

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 REAKCÍ
SEKUNDÁRNÍCH AMINŮ PROBÍHAJÍCÍCH
V KAPALNÉ FÁZI

AUTOREFERÁT DISERTAČNÍ PRÁCE
Ph.D. THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Ing. LENKA ŠAFAŘÍKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

prof. Ing. LADISLAV OMELKA, DrSc.

BRNO 2014

KLÍČOVÁ SLOVA

EPR spektroskopie, spin-trapping, sekundární aminy.

KEYWORDS

EPR spectroscopy, spin-trapping, secondary amines.

Obsah

1 ÚVOD.....	4
2 CÍL PRÁCE.....	5
3 TEORETICKÁ ČÁST.....	6
3.1 EPR spektroskopie	7
3.2 Spin-trapping.....	8
3.2.1 Používané skupiny spin trapů	8
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	11
4.1 Použité chemikálie	11
4.1.1 Použitá rozpouštědla.....	11
4.1.2 Spin trapy, peroxyčinnidla a redox činidla.....	11
4.1.3 Další použité chemikálie	11
4.2 Použité přístroje	11
4.3 Použité experimentální postupy	11
4.3.1 Příprava primárních aminoxylových radikálů.....	11
4.3.2 Oxidace systémem ^t BuOOH – Co(acac) ₂	11
4.3.3 Příprava sekundárních aminoxylových radikálů.....	12
4.3.4 Spin-trapping reakce radikálových produktů vznikajících ze sekundárních aminů použitím PbO ₂ a/nebo Pb(OAc) ₄	12
5 VÝSLEDKY A DISKUSE.....	13
5.1 Alkylarylaminy	13
5.2 Dialkylaminy.....	16
5.3 Alkylkarbonylaminy R–NH–CO–X	18
5.4 Diarylaminy	19
6 ZÁVĚR.....	23
7 SUMMARY.....	25
8 LITERATURA	27
9 PUBLIKAČNÍ ČINNOST.....	29
10 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	31
11 ŽIVOTOPIS.....	32

1 ÚVOD

Chemické reakce, probíhající za vzniku radikálových meziproduktů v kapalně fázi, jsou předmětem intenzivního výzkumu již po mnoho desetiletí. Významnou úlohu zde sehrává skutečnost, že existuje velmi účinná metoda jejich detekce, metoda EPR spektroskopie.

Radikálové meziprodukty se vyznačují rozdílnou stabilitou, která může být v řádu několika dnů i měsíců (vysoce stabilní radikály, např. DPPH), až po stabilitu, která často dosahuje pouze několik zlomků jedné sekundy. Z uvedeného důvodu existuje celá řada EPR spektroskopických technik, které umožňují detekci radikálových částic i v případě, kdy přímé měření v důsledku vysoké reaktivity není možné. Důležitou úlohu při detekci radikálů v kapalně fázi sehrává rovněž charakter rozpouštědel. Technika měření EPR spekter v polárním prostředí se výrazně odlišuje od techniky měření v nepolárních rozpouštědlech. V prvním případě je nutné pracovat v plochých kyvetách, zatímco v případě druhém se měření provádí v cylindrických kyvetách.

Měření EPR spekter radikálových meziproduktů představuje pouze úvodní část řešení problému radikálových reakcí. Na tento krok navazuje etapa interpretace charakteru zaznamenaných radikálů, na jejímž základě je možné vyslovit jednoznačné závěry, směřující k objasnění celkového mechanismu studované reakce. Tato interpretace je založena na simulaci experimentálních spekter pomocí vhodných počítačových programů.

Na základě uvedeného přístupu jsou v rámci disertační práce studovány radikálové reakce sekundárních aminů v kapalných roztocích, a to především v nepolárních rozpouštědlech. Pozornost je věnována nejen definování experimentálních podmínek pro generaci radikálových meziproduktů, ale také detailní interpretaci zaznamenaných EPR spekter, především stanovení štěpících konstant jednotlivých radikálů. Zde je třeba uvést, že splnění této úlohy naráželo v řadě případů na těžkosti vyplývající z toho, že registrovaná EPR spektra měla vícesložkový charakter, přičemž zastoupené radikály ne vždy souvisely s mechanismy za účasti sekundárních aminů, ale rovněž za účasti rozpouštědla, případně jiných součástí reakčního systému (např. spin trapů).

2 CÍL PRÁCE

V souladu s názvem disertační práce byla primární pozornost soustředěna na studium radikálových mechanismů probíhajících v kapalně fázi za účasti sekundárních aminů R_1-NH-R_2 . EPR studium bylo soustředěno na identifikaci primárních produktů radikálových přeměn těchto sloučenin, ale rovněž studiu následných kroků, jejichž výsledkem je tvorba sekundárních radikálů.

Radikálové reakce sekundárních aminů byly sledovány v rámci čtyř podskupin – alkylarylaminů, dialkylaminů, alkylkarbonylaminů, diarylaminů. Radikál-generujícími činidly byly jednak peroxosloučeniny, jakož i sloučeniny na bázi Pb^{IV+} . Jedná se tedy především o vodík-abstrahující činidla, přičemž odštěpení vodíkového atomu probíhá ze sekundárně aminické $-NH-$ skupiny, nebo z $C-H$ vazeb v bočních řetězcích R_1, R_2 . Výsledkem interakce sekundárních aminů s uvedenými činidly je pak vznik aminylových radikálů $R_1-N\cdot-R_2$ nebo C-radikálů různého typu. V přítomnosti perochočidel primární aminylové radikály tvoří aminoxylové radikály $R_1-NO\cdot-R_2$, které však v následných krocích v přítomnosti peroxyradikálů přecházejí na sekundární aminoxyly.

Zásadní problém, který bylo v rámci disertační práce nutné řešit, byla otázka stability vznikajících radikálů. Na rozdíl od relativně stabilních aminoxylových radikálů, jejichž detekce v zásadě nezpůsobuje experimentální problémy, aminylové radikály a C-radikály bývají zpravidla vysoce nestabilní. Z tohoto důvodu bylo nutné pro jejich identifikaci aplikovat metodu tzv. spin-trappingu, při které uvedené radikály reagují s vhodně zvolenými látkami, především nitrososloučeninami, za tvorby stabilních aminoxylových radikálů. Z jejich spektrálních vlastností je následně možné stanovit charakter adovaných radikálů.

Důležitou součástí disertační práce byla interpretace experimentálních EPR spekter generovaných radikálů simulační metodou. Tento přístup umožnil stanovení EPR parametrů celé řady doposud neznámých radikálových forem, čímž mohlo být studium radikálových mechanismů uvedených typů sekundárních aminů úspěšně završeno.

3 TEORETICKÁ ČÁST

Jednu z nejdůležitějších skupin radikálových produktů představují aminoxylové a aminylové radikály vznikající v průběhu oxidace sekundárních aminů R_1-NH-R_2 . Aminylové radikály $R_1-N\cdot-R_2$ vznikají za těchto podmínek odštěpením vodíkového atomu z N–H můstku působením redoxních činidel typu PbO_2 , MnO_2 , Ag_2O , $Pb(OAc)_4$.

Na druhé straně aminoxylové radikály $R_1-NO\cdot-R_2$ mohou být připraveny reakcí sekundárních aminů s peroxykyselinami, přičemž mechanismus této reakce je neradikálový.

Jiným způsobem přípravy aminoxylových radikálů ze sekundárních aminů je jejich reakce s peroxyradikály. I zde je prvním krokem tvorba aminylových radikálů S_H2 reakcí $RO_2\cdot$ radikálů s $-NH-$ skupinou. Aminylové radikály se však v sérii následných reakcí velmi rychle přeměňují na radikály aminoxylového typu.

Následné přeměny primárních aminylových radikálů probíhají velkými rychlostmi, takže při aplikaci EPR spektroskopie je není možné vůbec detekovat. Charakteristickou vlastností aminylových radikálů je jejich podstatně větší reaktivita v porovnání se stejně substituovanými aminoxyly, dominuje především tendence k jejich vzájemné rekombinaci za tvorby příslušných hydrazinů $R_1-R_2-N-N-R_2-R_1$. [1]

Vysoká reaktivita aminylových radikálů je rovněž příčinou problémů, se kterými je spojena jejich detekce metodou EPR spektroskopie. V tomto případě je prakticky nevyhnutelné aplikovat tzv. průtokovou metodu, při které jsou ve speciální kyvetě v dutině EPR spektrometru smíchávány a bezprostředně odváděny roztoky aminu a redox činidla. Metoda je tedy založena na měření stacionární koncentrace aminylových radikálů v momentě jejich vzniku. Další metodou, která se jeví jako efektivní pro nepřímou detekci aminylových radikálů je tzv. spin-trapping metoda. Tato metoda však doposud, jak o tom svědčí údaje v katalogích EPR spekter, byla použita pouze ve výjimečných případech.

Dalším z kritérií, které vzájemně odlišují aminylové a aminoxylové radikály, jsou jejich rozdílné EPR charakteristiky. Na jedné straně je to rozdíl v hodnotách g-faktoru (aminoxily: $g = 2,0055-2,0060$; aminyly: $g \sim 2,0035$), na straně druhé existují velmi výrazné rozdíly (při stejné substituci R_1 , R_2) v hodnotách štěpících konstant. I když teoreticky celkový počet interagujících jader je v obou případech stejný, jelikož jediný rozdíl je v přítomnosti kyslíkového atomu v aminoxylech (ten však v důsledku nulového spinu neinteraguje s volným elektronem), existuje významný rozdíl ve štěpících konstantách dusíkového atomu a substituentů R_1 , R_2 . U aminylových radikálů je nepárový elektron v podstatně větší míře delokalizován na substituenty R_1 , R_2 , čehož důsledkem je nárůst štěpících konstant v aminylových radikálech v porovnání s aminoxyly v ekvivalentních pozicích těchto substituentů. Zároveň je pozorováno snížení štěpící konstanty dusíkového atomu a_N v aminylech v porovnání se štěpením $a_N(NO)$ v příslušných aminoxylech.

Radikálové reakce sekundárních aminů probíhající na $-NH-$ skupině představují pouze jednu z alternativ, které se mohou realizovat při reakci sekundárních aminů

s redox činidly různého typu. Mnohé radikálové reakce se mohou odehrávat také na substituentech R_1 , R_2 . Zejména v případě, že těmito substituenty jsou alkylové skupiny, je možné očekávat rovněž atak těchto činidel na C–H vazby alkylových řetězců. Jak vyplývá z literárních zdrojů, disociační energie C–H a N–H vazeb v sekundárních aminech se od sebe neodlišují v takové míře, že by bylo možné očekávat pouze preferenční štěpení vazby N–H. Právě této skutečnosti, tzn. možnosti paralelního působení redoxních činidel na C–H vazby v bočních řetězcích sekundárních aminů je věnována část předložené disertační práce.

3.1 EPR SPEKTROSKOPIE

EPR spektroskopie (elektronová paramagnetická rezonance), často nazývaná také jako elektronová spinová rezonance (ESR), patří do skupiny magnetických rezonančních metod. Ve všeobecnosti je nejpoužívanější spektrální metodou pro studium charakteru radikálových meziproductů. Použití EPR je na rozdíl od širokého uplatnění nukleární magnetické rezonance (NMR) omezeno jen na systémy, které mají paramagnetickou povahu (tzn., že obsahují nepárové elektrony).

Metoda EPR spektroskopie je výhodná jak z hlediska velké citlivosti, kdy v příznivých podmínkách lze měřit paramagnetické systémy s koncentrací až 10^{-9} mol·dm⁻³, tak z hlediska výpovědí o reaktivitě a molekulové struktuře. Aplikace této techniky poskytuje velmi cenné informace o struktuře a vlastnostech látek a má své místo mezi moderními spektroskopickými technikami. Od svého objevení je široce používána ve velkém množství výzkumů v oblasti fyziky, chemie, biologie, materiálů a potravin. [2-4]

Aplikace EPR spektroskopie:

a) Volné radikály

Nejvíce aplikací EPR u chemických problémů je zaměřeno na stanovení a měření volných radikálů. Volné radikály se vyskytují jako přechodné meziproducty v chemických reakcích a jako více či méně stabilní částice. Jsou produkovány chemickými, fotochemickými, elektrochemickými nebo jinými procesy.

b) Přechodné prvky

Paramagnetické soli mnoha přechodných prvků obsahují nepárové elektrony v jejich d nebo f orbitalu. Spektra některých jejich oxidačních stavů se získávají jednotlivě v jejich pevném stavu, kapalně nebo plynné fázi.

c) Různé

I několik jiných skupin sloučenin vykazuje EPR spektra. V polymerech a uhlíkových materiálech, jako např. uhlíková čern a grafit, jsou dokázány nepárové elektrony. Signály vznikají ze strukturních defektů v krystalech, z tripletových stavů, z elektronů v polovodičích, z aktivního chlorofylu a z rakovinotvorných tkání.

3.2 SPIN-TRAPPING

Volné radikály hrají důležitou roli v různých chemických a biologických procesech. Jsou vysoce reaktivní, jejich velmi krátká životnost (např. 10^{-9} s pro $\cdot\text{OH}$) a také fakt, že existují jen v extrémně nízkých koncentracích, ztěžuje jejich identifikaci. To prakticky vylučuje jejich přímou detekci pomocí EPR spektroskopie. [5-7]

Spin-trapping reprezentuje jednu z nejvíce specifických a spolehlivých technik umožňujících detekci a identifikaci volných radikálů, jejichž životnost je velmi malá. Tato metoda je založena na reakci vysoce reaktivního radikálu $X\cdot$ se specifickou sloučeninou, tzv. spin trapem (ST) za vzniku nitroxidového spinového aduktu $\text{STX}\cdot$ (schéma 1), jehož stabilita je podstatně vyšší, než stabilita původního radikálu. Tento stabilní radikál může být následně detekován EPR spektroskopii. [5-11]

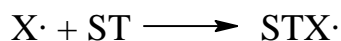


Schéma 1: Vznik radikálového aduktu $\text{STX}\cdot$.

Při aplikaci spin trapu se předpokládá jeho inertnost ve vztahu k experimentálním podmínkám, což znamená, že se např. při fotochemických generacích radikálů sám nerozkládá účinkem záření. Kromě své stability je charakteristickým znakem radikálu $\text{STX}\cdot$ to, že na základě jeho EPR spektrálních parametrů je možné zpětně usuzovat na charakter radikálu $X\cdot$ a tím blíže charakterizovat radikálový mechanismus jeho vzniku.

Metodou spin-trappingu byla dokázána existence mnoha reaktivních radikálů generovaných např. při fotochemických, termochemických, elektrochemických a biochemických reakcích, bylo jí také identifikováno mnoho volných radikálů v xenobiotických a proteinech. [12,13]

3.2.1 Používané skupiny spin trapů

Nitrony

Nitrony patří mezi nepoužívanější spin trapy, jsou ideální pro detekci identifikaci biologicky důležitých radikálů, jako jsou např. superoxydy $\text{O}_2\cdot^-$, hydroxyly $\text{HO}\cdot$, C-centrované radikály a mnoho sekundárních volných radikálů. [14,15]

Adice na nitron probíhá podle mechanismu:

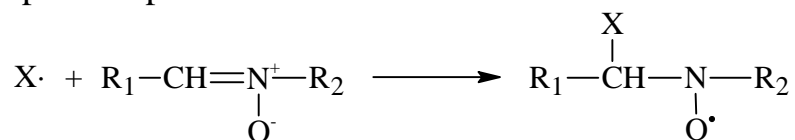
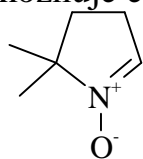


Schéma 2: Adice radikálu $X\cdot$ na nitron.

Výhodou nitronů je jejich vysoká reaktivita a tvorba stabilních aduktů, ale jejich EPR spektra poskytují méně informací o původním radikálu. [16]

V biologických systémech nachází v posledních desetiletích uplatnění ve vodě rozpustné cyklické nitrony DMPO (5,5-dimethyl-1-pyrrolin-N-oxid). Molekula DMPO má labilní násobnou vazbu v heterocyklickém pyrrolinovém kruhu, které umožňuje efektivní adici krátce žijících radikálů.



Struktura DMPO

Cyklické nitrony reagují s radikály za tvorby aduktu podle následujícího schématu (schéma 3).

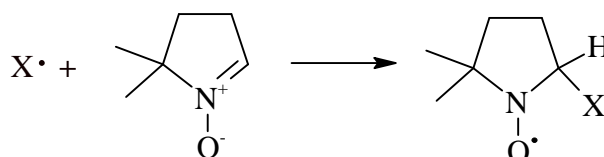
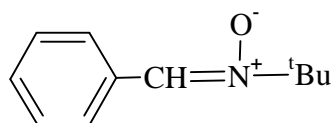


Schéma 3: Reakce cyklického nitronu s radikálem X·.

Jeho velkou výhodou je rozpustnost v polárních i nepolárních rozpouštědlech a pufrových roztocích, což umožňuje jeho využití i při sledování radikálových reakcí za fyziologických podmínek. [17]

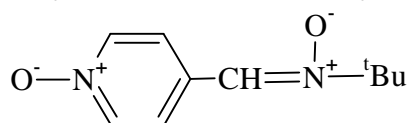
Selektivita štěpících konstant spinových aduktů DMPO umožňuje poměrně dobrou identifikaci zachyceného radikálu. Nejčastěji se používá na identifikaci radikálů HO·, HOO·, RO·, RO₂· a různých typů uhlíkem centrovaných radikálů, všeobecně R·.

Dalším velmi používaným spin trapem z této skupiny je α -fenyl-N-tercbutyl-nitron (PBN). Má lipofilní charakter, což omezuje jeho rozpustnost a tím i využití ve vodných prostředích. Na druhé straně tato vlastnost předurčuje jeho využití např. jako spin trapu radikálů vznikajících při oxidačních procesech lipidů v buněčných stěnách. [18,19]



Struktura PBN

Kromě běžně používaného PBN se především při studiu radikálových procesů probíhajících ve vodném prostředí efektivně využívá jeho hydrofilnější derivát α -(4-pyridyl-1-oxid)-N-tercbutyl-nitron (POBN).



Struktura POBN

Tento spin trap se často využívá jako alternativní trap kyslíkem centrovaných radikálů namísto DMPO. Jeho nevýhodou je však nižší selektivita štěpících konstant spinových aduktů, což ztěžuje přesnější specifikaci zachyceného radikálu.

Společnou nevýhodou PBN a POBN je to, že tyto spin trapy mohou často podléhat různým degradačním reakcím a stabilita vzniklého spinového aduktu není příliš vysoká. [20]

Nitrososloučeniny

Ve srovnání s enormním množstvím materiálů dokumentujících schopnost nitronů trapovat O-centrované a C-centrované volné radikály je literatura popisující spin-trapping za přítomnosti nitrososloučenin podstatně chudší. [17]

Při aplikaci nitrososloučenin se reaktivní radikál aduje na nitrososkupinu podle mechanismu:

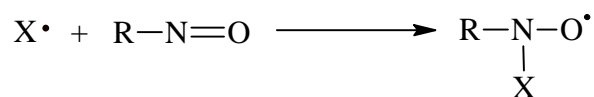


Schéma 4: Adice radikálu X• na nitrososloučeninu.

Substituentem R může být buď alkylová skupina (nejčastěji tercbutylová), nebo substituované fenylové jádro.

Často používané spin trapy na bázi nitrososloučenin jsou nitrosobenzen, nitrosotoluen nebo 2,3,5,6-tetramethylnitrosobenzen (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. [21]

Azosloučeniny

Z jiných skupin látek používaných ve formě spin trapů byly aplikovány azosloučeniny, kde adice běží podle mechanismu:



Schéma 5: Adice radikálu X• na azosloučeninu.

Produktem adice jsou stabilní hydrazylové radikály. Tento typ spin trapů však v současné době nenašel širšího uplatnění.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE

Ke splnění cílů předložené disertační práce byly prováděny experimenty za použití následujících chemikálií:

4.1.1 Použitá rozpouštědla

Benzen, tercbutylbenzen, CH_2Cl_2 byly stupně čistoty p.a. od firmy Sigma-Aldrich. Tato rozpouštědla nebyla podrobena dalšímu přečištění.

4.1.2 Spin trapy, perochočnidla a redox činidla

Nitrosobenzen pro spin-trapping experimenty, perochočnidla (3-chloro-peroxybenzoová kyselina, tercbutylhydroperoxid) a redox činidla (PbO_2 , $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, $\text{Co}(\text{acac})_2$) byly produkty firmy Sigma-Aldrich.

4.1.3 Další použité chemikálie

Použité typy sekundárních aminů byly komerčními produkty firmy Sigma-Aldrich.

4.2 POUŽITÉ PŘÍSTROJE

EPR spektra byla měřena na EPR spektrometru Miniscope MS 300. Simulace experimentálních spekter byly provedeny pomocí programu WINEPR SimFonia.

4.3 POUŽITÉ EXPERIMENTÁLNÍ POSTUPY

Radikálové reakce sekundárních aminů byly studovány za použití následujících metod:

4.3.1 Příprava primárních aminoxylových radikálů

Ve 2 ml 10^{-2} M roztoku 3-chloroperoxobenzoové kyseliny v benzenu, tercbutylbenzenu nebo CH_2Cl_2 byl rozpuštěn příslušný amin (molární poměr 3-CIPBK:amin = 1:1) a vzniklý roztok byl 2 minuty míchán. 0,5 ml tohoto roztoku v EPR kyvetě byl bezprostředně před měřením probublán dusíkem po dobu 30 sekund za účelem získání kvalitních EPR spekter (odstranění rozpuštěného kyslíku ve vzorku).

4.3.2 Oxidace systémem ${}^t\text{BuOOH}$ – $\text{Co}(\text{acac})_2$

K $5 \cdot 10^{-2}$ M roztoku příslušného aminu v benzenu, tercbutylbenzenu nebo CH_2Cl_2 bylo přidáno odpovídající množství tercbutylhydroperoxidu (${}^t\text{BuOOH}$) v molárním poměru ${}^t\text{BuOOH}$:amin = 5:1. Ke 2 ml takto vzniklého roztoku bylo za stálého míchání přidáno 0,2 ml $2,5 \cdot 10^{-1}$ M $\text{Co}(\text{acac})_2$. Po 30 sekundách míchání byla reakce zastavena a po usazení heterogenní fáze bylo odebráno přibližně 0,3 ml reakční

směsi do EPR kyvety. Roztok v EPR kyvetě byl bezprostředně před měřením probublán dusíkem po dobu 30 sekund za účelem získání kvalitních EPR spekter (odstranění rozpuštěného kyslíku ve vzorku).

4.3.3 Příprava sekundárních aminoradikálů

K roztoku primárního aminoradikálu připraveného podle metody uvedené v kapitole 4.3.1 byl přidán tercbutylhydroperoxid (TBHP) v molárním poměru 3-CIPBK:TBHP = 1:1. Katalytický rozklad TBHP vedoucí ke vzniku $^t\text{BuO}_2\cdot$ radikálů byl iniciován přidáním cca 10 mg cobaltacetylacetonátu ($\text{Co}(\text{acac})_2$) (za stálého míchání). 0,5 ml tohoto roztoku v EPR kyvetě bylo bezprostředně před měřením probubláno dusíkem po dobu 30 sekund za účelem získání kvalitních EPR spekter (odstranění rozpuštěného kyslíku ve vzorku).

4.3.4 Spin-trapping reakce radikálových produktů vznikajících ze sekundárních aminů použitím PbO_2 a/nebo $\text{Pb}(\text{OAc})_4$

Reakce s PbO_2 a/nebo $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ v přítomnosti nitrososloučenin byla provedena za použití dvou odlišných metod:

Reakce v čistém aminu

V 0,3 ml aminu umístěného v EPR kyvetě bylo rozpuštěno 10 mg nitrosobenzenu. K tomuto roztoku bylo přidáno 15 mg PbO_2 nebo $\text{Pb}(\text{OAc})_4$. Tento roztok v EPR kyvetě byl probubláván dusíkem po dobu 30 sekund za účelem získání kvalitních EPR spekter (odstranění rozpuštěného kyslíku ve vzorku).

Reakce v roztoku

V $5 \cdot 10^{-2}$ M roztoku příslušného aminu v benzenu, tercbutylbenzenu nebo CH_2Cl_2 bylo rozpuštěno odpovídající množství nitrosobenzenu v molárním poměru nitrososloučenina:amin = 1:1. Ke 2 ml tohoto roztoku bylo za stálého míchání přidáno 15 mg PbO_2 nebo $\text{Pb}(\text{OAc})_4$. Po 30 sekundách míchání byla reakce zastavena a po usazení heterogenní fáze bylo odebráno přibližně 0,3 ml reakční směsi do EPR kyvety. Roztok v EPR kyvetě byl bezprostředně před měřením probublán dusíkem po dobu 30 sekund za účelem získání kvalitních EPR spekter (odstranění rozpuštěného kyslíku ve vzorku).

5 VÝSLEDKY A DISKUSE

V rámci disertační práce byl proveden rozbor chování sekundárních aminů R_1-NH-R_2 v přítomnosti vybraných typů činidel. Jednu skupinu představovala činidla na bázi peroxidů, a to ve formě peroxykyseliny (3-chloroperoxybenzoová kyselina), resp. tercbutylperoxyradikálů připravených katalytickým rozkladem tercbutylhydroperoxidu cheláty Co^{II+} . U tohoto typu činidel je možné očekávat v průběhu jejich reakce se sekundárními aminy tvorbu aminoxylových radikálů $R_1-NO\cdot-R_2$ v primárních fázích reakce. Jedná se tedy o reakční mechanismy, které je možné obecně očekávat při působení sekundárních aminů ve formě antioxidantů.

Druhou skupinu představují sloučeniny Pb^{IV+} , které vystupují ve funkci vodík-abstrahujících činidel, což v souvislosti se studovanými strukturami znamená, že je možné očekávat jak tvorbu aminylových radikálů $R_1-N\cdot-R_2$ v důsledku odštěpení vodíku z $-NH-$ skupiny, tak i jejich působení jako vodík-abstrahujících činidel z C-H vazeb vyskytujících se v rámci substituentů R_1, R_2 .

Chování sekundárních aminů z výše uvedeného hlediska bylo studováno v rámci čtyř skupin sloučenin tohoto typu.

5.1 ALKYLARYLAMINY

Při studiu alkylarylaminů **1**, **2** byla prokázána tvorba příslušných primárních aminoxylových radikálů pouze při použití 3-CIPBK jako oxidačního činidla (schéma 6, obr.1a).

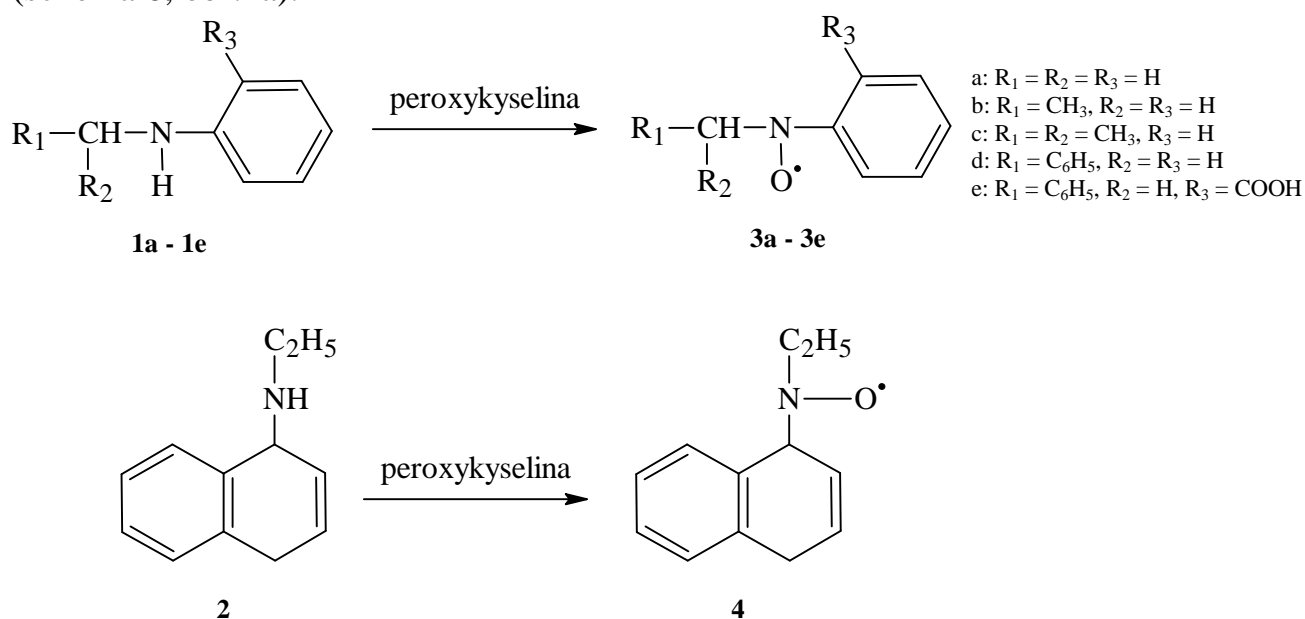
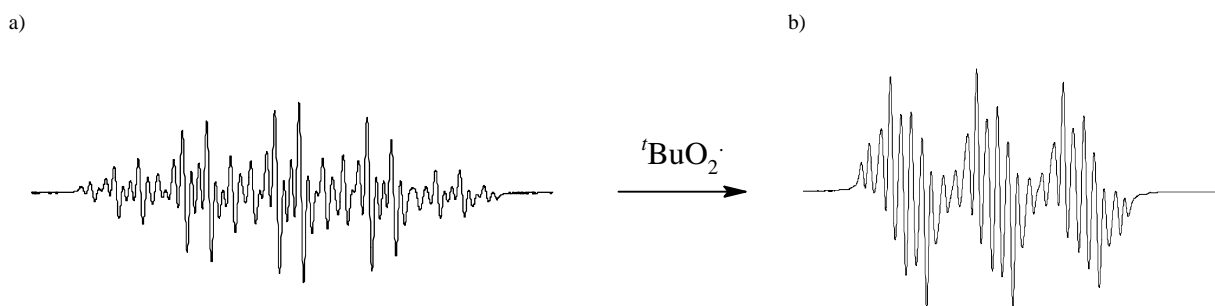


Schéma 6: Oxidace sloučenin **1,2** za vzniku aminoxylových radikálů.



Obrázek 1: Experimentální EPR spektrum radikálu **3b** pozorované v systému *N*-ethylanilin (**1b**) + CIPBK + toluen (a) a sekundárního aminoxylového radikálu **6b** pozorované v systému *N*-ethylanilin (**1b**) + CIPBK + TBHP + toluen (b)

Aplikací $\text{RO}_2\cdot$ radikálů docházelo ke tvorbě těchto radikálů na velmi nízké koncentrační úrovni. V některých případech (**3b** – **3d**) se podařilo prokázat vznik sekundárních aminoxylů (**6b** – **6d**) vznikajících reakcí peroxyradikálů s primárními aminoxylly. V tomto případě je při interpretaci jejich tvorby nutné uvažovat vznik nitronů jako meziproductů, což znamená, že dochází nejdříve k ataku C–H vazeb molekuly aminoxylu peroxyradikály a jejich následnému trappingu molekulami nitronů (schéma 7, obr. 1b).

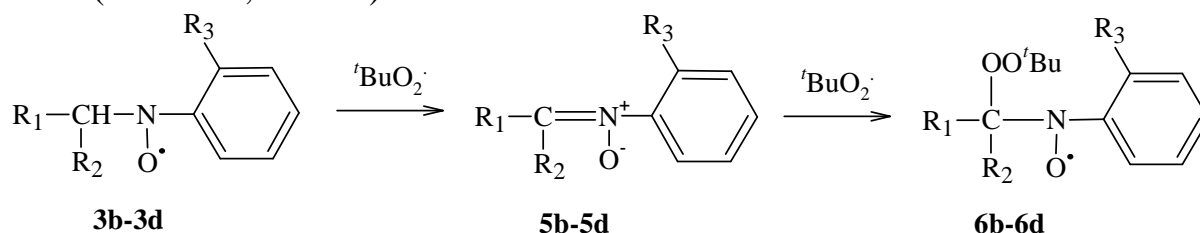


Schéma 7: Vznik sekundárních aminoxylů **6b** – **6d** při reakci primárních aminoxylů **3b-3d** s $\text{RO}_2\cdot$ radikály.

Na druhé straně v přítomnosti Pb^{IV} činidel byl při použití PbO_2 prokázán atak na N–H vazbu sekundárního aminu, což vede ke tvorbě radikálů aminylových $\text{R}_1\text{--N}\cdot\text{--R}_2$, jejichž vznik byl dokumentován za použití metody spin-trappingu. Ve vznikajících aduktech se při použití nitrosobenzenu jako spin trapu pozoruje kromě základního dusíkového štěpení a štěpení od protonů fenylového jádra dodatečné štěpení od jednoho dusíkového atomu ($a_{\text{N}} < 0,1$ mT) (schéma 8, obr. 2).

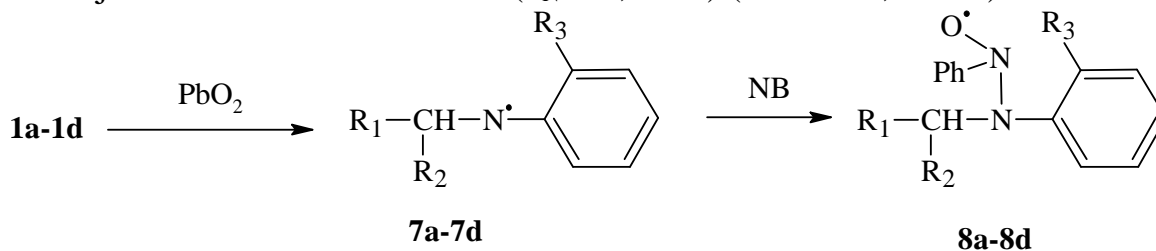
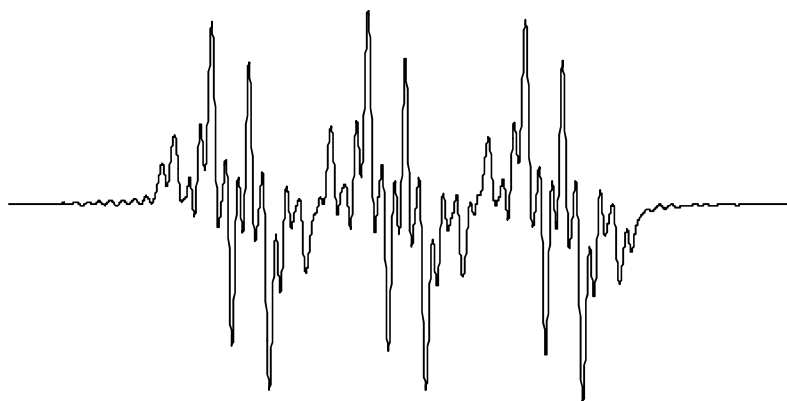


Schéma 8: Vznik radikálových aduktů **8a–8d** při oxidaci aminů **1a-1d** v přítomnosti PbO_2 a nitrosobenzenu.



Obrázek 2: Experimentální EPR spektrum radikálu **8a** pozorované v systému *N*-methylanilin (**1a**) + PbO_2 + *NB* + *terc*butylbenzen

Aplikace $Pb(OAc)_4$ v přítomnosti nitrosobenzenu dokázala, že v tomto případě dochází k radikálovým přeměnám probíhajících na *N*-alkyl substituentu. Štěpení C–H vazby v α -poloze bylo pozorováno u *N*-alkylanilinů s $-CH_3$, $-CH_2-CH_3$ a $-CH(CH_3)_2$ skupinou, podobný průběh byl dokumentován rovněž v případě *N,N*-dimethylanilinu (schéma 9, obr. 3).

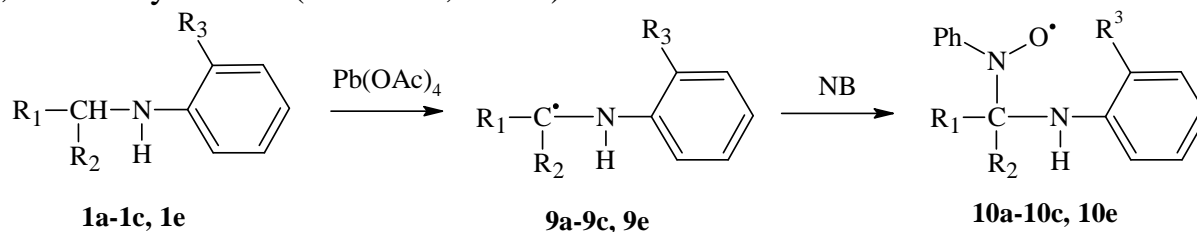
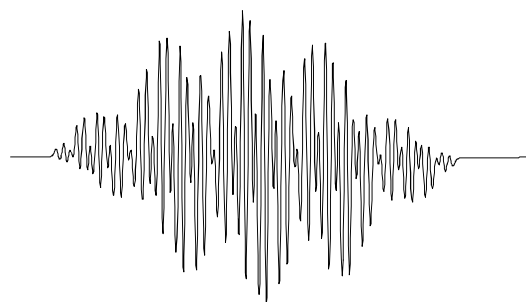
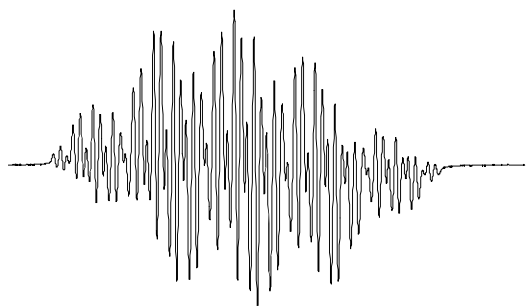


Schéma 9: Vznik radikálových aduktů při oxidaci aminů **1a-1c, 1e** s $Pb(OAc)_4$ v přítomnosti nitrosobenzenu.

Experiment

Simulace



Obrázek 3: Experimentální a simulované EPR spektrum radikálu **10a** pozorované v systému *N*-methylanilin (**1a**) + $Pb(OAc)_4$ + *NB* + CH_2Cl_2 .

N-

5.2 DIALKYLAMINY

Skupina dialkylaminů **11** byla studována v rámci dvou oddělených skupin. První skupinu představuje početná série *N*-alkylbenzylaminů Ph-CH₂-NH-R (**11**). Na základě EPR spektroskopie je možné konstatovat, že aminoxylové radikály Ph-CH₂-NO·-R jsou jedinými radikálovými produkty generovanými reakcí s 3-CIPBK (schéma 10).

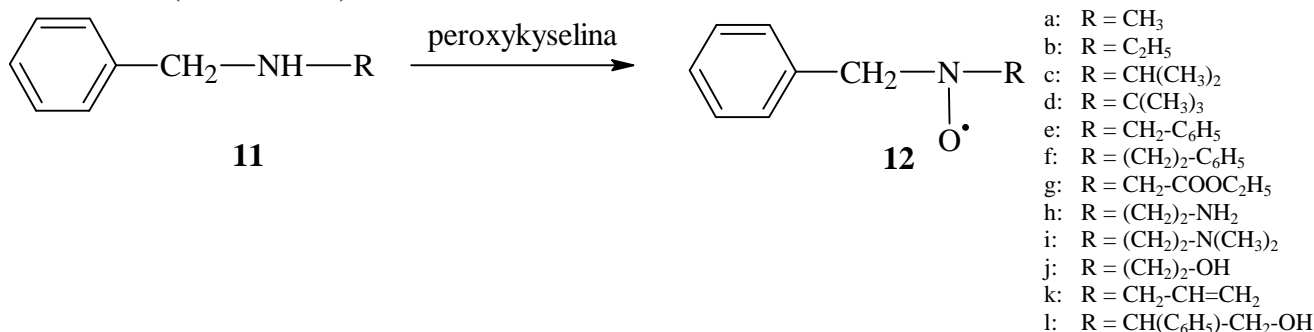


Schéma 10: Tvorba aminoxylových radikálů z *N*-alkylbenzylaminů

V přítomnosti ^tBuO₂· radikálů primární aminoxyly podléhají přeměnám vedoucím ke generaci nových typů aminoxyly. Při interpretaci jejich struktury se předpokládá přechodná tvorba nitronů mající svůj původ v ataku peroxyradikálů na methylenovou skupinu benzylového substituentu v primárním aminoxyly. V následném kroku jsou sekundární aminoxyly **14** produkovány spin-trapping reakcí těchto nitronů s peroxyradikály (schéma 11, obr. 4).

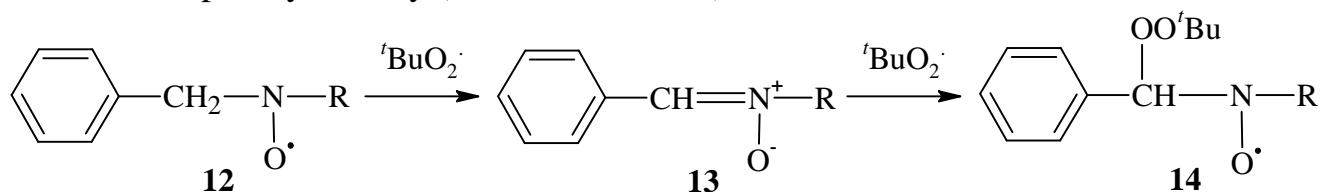
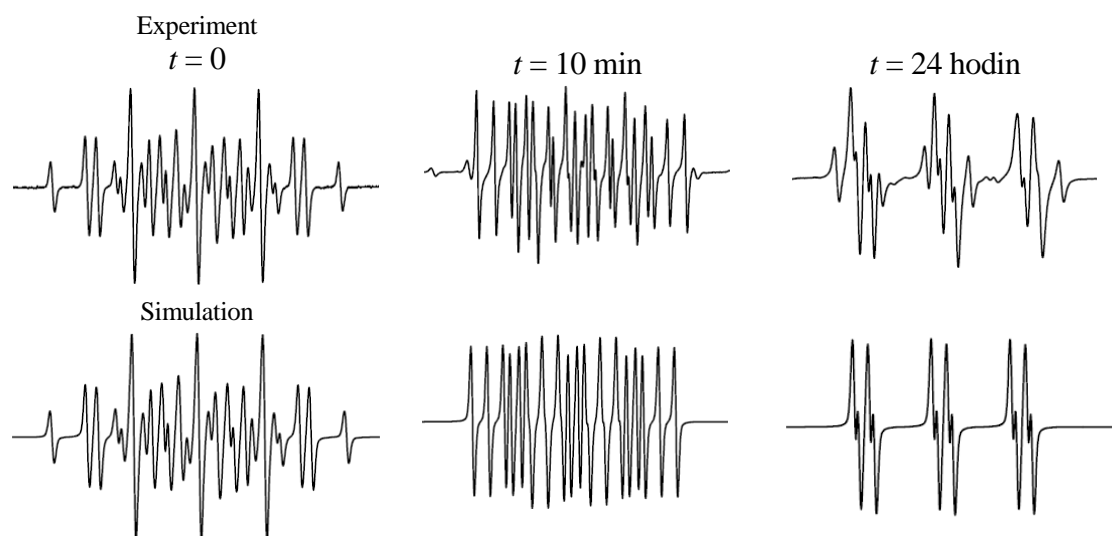


Schéma 11: Vznik sekundárního aminoxyly při reakci primárního aminoxyly **10b** s RO₂· radikály.



Obrázek 4: Experimentální a simulovaná EPR spektra pozorované v různých časových intervalech *N*-ethylbenzylamin (**11b**) + CIPBK + TBHP + Co(acac)₂ + *tert*butylbenzen

Metoda spin-trappingu také prokázala, že při použití PbO_2 dochází ke tvorbě C-radikálů jako produktů ataku methylenové skupiny benzylového substituentu v případě, kdy benzylová skupina je kombinována s primárním alkylovým substituentem (schéma 12), přičemž tento průběh reakce byl jednoznačně prokázán v experimentech provedených v čistých aminech.

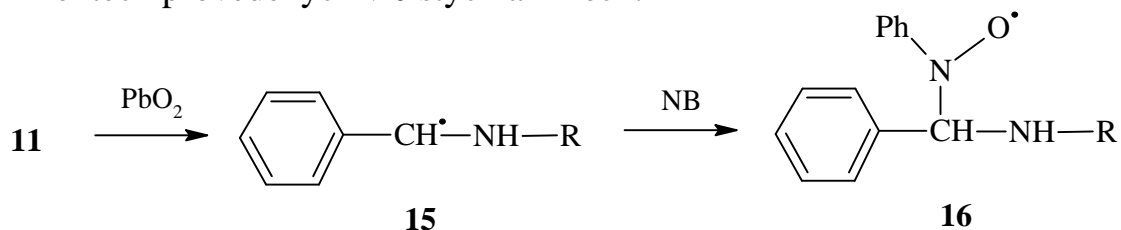


Schéma 12: Vznik C-radikálů **15** jako meziproductů při reakci N-alkylbenzylaminů s PbO_2 a jejich adice na nitrosobenzen za vzniku aminosoxylů **16**.

Pokud byly experimenty provedeny v různých rozpouštědlech, analýza EPR spekter byla výrazně komplikována vznikem difenylaminoxylu $\text{Ph-NO}^\bullet\text{-Ph}$, resp. fenylaminoxylu $\text{Ph-NO}^\bullet\text{-H}$, které jsou produkty rozkladu nitrosobenzenu v přítomnosti $\text{Pb}^{\text{IV}+}$ činidel. Za těchto okolností byla možná interpretace EPR spekter aduktů C-radikálů jenom v omezeném počtu případů.

Druhá skupina v rámci studovaných dialkylaminů zahrnuje sekundární dialkylaminy $\text{R}_1\text{-NH-R}_2$ (**17**), ve kterých žádný ze substituentů není benzylového typu. I zde se podařilo prokázat, že primárně vznikající aminosoxylové radikály **18** připravené účinkem 3-CIPBK (schéma 13a) podléhají po přidavku ${}^t\text{BuO}_2^\bullet$ radikálů následným přeměnám, jejichž výsledkem je vznik sekundárních aminosoxylových radikálů **20** (schéma 13b). Jejich vznik je spojen s přechodným vznikem nitronů, podobně jako v případě dialkylaminů s benzylovým substituentem. V některých speciálních případech EPR parametry v pozorovaných spektrech, zejména nízká hodnota základního dusíkového štěpení, nasvědčují vzniku alkylkarbonylaminoxylů.

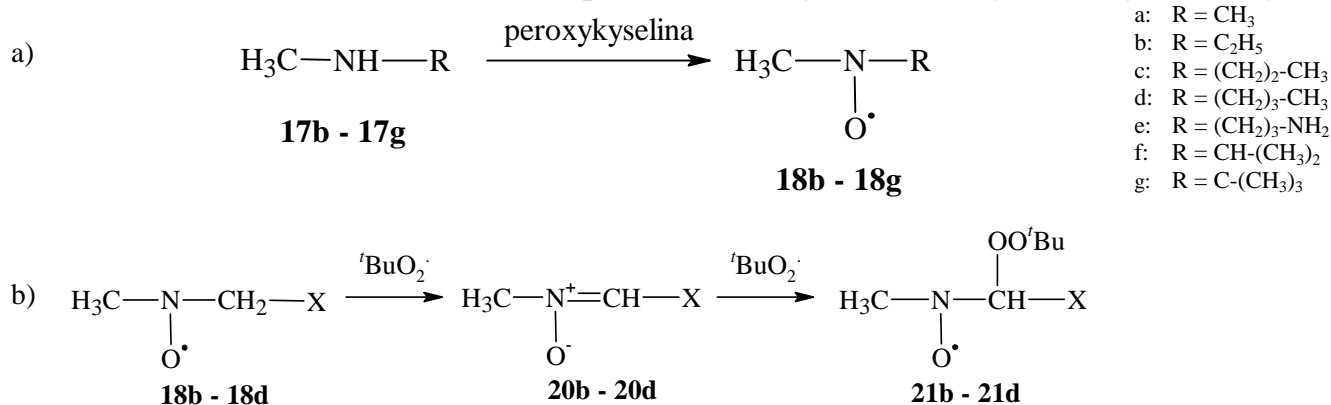


Schéma 13: Vznik primárních aminosoxylových radikálů **18b-18g** v systému amin **17b-17g** + CIPBK (a), vznik sekundárních aminosoxylů **21b-21g** reakcí ${}^t\text{BuO}_2^\bullet$ radikálů s primárními aminosoxylů (b)

Při aplikaci $\text{Pb}^{\text{IV}+}$ činidel v přítomnosti nitrosobenzenu byl v rámci této skupiny pozorován vznik aduktů, které poukazují na to, že k odštěpení vodíkového atomu

dochází jak v bočním řetězci (vznik C-radikálů), tak i na –NH– skupině (aminylové radikály). K odštěpení vodíku ze substituentů R₁, R₂ dochází na základě analýzy EPR spekter na koncové methylové skupině, jakož i methylenové skupině v α-poloze. Odštěpení z CH₃-skupiny bylo prokázáno metodou spin-trappingu ve formě aduktu **22** (schéma 14, obr. 5).

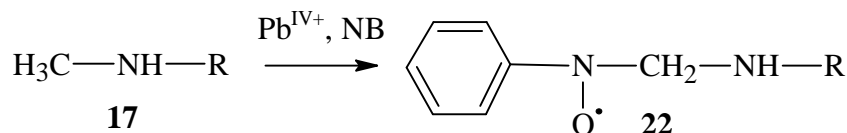
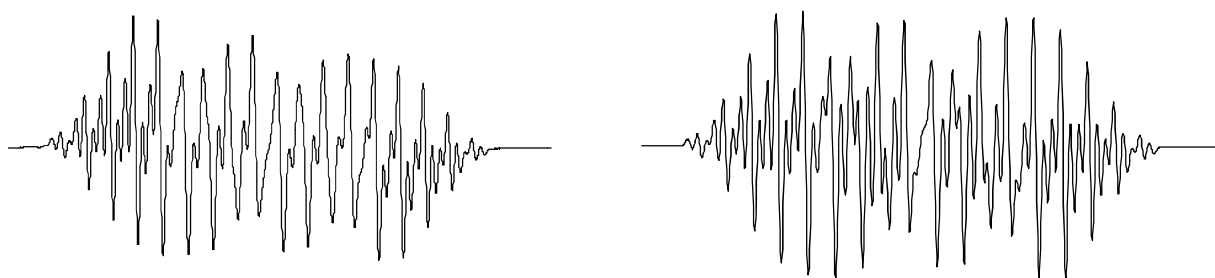


Schéma 14: Reakce aminu **17** s PbO₂ a NB za odštěpení vodíku z methylové skupiny

Experiment

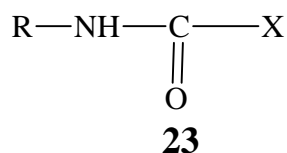
Simulace



Obrázek 5: Experimentální a simulovaná EPR spektra radikálu **22g** pozorované v systému N-tercbutylmethylamin (**17g**) + Pb(OAc)₄ + NB + benzen

5.3 ALKYLKARBONYLAMINY R–NH–CO–X

V rámci série alkylkarbonylaminů R–NH–CO–X (**23**) bylo studováno pět vybraných struktur, ve kterých byly alkylové substituenty R kombinovány s nejrůznějšími substituenty X.



- a: R = C₂H₅, X = NH₂
- b: R = CH₃, X = CH₃
- c: R = CH₃, X = CH₂-CO-CH₃
- d: R = CH₂-C₆H₅, X = H
- e: R = CH₂-C₆H₅, X = C₆H₅

Zde se ukázalo, že příprava příslušných aminoradikálů účinkem 3-CIPBK, resp. ^tBuO₂· radikálů byla úspěšná pouze v případě ethylmočoviny (C₂H₅-NH-CO-NH₂) (schéma 15, obr. 6).

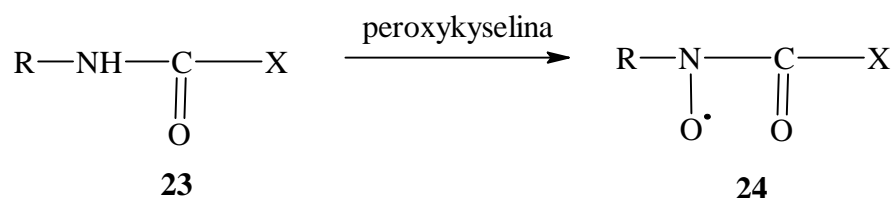
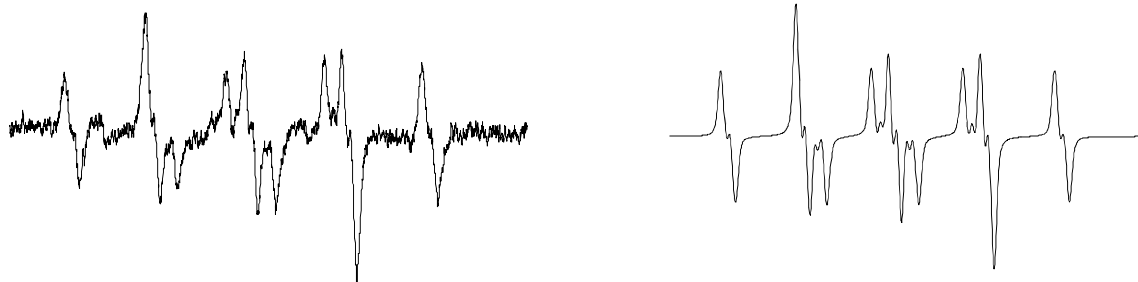


Schéma 15: Oxidace alkylkarbonylaminů **23** s 3-ClPBK za vzniku aminoxylu **24**.

Experiment

Simulace

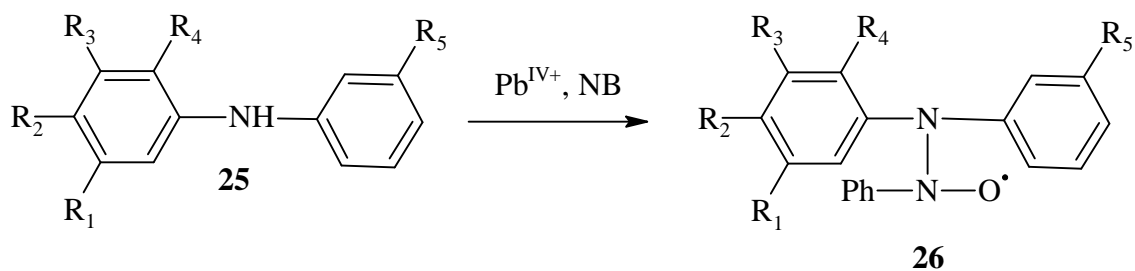


Obrázek 6: Experimentální a simulované EPR spektrum radikálu **24a** pozorované v systému ethylmočovina (**23a**) + ClPBK + benzen.

Oxidace s ${}^t\text{BuO}_2\cdot$ radikály je charakterizována tím, že ve spektru dominuje pouze signál těchto radikálů, který je superponován se signálem aminoxylových radikálů ($a_{\text{N}}(\text{NO}) = 0,880 \text{ mT}$) na velmi nízké úrovni bez viditelného hyperjemného štěpení. Oxidace $\text{Pb}^{\text{IV}+}$ činidly neprokázala v přítomnosti nitrosobenzenu žádné radikálové meziprodukty, které by nepřímo dokumentovaly vznik C- nebo N-radikálů.

5.4 DIARYLAMINY

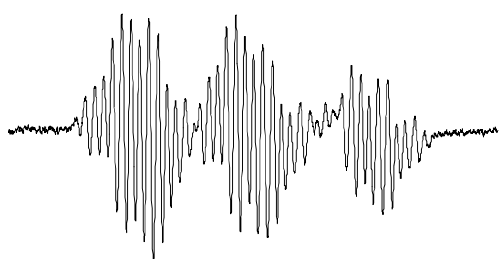
Za analogických experimentálních podmínek, jako v případě výše uvedených struktur, byl proveden rozbor radikálových reakcí diarylaminů, ve kterých se sekundárně aminická skupina nachází mezi dvěma fenylovými jádry. Byly studovány dva typy sloučenin tohoto typu: substituované difenylaminy $\text{Ar}-\text{NH}-\text{Ar}$ a substituované diarylaminy $\text{Ar}-\text{NH}-\text{Ar}-\text{NH}-\text{X}$. V rámci skupiny substituovaných difenylaminů $\text{Ar}-\text{NH}-\text{Ar}$ (**25**) nebyla pozornost soustředěna na strukturu příslušných aminoxylových radikálů (oxidace s 3-ClPBK, resp. ${}^t\text{BuO}_2\cdot$ radikály), jelikož mnohé z nich jsou dobře popsány v literatuře, ale pozornost se soustředila na posouzení možnosti odštěpení vodíku z $-\text{NH}-$ skupiny za tvorby aminylových radikálů. Adukty vznikajících aminylových radikálů byly jednoznačně prokázány v případě nesubstituovaného difenylaminu **25a** (schéma 16, obr. 7).



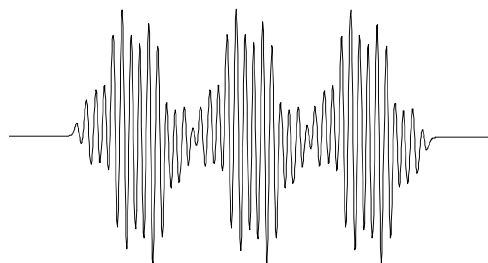
- a: $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = H$
- b: $R_1 = R_3 = R_4 = R_5 = H, R_2 = OH$
- c: $R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = H, R_3 = OH$
- d: $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H, R_5 = CH_3$
- e: $R_1 = R_2 = R_4 = H, R_3 = R_5 = CH_3$
- f: $R_1 = R_3 = R_5 = H, R_2 = R_4 = CH_3$

Schéma 16: Vznik aminoxylových radikálů působením Pb^{IV+} činidel

Experiment



Simulace



Obrázek 7: Experimentální a simulované EPR spektrum radikálu **26a** pozorované v systému difenylamin (**25a**) + PbO_2 + NB + *terc*butylbenzen.

Pokud však byly účinku Pb^{IV+} činidel (PbO_2) podrobeny substituované difenylaminy s OH–substituenty, pozorované adukty nasvědčovaly tomu, že uvedené sloučeniny se chovají jako substituované fenoly. Dochází zde tedy ke vzniku radikálů fenoxylového typu. Uvedené adukty jsou charakteristické tím, že aktivním místem pro adici fenoxylových radikálů je jejich orto-poloha. Např. v případě 4-hydroxydifenylaminu **25b** byl pozorován vznik aduktu **27** (schéma 17, obr. 8).

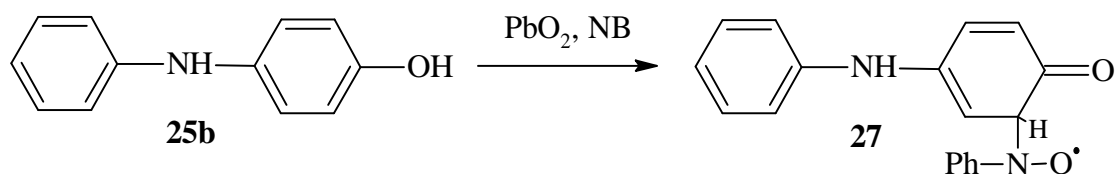
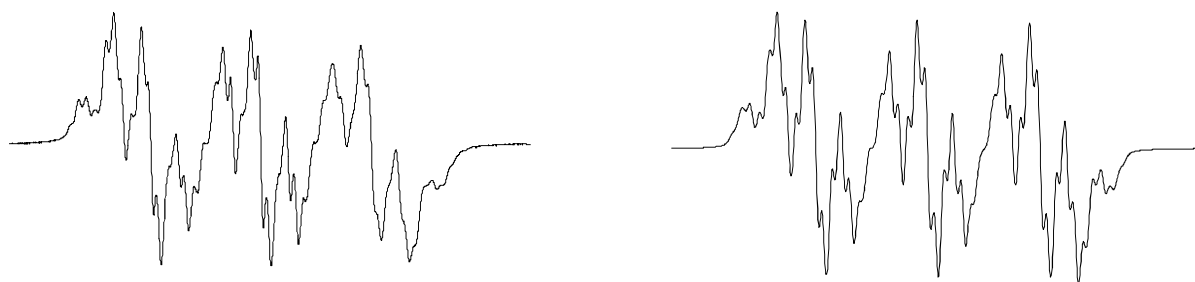


Schéma 17: Působení Pb^{IV+} činidel na diarylamin **25b** probíhající za odštěpení vodíku z fenolické OH–skupiny

Experiment

Simulace



Obrázek 8: Experimentální a simulovaná EPR spektra pozorované v systému amin **25b** + $Pb(OAc)_4$ + NB + benzen

Při studiu substituovaných diarylaminů $Ar-NH-Ar-NH-X$ (**28**), ve kterých se jedna $-NH-$ skupina nachází mezi dvěma fenylovými jádry, zatímco druhá je situována mezi fenylové jádro a alkylový, příp. fenylový substituent X, bylo nutné v případě oxidace s 3-CIPBK hledat odpověď na otázku, která z dvou uvedených $-NH-$ skupin je přednostně oxidována, případně zda dochází k paralelní tvorbě dvou typů aminoxylových radikálů. EPR parametry získané oxidací výše uvedených diarylaminů jako derivátů para-fenylendiaminu prokázaly, že aminoxylová $-NO-$ skupina je převážně situována v oblasti mezi dvěma fenylovými kruhy (struktura **29**), jelikož štěpící konstanty se výrazně neodlišují od hodnot pro nesubstituovaný difenylaminoxyl. Zároveň se ukázalo, že v některých speciálních případech se aminoxylová $-NO-$ funkce nachází v poloze mezi arylovým a alkylovým substituentem a že tedy vznikající aminoxyl má charakter alkylarylaminoxylu **30**.

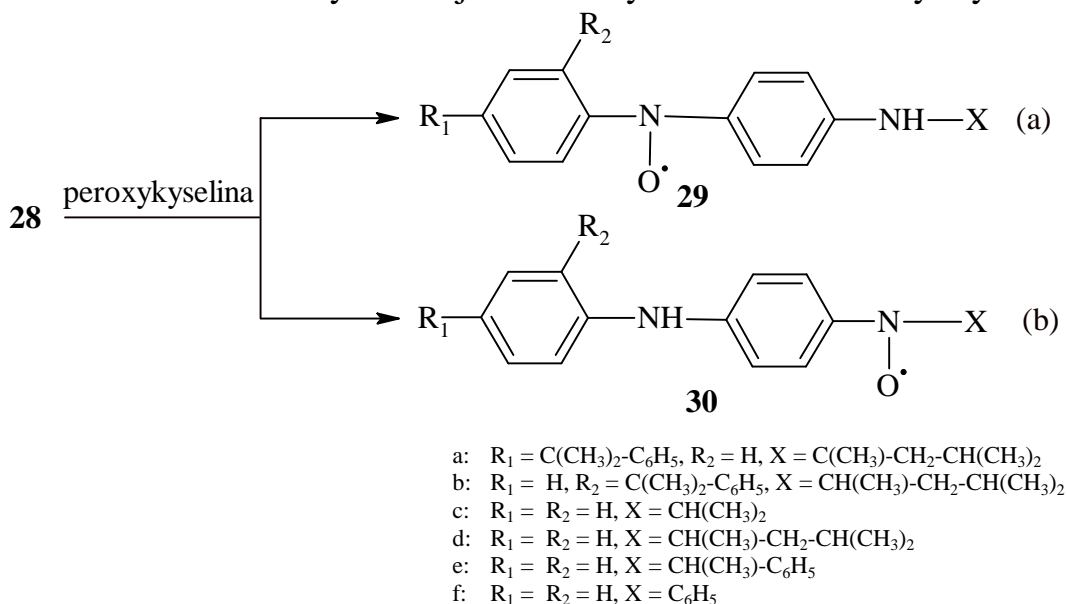


Schéma 18: Oxidace aminů **25** s 3-CIPBK

Při celkovém zhodnocení tohoto efektu je však velmi pravděpodobné, že v průběhu reakce jsou paralelně oxidovány obě –NH– skupiny a to, zda v EPR spektru dominuje jeden nebo druhý typ, je otázka experimentálních podmínek, např. použitého rozpouštědla.

Aplikace $\text{Pb}^{\text{IV}+}$ činidel v přítomnosti nitrosobenzenu je charakteristická tím, že vznikají vícesložková komplikovaná EPR spektra s jasně dominujícím signálem difenylaminoxylu jako produktu rozpadu nitrosobenzenu. Pouze v některých případech byl prokázán vznik aduktů aminylových radikálů jako produktů štěpení N–H vazeb ve studovaných sloučeninách.

6 ZÁVĚR

Při celkovém hodnocení experimentálních výsledků získaných při vypracování předložené disertační práce je možné vyslovit několik zobecňujících závěrů.

- a) Aplikovaná peroxyčinnidla se ve vztahu ke studovaným sekundárním aminům R_1-NH-R_2 chovají odlišným způsobem. Zatímco peroxykyseliny (3-chloro-peroxybenzoová kyselina) se obecně ukázaly jako velmi účinná oxidovadla ve vztahu k $-NH-$ skupině, čehož výsledkem jsou vysoké koncentrace aminoxylových radikálů $R_1-NO\cdot-R_2$. Tento typ radikálů nebylo možné připravit ve velkém výtěžku působením katalyticky generovaných $RO_2\cdot$ radikálů v systémech $tBuOOH-Co(acac)_2$, resp. $tBuOOH-PbO_2$. Na druhé straně, $RO_2\cdot$ radikály mohou vstupovat do reakcí s primárními aminoxylovými radikály v případě, že uvedené radikály obsahují $-CH_2-$ skupiny navázané na $-NO-$ funkci, a to jak v případě alkylaryl-, tak i dialkylaminů. Zde dochází k ataku peroxyradikálů na tuto skupinu za přechodné tvorby nitronů, které v další fázi reakce reagují jako spin trapy. Výsledkem této série následných reakcí je vznik sekundárních aminoxylů $X-CH(OO^tBu)-NO\cdot-Y$.
- b) Působení Pb^{IV+} činidel (PbO_2 , $Pb(OAc)_4$) na sekundární aminy R_1-NH-R_2 byl prokázán jejich vodík-abstrahující efekt jak ve vztahu k $-NH-$ skupině (vznik aminylových radikálů $R_1-NO\cdot-R_2$), tak i k C-H vazbám na substituentech R_1 , resp. R_2 . V obou případech bylo možné identifikovat N-, resp. C-radikály nepřímou EPR metodou, tzv. spin-trappingem. Uplatnění jednoho nebo druhého modelu záviselo na typu sekundárního aminu a použitého Pb^{IV+} činidla. Např. jednoznačná tendence k preferenčnímu odštěpení vodíku z $-NH-$ skupiny byla pozorována u série alkylarylamínů (N-alkylanilinů). Aktivním místem pro tvorbu C-radikálů je především α -poloha v substituentech R_1 , resp. R_2 , v řadě případů však bylo rovněž prokázáno odštěpení vodíku z koncové CH_3 -skupiny. Na tomto místě je potřebné zdůraznit, že zaznamenaná EPR spektra vykazovala ve většině případů velmi bohatou hyperjemnou strukturu, takže jejich interpretace nutně vyžadovala analýzu metodou spektrální simulace. Nepříjemným efektem, který komplikoval analýzu EPR spekter, byla skutečnost, že EPR spektra studovaných radikálů byla v mnoha případech kombinována s EPR spektry nežádoucích radikálových příměsí. Jejich původ spočíval v působení Pb^{IV+} činidel na samotný spin trap (nitrosobenzen), jehož výsledkem je vznik buď difenylaminoxylového radikálu $R_1-NO\cdot-R_2$, nebo fenylaminoxylového

radikálu $\text{C}_6\text{H}_5\text{-NO}\cdot\text{-H}$. V těchto případech bylo možné charakter studovaných radikálů vyhodnotit ze struktury okrajových pásů v multikomponentním EPR spektru.

7 SUMMARY

To summarize the experimental results obtained by the elaboration of submitted PhD thesis, the following conclusions can be performed.

- a) The applied peroxy agents behave in relation to the studied secondary amines R_1-NH-R_2 by two different ways. Peroxyacids (3-chloroperbenzoic acid) has proved to be very efficient oxidation agent in relation to $-NH-$ group, what results in generation of high concentration of aminoxyl radicals $R_1-NO\cdot-R_2$. This type of radicals, however could not be prepared in high yield by the action of catalytically generated $RO_2\cdot$ radicals using the system $tBuOOH-Co(acac)_2$ and $tBuOOH-PbO_2$, respectively. On the other side $RO_2\cdot$ radicals can enter the reactions with primary aminoxyl radicals in the case when mentioned radicals contain $-CH_2-$ groups in the vicinity of $-NO-$ function in alkylaryl- and dialkylamines. Here, the attack of peroxyradicals on this group under intermediate formation of nitrones proceeds. The nitrone formed react in later steps of the reaction as spin traps. As a result of this series of consecutive reactions the formation of secondary aminoxyl radicals $X-CH(OO^tBu)-NO\cdot-Y$ was observed.
- b) By the action of Pb^{IV+} agents (PbO_2 , $Pb(OAc)_4$) on secondary amines R_1-NH-R_2 their hydrogen-abstracting effect was evidenced not only in relation to $-NH-$ group (formation of aminyl radicals $R_1-NO\cdot-R_2$) but to C-H bonds in substituent R_1 and R_2 as well. In both cases it was possible to identify N- and C-radicals using spin-trapping method. The application of first or second model depends on the type of secondary amine or Pb^{IV+} agent used. For example clear tendency to abstraction of hydrogen from $-NH-$ group was observed by the series of alkylarylamines (N-alkylanilines). Active site for the formation of C-radicals is α -position in substituents R_1 and R_2 , in numerous cases the abstraction of hydrogen from CH_3 -group was proved. Simultaneously, it has to be emphasized that observed EPR spectra exhibited in most cases very rich hyperfine structure and their interpretation required the application of spectral simulation method. Awkward effect which complicated the analysis of EPR spectra was the fact that EPR spectra of studied radicals were in many cases combined with EPR spectra of some radical impurity. These were formed by the reaction of Pb^{IV+} agents with spin trap (nitrosobenzene) which results in the formation either of diphenylaminoxyl radical $R_1-NO\cdot-R_2$ or phenylaminoxyl radical $C_6H_5-NO\cdot-H$. Under this condition

the character of studied radicals was evaluated from the structure of multicomponent EPR spectra at the outside.

8 LITERATURA

- [1] ŠAFAŘÍKOVÁ, L., L. OMELKA, P. MAJZLÍK a J. SVĚTLÍK. Radical transformations of some N-alkylanilines by their oxidation with different agents: an EPR study. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*. 2013, vol. 144, issue 2, s. 163-169.
- [2] PELIKÁN, P. a A. STAŠKO. *EPR spektroskopie*. Bratislava: SVŠT, 1989.
- [3] WEIL, J. A. a J. R. BOLTON. *Electron paramagnetic resonance: elementary theory and practical applications*. 2nd ed. Hoboken: John Wiley, 2007, 664 s. ISBN 978-0-471-75496-1.
- [4] KEMPE, S., H. METZ a K. MÄDER. Application of Electron Paramagnetic Resonance (EPR) spectroscopy and imaging in drug delivery research ? Chances and challenges. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2010, roč. 74, č. 1, s. 55-66. ISSN 09396411.
- [5] BAČIĆ, G., I. SPASOJEVIĆ, B. ŠEĆEROV a M. MOJOVIĆ. Spin-trapping of oxygen free radicals in chemical and biological systems: New traps, radicals and possibilities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2008, roč. 69, č. 5, s. 1354-1366.
- [6] LIU, K. J., Y. KOTAKE, M. LEE, M. MIYAKE, K. SUGDEN, Z. YU a H. M. SWARTZ. High-performance liquid chromatography study of the pharmacokinetics of various spin traps for application to in vivo spin trapping. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999, roč. 27, 1-2, s. 82-89. ISSN 08915849.
- [7] DULTSEV, F.N. a G.G. DULTSEVA. Predictive capacity of semi-empirical MNDO/PM3 and molecular mechanics MM2 estimations of the reactivity of cyclic nitrones as spin traps. *Chemical Physics Letters*. 2006, vol. 429, 4-6, s. 445-449.
- [8] KHAN, N., O. GRINBERG, C. WILMOT, H. KIEFER a H. M. SWARTZ. Distant spin trapping: a method for expanding the availability of spin trapping measurements. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2005, roč. 62, č. 2, s. 125-130. ISSN 0165022x.
- [9] WANG, Z., W. MA, Ch. CHEN, H. JI a J. ZHAO. Probing paramagnetic species in titania-based heterogeneous photocatalysis by electron spin resonance (ESR) spectroscopy. A mini review. *Chemical Engineering Journal*. 2011, roč. 170, 2-3, s. 353-362. ISSN 13858947.
- [10] BÉZIÈRE, N., Y. FRAPART, A. ROCKENBAUER, J.-L. BOUCHER, D. MANSUY a F. PEYROT. Metabolic stability of superoxide and hydroxyl radical adducts of a cyclic nitron toward rat liver microsomes and cytosol: A stopped-flow ESR spectroscopy study. *Free Radical Biology and Medicine*. 2010, roč. 49, č. 3, s. 437-446. ISSN 08915849.
- [11] ASTOLFI, P., M. MARINI a P. STIPA. Radical Trapping Properties of 3-Aryl-2 H -benzo[1,4]oxazin-4-oxides. *The Journal of Organic Chemistry*. 2007, vol. 72, issue 23, s. 8677-8682.

- [12] RANGUELOVA, K. a R. P. MASON. The fidelity of spin trapping with DMPO in biological systems. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 2011, roč. 49, č. 4, s. 152-158. ISSN 07491581.
- [13] PELIKÁN, P., L. OMELKA, K. BRUDÍKOVÁ a M. BREZA. Quantum chemical study of the preferential ortho-addition of phenoxyl radicals to nitroso spin-traps. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*. 2003, roč. 624, 1-3, s. 251-255. ISSN 01661280.
- [14] ASTOLFI, P., P. CARLONI, M. G. MARINI, G. MOBBILI, M. PISANI a P. STIPA. Benzoxazinic nitrones and nitroxides as possible antioxidants in biological systems. *RSC Advances*. 2013, vol. 3, issue 44.
- [15] ROSEN, G. M. *Free radicals: biology and detection by spin trapping*. New York: Oxford University Press, 1999, 482 s. ISBN 01-950-9505-7.
- [16] HURST, Ch. J. a R. L. CRAWFORD. *Manual of environmental microbiology*. 3rd ed. Washington, D.C.: ASM Press, c2007, xxi, 1293 p. ISBN 15-558-1379-8.
- [17] TKÁČ, A. Enzymaticky kontrolované a náhodné radikálové reakcie v biológii, preventívnej medicíne a vo farmácii. *Pharma journal*. 1994, roč. 4, č. 2, s. 3-6. ISSN 1335-0633.
- [18] MILATOVIC, D., Z. RADIC, M. ZIVIN a W.-D. DETTBARN. Atypical effect of some spin trapping agents: reversible inhibition of acetylcholinesterase. *Free Radical Biology and Medicine*. 2000, roč. 28, č. 4, s. 597-603. ISSN 08915849.
- [19] PÉREZ, M. J. a A. CEDERBAUM. Spin trapping agents (tempol and POBN) protect HepG2 cells overexpressing CYP2E1 against arachidonic acid toxicity. *Free Radical Biology and Medicine*. 2001, roč. 30, č. 7, s. 734-746. ISSN 08915849.
- [20] BARRIGA, G., C. OLEA-AZAR, E. NORAMBUENA, A. CASTRO, W. PORCAL, A. GERPE, M. GONZÁLEZ, H. CERECETTO a R. W. SCHLESINGER. New heteroaryl nitrones with spin trap properties: Identification of a 4-furoxanyl derivative with excellent properties to be used in biological systems. *Bioorganic*. 2010, vol. 18, issue 2.
- [21] OMELKA, L. a J. KOVÁČOVÁ. Spin trapping of sterically unhindered phenoxyl radicals with nitrosobenzene and nitrosodurene. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 1994, roč. 32, č. 9, s. 525-531. ISSN 0749-1581

9 PUBLIKAČNÍ ČINNOST

ŠAFAŘÍKOVÁ, L. a L. OMELKA. EPR study of radical products generated from N-alkyl benzylamines by the action of some peroxy and lead (IV) agents. *Monatshefte fuer Chemie*, 2014, in press.

ŠAFAŘÍKOVÁ, L. a L. OMELKA. Radical products of N-alkyl benzylamines prepared by the reaction with some peroxy and lead (IV) agents. *Program & Abstract Book*. EUCHEM Conference of Organic Free Radicals, Praha: 2014. s. 126.

ŠAFAŘÍKOVÁ, L., OMELKA, L., MAJZLÍK, P. a J. SVĚTLÍK. Radical transformations of some N-alkylanilines by their oxidation with different agents: an EPR study. *Monatshefte fuer Chemie*, 2013, roč. 144, č. 2, s. 163-169. ISSN: 0026-9247.

ŠAFAŘÍKOVÁ, L. a L. OMELKA. Radical products produced by the reaction of different agents with some N-alkylanilines and N-alkylbenzylamines. *In 25. International EPR Seminar. Častá – Papiernička*. Book of abstracts. Slovenská technická univerzita v Bratislave, 2013. s. 51-52. ISBN: 978-80-227-3893- 4.

ŠAFAŘÍKOVÁ, L. a L. OMELKA. Radical reactions of some N-alkyl-anilines and N-alkyl-benzyl amines. *Studentská odborná konference Chemie a společnost 2011/2012*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Purkyňova 464/118, 61200 Brno, 2012. s. 38-39. ISBN: 9788-80-214-4426- 3.

ŠAFAŘÍKOVÁ, L. a L. OMELKA. Radical reactions of some N-alkylanilines and N-alkylbenzylamines. *In Studentská odborná konference Chemie a společnost 2011/2012*. Sborník příspěvků. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Purkyňova 464/118, 61200 Brno, 2012. s. 89-96. ISBN: 978-80-214-4425- 6.

ŠAFAŘÍKOVÁ, L. a L. OMELKA. Radical products generated by the oxidation of some N-alkylbenzylamines by different agents. *In Chemie je život 2012*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2012. s. 440-445. ISBN: 978-80-214-4644- 1.

ŠAFAŘÍKOVÁ, L. a L. OMELKA. EPR studium radikálových reakcí vybraných typů mono- a dialkyl substituovaných sekundárních aminů. *Chemické listy*. 2012. s. 530 s. ISSN: 0009- 2770.

OMELKA, L. a L. ŠAFAŘÍKOVÁ. Radical products generated by the oxidation of some selected types of secondary amines. *Chemické listy*. 2011. s. 887-888. ISSN: 0009- 2770.

OMELKA, L. a L. ŠAFAŘÍKOVÁ. Radical transformations of secondary amines by their oxidation with different agents. In 24. *International EPR Seminar*, Blansko. Book of abstracts. Brno: VUT v Brně, 2011. s. 53-54. ISBN: 978-80-214-4259- 7.

ŠAFAŘÍKOVÁ, L. a L. OMELKA. EPR study of N-centered radicals produced by the oxidation of some mono-, bi- and trifunctional secondary amines. *Chemické listy*. 2011. s. 905-906. ISSN: 0009- 2770.

10 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

Co(acac) ₂	kobaltacetylacetonát
3-CIPBK	3-chloroperoxybenzoová kyselina
DMPO	5-5-dimethyl-1-pyrrolin-N-oxid
DPPH	1-1-difenyl-2-pikrylhydrazyl
PBN	α-fenyl-N-tercbutylnitron
POBN	α-(4-pyridyl-1-oxid)-N-tercbutylnitron
NB	nitrosobenzen
NT	nitrosotoluen
ND	nitrosoduren; 2,3,5,6-tetramethylnitrosobenzen
PbO ₂	oxid olovičitý
Pb(OAc) ₄	octan olovičitý
ST	spin-trap
TBHP	tercbutylhydroperoxid
<i>g</i>	g-faktor, Landeho faktor
<i>a</i>	konstanta hyperjemné interakce
T	tesla

11 ŽIVOTOPIS

Jméno a příjmení: Ing. Lenka Šafaříková
Datum narození: 25. září 1985
Místo narození: Kyjov
Bydliště: Pravoslava Veselého 57, 695 01 Hodonín
Telefon: 724 932 822
E-mail: lenkasafarikova@centrum.cz

Dosažené vzdělání:

VŠ:

2010 – nyní Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická
Doktorský studijní program v oboru Fyzikální chemie

2008 – 2010 Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická
Navazujícího magisterský studijní program v oboru Spotřební chemie – získání titulu s červeným diplomem

2005 – 2008 Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická
Bakalářský studijní program v oboru Spotřební chemie

SŠ:

2001 – 2005 Střední průmyslová škola chemická v Brně
Obor Aplikovaná chemie, farmaceutické substance

Akademická stáž v zahraničí:

září–prosinec 2013 Vědecká stáž na TU Graz v Rakousku na Institutu fyzikální a teoretické chemie.

Spolupráce s výzkumnou skupinou prof. Georga Gescheidta v rámci rozšíření znalostí v oblasti rezonančních metod, konkrétně využití metod NMR spektroskopie, CIDNP, flash fotolýzy, time-resolved EPR pro studium reakcí resveratrolu a jeho chování v různých prostředích.

Praxe:

červen–říjen 2007 Lachema s.r.o., kontrola dokumentace, třídění, archivace dat

2004 čtyřtýdenní praxe ve VÚPS Brno

Obsluha přístrojů:

EPR MiniScope 300
Bruker ESP 300E modified for time-resolved studies (50 ns)
Bruker ESP 300 modified for time-resolved studies (100 μ s-ms)
Bruker Avance 200 MHz with wide-bore magnet equipped for CIDNP

CIDNP Probeheads for ^1H

Lamp discharge flash photolysis and laser flash photolysis

Další znalosti a dovednosti:

Jazykové: Anglický jazyk (aktivní, úroveň B2)
Německý jazyk (aktivní, úroveň A2)

PC: MS Office, Origin Lab, Adobe Photoshop, ChemSketch, MathType, Matlab, programy pro analýzu EPR spekter (Miniscope Control, Analysis, WinSim, WinEPR, SimFonia), programy pro analýzu NMR spekter (MestReNova)

Jiné: Řidičský průkaz skupiny B

Účast na konferencích:

2014 EUCHEM Conference on Organic Free Radicals, Praha

2013 XXV. International EPR Seminar, Častá – Papiernička, Slovenská republika

2012 Chemie je život, VUT v Brně, Fakulta chemická

Chemie a společnost, VUT v Brně, Fakulta chemická (soutěž DSP, 2. místo)

64. Sjezd českých a slovenských chemických společností, Olomouc

2011 Chemistry and Life, VUT v Brně, Fakulta chemická
XXIV. International EPR Seminar, Blansko

Odborná činnost:

2012 Pojednání k disertační práci na téma EPR studium radikálových reakcí probíhajících v kapalně fázi.

2010 Diplomová práce na téma Radikálové meziprodukty generované štěpením X-H vazeb v různých typech H-donorů.

2008 Bakalářská práce na téma Spin-trapping radikálových produktů přenosu vodíku z kyslíkatých donorů.

2005 Středoškolská odborná činnost prováděná ve VÚPS Brno – Stanovení vitamínu E ve sladu