

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

AUTOREFERÁT DISERTAČNÍ PRÁCE DOCTORAL THESIS – SHORT VERSION

AUTOR PRÁCE Ing. RENATA MAREŠOVÁ AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE Prof. Ing. LADISLAV OMELKA, DrSc. SUPERVISOR

BRNO 2009

KLÍČOVÁ SLOVA

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

KEYWORDS

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

MÍSTO ULOŽENÍ

Ústav fyzikální a spotřební chemie FCH VUT, Purkyňova 118, 612 00 Brno

OBSAH

Obs	<i>ah</i>
1	Úvod
2	Cíle práce
3	Teoretická část
3.1	Spin-trapping6
4	Experimentální část
4.1	Experimentální postupy10
4.2	Metodika měření na EPR spektrometru SpectraNova (E-I-A Warenhandels GmbH,
	Vídeň)10
5	Hlavní výsledky práce
5.1	Radikálové meziprodukty H-transferu z uhlíkatých donorů
5.2	Radikálové meziprodukty H-transferu z kyslíkatých donorů 21
5.3	Radikálové meziprodukty H-transferu z dusíkatých donorů 34
6	Závěr
6.1	Radikálové meziprodukty H-transferu z uhlíkatých donorů 38
6.2	Radikálové meziprodukty H-transferu z kyslíkatých donorů
6.3	Radikálové meziprodukty H-transferu z dusíkatých donorů
7	Seznam použitých zdrojů
8	Přehled publikační činnosti 41
9	Seznam zkratek
Živo	otopis

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 RO₂ nebo RO (R = H nebo alkyl) radikály je základem celé řady významných přírodních procesů. Tento typ reakcí, označovaný v organické chemii jako S_H2 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 PbO₂, MnO₂ resp. TiO₂. 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 řetězce 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 spintrapu 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 Hdonorů tyou HX je základem mnoha v přírodě probíhajících procesů. Velmi často je tento proces iniciován prostřednictvím jiných typů radikálů, např. RO_2 , resp. RO, které mají funkci H-akceptorů. Výsledkem této reakce je potom vznik radikálu X⁻ v průběhu homolytické bimolekulární S_H2 reakce.

> $XH + RO_2 = X + ROOH$ XH + RO = X + ROH

Odštěpení vodíkového atomu však může proběhnout také při použití vhodných oxidačních činidel, jakými jsou např. sloučeniny Pb^{4+} (PbO₂, Pb(CH₃COO)₄), ale i řada dalších (TiO₂, MnO₂, HgO, K₃Fe(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.

 $XH + Me^{z^{+}} = (XH)^{+.} + Me^{(z-1)+}$ $(XH)^{+.} = H^{+} + X^{.}$

Obě uvedené reakce probíhají v neutrálním prostředí velkou rychlostí, čehož výsledkem je detekce X[.] jako jediného radikálového produktu. V kyselém prostředí je možné volbou vhodných experimentálních podmínek pozorovat rovněž kation-radikál (XH)^{+.} Tímto způsobem probíhá odštěpení vodíku především z kyslíkatých a dusíkatých donorů, tedy látek, u kterých je atom X nositelem volného elektronového páru jeko 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 X[•], 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.

3.1 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⁻ za tvorby stálých nitroxylových radikálů jako spin aduktů. Tyto reakce jsou velmi rychlé ($k = 10^6$ až 10^8 M⁻¹.s⁻¹).

$$R' + R'N=O \rightarrow R'RN-O'$$

$$R^{\cdot} + R^{\cdot}CH = N^{+}(R^{\cdot}) - O^{-} \rightarrow R^{\cdot}RCH - N(R^{\cdot}) - O^{\cdot}$$

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'. α -protony původního alkylového radikálu se stávají β -protony radikálového aduktu a jeho hyperjemné spektrum poukazuje na počet těchto protonů. Při adici fenoxylových radikálů se štěpící konstanty protonů $|a_{H}|$ snižují v řadě *para* \geq *orto* >> *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 thiylradikálů 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⁻, 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.¹

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 konstant β -vodíku $a_{\rm H}^{\beta}$ ve výsledném aduktu je ovlivněná zejména velikostí molekuly adovaného radikálu. Obecně lze říci, že pro malé radikály R[•] je štěpící konstanta $a_{\rm H}^{\beta}$ 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.^{2,3,4,5}

Výše zmiňovaný *a-fenyl-N-terc-butyl-nitron* (PBN, Obr. 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.^{6,7} Ke studiu radikálových procesů probíhajících ve vodném prostředí se využívá hydrofilnějšího *a-(4-pyridyl-1-oxid)-N-terc-butyl-nitronu* (POBN, Obr. 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. 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, obzvlášť 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.^{8,9}

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. 2). Anti-DMPO byl použit k detekci DMPO-proteinových aduktů produkovaných na myoglobinu a hemoglobinu vznikajících samoperoxidací pomocí H_2O_2 .¹⁰

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 . a O_2 produkovaných fotoexcitací barviva na papírovém substrátu. Jako spin-trapy byly použity ND a DMPO. Nevýhodou použití nitrosodurenu v tomto případě je jeho relativně malá rozpustnost v polárních rozpouštědlech a fakt, že spin-trapping Ocentrovaných radikálů s nitrosodurenem je omezen nízkou stabilitou vzniklých aduktů.¹¹



Obr. 2: 5,5-dimetyl-1-pyrolin-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.¹²

Zajímavé je také použití techniky spin-trappingu ke studiu vlivu přídavku různých aditiv na stabilitu piva¹³, kde jako spin-trap byl použit PBN, ke studiu antioxidačních vlastností čaje¹⁴ a vína¹⁵ při použití POBN a DMPO jako spin-trapů.

Technika spin-trappingu je použitelná ke studiu nejrůznějších 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.¹⁶

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 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 kyslíkatýh 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 simulače byla provedena za použití simulačního programu WinEPR SimFonia.

4.2 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 technico v Lisabonu na EPR spektrometru Bruker 200E-SRC.

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

5 HLAVNÍ VÝSLEDKY PRÁCE

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 PbO₂, 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 PbO₂, je charakteristickým znakem chování řady sloučenin, které ve své molekule obsahují CH₂- 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.^{17,18,19}

Problémem při interpretaci tvorby uhlíkatých radikálů zůstává objasnění mechanismu odštěpení vodíku z C-H vazby. Zatímco v případě sloučenin, které obsahují NH- resp. OHskupinu, 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 PbO₂ 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 (PbO₂) k zeslabení vazeb uhlík-vodík natolik, že tato vazba podléhá homolytickému štěpení (Schéma 2).

$$Ar\overline{O}H + Me^{z+} \longrightarrow Ar - \underline{O}^{+} - H + Me^{(z-1)} \xrightarrow{-H^{+}} Ar - \overline{O}^{+}$$
$$\searrow \overline{N}H + Me^{z+} \longrightarrow \implies N^{+} - H + Me^{(z-1)} \xrightarrow{-H^{+}} \implies N$$

ī

Schéma 1

$$R_{1}-CO-CH_{2}-CO-R_{2} + PbO_{2} \longrightarrow \underbrace{(R_{1}-CO-\overset{}{C}\overset{}{C}-CO-R_{2})_{ads}}_{H} \longrightarrow \underbrace{(R_{1}-CO-\overset{}{C}H-CO-R_{2})_{ads}}_{PbO_{2}} \longrightarrow$$

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**.





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.^{20,21} 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 1, 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 3acetoacetylového 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 spektrum jednoho z aduktů daného typu je uvedeno na Obr. 3.

Radikálový		Štěpící konstanty (mT)			
adukt	Y	a _N (NO)	a _H (CH)	a _H	(Y)
6a	C_6H_5	1,009	0,488	0,260(3H) ^a	$0,096(2H)^{b}$
6b	C_6H_5	1,018	0,467	0,258(3H) ^a	$0,086(2H)^{b}$
6c	C_6H_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) ^{<i>a</i>} 0,180(3H) ^{<i>c</i>}	$0,080(2H)^{b}$
7b	2-CH ₃ -C ₆ H ₄	1,109	0,395	0,180(5H) ^{<i>a,c</i>}	$0,080(2H)^{b}$
7c	2-CH ₃ -C ₆ H ₄	1,094	0,380	$0,180(5H)^{a,c}$	$0,080(2H)^{b}$
8 a	(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	-	-

Tabulka 1: Hodnoty štěpících konstant (mT) měřených radikálů 6a – 6c, 7a-7c, 8a-8c.

^{*a*} štěpicí konstanty protonů v *orto-* and *para-*poloze

^b štěpicí konstanty protonů v *meta*-poloze

^{*c*} štěpicí 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 x $a_N(NO) = 1,009 \text{ mT}, 1 \times a_H(CH) = 0,495 \text{ mT}, 3 \times a_H(o,p) = 0,262 \text{ mT}, 2 \times a_H(m) = 0,090 \text{ mT}$).

Jednoznačně prokázaná tendence k tvorbě uhlíkatých radikálů z kumarinů obsahujících 3acetoacetylový 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 enolické struktury 2C.² 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** (R^{1} = 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 spin-trapů např. nitrosotoluen (NT), 2,4,6-trichlornitrosobenzen (CINB) nebo nitrososduren (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 2).

$$2\mathbf{a} - 2\mathbf{d} \xrightarrow{PbO_2}_{R_2} \xrightarrow{O}_{O} \xrightarrow{H}_{O} \xrightarrow{NR_1}_{C} \xrightarrow{C}_{CH_3} 9\mathbf{a} - 9\mathbf{d}$$
(a)





Schéma 5





Schéma 6

Radikálový		Štěpící onstanty (mT)				
adukt	Y	a _N (NO)	a _H (CH)	a _H	(Y)	
10a	C_6H_5	1,022	0,513	0,255(3H) ^a	$0,080(2H)^{b}$	
10b	C_6H_5	1,012	0,540	0,261(3H) ^a	$0,085(2H)^{b}$	
10c	C_6H_5	1,029	0,525	0,249(3H) ^a	$0,087(2H)^{b}$	
10d	C_6H_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	-	-	

^aštěpicí konstanty protonů v orto- and para-poloze

^{*b*}štěpicí 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 2). 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 Cradikálu typu 9 jsou velmi podobná (v prvním případě štěpení pro dusíkový atom je poloviční se štěpením $a_{\rm H}(\rm CH)$). 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 nevnášejí do experimentálního EPR spektra kromě základního dusíkového žádné další štěpení. Použitím ClNB bylo jednoznačně prokázáno triplet-dubletové štěpení, které dokazuje, že adice uhlíkatých, ne však Ncentrovaných radikálů charakterizuje rozklad kumarinových derivátů 2a – 2d na povrchu PbO₂ v přítomnosti aromatických nitrososloučenin (Schema 5c, Tabulka. 2).

Experimentální výsledky, které 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 12.

R₁-CO-CH₂-CO-R₂ 12

12a: $R_1 = R_2 = CH_3$ **12b**: $R_1 = CH_3$, $R_2 = OC_2H_5$ **12c**: $R_1 = R_2 = OC_2H_5$ **12d**: $R_1 = R_2 = OH$ **12e**: $R_1 = R_2 = NH_2$ **12f**: $R_1 = R_2 = Ph$

Sloučeniny tohoto typu se všeobecně mohou vyskytovat ve dvou izomerních formách 12A resp. 12B (keto-enolová tautomerie)

$$\begin{array}{ccc} R_1 \text{-}CO\text{-}CH_2\text{-}CO\text{-}R_2 & \leftrightarrow & R_1\text{-}COH\text{=}CH\text{-}CO\text{-}R_2 \\ \mathbf{12A} & \mathbf{12B} \end{array}$$

S výjimkou struktur 12d a 12e byly ve všech případech oxidací PbO_2 v přítomnosti nitrosobenzenu pozorovány adukty uhlíkatých radikálů (Schéma 7).



Schéma 7



Obr. 3: Experimentální EPR spektrum radikálu typu 7a – 7c.

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 NOfunkci 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 PbO2, na detekci vznikajících radikálových meziproduktů byla aplikována metoda spin-trappingu. Při studiu H-transferu z fenolických sloučenin v přítomnosti nitroso-spin-trapů je nutné si uvědomit následující skutečnost. Vznikající kyslíkaté radikály fenoxylového typu, kterých generaci je možné popsat obecným Schématem 8 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 8). To představuje rozdíl v porovnání s jinými typy kyslíkatých radikálů, jakými jsou např. radikály alkoxylové (RO⁻) nebo alkylperoxylové, kde spinová hustota je prakticky stoprocentně lokalizována na koncovém kyslíkatém atomu.



Schéma 8

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 PbO₂ poukázalo na přítomnost sloučenin, které jsou výsledkem rekombinace mezomerních forem 15A s mezomerními formami 15B resp. 15C (C-O coupling) resp. vzájemných rekombinací mezomerních forem 15B resp. 15C (C-C coupling). V žádném případě nebyly pozorovány rekombinační produkty vycházející z mezomerní formy 15A (O-O coupling).²²⁻²⁵ Podobně například peroxylové s mezomerními rekombinuií 15B. radikálv RO₂. formami 15C za vzniku peroxycyklohexadienónových struktur.^{26,27} 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 phenoxazín-10-oxylu typu 16. Další skupinu radikálových aduktů představují nitroxylové radikály, které je možné považovat za deriváty difenylnitroxylu typu 17. Poslední významnou skupinu představují radikály typu 18.



22

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) reaguií s nitrosobenzenem za tvorby fenoxazín-10-oxylových radikálů. To ovšem znamená, že fenoxyly reagují s nitrososkupinou spin-trapu ve své orto-poloze a při adici je tedy preferována mezomerní forma 15B. V prvním kroku adice vzniká nestabilní radikál 19, který se následně stabilizuje vnitřním přesunem vodíkového atomu na karbonylovou skupinu za vzniku radikálu 20. 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 OH-skupinu radikálu 20 a orto-polohu fenylové skupiny. Výsledkem je potom tvorba fenoxazín-10-oxylového radikálu 21 (Schéma 9). Uvedený mechanismus byl v minulosti potvrzen na několika stericky nestíněných převážně monosubstituovaných fenolech²⁸, v rámci dizertační práce však byl tento mechanismus ověřen na několika dalších strukturách. V EPR spektru nitroxylového radikálu fenoxazín-10oxylového typu, který byl získán při oxidaci para-krezolu s PbO2 v přítomnosti nitrosobenzenu (u tohoto typu fenolu se podařilo připravit pouze adukt benzylových radikálů²⁸) zřetelně dominuje štěpení od dusíkového atomu nitroxylového fragmentu (a_N(NO) = 0,935 mT). Další kvintetové štěpení každé linie základního dusíkového tripletu pochází od čtyř vodíkových atomů v polohách 1, 3, 7, 9 (4 x $a_{\rm H}$ = 0,222 mT). Nejmenšími štěpeními v EPR spektru jsou štěpení pocházející od 3 vodíkových atomů v polohách 4, 6, 8 $(a_{\rm H} = 0.036 \text{ mT})$ a 3 vodíkových atomů metylové skupiny v poloze 2 $(a_{\rm H} = 0.036 \text{ mT})$. Další příklady fenoxazín-10-oxylových radikálů jsou uvedeny v následující kapitole v souvislosti se spin-trappingem fenoxylových radikálů generovaných z xylenolů.



Schéma 9

Spin-trapping nestíněných fenoxylových radikálů s nitrosodurenem

Podobně jako v případě nitrosobenzenu, i zde dochází k adici fenoxylového radikálu v orto-poloze (mezomerní forma 15B). 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 22, který je možné považovat za derivát difenylnitroxylu (Schéma 10). Nesubstituovaný fenol poskytuje EPR spektrum se štěpícími konstantami: 1 x $a_N(NO) = 1,170 \text{ mT}, 2 \text{ x } a_H = 0,082 \text{ mT}, 1 \text{ x } a_H(OH) =$ 0,082 mT, 1 x $a_{\rm H}$ = 0,277 mT, 1 x $a_{\rm H}$ = 0,323 mT. Dalším příkladem je adukt, vznikající adicí 2-tercbutyl-4-metoxyfenoxylu, který byl simulován s následujícími štěpícími konstantami: 1 $x a_N(NO) = 1,12 \text{ mT}, 1 x a_H(OH) = 0,087 \text{ mT}, 1 x a_H = 0,212 \text{ mT} x a_H = 0,342 \text{ mT}. \text{ V EPR}$ spektru se tento adukt projevuje dvěma okrajovými liniemi, signál v prostřední části spektra je nutné připsat volným radikálům vznikajícím v průběhu oxidace 2-tercbutyl-4-metoxyfenolu. 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. 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 dokumentuje, že kromě základního dusíkového štěpení 1 x $a_N(NO) = 1,05$ mT je v EPR spektru přítomno další štěpení od vodíkových atomů toluenového kruhu (3 x $a_{\rm H}(p) = 0,225$ mT, 2 x $a_{\rm H}(o) = 0,245$ mT, 2 x $a_{\rm H}$ (m) = 0.08 mT) a dodatečných malých štěpení od druhého fenylového kruhu (2 x $a_{\rm H} = 0.055$ mT).

Zajímavým zjištěním, které kompletizuje pohled na způsob adice nestíněných fenoxylových radikálů na *orto*-substituované nitrososloučeniny, je skutečnost, že při použití nitroso-spin-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 10

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 minulosti²⁹, když při oxidaci 2,4,6-tri-tercbutylfenolu v přítomnosti nitrosobenzenu bylo pozorováno EPR spektrum s následujícími parametry: 1 x $a_N(NO) = 1,320$ mT, 3 x $a_H(o,p) = 0,200$ mT, 2 x $a_H(m) = 0,100$ mT. Jedná se tedy o EPR spektrum, kterého parametry zahrnují pouze štěpení od atomů použitého spin-trapu. Jestliže se v důsledku nízké hodnoty $a_N(NO)$ vyloučí možnost adice 2,4,6-tri-terc.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 **23** (Schéma 11). Ze struktury tohoto aduktu je rovněž zřejmé, že nepárový elektron nemůže být v důsledku chinoidního charakteru adovaného fenoxylu delokalizován do této části molekuly aduktu.



R₁, R₂ R₃ – alkylové nebo alkoxylové substituenty

Schéma 11

Uvedená tendence ke vzniku aduktu 23 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 23 pozoroval jedině v případě 2,6-ditercbutylfenolu a 2,6-dicyklohexylfenolu, kdy i přes jeho relatívně 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. Vzhledem k tomu, že 2,6-disubstituované fenoly podléhají v přítomnosti oxidačních činidel polymeraci na polyfenylétery³⁰, kterých výsledkem je vznik polyfenoxylového radikálu, EPR spektrum aduktu je zpravidla doprovázeno jeho signálem. EPR spektrum polyfenoxylu je jediným signálem, pozorovaným v případě PbO₂ oxidace 2,6dimetylfenolu, 2,6-difenylfenolu a 2-tercbutyl-6-metylfenolu v přítomnosti nitrosobenzenu. Stejně tak nebyl pozorován adukt 23 v případě záměny tercbutylové skupiny v para-poloze za etvlovou skupinu. Při PbO₂ 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 vvznačuje fenoxylový radikál odvozený od 2,6-ditercbutyl-4-metylfenolu. Pokud se provede oxidace tohoto fenoxylového radikálu v nepřítomnosti spin-trapu, je možné pozorovat EPR spektrum volného fenoxylového radikálu 24, kterého EPR parametry (3 x $a_{\rm H}$ (CH₃) = 1,094 mT a 2 x $a_{\rm H}(m) = 0.155$ mT) jsou již po mnoho desítek let uváděny v katalozích EPR spekter. 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. Analýzou tohoto spektra bylo zjištěno, že kromě základního dusíkového štěpení a štěpení od vodíkových atomů fenylového kruhu nitrosobenzenu, jsou v interakci s nepárovým elektronem dva další vodíkové atomy (1 x $a_N(NO) = 1,049$ mT, 2 x $a_{\rm H} = 0.565 \text{ mT}, 3 \text{ x } a_{\rm H}(o,p) = 0.273 \text{ mT}, 2 \text{ x } a_{\rm H}(m) = 0.092 \text{ mT}$). 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 parapoloze. Znamená to tedy, že při oxidaci 2,6-ditercbutyl-4-metyfenolu s PbO₂ se paralelně tvoří 2 typy radikálů. Benzylový radikál 24 se aduje na nitrosobenzen za tvorby aduktu 25 (Schéma 12). 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 ve vysokém výtěžku.³¹ Důležitým poznatkem získaným v průběhu studia vlastností aduktu benzylového radikálu s nitrososloučeninami bylo konstatování, 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. 4. Jeho simulací byly získány následující štěpící konstanty: $2 \times a_H = 0,150 \text{ mT}, 1 \times a_H(CH) = 0,280 \text{ mT}, 1 \times a_N = 0,490 \text{ mT})$. Vycházejíce ze struktury výchozího aduktu a nejmenší štěpící konstanty následně vznikajícího radikálu ($2 \times a_H = 0,150 \text{ mT}$) 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 **26**, přičemž samotné přeskupení probíhá přes přechodně vznikající nitrón **27** (Schéma 13).



Schéma 12



Schéma 13

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 28. Zatímco nesubstituovaný dián 28a při oxidaci s PbO₂ v přítomnosti nitrosobenzenu poskytuje EPR spektrum, které je v souladu s teorií adice fenoxylů v ortopoloze (nestíněné fenoly) a je v souladu se vznikem struktury 29 (Schéma 14), substituované diány 28b – 28c poskytují při oxidaci EPR spektrum radikálového aduktu 30, 31. 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, tak je tomu i v případě EPR spektra stabilního fenoxylového radikálu odvozeného od struktury 28b v nepřítomnosti spin-trapu (2 x $a_{\rm H} = 0,150$ mT). V přítomnosti nitrosobenzenu jako spintrapu se pozoruje EPR spektrum radikálové směsi složené ze stále přítomného volného fenoxylu a radikálového aduktu **30** (1 x $a_N(NO) = 1,126 \text{ mT}, 3 \text{ x } a_H(o,p) = 0,236 \text{ mT}, 2 \text{ x}$ $a_{\rm H}(m) = 0.090$ mT). Velmi podobné štěpící konstanty se pozorují rovněž v případě radikálu **31.** připraveného z diánu **28c** ($1 \ge a_N(NO) = 1,105 \text{ mT}, 3 \ge a_H(o,p) = 0,240 \text{ mT}, 2 \ge a_H(m) = 0,240 \text{ mT}, 2 \ge a_H(m) = 0,240 \text{ mT}, 2 \ge 0,240$ 0,090 mT). Zajímavý výsledek byl získán při oxidaci diánu 28d. 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 fenoxylových radikálů ze substituovaného fenolického kruhu, tak i fenolického kruhu nesubstituovaného. Experimenty však jednoznačně prokázaly přítomnost pouze jednoho typu aduktu a to aduktu se štěpícími konstantami: 1 x $a_N(NO) = 1,120$ mT, 3 x $a_{\rm H}(o,p) = 0.235$ mT, 2 x $a_{\rm H}(m) = 0.090$ mT. Dián 28e neposkytuje bez použití spin-trapu v přítomnosti PbO₂ spektrum volného radikálu. V přítomnosti nitrosobenzenu je však možné pozorovat EPR spektrum se štěpícími konstantami: 1 x $a_N(NO) = 0,930$ mT, 4 x $a_H = 0,245$ mT, 2 x $a_{\rm H}$ = 0,050 mT. EPR spektrum jednoznačně prokazuje, že dochází k adici primárního fenoxylu v orto-poloze a v sérii následných kroků opět ke tvorbě radikálu fenoxazínoxylového typu. Při oxidaci metylsubstituovaného diánu 28f se pozoruje nezávisle na tom, zda je oxidace provedena v přítomnosti nebo nepřítomnosti spin-trapu, EPR spektrum volných radikálů, které svými štěpícími konstantami (1 x $a_{\rm H}$ (CH₃) = 0,63 mT, 1 x $a_{\rm H}$ (CH₃) = 0,49 mT , 2 x $a_{\rm H}$ = 0,1 mT) poukazuje na tvorbu polymerních radikálů, které je možné pozorovat při oxidaci např. 2,6-xylenolu. 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 28g. Podobný způsob oxidace byl v minulosti pozorován i při oxidaci jiných typů 4,4'-alkylidenbisfenolů resp. 4,4'thiobisfenolů.^{32,33} 3,3'-metylsubstituovaný dián **28h** neposkytuje při oxidaci za nepřítomnosti spin-trapu žádné EPR spektrum. V přítomnosti nitrosobenzenu bylo naměřeno EPR spektrum aduktu, které jen poukazuje na to, že přednostně dochází k adici fenoxylového radikálu přes para-polohu. Monosubstituovaný dián 28i v nepřítomnosti spin-trapu neposkytuje při oxidaci EPR spektrum volného radikálu. V přítomnosti nitrosobenzenu bylo detekováno EPR spektrum, které je prakticky totožné s EPR spektrem, pozorovaným v případě struktury 28e a které je možné interpretovat tvorbou radikálu fenoxazínoxylového typu. Jelikož v případě této struktury oba fenylové kruhy nemají plně obsazenou orto-polohu, je možné očekávat adici obou v úvahu přicházejících fenoxylových radikálů jako výsledku abstrakce vodíku z OH- skupiny v jednom nebo druhém fenylovém kruhu. Za těchto okolností je možné potom EPR spektrum považovat za směsné spektrum dvou fenoxazínoxylových radikálů.



28a $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H$ **28b** $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = tBu$ **28c** $R_1 = R_3 = t$ -Bu $R_2 = R_4 = CH_3$ **28d** $R_1 = R_2 = tBu$ $R_3 = R_4 = H$ **28e** $R_1 = R_3 = t$ -Bu $R_2 = R_4 = H$ **28f** $R_1 = R_2 = CH_3$ $R_3 = R_4 = H$ **28g** $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = CH_3$ **28h** $R_1 = R_3 = CH_3$ $R_2 = R_4 = H$ **28i** $R_1 = tBu$ $R_2 = R_3 = R_4 = H$

Schéma 14







31

Spin-trapping fenoxylových radikálů odvozených od monojaderných bifunkčních fenolů

Aby byl lépe pochopen mechanismus adice fenoxylových radikálů na nitrososloučeniny, byly podrobeny oxidaci s PbO₂ rovněž některé monojaderné bifunkční fenoly (pyrokatechin, resorcin, hydrochinon) а jejich některé substituované derivátv např. 2.5difenyletylhydrochinon. Zde se však ukázal velmi zajímavý jev spočívající v tom, že identická EPR spektra byla získána jak v systému fenol-PbO2-spin-trap, tak i v systému fenolspin-trap. Znamená to tedy, že charakter EPR spektra vůbec nezávisí na přítomnosti PbO₂ 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)³⁴. Pozorovanými radikály jsou tedy v tomto případě nitroxylové radikály 32 – 35, hodnoty jejich EPR spektrálních parametrů jsou uvedeny v Tabulce 3.



Tabulka 3: Hodnoty štěpících konstant (mT) měřených radikálů 32 - 35

Radikálový	Štěpící konstanty (mT)				
adukt	$a_{\rm N}$	$a_{\rm H}$ (NH)	$a_{\mathrm{H}}^{o,p}$	a_{H}^{m}	
32	0,911	1,200	0,289	0,09	
33	0,905	1,175	0,290 (2H) 0,290 ^a	0,095	
34	0,840	1,110		-	
35	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.



$R_1 = CH_3$	$R_2 = CH_3$	$R_3 = H$	$R_4 = H$	$R_5 = H$
$R_1 = CH_3$	$R_2 = H$	$R_3 = CH_3$	$R_4 = H$	$R_5 = H$
$R_1 = CH_3$	$R_2 = H$	$R_3 = H$	$R_4 = CH_3$	$R_5 = H$
$R_1 = CH_3$	$R_2 = H$	$R_3 = H$	$R_4 = H$	$R_5 = CH_3$
$R_1 = H$	$R_2 = CH_3$	$R_3 = CH_3$	$R_4 = H$	$R_5 = H$
$R_1 = H$	$R_2 = CH_3$	$R_3 = H$	$R_4 = CH_3$	$R_5 = H$
	$R_1 = CH_3$ $R_1 = CH_3$ $R_1 = CH_3$ $R_1 = CH_3$ $R_1 = H$ $R_1 = H$	$\begin{array}{ll} R_1 = CH_3 & R_2 = CH_3 \\ R_1 = CH_3 & R_2 = H \\ R_1 = CH_3 & R_2 = H \\ R_1 = CH_3 & R_2 = H \\ R_1 = H & R_2 = CH_3 \\ R_1 = H & R_2 = CH_3 \end{array}$	$\begin{array}{ll} R_1 = CH_3 & R_2 = CH_3 & R_3 = H \\ R_1 = CH_3 & R_2 = H & R_3 = CH_3 \\ R_1 = CH_3 & R_2 = H & R_3 = H \\ R_1 = CH_3 & R_2 = H & R_3 = H \\ R_1 = H & R_2 = CH_3 & R_3 = CH_3 \\ R_1 = H & R_2 = CH_3 & R_3 = H \end{array}$	$\begin{array}{ccccccc} R_1 = CH_3 & R_2 = CH_3 & R_3 = H & R_4 = H \\ R_1 = CH_3 & R_2 = H & R_3 = CH_3 & R_4 = H \\ R_1 = CH_3 & R_2 = H & R_3 = H & R_4 = CH_3 \\ R_1 = CH_3 & R_2 = H & R_3 = H & R_4 = H \\ R_1 = H & R_2 = CH_3 & R_3 = CH_3 & R_4 = H \\ R_1 = H & R_2 = CH_3 & R_3 = H & R_4 = CH_3 \end{array}$

2,3-dimetylfenol (36a)

Byla provedena řada experimentů v systému **36a**-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 (36b)

Pokud je k benzenovému roztoku 2,4-dimetylfenolu přidán v přítomnosti nitrosobenzenu PbO₂, pozoruje se EPR spektrum, jehož štěpící konstanty (1 x $a_N(NO) = 1,120$ mT, 3 x $a_H(o,p) = 0,210$ mT, 2 x $a_H(m) = 0,080$ mT) poukazují na skutečnost, že generovaný primární fenoxylový radikál se neaduje v souladu s mechanismem vyjádřeným Schématem 9, ale k adici dochází v souladu s mechanismem uplatňovaným pro některé typy diánů, tedy přes *para*-polohu. 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 difenylpikrylhydrazyl (DPPH). EPR parametry spektra pozorovaného v systému 2,4-dimetylfenol – nitrosotoluen – DPPH (1 x $a_N(NO) = 1,105$ mT, 2x $a_H(o,p) = 0,240$ mT, 3 x $a_H(CH_3) = 0,260$ mT, 2 x $a_H = 0,092$ mT, 2 x $a_H = 0,065$ 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 2nitrosotoluenu. Při přebytku PbO₂ vůči fenolu (molární poměr PbO₂:fenol = 3:1) se pozoruje celkem jiný charakter EPR spektra, jeho simulace (1 x $a_N(NO) = 1,59$ mT, 3 x $a_H(o,p) = 0,294$ mT, 2 x $a_H(m) = 0,099$ mT, 1 x $a_H = 0,548$ mT) jednoznačně poukazuje na adici benzylového radikálu vznikajícího odštěpením vodíku z metylové skupiny v *para*-poloze za vzniku aduktu **38**. Signál aduktů benzylových radikálů se objevuje v průběhu času rovněž v EPR spektru výše zmíněného aduktu od sekundárních fenoxylů.



2,5-dimetylfenol (36c)

Pozorované EPR spektrum nitrosobenzenového aduktu **39** s 2,5-dimetylfenoxylovým radikálem je svými EPR parametry prakticky identické s parametry aduktu 3,5dimetylfenoxylového radikálu²⁸. 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 x $a_N(NO) = 1,080$ mT, 3 x $a_H(o,p) = 0,247$ mT, 2 x $a_H(m) = 0,075$ mT, 2 x $a_H = 0,050$ mT).



39

2,6-dimetylfenol (36d)

Chování 2,6-xylenolu při jeho oxidaci s PbO_2 je podstatně odlišné od chování jiných dimetyfenolů. Nezávisle od toho, zda se oxidace provádí v přítomnosti spin-trapu nebo v jeho nepřítomnosti pozoruje se jediný typ EPR spektra, které bylo už v minulosti popsáno v literatuře a je připisováno polymernímu fenoxylovému radikálu struktury uvedené na Schématu 15. Uvedený typ polymerních fenoxylů vzniká při oxidaci všech 2,6-dialkylsubstituovaných fenolů.³⁰



Schéma 15

3,4-dimetylfenol (36e)

Přídavek PbO₂ k benzenovému nebo CCl₄ roztoku 3,4-dimetylfenolu vede v přítomnosti nitrosobenzenu k EPR spektru, jež bylo simulováno se štěpícími konstantami 1 x $a_N(NO) =$ 1,090 mT, 3 x $a_H(o,p) = 0,254$ mT, 2 x $a_H = 0,081$ mT, 2 x $a_H = 0,081$ mT. Uvedená skutečnost poukazuje na to, že dochází k *orto*-adici fenoxylového radikálu na nitrosobenzen v souladu se Schématem 16. 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 16 (a)). Pokud by adice probíhala podle Schématu 16 (b), výsledkem reakce by měla být generace fenoxazín-10-oxylových radikálů s podstatně bohatší hyperjemnou strukturou EPR spektra.



Schéma 16

3, 5-dimetylfenol (36f)

Adice 3,5-dimetylfenoxylového radikálu připraveného oxidací xylenolu **36f** s PbO₂, vede v přítomnosti nitrosobenzenu ke vzniku aduktu se štěpícími konstantami: 1 x $a_N(NO) = 1,012$ mT, 3 x $a_H(o,p) = 0,287$ mT, 2 x $a_H = 0,093$ mT, 2 x $a_H = 0,055$ mT.²⁸ 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-

trichlornitrosobenzen, 2-nitrosotoluen). Ve všech studovaných případech byly pozorovány adukty s obdobnými vlastnostmi. EPR parametry aduktu s 2-nitrosotoluenem (1 x $a_N(NO) =$ 1,034 mT, 2x $a_H(o,p) = 0,245$ mT, 3 x $a_H(CH_3) = 0,255$ mT, 2 x $a_H = 0,080$ mT, 2 x $a_H =$ 0,050 mT) resp. s 2,4,6-trichloronitrosobenzenem (1 x $a_N(NO) = 0,954$ mT, 3 x $a_H(CH_3) =$ 0,065 mT, 3 x $a_H(CH_3) = 0,065$ mT, 2 x $a_H = 0,0065$ 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 2,4,6trichlornitrosobenzenu 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 PbO₂ žádné EPR spektrum.



Obr. 4: Experimentální EPR spektrum radikálového aduktu typu 27.

5.3 Radikálové meziprodukty H-transferu z dusíkatých donorů

V souladu s tématem dizertační práce byly sledovány radikálové meziprodukty, které vznikají rozpadem N-H 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 obsahovali 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 N-H 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 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 (NO) = 1.020 mT) a štěpení od čtyř dalších přibližně ekvivalentních vodíkových atomů, z kterých tři evidentně pochází z o- a p-polohy benzenového kruhu ($a_{\rm H} = 0,270$ 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 41, který se tvoří homolytickým štěpením N-H vazby, dochází přes jeho rezonanční formu, která obsahuje nepárový elektron v para-poloze. Celkový mechanismus adice je potom možné vyjádřit následujícím způsobem (Schéma 17). 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 $a_{\rm H} = 0,045$ 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. 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 (32). Tento efekt (molecular asisted homolysis) se někdy pozoruje při smíchání aromatických nitrososloučenin s některými typy H-donorů jako jsou např. fenoly.



Schéma 17

Kromě výše uvedených derivátů difenylaminu byla tendence k odštěpení vodíkového atomu z N-H vazby aminů sledována u dalších typů diarylaminů R₁-NH-R₂, ve kterých byl fenylový kruh (R₁ = Ph) kombinován s jinými typy aromatických kruhů N-heterocyklického typu (R₂ = pyrazolový, triazolový, tetrazolový, imidazolový kruh). Jednalo se o typ sekundárních aminů, které při oxidaci s RO₂ radikály velmi ochotně poskytují příslušné nitroxylové radikály R₁-NO-R₂. ^{35,36} Pokud byl oxidaci s PbO₂ v přítomnosti nitrosobenzenu podroben v benzenovém roztoku anilinopyrazol **42** (Schéma 18), bylo zaznamenáno EPR spektrum uvedené na Obr. 5. Toto EPR spektrum bylo simulováno s následujícími štěpícími konstantami: 1 x *a*_N(NO) = 1,040 mT, 3 x *a*_H(*o*,*p*) = 0,245 mT, 2 x *a*_H(*m*) = 0,075 mT, 1 x *a*_N = 0,065 mT. EPR parametry dokazují, že dochází k adici dusíkatého radikálu, kterým je s největší pravděpodobností aminylový radikál vznikající rozštěpením N-H vazby (**43**). Jeho adicí na nitroso-skupinu spin-trapu vzniká adukt **44**. 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 **45**.







EPR studium spin-trappingu radikálových meziproduktů oxidace sekundárních aminů R_1 -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 PbO₂ 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 hydrazínů.³⁷



Obr. 5: Experimentální EPR spektrum radikálového aduktu 44.

6 ZÁVĚR

6.1 Radikálové meziprodukty H-transferu z uhlíkatých donorů

Při studiu derivátů kumarinu obsahujících v poloze 3 kumarinového skeletu substituent s kyselou CH2-skupinou bylo zjištěno, že v přítomnosti PbO2 dochází k homolytickému štěpení C-H vazby metylenové skupiny za tvorby uhlíkatého radikálu. Ten se vyznačuje velmi vysokou nestabilitou, takže jeho identifikace je možná pouze za použití metody spintrappingu. 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 spintrappingu 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 iniciovali další experimenty, při kterých byly na povrchu PbO₂ rozkládány modelové sloučeniny obecného vzorce R_1 -CO-(CH₂)_n-CO-R₂ (n = 1,2,3), jakož i některé sloučeniny typu R_1 -CO-CHX-CO- R_2 (X = alkyl, fenyl). I když u těchto sloučenin je rovněž možné předpokládat existenci keto-enolové tautomerie, opět se prokázalo, že jedinými radikálovými produkty vznikajícími v přítomnosti PbO₂ jsou uhlíkaté radikály, vznikající odštěpením vodíkového atomu z můstku -(CH₂)n- 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 jedině 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-ditercbutyl-4-metylfenol, který se v přítomnosti PbO₂ 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 PbO₂ – 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 PbO₂ oxidovány sekundární aminy R₁-NH-R₂, u kterých byl fenylový kruh (R₁ = Ph) kombinován s některými N-heterocyklickými kruhy (R₂ = triazolový, tetrazolový, imidazolový, pyrazolový kruh), pouze v případě kruhu pyrazolového byly detekovány adukty aminylových radikálů s nitrosobenzenem.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- 1. Omelka L., Kováčová J.: Magn. Reson. Chem. 32, 525 (1994).
- 2. Pelikán P., Staško A.: EPR spekroskopia, SVŠT Bratislava (1989).
- 3. Riegel G., Bolton J. R., J. Phys. Chem, 99, 4215 (1995).
- 4. Harbour J. R., Tramp J., Hair M. L.: Can. J. Chem. 63, 204 (1985).
- 5. Noda H., Oikawa K., Ohya-Nishiguchi H., Kamada H.: Bull. Chem. Soc. Jpn. 66, 3542 (1993).
- 6. Milatovic D., Radic Z., Zivin M., Dettbarn W. D.: Free Rad. Biol. Med., 28, 597 (2000).
- 7. Pérez M. J., Cederbaum A. L.: Free Rad. Biol. Med. 30, 734 (2001).
- 8. Pou S., Halpern H. J., Tsai P., Rosen G. M.: Acc. Chem. Res. 32, 155 (1999).
- 9. Davis M. J., Hawkins C. L.: Free Rad. Biol. Med., 36, 1072 (2004).
- 10. Mason R. P.: Rad.Biol.Med. 36, 1214 (2004).
- Brezová V, Pigošová J., Havlínová B., Dvoranová D., Ďurovič M.: *Dyes and Pigments* 61 (2), 177 (2004).
- 12. Nahajima A., Tahara M., Yoshimara Y., Nahazawa H.: Journal of Photochemistry and Photobiology A (2005).
- 13. Polovka M., Brezová V., Staško A.: Spectrochim. Acta A. 58, 1279 (2002).
- 14. Staško A., Polovka M., Brezová V., Biskup S., Malík F.: Food Chem. 2004.
- 15. Polovka M., Brezová V., Staško A.: Biophys. Chem. 106, 39 (2003).
- 16. Khan M., Grinberg O., Wilmot C., Kiefer H., Schwarz H. M.: Journal of Biochemical and Biophysical Methods 62, 125 (2005).
- 17. Terabe S., Konaka R.: J. Chem. Soc. Perkin Trans 2, 2163 (1972).
- 18. Schulz M., Reinhardt M., Scharn E.: J. Prakt. Chem., 327, 1037 (1985).
- 19. Watters W. A.: J. Chem. Soc. Perkin Trans 1, 1078 (1979).
- 20. Booth B. L., Edge D. J., Haszeldine R. N., Holmes R. G. G.: *J. Chem. Soc. Perkin Trans* 2, 7 (1977).
- 21. Omelka L., Kluge R., Reinhardt M., Schulz M.: J. Prakt. Chem., 330, 510 (1988).
- 22. Petránek J., Pilař J.: Coll. Czech. Chem. Commun., 34, 79 (1969).
- 23. Williams D. J., Kreilick R.,: J. Amer. Chem. Soc., 90, 2475 (1968).
- 24. Cosgrove S. L., Waters W. A.: J. Chem. Soc., 77, 1782 (1955).
- 25. Horswill E. C., Ingold K. U.: Canad. J. Chem., 44, 269 (1966).
- 26. Bickel A. F., Koozman E. C.: J. Chem. Soc, 3211 (1953).
- 27. Pospíšil J.: Pure Appl. Chem., 36, 207 (1973).
- 28. Omelka L., Kováčová J.: Magn. Reson. Chem., 32, 525 (1994).
- 29. Zhuzhgov E. I., Bazhin N. M., Terpugova M. P., Tsvetkov Y. D.: Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim., 2530 (1974).
- 30. Savolainen A. V., Saavalainen A.: Europ. Polym. Journal, 10, 815 (1974).
- 31. R.H. Bauer, G.M. Coppinger: Tetrahedron, 19, 1201 (1963).
- 32. Tkáč A., Omelka L., Jiráčková L., Pospíšil J.: Org. Magn Resonance 14, 249 (1980).
- 33. Omelka L., Tkáč A., Jiráčková L., Pospíšil J.: Org. Magn Resonance 19, 153 (1982).
- 34. Chatgilialoglu C., Ingold K. U.: J. Am. Chem. Soc., 103, 4833 (1981).
- 35. Schulz M., Mogel L., Omelka L., Tkáč A. : J. Prakt. Chem., 328, 222 (1986).
- 36. Omelka L., Meske M., Cholvad V. Světlík J., Schulz M.: Collection Czech. Chem. Commun., 57, 1065 (1992).
- 37. Danen W.C., Neugebauer F.A.: Angewandte Chemie, 87, 823 (1975).

8 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., Vlčkova Z., Omelka L., Světlík J., Radical Intermediates in Decomposition of Substituted Coumarins, *Monatsh. Chem. 13 9, 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)

9 SEZNAM 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	dibenzoylpopan

ŽIVOTOPIS

Osobní údaje:

Datum narození:	1. září 1980
Místo narození:	Šternberk
Trvalé bydliště:	Olomoucká 101, 785 01 Šternberk
Přechodné bydliště:	Nad Školou 3, 683 01 Rousínov
Telefon:	+420 725 055 533
E-mail:	renasuper@seznam.cz
Národnost:	česká
Rodinný stav:	vdaná
Zdravotní stav:	dobrý

Vzdělání:

t.č. studentka doktorského studijního programu na Chemické fakultě VUT Brno, Ústav fyzikální a spotřební chemie – kombinovaná forma studia

Téma dizertační práce: EPR studium radikálových meziproduktů H-transferu z uhlíkatých, kyslíkatých a dusíkatých donorů

- červen 2005 - vykonána Státní doktorská zkouška

- 1998 2003 Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie, Purkyňova 118, 612 00 Brno, ČR – magisterské studium
- 1991 1998 Gymnázium Šternberk, všeobecné zaměření

Jazykové znalosti:

anglický jazyk – výborně slovem i písmem německý jazyk - pasivně portugalský jazyk – základy

Schopnost pracovat s počítačem:

Microsoft Office 2007 (Word, Excel, Power Point), Internet, Chem Cad, Chem Sketch, AutoCad, Smart Plant P&ID, Smart Sketch, Comos

Pracovní zkušenosti:

2003 - 2005 - pedagogická praxe v rámci doktorského studia na Chemické fakultě VUT v Brně – Výpočtová cvičení z Fyzikální chemie I, II (Termodynamika, Kinetika chemických reakcí, Koloidní chemie)

- účast na konferencích

Studijní pobyt:

září 2005 - březen 2006 – studijní pobyt na Univerzitě v Lisabonu (Instituto Superior Technico), práce v Laboratoři Organické chemie v rámci studia problematiky týkající se disertační práce, zejména EPR spektroskopie

Trvalý pracovní poměr:

červenec 2009 – dosud

Projektant: Lavimont, a.s., Brno

- projekt Plavírny kaolinu a výroby nátěrových hmot ve Vietnamu

červenec 2006 – květen 2009

Projektant - technolog: Chemoprojekt, a.s., Brno

 technolog na projektech týkajících se výstavby závodů pro výrobu Biodieselu, Isomerizace ropy