $a_H^{(4)} = 0,13$ mT). Tyto hodnoty potvrzuje také studium vzorků radikálů obsahujících na centrálním uhlíkovém atomu navázaný fenylový kruh. I zde hyperjemná struktura sestává z kvintetu, fenylové jádro se pravděpodobně ze sterických důvodů na radikálové mezomerii nepodílí. Malé štěpení pochází od čtyřech protonů přímo napojených na fenylový kruh, které jsou v tomto případě do značné míry ekvivalentní. Výsledky hovoří o pravidelném rozdělení volných elektronů přes celou molekulu.

Byly popsány také radikály, které vznikají dehydrogenací *naftalenu* a jeho derivátů. Až hodiny stálý je produkt dimerizace β -naftolu. Stabilizace primárních radikálů se provádí zavedením atomu chloru jako substituentu. Potom vzniká dehydrogenací *1,3,4-trichlornaftolu*

stabilní paramagnetická sloučenina, jejíž spektrum sestává z tripletu štěpeného opět na triplet ($a_{H_6} = a_{H_8} = 0,35 \text{ mT}$, $a_{H_5} = a_{H_7} = 0,1 \text{ mT}$).

V posledních letech jsou studie na téma fenoxylových radikálů věnována zejména využití techniky spin-trappingu ke stanovení těchto radikálů metodou EPR spektroskopie. Zvláště byl diskutován problém, která z výše zmiňovaných mezomerních forem fenoxylových radikálů se aduje na spin-trap. Bylo dokázáno, že k adici dochází přes *orto*-polohu fenoxylu, neuplatňuje se tedy místo s nejvyšší spinovou hustotou (*para*-poloha).^{9,42}

3.4 Dusíkaté radikály

3.4.1 Aminylové radikály

Reakce aminylových radikálů $R_1-N^{\cdot}-R_2$, cykl- $N^{\cdot}$ sehrávají důležitou úlohu při interpretaci řady biologických procesů, obzvláště pak při objasnění mechanismu fotolýzy aminických sloučenin. Jak vyplývá ze struktury této skupiny radikálů, vedle nepárového elektronu se na atomu dusíku nachází rovněž volný elektronový pár. Strukturu aminylových radikálů je potom možné vysvětlit buď jejich přiřazením do skupiny π -radikálů nebo σ -radikálů.

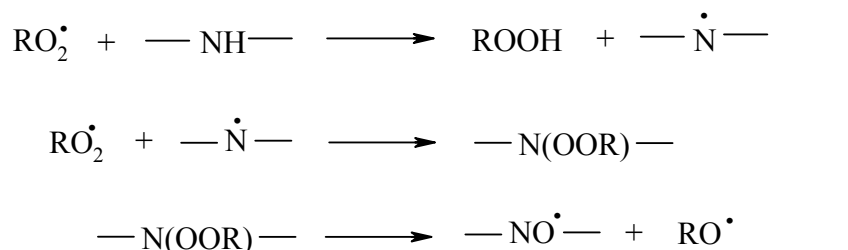
Obecně je možné aminylové radikály připravit dvěma základními metodami, rozkladem hydrazinů buď fotolytickou cestou nebo termicky.

Další možnou cestou přípravy je odštěpení vodíku z primárních nebo sekundárních aminů. Tento způsob přípravy se používá zejména při přípravě diarylaminů. Ve formě oxidačních činidel byly využity látky typu Ag_2O , PbO_2 , $Pb(OAc)_4$. V řadě případů bylo k odštěpení vodíku možné využít stabilní radikály typu difenylpikrylhydrazylu (DPPH) nebo triterc.butylfenoxylu.^{43,44,45,46} V tomto případě se tedy jedná o přípravu aminylu prostřednictvím S_H2 reakce. Jako akceptoru vodíku při jeho odštěpení z atomu dusíku není možné použít peroxy radikály, jelikož v důsledku následných reakcí aminylové radikály, jako produkty prvního kroku reakce v sérii následných reakcí, přecházejí na radikály nitroxylové⁴⁷. Většina aminylových radikálů má velmi krátkou dobu života a jejich příprava se musí provádět za nízké teploty. Jinou možností jejich detekce je aplikace metody spin-trappingu.^{48,49}

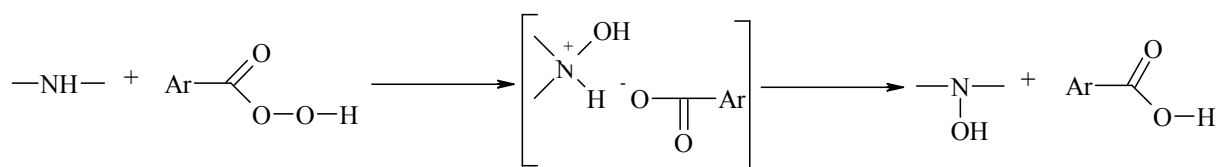
Stabilita aminylů vzrůstá velmi výrazně v případech, kdy nepárový elektron na dusíkovém atomu je delokalizován do aromatického systému jako např. u diarylaminů. Na rozdíl od dialkylaminů, které se dají jednoznačně považovat za π -radikály, arylaminylové radikály je možné zařadit podle charakteru substituentů na fenylovém kruhu jak do skupiny π , tak i do skupiny σ -radikálů. V porovnání s analogickými nitroxylovými radikály je charakteristickým znakem arylaminylů ($R_1-NO^{\cdot}-R_2$ vs. $R_1-N^{\cdot}-R_2$) pokles spinové hustoty na dusíkovém atomu na úkor zvýšení této hustoty v benzenovém kruhu např. v molekule difenylnitroxylu je základní dusíkové štěpení $a_N(NO) = 0,95 \text{ mT}$ a konstanty $a_H(o,p) = 0,19 \text{ mT}$, $a_H(m) = 0,09 \text{ mT}$, v molekule difenylaminylu $a_N = 0,89 \text{ mT}$, $a_H(o) = 0,37 \text{ mT}$, $a_H(p) = 0,434 \text{ mT}$, $a_H(m) = 0,15 \text{ mT}$.⁵⁰ Stejně tak je možné na základě zvýšených hodnot β -štěpení odlišit dialkylaminylový radikál $CH_3-N^{\cdot}-CH_3$ ($a_H(CH_3) = 2,73 \text{ mT}$)⁵¹ od nitroxylového radikálu $CH_3-NO^{\cdot}-CH_3$ ($a_H = 1,23 \text{ mT}$). Dusíkové štěpení se v obou případech odlišuje jen nepatrně.

3.4.2 Nitroxylové radikály

Nitroxylové radikály ($R_1\text{-NO}\cdot\text{-}R_2$, cykl- $\text{NO}\cdot$) představují významnou skupinu radikálových meziproduktů, jejichž generace může být realizována různými cestami. Z nejpoužívanějších metod je třeba uvést oxidaci sekundárních aminů kyslíkatými radikály, která probíhá podle Thomasova mechanismu.⁴⁷

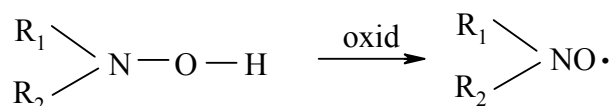


Sekundární aminy je rovněž možné oxidovat na nitroxylové radikály pomocí peroxykyselin, kde však samotný mechanismus generace nitroxylů nemá radikálový charakter.³⁹



Vznikající hydroxylamin v reakčním prostředí ztrácí hydroxylový proton za tvorby nitroxylu.

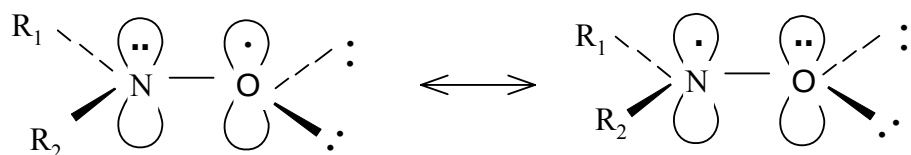
Jinou metodou vedoucí ke tvorbě nitroxylových radikálů je rozštěpení OH-vazby v hydroxylaminech.



Toho je možné dosáhnout např. reakcí s peroxyradikály (S_H2 reakce). Jako oxidační činidla lze rovněž použít látky typu PbO_2 , MnO_2 , Ag_2O apod. Za těchto okolností má odštěpení vodíku charakter redox reakce probíhající ve dvou krocích. Nejdříve dochází k oxidaci na kation-radikál, po které následuje rychlá deprotonizace.

Jednou z dalších cest přípravy nitroxylových radikálů je aplikace metody spin-trappingu buď na nitrososloučeniny nebo na nitrony.

V úvodu zmíněná relativně vysoká stabilita nitroxylových radikálů je způsobena specifickou strukturou nitroxylového fragmentu $\text{—NO}\cdot$. Vazba dusík-kyslík v něm má charakter tříelektronové vazby, což je možné vyjádřit schématem:



Stabilita nitroxylových radikálů je dále významně závislá na charakteru substituentů R_1 , R_2 . Za vysoce stabilní je možné považovat dialkynitroxyly (R_1 , R_2 = alkyl) a diarylnitroxyly (R_1 , R_2 = aromatický kruh). Stabilita diarylnitroxyly v situaci, kdy substituenty R_1 , R_2 jsou fenylová jádra je výrazně závislá na charakteru substituentů na těchto jádrech. Nesubstituovaný nitroxyl (difenylnitroxyl) je stabilní v řádu několika dnů, substitucí v *para*-poloze nezávisle na tom, zda se jedná o substituenty s elektrondonorním nebo elektronakceptorním charakterem, dochází k dalšímu zvýšení stability. Významnou úlohu pro posouzení stability nitroxylu sehrávají rovněž sterické faktory *orto*-substituentů. Ty mohou vyvolat v důsledku prostorové interakce *orto*-substituent-nitroxylový fragment vytočení roviny fenylového kruhu z roviny nitroxylového fragmentu natolik, že dochází ke ztrátě konjugace. To znamená, že nepárový elektron nemůže být delokalizován ve větší míře do aromatického systému takto vytočeného fenylového kruhu, čehož důsledek je, že kromě základního dusíkového štěpení se v EPR spektru pozorují pouze štěpení od atomů prvků nacházejících se v *orto*-nesubstituovaném fenylovém kruhu.⁵²

Oběcně se charakter substituentů R_1 , R_2 velmi výrazně projevuje na hodnotě základního dusíkového štěpení $a_N(\text{NO})$. Z velkého množství experimentálních údajů, které se nachází v katalozích⁵³, je možné podle tohoto štěpení zařadit nitroxylové radikály do několika charakteristických skupin.⁵⁴

Tabulka 1: Hodnoty štěpicí konstanty dusíku $a_N(\text{NO})$ různých nitroxylových radikálů

Nitroxylové radikály	$a_N(\text{NO})/\text{G}$
Dialkynitroxyly	14 – 17
Alkylarylnitroxyly	11 – 14
Diarylnitroxyly	9 – 11
Acylnitroxyly	6,5 – 11
Iminonitroxyly	7,5 – 10
Alkoxyalkynitroxyly	24 - 28
Alkoxyarylnitroxyly	13 - 15

Druhá ze základních charakteristik volných radikálů, hodnota *g*-faktoru, se u převážné většiny nitroxyly nachází v oblasti $g = 2,0050 - 2,0060$. Od aminylových radikálů $R_1\text{-}\dot{\text{N}}\text{-}R_2$ se hodnoty základního dusíkového štěpení v nitroxylech velmi výrazně odlišují svou vyšší hodnotou. Na druhé straně štěpení v rámci substituentů R_1 , R_2 je nižší než v aminylových radikálech, což poukazuje na skutečnost, že v aminylech je spinová hustota ve větší míře delokalizována do těchto substituentů.³⁹

3.5 Uhlíkaté radikály

Volné radikály, ve kterých je spinová hustota lokalizovaná na atomu uhlíku se v porovnání s kyslíkatými a dusíkatými radikály vyznačují podstatně nižší stabilitou. Významnou skupinou tohoto typu radikálů jsou radikály alkylového typu vznikající odtržením vodíkového atomu z molekul alifatických uhlovodíků. Ze strukturálního hlediska nejjednodušší je

metylový radikál, který je možné připravit ozařováním metanu při nízkých teplotách. I když k jeho vzniku dochází v průběhu mnohých reakcí, jedinou možnou technikou jeho detekce je metoda spin-trappingu.

Ke zvýšení stability alkylových radikálů nedochází ani v situaci, kdy je atom vodíku v molekule metylu nahrazen jiným substituentem např. OH-skupinou ($\text{HO-CH}_2\cdot$), nebo CN-skupinou ($\text{NC-CH}_2\cdot$). Hydroxyalkylové radikály je možné pozorovat např. v mnohých reakcích, které se uskutečňují v prostředí metanolu jako rozpouštědla. Stejně tak ke vzniku nitrilalkylových radikálů dochází v reakcích, které se uskutečňují v prostředí acetonitrilu – CH_3CN .

K výraznému zvýšení stability však dochází, jestliže je vodík metylové skupiny nahrazen fenylovým jádrem. Vznikající benzylový radikál ($\text{Ph-CH}_2\cdot$) vykazuje zvýšenou stabilitu v důsledku delokalizace nepárového elektronu do aromatického systému benzenového kruhu.⁵⁵ Tento typ radikálů je možné připravit např. odštěpením vodíku z molekuly toluenu hydroxylovými HO-radikály.

K dalšímu výraznému zvýšení stability dochází, pokud jsou v molekule metylu nahrazeny fenylovým jádrem dva vodíkové atomy (radikály difenylmetylového typu – $\text{Ph-CH}\cdot\text{-Ph}$).⁵⁶ Pokud jsou v molekule metylu nahrazeny všechny vodíkové atomy fenylovými jádery, vznikající radikály trifenylmetylového typu patří již mezi vysoce stabilní radikálové systémy, kterých EPR spektra je možné zaznamenat při laboratorní teplotě bez použití speciálních technik. K výraznému zvýšení stability fenylsubstituovaných metylových radikálů dochází také vhodnou substitucí. Tak např. zatímco čistý benzylový radikál je možné detekovat pouze v průtokovém systému, 2,4,6-triterc.butyl-substituovaný benzylový radikál je možné pozorovat již ve statickém uspořádání měření.⁵⁷

Základní metodou přípravy uhlíkatých radikálů je odštěpení vodíku z CH-vazby. Toho je možné dosáhnout buď působením radikálů jiného typu např. $\text{HO}\cdot$, $\text{RO}_2\cdot$, difenylpikrylhydrazyl (DPPH), kdy mechanismus reakce je takzvaným $\text{S}_{\text{H}}2$ mechanismem nebo působením vhodných oxidačních činidel typu KMnO_4 , $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, AgNO_3 apod.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Seznam chemikálií

4.1.1 Rozpouštědla

benzen 99,5 %, Merck
trichlormetan 99,8 %, Fluka

4.1.2 Spin-trapy

2-metyl-2-nitrosopropan, Sigma Aldrich
nitrosobenzen 98 %, Fluka
2-nitrosotoluen 97 %, Sigma Aldrich
2,3,5,6-tetrametylnitrosobenzen (nitrosoduren)
2,4,6-trichloronitrosobenzen

4.1.3 Redox činidla

oxid olovičitý 97 %, Sigma Aldrich

4.1.4 Ostatní sloučeniny

Radikálové meziprodukty H-transferu z uhlíkatých donorů

Kumariny

Substituované kumariny použité v rámci kapitoly 5.1 byly syntetizovány podle postupu popsaného v literatuře.⁵⁸

Modelové sloučeniny (acetylaceton, acetoctan etylnatý, dietyléster kyseliny malonové, kyselina malonová, amid kyseliny malonové, dibenzoylmetán, dietylizopropylmalonát, dietylfenylmalonát, dibenzoylpropán, dietylsukcinát, dietylsuberát), které jsou komerčními produkty firmy Fluka, byly použity bez dalšího čištění.

Radikálové meziprodukty H-transferu z kyslíkatých donorů

Monofunkční fenoly, jakož i bifunkční monojaderné fenoly byly komerčními produkty (Fluka, Sigma Aldrich, Merck).

Použité 4,4'-alkylidenbisfenoly byly syntetizovány na Ústavu makromolekulární chemie AVČR.

Radikálové meziprodukty H-transferu z dusíkatých donorů

2-aminodifenylamin a 4-aminodifenylamin jsou komerčními produkty firmy Sigma Aldrich.

Použité sekundární aminy (anilinopyrazoly, anilinothiazoly, anilinetetrazoly, anilinobenzimidazoly) byly syntetizovány podle postupů uvedených v literatuře.^{59, 60}

4.2 Experimentální postupy

Radikálové meziprodukty H-transferu z uhlíkatých donorů

K 0,3 cm³ 0,1M benzenového roztoku substituovaného kumarinu resp. modelové sloučeniny byl v EPR kyvetě přidán stejný objem 0,1 M roztoku spin-trapu. Po promíchání bylo k tomuto systému přidáno 10 mg PbO₂. Následně byla vzniklá suspenze probublávána 30 s dusíkem. Použitím tohoto postupu byl zaručen efektivní kontakt tuhé fáze (PbO₂) s roztokem. Současně probublávání s inertním plynem umožňovalo vytvoření optimálních podmínek pro záznam vysoce kvalitních EPR spekter. EPR spektra byla měřena za laboratorní teploty na EPR spektrometru Spectra Nova programem ESRPro. Simulace experimentálních EPR spekter byla provedena za použití simulačního programu WinEPR SimFonia. Za účelem získání vyšší kvality EPR spekter byly v některých případech použity namísto benzenových roztoků roztoky CHCl₃.

Radikálové meziprodukty H-transferu z kyslíkatých donorů

V EPR kyvetě bylo smícháno 0,3 cm³ 0,1M benzenového roztoku fenolu resp. bisfenolu a 0,3 cm³ 0,1 M roztoku spin-trapu. Směs byla promíchána a bylo k ní přidáno 10 mg PbO₂. Aby byl zaručen efektivní kontakt tuhé fáze (PbO₂) s roztokem a vytvořeny optimální podmínky pro záznam co nejkvalitnějších EPR spekter, byla vzniklá suspenze probublávána 30 s dusíkem. EPR spektra byla měřena na EPR spektrometru Spectra Nova za použití programu ESRPro, a to za laboratorní teploty. K simulaci experimentálních EPR spekter byl použit simulační program WinEPR SimFonia.

Radikálové meziprodukty H-transferu z dusíkatých donorů

Stejný objem (0,3 cm³) 0,1M benzenového roztoku aminu a 0,1 M roztoku spin-trapu byl smíchán v EPR kyvetě a k tomuto systému bylo po promíchání přidáno 10 mg PbO₂. Následně byla vzniklá suspenze probublávána dusíkem po dobu 30 s z důvodů zaručení efektivního kontaktu tuhé fáze (PbO₂) s roztokem a vytvoření optimálních podmínek pro záznam vysoce kvalitních EPR spekter. EPR spektra byla měřena za laboratorní teploty programem na EPR spektrometru Spectra Nova a jejich simulace byla provedena za použití simulačního programu WinEPR SimFonia.

4.3 Metodika měření na EPR spektrometru SpectraNova (E-I-A Warenhandels GmbH, Vídeň)

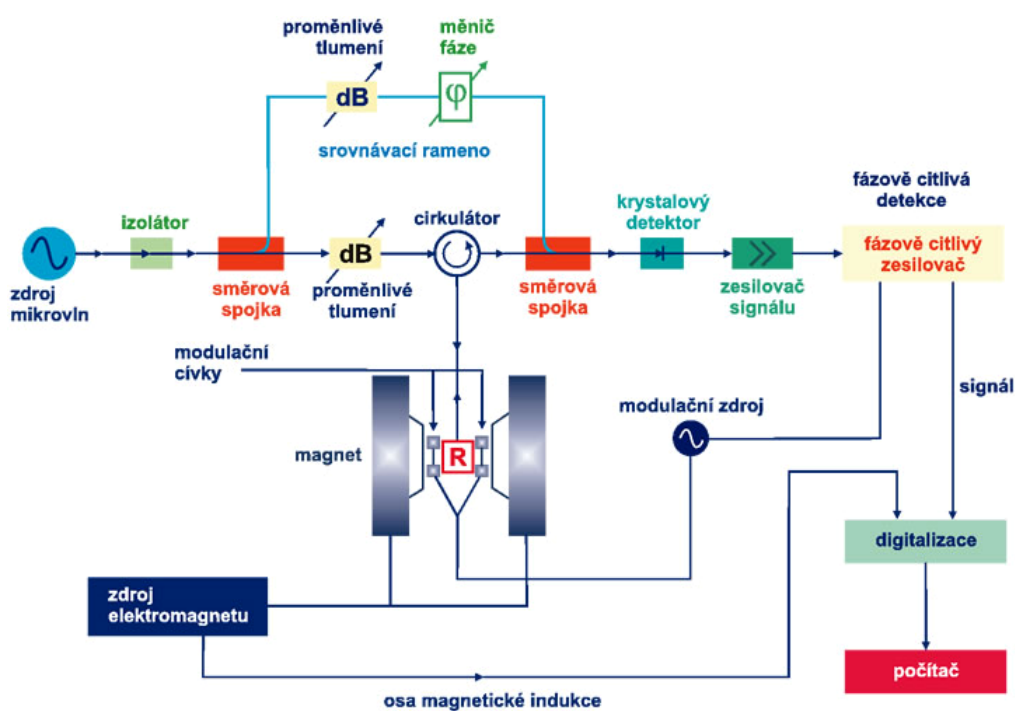
Měření na EPR spektrometru SpectraNova byla prováděna při laboratorní teplotě za použití cylindrických kyvet o průměru 5 mm. Objem studovaných roztoků v kyvetách činil 0,4 ml. Za účelem získání co nejkvalitnějších spekter byly roztoky bezprostředně před měřením probublávány dusíkem pomocí kapiláry přímo v EPR kyvetě. V některých případech bylo potřeba pro získání kvalitnější struktury EPR spektra vzorky dodatečně ředit rozpouštědlem.

Některá speciální EPR měření byla provedena na katedře organické chemie Instituto Superior tecnico v Lisabonu na EPR spektrometru Bruker 200E-SRC.

Naměřená experimentální EPR spektra byla simulována programem WinEPR SimFonia od firmy Bruker.



Obr.4.3.1: Spectra Nova 70-03XD/2



Obr.4.3.2: Experimentální uspořádání

EPR spektrometr SpectraNova pracuje s operační frekvencí 9,1 – 9,6 GHz (X-pásmo) se 100 kHz modulací (typ dutiny: H102), střed pole je 332 mT. Při měření radikálových meziproduktů se používala šířka pole v rozmezí 5 – 7 mT.

5 VÝSLEDKY A DISKUSE

Mnohé organické sloučeniny, rozpustné v nepolárních rozpouštědlech, podléhají radikálovému rozpadu v případě, když nerozpustná sloučenina s redoxními vlastnostmi je suspendována v reakčním systému. Tento proces velmi často probíhá cestou odštěpení vodíkového atomu ze substrátu, který zahrnuje dva kroky, přenos elektronu na redox činidlo a následné uvolnění H^+ iontu. Rovněž některé další mechanismy je při interpretaci tohoto procesu potřeba vzít v úvahu. Generované radikály se vyznačují rozdílnou stabilitou a aplikace EPR spektroskopie na jejich identifikaci zpravidla vyžaduje použití spin-trapping metody. Typickým představitelem radikálových redox iniciátorů je PbO_2 , který byl přednostně použit na studium přenosu vodíkového atomu (H-transfer) z vybraných typů uhlíkatých, kyslíkatých a dusíkatých donorů.

5.1 Radikálové meziprodukty H-transferu z uhlíkatých donorů

Homolytické štěpení C-H vazby, ke kterému dochází působením činidel typu PbO_2 , je charakteristickým znakem chování řady sloučenin, které ve své molekule obsahují CH_2 - resp. CHR -skupinu v sousedství skupiny karbonylové. Účinkem elektronakceptorového charakteru této skupiny dochází k zeslabení vazby uhlík-vodík tak, že homolytické štěpení takové vazby je podstatně efektivnější než v přítomnosti jiných skupin. Při homolytickém štěpení C-H vazby dochází ke vzniku uhlíkatého radikálu, který je vysoce reaktivní. Z uvedeného důvodu není možné očekávat jeho přímou detekci metodou EPR spektroskopie, avšak radikály tohoto typu mohou být velmi lehce detekovány pomocí metody spin-trappingu. Tímto způsobem byly sledovány uvedené radikály při jejich generaci z různých β -diketonů, karboxylových kyselin a esterů.^{61 - 63}

Problémem při interpretaci tvorby uhlíkatých radikálů zůstává objasnění mechanismu odštěpení vodíku z C-H vazby. Zatímco v případě sloučenin, které obsahují NH - resp. OH -skupinu, je toto odštěpení možné vysvětlit dvoukrokovým mechanismem, který v sobě zahrnuje postupnou ztrátu jednoho elektronu z volného elektronového páru na dusíku resp. kyslíku, na který navazuje následná deprotonizace (Schéma 1). V případě odštěpení vodíku z C-H vazeb však tento mechanismus není možné použít, jelikož uhlíkový atom neobsahuje volné elektronové páry. Jediný možný způsob vysvětlení spočívá v tom, že PbO_2 v tomto případě působí jako heterogenní katalyzátor, na který se adsorbují molekuly reagujících sloučenin, přičemž v okamžiku adsorpce na povrchu dochází v důsledku interakce mezi adsorbovanou molekulou a povrchem katalyzátoru (PbO_2) k zeslabení vazeb uhlík-vodík natolik, že tato vazba podléhá homolytickému štěpení (Schéma 2).

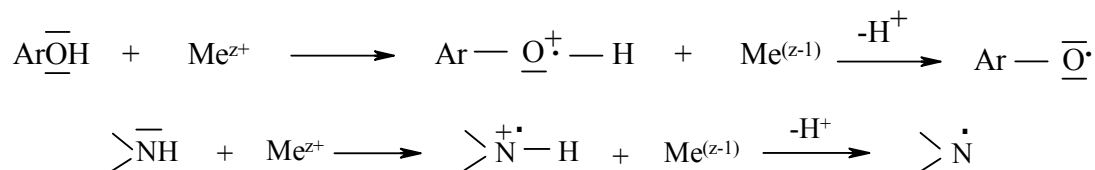


Schéma 1

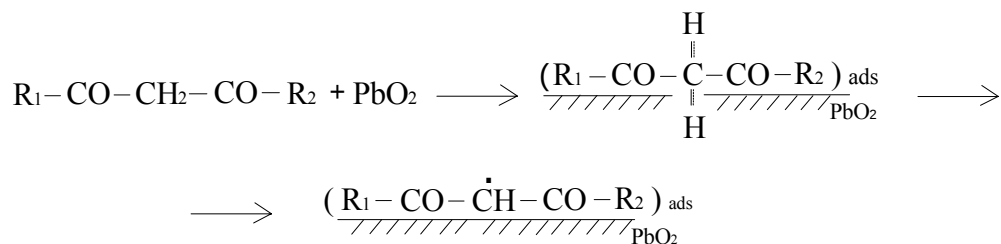
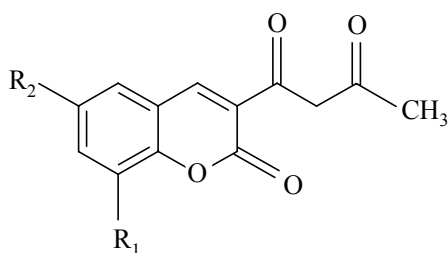


Schéma 2

Tendence k homolytickému štěpení C-H vazby byla pozorována v rámci série kumarinů **1a-1c**, ve kterých je metylenová skupina přítomná v rámci 3-acetoacetylového substituentu. U těchto látek je nutné předpokládat možnost keto-enolové tautomerie (Schéma 3). Stejně tak je pravděpodobný vznik uhlíkatých radikálů v případě struktur **2a-2d**, jejichž možnost keto-enol tautomerie je uvedena také ve Schématu 3. Dalšími strukturami s těmito vlastnostmi jsou sloučeniny **3 a 4**.

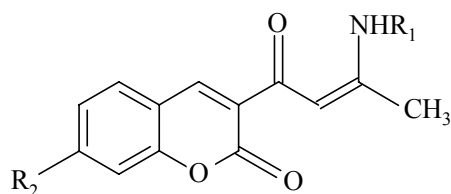


1

1a $R_1 = R_2 = H$

1b $R_1 = OCH_3, R_2 = H$

1c $R_1 = H, R_2 = Br$



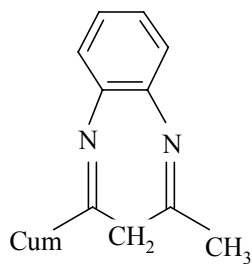
2

2a $R_1 = H, R_2 = N(C_2H_5)_2$

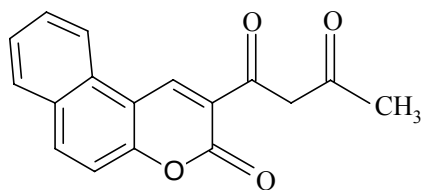
2b $R_1 = CH_2CH(CH_3)_2, R_2 = H$

2c $R_1 = p\text{-}BrC_6H_4, R_2 = H$

2d $R_1 = CH_2-C_6H_5, R_2 = H$



3



4

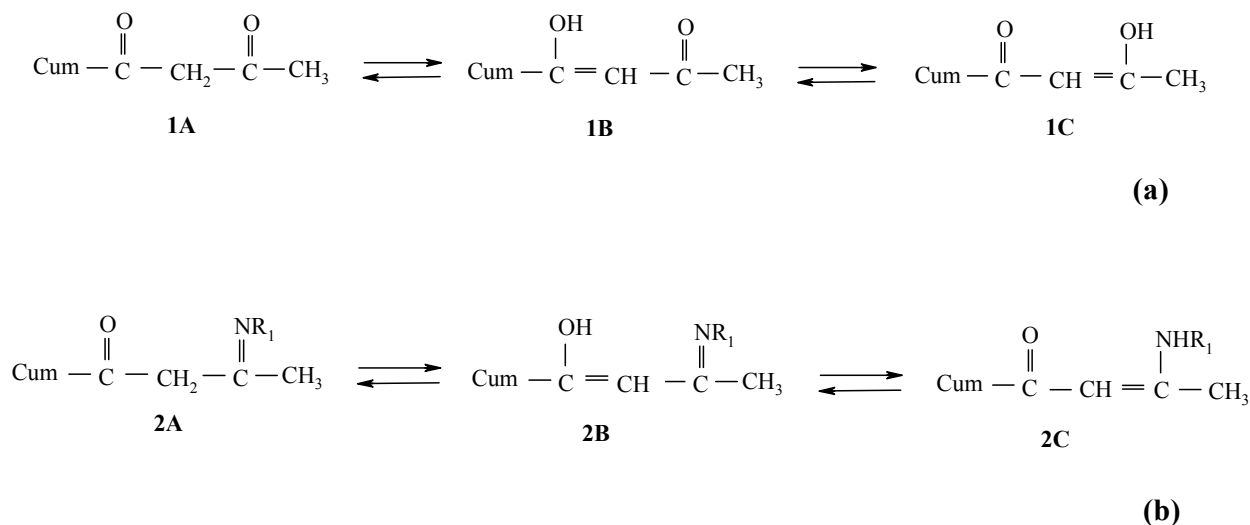


Schéma 3

Pokud byl PbO₂ přidáván k benzenovému roztoku kumarinů **1a** - **1c** a reakční systém podroben EPR měření, nebyl pozorován žádný EPR signál. Tato skutečnost pouze potvrzuje, že vznikající uhlíkaté radikály jsou vysoce nestabilní, tudíž jejich detekce v důsledku rychlých následných reakcí není možná. Tyto nestabilní uhlíkaté radikály je možné nepřímo detekovat pouze aplikací metody spin-trappingu. Bylo zjištěno, že k vzniku nízké koncentrace radikálových aduktů dochází již v případě smíchání roztoku kumarinu a spin-trapu. Tato reakce byla již v minulosti prokázána jinými autory.^{64,65} Vznik aduktů přímou reakcí β-diketonů s nitrososloučeninami byl interpretován na základě mechanismu probíhajícího přes přechodně se tvořící hydroxylaminový anion. Experimentálním faktem zůstává, že několikanásobně vyšší koncentrace radikálových aduktů byla detekována bezprostředně po adici PbO₂ k benzenovému roztoku, ve kterém je současně rozpuštěn kumarin a nitrososloučenina. Tato skutečnost jednoznačně potvrzuje myšlenku, že PbO₂ vystupuje jako velmi účinný iniciátor tvorby uhlíkatých radikálů podle výše uvedeného mechanismu. Na základě EPR parametrů aduktů s různými nitrososloučeninami (nitrosobenzen, nitrosotoluen, 2-metyl-2-nitrosopropan), které jsou zahrnuty do Tabulky 2, je zřejmé, že adovaný radikál obsahuje jeden vodíkový atom v α-poloze. Vycházejíce ze struktury studovaných kumarinů **1a-1c** je jasné, že na povrchu PbO₂ dochází ke vzniku C-radikálů **5a-5c** jako produktů odštěpení vodíkového atomu z metylenové skupiny, která je součástí 3-acetoacetylového substituentu (Schéma 4). Uvedený radikál velmi rychle reaguje s přítomnými nitrososloučeninami, takže výslednými produkty radikálové povahy jsou pak spinové adukty **6a-6c**, **7a-7c** a **8a-8c** (Schéma 4). Experimentální EPR spektra aduktů uvedeného typu jsou uvedena v příloze (Obr.1 – 3).

Tabulka 2: Hodnoty štěpících konstant (mT) měřených radikálů **6a – 6c**, **7a-7c**, **8a-8c**.

Radikálový adukt	Y	Štěpící konstanty (mT)			
		a_N (NO)	a_H (CH)	a_H (Y)	
6a	C ₆ H ₅	1,009	0,488	0,260(3H) ^a	0,096(2H) ^b
6b	C ₆ H ₅	1,018	0,467	0,258(3H) ^a	0,086(2H) ^b
6c	C ₆ H ₅	1,030	0,460	0,270(3H) ^a	0,090(2H) ^b
7a	2-CH ₃ -C ₆ H ₄	1,095	0,400	0,175(2H) ^a 0,180(3H) ^c	0,080(2H) ^b
7b	2-CH ₃ -C ₆ H ₄	1,109	0,395	0,180(5H) ^{a,c}	0,080(2H) ^b
7c	2-CH ₃ -C ₆ H ₄	1,094	0,380	0,180(5H) ^{a,c}	0,080(2H) ^b
8a	(CH ₃) ₃ -C	1,338	0,441	-	-
8b	(CH ₃) ₃ -C	1,325	0,437	-	-
8c	(CH ₃) ₃ -C	1,326	0,424	-	-

^a štěpící konstanty protonů v *orto*- and *para*-poloze

^b štěpící konstanty protonů v *meta*-poloze

^c štěpící konstanty protonů CH₃-skupiny

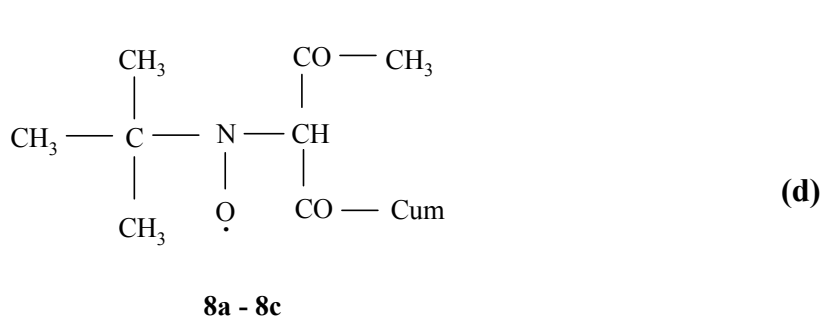
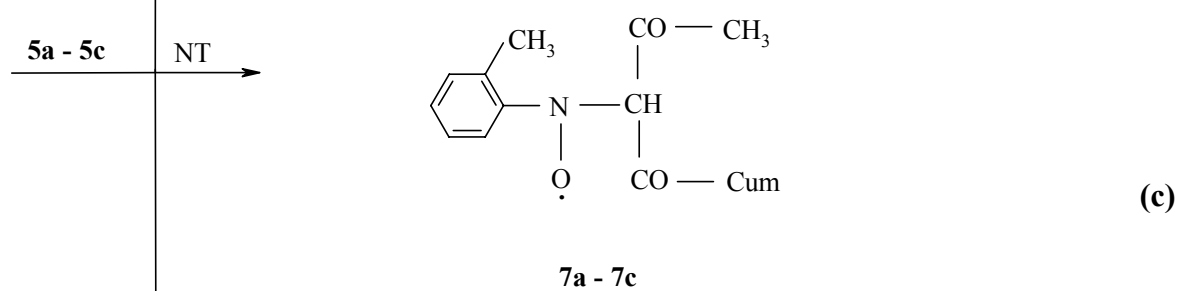
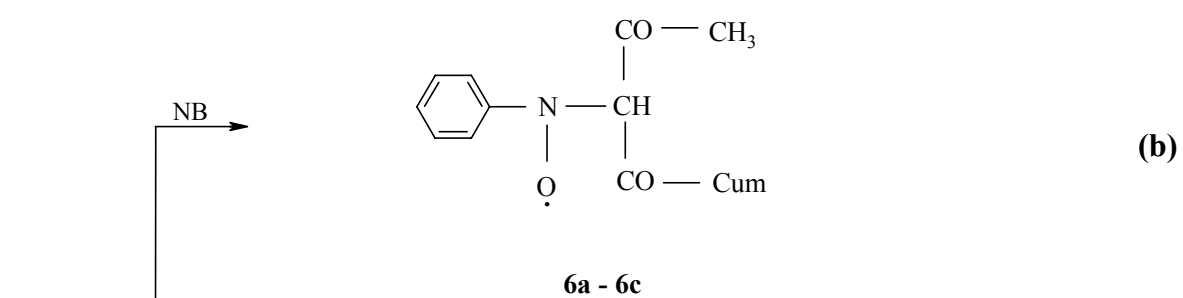
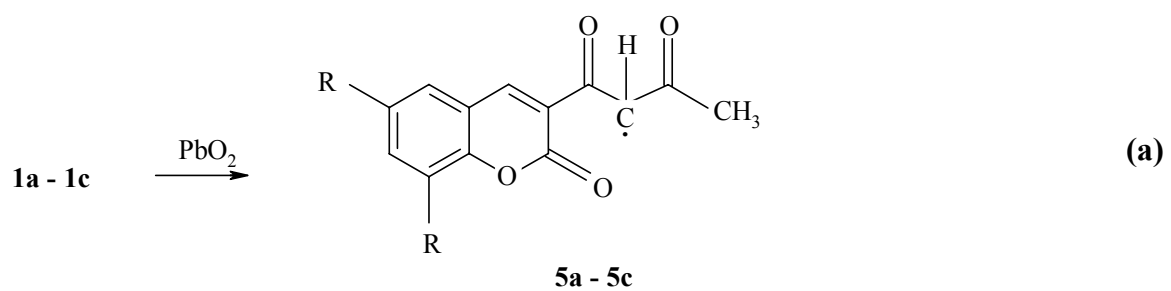


Schéma 4

Uvedené experimentální výsledky zároveň poukazují na skutečnost, že radikálové adukty jsou odvozeny od ketoformy **1A** kumarinu **1a-1c**. V žádném případě nebylo pozorováno EPR spektrum radikálového aduktu, které by dokazovalo adici uhlíkatého radikálu odvozeného od tautomerních forem **1B**, **1C**. Tento fakt byl potvrzen i v případě rozkladu kumarinu **1a** v chloroformu, i když je z literárních zdrojů známo, že v tomto rozpouštědle se v enolické tautomerní formě vyskytuje až 93 % kumarinu. Experimenty se sloučeninou **4**, která v podstatě představuje rozšířenou formu kumarinové struktury, dokázaly, že tato strukturální změna nemá zásadní vliv na charakter rozkladu na povrchu PbO₂. Rovněž v tomto případě dochází k rozkladu na povrchu katalyzátoru za tvorby uhlíkatých radikálů jako produktů odštěpení vodíkového atomu z metylenové skupiny. Uvedená skutečnost je jednoznačně prokázána porovnáním EPR parametrů pozorovaného spinového aduktu s nitrosobenzenem ($1 \times a_N(\text{NO}) = 1,009 \text{ mT}$, $1 \times a_H(\text{CH}) = 0,495 \text{ mT}$, $3 \times a_H(o,p) = 0,262 \text{ mT}$, $2 \times a_H(m) = 0,090 \text{ mT}$) – Obr. 4.

Jednoznačně prokázaná tendence k tvorbě uhlíkatých radikálů z kumarinů obsahujících 3-acetoacetylový substituent byla konfrontována s chováním kumarinů **2**, které ve svém substituentu v poloze 3 obsahují namísto karbonylové skupiny iminosubstituent C=NR¹. I v tomto případě je možné očekávat jejich výskyt v příslušných tautomerních formách **2A**, **2B**, **2C** (Schéma 3). Opět zde vyvstává otázka, která tautomerní forma dominuje při radikály produkující reakci s PbO₂. NMR analýza provedená v případě struktury **2a** v deuterovaném dimetylsulfoxidu poukazuje na jednoznačný výskyt struktury **2C**.⁵⁸ EPR spektrum získané v průběhu reakce sloučeniny **2a** v přítomnosti nitrosobenzenu i v tomto případě jednoznačně dokumentuje, že vznikající C-radikál obsahuje jeden vodíkový atom v α - poloze. Tento radikál se pak následně aduje na NO-skupinu. Znamená to tedy, že i zde k odštěpení vodíku dochází od tautomerní formy **2A** (R¹= H) - Schéma 5. Nicméně nepřímá cesta generace uhlíkatého radikálu **9a** založená na přechodné tvorbě kyslíkatého radikálu ze struktury **2B** resp. dusíkatého radikálu ze struktury **2C** se nedá úplně vyloučit. Zde je nutné předpokládat následnou vnitřní stabilizaci obou výše uvedených typů radikálů, ke které dochází přesunem nepárového elektronu na metylenový uhlíkový atom (Schéma 6). Adice radikálu **9a** byla prokázána také při experimentech, ve kterých byly použity jiné nitrososloučeniny ve formě spintrapů např. nitrosotoluen (NT), 2,4,6-trichlornitrosobenzen (CINB) nebo nitrosoduren (ND). Speciální význam zde sehrávají nitrososloučeniny CINB a ND, které umožňují jednoznačnou interpretaci charakteru adovaného radikálu. EPR spektrum v těchto dvou případech je velmi jednoduché a je tvořeno základním dusíkovým štěpením spolu se štěpením od jednoho vodíkového atomu z adovaného uhlíkatého radikálu (Tabulka 3).

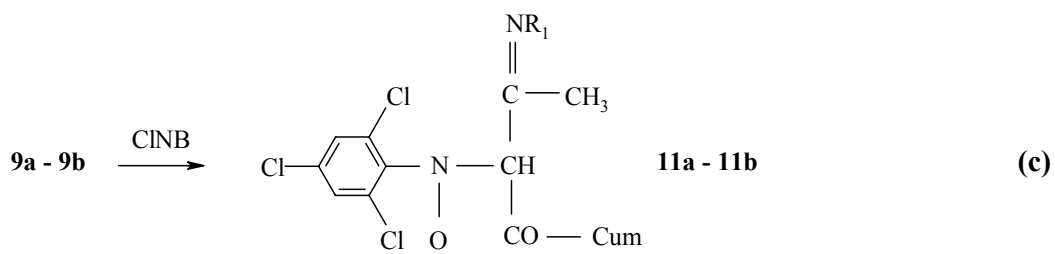
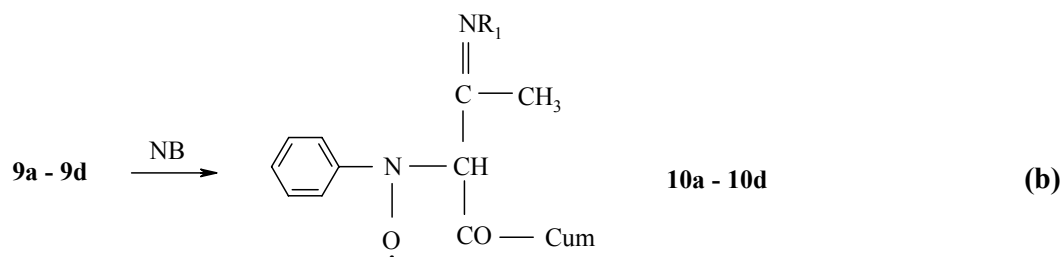
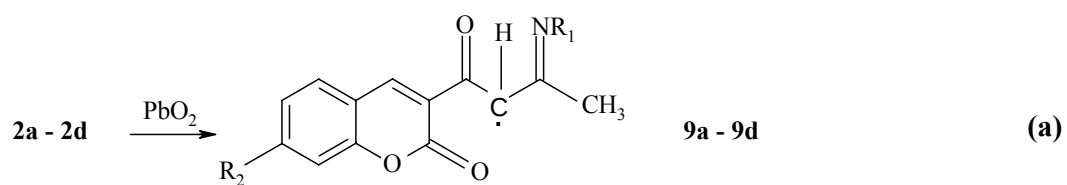


Schéma 5

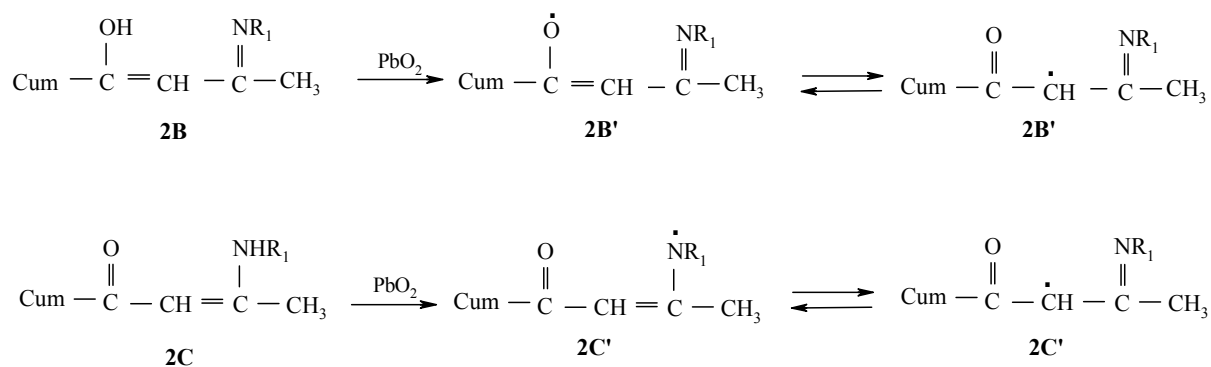


Schéma 6

Tabulka 3: Hodnoty štěpících konstant (mT) měřených radikálů **10a** – **10d**, **11a**–**11b**.

Radikálový adukt	Y	Štěpící onstanty (mT)			
		a_N (NO)	a_H (CH)	a_H (Y)	
10a	C ₆ H ₅	1,022	0,513	0,255(3H) ^a	0,080(2H) ^b
10b	C ₆ H ₅	1,012	0,540	0,261(3H) ^a	0,085(2H) ^b
10c	C ₆ H ₅	1,029	0,525	0,249(3H) ^a	0,087(2H) ^b
10d	C ₆ H ₅	1,025	0,516	0,261(2H) ^a	0,088(2H) ^b
11a	2,4,6-Cl ₃ C ₆ H ₂	1,085	0,401	-	-
11b	2,4,6-Cl ₃ C ₆ H ₂	1,085	0,531	-	-

^aštěpící konstanty protonů v *orto*- and *para*-poloze

^bštěpící konstanty protonů v *m*-position

Podobný způsob rozkladů substituovaných kumarinů **2** je kromě již uvedené struktury **2a** možné očekávat také u struktur **2b** – **2d**. I v tomto případě EPR měření provedená v systému kumarin (**2b** – **2d**) – nitrosobenzen – PbO₂ jednoznačně prokázala adici uhlíkatých radikálů **9b** – **9d**, jelikož jedinými radikálovými produkty potvrzenými simulací EPR spekter byly nitroxylové radikály **10b** – **10d** (Schéma 5b, Tabulka 3, Obr. 5). Při simulaci experimentálních EPR spekter byla uvažována rovněž možnost adice N-centrovaných radikálů (odštěpení vodíku z tautomerní formy **2C**). Simulovaná EPR spektra pro tento typ aduktu jakož i aduktu C-radikálu typu **9** jsou velmi podobná (v prvním případě štěpení pro dusíkový atom je poloviční se štěpením $a_H(\text{CH})$). Rozdíly jsou pouze v intenzitách EPR čar, což při menší kvalitě experimentálního EPR spektra není vždy patrné. Jednoznačné odlišení je však možné dosáhnout aplikací těch nitrososloučenin, které nevnašejí do experimentálního EPR spektra kromě základního dusíkového žádné další štěpení. Použitím CINB bylo jednoznačně prokázáno triplet-dubletové štěpení, které dokazuje, že adice uhlíkatých, ne však N-centrovaných radikálů charakterizuje rozklad kumarinových derivátů **2a** – **2d** na povrchu PbO₂ v přítomnosti aromatických nitrososloučenin (Schema 5c, Tabulka 3, Obr. 6).

V přítomnosti nitrosobenzenu a PbO₂ kumarinový derivát **3**, který se pravděpodobně vyskytuje ve formě tautomerů **3A**, **3B** a **3C** (Schéma 7), poskytuje radikálový adukt, jehož EPR parametry se výrazně neodlišují od parametrů, které byly získány simulací struktur **6a** – **6c** a **10a** – **10d** (Tabulka 2, 3). Tento fakt umožňuje interpretovat reakční mechanismus reakce spin-trappingu podobným způsobem, jaký byl použit pro substituované kumariny **1** a **2**. Znamená to tedy, že i v tomto případě dochází v prvním kroku k abstrakci vodíkového atomu z metylenové skupiny za tvorby radikálu **12** (Schéma 8). Tento uhlíkatý radikál reaguje s nitrosobenzenem za tvorby aduktu **13**, jehož EPR parametry jsou následující: 1 x $a_N(\text{NO}) = 1,030$ mT, 1 x $a_H(\text{CH}) = 0,511$ mT, 3 x $a_H(o,p) = 0,256$ mT, 2 x $a_H(m) = 0,090$ mT. Pokud byl jako spin-trap použit 2-metyl-2-nitrosopropan (MNP), pozorované EPR spektrum jednoznačně vylučuje analogický mechanismus spin-trappingové reakce. Namísto očekávaného štěpení triplet-dublet bylo pozorováno EPR spektrum zobrazené na Obr. 7. Simulace tohoto spektra jednoznačně prokazuje interakci nepárového elektronu se dvěma dusíkovými atomy a jedním atomem vodíku (1 x $a_N(\text{NO}) = 1,340$ mT, 1 x $a_N = 0,530$ mT, 1 x $a_H = 0,720$ mT). Uvedené EPR parametry potvrzují skutečnost, že v tomto případě se na MNP

aduje radikál, ve kterém je spinová hustota koncentrována na atomu dusíku. Tento fakt je možné interpretovat dvěma způsoby. V prvním případě se předpokládá adice aminylového radikálu z tautomerní formy **3B** (Schema 9a, adukt **14**). Druhý způsob interpretace předpokládá homolýzu C-N vazby v tautomerní formě **3B**, jejímž výsledkem je vznik nestabilního biradikálu, který se následně aduje na MNP přes $\text{-HN}^\cdot$ fragment (Schema 9b, adukt **15**, X představuje vodíkový atom abstrahovaný z okolí). V prospěch této alternativy může být navržen rovněž mechanismus vycházející z tautomerní struktury **3C**.

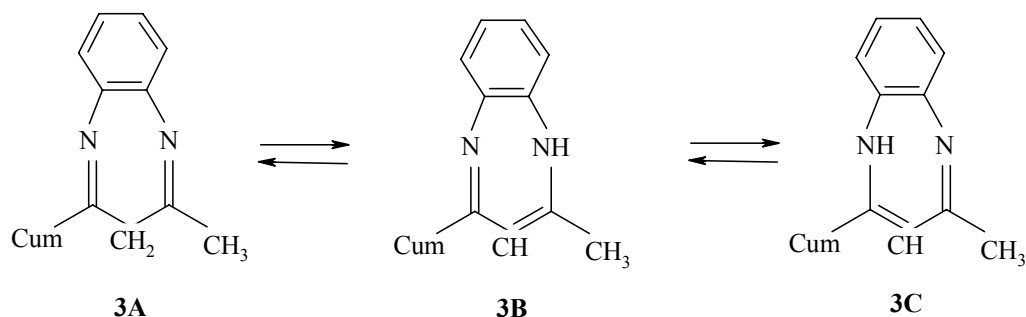


Schéma 7

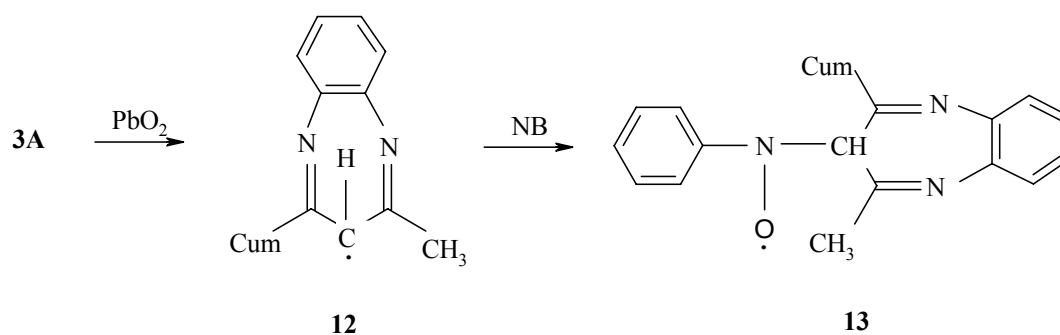


Schéma 8

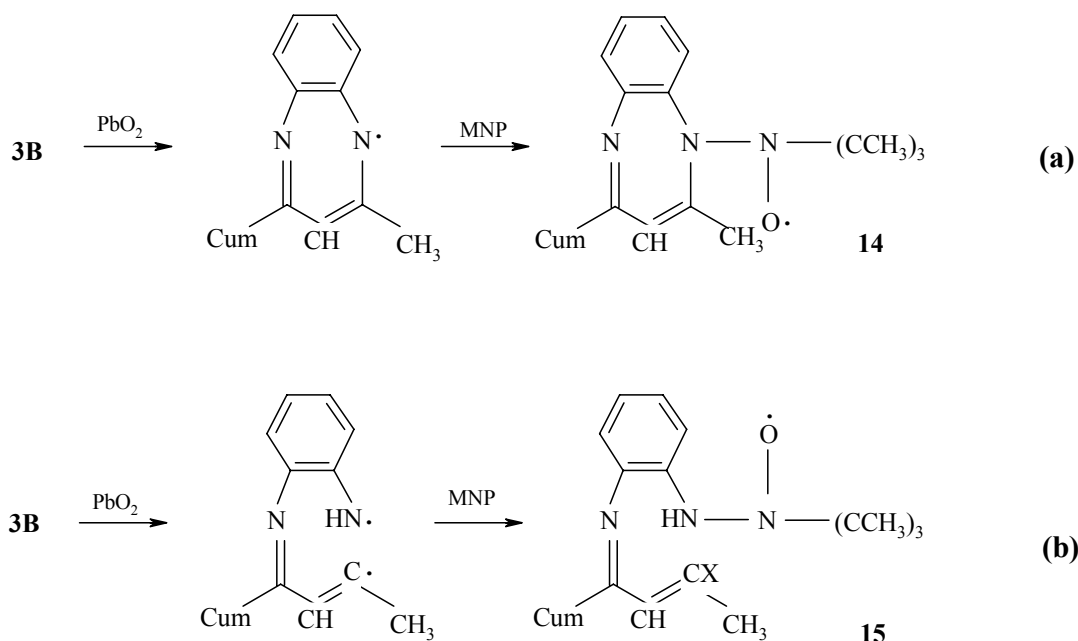
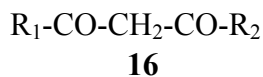


Schéma 9

Experimentální výsledky, jež byly získány při studiu sloučenin **1** – **4**, které je s výjimkou struktury **4** možné považovat za deriváty kumarinu, vedly k dalšímu studiu vhodně zvolených sloučenin, ve kterých se metylenová skupina nachází mezi dvěma karbonylovými skupinami. I v tomto případě se pozornost soustředila na posouzení faktu, zda za uvedených okolností dochází k abstrakci vodíku z této skupiny za tvorby uhlíkatého radikálu. V důsledku očekávané nestability těchto radikálů byla pro jejich detekci zvolena metoda spin-trappingu. Byly studovány následující sloučeniny obecného vzorce **16**.



16a: $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{CH}_3$

16b: $\text{R}_1 = \text{CH}_3, \text{R}_2 = \text{OC}_2\text{H}_5$

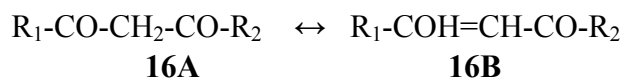
16c: $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{OC}_2\text{H}_5$

16d: $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{OH}$

16e: $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{NH}_2$

16f: $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{Ph}$

Sloučeniny tohoto typu se všeobecně mohou vyskytovat ve dvou izomerních formách **16A** resp. **16B** (keto-enolová tautomerie)



Acetylaceton (16a)

Jestliže byl k benzenovému roztoku obsahujícímu nitrosobenzen a acetylaceton přidán PbO_2 , bylo pozorováno EPR spektrum uvedené na Obr. 8. Metodou spektrální simulace byly stanoveny následující EPR parametry: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,010 \text{ mT}$, $1 \times a_{\text{H}}(\text{CH}) = 0,378 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,260 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,090 \text{ mT}$. Na jejich základě je možné vyslovit konstatování, že PbO_2 iniciuje rozpad C-H vazby v metylenové skupině, což vede ke vzniku uhlíkatého radikálu **17a** (Schéma 10). Ten v následném kroku vstupuje do reakce s nitrosobenzenem za tvorby radikálového aduktu **18a** (Schéma 10). Ukazuje se tedy, že mechanismus reakce PbO_2 s acetylacetonem je analogický s mechanismem pozorovaným u výše diskutovaných 3-acetoacetyl substituovaných kumarinů **1**. Je zajímavé, že radikálový adukt struktury **17a** je možné pozorovat v podstatně nižší koncentraci i v případě smíchání roztoku acetylacetonu s nitrosobenzenem (bez přítomnosti PbO_2). Uvedený experimentální fakt byl prokázán v minulosti Boothem a spol.⁶⁴ při reakci acetylacetonu s trifluoronitrosometanem. Autoři interpretovali tuto reakci velmi složitým neradikálovým mechanismem, ve kterém dochází k přechodné tvorbě hydroxylaminu. Zároveň bylo zjištěno, že při změně poměru spin-trap/acetylaceton je možné pozorovat EPR spektrum aduktu odvozeného od enol-formy acetylacetonu. V našem případě ovšem jednoznačně probíhá pouze adice radikálu odvozeného od keto-formy, adukt od enol-formy nebyl v žádném případě pozorován. Ke vzniku jednoho typu aduktu odvozeného od keto-formy docházelo i v případě 3-acetoacetylkumarinů **1**. Jeden typ aduktu byl pozorován rovněž při experimentech, při kterých byl pro abstrakci vodíku použit namísto PbO_2 difenypikrylhydrazyl (DPPH). I zde se jednalo o adukt odvozený od keto-formy. Radikálový adukt **19** jako výsledek spin-trappingu uhlíkatého radikálu po odštěpení vodíku z CH_2 -můstku byl detekován rovněž při aplikaci nitrosotoluenu za stejných experimentálních podmínek. EPR spektrum vykazuje následující EPR parametry: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,085 \text{ mT}$, $1 \times a_{\text{H}}(\text{CH}) = 0,270 \text{ mT}$, $5 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,180 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,080 \text{ mT}$ (Obr. 9a). K vzniku aduktů C-radikálů od keto-formy dochází rovněž při aplikaci MNP jako spin-trapu, což potvrzují naměřené štěpící konstanty: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,320 \text{ mT}$, $1 \times a_{\text{H}} = 0,320 \text{ mT}$ (Obr. 9b).

Studovaný acetylaceton je ve formě ligandu přítomen v komplexech s mnohými přechodnými kovy (acetylacetonáty přechodných kovů). Proto byla pozornost soustředěna rovněž na chování acetylacetonu ve formě acetylacetonátového ligandu **20**, kde jako centrální kov byl použit Co^{2+} (acetylacetonát kobaltnatý). Zde byla posuzována především možnost odštěpení vodíkového atomu metinové skupiny jako součásti ligandu oxidem olovičitým. V tomto případě však experimentální výsledky vedou k závěru, že vysoké koncentrace radikálových aduktů se získávají už při smíchání roztoku nitrosobenzenu s acetylacetonátem kobaltnatým (Obr. 10). Jelikož v EPR spektru jsou kromě dusíkového štěpení zastoupena pouze štěpení od protonů fenylového jádra ($1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,430 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,276 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,085 \text{ mT}$), je třeba předpokládat, že dochází v průběhu reakce k odštěpení acetylacetonátového ligandu ve formě radikálu, přičemž v následném kroku se tento radikál váže na spin-trap pravděpodobně přes kyslíkový atom (radikálový adukt **21**). K podobným závěrům se dochází i při použití analogické sloučeniny dibenzoylmetanoátu kobaltnatého, u kterého se generuje velké množství radikálového aduktu již při pouhém smíchání benzenového roztoku této sloučeniny s nitrosobenzenem. V tomto případě však na rozdíl od výše uvedené reakce s acetylacetonátem kobaltnatým se v EPR spektru navíc pozoruje štěpení od jednoho vodíkového atomu ($1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 0,990 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,268 \text{ mT}$, $2 \times$

$a_{\text{H}}(m) = 0,090 \text{ mT}$, $1 \times a_{\text{H}} = 0,603 \text{ mT}$). Dá se tedy vydedukovat, že reakcí nitrosobenzenu s dibenzoylmetanoátem kobaltnatým dochází po odštěpení ligandu z komplexu k tvorbě aduktu **22** (Obr. 11).

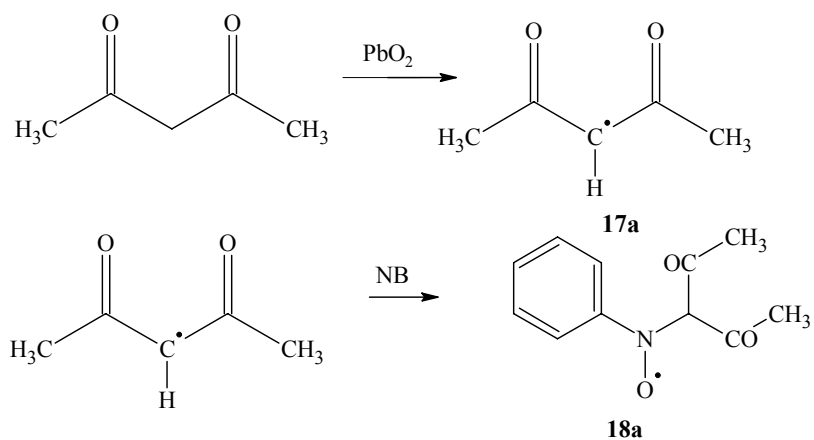
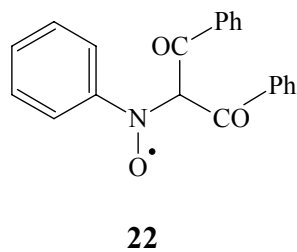
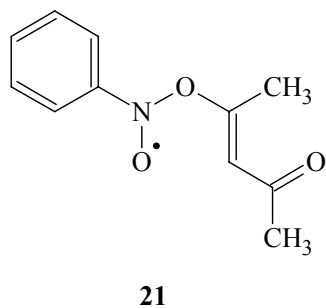
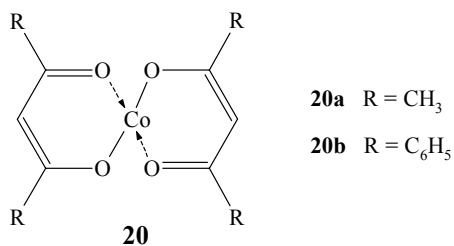
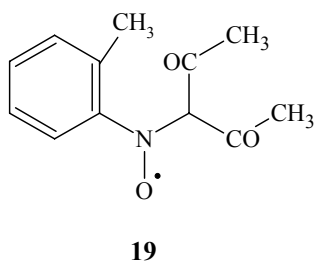
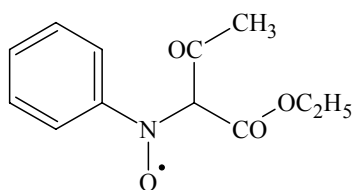


Schéma 10



Acetyloctan etylnatý (16b)

Tuto sloučeninu je možné považovat za β -diketon, a i zde je proto možné uvažovat o jejím výskytu ve dvou tautomerních formách (keto-enolová tautomerie). EPR spektrum (Obr. 12) dokazuje, že v přítomnosti PbO_2 dochází u této sloučeniny k ataku CH_2 -metylenové skupiny za vzniku příslušného uhlíkatého radikálu. Jeho adicí na nitrosobenzen vzniká spinový adukt **23**, který je charakterizován následujícími štěpícími konstantami: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,000 \text{ mT}$, $1 \times a_{\text{H}}(\text{CH}) = 0,420 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,275 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,090 \text{ mT}$. Znamená to tedy, že chování acetyloctanu etylnatého v přítomnosti PbO_2 a nitrosobenzenu je identické s chováním acetylacetonu za stejných podmínek. Při použití nitrosotoluenu EPR spektrum vykazuje následující štěpící konstanty: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,105 \text{ mT}$, $1 \times a_{\text{H}}(\text{CH}) = 0,230 \text{ mT}$, $5 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,180 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,080 \text{ mT}$. Adice C-radikálu byla v případě sloučeniny **16b** pozorována i při použití MNP. Detekované EPR spektrum je charakterizováno následujícími štěpícími konstantami: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,330 \text{ mT}$, $1 \times a_{\text{H}}(\text{CH}) = 0,330 \text{ mT}$ (Obr. 13).



23

Dietyléster kyseliny malonové (16c)

Přídavek PbO_2 k benzenovému roztoku sloučeniny **16c** vede v přítomnosti nitrosobenzenu k detekci EPR spektra, které je uvedeno na Obr. 14. Simulací byly získány následující EPR parametry: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,012 \text{ mT}$, $1 \times a_{\text{H}}(\text{CH}) = 0,495 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,270 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,080 \text{ mT}$. Tyto hodnoty dokazují adici C-radikálu od ketoformy na nitrosobenzen. Pozoruhodný je v tomto případě nárůst štěpící konstanty β -vodíkového atomu v porovnání se sloučeninou **16b** o více než $0,2 \text{ mT}$ a o $0,1 \text{ mT}$ v porovnání s **16a**. Tuto skutečnost je možné interpretovat na základě sterického efektu vyvolaného přítomností $\text{C}_2\text{H}_5\text{-O}$ -skupin na NO-fragment. Použití MNP vede ke tvorbě aduktu se štěpícími konstantami: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,340 \text{ mT}$, $1 \times a_{\text{H}}(\text{CH}) = 1,330 \text{ mT}$. Aplikací nitrosotoluenu jako spin-trapu bylo získáno, podobně jako v případě sloučeniny **16a**, EPR spektrum radikálu, kterého struktura je analogická ke struktuře aduktu **19**.

Kyselina malonová (16d) a amid kyseliny malonové (16e)

Pokusy směřující k ověření mechanismu odštěpení vodíku z metylenové skupiny nebyly v případě sloučenin **16d** a **16e** úspěšné z důvodů velmi malé rozpustnosti těchto látek v benzenu. Z uvedeného důvodu bylo použito další rozpouštědlo (chlorbenzen), který je považován za lepší solvent pro obě látky. Ani tato změna rozpouštědel však nevedla k úspěchu. Otázka rozpadu těchto sloučenin v přítomnosti PbO_2 zůstává proto otevřená.

Dibenzoylmetán (16f)

Dibenzoylmetán **16f** poskytuje oxidací s PbO_2 v přítomnosti nitrosobenzenu EPR spektrum se štěpicími konstantami: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 0,990 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,268 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,090 \text{ mT}$, $1 \times a_{\text{H}} = 0,603 \text{ mT}$. Jak již bylo uvedeno v předcházející části, podobné spektrum bylo pozorováno v případě přidavku PbO_2 k roztoku kobaltdibenzoylmetanoátu. Skutečnost, že do štěpicích konstant vstupuje rovněž štěpení od jednoho vodíkového atomu od výchozí sloučeniny, je možné interpretovat opět pouze tvorbou aduktu **22**. Navíc tento výsledek dokazuje, že vznik EPR spektra z kobaltdibenzoylmetanoátu je důsledek odštěpení ligandu v průběhu reakce s PbO_2 . Podobný typ aduktu byl pozorován i v případě, že dibenzoylmetán byl rozkládán s PbO_2 v přítomnosti nitrosotoluenu. Získané EPR spektrum (Obr. 15) bylo simulováno s následujícími štěpicími konstantami: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,050 \text{ mT}$, $5 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,180 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,080 \text{ mT}$, $1 \times a_{\text{H}} = 0,525 \text{ mT}$.

V rámci studia možnosti odštěpení vodíkového atomu ze skupin, které se nachází mezi dvěma karbonylovými skupinami, byla provedena další série experimentů, ve kterých byla metylenová skupina nahrazena:

- a) skupinou $-\text{CHX}-$ ($\text{X} = \text{isopropyl, fenyl}$)
- b) skupinou $-(\text{CH}_2)_n-$ ($n = 2, 3 \text{ a } 6$)

V rámci první skupiny studované sloučeniny (dietylizopropylmalonát, dietylfenylmalonát – $\text{R} = \text{C}_2\text{H}_5\text{O}$) vykazují v případě použití PbO_2 za přítomnosti NB obdobné vlastnosti jako sloučeniny **16a** až **16c**. Znamená to tedy, že PbO_2 abstrahuje vodíkový atom CHX -skupiny za tvorby uhlíkatého radikálu, který se následně aduje na nitrososloučeninu. EPR spektrum radikálového aduktu už v tomto případě neobsahuje žádné štěpení od β -vodíkového atomu (Obr. 16a) a jedinými pozorovanými štěpeními v tomto případě jsou ta, která pocházejí od spin-trapu. V případě $\text{X} = \text{isopropyl}$ (C_3H_7) byly při použití nitrosobenzenu pozorovány štěpicí konstanty aduktu **24**: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,081 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,242 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,086 \text{ mT}$. Při substituci $\text{X} = \text{fenyl}$ (C_6H_5) jsou pozorované štěpicí konstanty prakticky identické s výše uvedenými - Schéma 11. Při použití nitrosotoluenu bylo pozorováno v obou případech EPR spektrum aduktu **25** uvedené na Obr. 16b, které bylo simulováno s následujícími štěpicími konstantami: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,190 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}} = 0,075 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}} = 0,055 \text{ mT}$, $1 \times a_{\text{H}} = 0,110 \text{ mT}$. Toto rozložení štěpicích konstant, kdy kromě základního dusíkového štěpení jsou přítomna pouze velmi malá štěpení od vodíkových atomů toluenového kruhu, poukazuje na skutečnost, že v molekule radikálu **25** dochází k silné distorzi toluenového kruhu z roviny $-\text{NO}^\bullet-$ fragmentu, čímž nedochází k výraznému přenosu spinové hustoty do tohoto kruhu. Vzhledem k tomu, že ke zmiňovanému efektu nedochází v případě aduktu **24**, je možné interpretovat tento jev na základě kombinovaného sterického efektu, na kterém se podílejí jak metylenová skupina benzenového kruhu, tak i dvě karbonylové skupiny a substituent X .

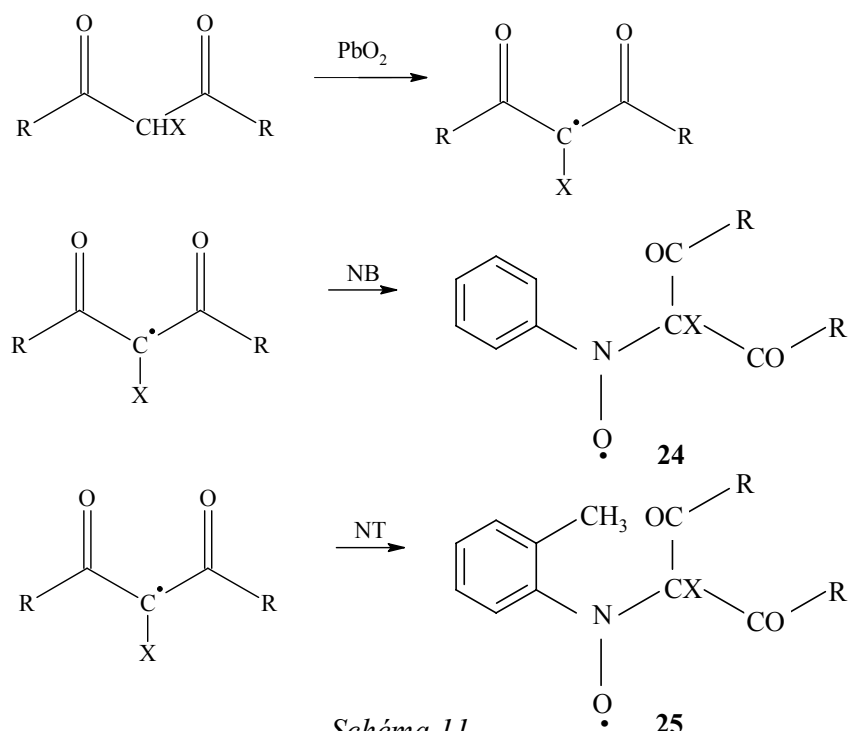


Schéma 11

Pokud byly v přítomnosti PbO_2 oxidovány struktury obsahující několik metylenových skupin, ukázalo se, že k jednoznačnému odštěpení vodíku z metylenové skupiny dochází pouze v případě $n = 3$. Tato struktura byla zastoupena molekulou dibenzoylpropanu (DBP). V přítomnosti nitrosobenzenu bylo detekováno EPR spektrum s následujícími štěpicími konstantami: $1 \times a_N(NO) = 1,015 \text{ mT}$, $1 \times a_H(CH) = 0,445 \text{ mT}$, $3 \times a_H(o,p) = 0,260 \text{ mT}$, $2 \times a_H(m) = 0,090 \text{ mT}$ (Obr.17). Znamená to tedy, že v EPR spektru se opět nachází štěpení vodíkového atomu z původně metylenové skupiny. Vzhledem k tomu, že v molekule DBP se nacházejí tři metylenové skupiny, je těžké rozhodnout, která z metylenových skupin podléhá odštěpení vodíkového atomu. Nicméně sterické důvody vedou k domněnce, že vodíkový atom je odštěpován ze středové CH_2 skupiny, následná adice C-radikálu na nitrosobenzen vede ke tvorbě radikálu **26** (Schéma 12). Ke stejnému závěru se dochází i při použití nitrosotoluenu jako spin-trapu. I v tomto případě se podařilo dokázat, že kromě základního dusíkového štěpení a štěpení od vodíkových atomů toluenového kruhu je přítomno štěpení od jednoho vodíkového atomu. Tento vodíkový atom je možné, podobně jako v případě spin-trappingu s nitrosobenzenem, přisoudit středovému vodíkovému atomu z propanového řetězce. V případě oxidace dietylsuberátu, který obsahuje ve své molekule šest metylenových skupin, nebylo pozorováno při oxidaci s PbO_2 v přítomnosti nitrosobenzenu žádné EPR spektrum, což jen potvrzuje domněnku, že kyselost CH_2 -skupin výrazně klesá ve strukturách, které obsahují více metylenových skupin v řetězci mezi dvěma karbonylovými skupinami. Zajímavým konstatováním je skutečnost, pozorovaná při oxidaci struktury s dvěma CH_2 -skupinami (dietylsukcinát). Působením PbO_2 za použití nitrosobenzenu jako spin-trapu bylo pozorováno EPR spektrum, ve kterém není zastoupeno žádné dodatečné štěpení od jednoho vodíkového atomu. Pozorují se totiž jen štěpení od atomů spin-trapu, přičemž hodnoty štěpicích konstant se neodlišují od konstant pro výše uvedené adukty odvozené od dietylizopropylmalonátu resp. dietylfenylmalonátu. Znamená to tedy, že odštěpení vodíku z některé ze dvou CH_2 -skupin

v primárním kroku, je spojeno s dalšími následnými reakcemi, jejichž charakter zůstává otevřeným problémem.

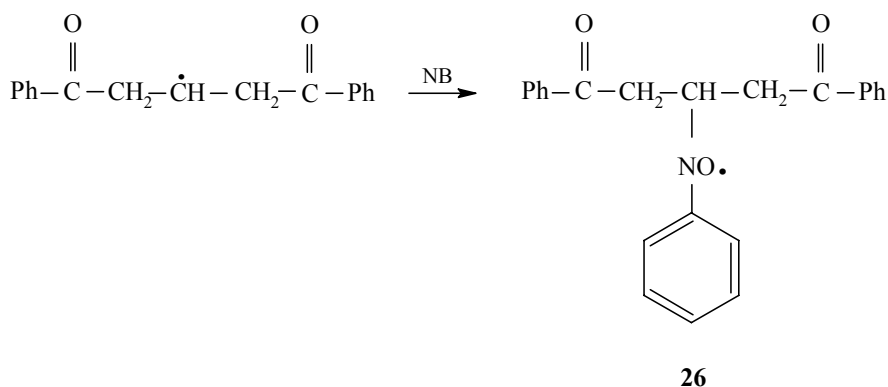


Schéma 12

5.2 Radikálové meziprodukty H-transferu z kyslíkatých donorů

V předcházející kapitole byly sledovány reakční radikálové mechanismy, při kterých dochází k abstrakci vodíkového atomu z metylenových resp. CHX-skupin, které se nacházejí mezi dvěma karbonylovými skupinami. EPR spektroskopie jednoznačně potvrdila homolytické štěpení C-H vazby, které vede ke vzniku radikálů s lokalizovanou spinovou hustotou na atomu uhlíku. Přes tento uhlíkový atom pak dochází k adici radikálu na NO-funkci spin-trapu. Na studium H-transferu z uhlíkatých donorů navázalo další EPR studium, které bylo zaměřeno na problematiku H-transferu z kyslíkatých donorů, přičemž jako zdroje H-donorů byly použity série různě substituovaných fenolů a bisfenolů. Jako iniciátor rozpadu fenolické O-H vazby byl použit PbO_2 , na detekci vznikajících radikálových meziproduktů byla aplikována metoda spin-trappingu. Při studiu H-transferu z fenolických sloučenin v přítomnosti nitrosospin-trapů je nutné si uvědomit následující skutečnost. Vznikající kyslíkaté radikály fenoxylového typu, kterých generaci je možné popsat obecným Schématem 13 se vyznačují tím, že nepárový elektron není v jejich případě lokalizován na atomu kyslíku, ale je delokalizován do celého aromatického systému fenylového jádra. Je proto možné v rámci tohoto kruhu zadefinovat několik mezomerních forem, které poukazují na přítomnost nepárového elektronu v několika polohách (Schéma 13). To představuje rozdíl v porovnání s jinými typy kyslíkatých radikálů, jakými jsou např. radikály alkoxylové ($\text{RO}\cdot$) nebo alkylperoxylové, kde spinová hustota je prakticky stoprocentně lokalizována na koncovém kyslíkatém atomu.

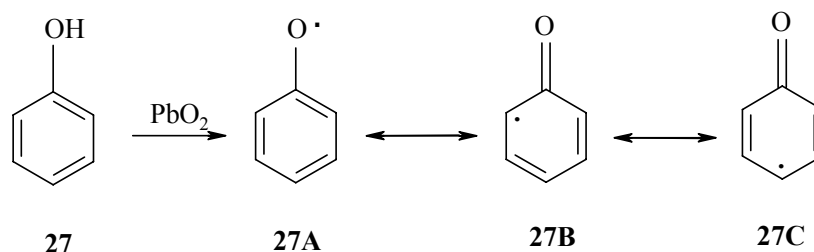
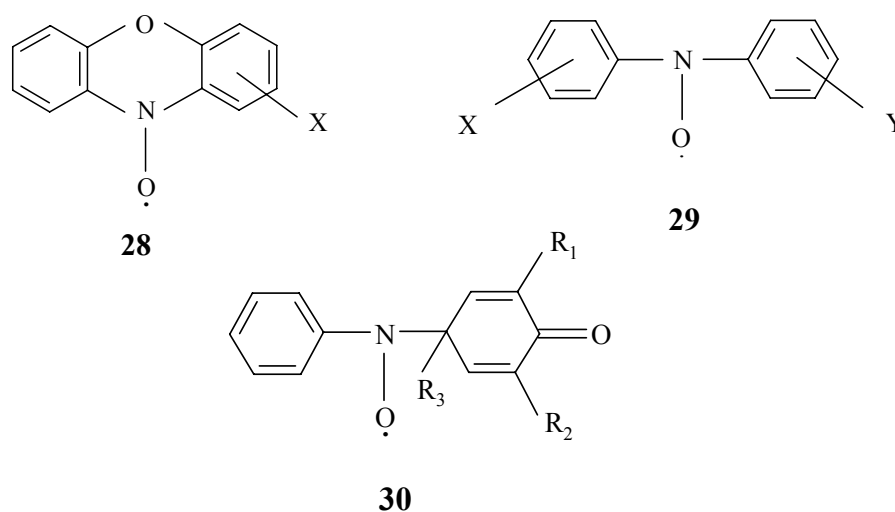


Schéma 13

Existence více mezomerních forem vyvolává otázku, která z nich vstupuje do následných reakcí, jakými jsou např. vzájemná rekombinace fenoxylových radikálů nebo také reakce s jinými typy radikálů. Je také nutné hledat odpověď na otázku, která z těchto mezomerních forem vstupuje do spin-trapping reakcí s nitrososloučeninami. Studium reakčních produktů vznikajících při oxidaci fenolů s redoxními činidly typu PbO_2 poukázalo na přítomnost sloučenin, které jsou výsledkem rekombinace mezomerních forem **27A** s mezomerními formami **27B** resp. **27C** (C-O coupling) resp. vzájemných rekombinací mezomerních forem **27B** resp. **27C** (C-C coupling). V žádném případě nebyly pozorovány rekombinační produkty vycházející z mezomerní formy **27A** (O-O coupling).⁶⁶⁻⁶⁹ Podobně například peroxylové radikály $\text{RO}_2\cdot$ rekombinují s mezomerními formami **27B**, **27C** za vzniku peroxyklohexadienónových struktur.^{70,71} Při EPR studiu spin-trapping reakcí fenoxylových radikálů otázku způsobu adice fenoxylů na nitrososkupinu umožňuje vyřešit charakter pozorovaných EPR spekter radikálových aduktů. Při studiu chování velkých sérií různě substituovaných fenolů bylo na základě analýzy detekovaných EPR spekter možné zařadit vznikající adukty do tří základních skupin. První skupinu detekovaných aduktů představují deriváty fenoxazín-10-oxylu typu **28**. Další skupinu radikálových aduktů představují nitroxylové radikály, které je možné považovat za deriváty difenylnitroxylu typu **29**. Poslední významnou skupinu představují radikály typu **30**.



Spin-trapping nestíněných fenoxylových radikálů s nitrosobenzenem

Vyhodnocení EPR spekter indikuje, že fenoxylové radikály připravené oxidací nestíněných fenolů (fenolů s neobsazenou nebo částečně obsazenou *orto*-polohou) reagují s nitrosobenzenem za tvorby fenoxazín-10-oxylových radikálů. To ovšem znamená, že fenoxyl reaguje s nitrososkupinou spin-trapu ve své *orto*-poloze a při adici je tedy preferována mezomerní forma **27B**. V prvním kroku adice vzniká nestabilní radikál **31**, který se následně stabilizuje vnitřním přesunem vodíkového atomu na karbonylovou skupinu za vzniku radikálu **32**. Ten může být považován za derivát difenylnitroxylu. Nicméně pokusy o jeho detekci však nebyly úspěšné, neboť velmi ochotně vstupuje do následné reakce, která zahrnuje vnitřní cyklizaci. K té dochází přes O-H skupinu radikálu **32** a *orto*-polohu fenylové skupiny. Výsledkem je potom tvorba fenoxazín-10-oxylového radikálu **33** (Schéma 14). Uvedený mechanismus byl v minulosti potvrzen na několika stericky nestíněných převážně monosubstituovaných fenolech⁷², v rámci dizertační práce však byl tento mechanismus ověřen na několika dalších strukturách. Na Obr. 18 je spektrum nitroxylového radikálu fenoxazín-10-oxylového typu, který byl získán při oxidaci *para*-krezolu s PbO₂ v přítomnosti nitrosobenzenu (u tohoto typu fenolu se podařilo připravit pouze adukt benzylových radikálů⁷²). V tomto EPR spektru zřetelně dominuje štěpení od dusíkového atomu nitroxylového fragmentu ($a_N(\text{NO}) = 0,935 \text{ mT}$). Další kvintetové štěpení každé linie základního dusíkového tripletu pochází od čtyř vodíkových atomů v polohách 1, 3, 7, 9 ($4 \times a_H = 0,222 \text{ mT}$). Nejmenšími štěpeními v EPR spektru jsou štěpení pocházející od 3 vodíkových atomů v polohách 4, 6, 8 ($a_H = 0,036 \text{ mT}$) a 3 vodíkových atomů metylové skupiny v poloze 2 ($a_H = 0,036 \text{ mT}$). Další příklady fenoxazín-10-oxylových radikálů jsou uvedeny v následující kapitole v souvislosti se spin-trappingem fenoxylových radikálů generovaných z xylenolů.

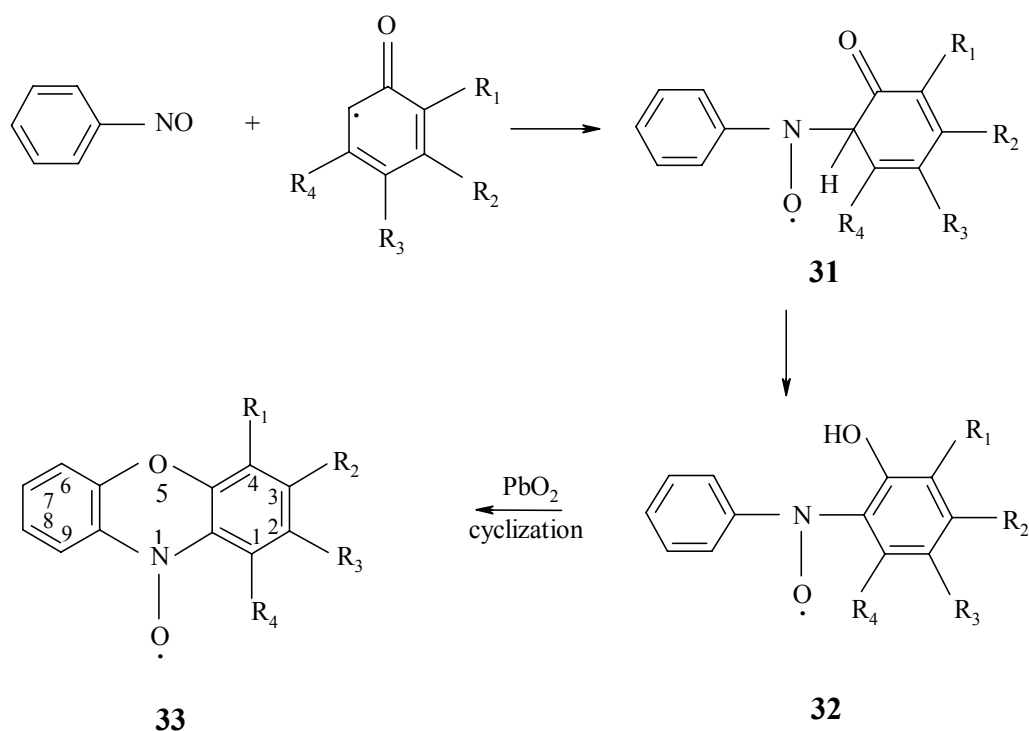


Schéma 14

Spin-trapping nestíněných fenoxylových radikálů s nitrosodurenem

Podobně jako v případě nitrosobenzenu, i zde dochází k adici fenoxylového radikálu v *orto*-poloze (mezomerní forma **27B**). V porovnání s adicí na nitrosobenzen však není možné předpokládat následnou vnitřní cyklizaci primárního aduktu, protože *orto*-poloha spin-trapu je obsazena dvěma metylovými skupinami. Z tohoto důvodu se proces reakce fenoxylového radikálu s nitrosodurenem zastavuje na stupni primárního aduktu **34**, který je možné považovat za derivát difenylnitroxylu (Schéma 15). Na Obr. 19 a 20 jsou EPR spektra radikálových aduktů, která vznikají při adici 2 typů nestíněných fenoxylových radikálů na nitrosoduren. Nesubstituovaný fenol poskytuje EPR spektrum se štěpícími konstantami: $1 \times a_N(\text{NO}) = 1,170 \text{ mT}$, $2 \times a_H = 0,082 \text{ mT}$, $1 \times a_H(\text{OH}) = 0,082 \text{ mT}$, $1 \times a_H = 0,277 \text{ mT}$, $1 \times a_H = 0,323 \text{ mT}$. (Obr. 19). Dalším příkladem je adukt, vznikající adicí 2-terc.butyl-4-metoxifenoxylu (Obr. 20), který byl simulován s následujícími štěpícími konstantami: $1 \times a_N(\text{NO}) = 1,12 \text{ mT}$, $1 \times a_H(\text{OH}) = 0,087 \text{ mT}$, $1 \times a_H = 0,212 \text{ mT}$ a $a_H = 0,342 \text{ mT}$. V EPR spektru na Obr. 20 se tento adukt projevuje dvěma okrajovými liniemi, signál v prostřední části spektra je nutné připsat volným radikálům vznikajícím v průběhu oxidace 2-terc.butyl-4-metoxifenolu. Relativně malý počet interagujících vodíkových atomů je možné vysvětlit na základě velmi významného sterického efektu vyplývajícího z přítomnosti metylových skupin v *orto*-poloze spin-trapu. V důsledku vytočení durenového kruhu z roviny nitroxylového fragmentu dochází k tomu, že nepárový elektron je distribuován pouze do jednoho fenylového kruhu, tedy kruhu, který byl původně součástí fenolické struktury. Bylo zjištěno, že prakticky identické EPR spektrum se získá také v situaci, kdy je ve formě spin-trapu použit nitrosotoluen. Znamená to, že k vytočení roviny fenylového kruhu původní nitrososloučeniny dochází i tehdy, když je metylovou skupinou substituována jen jedna *orto*-poloha spin-trapu (Obr. 21). Sterické působení metylové skupiny *orto*-nitrosotoluenu může ovšem působit i v tom smyslu, že k vytočení dochází u fenylového kruhu pocházejícího z molekuly reagujícího fenolu. To je zřetelně dokumentováno na EPR spektru radikálového aduktu, který vznikl adicí 2,4-dimetylfenoxylu na nitrosotoluen. Experimentální EPR spektrum uvedené na Obr. 22 dokumentuje, že kromě základního dusíkového štěpení $1 \times a_N(\text{NO}) = 1,05 \text{ mT}$ je v EPR spektru přítomno další štěpení od vodíkových atomů toluenového kruhu ($3 \times a_H(\text{CH}_3) = 0,225 \text{ mT}$, $2 \times a_H(o,p) = 0,245 \text{ mT}$, $2 \times a_H(m) = 0,08 \text{ mT}$) a dodatečných malých štěpení od druhého fenylového kruhu. ($2 \times a_H = 0,055 \text{ mT}$).

Zajímavým zjištěním, které kompletizuje pohled na způsob adice nestíněných fenoxylových radikálů na *orto*-substituované nitrososloučeniny, je skutečnost, že při použití nitrosospin-trapu s velmi objemným substituentem (2, 4, 6 – *terc*.butylnitrosobenzen) se nepozorují žádná EPR spektra radikálových aduktů. To je možné interpretovat tak, že v důsledku velmi silného sterického stínění nitrososkupiny je adice fenoxylového radikálu přes jeho *orto*-polohu natolik nevýhodná, že k ní prakticky nedochází.

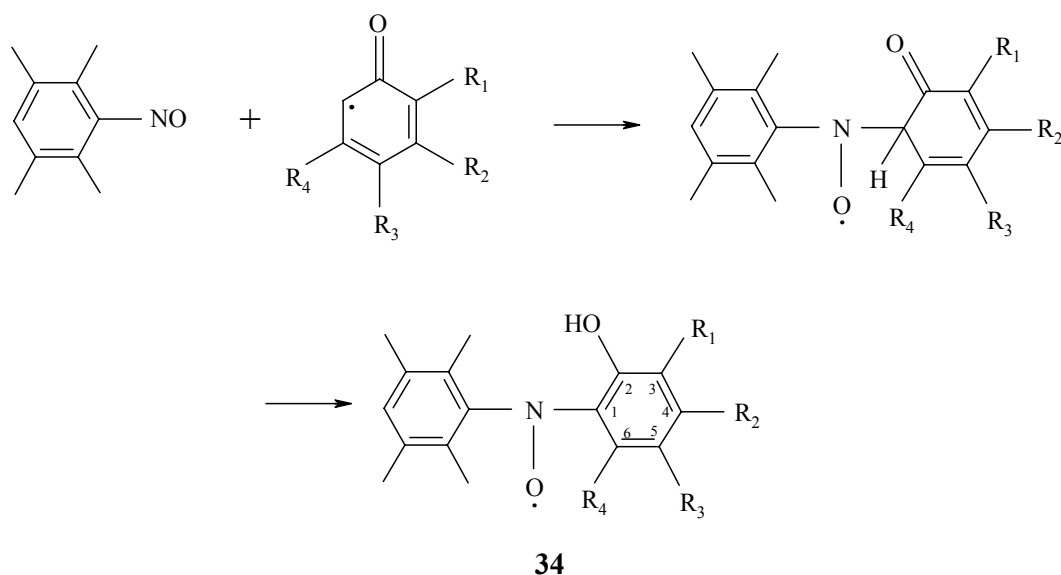
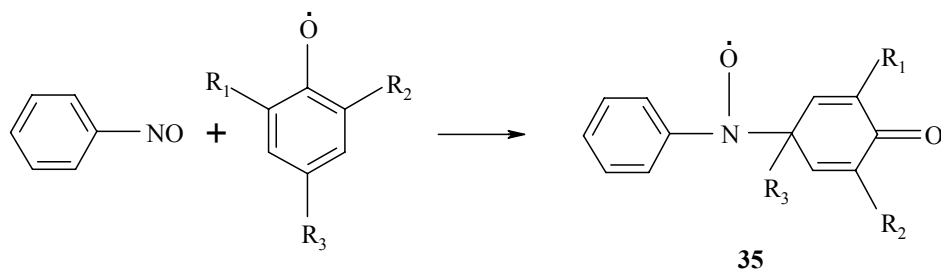


Schéma 15

Spin-trapping stericky stíněných fenoxylových radikálů s nitrosobenzenem

Výše uvedenou adici fenoxylových radikálů odvozených od částečně nebo úplně nesubstituovaných fenolů, tedy adici v jejich *orto*-poloze není možné očekávat v případě fenoxylových radikálů, u kterých je *orto*-poloha plně obsazena alkylovými případně alkoxylovými substituenty. Na tuto skutečnost bylo poukázáno již v minulosti⁷³, když při oxidaci 2,4,6-tri-*tert*-butylfenolu v přítomnosti nitrosobenzenu bylo pozorováno EPR spektrum s následujícími parametry: $1 \times a_N(\text{NO}) = 1,320 \text{ mT}$, $3 \times a_H(o,p) = 0,200 \text{ mT}$, $2 \times a_H(m) = 0,100 \text{ mT}$. Jedná se tedy o EPR spektrum, kterého parametry zahrnují pouze štěpení od atomů použitého spin-trapu. Jestliže se v důsledku nízké hodnoty $a_N(\text{NO})$ vyloučí možnost adice 2,4,6-tri-*tert*-butylfenoxylu přes fenolický kyslík, je zřejmé, že v tomto případě dochází k adici fenoxylových radikálů přes jejich *para*-polohu, tedy polohu s největší spinovou hustotou. Výsledkem reakce je vznik radikálového aduktu **35** (Schéma 16). Ze struktury tohoto aduktu je rovněž zřejmé, že nepárový elektron nemůže být v důsledku chinoidního charakteru adovaného fenoxylu delokalizována do této části molekuly aduktu.



R_1, R_2, R_3 – alkylové nebo alkoxylové substituenty

Schéma 16

Uvedená tendence ke vzniku aduktu **35** se výrazně uplatňuje při spin-trappingu stíněných fenoxylů, majících v *para*-poloze terciární alkylovou skupinu. Při jiných *para*-substituentech je situace nejednoznačná. V případě 2,6-disubstituovaných fenolů ($R_3 = H$) se adukt **35** pozoroval jedině v případě 2,6-diterc.butylfenolu a 2,6-dicyklohexylfenolu, kdy i přes jeho relativně nízkou koncentraci EPR spektrum obsahuje kromě štěpení od dusíkového atomu a fenylového jádra ještě štěpení od *para*-vodíkového atomu ($R_3 = H$) na úrovni *orto*- a *para*-štěpení fenylového kruhu (Obr. 23). Vzhledem k tomu, že 2,6-disubstituované fenoly podléhají v přítomnosti oxidačních činidel polymeraci na polyfenylétery⁷⁴, kterých výsledkem je vznik polyfenoxylového radikálu, EPR spektrum aduktu je zpravidla doprovázeno jeho signálem. EPR spektrum polyfenoxylu je jediným signálem, pozorovaným v případě PbO_2 oxidace 2,6-dimethylfenolu, 2,6-difenylnfenolu a 2-tercbutyl-6-methylfenolu v přítomnosti nitrosobenzenu. Stejně tak nebyl pozorován adukt **35** v případě záměny tercbutylové skupiny v *para*-poloze za etylovou skupinu. Při PbO_2 oxidaci 2,6-di-terc.butyl-4-etylfenolu v přítomnosti nitrosobenzenu je odpovídající fenoxyl jediným detekovaným produktem.

Specifickým chováním se při studiu adice fenoxylů na nitrosobenzen vyznačuje fenoxylový radikál odvozený od 2,6-ditercbutyl-4-methylfenolu **36**. Pokud se provede oxidace tohoto fenoxylového radikálu v nepřítomnosti spin-trapu, je možné pozorovat EPR spektrum volného fenoxylového radikálu **37**, kterého EPR parametry ($3 \times a_H(CH_3) = 1,094$ mT a $2 \times a_H(m) = 0,155$ mT) jsou již po mnoho desítek let uváděny v katalozích EPR spekter (Schéma 17). V přítomnosti nitrosobenzenu se však pozoruje velmi komplikované spektrum radikálové směsi, kdy vedle již uvedeného volného fenoxylového radikálu se v EPR spektru vyskytuje rovněž signál radikálového aduktu. Vhodnou volbou koncentračního poměru mezi oxidačním činidlem, použitým fenolem a nitrosobenzenem je možné dosáhnout toho, že v EPR spektru dominuje pouze spinový adukt. Jeho EPR spektrum je uvedeno na Obr. 24. Analýzou tohoto spektra bylo zjištěno, že kromě základního dusíkového štěpení a štěpení do vodíkových atomů fenylového kruhu nitrosobenzenu, jsou v interakci s nepárovým elektronem dva další vodíkové atomy ($1 \times a_N(NO) = 1,049$ mT, $2 \times a_H = 0,565$ mT, $3 \times a_H(o,p) = 0,273$ mT, $2 \times a_H(m) = 0,092$ mT). Právě přítomnost dvou výrazných vodíkových štěpení poukazuje na to, že adujícím se radikálem je v tomto případě benzylový radikál vznikající odštěpením vodíkového atomu z metylové skupiny v *para*-poloze. Znamená to tedy, že při oxidaci 2,6-ditercbutyl-4-metylfenolu s PbO_2 se paralelně tvoří 2 typy radikálů (Schéma 18). Benzylový radikál **38** se aduje na nitrosobenzen za tvorby aduktu **40** (Schéma 19). Skutečnost, že v průběhu oxidace 2,6-ditercbutyl-4-metylfenolu se tvoří kromě radikálů fenoxylových také benzylové radikály potvrzuje fakt, že v reakční směsi po oxidaci byla pozorována přítomnost jejich rekombinačních produktů **41** ve vysokém výtěžku.⁷⁵ Důležitým poznatkem získaným

v průběhu studia vlastností aduktu benzylového radikálu s nitrososloučeninami bylo konstatováno, že radikálový adukt se v průběhu času přeměňuje na jiný typ radikálu. Tento typ přeměny byl nejlépe detekovatelný při zachycení tohoto radikálu na nitrosotoluen, kdy po několika hodinách bylo pozorováno EPR spektrum uvedené na Obr. 25. Jeho simulací byly získány následující štěpící konstanty: $2 \times a_H = 0,150$ mT, $1 \times a_H(\text{CH}) = 0,280$ mT, $1 \times a_N = 0,490$ mT). Vycházejíce ze struktury výchozího aduktu a nejmenší štěpící konstanty následně vznikajícího radikálu ($2 \times a_H = 0,150$ mT) je možné vyslovit závěr, že následně vznikajícím radikálem je radikál fenoxylového typu, jelikož právě tato konstanta je typickou konstantou *meta*-protonů ve fenoxylech. Znamená to tedy, že benzylový adukt podléhá následným přeměnám, jejichž výsledkem je fenoxylový radikál typu **43**, přičemž samotné přeskupení probíhá přes přechodně vznikající nitrón **42** (Schéma 20).

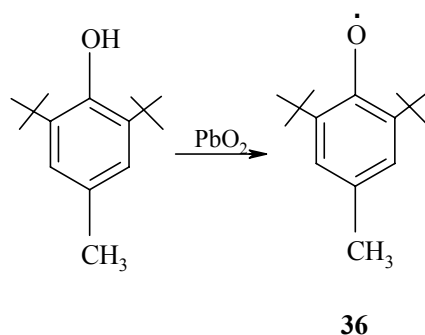


Schéma 17

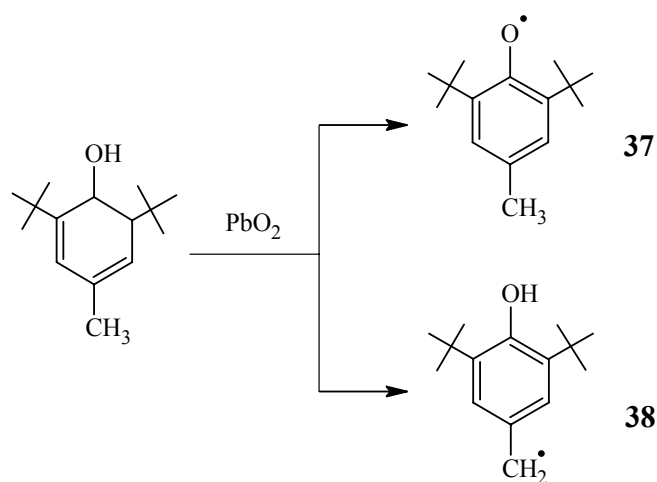


Schéma 18

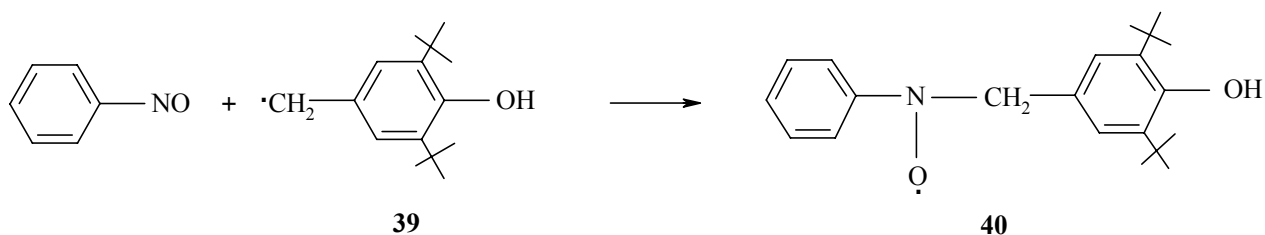


Schéma 19

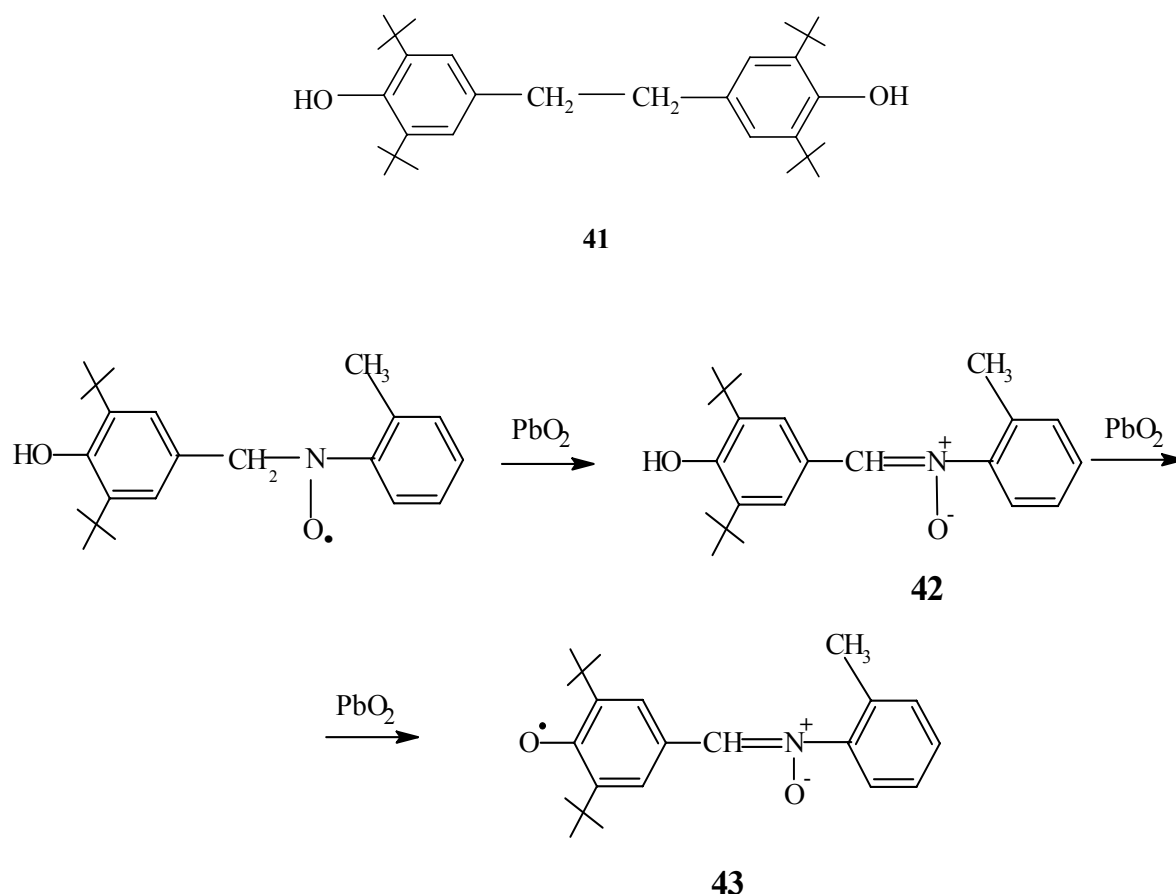
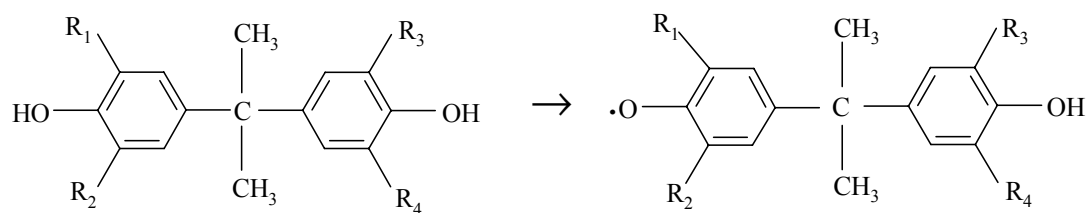


Schéma 20

Spin-trapping fenoxylových radikálů odvozených od substituovaných diánů

V rámci studia spin-trappingu fenoxylových radikálů na nitrososloučeniny bylo provedeno EPR studium radikálových aduktů vznikajících adicí fenoxylových radikálů odvozených od substituovaných diánů **44**. Zatímco nesubstituovaný dián **44a** při oxidaci s PbO_2 v přítomnosti nitrosobenzenu poskytuje EPR spektrum (Obr. 26), které je v souladu s teorií adice fenoxylů v *orto*-poloze (nestíněné fenoly) a je v souladu se vznikem struktury **45** (Schéma 21), substituované diány **44b** – **44c** poskytují při oxidaci EPR spektrum radikálového aduktu **46**, **47**. Znamená to tedy, že jejich chování je v tomto případě stejné, jakým se vyznačují již dříve diskutované monofunkční 2,4,6-trialkylsubstituované fenoly. V EPR spektru opět dominuje pouze základní dusíkové štěpení spolu se štěpeními vodíkových atomů fenylového kruhu. Tato skutečnost je dobře patrná na Obr. 27, který představuje EPR spektrum stabilního fenoxylového radikálu odvozeného od struktury **44b** v nepřítomnosti spin-trapu ($2 \times a_{\text{H}} = 0,150 \text{ mT}$). V přítomnosti nitrosobenzenu jako spin-trapu se pozoruje EPR spektrum uvedené na Obr. 28. V tomto případě se jedná o radikálovou směs složenou ze stále přítomného volného fenoxylu a radikálového aduktu **46** ($1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,126 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,236 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,090 \text{ mT}$). Velmi podobné štěpící konstanty se pozorují rovněž v případě radikálu **47**, připraveného z diánu **44c** ($1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,105 \text{ mT}$,

$3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,240 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,090 \text{ mT}$). Zajímavý výsledek byl získán při oxidaci diánu **44d**. Ten je charakteristický tím, že vedle sebe obsahuje jeden fenylový kruh substituovaný v *orto*-poloze tercbutylovými skupinami, zatímco druhý kruh neobsahuje v *orto*-poloze žádný substituent. Teoreticky by tedy bylo možné očekávat, že v EPR spektru budou pozorovány současně jak adukty vycházející z fenoxyllových radikálů ze substituovaného fenolického kruhu, tak i fenolického kruhu nesubstituovaného. (Schéma 22, adukty **48**, **49**). Experimenty však jednoznačně prokázaly přítomnost pouze jednoho typu aduktu a to aduktu **48** se štěpicími konstantami: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,120 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,235 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,090 \text{ mT}$. Dián **44e** neposkytuje bez použití spin-trapu v přítomnosti PbO_2 spektrum volného radikálu. V přítomnosti nitrosobenzenu je však možné pozorovat EPR spektrum uvedené na Obr. 29. se štěpicími konstantami: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 0,930 \text{ mT}$, $4 \times a_{\text{H}} = 0,245 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}} = 0,050 \text{ mT}$. EPR spektrum jednoznačně prokazuje, že dochází k adici primárního fenoxylu v *orto*-poloze a v sérii následných kroků opět ke tvorbě radikálu fenoxazin-oxylového typu **50**. Při oxidaci metylsubstituovaného diánu **44f** se pozoruje nezávisle na tom, zda je oxidace provedena v přítomnosti nebo nepřítomnosti spin-trapu, EPR spektrum volných radikálů (Obr. 30), které svými štěpicími konstantami ($1 \times a_{\text{H}}(\text{CH}_3) = 0,63 \text{ mT}$, $1 \times a_{\text{H}}(\text{CH}_3) = 0,49 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}} = 0,1 \text{ mT}$) poukazuje na tvorbu polymerních radikálů **51**, které je možné pozorovat při oxidaci např. 2,6-xylenolu v souladu se Schématem 23. Zůstává otevřeným problémem, jakým způsobem může ke vzniku těchto polymerních struktur docházet u 4,4'-alkylidenbisfenolů. Navíc, stejný efekt byl prokázán při oxidaci tetrametylovaného bisfenolu **44g**. Podobný způsob oxidace byl v minulosti pozorován i při oxidaci jiných typů 4,4'-alkylidenbisfenolů resp. 4,4'-thiobisfenolů^{76,77}. 3,3'-methylsubstituovaný dián **44h** neposkytuje při oxidaci za nepřítomnosti spin-trapu žádné EPR spektrum. V přítomnosti nitrosobenzenu bylo naměřeno EPR spektrum aduktu **52** (Obr. 31), které jen poukazuje na to, že přednostně dochází k adici fenoxyllového radikálu přes *para*-polohu. Monosubstituovaný dián **44i** v nepřítomnosti spin-trapu neposkytuje při oxidaci EPR spektrum volného radikálu. V přítomnosti nitrosobenzenu bylo detekováno EPR spektrum na Obr. 32, které je prakticky totožné s EPR spektrem, pozorovaným v případě struktury **44e** a které je možné interpretovat tvorbou radikálu fenoxazinoxyllového typu. Jelikož v případě této struktury oba fenylové kruhy nemají plně obsazenou *orto*-polohu, je možné očekávat adici obou v úvahu přicházejících fenoxyllových radikálů jako výsledku abstrakce vodíku z O-H skupiny v jednom nebo druhém fenylovém kruhu. Za těchto okolností je možné potom EPR spektrum na Obr. 31 považovat za směsné spektrum dvou fenoxazinoxyllových radikálů.



44a $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H$

44b $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = tBu$

44c $R_1 = R_3 = t-Bu$ $R_2 = R_4 = CH_3$

44d $R_1 = R_2 = tBu$ $R_3 = R_4 = H$

44e $R_1 = R_3 = t-Bu$ $R_2 = R_4 = H$

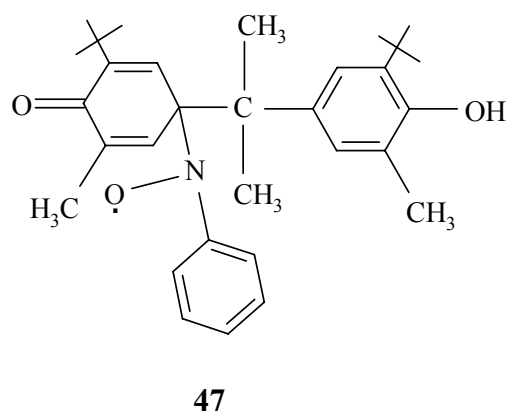
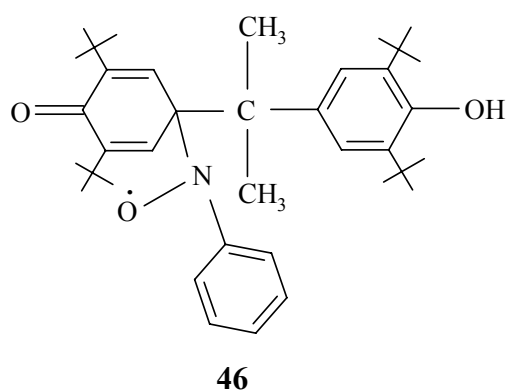
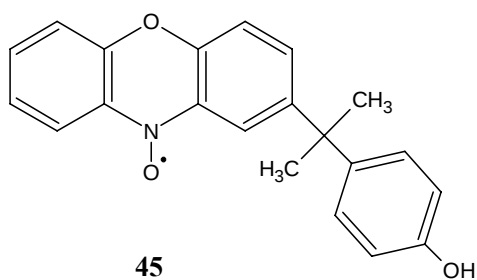
44f $R_1 = R_2 = CH_3$ $R_3 = R_4 = H$

44g $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = CH_3$

44h $R_1 = R_3 = CH_3$ $R_2 = R_4 = H$

44i $R_1 = tBu$ $R_2 = R_3 = R_4 = H$

Schéma 21



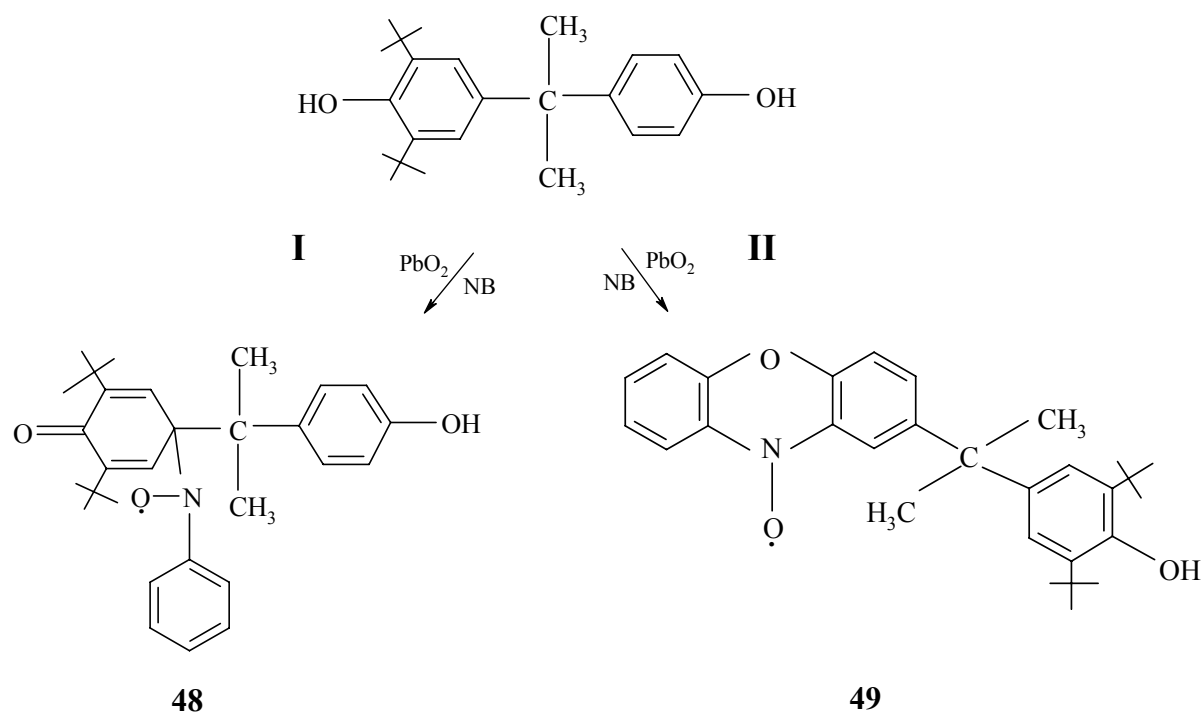


Schéma 22

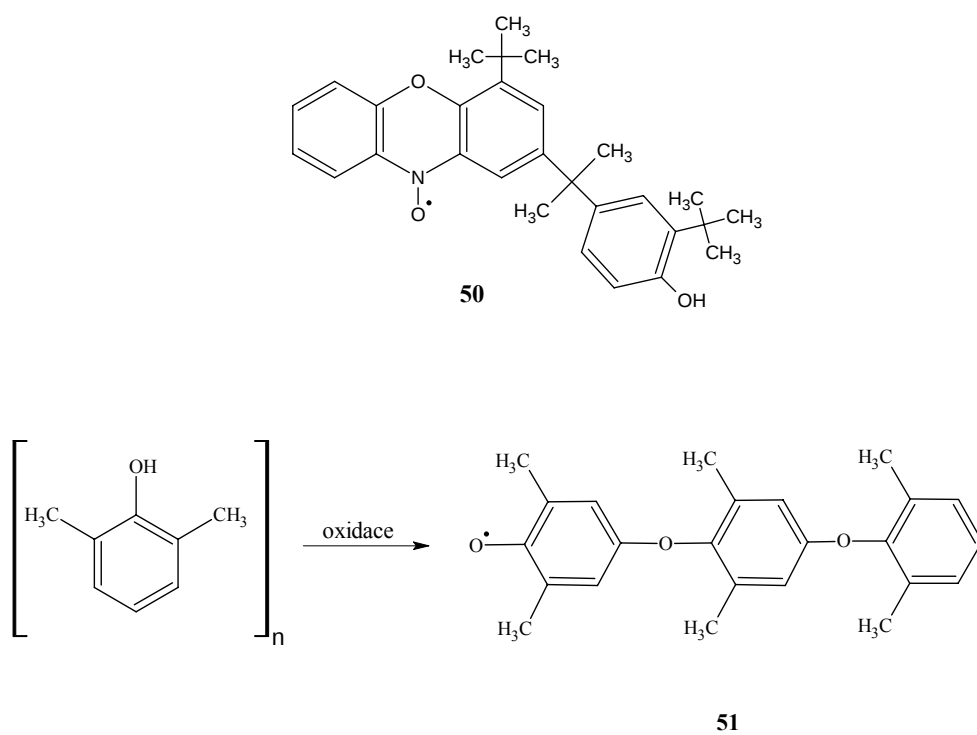
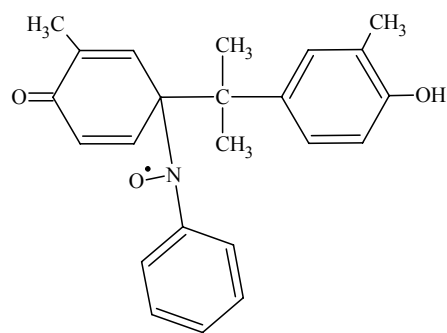


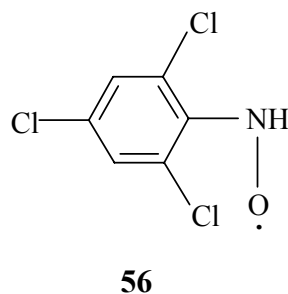
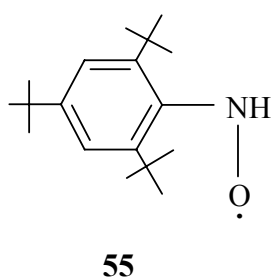
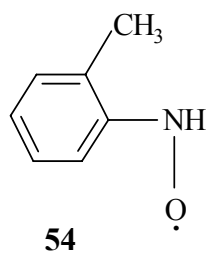
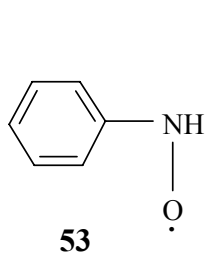
Schéma 23



52

Spin-trapping fenoxylových radikálů odvozených od monojaderných bifunkčních fenolů

Aby byl lépe pochopen mechanismus adice fenoxylových radikálů na nitrososloučeniny, byly podrobeny oxidaci s PbO_2 rovněž některé monojaderné bifunkční fenoly (pyrokatechin, resorcin, hydrochinon) a jejich některé substituované deriváty např. 2,5-difenyletylhydrochinon. Zde se však ukázal velmi zajímavý jev spočívající v tom, že identická EPR spektra byla získána jak v systému fenol- PbO_2 -spin-trap, tak i v systému fenol-spin-trap. Znamená to tedy, že charakter EPR spektra vůbec nezávisí na přítomnosti PbO_2 v systému. Analýza EPR spekter prokázala, že nepárový elektron velmi výrazně interaguje s jedním dusíkovým atomem a jedním významným atomem vodíku, přičemž hodnoty jejich štěpících konstant jsou velmi blízké. Z uvedených faktů vyplývá, že v tomto případě nedochází k adici fenoxylového radikálu. Pozorovaná EPR spektra mohou být za daných okolností interpretována pouze tak, že v reakčním systému dochází k adici atomu vodíku hydroxylové skupiny bifunkčního fenolu na NO-skupinu spin-trapu. Tento mechanismus byl potvrzen u několika použitých spin-trapů. V literatuře je takový jev nazýván Molecular Assisted Homolysis (MAH)⁷⁸. Pozorovanými radikály jsou tedy v tomto případě nitroxylové radikály **53** – **56**. Na Obr. 33 a 34 je uvedeno experimentální spektrum radikálu **53**, **54**. Hodnoty EPR spektrálních parametrů pro radikály **53** – **56** jsou uvedeny v Tabulce 4.



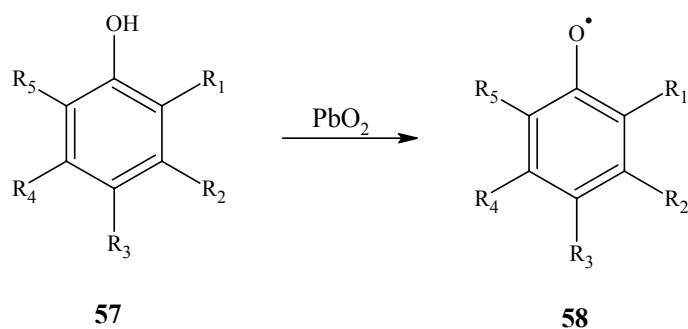
Tabulka 4: Hodnoty štěpících konstant (mT) měřených radikálů 53 - 56

Radikálový adukt	Štěpící konstanty (mT)			
	a_N	a_H (NH)	$a_H^{o,p}$	a_H^m
53	0,911	1,200	0,289	0,09
54	0,905	1,175	0,290 (2H) 0,290 ^a	0,095
55	0,840	1,110		-
56	0,820	1,150		-

^a Štěpení od protonů CH₃ skupiny

Spin-trapping fenoxylových radikálů odvozených od dimetylfenolů

Za účelem detailnějšího pohledu na problematiku spin-trappingu fenoxylových radikálů, a to zejména bližšího pochopení sterických efektů, bylo provedeno EPR studium spin-trappingu fenoxylových radikálů odvozených od substituovaných dimetylfenolů (xylenolů). Bylo provedeno EPR studium vycházející z následujících dimetylfenolů.



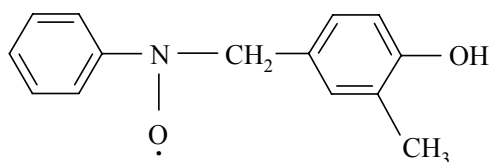
57a	$R_1 = \text{CH}_3$	$R_2 = \text{CH}_3$	$R_3 = \text{H}$	$R_4 = \text{H}$	$R_5 = \text{H}$
57b	$R_1 = \text{CH}_3$	$R_2 = \text{H}$	$R_3 = \text{CH}_3$	$R_4 = \text{H}$	$R_5 = \text{H}$
57c	$R_1 = \text{CH}_3$	$R_2 = \text{H}$	$R_3 = \text{H}$	$R_4 = \text{CH}_3$	$R_5 = \text{H}$
57d	$R_1 = \text{CH}_3$	$R_2 = \text{H}$	$R_3 = \text{H}$	$R_4 = \text{H}$	$R_5 = \text{CH}_3$
57e	$R_1 = \text{H}$	$R_2 = \text{CH}_3$	$R_3 = \text{CH}_3$	$R_4 = \text{H}$	$R_5 = \text{H}$
57f	$R_1 = \text{H}$	$R_2 = \text{CH}_3$	$R_3 = \text{H}$	$R_4 = \text{CH}_3$	$R_5 = \text{H}$

2,3-dimetylfenol (57a)

Byla provedena řada experimentů v systému **57a**-PbO₂-spin-trap, která nevedla k vzniku definovaných aduktů. Navíc koncentrace radikálů v tomto systému byly příliš nízké na to, aby mohlo být provedeno jednoznačné zhodnocení charakteru oxidace tohoto xylenolu.

2,4-dimetylfenol (57b)

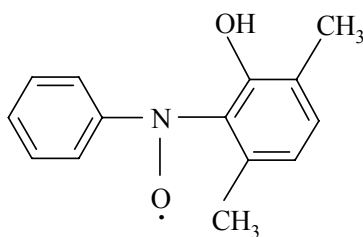
Pokud je k benzenovému roztoku 2,4-dimetylfenolu přidán v přítomnosti nitrosobenzenu PbO_2 , pozoruje se EPR spektrum uvedené na Obr. 35. Jeho štěpící konstanty ($1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,120 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,210 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,080 \text{ mT}$) poukazují na skutečnost, že generovaný primární fenoxylový radikál se neaduje v souladu s mechanismem vyjádřeným Schématem 14, ale k adici dochází v souladu s mechanismem uplatňovaným pro některé typy diánů, tedy přes *para*-polohu (Schéma 22). Vzhledem ke struktuře studovaného xylenolu není možné tento typ adice očekávat u primárního fenoxylu, ale je nutné ho přisoudit adici některého ze sekundárních fenoxylů. Ty mohou vznikat oxidací sekundárních fenolů jako produktů C-C couplingu primárních fenoxylů přes *orto*-polohu (vznik 2,2'-bifenyldiolů). Primární adukt fenoxylového radikálu je možné detekovat v případě, když na odštěpení fenolického atomu vodíku byl použit stabilní radikál difenylpicrylhydrazyl (DPPH). V systému 2,4-dimetylfenol – nitrosotoluen - DPPH pozorované EPR spektrum je uvedeno na Obr. 36. Jeho EPR parametry ($1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,105 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,240 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(\text{CH}_3) = 0,260 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}} = 0,092 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}} = 0,065 \text{ mT}$,) poukazují na skutečnost, že v molekule aduktu je fenylový kruh s OH-skupinou vytočen z roviny NO-fragmentu, čímž nedochází v podstatné míře k delokalizaci spinové hustoty do tohoto kruhu. Proto jsou zastoupena pouze štěpení od kruhu, obsahujícího *orto*-metylovou skupinu od 2-nitrosotoluenu. Při přebytku PbO_2 vůči fenolu (molární poměr PbO_2 :fenol = 3:1) se pozoruje celkem jiný charakter EPR spektra (Obr. 37). Jeho simulace ($1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,59 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,294 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,099 \text{ mT}$, $1 \times a_{\text{H}} = 0,548 \text{ mT}$) jednoznačně poukazuje na adici benzylového radikálu vznikajícího odštěpením vodíku z metylové skupiny v *para*-poloze za vzniku aduktu **59**. Signál aduktů benzylových radikálů se objevuje v průběhu času rovněž v EPR spektru výše zmíněného aduktu od sekundárních fenoxylů.



59

2,5-dimetylfenol (57c)

Na Obr. 38 je uvedeno EPR spektrum nitrosobenzenového aduktu **60** s 2,5-dimetylfenoxylovým radikálem. Pozorované EPR spektrum je svými EPR parametry prakticky identické s parametry aduktu 3,5-dimetylfenoxylového radikálu⁷². Uvedená skutečnost logicky vyplývá z teorie *orto*-adice fenoxylových radikálů odvozených od struktur s volnou nebo částečně substituovanou *orto*-polohou. V důsledku vytočení roviny fenylového jádra pocházejícího od fenoxylového radikálu se pozorují pouze štěpení od nesubstituovaného fenylového kruhu, přičemž druhý fenylový kruh přispívá k celkovému EPR spektru pouze malým dodatečným štěpením ($1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,080 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,247 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,075 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}} = 0,050 \text{ mT}$).



60

2,6-dimetylfenol (57d)

Chování 2,6-xylenolu při jeho oxidaci s PbO_2 je podstatně odlišné od chování jiných dimetylfenolů. Nezávisle od toho, zda se oxidace provádí v přítomnosti spin-trapu nebo v jeho nepřítomnosti pozoruje se jediný typ EPR spektra, které je uvedeno na Obr. 39. Toto spektrum bylo už v minulosti popsáno v literatuře a je připisováno polymernímu fenoxyllovému radikálu struktury uvedené na Schématu 24. Uvedený typ polymerních fenoxylů vzniká při oxidaci všech 2,6-dialkylsubstituovaných fenolů.⁷⁴

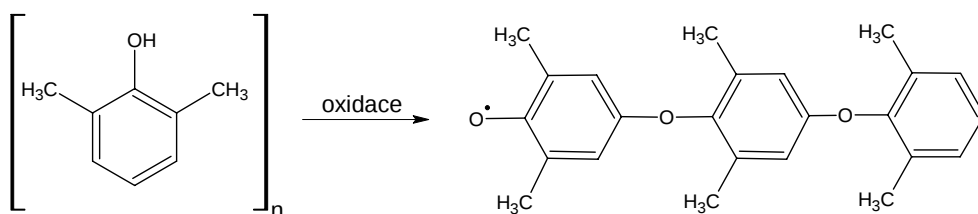


Schéma 24

3,4-dimetylfenol (57e)

Přídavek PbO_2 k benzenovému nebo CCl_4 roztoku 3,4-dimetylfenolu vede v přítomnosti nitrosobenzenu k EPR spektru na Obr.40. Toto spektrum bylo simulováno se štěpícími konstantami $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,090 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,254 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}} = 0,081 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}} = 0,081 \text{ mT}$. Uvedená skutečnost poukazuje na to, že dochází k *orto*-adici fenoxyllového radikálu na nitrosobenzen v souladu se Schématem 14. Jelikož jsou však v EPR spektru přítomna kromě základních štěpení od dusíkového atomu a štěpení od vodíkových atomů nesubstituovaného fenylového kruhu pouze malá štěpení od druhého fenylového kruhu, znamená to, že primární fenoxyl se aduje v poloze 2, která je preferována před pozicí 6 (Schéma 25 (a)). Pokud by adice probíhala podle Schématu 25 (b), výsledkem reakce by měla být generace fenoxazín-10-oxyllových radikálů s podstatně bohatší hyperjemnou strukturou EPR spektra.

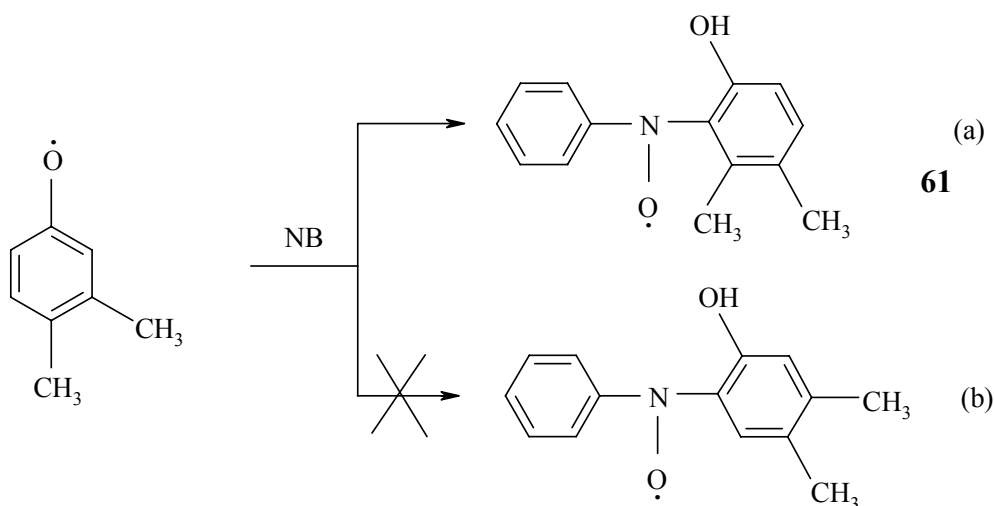


Schéma 25

3, 5-dimetylphenol (57f)

Adice 3,5-dimetylfenoxylového radikálu připraveného oxidací xylenolu **57f** s PbO_2 , vede v přítomnosti nitrosobenzenu ke vzniku aduktu **62** se štěpícími konstantami: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,012 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,287 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}} = 0,093 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}} = 0,055 \text{ mT}$ ⁷², jehož EPR spektrum je uvedeno na Obr. 41. V rámci studia adice spin-trappingu dimetylfenoxylových radikálů bylo potvrzeno, že identické EPR spektrum bylo zaznamenáno také při použití DPPH jako akceptoru fenolického vodíkového atomu. Následně byly pro studium tohoto typu fenoxylu použity další spin trapy (2,4,6-trichloronitrosobenzen, 2-nitrosotoluen). Ve všech studovaných případech byly pozorovány adukty s obdobnými vlastnostmi, jejichž EPR spektra jsou uvedena na Obr. 42 a Obr. 43. EPR parametry aduktu s 2-nitrosotoluenem ($1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,034 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,245 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(\text{CH}_3) = 0,255 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}} = 0,080 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}} = 0,050 \text{ mT}$) resp. s 2,4,6-trichloronitrosobenzenem ($1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 0,954 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(\text{CH}_3) = 0,065 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(\text{CH}_3) = 0,065 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}} = 0,0065 \text{ mT}$) potvrzují skutečnost, že v aduktech 3,5-dimetylfenoxylových radikálů s různými nitroso spin-trapy v důsledku sterických efektů v molekule spinových aduktů nedochází k delokalizaci spinové hustoty do obou fenylových kruhů. V případě nitrosobenzenu a 2-nitrosotoluenu je nepárový elektron převážně delokalizován do fenylového kruhu, pocházejícího od spin-trapu, v případě 2,4,6-trichloronitrosobenzenu je delokalizace redukována v obou kruzích, což ukazuje, že oba fenylové kruhy jsou vytočeny z roviny NO-fragmentu. Sterické důvody jsou příčinou toho, že nitrosoduren (2,3,5,6-tetrametylnitrosobenzen) s 3,5-dimetylfenoxylovým radikálem neposkytuje v přítomnosti PbO_2 žádné EPR spektrum.

5.3 Radikálové meziprodukty H-transferu z dusíkatých donorů

V souladu s tématem dizertační práce byly sledovány radikálové meziprodukty, které vznikají rozpadem NH-vazby v různých typech aminosloučenin. Pozornost byla soustředěna především na několik struktur ze skupiny sekundárních aminů. V některých případech se jednalo o aminické sloučeniny, které ve své molekule obsahovaly kromě sekundárně aminické NH-skupiny rovněž NH₂-skupinu jako substituent. Obecným znakem této skupiny látek je skutečnost, že metoda spin-trappingu detekovala radikálové meziprodukty pouze v několika málo případech. Již samotná základní látka z celé série studovaných aminů, difenylamin (DFA), při oxidaci s PbO₂ v přítomnosti spin-trapu na bázi aromatických nitrososloučenin (nitrosobenzen, nitrosotoluen) neposkytuje žádné EPR spektrum, které by nasvědčovalo vzniku radikálového meziproduktu, i když je jasné, že v důsledku homolytického štěpení -NH-vazby dochází v tomto případě ke vzniku aminylových radikálů. Pravděpodobně v důsledku jejich rychlé rekombinace za vzniku hydrazinů nedochází v pozorovatelné míře k jejich adici na spin-trap. Na druhé straně vysoká koncentrace spinových aduktů, jejichž EPR spektrum je uvedeno na Obr. 44, byla pozorována, pokud byl s PbO₂ v přítomnosti nitrosobenzenu oxidován 2-aminodifenylamin. Vzhledem k relativně nízké rozlišitelnosti tohoto EPR spektra bylo možné stanovit pouze štěpící konstanty pocházející od dusíkového atomu nitroxylového fragmentu ($a_N(\text{NO}) = 1,020 \text{ mT}$) a štěpení od čtyř dalších přibližně ekvivalentních vodíkových atomů, z kterých tři evidentně pochází z *o*- a *p*-polohy benzenového kruhu ($a_H = 0,270 \text{ mT}$). Čtvrté vodíkové štěpení je možné přisoudit vodíkovému atomu, který se nachází v *para*-poloze původně nesubstituovaného fenylového kruhu v molekule 2-aminodifenylaminu. K adici aminylového radikálu **62**, který se tvoří homolytickým štěpením NH-vazby, dochází přes jeho rezonanční formu, která obsahuje nepárový elektron v *para*-poloze. Celkový mechanismus adice je potom možné vyjádřit Schématem 26. I když v EPR spektru jsou rovněž pozorovatelná další jemná štěpení, z nichž jedno je nepochybně možné přisoudit dvěma vodíkovým atomům v *meta*-poloze benzenového kruhu spinového aduktu, další štěpení na úrovni $a_H = 0,045 \text{ mT}$ nebylo možné v důsledku nízké rozlišitelnosti spektra přesně stanovit. Experimentálně bylo potvrzeno, že analogický experiment provedený s 2-nitrodifenylaminem nevedl k pozorovatelné detekci radikálových produktů. Při oxidaci 4-aminodifenylaminu s PbO₂ v přítomnosti nitrosobenzenu bylo pozorováno EPR spektrum směsi několika radikálů (Obr. 45). Z uvedeného důvodu nebylo možné interpretovat charakter vznikajících radikálových forem. Zajímavým pozorováním byla skutečnost, že v binárním systému obsahujícím pouze nitrosobenzen a 4-aminodifenylamin v benzenovém roztoku je pozorováno EPR spektrum aduktu vodíkového atomu s nitrosobenzenem (**53**). Tento efekt (molecular asisted homolysis) se někdy pozoruje při smíchání aromatických nitrososloučenin s některými typy H-donorů jako jsou např. fenoly.

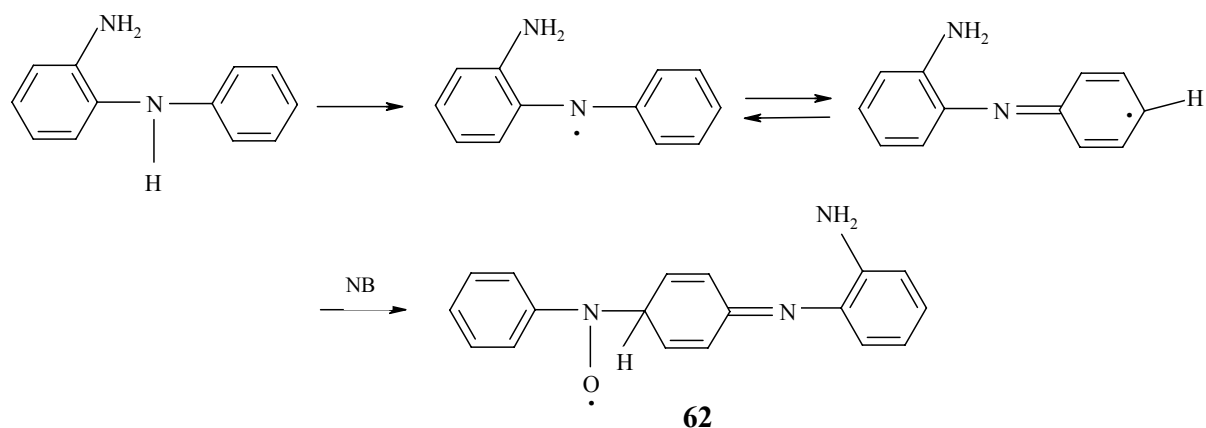


Schéma 26

Kromě výše uvedených derivátů difenylaminu byla tendence k odštěpení vodíkového atomu z NH-vazby aminů sledována u dalších typů diarylaminů $R_1\text{-NH-R}_2$, ve kterých byl fenylový kruh ($R_1 = \text{Ph}$) kombinován s jinými typy aromatických kruhů N-heterocyklického typu ($R_2 =$ pyrazolový, triazolový, tetrazolový, imidazolový kruh). Jednalo se o typ sekundárních aminů, které při oxidaci s $\text{RO}_2^\cdot$ radikály velmi ochotně poskytují příslušné nitroxylové radikály $R_1\text{-NO}^\cdot\text{-R}_2$.^{79,80} Pokud byl oxidaci s PbO_2 v přítomnosti nitrosobenzenu podroben v benzenovém roztoku anilinopyrazol **63** (Schéma 27), bylo zaznamenáno EPR spektrum uvedené na Obr. 46. Toto EPR spektrum bylo simulováno s následujícími štěpícími konstantami: $1 \times a_{\text{N}}(\text{NO}) = 1,040 \text{ mT}$, $3 \times a_{\text{H}}(o,p) = 0,245 \text{ mT}$, $2 \times a_{\text{H}}(m) = 0,075 \text{ mT}$, $1 \times a_{\text{N}} = 0,065 \text{ mT}$. EPR parametry dokazují, že dochází k adici dusíkatého radikálu, kterým je s největší pravděpodobností aminylový radikál vznikající rozštěpením NH-vazby (**64**). Jeho adicí na nitroso-skupinu spin-trapu vzniká adukt **65**. V úvahu přichází také možnost adice přes jeden dusík pyrazolového kruhu, přičemž tato alternativa vychází z možnosti existence mezomerní formy aminylového radikálu, která má strukturu **66**.

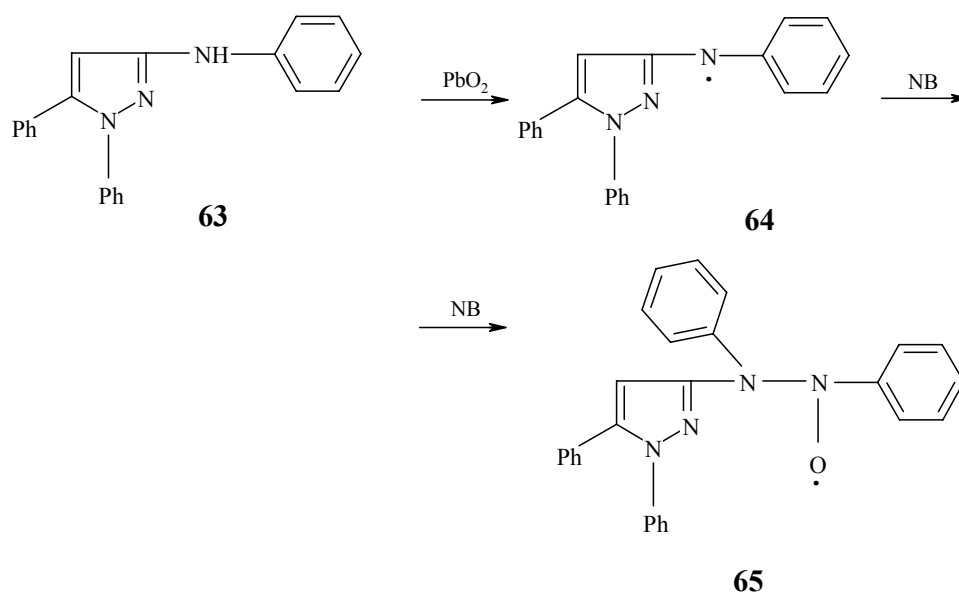
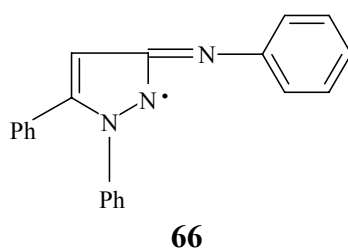


Schéma 27



EPR studium spin-trappingu radikálových meziproduktů oxidace sekundárních aminů $\text{R}_1\text{-NH-R}_2$, obsahujícími fenylový kruh v kombinaci s různými N-heterocyklickými kruhy, prokázal vznik adovaných N-radikálů v případě anilinopyrazolů. Tendence k tvorbě dusíkatých radikálů byla následně ověřována i pro další sekundární aminy tohoto typu, ve kterých jako substituent R_2 vystupovaly další N-heterocyklické struktury (triazolový, tetrazolový, imidazolový kruh). V přítomnosti PbO_2 a nitrosobenzenu jako spin-trapu však na rozdíl od anilinopyrazolů nedochází k pozorovatelnému vzniku jakýchkoliv aduktů, i když byl tento problém studován za laboratorní teploty za různých koncentračních poměrů mezi spin-trapem a sekundárním aminem. Jedním z možných vysvětlení tohoto efektu je velmi rychlá rekombinace aminylových radikálů, jako produktů abstrakce vodíkového atomu z NH -skupiny, vedoucí ke vzniku stabilních hydrazinů.⁸¹

6 ZÁVĚR

6.1 Radikálové meziprodukty H-transferu z uhlíkatých donorů

Při studiu derivátů kumarinu obsahujících v poloze 3 kumarinového skeletu substituent s kyslou CH_2 -skupinou bylo zjištěno, že v přítomnosti PbO_2 dochází k homolytickému štěpení CH -vazby metylenové skupiny za tvorby uhlíkatého radikálu. Ten se vyznačuje velmi vysokou nestabilitou, takže jeho identifikace je možná pouze za použití metody spin-trappingu. Jako spin-trapy byly použity různé typy nitrososloučenin. Problém interpretace vznikajících EPR spekter vyplývá z toho, že u studovaných struktur bylo možné očekávat vznik několika tautomerních forem (keto-enolová tautomerie). Aplikace metody spin-trappingu však prokázala, že jedinými radikály, které se adují na NO -skupinu spin-trapu jsou uhlíkaté radikály jako produkty odštěpení vodíku z metylenové skupiny. To znamená, že při oxidaci studovaných kumarinů se z hlediska struktury pozorovaných radikálů pozoruje pouze radikál odvozený od keto-formy. Experimentální výsledky dosažené u série substituovaných derivátů kumarinu iniciovaly další experimenty, při kterých byly na povrchu PbO_2 rozkládány modelové sloučeniny obecného vzorce $\text{R}_1\text{-CO-(CH}_2)_n\text{-CO-R}_2$ ($n = 1,2,3$), jakož i některé sloučeniny typu $\text{R}_1\text{-CO-CHX-CO-R}_2$ ($\text{X} = \text{alkyl, fenylyl}$). I když u těchto sloučenin je rovněž možné předpokládat existenci keto-enolové tautomerie, opět se prokázalo, že jedinými radikálovými produkty vznikajícími v přítomnosti PbO_2 jsou uhlíkaté radikály, vznikající odštěpením vodíkového atomu z můstku $\text{-(CH}_2)_n\text{-}$ resp. -CHX- . Jejich existence byla nepřímo prokázána metodou spin-trappingu za použití aromatických nitrososloučenin.

6.2 Radikálové meziprodukty H-transferu z kyslíkatých donorů

Technika spin-trappingu se ukázala jako velmi účinná metoda nepřímé detekce fenoxylových radikálů za použití EPR spektroskopie. Při oxidaci monofunkčních a bifunkčních *orto*-nesubstituovaných nebo částečně substituovaných fenolů se tvoří nestabilní fenoxylové radikály, které se dají detekovat ve statickém systému jedinečně metodou spin-trappingu. V závislosti na použitém typu nitrososloučeniny vznikají substituované fenoxazínoxylové radikály v případě použití nitrosobenzenu. Pokud byla jako spin-trap použita nitrososloučenina s plně nebo částečně substituovanou *orto*-polohou (nitrosoduren nebo nitrosotoluen) pozorovanými radikálovými adukty jsou deriváty difenylnitroxylu. V obou případech je však primárním krokem adice fenoxylového radikálu na NO -skupinu v jeho *orto*-poloze. V průběhu adice fenoxylových radikálů na aromatické sloučeniny je možné pozorovat sterické efekty, které mají svůj původ jak ve struktuře použitého fenolu, tak ve struktuře aplikovaného spin-trapu.

Stericky stíněné fenoxylové radikály (radikály od 2,4,6-substituovaných fenolů) se adují na aromatické nitrososloučeniny v *para*-poloze. V tomto případě hyperjemná struktura EPR spekter radikálových aduktů nezahrnuje (kromě základního dusíkového štěpení) štěpení od atomů adovaného fenoxylu, ale pouze štěpení od vodíkových atomů spin-trapu. Specifické chování vykazuje 2,6-ditercetyl-4-metylphenol, který se v přítomnosti PbO_2 aduje na aromatickou nitrososloučeninu ve formě benzylového radikálu. Tedy v tomto případě oxidace tohoto fenolu probíhá nejen na fenolické OH -skupině, ale dochází rovněž k odštěpení

vodíkového atomu z metylové skupiny. Adukt benzylových radikálů podléhá následným přeměnám na příslušný nitrón, který je dále oxidován na sekundární fenoxylový radikál.

V sérii substituovaných diánů bylo pozorováno, že radikálové adukty s nitrosobenzenem mají charakter 2,4,6-substituovaných fenoxylových aduktů.

Monojaderné bifunkční fenoly přímo reagují s molekulami spin-trapu jako H-donory. V průběhu reakce probíhá abstrakce vodíkového atomu z fenolické OH-skupiny, po které následuje jeho adice na NO-skupinu spin-trapu.

6.3 Radikálové meziprodukty H-transferu z dusíkatých donorů

EPR měření provedená v systému PbO_2 – sekundární amin – nitroso-spin-trap poukázala na skutečnost, že ve většině případů nedochází k adici aminylových radikálů přes dusíkový atom (vznikajících odštěpením vodíku z NH-skupiny na nitroso-spin-trap). Pouze v případě amino-substituovaných difenylaminů (2-aminodifenylamin, 4-aminodifenylamin) byly pozorovány adukty, které vycházejí z rezonančních forem primárního aminylu. Pokud byly s PbO_2 oxidovány sekundární aminy $\text{R}_1\text{-NH-R}_2$, u kterých byl fenylový kruh ($\text{R}_1 = \text{Ph}$) kombinován s některými N-heterocyklickými kruhy ($\text{R}_2 =$ triazolový, tetrazolový, imidazolový, pyrazolový kruh), pouze v případě kruhu pyrazolového byly detekovány adukty aminylových radikálů s nitrosobenzenem.

7 SUMMARY

7.1 Radical intermediates of H-transfer from C-donors

During the investigation of coumarin derivatives containing substituents with an acidic CH₂ group in 3-position it was found out that C-radical is formed as a result of the homolytic splitting of the C-H bond in the methylene group. The radical is very unstable, so its identification is possible only by application of the spin-trapping technique. Various types of nitrosocompounds were used as spin-traps. There is a problem in interpretation of detected EPR spectra, because the occurrence of several tautomeric forms (keto-enol tautomerism) can be expected. The application of the spin-trapping technique confirmed that the only radicals which are added to NO-group, are C-radicals generated by the abstraction of a hydrogen atom from the methylene group. The experimental results imply that radical adducts are derived from the keto-form. This results obtained for the coumarin derivatives initiated additional experiments, where the model compounds with the general formula R₁-CO-(CH₂)_n-CO-R₂ (n = 1,2,3) and R₁-CO-CHX-CO-R₂ (X = alkyl, fenyl) were decomposed on the surface of PbO₂. Although also in this case it is possible to expect the occurrence of the keto-enol tautomerism, it was repeatedly confirmed that the only radicals generated in the presence of PbO₂ are the C-radicals, which are formed as a result of the hydrogen abstraction from -(CH₂)_n- resp. -CHX- bridge. Their existence was indirectly confirmed by the application of spin-trapping technique using aromatic nitrosocompounds.

7.2 Radical intermediates of H-transfer from O-donors

Spin-trapping technique has proved to be very efficient method in the indirect detection of phenoxyl radicals using EPR spectroscopy. By the oxidation of monofunctional and bifunctional ortho-unsubstituted or partially substituted phenols unstable phenoxyl radicals are formed, detectable in static system only by the spin-trapping method. In dependence on spin-trap used either substituted phenoxazinoxyl radicals (in case of nitrosobenzene as spin-trap) or derivatives of diphenylnitroxyl (in case of fully or partially ortho-substituted nitrosocompounds – nitrosodurene, nitrosotoluene). In both cases the addition of phenoxyl radical to NO-group in ortho-position is the primary step of addition. In the course of addition of these phenoxyl radicals to aromatic nitrosocompounds steric effects, having their origin either in the molecule of added phenoxyl radical, or in the structure of applied spin-trap, can be proved.

Sterically hindered phenoxyl radicals (phenoxyls from 2,4,6-substituted phenols) add to aromatic compounds in *para*-position. In this case, the hyperfine structure of EPR spectra of radical adducts does not include the splitting from atoms of added phenoxyl and, except for the basic nitrogen splitting only the splittings from spin-trap protons are involved. Specific behavior exhibits 2,6-ditert-butyl-4-methylphenol, which in the presence of PbO₂ adds to aromatic nitrosospin-trap in the form of benzyl radical. In this case the phenol oxidation occurs in OH-group and partially also the hydrogen abstraction from the *para*-methyl group. Adduct of the benzyl radical is subsequently transformed to the corresponding nitrone, which is further oxidized to the secondary phenoxyl radical.

In the series of substituted dianes it was observed that radical adducts with nitrosobenzene have the character of 2,4,6-substituted phenoxyl adducts.

Mononuclear bifunctional phenols directly react with molecules of spin-trap as H-donor. In the course of reaction the abstraction of hydrogen atom from phenolic OH-group followed by its addition to NO-group of spin-trap proceeds.

7.3 Radical intermediates of H-transfer from N-donors

EPR measurement performed in the system PbO_2 – secondary amine – nitroso-spin-trap point out the fact that in most cases the addition of aminyl radicals (formed by the hydrogen abstraction from NH-group) to nitroso spin-trap does not occur through nitrogen atom. Only in the case of amino-substituted diphenylamines (2-aminodiphenylamine, 4-aminodiphenylamine) adducts, which originate from the resonance forms of the primary aminyl radical, were observed. If the secondary amines $\text{R}_1\text{-NH-R}_2$, where the phenyl ring ($\text{R}_1 = \text{Ph}$) was combined with some N-heterocyclic rings ($\text{R}_2 = \text{triazol, tetrazol, imidazol, pyrazol ring}$), were oxidized using PbO_2 , only in the case of pyrazol ring adducts of aminyl radical with nitrosobenzene were detected.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. Pelikán P., Staško A.: *EPR spektroskopie*, SVŠT Bratislava (1989).
2. Geron F., Huber W.: *Electron Spin Resonance Spectroscopy of Organic Radicals*, Wiley – VCH Verlag GmbH & CO KGaA, Weinheim (2003).
3. Lazár M.: *Chemické reakce volných radikálů*, 1. vydání, Bratislava (1983).
4. Weil J. A., Bolton J. R.: *Electron Spin Resonance, Elementary Theory and Practical Applications*, McGraw-Hill Book Company, New York (1972).
5. Atkins P. W.: *Fyzikální chemie část 2b*.
6. Pelikán P., Kapřík L., Zmeškal O., Krčma F.: *Fyzikální chemie – Struktura hmoty*, 1. Vydání, Brno Vutium, (2000).
7. Tkáč A.: *Pharma Journal* **4**, 3 (1994).
8. Berliner J. L., Kharmatsov V., Fuji H., Clinton T. L.: *Free Radical Biology and Medicine* **30**, 489 (2001).
9. Omelka L., Kováčová J.: *Magn. Reson. Chem.* **32**, 525 (1994).
10. Riegel G., Bolton J. R., *J. Phys. Chem.*, **99**, 4215 (1995).
11. Harbour J. R., Tramp J., Hair M. L.: *Can. J. Chem.* **63**, 204 (1985).
12. Noda H., Oikawa K., Ohya-Nishiguchi H., Kamada H.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **66**, 3542 (1993).
13. Milatovic D., Radic Z., Zivin M., Dettbarn W. D.: *Free Rad. Biol. Med.*, **28**, 597 (2000).
14. Pérez M. J., Cederbaum A. L.: *Free Rad. Biol. Med.* **30**, 734 (2001).
15. Pou S., Halpern H. J., Tsai P., Rosen G. M.: *Acc. Chem. Res.* **32**, 155 (1999).
16. Davis M. J., Hawkins C. L.: *Free Rad. Biol. Med.*, **36**, 1072 (2004).
17. Mason R. P.: *Rad. Biol. Med.* **36**, 1214 (2004).
18. Brezová V., Pigošová J., Havlínová B., Dvoranová D., Ďurovič M.: *Dyes and Pigments* **61** (2), 177 (2004).
19. Nahajima A., Tahara M., Yoshimura Y., Nahazawa H.: *Journal of Photochemistry and Photobiology A* (2005).
20. Polovka M., Brezová V., Staško A.: *Spectrochim. Acta A*, **58**, 1279 (2002).
21. Staško A., Polovka M., Brezová V., Biskupič S., Malík F.: *Food Chem.* 2004.
22. Polovka M., Brezová V., Staško A.: *Biophys. Chem.* **106**, 39 (2003).
23. Khan M., Grinberg O., Wilmot C., Kiefer H., Schwarz H. M.: *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* **62**, 125 (2005).
24. Scheffler K., Stegmann H. B.: *Elektronenspinresonanz*, Springer-verlag Berlin, Heidelberg (1970).
25. Weiner S., Hemmond G. S.: *J. Amer. Chem.* **91**, 2182 (1969).
26. Andersen M. L., Skibsted L. H.: *J. Agric. Food Chem.* **46**, 1272 (1998).
27. Ďuračková Z.: *Volné radikály a antioxidanty v medicíne I*, Slovak Academic Press Bratislava (1998).
28. Basaga H. S.: *Biochem. Cell Biol.* **68**, 989 (1990).
29. Machor A., Wajer T. A. J. W., de Boer T. J., von Woort J. D. W.: *Tetrahedron Letters*, 385 (1967).
30. Tkáč A., Veselý K., Omelka L.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **39**, 3504 (1974).
31. Czapski G., Samuni A.: *Israel J. Chem.*, **7**, 361 (1969).
32. Czapski G.: *J. Phys. Chem. Chem.*, **75**, 2957 (1971).
33. Chiang Y. S., Craddock J., Mikewich D., Tufkewich J.: *J. Phys. Chem.*, **70**, 3509, (1966).

34. Brandon R.W., Elliot C. S.: *Tetrahedron Lett.*, 4357 (1967).
35. Tkáč A., Veselý K., Omelka L.: *J. Phys. Chem.* **75**, 2575 (1971).
36. Tkáč A., Veselý K., Omelka L.: *J. Phys. Chem.* **75**, 2580 (1971).
37. Petránek J., Pilař J.: *Coll. Czech. Chem. Commun.* **34**, 79 (1969).
38. Williams D. J., Kreilick R.: *J. Amer. Chem. Soc.*, **90**, 2475 (1968).
39. Rozancev E. G., Šolle V. D.: *Organičeskaja chimija svobodnych radikalov*, Chimija, Moskva (1979).
40. Muller E., Ley K., Kiedaisch W.: *Chem Ber.* **87**, 1605 (1954).
41. Muller E., Ley K., Kiedaisch W.: *Chem Ber.* **88**, 1819 (1955).
42. Breza M.: *J. of Molecular Structure*, **683**, 167 (2004).
43. Balabán A. T., Frangopol A. T., Frangopol P. T., Negoita N., *Tetrahedron*, **23**, 4661, (1967).
44. Kun R., Kainer H.: *Biochem. Biophys. Acta*, **12**, 325 (1953).
45. Dugong L., Baum G.: *Chem. Ber.*, **102**, 1626 (1969).
46. Rosenthal L., Poupko R.: *Tetrahedron*, **31**, 2103 (1975).
47. Thomas J.: *J. Am. Soc.*, **82**, 5955 (1960).
48. Lagercrantz C., Forshult S.: *Act Chem. Scand.*, **23**, 708 (1969).
49. Edwards O. E., Paskowich D. H., Reddoch A. H.: *Can. J. Chem.*, **51**, 978 (1973).
50. Neugebauer F. A., Bemberger S.: *Angew. Chem. (Intern. Edition)*, **10**, 71 (1971).
51. Gilbert B. C., Norman R. O. C.: *J. Chem. Soc. B*, **86**, 722 (1966).
52. Burian M., Omelka L., Ondrášová S., Brezová V.: *Monatsh Chem*, **134**, 501 (2003).
53. Adams J. Q., Nicksic S. W., Thomas J. R.: *J. Chem. Phys.*, **45**, 654 (1966).
54. Aurich H. G., Weiss W.: *Topics Curr. Chem.*, **59**, 65 (1975).
55. Norman R. O. C., Pritchett R. J.: *J. Chem. Soc.*, 1967B, 926
56. Dalton D. R., Liebman S. A.: *Tetrahedron*, **26**, 3265 (1970).
57. Griller D., Barclay L. R. C., Ingold K. U.: *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 6151 (1975).
58. Světlík J., Pronayova N., Hanuš V.: *J. Heterocyclic Chem.*, **37**, 395 (2000).
59. Schulz M., Mogel L., Omelka L., Tkáč A.: *J. Prakt. Chem.*, **328**, 222 (1986).
60. Omelka L., Meske M., Cholvát V., Světlík J., Schulz M.: *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **57**, 1065 (1992).
61. Terabe S., Konaka R.: *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2*, 2163 (1972).
62. Schulz M., Reinhardt M., Scharn E.: *J. Prakt. Chem.*, **327**, 1037 (1985).
63. Watters W. A.: *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1*, 1078 (1979).
64. Booth B. L., Edge D. J., Haszeldine R. N., Holmes R. G. G.: *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2*, 7 (1977).
65. Omelka L., Kluge R., Reinhardt M., Schulz M.: *J. Prakt. Chem.*, **330**, 510 (1988).
66. Petránek J., Pilař J.: *Coll. Czech. Chem. Commun.*, **34**, 79 (1969).
67. Williams D. J., Kreilick R.: *J. Amer. Chem. Soc.*, **90**, 2475 (1968).
68. Cosgrove S. L., Waters W. A.: *J. Chem. Soc.*, **77**, 1782 (1955).
69. Horswill E. C., Ingold K. U.: *Canad. J. Chem.*, **44**, 269 (1966).
70. Bickel A. F., Koozman E. C.: *J. Chem. Soc.*, 3211 (1953).
71. Pospíšil J.: *Pure Appl. Chem.*, **36**, 207 (1973).
72. Omelka L., Kováčová J.: *Magn. Reson. Chem.*, **32**, 525 (1994).
73. Zhuzhgov E. I., Bazhin N. M., Terpugova M. P., Tsvetkov Y. D.: *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.*, 2530 (1974).
74. Savolainen A. V., Saavalainen A.: *Europ. Polym. Journal*, **10**, 815 (1974).

75. R.H. Bauer, G.M. Coppinger: *Tetrahedron*, **19**, 1201 (1963).
76. Tkáč A., Omelka L., Jiráčková L., Pospíšil J.: *Org. Magn Resonance* **14**, 249 (1980)
77. Omelka L., Tkáč A., Jiráčková L., Pospíšil J.: *Org. Magn Resonance* **19**, 153 (1982)
78. Chatgililoglu C., Ingold K. U.: *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 4833 (1981).
79. Schulz M., Mogel L., Omelka L., Tkáč A. : *J. Prakt. Chem.*, **328**, 222 (1986).
80. Omelka L., Meske M., Cholvad V. Světlík J., Schulz M.: *Collection Czech. Chem. Commun.*, **57**, 1065 (1992).
81. Danen W.C., Neugebauer F.A.: *Angewandte Chemie*, **87**, 823 (1975).

9 PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI

Superatová R. EPR study on spin trapping of phenoxyl radicals with nitroso compounds
Soutěž studentské tvůrčí činnosti s mezinárodní účastí Student FCH 2004, Sborník příspěvků,
s.138 (2004) ISBN: 80-214-2823-6

Superatová, R., Omelka, L. EPR studium spin-trappingu fenoxylových radikálů
s nitrososloučeninami. In: 56. sjezd chemických společností, Ostrava, 6.9.- 9.9. 2004, Sborník
příspěvků Chem. Listy, 98, 536-537 (2004), ISSN 0009-2770

Klučáková M., Superatová R. Frakcionace huminových kyselin. In: 56. sjezd chemických
společností, Ostrava, 6.9.- 9.9. 2004, Sborník příspěvků Chem. Listy, 98, 728 -729 (2004),
ISSN 0009-2770

Superatová R., Omelka L. Studium fenoxylových radikálů metodou spin-trappingu. In: V.
pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků, Brno, únor 2005, Sborník příspěvků,
Brno: Masarykova Univerzita v Brně, p.88, ISBN 80-210-3637-0

Superatova R., Omelka L., Světlík J. EPR study of radical reactions of some coumarin
derivatives.. In: 3rd Meeting of Chemistry & Life, Brno, 20-22 September, 2005, Chem.Listy,
99, 192 (2005), ISSN 0009-2770

Vlčková Z., Superatová R., Omelka L. Radical decomposition of some coumarin derivatives
with acidic CH bond. In VII. Pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků. Sborník
příspěvků. Brno: Masarykova univerzita v Brně, 2007, p.127-128. ISBN 978-80-210-4235-3.

Superatova R., Vlčková Z., Omelka L., Světlík J., Radical Intermediates in Decomposition of
Substituted Coumarins, *Monatsh. Chem.* 139, 101 (2008), ISSN 0026-9247

Omelka L., Majzlík P., Superatova R., Holubcová P. Spin-trapping investigation of radical
intermediates generated from phenols. Specific behavior of *para*-methyl phenols.. In: 4th
Meeting of Chemistry & Life, Brno, 9-11 September, 2008, Chem.Listy, 102, 1099 (2008),
ISSN 1803-2389

Majzlík P., Superatová R., Holubcová P., Omelka L. Spin trapping of radical intermediates
generated by the oxidation of *para*- methyl substituted phenols. (připraveno do tisku)

10 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

NB	nitrosobenzen
NT	nitrosotoluen
PBN	α -fenyl-N-terc-butyl-nitron
POBN	α -(4-pyridyl-1-oxid)-N-terc-butyl-nitron
DMPO	5,5-dimetyl-1-pyrolin-N-oxid
DEPMPO	5-diethoxyphosphoryl-5-methyl-1-pyrroline N-oxid
DPPH	difenylpikrylhydrazyl
CINB	trichlornitrosobenzen
DBP	dibenzoylpropan

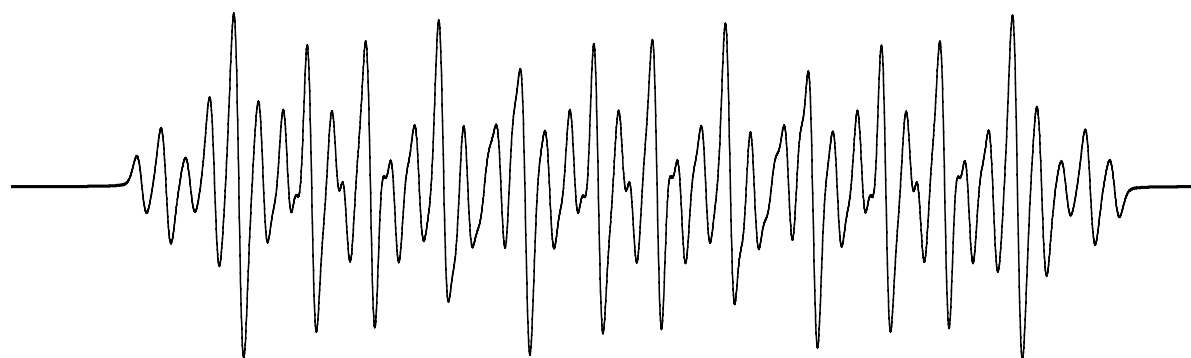
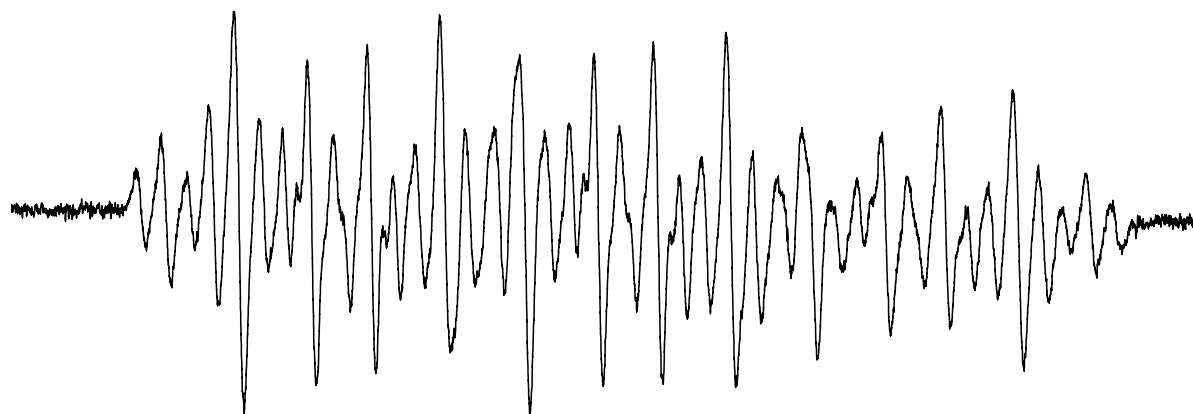
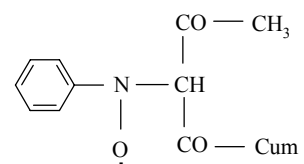
11 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha č. 1: Obrázky experimentálních a simulovaných EPR spekter

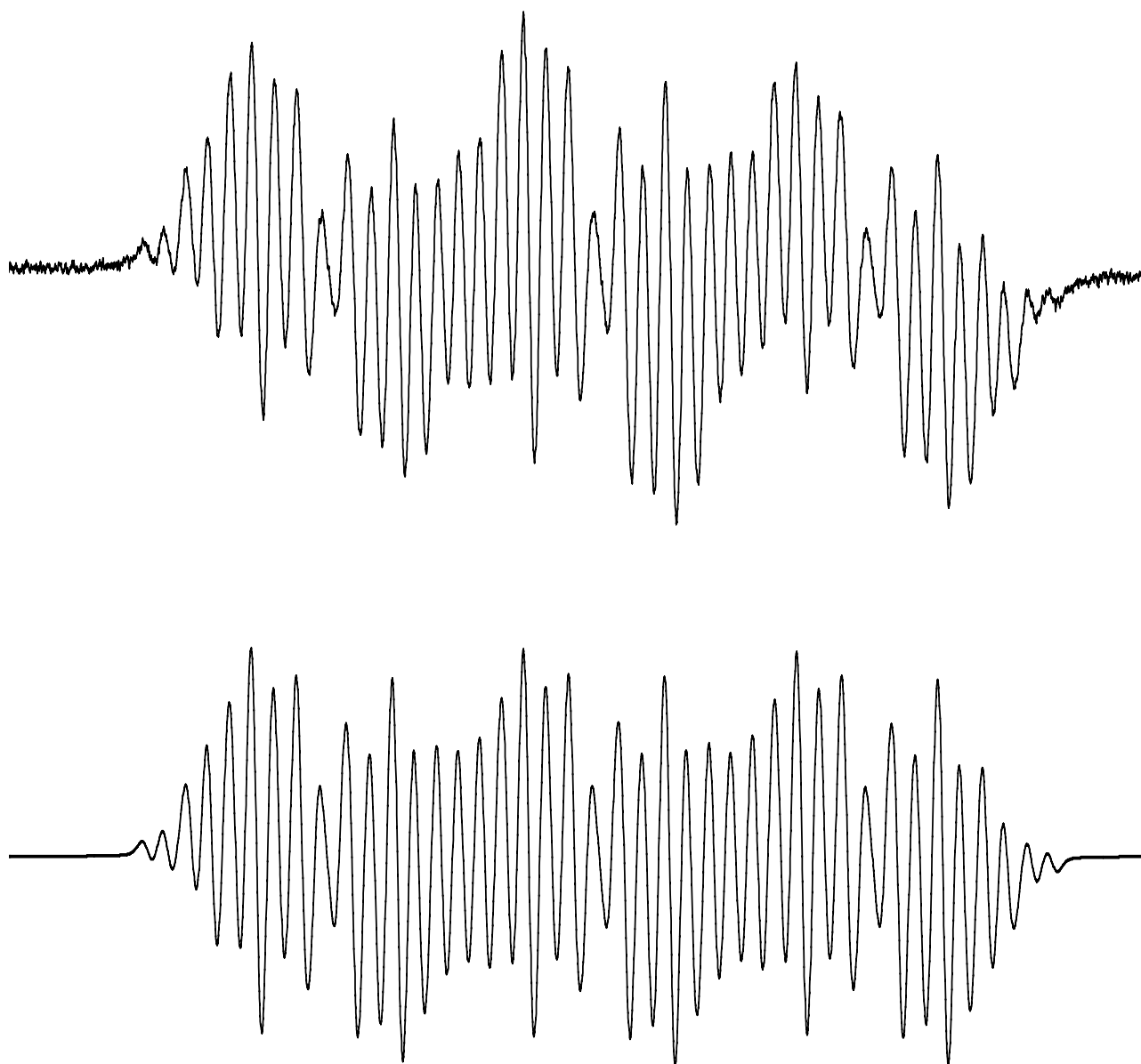
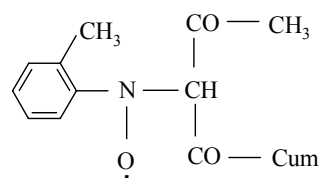
Příloha č. 2: Kopie publikovaných prací

12 PŘÍLOHY

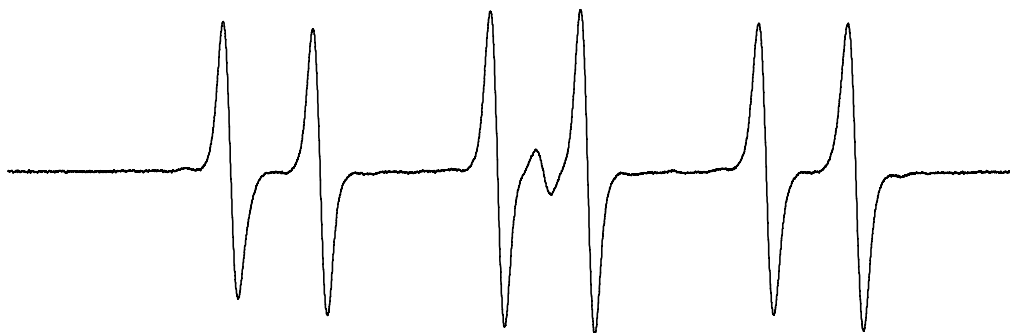
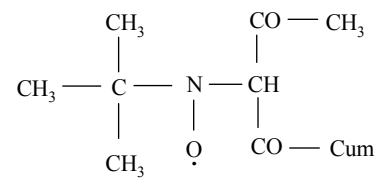
12.1 Příloha č. 1: Obrázky experimentálních a simulovaných EPR spekter



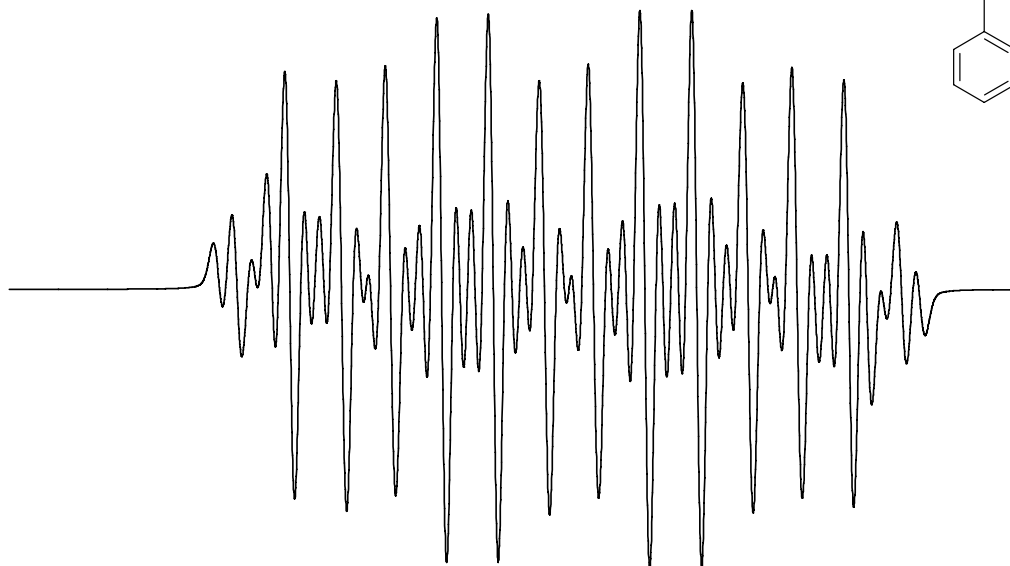
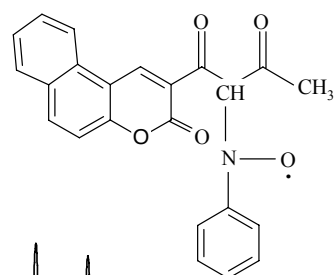
Obr. 1: Experimentální a simulované EPR spektrum radikálu typu **6a** – **6c**.



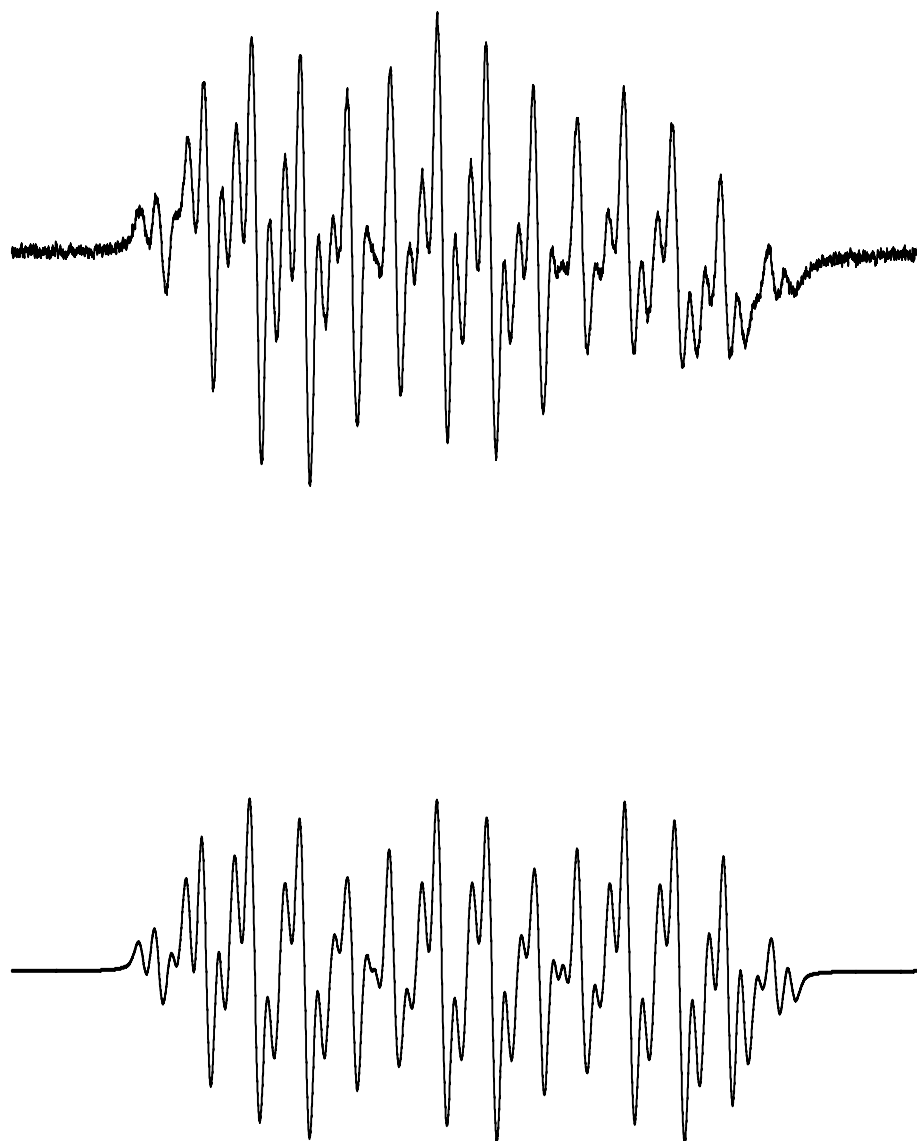
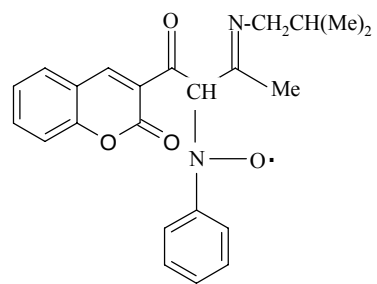
Obr. 2: Experimentální a simulované EPR spektrum radikálu typu **7a** – **7c**.



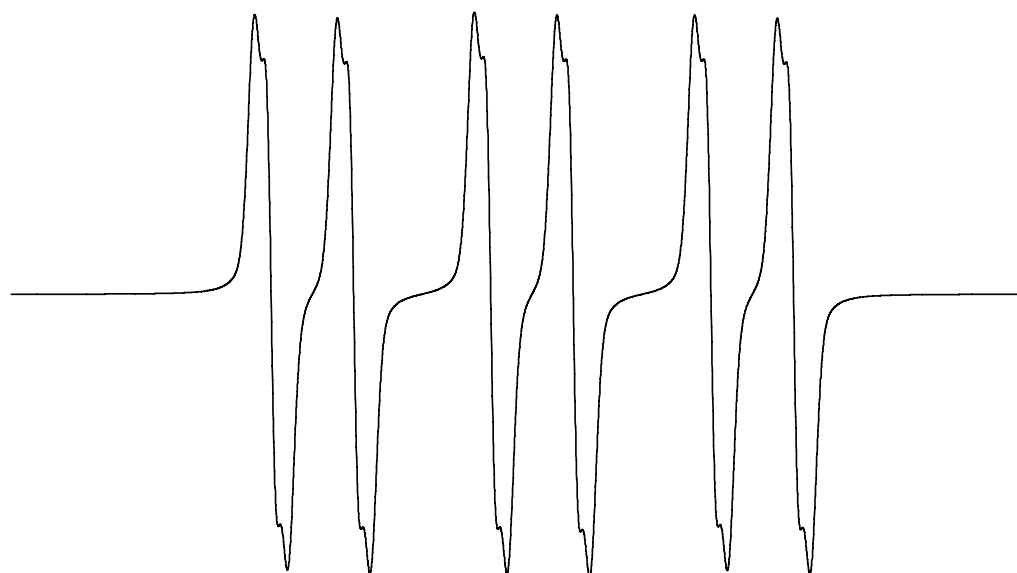
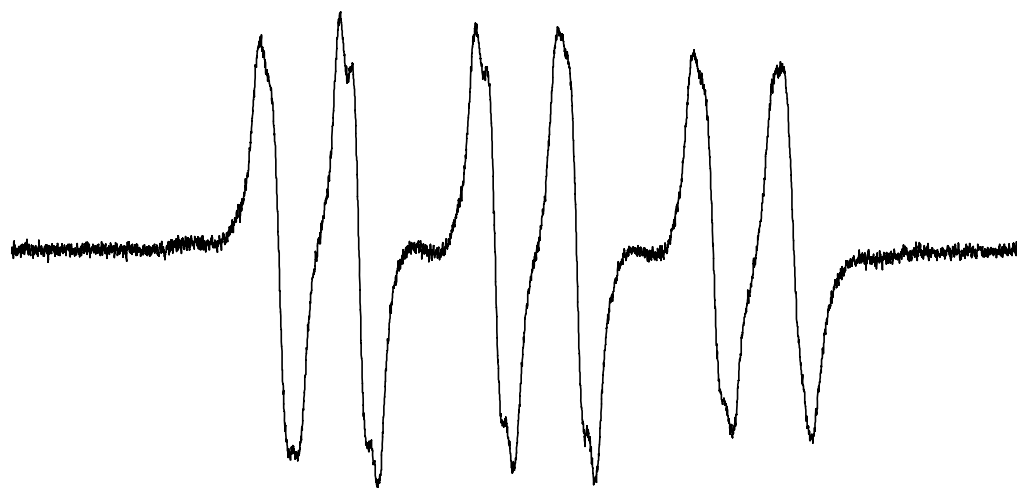
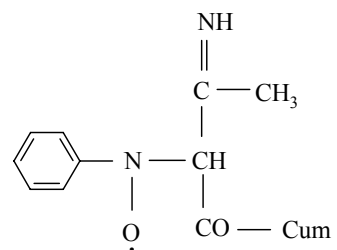
Obr. 3: Experimentální EPR spektrum radikálu typu **8a – 8c**.



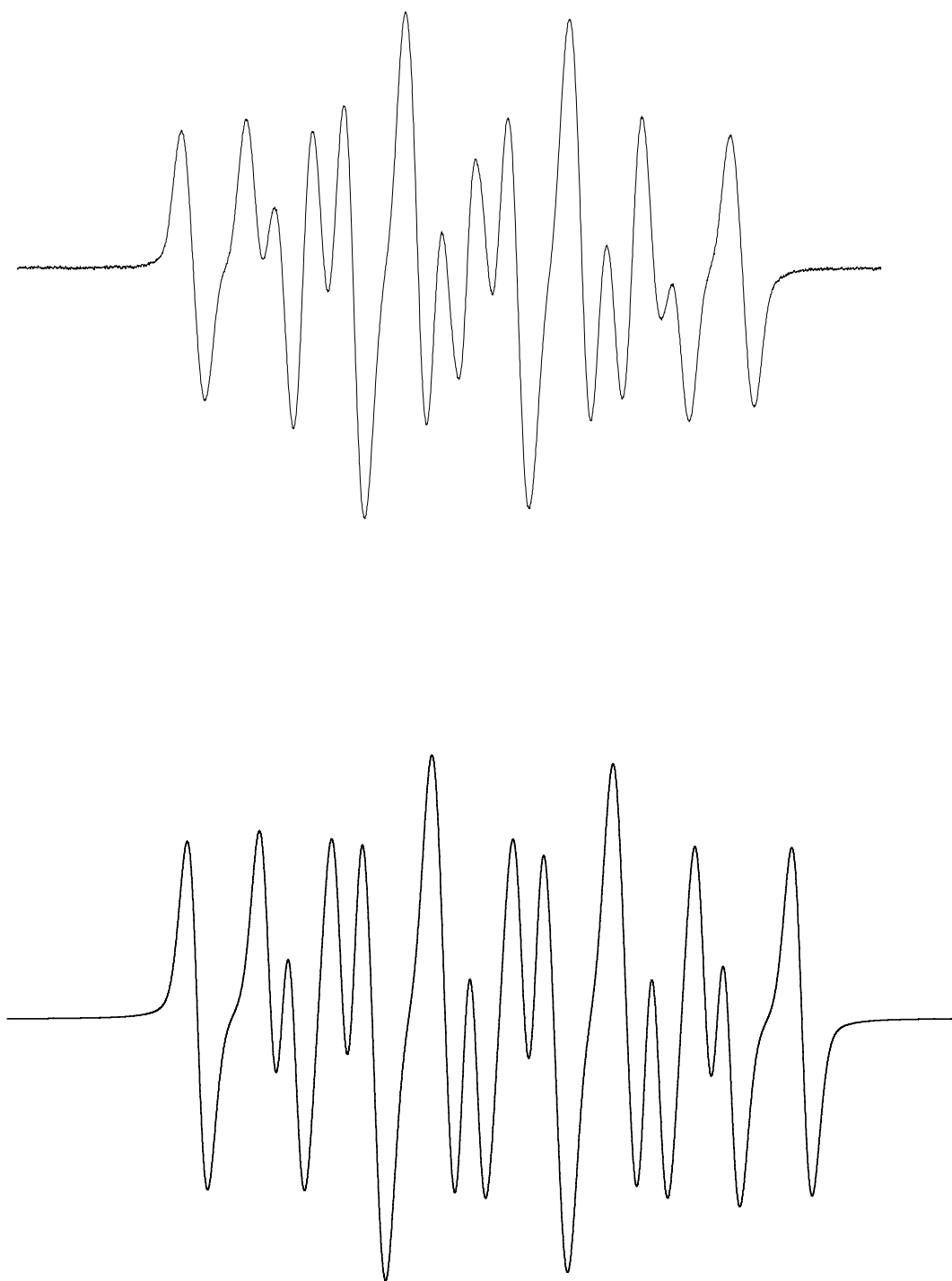
Obr. 4: Experimentální EPR spektrum radikálu vzniklého reakcí sloučeniny **4** s nitrosobenzenem na povrchu PbO_2 .



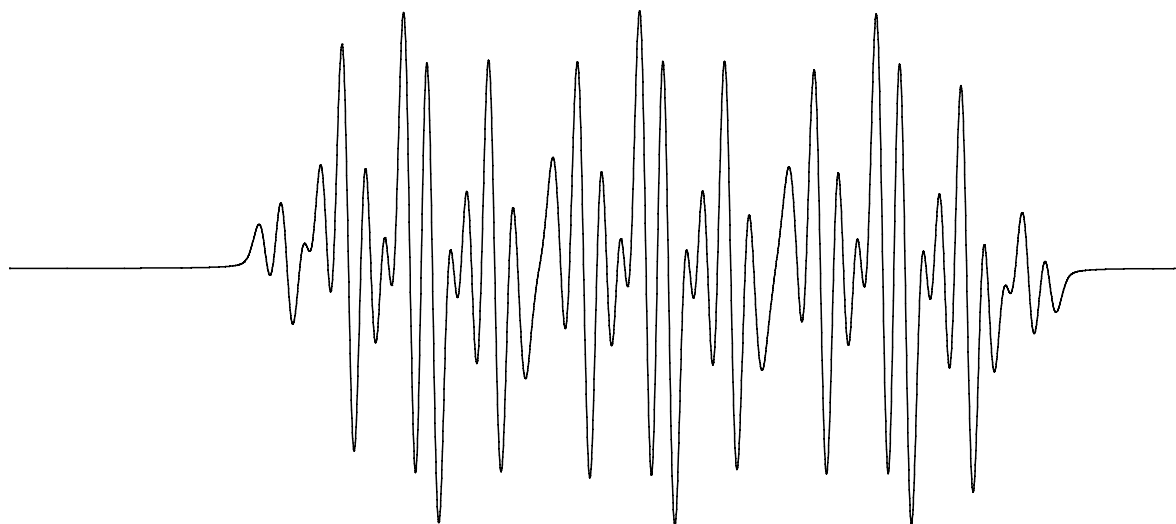
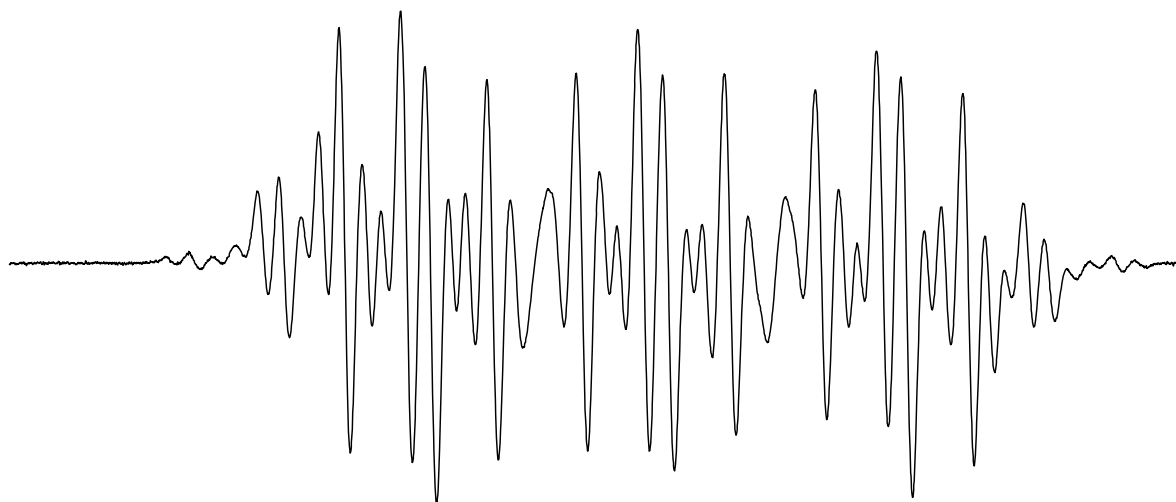
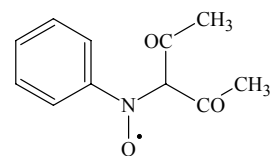
Obr. 5: Experimentální a simulované EPR spektrum radikálu **10b**.



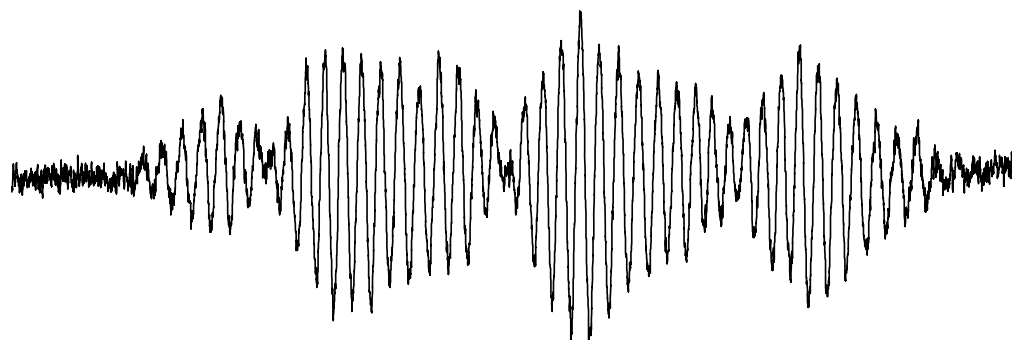
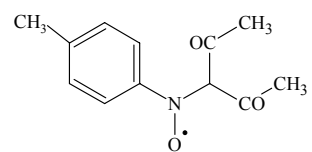
Obr. 6: Experimentální a simulované EPR spektrum radikálu **11a**.



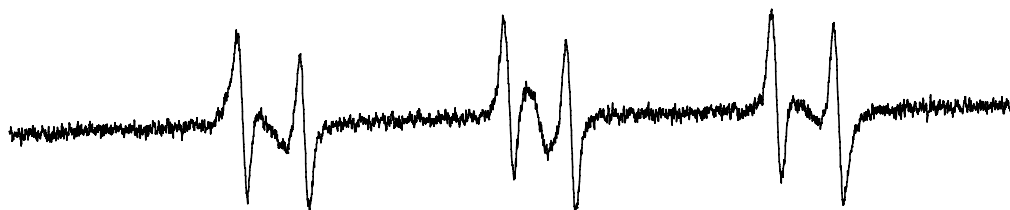
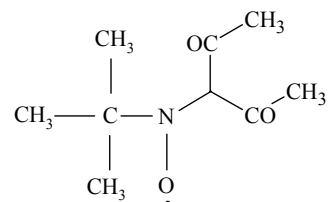
Obr. 7: Experimentální a simulované EPR spektrum radikálu pozorované při reakci PbO_2 s kumarinovým derivátem **3** v přítomnosti 2-metyl-2-nitrosopropanu (MNP).



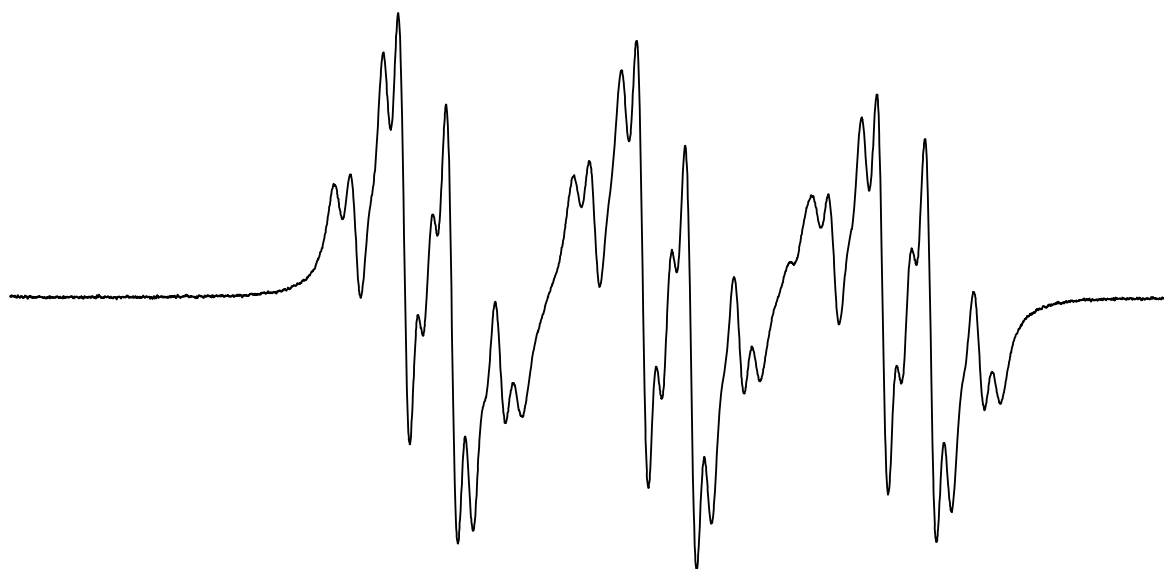
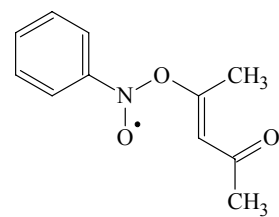
Obr. 8: Experimentální a simulované EPR spektrum radikálu vzniklého smícháním sloučeniny **16a** s NB a PbO_2 .



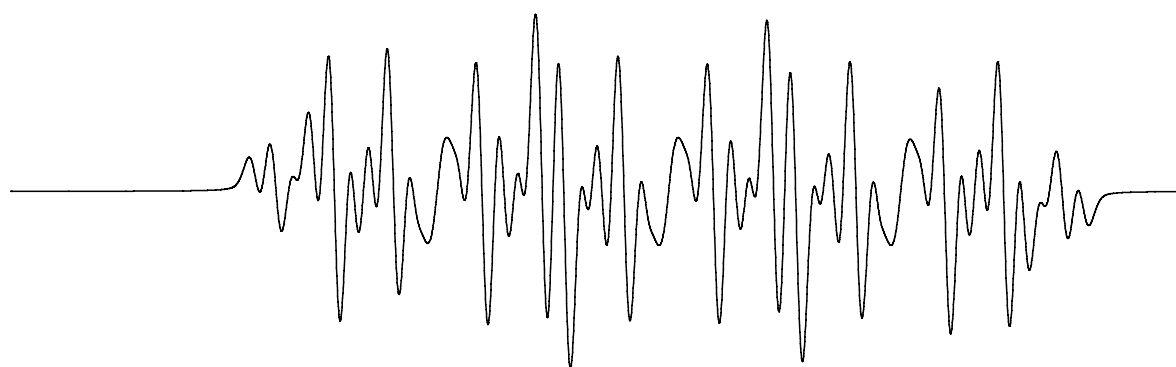
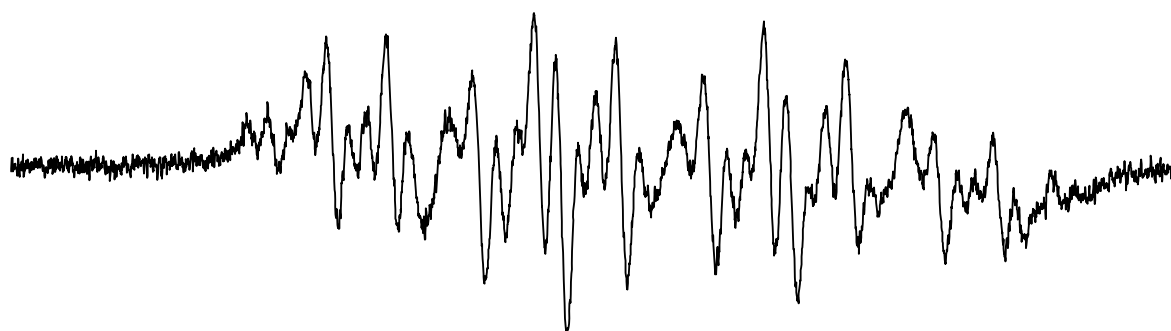
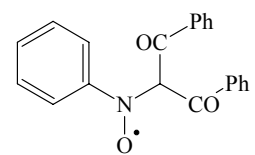
Obr. 9a: Experimentální EPR spektrum radikálu vzniklého smícháním sloučeniny **16a** s NT a PbO_2 .



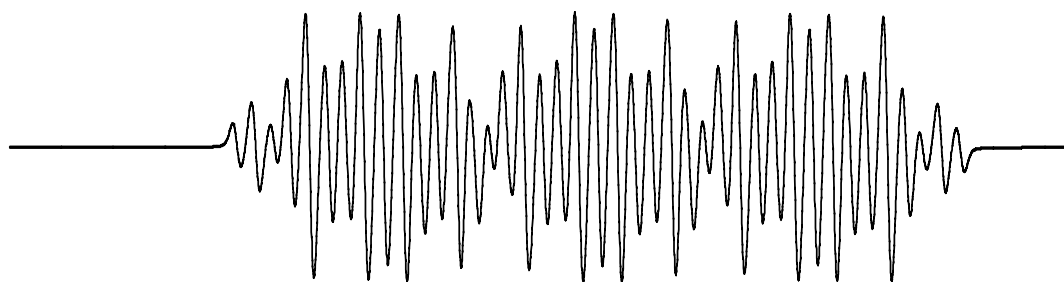
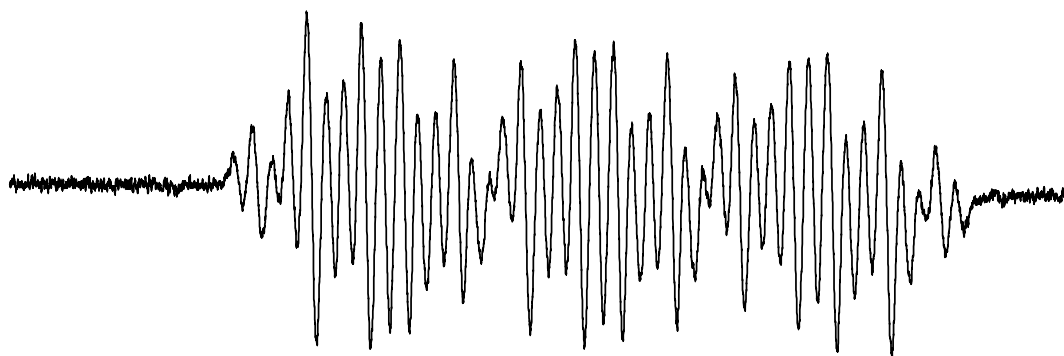
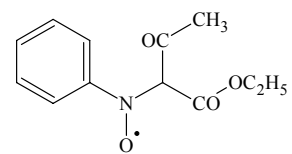
Obr. 9b: Experimentální EPR spektrum radikálu vzniklého smícháním sloučeniny **16a** s MNP a PbO_2 .



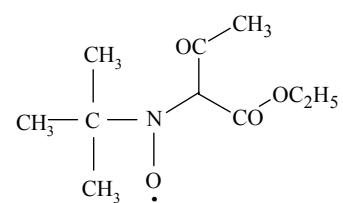
Obr. 10: Experimentální EPR spektrum radikálu vzniklého smícháním acetylacetonátu kobaltnatého s NB.



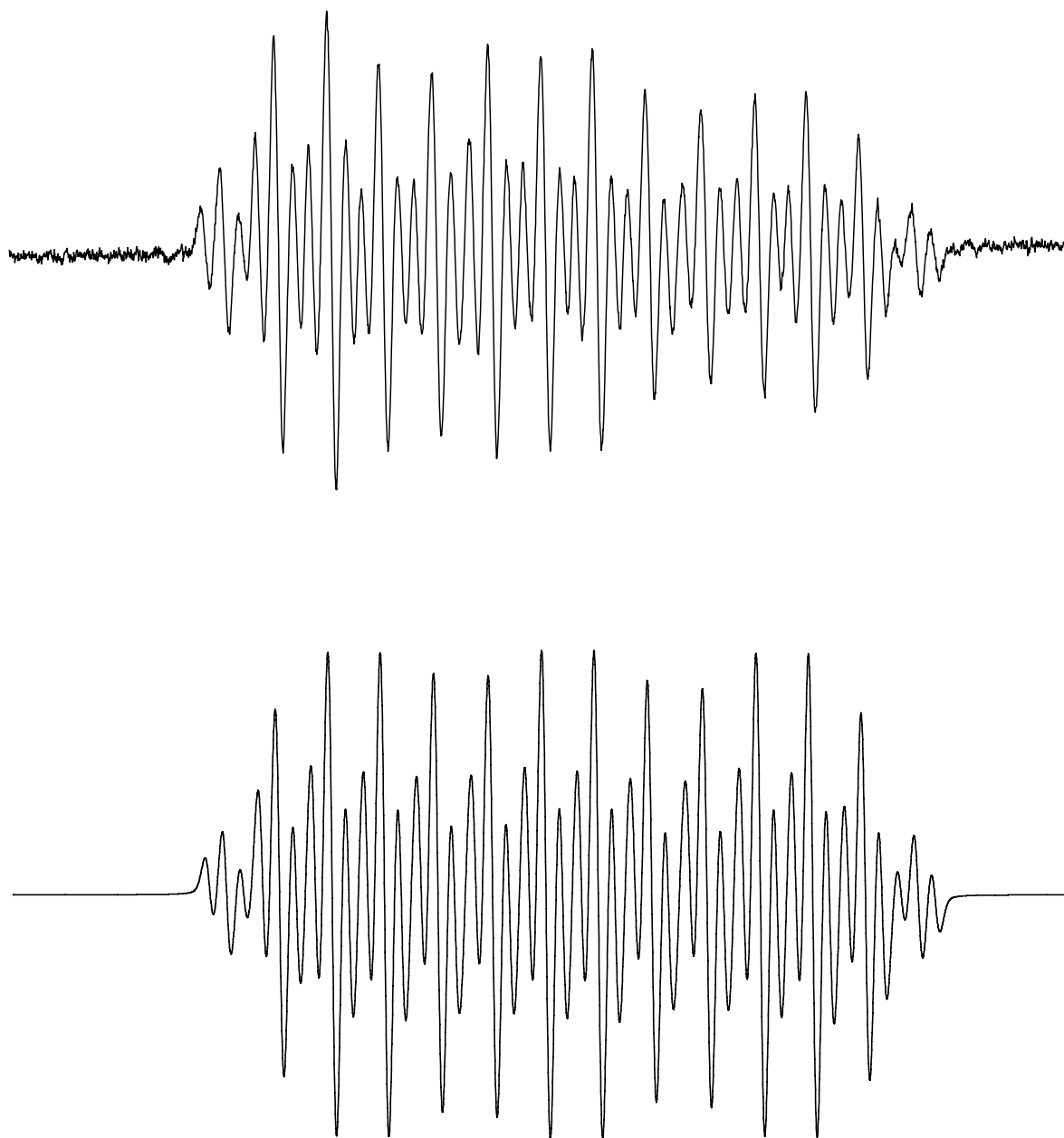
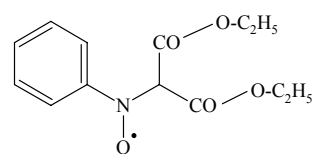
Obr. 11: Experimentální a simulované EPR spektrum radikálu vzniklého smícháním dibenzoylmetanoátu s NB.



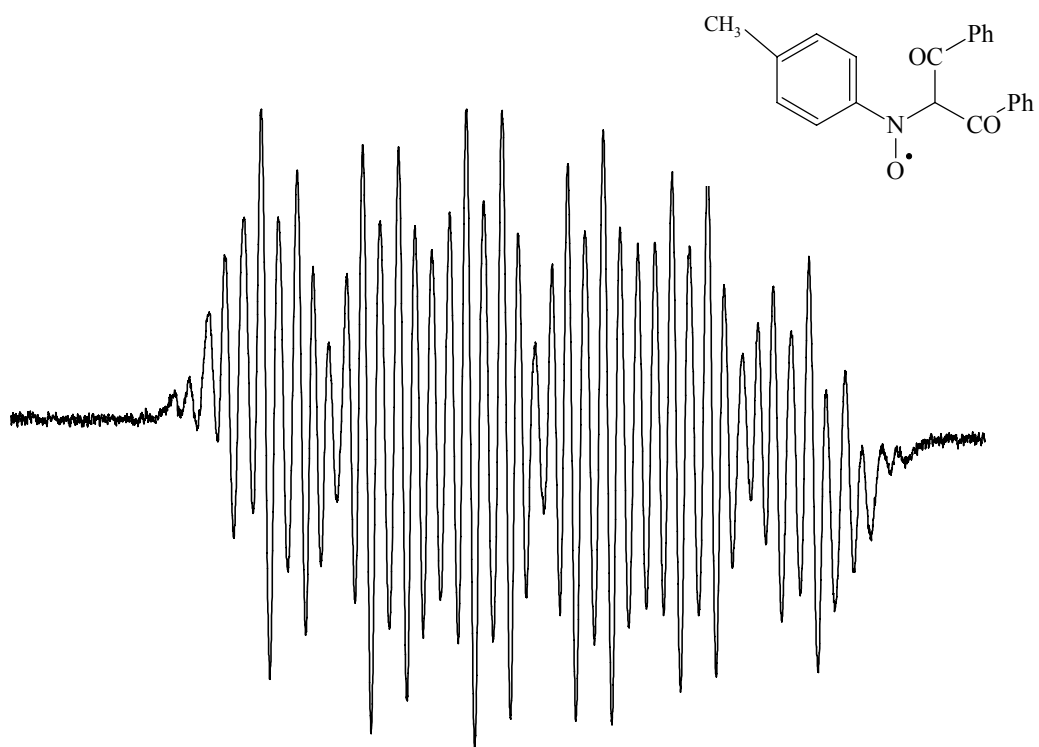
Obr. 12: Experimentální a simulované EPR spektrum spinového aduktu **23**.



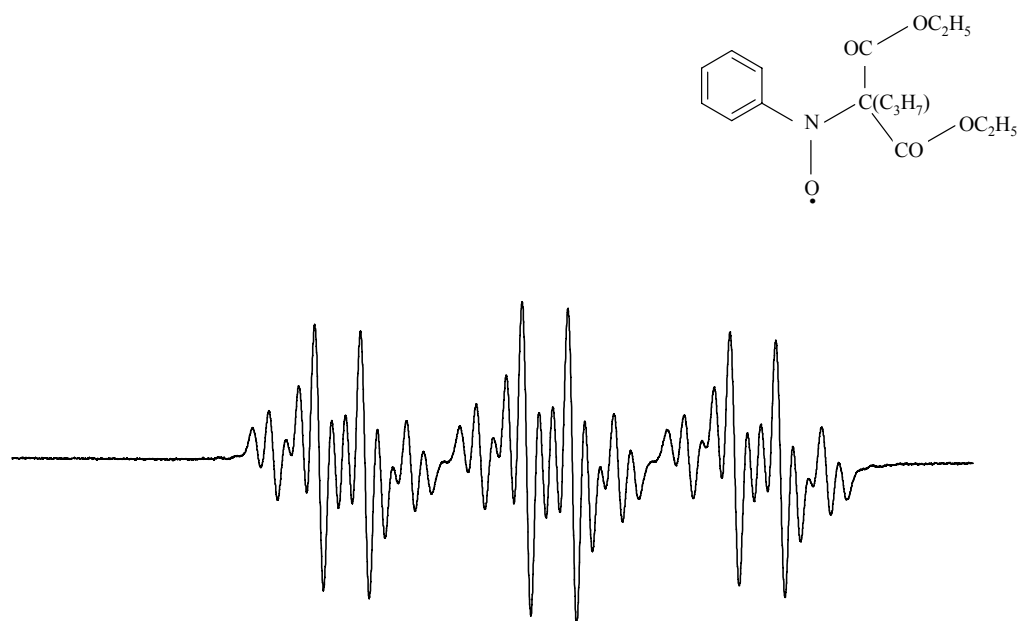
Obr. 13: Experimentální EPR spektrum radikálu vzniklého smícháním sloučeniny **16b** s PbO₂ a MNP.



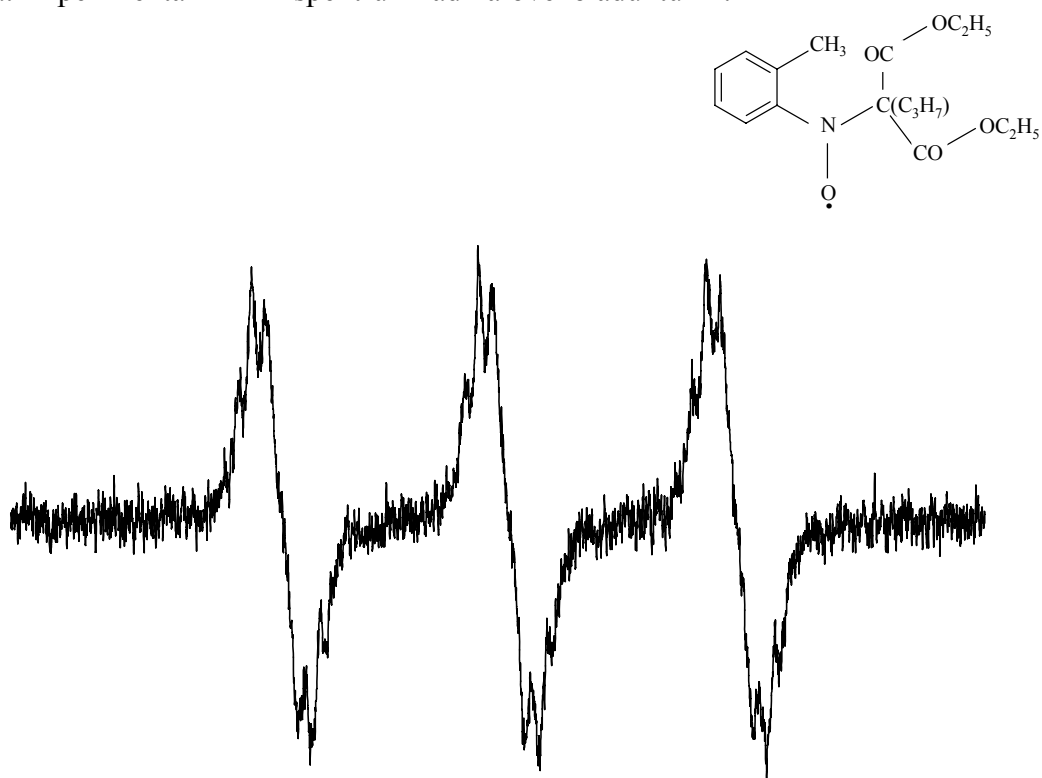
Obr. 14: Experimentální EPR spektrum radikálu vzniklého smícháním sloučeniny **16c** s PbO_2 a NB.



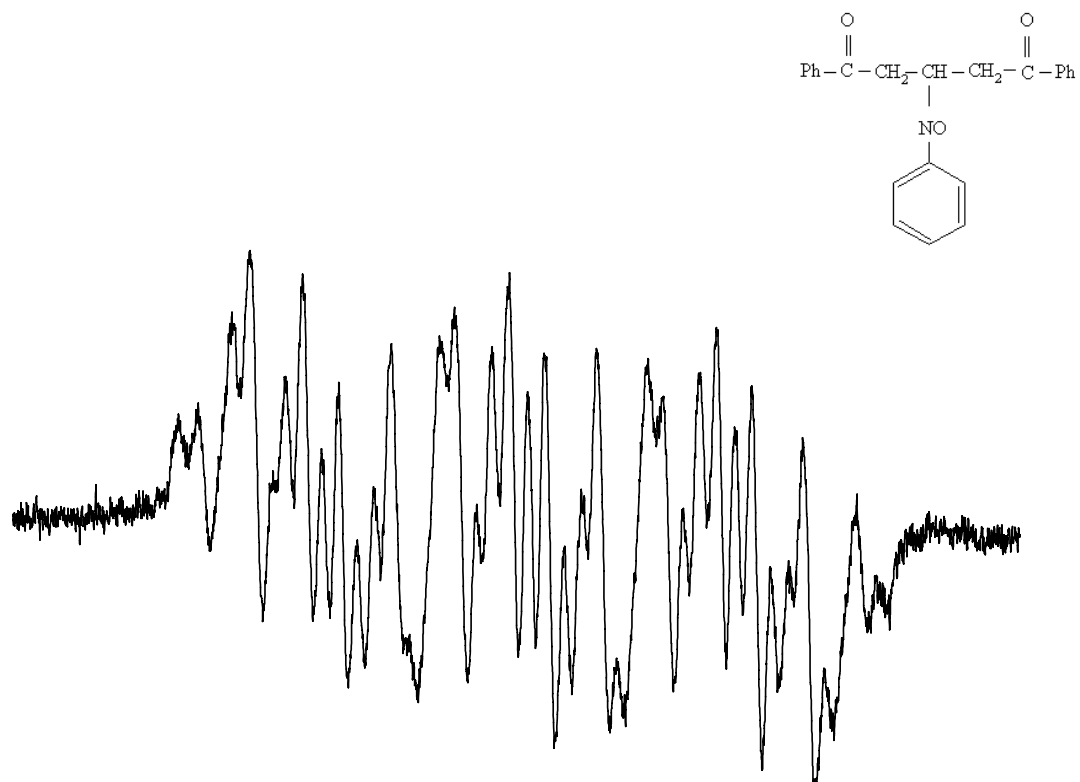
Obr. 15: Experimentální EPR spektrum radikálu vzniklého smícháním sloučeniny **16f** s PbO₂ a NT.



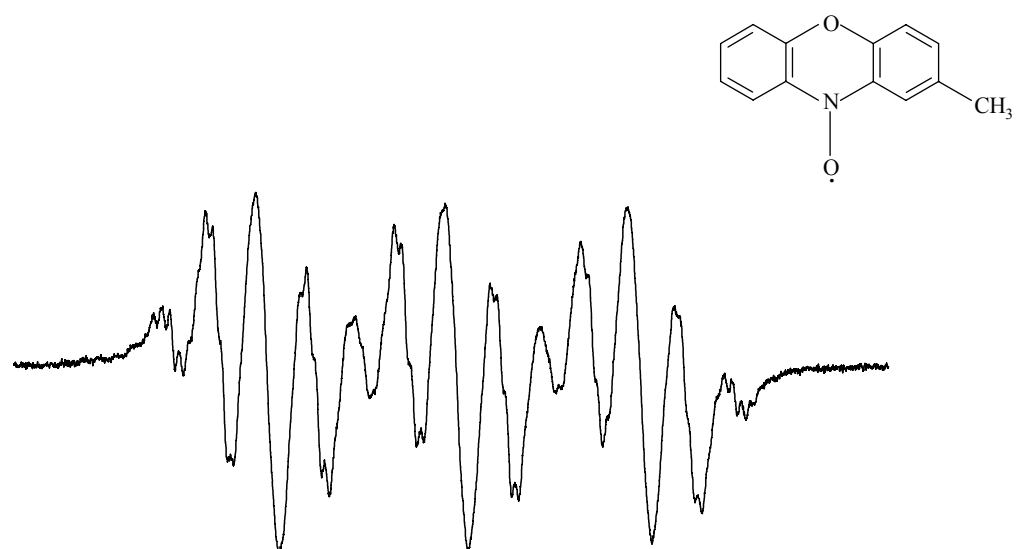
Obr. 16a: Experimentální EPR spektrum radikálového aduktu **24**.



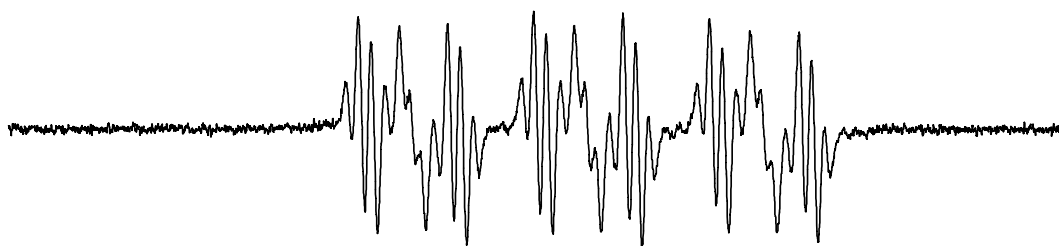
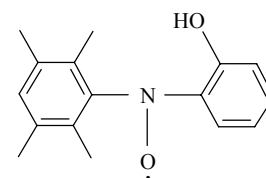
Obr. 16b: Experimentální EPR spektrum radikálového aduktu **25**.



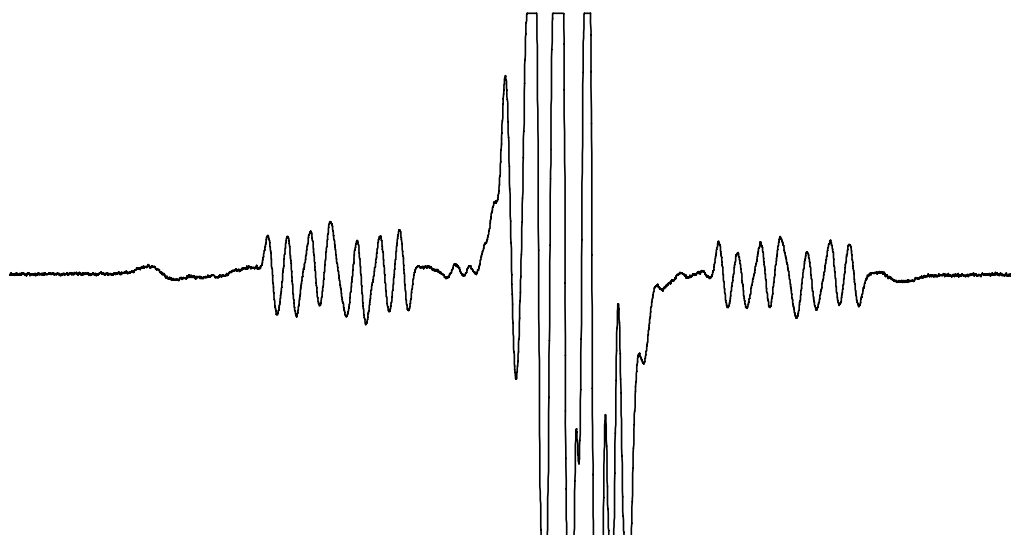
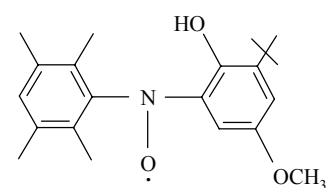
Obr. 17: Experimentální EPR spektrum radikálového aduktu **26**.



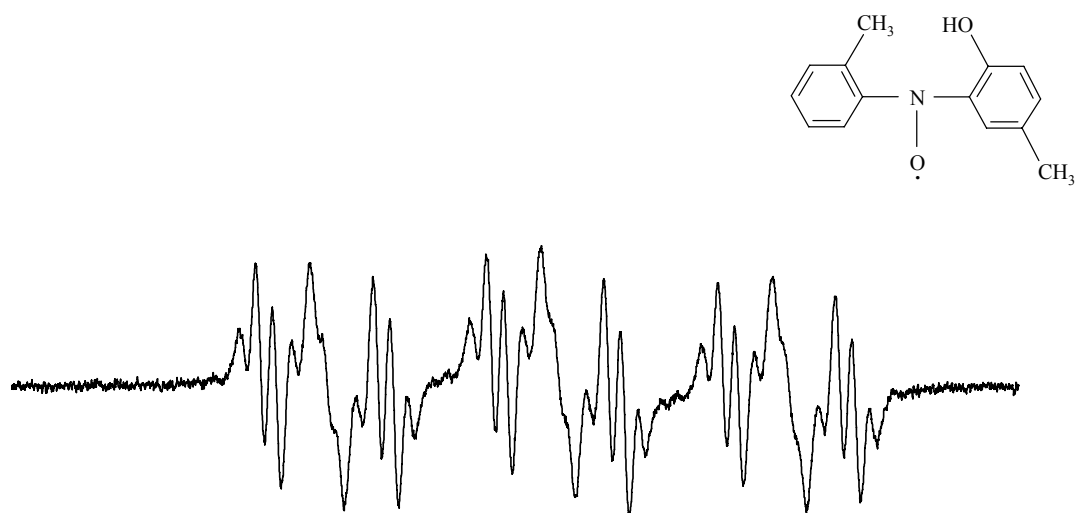
Obr. 18: Experimentální EPR spektrum nitroxylového radikálu získaného oxidací *para*-krezolu s PbO_2 v přítomnosti NB.



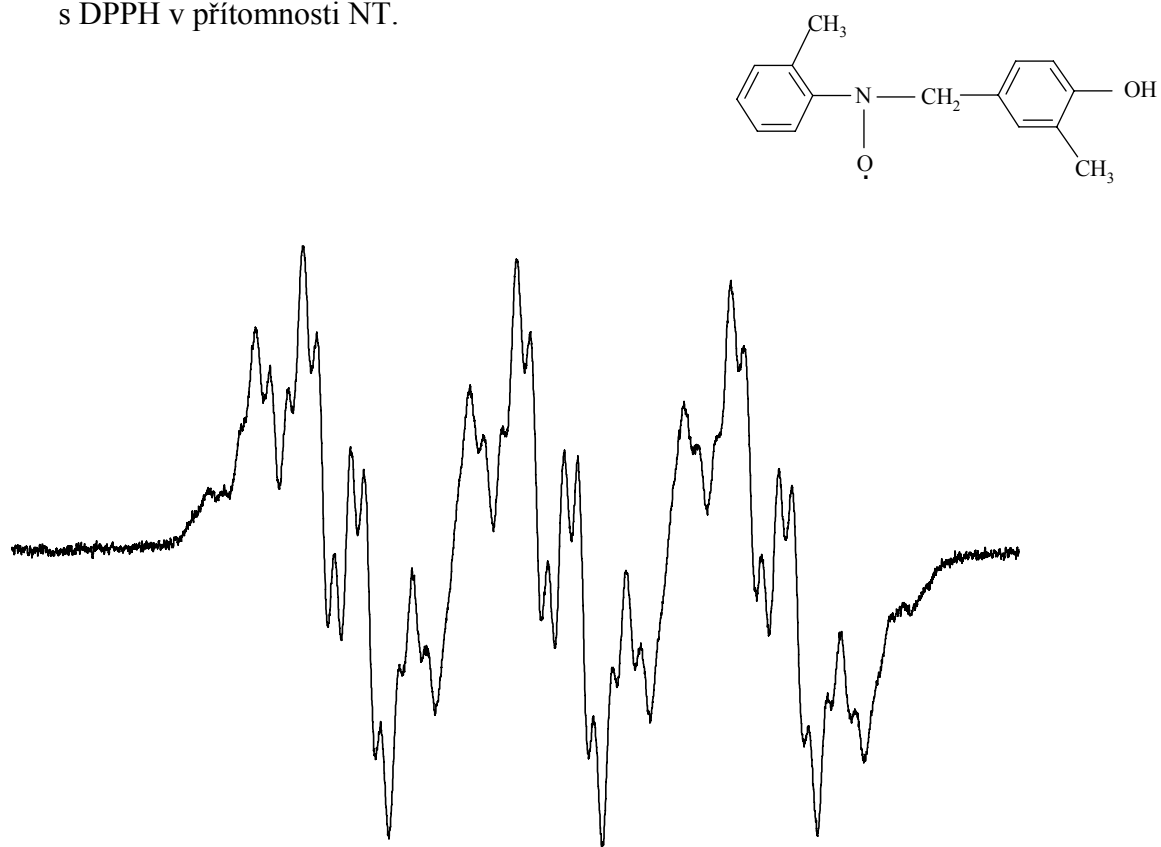
Obr. 19: Experimentální EPR spektrum nitroxylového radikálu získaného oxidací nesubstituovaného fenolu s DPPH v přítomnosti ND.



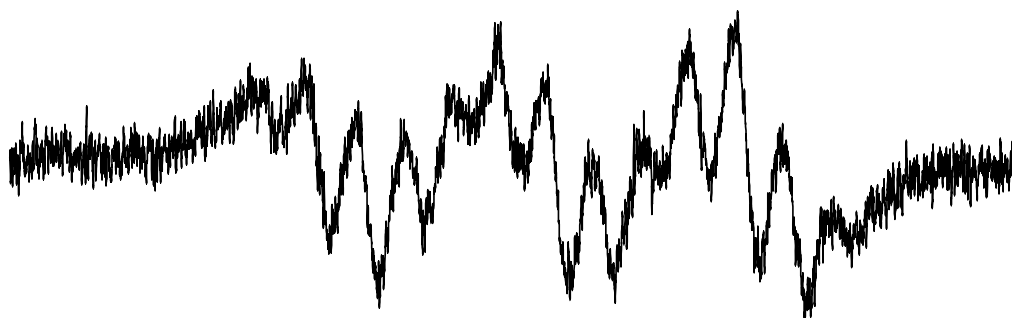
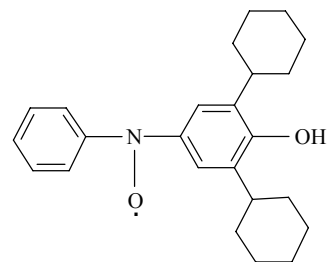
Obr. 20: Experimentální EPR spektrum nitroxylového radikálu získaného oxidací 2-terc.butyl-4-metoxyfenolu s PbO_2 v přítomnosti ND.



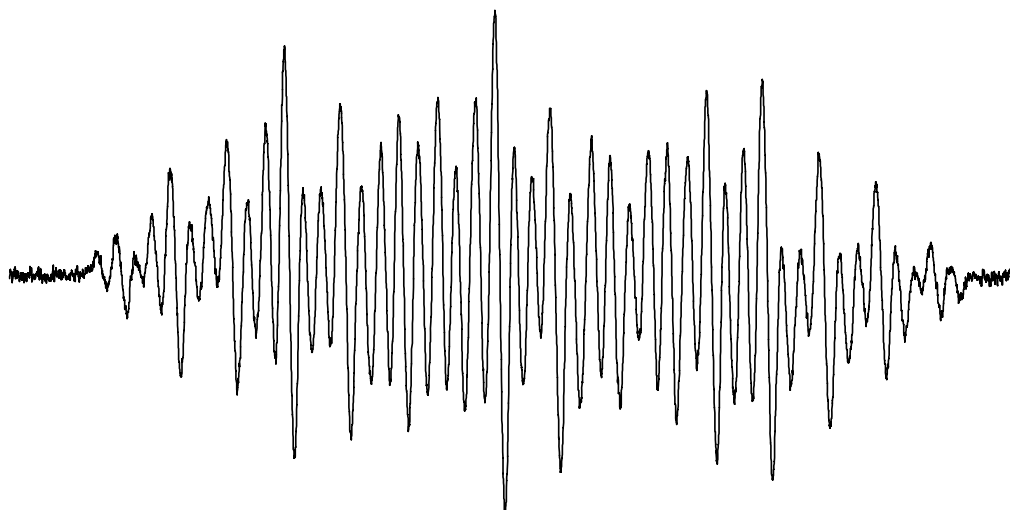
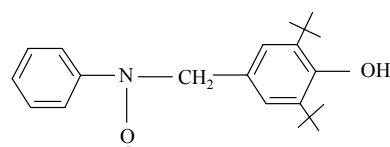
Obr. 21: Experimentální EPR spektrum nitroxylového radikálu získaného oxidací *para*-krezolu s DPPH v přítomnosti NT.



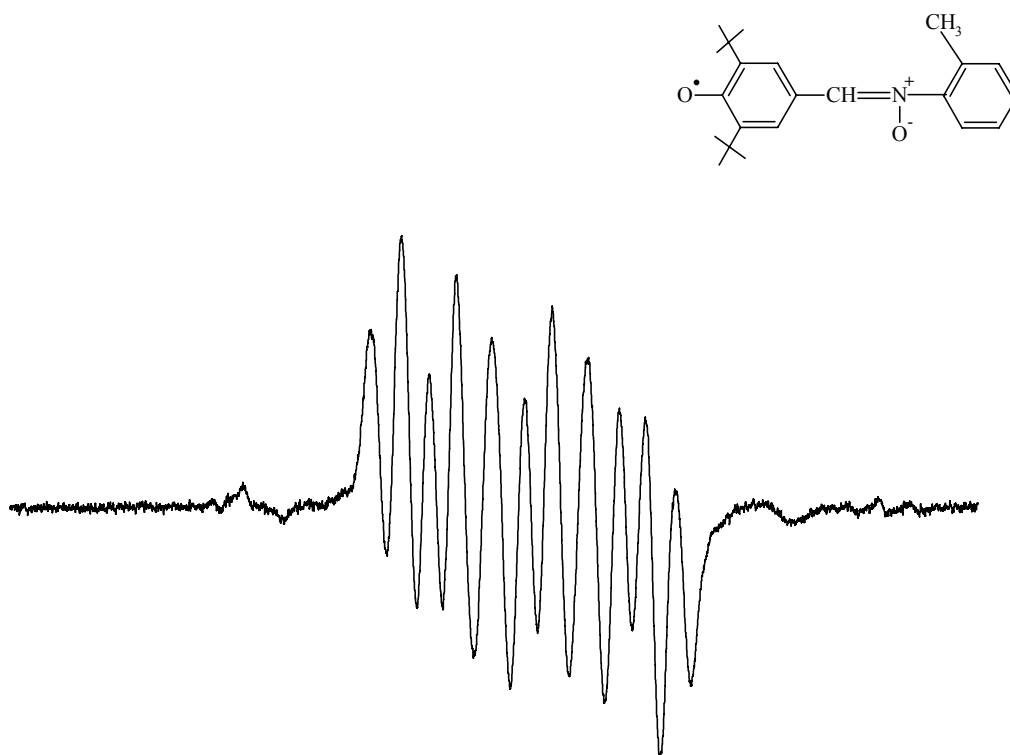
Obr. 22: Experimentální EPR spektrum radikálového aduktu získaného adicí 2,4-dimetylfenoxylu na NT.



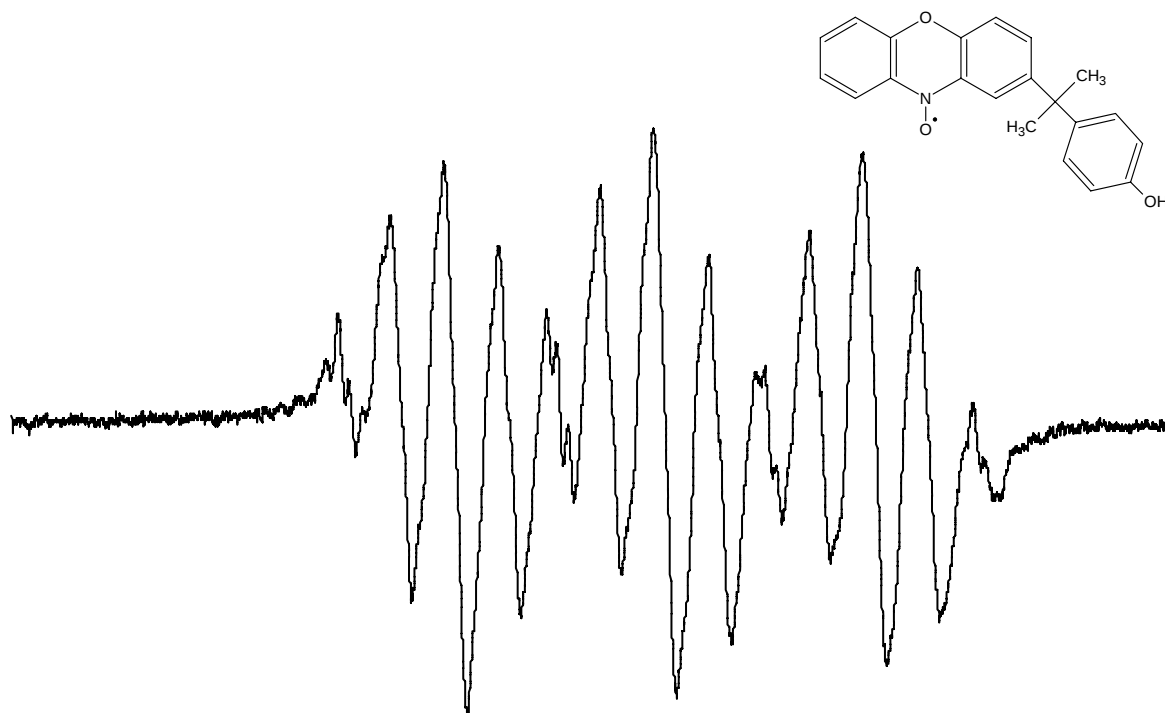
Obr. 23: Experimentální EPR spektrum radikálového aduktu získaného adicí 2,6-dicyklohexylfenolu na NB.



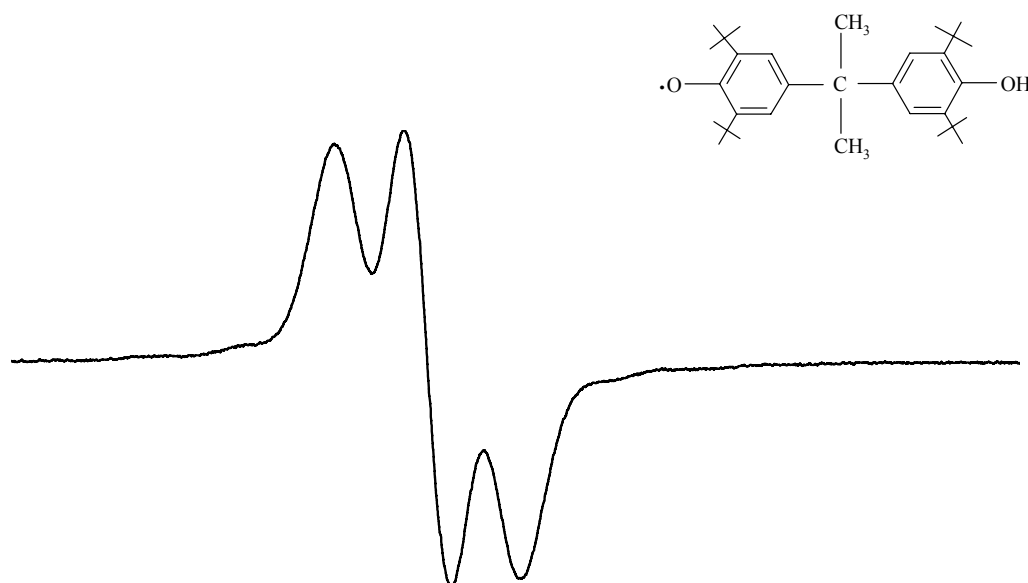
Obr. 24: Experimentální EPR spektrum spinového aduktu vzniklého oxidací 2,6-ditercetyl-4-metylfenolu na NB.



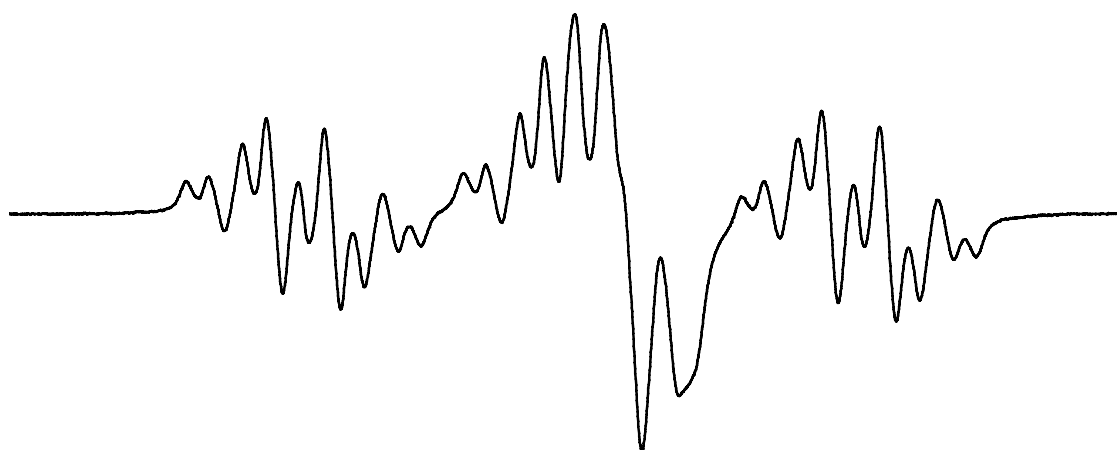
Obr. 25: Experimentální EPR spektrum radikálového aduktu typu **43**.



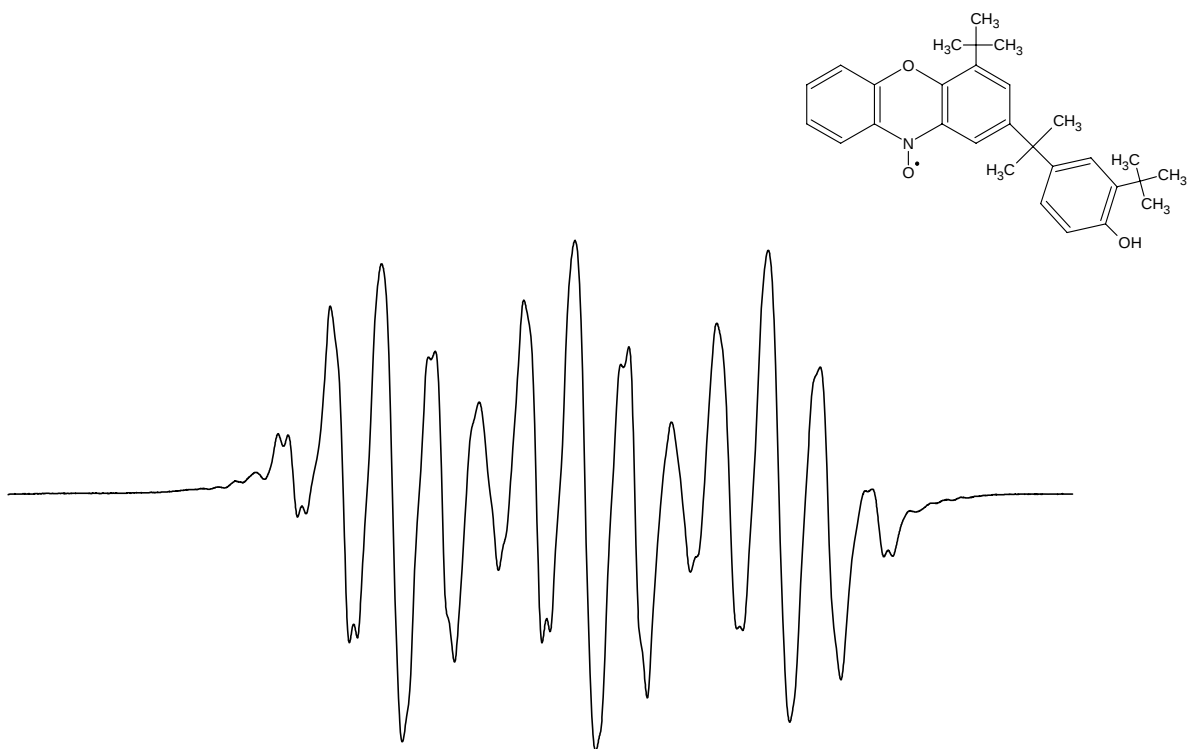
Obr. 26: Experimentální EPR spektrum fenoxazín-10-oxylového radikálu **45**.



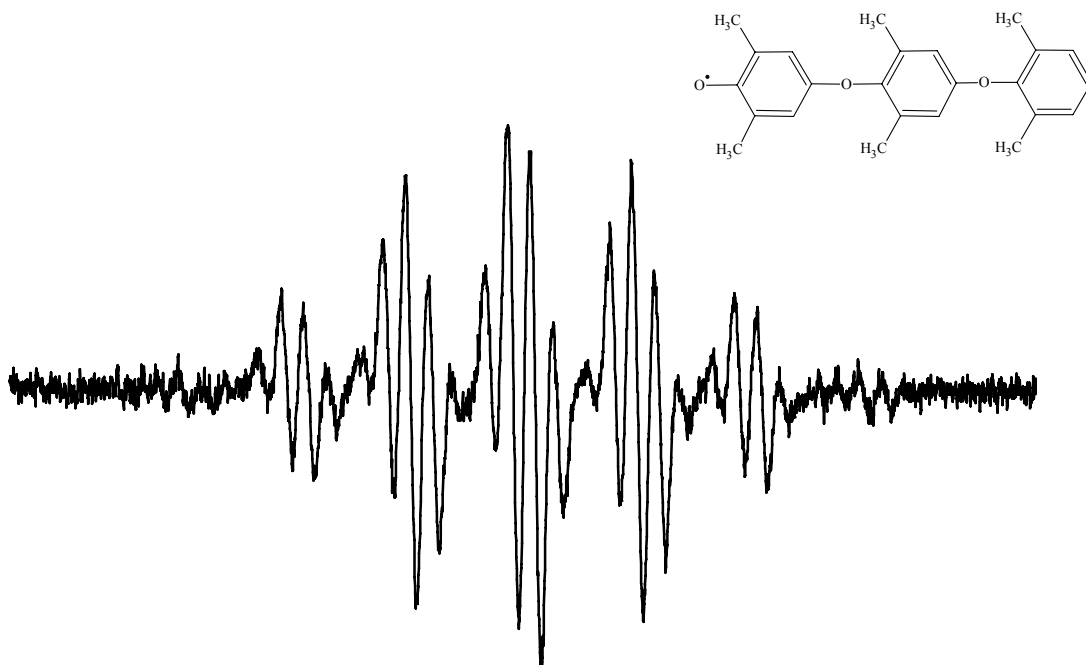
Obr. 27: Experimentální EPR spektrum stabilního fenoxylového radikálu odvozeného od struktury **44b** v nepřítomnosti spin-trapu.



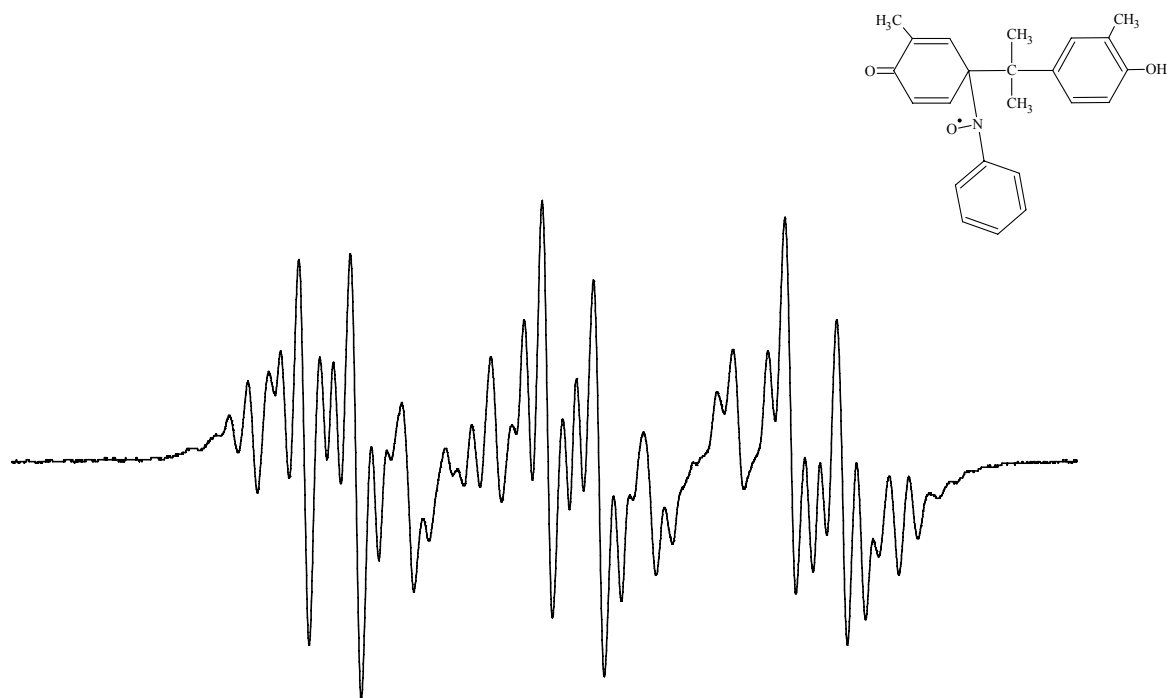
Obr. 28: Experimentální EPR spektrum stabilního fenoxylového radikálu odvozeného od struktury **44b** v kombinaci s jeho aduktem **46** v přítomnosti NB.



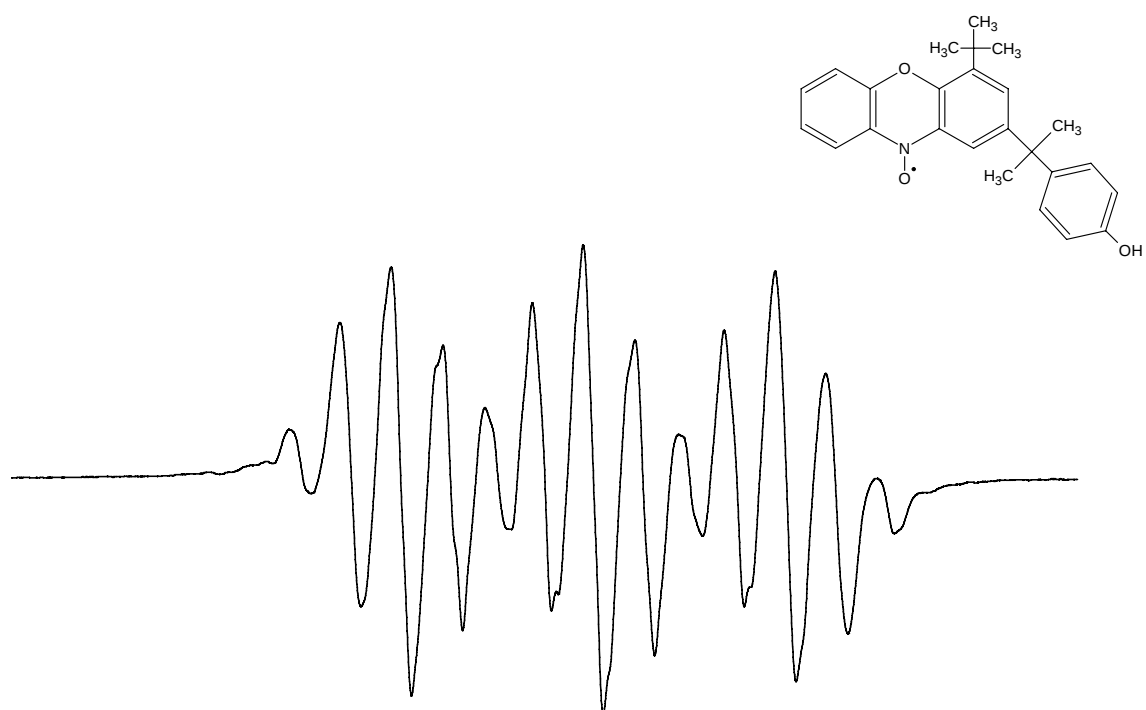
Obr. 29: Experimentální EPR spektrum radikálového aduktu **50** odvozeného od diánu **44e** v přítomnosti NB.



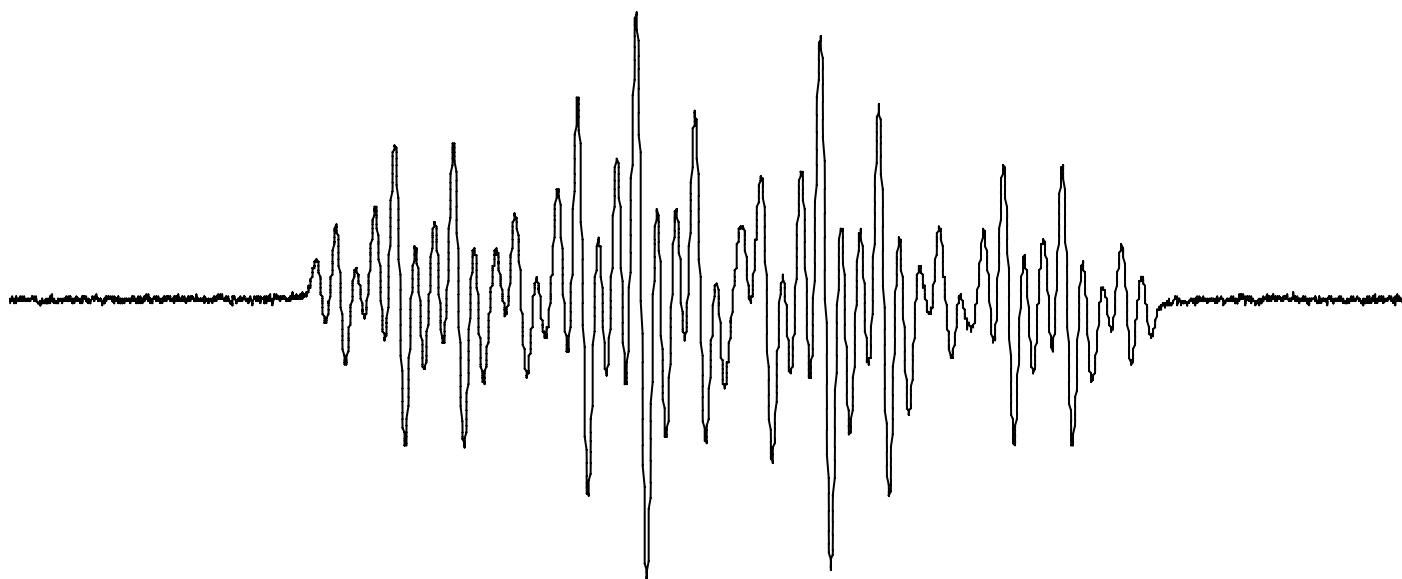
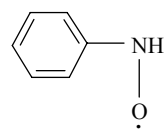
Obr. 30: Experimentální EPR spektrum polymerního fenoxylového radikálu generovaného z diánů **44f** a **44g**.



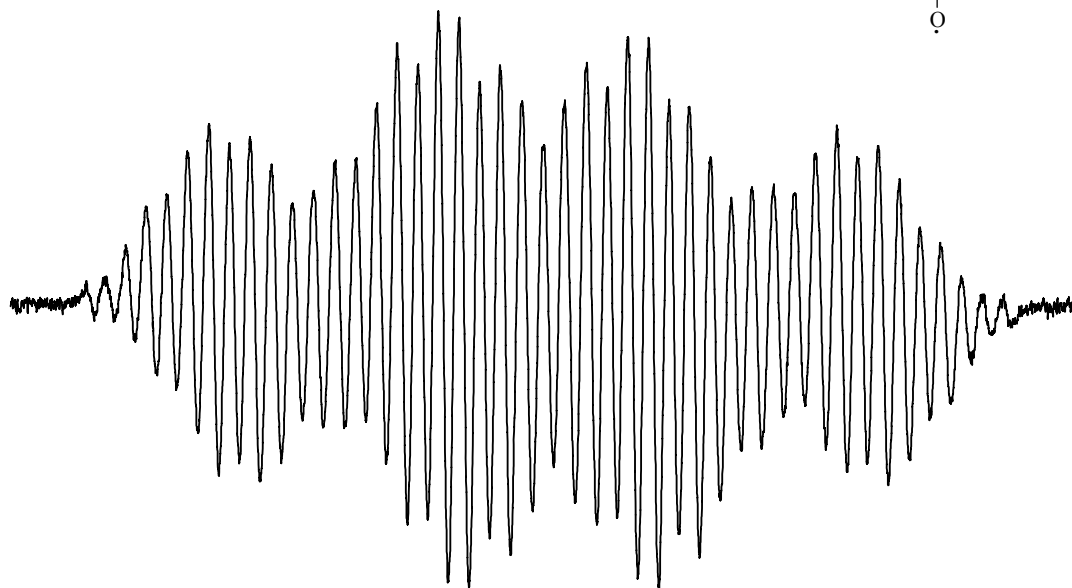
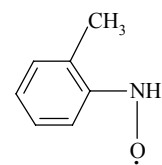
Obr. 31: Experimentální EPR spektrum radikálového aduktu **52**.



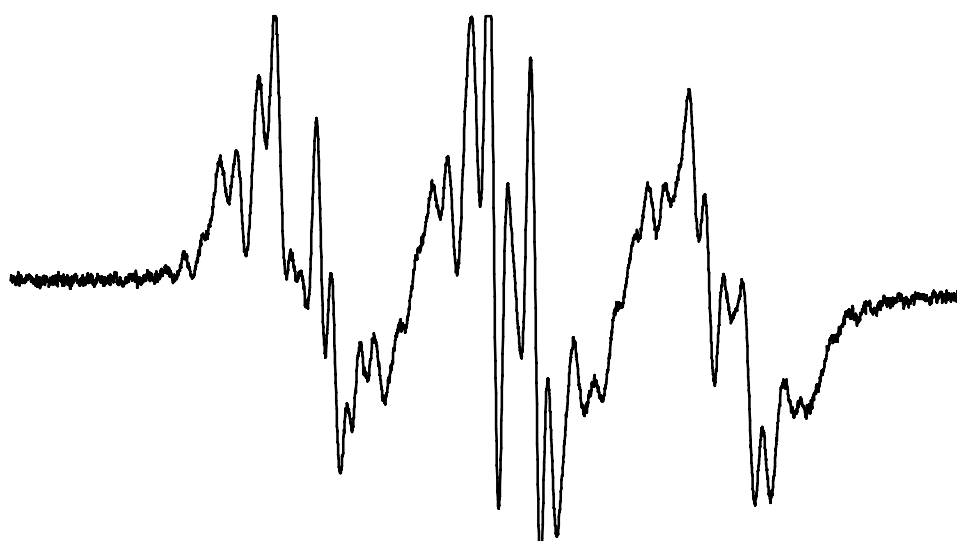
Obr. 32: Experimentální EPR spektrum vzniklé reakcí diánu **44i** za přítomnosti NB a PbO₂.



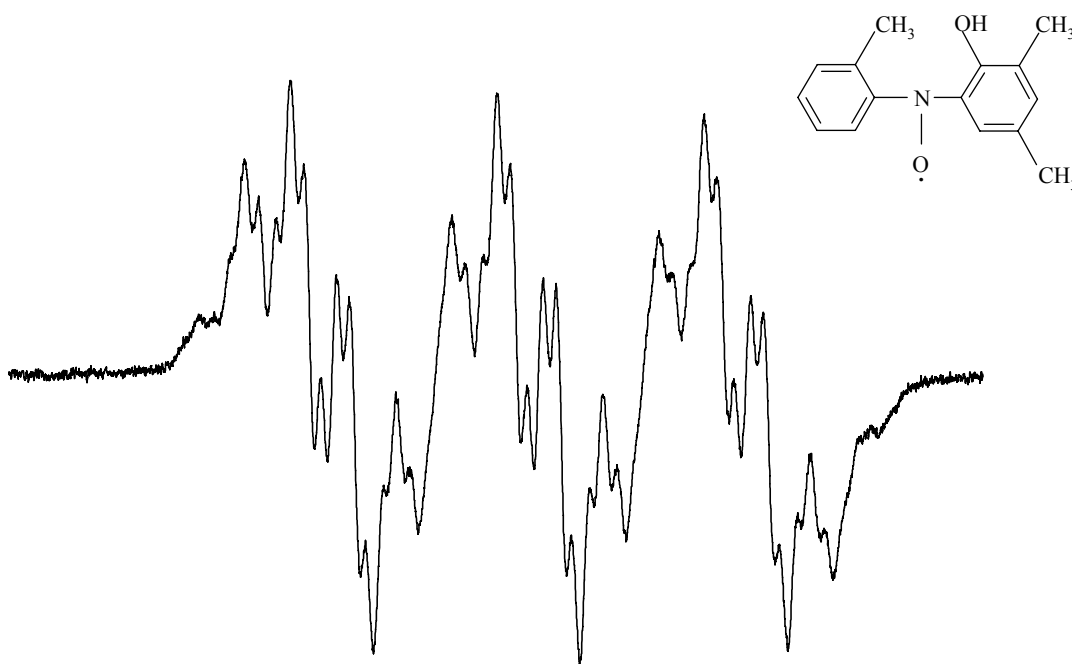
Obr. 33: Experimentální EPR spektrum radikálu **53**.



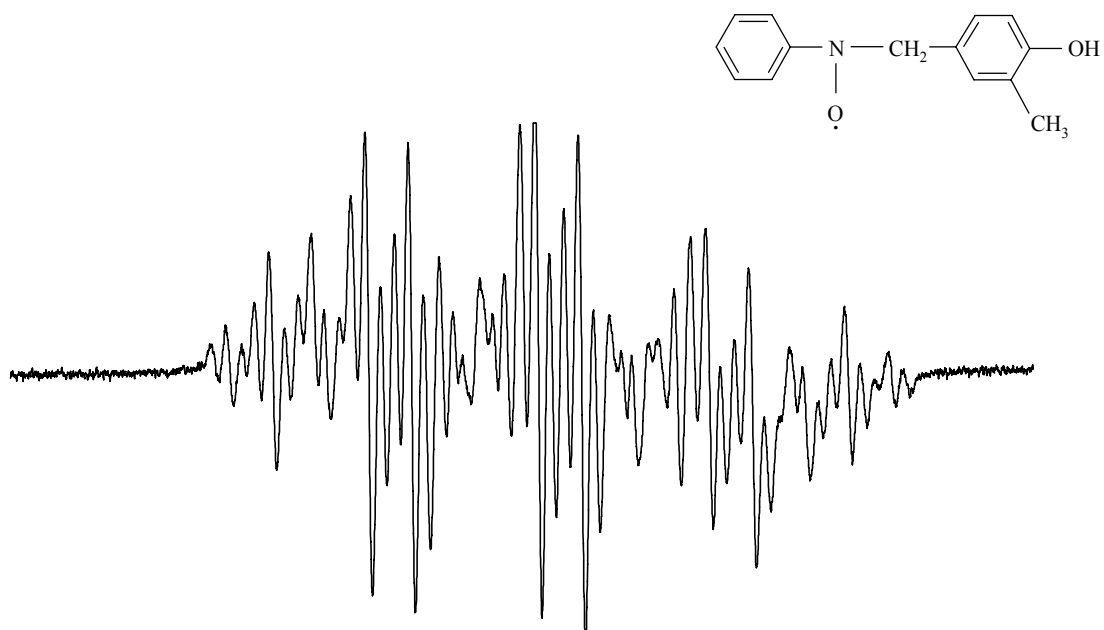
Obr. 34: Experimentální EPR spektrum radikálu **54**.



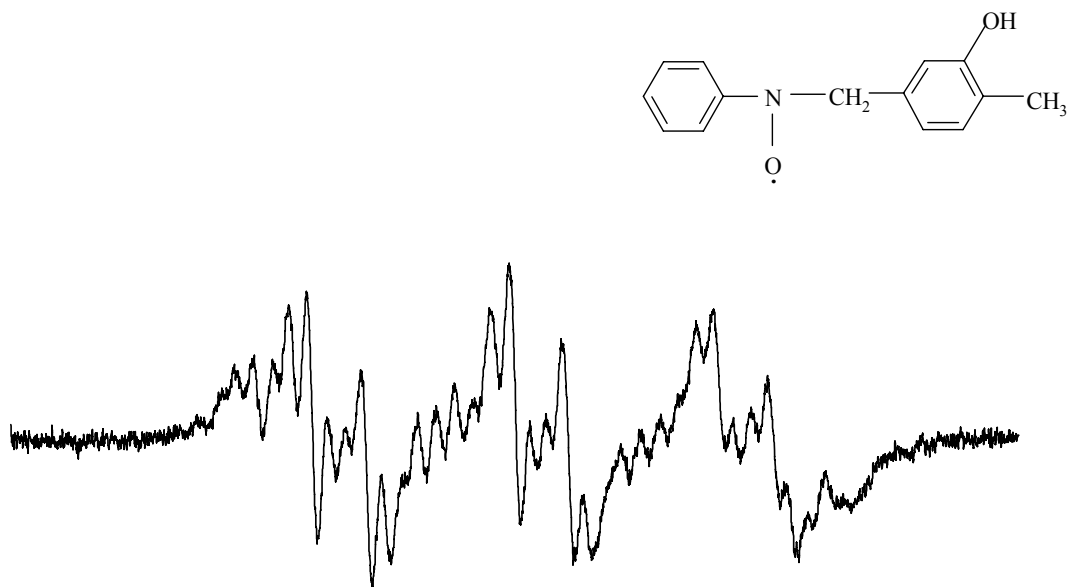
Obr. 35: Experimentální EPR spektrum aduktu vzniklého oxidací 2,4-xylenolu (**57b**) na NB.



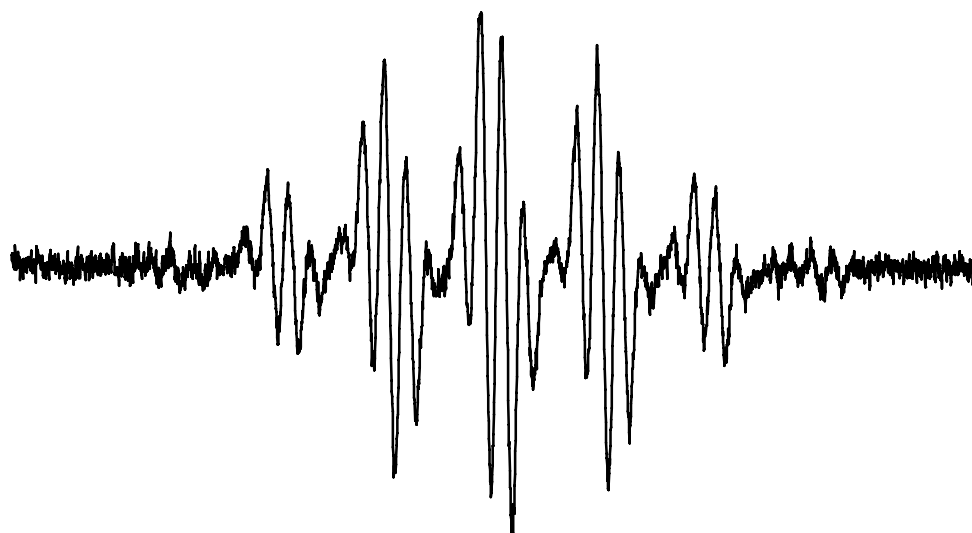
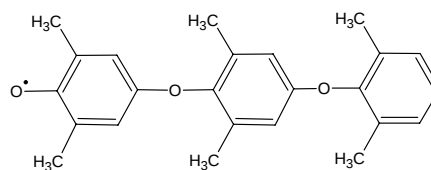
Obr. 36: Experimentální EPR spektrum aduktu vzniklého oxidací 2,4-xylenolu (**57b**) na NT.



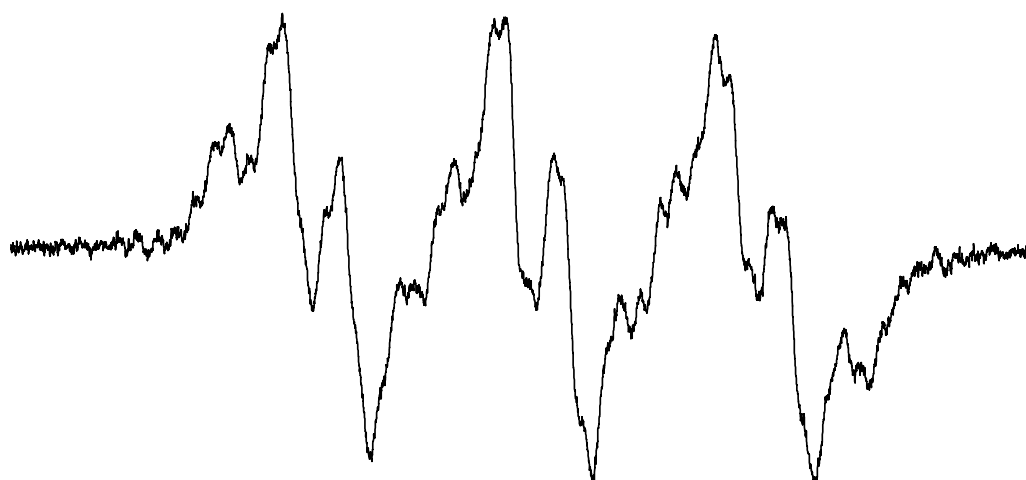
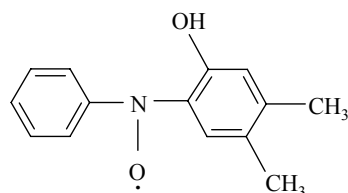
Obr. 37: Experimentální EPR spektrum aduktu vzniklého oxidací 2,4-xylenolu (**57b**) na NB při přebytku PbO_2 .



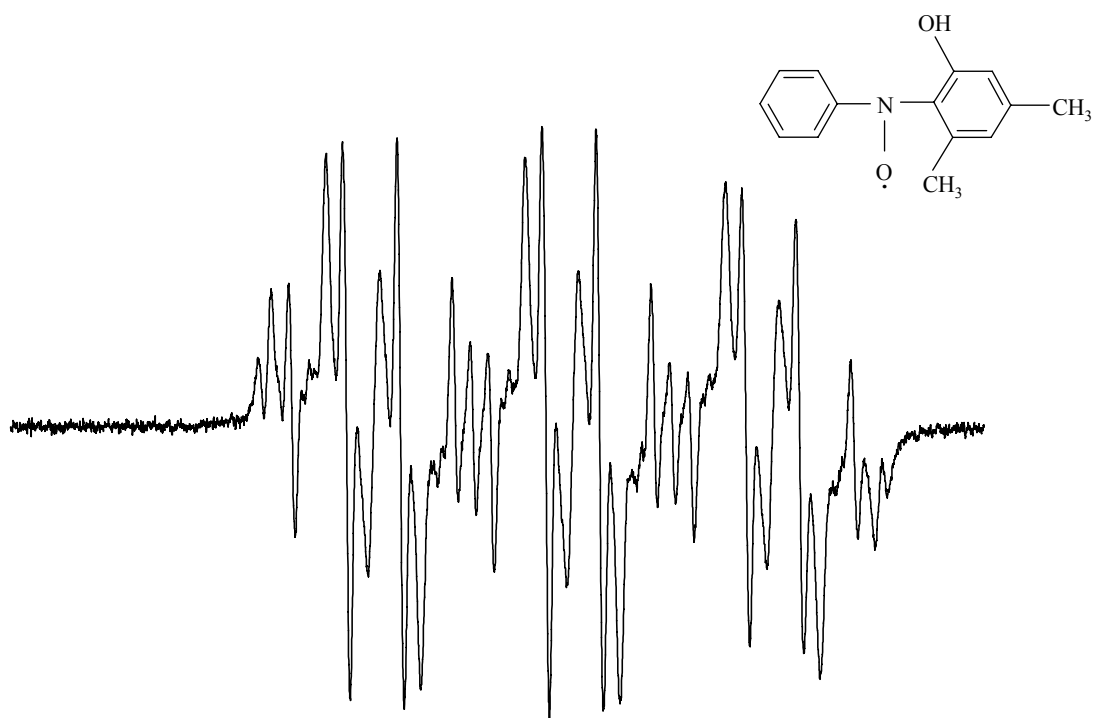
Obr. 38: Experimentální EPR spektrum nitrosobenzenového aduktu **60**.



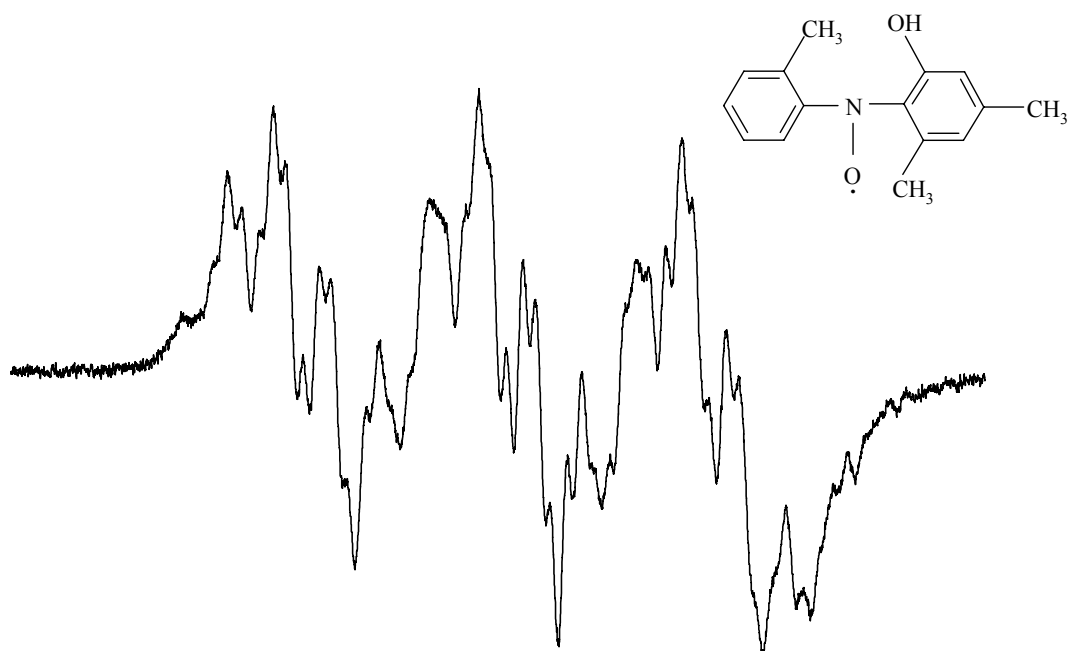
Obr. 39: Experimentální EPR spektrum aduktu vzniklého oxidací 2,6-xylenolu (**57d**) na NB.



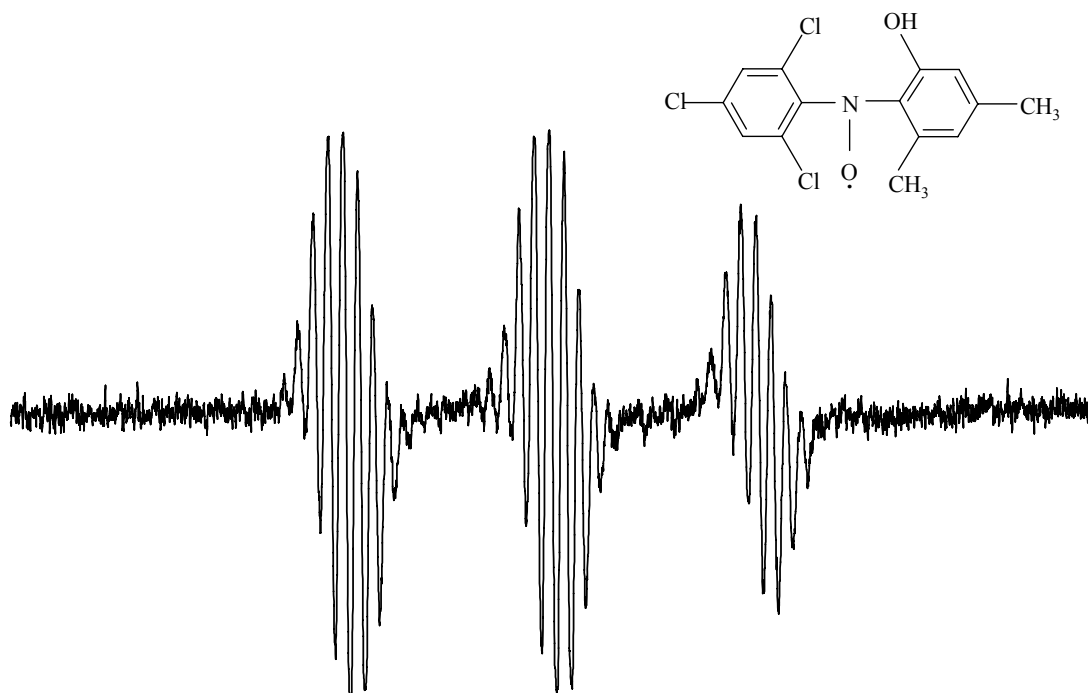
Obr. 40: Experimentální EPR spektrum aduktu **61** vzniklého oxidací 3,4-xylenolu (**57e**) na NB.



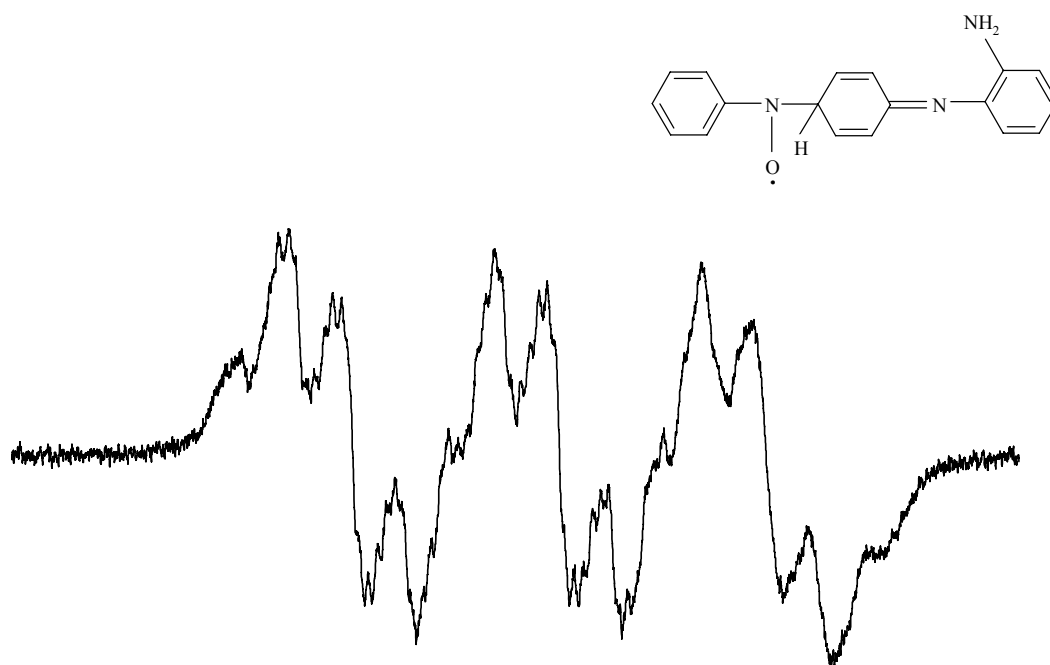
Obr. 41: Experimentální EPR spektrum aduktu **62** vzniklého oxidací 3,5-xylenolu (**57f**) na NB.



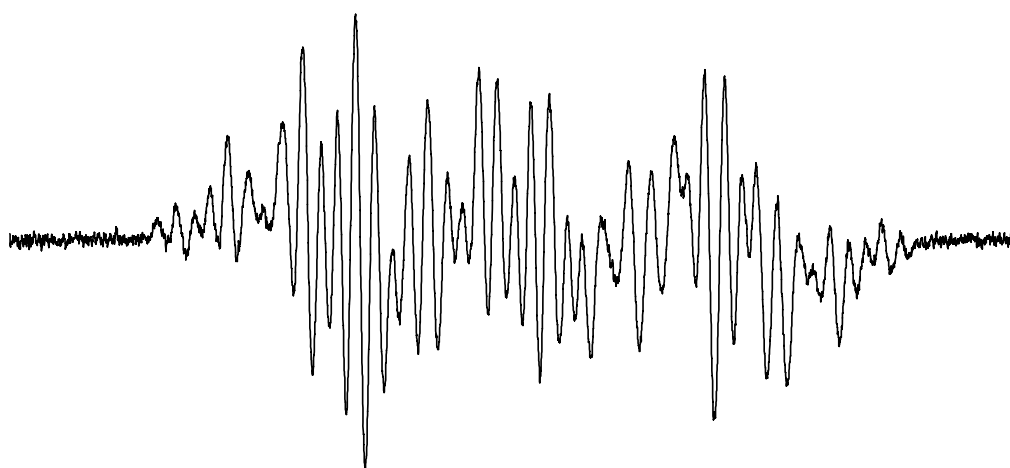
Obr. 42: Experimentální EPR spektrum aduktu vzniklého oxidací 3,5-xylenolu (**57f**) na NT.



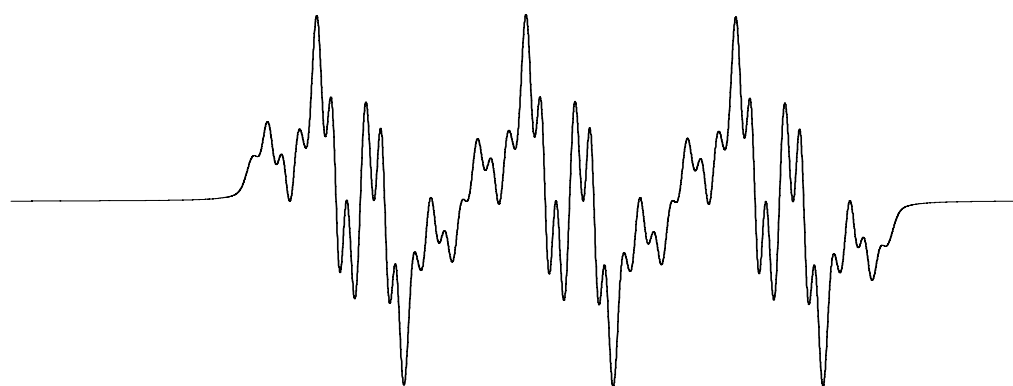
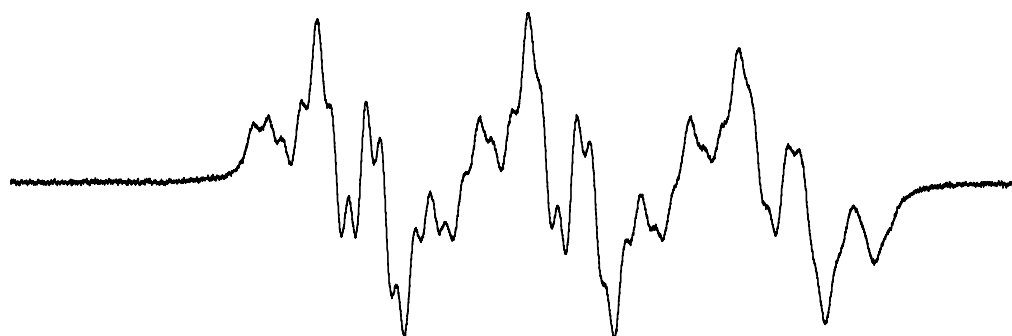
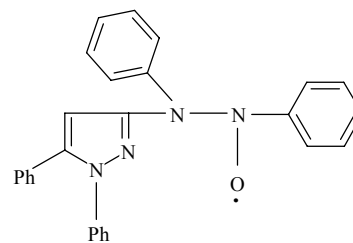
Obr. 43: Experimentální EPR spektrum aduktu vzniklého PbO₂ oxidací 3,5-xylenolu (**57f**) na trichlornitrosobenzen.



Obr. 44: Experimentální EPR spektrum radikálového aduktu **62** odvozeného od 2-aminodifenylaminu.



Obr. 45: Experimentální EPR spektrum směsi radikálů vzniklých oxidací 4-aminodifenylaminu v přítomnosti NB.



Obr. 46: Experimentální a simulované EPR spektrum radikálového aduktu **65**.

12.2 Příloha č. 2: Kopie publikovaných prací