



Izocianonaftalin alapú fényemittáló vegyületek előállítása és tulajdonságaik vizsgálata

Egyetemi doktori (PhD) értekezés

Dékány-Adamoczky Anita

Témavezető: Prof. Dr. Kéki Sándor

DEBRECENI EGYETEM

Természettudományi és Műszaki Tudományi Doktori Tanács

Kémiai Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2026

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Természettudományi és Műszaki Tudományi Doktori Tanács, Kémiai Tudományok Doktori Iskola K/4 programja keretében készítettem a Debreceni Egyetem természettudományi doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.

Nyilatkozom arról, hogy a tézisekben leírt eredmények nem képezik más PhD disszertáció részét.

Debrecen, 2026. május 14.

.....

a jelölt aláírása

Tanúsítom, hogy Dékány-Adamoczky Anita doktorjelölt 2019 - 2024 között a fent megnevezett Doktori Iskola K/4 programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Nyilatkozom továbbá arról, hogy a tézisekben leírt eredmények nem képezik más PhD disszertáció részét.

Az értekezés elfogadását javasolom.

Debrecen, 2026. május 14.

.....

a témavezető aláírása

Izocianonaftalin alapú fényemittáló vegyületek előállítása és tulajdonságaik vizsgálata

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
a kémia tudományágban

Írta: Dékány-Adamoczky Anita okleveles anyagmérnök

Készült: Kémiai Tudományok Doktori Iskola

(K/4 programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr.Kéki Sándor

Az értekezés bírálói:

Dr.

Dr.

A bírálóbizottság:

elnök: Dr.

tagok: Dr.

Dr.

Dr.

Dr.

Az értekezés védésének időpontja: 2026

Tartalomjegyzék

1.	Bevezetés	1
2.	Irodalmi áttekintés	4
2.1	A fluoreszcencia története.....	4
2.2	A fluoreszcencia alapjelenségei.....	5
2.2.1	A fluorofor, mint intelligens anyag.....	5
2.2.2	Szolvatokróm effektus	6
2.2.3	Push-pull rendszer.....	7
2.3	A fluoreszcenciát leíró jellemzők	9
2.3.1	Stokes-eltolódás	9
2.3.2	Jablonszki-diagram	10
2.3.3	Lambert- Beer törvény	12
2.3.4	A Weller módszer	13
2.3.5	A Lippert-Mataga egyenlet	14
2.3.6	A McRae módszer.....	15
2.3.7	A Kamlet - Taft egyenlet	16
2.3.8	A Bilot - Kowski egyenlet.....	17
2.3.9	A Reichardt-módszer	18
2.4	A Kvantumhasznosítási tényező	20
2.5	A Higany kimutatása.....	22
2.6	Az Izociano-naftol származékok.....	24
3.	Kísérleti rész	27
3.1	Felhasznált anyagok.....	27
3.2	Vizsgálati módszerek.....	27
3.2.1	Mágneses magrezonancia (NMR) spektroszkópia.....	27
3.2.2	UV-Vis spektrofotometria és spektrofluorimetria	27
3.2.3	Tömegspektrometriás mérések (MS/MS)	29
3.2.4	Időfüggő emissziós tulajdonság TRES	29
3.3	Szintézisek	30
3.3.1	1-amino-5-izocianonaftalin (ICAN) szintézise	30
3.3.1	1-amino-5-izocianonaftalin (1-5-ICAN) reakciója vízzel és Hg^{2+} - ionokkal	31
3.3.2	5-izocianonaftalin-1-ol (ICOL) előállítása.....	31
3.3.3	5-izociano-1-oktiloxi-naftalin előállítása	32
3.4	A kinetikai adatok értékeléséhez alkalmazott egyenletek.....	34

4.	Eredmények és kiértékelésük.....	37
4.1	Az 1-amino-5-izocianonaftalin (ICAN) előállítás.....	37
4.1.1	Reakciók víz/aprotikus oldószer elegyben.....	37
4.1.2	Reakciók víz/protikus oldószer elegyben	42
4.1.3	Az 1,5-DIN reakciója vízzel és HgCl ₂ -vel	50
4.1.4	Az ICOL és ICON szerkezete.....	52
4.1.5	UV-VIS és fluoreszcencia : Az izocianonaftalin-1-ol (ICOL) és az 5-izociano-1-(oktiloxi)naftalin (ICON) tulajdonságai	55
4.1.6	Az ICOL-származék savassága.....	67
4.1.7	Az ICON és ICOL származékok szolvatációja.....	71
4.1.8	Az ICOL és az ICON-származékok időfüggő emissziós tulajdonságai (TRES)	73
4.1.9	Az ICOL és az ICON fluoreszcens tulajdonságai nátrium- lauril-szulfát (SLS) jelenlétében.....	76
4.1.10	Az ICOL és az ICON fluoreszcens tulajdonságai Tween80 jelenlétében	79
4.1.11	Az ICOL és az ICON fluoreszcens tulajdonságai szarvasmarhaszérumban (BSA) jelenlétében.....	81
4.1.12	Fluoreszcencia kioltás piridinnel	83
5.	Összefoglalás	88
6.	Summary	91

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek Prof. Dr. Kéki Sándornak, a Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszék vezetőjének, hogy doktori tanulmányaimat az Alkalmazott Kémiai Tanszéken végezhettem. Emellett köszönöm segítségét, amit munkám és a dolgozat megírásakor nyújtott. Továbbá köszönöm, hogy bármikor bármilyen kérdéssel és kéréssel fordultam hozzá, mindig sok segítséget kaptam.

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Zsuga Miklósnak és feleségének, Dr. Zsuga Miklósné Mariának, akik végig figyelemmel kísérték munkámat és hasznos tanácsaikkal és tapasztalatukkal támogattak munkám során.

Köszönöm Dr. Nagy Tibornak, Dr. Nagy Lajosnak és Dr. Kuki Ákosnak segítségüket, amit a mérések kivitelezésében nyújtottak. Emellett a türelmüket, ami kérdéseim megválaszolásához volt szükséges.

Köszönöm Dr. Kalmár Józsefnek és Dr. Lihi Norbertnek segítségüket, amit a fotolízis mérések során nyújtottak.

Köszönetemet fejezem Pardi-Tóth Veronikának, Özséné Fábián Anettének, hogy a szintézisek során hasznos tanácsaikkal segítettek és kellemes légkört teremtettek munkám elvégzéséhez.

Szeretnék köszönetet mondani az Alkalmazott Kémiai Tanszék további dolgozóinak, hogy kéréseimmel bármikor fordulhattam hozzájuk.

Nem utolsó sorban hálával tartozom családomnak, férjemnek, és gyerekeimnek, hogy türelmükkel is hozzájárultak dolgozatom elkészítéséhez, valamint tanulmányaim során mellettem álltak és támogattak.

Köszönöm továbbá az alábbi pályázatok által nyújtott anyagi támogatást: OTKA K-101850 számú pályázat, valamint a TÁMOP-4.2.2.C-11/1/KONV-2012-0010 és a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0036 számú projekteknek, amelyek az Európai Unió támogatásával és az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósultak meg.

Rövidítések jegyzéke

ACN	Acetonitril
BSA	szarvasmarhaszérum-albumin
BRB	Britton-Robinson puffer
CHCl ₃	Kloroform
CMC	kritikus micella koncentráció
DAN	1,5-diamino-naftalin
DIN	1,5-diizocianonaftalin
DIOX	1,4-dioxán
DKM	Diklórmétán
DMAP	4-(Dimethylamino)piridin
DMF	N,N-dimetil-formamid
DMSO	Dimetil-szulfoxid
ESPT	Gerjesztett állapotú protontranszfer
EtAc	Etil-acetát
EtOH	Etil-alkohol
FLIM	Fluoreszcencia élettartam képalkotó mikroszkópia
ICAN	1-amino-5-izocianonaftalin
ICOL	5-izocianonaftalin-1-ol
ICON	5-izociano-1-(oktiloxi) naftalin
iPrOH	2-propanol
MeOH	Metil-alkohol
PBS	foszfáttal puffereelt sóoldat (pH = 7)
SLS	Nátrium-lauril-szulfát
THF	Tetrahidrofurán
TOL	Toluol
TRES	Időfelbontású emissziós spektrum

1. Bevezetés

Napjainkban gyakran alkalmazzák a használati tárgyakra, anyagokra azt a jelzőt, hogy „okos” vagy „intelligens”, de ez mennyire helytálló!? Az intelligens anyagok, vagy másnéven okos anyagok tulajdonképpen azokat az anyagokat jelentik, amelyek különböző ingerek hatására valamilyen tulajdonságukat kontrollált mértékben megváltoztatják.

Az intelligens anyagokat gyakran olyan anyagként határozták meg, amelyek reagálnak a környezetre, majd idővel a definíciójuk kibővült azzal, hogy a külső tényezők hatására ingerelhetők, így újfajta funkcionális tulajdonság jön létre¹. Az intelligens polimerek külső ingerekre reagálnak, melyek reverzibilis fizikai vagy kémiai változásokra képesek. Egy vagy több külső ingerre képesek reagálni, az inger lehet a hőmérséklet, kémiai inger (pl. pH), mágneses mező, fény vagy elektromos áram². Ezek az anyagok képesek alkalmazkodni a külső környezet változásához³, valamint a külső inger hatására megváltoztathatják viszkozitásukat, alakjukat és rugalmasságukat is⁴. Azokban az esetekben, amikor a környezeti hatás valamilyen fény (pl. UV, röntgen, radioaktív sugárzás) és az inger hatására a besugárzott anyag fényt bocsát ki fotolumineszcenciának nevezünk. Ebbe a csoportba tartozik a fluoreszcencia, ez esetben a besugárzott anyag addig világít, ameddig a külső energiaforrás meg nem szűnik.

A fluoreszcens vegyületek egyik fő felhasználási területe mai napig az orvosi diagnosztika. A fluoreszcens jelölés és az optikai képalkotás kombinációja jelenleg a leggyakrabban használt módszer a biológiai kutatásban. A módszer neve a fluoreszcencia élettartam képalkotó mikroszkópia (FLIM - *Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy*)⁵. A FLIM egy képalkotó technika, amely a mintából származó fluorofor bomlási

sebességének különbségén alapul. A FLIM pontosan és kvantitatív módon értékeli a célmolekulák mikrokörnyezete számos biofizikai paramétereinek változásait, ilyen például az oxigénnyomás, a polaritás, a pH, az ionkoncentráció és sok más biokémiai paraméter. A FLIM módszer alkalmas a rák korai felismeréséhez, a sejtekben és szövetekben keletkező spontán fluoreszcencia információt tud szolgáltatni a sejtek anyagcseréjéről, elváltozásairól⁶.

Kutatócsoportunk már régóta foglalkozik fluoreszcens anyagok előállításával, 2013-ban sikeresen szintetizáltak egy új típusú amino-izocianonaftalin (ICAN) alapú szolvatokróm családot. A szolvatokróm anyagok különböző polaritású oldószerekben különböző színnel világítanak, lehetővé téve a molekula mikrokörnyezetének feltérképezését⁷. Ez a tulajdonság gyógyászatban is alkalmazható, hiszem előzetes vizsgálatok alapján nem káros az élő szervezetekre, így potenciálisan használható rákterápiás módszerek esetén. A fluorofor molekula alkalmas a rákos sejtek kimutatására.

A gyógyászati alkalmazások mellett az ICAN vegyületcsalád alkalmas a Hg^{2+} szelektív kimutatására, emellett Ag^+ jelenlétét is képes jelezni. A higany az egyik legmérgezőbb fém, amely a vizekbe jutva súlyos mérgezést okoz. Emiatt különösen fontos a Hg^{2+} minél gyorsabb és egyszerűbb kimutatása⁸. Gondoljunk arra, hogy a 1956-ban Minamata-öböl környékén egy vegyi üzem metil-higanyos szennyvizet engedett az öbölbe, ezzel egy olyan katasztrófát idézett elő, mely több ezer ember életét tette tönkre⁹.

Célul tűztem ki, hogy az izocianonaftalin származékok egyik legfontosabb képviselőjét, az 1-amino-5-izocianonaftalin (ICAN), víz és HgCl_2 reakcióját megvizsgáljam fluoreszcencia spektroszkópia és tömegspektrometria

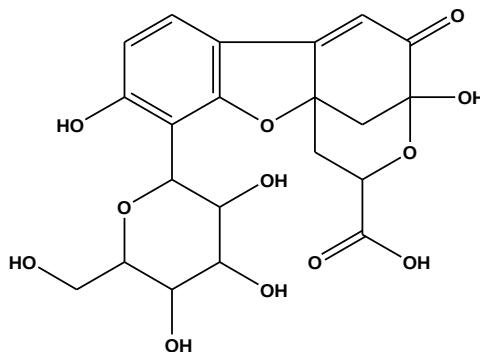
segítségével, hogy a Hg^{2+} -ionok pontos koncentrációját meghatározzuk. Ezzel a módszerrel lehetőségünk lenne gyorsan, pontosan és gazdaságosan kimutatni a higanyszennyezést a környezeti mintákból.

Célul tűztem ki továbbá egy új izocianonaftol előállítását. A korábbi eredmények alapján az ICAN funkciós csoportjainak kedvező helyzete miatt, a választásunk az 5-amino-1-naftolra esett. A hidroxilcsoport jelenléte újabb fluoreszcenciás tulajdonságok megjelenésére adhat lehetőséget. Az előállított 5-amino-1-naftol fluorofor tulajdonságait tömegspektrometriás, illetve fluoreszcenciás spektroszkópiai vizsgálatokkal térképezem fel.

2. Irodalmi áttekintés

2.1 A fluoreszcencia története

A fluoreszcencia jelenségét először a 16. században jegyezték fel. 1565-ben egy spanyol orvos és botanikus, Nicolas Monardes könyvében egy sajátos kék színről számolt be, de tudományos magyarázatot még nem tudtak rá adni. A texasi vesefából (*Lignum nephriticum*) csészéket készítettek. A csészében lévő víz különleges kék színt mutatott napfényben nézve. Ezt a vizet megitták, amely hatásosnak bizonyult vese- és húgyúti betegségek kezelésére. Monardes felfedezésével sikerült a hamisított fákat azonosítani, hiszen az eredeti hatóanyagot tartalmazó fa kék színűre festette a vizet, még a hamisítványok sárga színűre. A fában található egyik flavonoid oxidációs terméke a matlalin (1. ábra), ez a vegyület felelős a fluoreszcens tulajdonságokért^{10,11}.



1. ábra: A matlalin szerkezeti képlete

1819-ben Edward D. Clarke fluorit ásványokat vizsgált. Edward kísérletei során különböző szögből világította meg az ásványokat, melyek különleges viselkedést mutattak¹². Majd 1845-ben Sir Frederick Williem Herschel kininszulfát oldaton figyelte meg, hogy ha a napfény útjába helyezi az oldatot,

érdekes kék szín tapasztalható. Azonban tudományos magyarázatot ő sem talált, ahogy elődei sem¹³.

1852-ben George Gabriel Stokes újra vizsgálta a fluorit ásványokat és a kinin-szulfát oldattal kapcsolatos kísérleteket. A fény hullámhosszának változásáról szóló tanulmányában leírta a fluoreszcencia jelenségét, amelyet fluorpát és uránüveg mutat, amelyekről úgy vélte, hogy képesek a láthatatlan ultraibolya sugárzást hosszabb hullámhosszúságú látható sugárzássá alakítani. Későbbiekben, a fluoreszcencia egyik törvényszerűségét az ő tiszteletére nevezték el Stokes-eltolódásnak¹⁴. Amikor egy anyagi rendszer elnyel egy fotont, gerjesztett állapotba kerül. A Stokes-eltolódás akkor következik be, amikor a kibocsátott foton energiája alacsonyabb, mint az elnyelt fotoné.

2.2 A fluoreszcencia alapjelenségei

Lumineszcenciának nevezzük azt a jelenséget, amikor a molekula gerjesztett szingulett állapotból, szingulett alap állapotba történő visszatérése során fényt bocsájt ki. A lumineszcenciát két csoportba lehet sorolni: fluoreszcencia és foszforeszcencia. Az alapállapotba való visszatérés igen gyors, a gerjesztést követően a molekula néhány ns idő alatt fotont bocsát ki, és visszatér az alapállapotba. Fluoreszcencia esetében ez az idő 10^{-9} - 10^{-7} másodperc, még a foszforeszcencia esetében lassabb, 10^{-6} másodperc. A fényemisszióra képes molekulát fluoroformnak nevezzük, ezek a molekulák leggyakrabban aromás vegyületek.

2.2.1 A fluoroform, mint intelligens anyag

A fluoroform vegyületek alapul szolgálhatnak az információkat tároló rendszerek elkészítésének. Ennek egyik oka, hogy fluoreszcenciájuk csak

bizonyos körülmények között figyelhető meg^{15,16}. Emellett a fluoreszcens vegyületek tulajdonságai módosíthatók a külső környezet, például hőmérséklet, pH vagy kémiai környezet szabályozásával. A fluoreszkáló anyagok szerves fluoreszcens anyagokra és szerves fluoreszcens anyagokra oszthatók¹⁷. Számos ritkaföldfém komplexei szűk emissziós sávot mutatnak, és rendkívül fényesek, általában meglehetősen stabilak is. Nem meglepő tehát, hogy a fluoreszkáló anyagok egyre nagyobb figyelmet kapnak, és az alkalmazási területek köre folyamatosan bővül. A fluoreszcens anyagokat a színezékként való felhasználás mellett számos területen széles körben alkalmazzák, például optikai fehérítők, fotooxidánsok, bevonatok, kémiai és biokémiai elemzésekhez, hamisítás elleni címkékben, gyógyszernyomjelzőkben és lézerekben. Az elmúlt években a kutatók feldolgozható fluoreszcens anyagokat, köztük fluoreszcens nanoszálakat, fluoreszcens polimereket és fluoreszcens géleket használtak fel 1-1 sor információ tároló kód elkészítésére, amelyek alakjuknak vagy színüknek megfelelően specifikus információkat tárolnak. Ezeknek a fluoreszcens információ tároló kódoknak a színei csak ultraibolya fényben jelennek meg, így lehetővé válik a tárolt információ védelme¹⁸.

2.2.2 Szolvatokróm effektus

Az oldószer polaritása és a fluoroforok közvetlen környezetének egyéb jellemzői hatással lehetnek a fluoroforok abszorpció, és emissziós spektrális jellemzőire. A szolvatokróm molekulák emissziós/abszorpció spektrumára hatással van a körülötte lévő közeg.

A szolvatokróm effektus egy adott oldott anyag (kromofór molekula) emissziós spektrumának oldósszerfüggő eltolódását jelenti. Ez az eltolódás az oldószer és az oldott anyag közötti intermolekuláris kölcsönhatások

változásából ered, különösen az elektrosztatikus, dipólus-dipólus, hidrogénkötés és diszperziós kölcsönhatások szerepéből.

A spektrális eltolódás egy molekula spektrumának eltolódását jelenti, vagyis a hullámhossz és a frekvencia megváltozik. Ez a változás bekövetkezhet a megvilágítási körülmények, a molekula szerkezete vagy más tényezők hatására. Az oldószer molekulái kölcsönhatásba léphetnek a vizsgált molekulával, így megváltoztathatják az alap és/vagy gerjesztett elektronállapotok energiáit.

A szolvatokróm effektusnak két fő típusa van:

- Batokróm eltolódás (red shift, vörös irányú eltolódás):

A spektrum a nagyobb, hosszabb hullámhosszúságú tartomány felé tolódik el (kisebb energia). Általában akkor figyelhető meg, ha a gerjesztett állapot (S_1) erőbben stabilizálódik az oldószer hatására, mint az alapállapot (S_0).

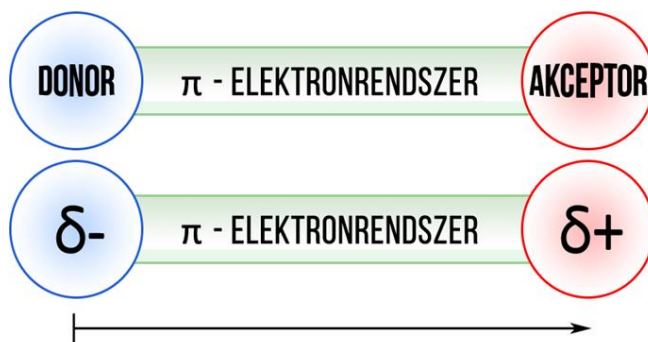
- Hipszokróm eltolódás (blue shift, kék irányú eltolódás):

A spektrum a rövidebb hullámhosszúságú tartomány felé tolódik el (nagyobb energia). Ez akkor figyelhető meg, ha az oldószer inkább az alapállapotot (S_0) stabilizálja, mint a gerjesztett állapotot (S_1).

2.2.3 *Push-pull rendszer*

A push-pull rendszer olyan konjugált szerves molekula, amelyben egy elektrondonor csoport (push) és egy elektronakceptor csoport (pull) kapcsolódik egy π -konjugált rendszeren keresztül. Ez az elektroneloszlás aszimmetriát eredményez a molekulában. A donor csoport elektronban gazdag (pl: -OH, -NH₂ stb.), így elektront „tol” a π -rendszerbe, ezzel szemben az akceptor csoport elektron hiányos (pl: -NO₂, -CN stb.), így elektront „húz” ki a π -rendszerből.

A donor és akceptor között létrejövő intramolekuláris töltéseltolódás miatt a molekula elektronfelhője eltolódik, különösen gerjesztett állapotban.



2. ábra: Push-pull molekula sematikus elektronszerkezete

A nagy dipólusmomentummal rendelkező fluoroforokon általában egyszerre található egy elektrondonor és egy elektronakceptor csoport (2. ábra). Ezek általában a lehető legmesszebb helyezkednek el egymástól. Gerjesztett állapotban a donor felől az akceptor irányába töltésvándorlás megy végbe, ami nagy dipólusmomentum megjelenésével jár együtt, és elősegíti a poláros oldószer molekulákkal történő kölcsönhatást, a gerjesztett állapot energiájának csökkentése érdekében.

2.3 A fluoreszcenciát leíró jellemzők

A fluoreszcenciát, illetve az egyes fluoroforok spektroszkópiai tulajdonságait számos, egymással összefüggő paraméterrel jellemezhetjük.

2.3.1 Stokes-eltolódás

Amikor egy molekulát magasabb elektronállapotba gerjesztünk, a dipólusmomentuma és a molekula polarizálhatósága jelentősen megváltozhat az alapállapothoz képest. A gerjesztett molekula tulajdonságaiban bekövetkező változások abszorpciós és emissziós spektrumok eltolódásában nyilvánulnak meg. Az eltolódások mértéke erősen függ a gerjesztett molekulától, valamint az oldószertől és a hőmérséklettől ¹⁹.

$$\Delta\bar{\nu} = \bar{\nu}_a - \bar{\nu}_e \quad (1)$$

Az eltolódás az (1) egyenlettel írható le, ahol a $\Delta\bar{\nu}$ a Stokes-eltolódás, értéke a $\bar{\nu}_a$ az abszorpciós, a $\bar{\nu}_e$ emissziós spektrum maximumok hullámszámának különbségéből adódik. Jellemzően az eltolódás mértékét hullámhosszban adjuk (λ) meg. Átszámítása (2):

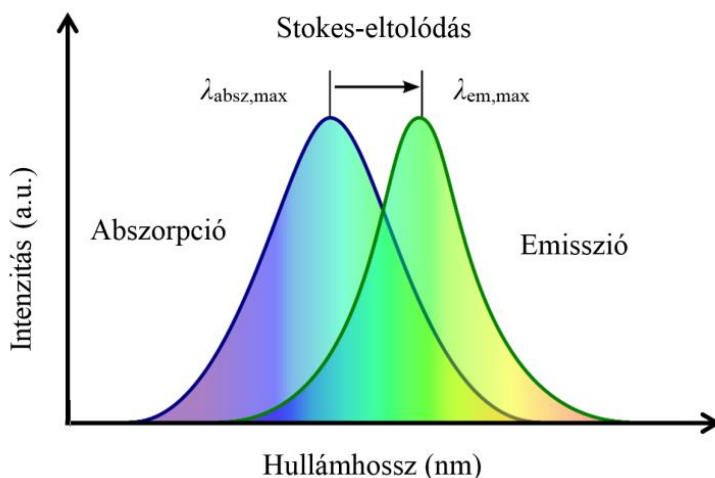
$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} \quad (2)$$

A foton energiájának számítására a (3) egyenletet alkalmazzuk:

$$\Delta E = \frac{hc}{\lambda} \quad (3)$$

ahol a ΔE a foton energiája (J), a h Planck-állandó ($\approx 6,626 \cdot 10^{-34}$ Js), a c a fénysebesség ($\approx 3,00 \cdot 10^8$ m/s) és a λ a hullámhossz (m).

A 3. ábrán a Stokes-eltolódás általános esete látható. Az abszorpciós és emissziós spektrumokat ábrázolja a hullámhossz és az intenzitás függvényében, a két spektrum maximumának az eltolódását adja meg.



3. ábra: A gerjesztési és emissziós hullámhosszak különbsége a Stokes-eltolódás

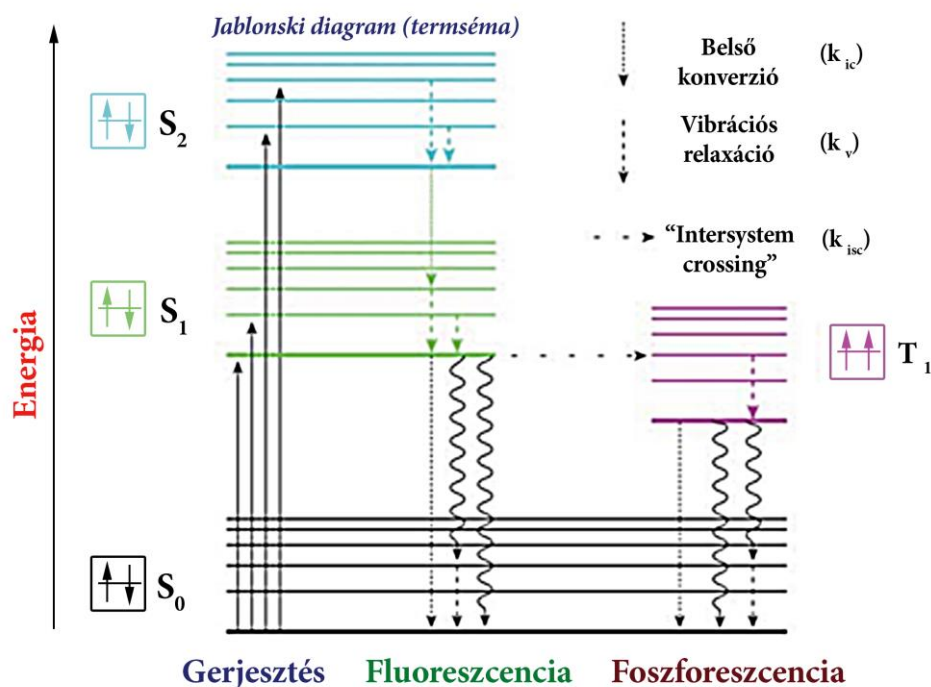
A Stokes eltolódás mértéke függ az oldószer tulajdonságaitól, mert a gerjesztést követően az oldószer dipólusai átrendeződnek, ezáltal csökkentik a gerjesztett állapot energiáját, így növelve a Stokes-eltolódást.

2.3.2 Jablonszki-diagram

Az energia átmenetek és emissziók szemléltetésére leggyakrabban a Jablonszki diagramot használják (4. ábra). Nevét Aleksander Jabłoński, lengyel fizikusról kapta.

A Jablonszki diagram (4. ábra) egy energia diagram, ábrázolja az energia átmeneteket. Az *S* szingulett, a *T* a triplett állapot jelenti. Szingulett állapot esetén ellentétes spinű párosított elektronok vannak, még a triplett állapot esetében a molekulában azonos spinállapotú elektronok vannak jelen. *S*₀ az

alapállapotot, S_1 és S_2 a gerjesztett állapotokat jelöli. Az energiaszintek további rezgési energiaszintekre oszthatóak, ezeket 0,1,2 stb. sorszámmal ábrázolja. Abszorpció során a magasabb (S_2) gerjesztett állapotba kerülnek a molekulák, de ezek rendszerint gyorsan (10^{-12} másodperc alatt) relaxálódnak az S_1 állapotba, ezt a folyamatot belső konverzióknak nevezzük, amely egy sugárzásmentes energia átmenetet jelent. Korábban már említettem, hogy a fluoreszcencia nagyságrendileg 10^{-9} - 10^{-7} másodperc alatt játszódik le és a Kasha-szabály szerint az emisszió mindig az első legalacsonyabb vibrációs energiaszintről (S_1) megy végbe²⁰. Fontos még egy szabályt megemlíteni, a tükrökép szabályt. Mivel a gerjesztés az alapmolekula szerkezetét számottevően nem befolyásolja, ezért az abszorpciós és emissziós spektrumok egymás tükröképei²¹.



4. ábra: Jablonski - diagram²²

A gerjesztés során egyes molekulák T_1 , triplett állapotba kerülnek, ilyenkor spinkonverzió történik. A triplett állapotból az alapállapotba való visszatérés szimmetria tiltott, emiatt az emisszió sebessége nagyságrendekkel kisebb, mint a szingulett esetében. Ezt a folyamatot nevezzük foszforeszcianak.

2.3.3 Lambert- Beer törvény

Ha egy molekula fényt nyel el, akkor az elnyelt energia vagy a kémiai kötésben lévő elektronokat gerjeszti (emeli magasabb energiaszintre), vagy a kémiai kötés rezgési energiáját és a molekula vagy molekularészek rotációs energiáját növeli. Ha egy anyag fényelnyelését a hullámhossz függvényében meghatározzuk, akkor abszorpciós spektrumot vagy színeképet kapunk. A sugárzás és az anyag kölcsönhatása az anyag molekulaszervezetétől és a sugárzás hullámhosszától függ. A leggyakrabban alkalmazott módszer, hogy a vizsgálandó mintán folyamatosan változó hullámhosszágú fénysugarakat bocsátanak keresztül, és a fény intenzitásának csökkenését a minta előtti intenzitáshoz képest mérik. Ez a módszer abszorpciós spektrumot eredményez, amely a hullámhossz függvényében a fényabszorpció mértékét regisztrálja. A fényabszorpció mértékét írja le a Lambert-Beer törvény. (4)

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon c l \quad (4)$$

ahol, az A a sugárzást elnyelő anyag abszorbanciája egyenesen arányos c anyag koncentrációjával, és l a rétegvastagsággal. A I_0 a beeső, az I pedig az áteresztett sugárzás intenzitását jelenti. ε az anyagi minőségre jellemző állandó és moláris abszorpciós együtthatónak nevezzük. Azt az abszorbanciát jelenti, amelyet az anyag 1 mol/dm^3 koncentrációjú oldatának 1 cm -es rétegvastagsága okoz²³.

2.3.4 A Weller módszer

Weller kutatásai során a folyadék fázisban elektronikusan gerjesztett molekulák tulajdonságainak alapvető vizsgálatát végezte (kinetika, spektroszkópia, termodinamika). Megfigyelte az elektronikusan gerjesztett állapotok kölcsönhatását az oldószerrel, a spektrális eltolódáson és a fluoreszcencia kioltásán keresztül. Vizsgálta az intra- és intermolekuláris proton-transzfer gerjesztett állapotú sav-bázis reakciókban, az elektrontranszfer gerjesztett donor és akceptor molekulákban, valamint a gerjesztett molekulák komplex képződését²⁴⁻²⁶.

A hullámszámok értékeit a maximum emissziónál (ν_f) az oldószer polaritás függvényének ábrázoljuk:

$$\nu_f = m_W \Delta f_W(\epsilon, n) + \text{konst.} \quad (5)$$

ahol m_W az egyenes meredeksége, és Δf_W az oldószer polaritásfüggvénye, beleértve az oldószer törésmutatóját (n) és permittivitását (ϵ).

$$\Delta f_W(\epsilon, n) = \frac{\epsilon - 1}{2\epsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{4n^2 + 2} \quad (6)$$

A (6) egyenlet első tagja az oldószer orientációs (dipólusos) polarizációját írja le, a második tag az oldószer elektronikus polarizálhatóságával kapcsolatos. A kettő különbsége azt mutatja meg, hogy az oldószer mennyire képes stabilizálni egy gerjesztett állapotot a tisztán elektronikus hozzájáruláson túl. A molekula szolvatokróm tulajdonságait vizsgálja, az emissziós maximum, a Stokes-eltolódás vagy a fluoreszcencia-intenzitás változását korrelálja az oldószer polaritásával. Megmutatja, hogy a gerjesztett állapot mennyire poláris az alapállapothoz képest.

Ezekből az egyenletekből a gerjesztett állapotú dipólmomentum (μ_E) meghatározható:

$$\mu_E = (2\pi\epsilon_0 m_W h c a^3)^{1/3} \quad (7)$$

ahol ϵ_0 a vákuum permittivitása ($8,85 \cdot 10^{-12}$ F/m), h a Planck-állandó ($6,62 \cdot 10^{-34}$ J/s), c a fény sebessége vákuumban ($3 \cdot 10^8$ m/s), a pedig az Onsager-sugár, amelyet 0,4 nm-nek vettünk a számítások során.

2.3.5 A Lippert-Mataga egyenlet

Noboru Mataga a molekulaszervezet és a spektroszkópia területén vezető szerepet töltött be. 1955-ben az első kvantitatív elméleti képletet javasolta a fluoreszcens szolvatokróm tulajdonságú anyagok dipólusmomentum változásának jellemzésére, amelyet kísérletileg is igazolt Lippert önállóan, ugyanabban az időben. Azóta az úgynevezett Lippert-Mataga egyenlet központi és alapvető összefüggés a gerjesztett poláris oldott anyagok és a töltés-transzfer (CT) komplexek szolvatációs és dipólusmomentumainak tanulmányozásában²⁷⁻³⁰.

Az abszorpció (ν_a) és a emisszió (ν_f) maximum mért hullámszámok közötti különbségeket az oldószer polaritásfüggvényének függvényében írjuk le.

$$\nu_a - \nu_f = m_{LM} \Delta f_{LM}(\epsilon, n) + \text{konst} \quad (8)$$

ahol m_{LM} és Δf_{LM} az oldószer polaritási függvénye, beleértve az oldószer törésmutatóját (n) és permittivitását (ϵ).

$$\Delta f_{LM}(\epsilon, n) = \frac{\epsilon - 1}{2\epsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \quad (9)$$

Az (8) egyenlet meredekségéből a gerjesztett és az alapállapot dipólusmomentumának a különbsége ($\Delta\mu$) határozható meg.

$$\mu_E - \mu_G = \Delta\mu = \sqrt{2\pi\epsilon_0 m_{LM} \hbar c a^3} \quad (10)$$

ahol az μ_E a gerjesztett állapot dipólusmomentuma, μ_G az alapállapot dipólusmomentuma, a pedig az Onsager-sugár, amelyet 0,4 nm- nek vettem.

A modell szerint a fluorofor egy homogén, adott dipólusmomentummal rendelkező térben lévő dipól, amely semmiféle kölcsönhatásba nem léphet a környezetével. A fluorofor alap és gerjesztett állapot közötti energia változását az oldószer és a fluorofor közötti kölcsönhatás okozza.

2.3.6 A McRae módszer

McRae kutatásai során különböző oldószerek hatását vizsgálta poláris-apoláris anyagokra, és összehasonlította az emissziós - gerjesztési maximumok értékeit és az eltolódás mértékét³¹. Lippert és Mataga eredményeihez hasonló következtetésekre jutott.

A maximális abszorpciónál (ν_a) és emissziónál (ν_f) mért hullámszámok közötti különbségeket az oldószer polaritásfüggvényének függvényében ábrázoljuk a következő egyenlet szerint:

$$\nu_a - \nu_f = m_{MR} \Delta f_{MR}(\epsilon, n) + \text{konst} \quad (11)$$

ahol m_{MR} az egyenes meredeksége, és a Δf_{MR} az oldószer polaritásfüggvénye, beleértve az oldószer törésmutatóját (n) és permittivitását (ϵ).

$$\Delta f_{MR}(\epsilon, n) = \frac{\epsilon - 1}{\epsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{n^2 + 1} \quad (12)$$

A (11) meredekségéből és a gerjesztett állapot dipólusmomentumának és az alapállapotnak ($\Delta\mu$) a különbsége a következő módon határozható meg:

$$\mu_E - \mu_G = \Delta\mu = \sqrt{2\pi\epsilon_0 m_{MR} h c a^3} \quad (13)$$

Mindhárom módszer (Lippert - Mataga, Weller, McRea) az oldószerhatását vizsgálja a fluoreszcencia spektrum eltolódására. A Lippert - Mataga egyenlet a dielektromos állandóval (ϵ) és a refraktív (n) indexével köti össze a spektrális eltolódást. Ezt az egyenletet használják a leggyakrabban kis molekulák esetében. A McRea - módszer finomítja a Lippert - Mataga egyenletet, a módszer már figyelembe veszi a lokális tér hatását és a molekula polarizálhatóságát is. Kvantumkémiailag szempontból pontosabb eredményt kapunk, mint az előző módszer esetén. A McRea módszert nagy polarizálhatóságú, konjugált molekulák esetén használják gyakrabban. A Weller - egyenlet lényege a töltésátmenet (CT) típusú gerjesztett állapotoknál alkalmazzák. Itt a fluoreszcencia energiája az oldószer polaritásával lineárisan változik. Abban az esetben mikor nem lineárisan változik, érdemes a McRea - módszert alkalmazni. A CT típusú (charge - transfer) esetén, ahol nagy a dipólusmomentum változás, a McRea - módszer segít megérteni a donor - akceptor fluoroforok viselkedését.

2.3.7 A Kamlet - Taft egyenlet

A Kamlet - Taft elmélet az abszorpciós vagy emissziós maximumok, illetve a Stokes-eltolódás értékének multilineáris regressziós analízis általi meghatározásán alapul.

$$Y = Y_o + \alpha a_\alpha + \beta b_\beta + \pi^* c_{\pi^*} \quad (14)$$

ahol Y a megfigyelt kibocsátási maximumot (νF) vagy a Stokes-eltolódást ($\Delta\nu$) jelöli, Y_o a kibocsátási maximum (ν_o) vagy a Stokes-eltolódás ($\Delta\nu_o$) a gázfázisban; α , β és π^* jelentése az oldószerek savassága, bázikussága és polaritása/polarizálhatósága. Az a , b és c együtthatók tulajdonképpen azt adják

meg, hogy a vizsgált jellemző egy adott oldószerben milyen mértékben függ az oldószer tulajdonságait leíró α , β és π^* paraméterektől. Az együttthatók mindig a fluorofoor tulajdonságaitól függenek, általában az a és b együtttható lényegesen kisebb a c -nél. Ez azért lehetséges, mert az oldószer hidrogénkötés donáló és akceptáló képessége kisebb befolyással bír a fluoreszcencia jellemzőire, mint az oldószer és a fluorofoor molekulák között kialakuló dipol-dipol kölcsönhatások. A (14) egyenlettel általában igen jó közelítést kapunk, a módszer egyetlen hátránya, hogy a polarizálhatóságot csak egyetlen egy paraméter írja le^{32,33}.

2.3.8 A Bilot - Kowski egyenlet

A Bilot–Kowski módszer esetén az alap- és gerjesztett állapot dipólusmomentuma külön-külön is becsülhető, így részletesebb képet ad a gerjesztés során bekövetkező töltésátrendeződésről.

Az egyenlet alapján a maximális abszorpciós (ν_a) és emissziós (ν_f) hullámszámokból meghatározott mennyiségeket a Δf_{BK_1} és Δf_{BK_2} polaritási függvényekkel korreláltam az alábbi összefüggések szerint:

$$\nu_a - \nu_f = m_{BK_1} \Delta f_{BK_1}(\epsilon, n) + \text{konst} \quad (15)$$

$$\nu_a - \nu_f = m_{BK_2} \Delta f_{BK_2}(\epsilon, n) + \text{konst} \quad (16)$$

ahol m_{BK_1} és m_{BK_2} az egyenes meredségei, illetve Δf_{BK_1} és Δf_{BK_2} az oldószer polaritási függvényei, beleértve az oldószer törésmutatóját (n) és permittivitását (ϵ).

$$\Delta f_{BK_1}(\epsilon, n) = \frac{2n^2 + 1}{n^2 + 2} \left(\frac{\epsilon - 1}{\epsilon + 2} - \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right) \quad (17)$$

$$\Delta f_{BK_2}(\varepsilon, n) = \frac{2n^2 + 1}{2n^2 + 4} \left(\frac{\varepsilon - 1}{\varepsilon + 2} - \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right) + 1.5 \left[\frac{n^2 - 1}{(n^2 + 2)^2} \right] \quad (18)$$

ezek alapján már meghatározhatók a dipólusmomentumok:

$$\mu_E = \frac{m_{BK_1} - m_{BK_2}}{2} \sqrt{\frac{2\pi\varepsilon_0 hca^3}{m_{BK_1}}} \quad (19)$$

$$\mu_G = \frac{m_{BK_1} + m_{BK_2}}{2} \sqrt{\frac{2\pi\varepsilon_0 hca^3}{m_{BK_1}}} \quad (20)$$

A Lippert - Mataga és Reichardt modellek elsősorban a dipólusmomentum - változás meghatározására alkalmasak. A Bilot - Kowski módszer előnye, hogy az alap- és gerjesztett állapot dipólusmomentuma külön-külön is becsülhető, így részletesebb képet ad a gerjesztés során bekövetkező töltésátrendeződésről.

2.3.9 A Reichardt - módszer

A Reichardt-féle szolvatokróm modell lehetővé teszi a molekula alap- és gerjesztett állapotának dipólusmomentum – különbségének ($\Delta\mu$) meghatározását. A lineáris korreláció meredekségéből számítható $\Delta\mu$ érték a gerjesztés során végbemenő töltésátrendeződés mértékét jellemzi. A nagyobb $\Delta\mu$ érték jelentősebb elektronsűrűség-átrendeződésre és erősebb gerjesztett állapotbeli polaritásra utal, ami általában fokozott szolvatokróm viselkedéssel jár együtt. A maximális abszorpciónál (ν_a) és a maximális emissziónál (ν_f) mért hullámszámok közötti különbségeket az empirikus polaritásértékek (E_T^N) függvényében ábrázoljuk.

$$v_a - v_f = 11307.6 \left(\frac{\Delta\mu^2 a_B^3}{\Delta\mu_B^2 a^3} \right) E_T^N + \text{konst} \quad (21)$$

ahol $\Delta\mu_B$ és a_B a referenciaként alkalmazott betain molekula dipólusmomentum változása (9 D), illetve az a Onsager-sugarat jelöli (0,62 nm).

Észrevehető, hogy az előzőekben ismertetett matematikai modellek szoros kapcsolatban állnak egymással, mivel mindegyik az oldószer polaritásának hatását használja fel a molekula elektronikus szerkezetének jellemzésére. Míg a Lippert - Mataga- és a Stokes - eltolódás és az oldószer polaritása közötti összefüggést írja le, addig a Reichardt-féle megközelítés lehetőséget biztosít a gerjesztés során bekövetkező dipólusmomentum-változás meghatározására is.

$$\mu_E - \mu_G = \Delta\mu = \sqrt{\frac{81 * m_{E_T^N}}{11307.6 \left(\frac{a_B}{a} \right)^3}} \quad (22)$$

A gerjesztett állapot dipólusmomentumának meghatározása jelentősen összetettebb feladat, mint az alapállapoté, mivel az elektroneloszlás a gerjesztés hatására átrendeződik, és az oldószerrel kialakuló kölcsönhatások is befolyásolják a rendszer energiáját. A szolvatokróm modellek ezért csak közelítő leírást adnak, azonban megfelelő oldószersor alkalmazásával értékes információ szolgáltatható a molekula gerjesztett állapotának polaritásáról és a gerjesztés során végbemenő töltésátrendeződés mértékéről. A lineáris illesztésekből meghatározott $\Delta\mu$ értékek segítségével összehasonlíthatóvá válnak a különböző vegyületek gerjesztett állapotbeli tulajdonságai, valamint következtetések vonhatók le a fluoreszcens viselkedésük és szolvatokróm karakterük között fennálló kapcsolatra.

2.4 A Kvantumhasznosítási tényező

A fluoreszcencia kvantumhozam (Φ) vagy más néven kvantumhasznosítási tényező a legfontosabb fotofizikai mennyiség, amely alkalmas közvetlen kísérleti meghatározására. A fluorofor azon képességét jellemzi, hogy az elnyelt fotonokat részben kibocsátott fotonokká alakítja át különböző környezeti feltételek mellett, azaz a kibocsátott és az elnyelt fotonok számának hányadosa. Ennek ismerete fontos a fluorometriás módszerek megértéséhez. A kvantumhozam egy molekulával vagy anyaggal kapcsolatos paraméter. A kvantumhasznosítási tényező meghatározása elvégezhető abszolút mérésekkel vagy ismert fluoreszcens standard anyaghoz viszonyítva optikai vagy kalorimetriás módszerekkel ^{34,35}.

A kvantumhasznosítási tényező megmutatja, hogy a gerjesztés során elnyelt fotonok mekkora hányada eredményez fluoreszcens emissziót, azaz:

$$\Phi = \frac{\text{emittált fotonok száma}}{\text{elnyelt fotonok száma}} \quad (23)$$

A gerjesztett állapot fotonemisszióval kísért lecsengésének sebességi állandóját Γ -val, a sugárzásmentesekét k_{nr} -el jelölve a kvantumhasznosítási tényezőt a következő egyenlettel adhatjuk meg:

$$\Phi = \frac{\Gamma}{\Gamma + \Sigma k_{nr}} \quad (24)$$

A kvantumhasznosítási tényező (Φ) értéke $0 \leq \Phi \leq 1$ között van, ha 1-hez közelít, akkor nagyobb az emisszióval történő lecsengés aránya, mint a sugárzásmenteseké ($\Gamma \gg k_{nr}$), de a Stokes-féle energiaveszteség miatt soha nem érheti el az 1 értéket. Minél nagyobb egy fluorofor kvantumhasznosítási

tényező (Φ) értéke, annál intenzívebbnek látszik az emittált fénye. Ha $\Phi = 0$, akkor egyáltalán nincs emisszió.

A kvantumhasznosítási tényező kísérleti úton történő meghatározására két-féle módszer lehetséges, az abszolút és a relatív. Az első módszerrel a valóban kibocsátott és elnyelt fotonok aránya határozható meg. Ennek egyik hátránya, hogy drága készüléket igényel, illetve mérése bonyolult és hosszadalmas. Az abszolút módszer során ismerni kell egy referencia anyag pontos értékét (pl. kinin-szulfát)^{36,37}.

A másik módszer (relatív) ismert, kvantumhozammal rendelkező festékekanyagok használatán alapuló módszer. Ezen belül alapvetően két eljárást lehet megkülönböztetni, az egy pontosat és az összehasonlító. Az egy pontos módszer egyszerűbb, de emiatt nagyobb hibával is kell számolni. Lényege, hogy az ismert kvantumhasznosítási tényezővel rendelkező referencia anyagot és az ismeretlen anyagot ugyanazon körülmények között kell lemérni. Tehát, ugyanaz a koncentráció és mérési körülmények. A kapott abszorbancia értékek és emissziós spektrumok integráljának (a görbe alatti terület) ismeretében ki lehet számolni az ismeretlen kvantumhasznosítási tényezőjét.

$$\Phi_F = \Phi_R \frac{I}{I_R} \times \frac{OD_R}{OD} \times \frac{n^2}{n_R^2} \quad (25)$$

ahol a Φ kvantumhasznosítási tényező, az I az emissziós spektrumok integrálja, OD az oldatok optikai sűrűsége, n oldatok törésmutatója. Az R index a referencia, az F index a fluorofor vegyület paramétereit jelöli.

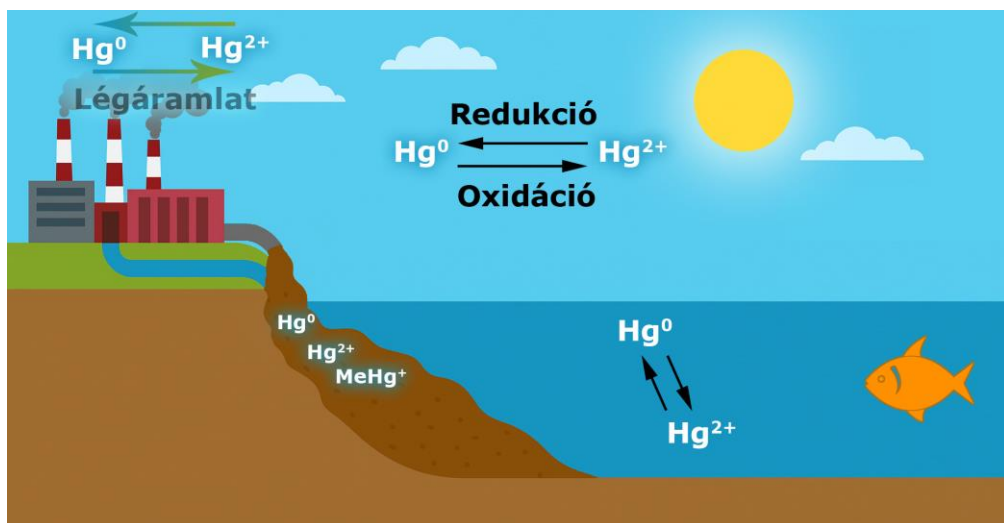
Az összehasonlító módszer esetén a vizsgált oldatokból 4-5 hígítást kell készíteni, mindegyik oldat abszorpciós és emissziós spektrumát fel kell venni azonos körülmények között. Majd a kapott adatokat ábrázolni kell az emissziós

spektrumok integrálját a hozzájuk tartozó abszorbanciák függvényében. Ennek egy origóból induló egyenesnek kell lennie, majd ennek az egyenesnek a meredekségét kell beírni az *I* helyére. Emiatt az oldatok optikai sűrűség adataira nincs szükség ²¹.

2.5 A Higany kimutatása

A higany elemi állapotban folyékony fémként fordul elő, ugyanakkor számos szervetlen és szerves vegyületet is képezhet. A higanyvegyületek közül különösen veszélyesek a szerves formák, például a metilhigany, amelyek nagy biológiai hozzáférhetőséggel rendelkeznek, és képesek felhalmozódni az élő szervezetekben. A környezetben előforduló szervetlen higanyvegyületek közül a Hg(II)-ion kiemelt jelentőségű, mivel a Hg(II) erős affinitást mutat a fehérjék és enzimek kén tartalmú funkciós csoportjai iránt, ezáltal számos biológiai folyamat működését gátolhatja.

A higany természetes és antropogén folyamatok következtében kerül a hidroszférába, a légkörbe és a bioszférába. Körforgásban van a környezetben, és kémiai formái átalakulásokon mennek keresztül. A higany az egyik legmérgezőbb nehézfém, amely környezetünkben megtalálható³⁸. A higanyformák bármelyikével szennyezett víz, komoly veszélyt jelent az emberi illetve az állati életre, ezért a higany koncentrációjának meghatározása kiemelten fontos ^{39,40}. A higany körforgása a környezetbe kerülve az 5. ábrán látható.



5. ábra: A higany (Hg) biokémiai körforgása vízi környezetben

A víz Hg(II) szintjének szelektív és érzékeny monitorozására eddig számos módszert fejlesztettek ki, a titrimetriától ⁴¹ a fluorimetrián ⁴² át az elektrokémiai ⁴³ mérésekig. További műszeres kimutatási módszer még az előzőken kívül az induktív csatolású plazma tömegspektrometriával kapcsolva (ICP-MS)⁴⁴. Ezek közül a szelektivitás és az érzékenység szempontjából a fluorimetria bizonyult a legköltséghatékonyabb és leggyorsabb módszernek. Különböző fluorimetrikus szondákat terveztek és alkalmaztak már a vízben jelenlévő Hg(II) meghatározására, például olyanokat, amelyek fluoreszcencia kioltásokon (turn-off) ⁴⁵, jelintenzitás-növekedésen (turn-on) ⁴⁶ és a fluoreszcencia emisszió/kibocsátás két különböző hullámhosszon mért intenzitás arányán alapulnak ^{47–49}. Az utóbbi, radiometriás módszert részesítik előnyben, mivel ez egyszerűen biztosítja a kalibrációt és az eredményeket nem befolyásolja a detektálási érzékenység változása, valamint a szonda (fluoreszcens jelzőmolekula) koncentrációja. A Hg(II) ionokat tartalmazó szennyeződések kimutatására alkalmazzák a ratiometrikus fluoroforok egyik fő csoportját, amely molekulák képesek reverzibilisen és szelektíven megkötni a

Hg(II)-ionokat ^{50,51}. Így a szondák az érzékenysége nagymértékben függ a Hg(II)-ion és a fluorofor molekula kötési állandójától. A Hg(II) meghatározására szolgáló másik gyorsan fejlődő fluorofor család a Hg(II)-ionok és a fluorofor egy meghatározott csoportja közötti redoxi reakción alapul ⁵². Korábban kimutatták, hogy az 1,5-izociano-amino-naftalin (1,5-ICAN) víz jelenlétében szelektíven reagál a Hg(II)-ionokkal, az izocianocsoport Hg(II)-ionok jelenlétében aminocsoporttá alakul át. A vizsgálat során 23 különböző fémiont adtak az ICAN vizes oldatához. A Hg(II)-ion esetében 102 nm - es hipszokróm eltolódást figyeltek meg (a gerjesztés 337 nm történt). A többi fémion esetében nem találtak jelentős változást. A fluoreszcencia spektrumon megfigyelhető jelentős kékeltolódás, amely alapján kijelenthető, hogy az ICAN alkalmas a Hg(II)-ionok vizes oldatban történő radiometriás meghatározására ⁸. Egy másik hatékony radiometriás fluoreszcens szondát is terveztek és tanulmányoztak, amely 1,8-naftalidon és izocianocsoporton alapul és a Hg(II)-ionok vizes közegben történő mennyiségi meghatározására szolgál ⁵³. Az aromás izocianocsoporttal rendelkező vegyületek nagyon ígéretes radiometriás fluoreszcens szondáknak tűnnek a Hg(II)-ion mennyiségi kimutatására.

2.6 Az Izociano-naftol származékok

A környezetünk által indukált ingerekre ellenőrzött módon reagáló molekulák szondaként használhatók különféle komplex, szupramolekuláris kémiai és biológiai rendszerek, például micellák, liposzómák vagy biomakromolekulák tulajdonságainak tanulmányozására ⁶². A vizsgálatok során megkövetelt nagy érzékenység és pontosság miatt a jelenlegi kutatások fókuszában a meglévők folyamatos fejlesztése mellett újszerű szondák bevezetése áll ^{38,40}. Ezeknek a vegyületeknek a többsége fluoreszkáló ²¹, így az emissziós spektrumon megfigyelhető változások feltárhatnak információkat mikrokörnyezetük polaritásáról ⁶³, savasságáról/bázikusságáról ⁶⁴ vagy akár

fluiditásáról ⁶⁵. Azokat a fluoreszcens festékeket, amelyek mikrokörnyezetük polaritásával változtatják emissziós tulajdonságaikat, szolvatokróm festékeknek nevezik. Fontos szerepet játszanak a nagy biomolekulák hidrofób és/vagy hidrofil üregeinek lokalizálásában, mint például a szarvasmarha szérumalbumin (BSA) ^{66,67}. Az ilyen célra használt festékek többsége pozitív szolvatokróm hatást fejt ki, ami a gerjesztett állapot dipólusmomentumának az alapállapothoz viszonyított növekedését jelenti, ami az emissziós spektrum vörös eltolódását eredményezi a oldószer polaritásának növekedéssel ⁶⁸. A pozitív szolvatokróm hatást mutató fluoreszcens festékeket gyakran „push-pull” festékeknek nevezik, mivel elektron-donor (például amin) és elektron-akceptor (például formil) csoportokat tartalmaznak, amelyek konjugált elektron rendszeren (azaz arilcsoporton) keresztül kapcsolódnak egymáshoz (például a naftalin) ⁶⁹. Egy összetett kémiai rendszer savassága vagy lúgossága döntő szerepet játszik a különböző kémiai és biokémiai reakciókban lezajló protonátviteli reakciókban is, amelyek egyben alapvető folyamatként is szolgálnak pl. fehérjék és lipid kettősrétegek bioenergetikája ^{70,71}. Azokat a vegyületeket, amelyek savassága (pK_s -értéke) gerjesztett állapotban 105-108-szorosára vagy nagyobb szorzóval nőhet az alapállapotéhoz képest, fotosavnak nevezzük ⁷². Ezek a vegyületek, például az aromás hidroxivegyületek gerjesztett állapotú protontranszferen (ESPT) mennek keresztül fénnel történő besugárzás hatására és ideális jelölteknek tűnnek a savasság/lúgosság ESPT-folyamatokon keresztül történő vizsgálatára, vagy mikrokörnyezetükben a pH-csökkenés indukálására ^{24,26,73-79}. Továbbá, a fotosavak potenciálisan alkalmazhatók protonkatalizált fotokémiai reakciókban vagy az enzimaktivitás szabályozásában, vagy alkamasak fényindukált pH-ugrással biokémiai reakciók elindítására is ^{73,80,81}.

A közelmúltban kutatócsoportunk fejlesztette ki a szolvatokróm színezékek új családját, az ICAN-t (izociano-amino-naftalin), az ICT-n alapuló elektrondonor amino ($-NH_2$) és elektronvonzó izociano ($-N^+ \equiv C^-$) csoportokat építettünk be a naftalingyűrűbe ^{7,82,83}. Ugyanezen koncepció alapján további szolvatokróm festékeket is kifejlesztettek, beleértve a 3-amino-6-izocianoakridint is, amelyek savasságát a fiziológiás pH közelébe ($pK_a = 7,05-7,58$) finomították ⁸⁴. Vizsgálataink azt is kimutatták, hogy a legkifejezettebb szolvatokróm válasz érhető el, ha a donor és akceptor csoportokat a naftalin mag (1,5-ICAN) 1,5-es pozíciójába helyezzük ⁸⁵. Így azt képzeltük el, hogy az 1,5-ICAN amino-csoportjának -OH csoporttal (5-izocianonaftalin-1-ol, ICOL) való helyettesítése szintén jelentős szolvatokróm hatást fejt ki az elektrondonor jellege közötti hasonlóság miatt. Ettől a változástól azt is vártuk, hogy az ICOL olyan fotosavvá váljon, amely hatásosabb, mint az általánosan alkalmazott 1-naftol, az elektronvonzó izocianocsoport jelenléte miatt. A szolvatokróm hatás és a fotosav kombinációja egyedülálló módon képes információt szerezni nem csak a polaritásról, hanem az ICOL molekulák körüli mikrokörnyezet savasságáról/bázisosságáról is. Az ICOL mellett az oktiloxi-származékával, az 5-izociano-1-(oktiloxi)naftalin (ICON) is foglalkoztam. Bár egyes cianonaftolok emissziós tulajdonságait már tanulmányozták ^{86,87}, az izocianonaftol származékok még feltáratlanok maradtak.

3. Kísérleti rész

3.1 Felhasznált anyagok

A szintézisekhez oldószerként diklórmétánt (DKM), toluolt, etil-acetátot (EtAc), etanolt (EtOH), 2-propanolt (iPrOH), használtam. A kálium-hidroxidot és kloroformot a Sigma-Aldrich-től (Darmstadt, Németország) vásároltuk. Az alkalmazott oldószerek és reagensek analitikai minőségű voltak.

Az optikai vizsgálatokhoz analitikai tisztaságú, stabilizátor mentes oldószereket alkalmaztam (hexán, toluol, diklórmétán (DKM), izo-propil-alkohol (iPrOH), kloroform, etil-acetát (EtAc), 1,4-dioxán, aceton, metil-alkohol (MeOH), piridin, acetonitril (ACN), tetrahidrofurán (THF), N,N-dimetil-formamid (DMF), dimetil-szulfoxid (DMSO), víz).

3.2 Vizsgálati módszerek

3.2.1 *Mágneses magrezonancia (NMR) spektroszkópia*

Az ^1H (500 MHz) és ^{13}C NMR (90,54 MHz) spektrumokat Bruker Avance II 500 MHz típusú, TXI mérőfejjel felszerelt spektrométeren vettem fel szobahőmérsékleten, deuterált kloroformban (CDCl_3) oldva. A kémiai eltolódásokat az oldószerhez adott Me_4Si ($\delta = 0,00$ ppm ^1H esetében), illetve magához az oldószer jeléhez (CDCl_3 $\delta = 77,00$ ppm ^{13}C esetében) igazítottam.

3.2.2 *UV-Vis spektrofotometria és spektrofluorimetria*

Az UV-Vis spektrumokat egy HP 8433 diódasoros spektrofotométerrel vettem fel, 1 cm optikai úthosszal rendelkező kvarc küvettában, melybe 3,00 cm^3 oldatot mértem. A méréseknél az 5-izocianonaftalin-1-olt (ICOL-t) 8,42 mM koncentrációban oldottam a megfelelő oldószerekben, és 34,2 μM -ról 168 μM -ra hígítottam, míg az 5,75 mM koncentrációban oldott ICON-t 23,5 μM -ról 115 μM -ra hígítottam.

A fluoreszcenciás méréseket két féle spektrofotométeren mértem. A 3.4. fejezetben található spektrumokat egy Xe lámpás fényforrással felszerelt Jasco FP-8200 fluoreszcens spektrofotométerrel rögzítettem.

A 3.5. fejezetben tárgyalt vegyületeket pedig egy Xe lámpás fényforrással felszerelt Jasco FP-8500 fluoreszcens spektrofotométerrel mértem.

Az emissziós spektrumokat minden esetben a $\lambda = 350\text{-}650\text{ nm}$ tartományban rögzítettem $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on, $\lambda_{\text{ex}} = 337\text{ nm}$ gerjesztési hullámhosszon, $2,5\text{ nm}$ gerjesztés, $5,0\text{ nm}$ emissziós sávszélesség és $50\text{-}10000\text{ nm/perc}$ szkennelési sebesség alkalmazásával.

A kvantumhasznosítási tényezőt $0,1\text{ mol/L}$ koncentrációjú kénsavban oldott kinin-szulfát (abszolút kvantumhatásfok, $\Phi_F = 0,55$) alkalmazásával határoztam meg.

A nátrium-lauril-szulfát (SLS) és a Tween 80 (TW80) CMC-jének meghatározására szolgáló oldatokat úgy készítettem, hogy $2955\text{ }\mu\text{l}$ SLS vagy $2955\text{ }\mu\text{l}$ TW80 vizes oldatot $45\text{ }\mu\text{l}$ acetonitrilben oldott 5-izocianonaftalin-1-olal (ICOL) vagy 5-izociano-1-(oktiloxi)naftalinnal (ICON) elegyítettem. A végső koncentráció $50,6\text{ }\mu\text{M}$ az ICOL esetébe, aaz ICON esetében pedig $7,4\text{ }\mu\text{M}$, míg az SLS és a TW80 esetében a koncentrációk $0,8\text{ mM}$ - 50 mM , illetve $0,16\text{ }\mu\text{M}$ - $100\text{ }\mu\text{M}$ tartományban voltak. A piridinnel végzett fluoreszcencia kioltási kísérletekhez szükséges oldatokat acetonitrilben vagy desztillált vízben, SLS vagy TW80 micellák jelenlétében készítettem $25,1\text{ mM}$, illetve $50,0\text{ }\mu\text{M}$ koncentrációban, $50,6\text{ }\mu\text{M}$ ICOL koncentráció mellett. Az ICOL oldatok fluoreszcenciáját marhaszérum albumin (BSA) jelenlétében, foszfáttal pufferelt sóoldatban (PBS) ($\text{pH} = 7,4$) vizsgáltam $1,68\text{ }\mu\text{M}$ ICOL koncentráció és legfeljebb $40\text{ }\mu\text{M}$ BSA koncentráció mellett. A PBS egy biológiai puffer, amely víz, sók keveréke (nátrium-kloridot, kálium-kloridot, kálium-dihidrogén-foszfátot és dinátrium-hidrogén-foszfátot tartalmaz), a sejt- és

molekuláris biológiai kísérletekben használják a pH (7,0-7,4) és az ozmózis stabilizálására, például sejtenyésztéshez és mintagyűjtéshez.

Az alapállapotú ICOL pK_a értékének meghatározásához szükséges UV-Vis méréseket 19,7 μM ICOL koncentrációnál végeztem Britton-Robinson pufferben (BRB), a pH = 5-11 tartományban, míg a gerjesztett állapothoz tartozó pK_a értéket (pK_a^*) HCl oldatokban becsültem az 1 mM és 1 M koncentrációtartományban.

3.2.3 Tömegspektrometriás mérések (MS/MS)

Az MS és MS/MS méréseket MicroTOF-Q-TOF MS típusú készülékkel végeztem, mely elektroporlasztásos ionforrással (ESI ionizáció) volt felszerelve (Bruker Daltonik, Bréma, Németország). A tömegspektrumokat külsőleg kalibráltuk az elektropray körülmények között keletkező nátrium-trifluor-acetát $[(\text{NaTFA})_n + \text{Na}]^+$ klaszterionok pontos tömegének felhasználásával. A mintákat fecskendőpumpával (Cole-Parmer Ins. Co., Vernon Hills, IL, USA) vezettem be 10 μl /perc áramlási sebességgel.

3.2.4 Időfüggő emissziós tulajdonság TRES

A Time-Resolved Emission Spectra (TRES) egy fluoreszcens spektroszkópai technika, amelyet a molekulák emissziós tulajdonságainak az idő függvényében történő elemzésére használnak.

A fotolízis kísérleteket egy Applied Photophysics LKS.60 nanoszekundumos tranziens abszorpciós spektrométerrel végeztem, amely Quantel Brilliant Nd:YAG lézerrel és annak második, harmadik és negyedik harmonikus generátorával volt felszerelve. A harmadik harmonikust használtam 355 nm-en. Az adatok kiértékeléséhez a www.fluortools.com weboldaltól ingyenesen letölthető „DecayFit 1.4” szoftvert használtam.

3.3 Szintézisek

3.3.1 1-amino-5-izocianonaftalin (ICAN) szintézise

Az Alkalmazott Kémia Tanszék már több mint 10 éve foglalkozik fluorofor vegyületek előállításával és vizsgálatával. Az ICAN 2013-ban ⁷ megjelent receptúrája alapján módosított eljárást dolgoztam ki, a jobb kitermelés érdekében.

Egy hűtővel, gázbevezetővel és mágneses keverővel felszerelt 250 ml-es háromnyakú lombikban 3,00 g (19,0 mmol) 1,5-diamino-naftalint (DAN) 10 ml kloroformban oldottam, majd 100 ml diklórmétánt (DKM) adtam hozzá, amihez továbbá 0,054 g (0,19 mmol) tetrabutyl-ammónium-klorid (TBACl) katalizátort adtam. Erőteljes kevertetés mellett csepegtetve adagoltam hozzá 52,2 g (932 mmol) kálium-hidroxid (KOH) 50 ml vizes oldatát. A reakció elegyet argon alatt, 12 órán keresztül kevertettem 40 °C-on.

Lehűlés után 100 ml diklórmétánt adtam a reakcióelegyhez, választótölcsérben elválasztottam a szerves fázist, addig mostam desztillált vízzel, míg annak a pH értéke 7 nem lett, majd vízmentes magnézium-szulfáton szárítottam. Az oldószert rotációs vákuumbepárlón eltávolítottam. A maradék sötétbarna olajat szilikagéllel töltött kromatográfiás oszlopon tisztítottam diklórmétán eluenst használva. A termék halvány narancssárga, kristályos anyag (kitermelés: 0,904 g, 30,1 (m/m)%, R_f : 0,3). A reakció melléktermékeként 1,5-diizocianonaftalin is számottevő mennyiségben képződött, melyet az oszlopkromatográfiás elválasztás után tisztán nyertem ki, halvány citromsárga, kristályos anyagként (0,172 g, 5,73 (m/m) %, R_f : 0,60).

3.3.1 1-amino-5-izocianonaftalin (1-5-ICAN) reakciója vízzel és Hg^{2+} -ionokkal

A társoldószer és az oldószerkészítmény hatásának az 1,5-izociano-amino-naftalin (1,5-ICAN) vízzel és Hg(II) -ionokkal való reakciójának kinetikájára gyakorolt hatásának vizsgálatához különböző aprotikus (tetrahidrofurán, acetonitril, N,N-dimetil-formamid) és protikus társoldószereket (etanol, 2-propanol) alkalmaztam. Továbbá a pszeudo-elsőrendű kinetika biztosításához desztillált vizet és HgCl_2 -t használtam nagy feleslegben (több nagyságrenddel), az alkalmazott fluorofor pedig az 1,5-ICAN volt. A reakciókat Jasco típusú fluoriméter segítségével követtem. Az emissziós spektrumokat meghatározott időnként vettem fel. A reakciókat 1,5-ICAN hozzáadásával indítottam a HgCl_2 oldathoz.

A HgCl_2 -t desztillált víz és társoldószer (pl. THF) elegyében oldottam, melynek koncentrációja $1,3 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$ (HgCl_2 koncentrációja ez elegyben), majd ebből az oldatból 3 ml-t egy kvarc küvettába tettem, és a fluoriméterben termosztáltam. A reakciót 5 μl fluorofor acetonitriles oldat hozzáadásával indítottam, a fluorofor koncentrációja a küvettában $2,5 \times 10^{-6} \text{ mol/l}$ volt. A kísérletek során a víz együttes oldószer arányát változtattam. A fluoriméterben az emissziós spektrumokat meghatározott időközönként vettem fel. Ez az idő függ a reakció sebességétől, minél gyorsabb volt, annál gyakrabban vettem fel a spektrumokat.

3.3.2 5-izocianonaftalin-1-ol (ICOL) előállítása

Egy hűtővel, csepegtetőtölcsérrel, argon bemenettel és mágneses keverővel felszerelt kiizzított 250 ml-es háromnyakú gömblombikba 1,00 g 5-amino-1-naftolt (6,28 mmol) 85 ml toluolban oldottam, majd 9,76 ml (0,250 mol) hangyasavat csepegtetve adtam hozzá. Olajfürdő hőmérséklete 40°C -on argon alatt kevertettem 3 órát. 3 óra elteltével olajfürdőről levettem és 20 ml diklór-

metánnal (DKM) további 10 percig kevertettem. A toluolos- diklórmétános fázist dekantáltam, a szilárd kiválást 100 ml etil-acetátban oldottam fel. Az etil-acetátos fázist 3×50 ml vízzel extraháltam, magnézium szulfáton szárítottam, majd leszűrtem és rotációs vákuumbepárlón szárazra pároltam. A termék 730 mg 5-formamid -1- naftol (3,90 mmol). Második lépésként egy háromnyakú lombikba 100 ml diklórmétánban oldottam a 730 mg 5-formamid-1-naftolt (3,90 mmol), argon gáz alatt, jeges fürdő felett. Majd hozzáadtam 168,6 mg (1,38 mmol) 4-(dimetil-amino)-piridint (DMAP), 1,526 ml (10,9 mmol) trietilamint (TEA) és, 0,42 ml (4,29 mmol) foszfor-oxi-trikloridot (POCl_3)⁵⁴. A foszfor-oxi-trikloridot szeptumon keresztül lassan csepegtetve, folyamatosan hűtés mellett adtam hozzá. 10 percig kevertettem 0 °C-n, majd 2,5 órát szobahőmérsékleten. A reakció lejátszódása után 45 ml 10 %-os Na_2CO_3 oldattal kevertettem 10 percen át. Az elegyet választótölcséren szétválasztottam és 3×50 ml desztillált vízzel mostam, a szétválás nagyon lassú volt. A szerves fázist magnézium-szulfáton szárítottam, szűrtem. Az oldószert rotációs vákuumbepárlón eltávolítottam, és a maradékot normál fázisú szilikagéllel töltött oszlopon tisztítottam, eluálószerként diklórmétánt használtam, így 0,025 g tiszta terméket kaptam halványrózsaszín-fehér kristályok formájában (2,5 %).

3.3.3 5-izociano-1-oktiloxi-naftalin előállítása

Előre kiízzított háromnyakú 50 ml-es lombikba kimértem 1,00 g (6,28 mmol) 5-amino-1-naftolt, és annyi n-propanolt adtam hozzá, amennyiben feloldódott (2 ml). Majd 1,26 g elporított NaOH-ot (31,41 mmol), és 1,302 ml 1-brómoktánt (7,54 mmol). Argon alatt, szobahőmérsékleten kevertettem 1 órát, majd 1 óra elteltével az olajfürdőt 70 °C-ra melegítettem és 23 órán át kevertettem. A reakciót vékonyréteg kromatográfiásan követtem, eluensként etil-acetátot (EtOAc) alkalmaztam. 24 óra elteltével a kihűlt,

szobahőmérsékletű reakcióelegyhez 6 ml etil-acetátot adtam, majd 3×10 ml vízzel extraháltam. Nyersterméknek sötétszürke olaj kaptam 2,03 g.

Második lépésben kiizzított 250 ml-es háromnyakú lombikba oldottam az első reakció nyers termékét toluolban (168 ml), majd hangyasavat (19,52 ml - 0,50 mol) adtam hozzá. A toluolt és a hangyasavat feleslegben alkalmaztam. Az elegyet 80 °C-on másfél órán át argon alatt kevertettem, majd a szobahőmérsékletű elegyhez hozzáadtam 80 ml 10 (m/m) %-os NaHCO_3 -t és 40 ml diklórmétánt (DKM). Az elegyet elválasztó tölcseren szétválasztottam, és a szerves fázist vízzel semlegesre extraháltam (3×100 ml víz), majd vízmentes magnézium-szulfáton szárítottam, szűrtem, rotációs vákuumbepárlón szárazra pároltam.

Következő lépésben a nyerstermék diklórmétános oldatát (220 ml) háromnyakú lombikba mértem, 13,06 ml-trietilamin (TEA) (0,0937 mol) és 4,44 ml POCl_3 -ot (0,0474 mol) adtam hozzá argon gáz alatt és jeges fürdőben kevertettem. A POCl_3 -ot ismételten szeptumon keresztül lassan csepegtettem, folyamatosan hűtve (jeges hűtés). A reakciót vékonyréteg kromatográfián követtem, eluensként etil-acetátot használtam. A reakció 1 órán keresztül ment, majd 200 ml 10 (m/m) % Na_2CO_3 oldatot és 100 ml diklórmétánt adtam a reakcióelegyhez. Az elegyet választótölcseren szétválasztottam, a szerves fázist vízzel semlegesre mostam (3×100 ml), majd vízmentes magnézium-szulfáton szárítottam, szűrtem, rotációs vákuumbepárlón szárazra pároltam, a maradékot normál fázisú szilikagéllel töltött oszlopon tisztítottam, eluálószerként diklórmétánt használtam, így 0,20 g tiszta barna szilárd terméket kaptam (20 (m/m) %).

3.4 A kinetikai adatok értékeléséhez alkalmazott egyenletek

A reakció során mind a víz, mind a HgCl_2 koncentrációja több nagyságrenddel nagyobb volt, mint az 1,5-ICAN koncentrációja, emiatt koncentrációjuk változásait figyelmen kívül hagytam. A fluoreszcencia mérésekből nyert kinetikai adatokat irreverzibilis, egymást követő un. "ABC" ($A \rightarrow B \rightarrow C$) reakció modellel értékeltem, amelyben A a kezdeti, B a köztes és C a végtermék. Ennek megfelelően az A , B és C koncentrációjának t idővel való változása az (26)-(28) egyenletekkel fejezhető ki:

$$[A](t) = [A]_0 e^{-k_1 t} \quad (26)$$

$$[B](t) = \frac{k_1 [A]_0}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) \quad (27)$$

$$[C](t) = [A]_0 \left[1 + \frac{k_1 e^{-k_2 t} - k_2 e^{-k_1 t}}{k_2 - k_1} \right] \quad (28)$$

ahol k_1 és k_2 az $A \rightarrow B$ és $B \rightarrow C$ reakciók sebességi állandói. Az A , B és C fluoreszcencia intenzitásának változása az idő függvényében két különböző emissziós hullámhosszon, az egyik alacsonyabb ($I_L(t)$), a másik ($I_H(t)$) magasabb hullámhossz (λ_{em}) értéken, a következő:

$$I_H(t) = p_{A,H} e^{-k_1 t} + \frac{p_{B,H} k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) + p_{C,H} \left[1 + \frac{k_1 e^{-k_2 t} - k_2 e^{-k_1 t}}{k_2 - k_1} \right] \quad (29)$$

$$I_L(t) = p_{A,L} e^{-k_1 t} + \frac{p_{B,L} k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) + p_{C,L} \left[1 + \frac{k_1 e^{-k_2 t} - k_2 e^{-k_1 t}}{k_2 - k_1} \right] \quad (30)$$

ahol $p_{A,H}$, $p_{B,H}$ és $p_{C,H}$ az A kezdeti koncentrációjának ($[A]_0$) és a λ_H (ϵ) megfelelő moláris emissziós együtthatóinak szorzata, azaz $p_{A,H} = \epsilon_{A,H} [A]_0$, $p_{B,H}$

$= \varepsilon_{B,H}[A]_o$ és $p_{C,H} = \varepsilon_{C,H}[A]_o$ és $\varepsilon_{A,H}$, $\varepsilon_{B,H}$ és $\varepsilon_{C,H}$ az A , B és C moláris emissziós együtthatói λ_H -nál. Hasonlóképpen, $p_{A,L}$, $p_{B,L}$ és $p_{C,L}$ az A kezdeti koncentrációjának ($[A]_o$) és a λ_L (ε) megfelelő moláris emissziós együtthatóinak szorzata, azaz $p_{A,L} = \varepsilon_{A,L}[A]_o$, $p_{B,L} = \varepsilon_{B,L}[A]_o$ és $p_{C,L} = \varepsilon_{C,L}[A]_o$, és $\varepsilon_{A,L}$, $\varepsilon_{B,L}$ és $\varepsilon_{C,L}$ a λ_L moláris emissziós együtthatói A -ra, B és C . A $p_{A,H}$, $p_{B,H}$, $p_{C,H}$, $p_{B,L}$, $p_{C,L}$, k_1 és k_2 paramétereket paraméterként kezelve, és a (29) és (30) egyenleteket a kísérleti fluoreszcencia-intenzitás adatokhoz illesztve, azt találtam, hogy a $p_{B,H}$, $p_{A,L}$ és $p_{B,L}$ nem járulnak szignifikánsan hozzá a megfigyelt intenzitásokhoz. Így a (29) és (30) egyenleteket a (31) és (32) egyenletekre lehetett redukálni és ezeket az egyenleteket használtam a k_1 és k_2 értékeinek meghatározására.

$$I_H(t) \approx p_{A,H}e^{-k_1t} + p_{C,H} \left[1 + \frac{k_1e^{-k_2t} - k_2e^{-k_1t}}{k_2 - k_1} \right] \quad (31)$$

$$I_L(t) \approx p_{C,L} \left[1 + \frac{k_1e^{-k_2t} - k_2e^{-k_1t}}{k_2 - k_1} \right] \quad (32)$$

Az 1,5-diizocianonaftalin (1,5-DIN) megfelelő fluoreszcencia-intenzitása időbeli változásának leírásához egy irreverzibilis, egymást követő "ABCD" ($A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow D$) reakciómodellt használtam (31) és (32) egyenlet.

$$I_H(t) \approx p_{B,H} \frac{k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1t} - e^{-k_2t}) + p_{D,H} \left[1 - e^{-k_1t} - \frac{k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1t} - e^{-k_2t}) - \frac{k_1k_2}{(k_1 - k_2)(k_3 - k_1)} (e^{-k_3t} - e^{-k_1t}) - \frac{k_1k_2}{(k_1 - k_2)(k_2 - k_3)} (e^{-k_3t} - e^{-k_2t}) \right] \quad (33)$$

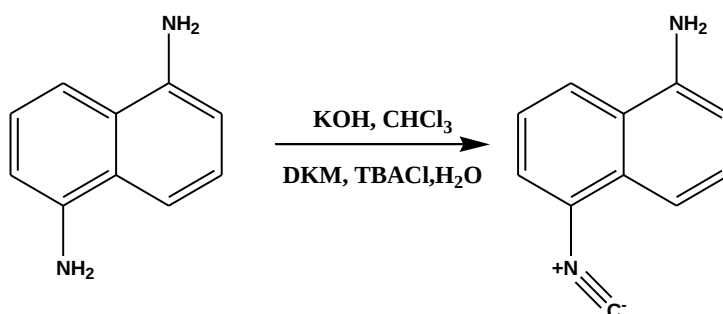
$$I_L(t) \approx p_{D,L} \left[1 - e^{-k_1t} - \frac{k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1t} - e^{-k_2t}) - \frac{k_1k_2}{(k_1 - k_2)(k_3 - k_1)} (e^{-k_3t} - e^{-k_1t}) - \frac{k_1k_2}{(k_1 - k_2)(k_2 - k_3)} (e^{-k_3t} - e^{-k_2t}) \right] \quad (34)$$

ahol k_1 , k_2 és k_3 az $A \rightarrow B$, $B \rightarrow C$ és $C \rightarrow D$ reakció sebességi együtthatói. A k_1 , k_2 és k_3 értékeket úgy kaptam meg, hogy a (33) és (34) egyenleteket illesztettem a kísérleti fluoreszcencia intenzitásgörbéihez. A (31)-(34) egyenletek paramétereinek a kísérleti kinetikai adatokhoz való illesztéséhez, és ezáltal a megfelelő sebességi állandók meghatározásához a Gauss - Newton - Marquardt eljárás alapján szoftvert alkalmaztam ⁵⁵.

4. Eredmények és kiértékelésük

4.1 Az 1-amino-5-izocianonaftalin (ICAN) előállítása

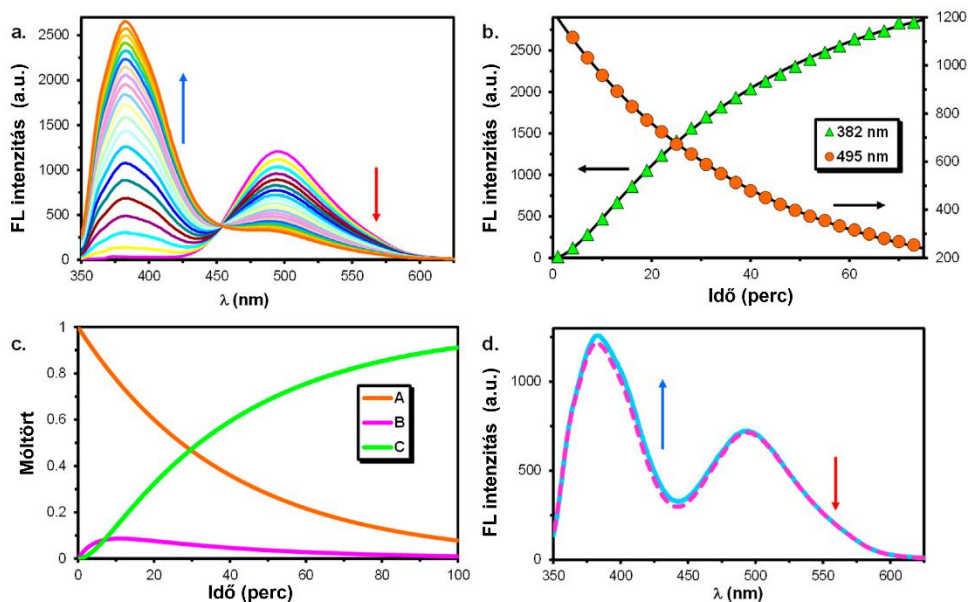
Az 1-amino-5-izocianonaftalin (ICAN) előállításának reakció egyenlete a 6. ábrán látható.



6. ábra: 1-amino-5-izocianonaftalin előállítása

4.1.1 *Reakciók víz/aprotikus oldószer elegyben*

A kísérletek során a következő aprotikus oldószereket alkalmaztam: THF, ACN és DMF. A víz/oldószer elegy esetén a spektrumok időbeli változását követtem. A víz/THF elegy esetén a görbék intenzitása $\lambda = 382$ nm-nél folyamatosan növekszik, amíg a $\lambda = 495$ nm maximum esetén folyamatosan csökken.

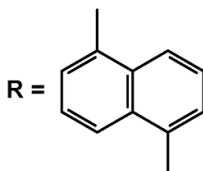
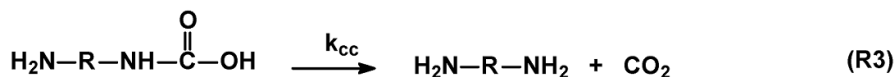
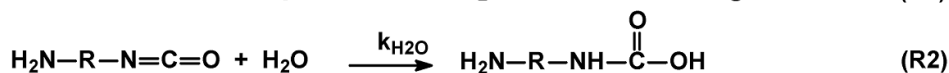


7. ábra: Az emissziós spektrumok változása az 1,5-ICAN vízzel és HgCl₂-vel történő reakciója során THF/víz elegyben. A fluoreszcencia intenzitásának változásai $\lambda = 382$ nm-en és 495 nm-en hullámhossz értékeken 60 másodperces időközönként rögzítve **(a)**. A szimbólumok a kísérleti adatokat, míg a folytonos vonalak az illesztett görbéket jelölik a (29) és (30) egyenletekkel felhasználásával **(b)**. Az A, B és C komponensek moláris frakcióinak változásait, amelyet a (29) és (30) egyenlettel számítottam ki az illesztésből kapott paraméterek felhasználásával **(c)**. Mért (folytonos vonal) és számított (szaggatott vonal) emissziós spektrumok 25 perces reakcióidőnél **(d)**. Kísérleti körülmények: [H₂O] = 27,8 mol/L (~ 50% (V/V)), [1,5-ICAN] = $2,5 \times 10^{-6}$ mol/L, [HgCl₂] = $1,2 \times 10^{-3}$ mol/L és T = 25 °C.

A 7a. ábrán az emissziós görbék intenzitás maximuma $\lambda = 495$ nm-nél csökken, míg $\lambda = 382$ -nél folyamatosan növekszik és a spektrum $\lambda = 450$ nm-nél izoemissziós pont látható, ami egyszerű A $\rightarrow$ B reakció jelenlétére utal. Az izoemissziós pontnál az időtől függetlenül az összetétel állandó. Ezen kívül, a 7b. ábrából az is megállapítható, hogy a reakciótermék kialakulása rövid "indukciós periódust" mutat, a kísérleti görbék egyszerű exponenciális görbékkel nem írhatók le, így az 1,5-ICAN és a termék képződésének aránya jelentősen eltér. A megfelelő fluoreszcencia-intenzitások időbeli változása leírható egy egymást követő, elsőrendű "A $\rightarrow$ B $\rightarrow$ C" reakció modellel, amint azt az 7b. ábra is mutatja. A 7c. ábra az A, B és C komponensek moláris

frakcióinak változásait, amelyet a (29) és (30) egyenlettel számítottam ki az illesztésből kapott paraméterek felhasználásával. A 7d. ábrán hasonlítottam össze a kísérleti és számított spektrumokat, mely jó egyezést mutat az ábrázolt spektrumok között. Továbbá, hogy a reakciótermék 1,5-DAN (C), egyértelműen bizonyítottam a termék fluoreszcens spektrumának és az 1,5-DAN fluoreszcens spektrumának összehasonlításával.

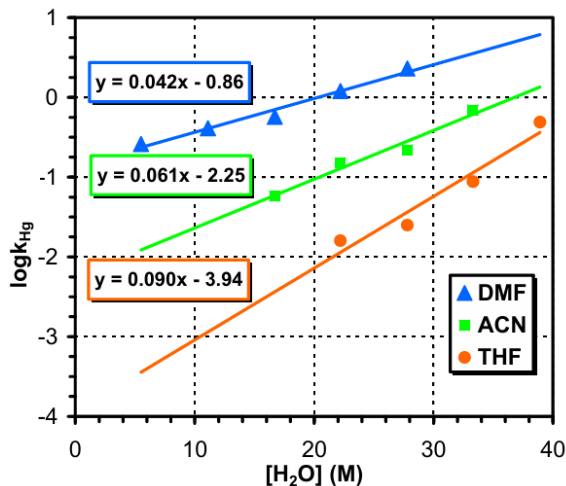
Az 1,5-DAN képződését ESI-MS mérésekkel is alátámasztottam. Ez a megállapítás összhangban van azzal, amit korábban vízben társoldószerek hiányában figyeltem meg ⁸. Megállapítottam ugyanis, hogy az irreverzibilis, egymást követő "A→B→C" reakciómodell érvényes minden aprotikus társoldószert tartalmazó rendszerre (minden esetben jó illeszkedést találtam), és a reakció terméke 1,5-DAN, függetlenül a víz/aprotikus társoldószeres rendszerek összetételétől.



8. ábra: 1-5 ICAN reakciója HgCl₂-l és vízzel. Kísérleti körülmények: [1,5-ICAN] = 2,5 × 10⁻⁶ mol/l, [HgCl₂] = 1,2 × 10⁻³ mol/l és T = 25 °C

A reakció 3 lépéssel írható le, ezen reakciókat a 8. ábrán foglaltam össze. Kezdetben az izocianát intermedierként képződik (R1), az R1 valószínűleg különböző elemi lépésekből álló bruttó reakció. A köztitermék, ebben az

esetben az izocianát, amelynek izonitrilből víz és Hg(II)-ionok jelenlétében történő képződéséről már korábban beszámoltak ^{56,57,58}. Az izocianát tovább reagálhat vízzel, és karbaminsavat képezhet (R2), majd az elbomlik és bomlása során aminszármazék képződik (R3). Az R2 és R3 reakciók jól ismert reakciók a poliuretán kémiában, amelyeket a poliuretán habok előállítása során használnak ^{59,60}. Továbbá azt is feltételeztem, hogy az izocianátból amin előállításának sebességét meghatározó lépés az izocianát vízzel (R2) való reakciójának köszönhető, valamint a képződött karbaminsav aminná bomlása viszonylag gyors folyamat. Ezért az egymást követő "A→B→C" reakciómodellben a közbenső „B” képviseli az R1-ben képződött izocianátot. A megfelelő pszeudo elsőrendű k_{Hg} (k_1) és k_{H_2O} (k_2) sebességi együtthatókat úgy kaptam meg, hogy a (29) és (30) egyenleteket a kísérleti fluoreszcencia görbékre illesztettem.



9. ábra: $\log k_{Hg}$ értékek változása a víz - aprotikus (DMF, ACN, THF) társoldószerek elegyében

A 9. ábrán látható a $\log k_{Hg}$ értékek változása a víz - aprotikus (DMF, ACN, THF) társoldószerek elegyében. A 1. táblázat foglalja össze az 1,5-ICAN vízzel és HgCl₂-vel való reakciójának pszeudo elsőrendű együttható értékeit, a DMF,

ACN és THF elegy esetében. Az elegyet ebben az esetben is egy víz/aprotikus oldószer alkotja.

1. táblázat: Sebességi együtthatók értékei THF, ACN és DMF társoldószeres esetében

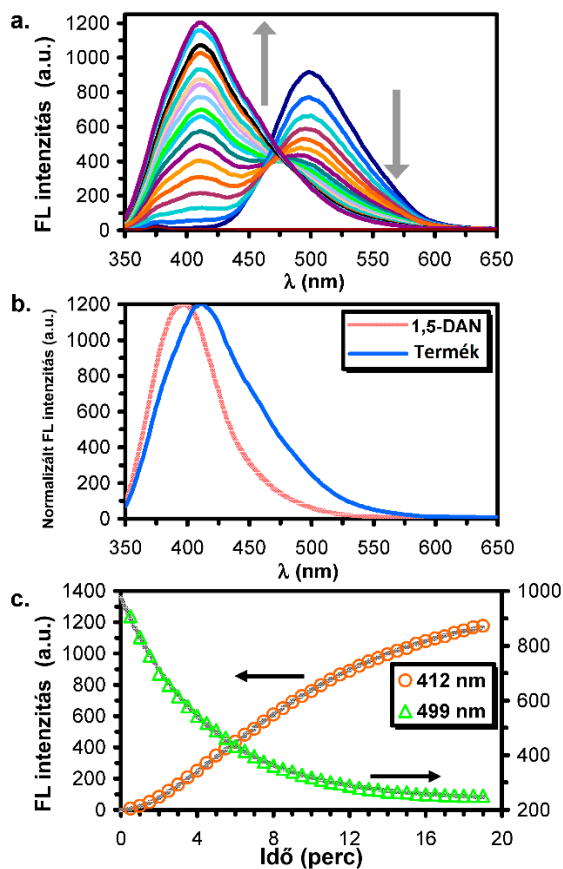
	k (perc⁻¹)	[H₂O] (mol/L)						
		5,5	11,1	16,7	22,2	27,8	33,3	38,9
THF	k_{Hg} (k_1)	-	-	-	0,016	0,025	0,088	0.49
	k_{H_2O} (k_2)	-	-	-	0,10	0,22	0,20	0,62
ACN	k_{Hg} (k_1)	-	-	0,058	0,15	0,22	0,69	-
	k_{H_2O} (k_2)	-	-	0,070	0,099	0,16	0,28	-
DMF	k_{Hg} (k_1)	0,26	0,41	0,57	1,2	2,3	-	-
	k_{H_2O} (k_2)	1,3	1,7	1,8	2,7	2,5	-	-

A 9. ábrából és az 1. táblázat adataiból kiderül, hogy a k_{Hg} -értékek minden esetben egyértelműen növekednek a víztartalommal és azonos vízkoncentráció mellett a THF < ACN < DMF sorrendjében is növekvő értékek figyelhetők meg. Az is nyilvánvaló, hogy a k_{Hg} -értékek növekedésének mértéke hasonló (THF és DMF esetében) 27,8 M víztartalom mellett, mint 22,2 M esetén. Továbbá az is megállapítható, hogy a k_{Hg} -értékek nagyobb meredekséggel nőnek a kevésbé poláris THF koncentrációjával, mint a másik két poláris oldószer esetében és a $\log k_{Hg}$, valamint a víz koncentrációja csökken a THF > ACN > DMF sorrendjében (azaz 0,090, 0,061 és 0,04). Az a megállapítás, hogy a k_{Hg} értékek a vízkoncentrációval nőnek, talán nem annyira meglepő, mivel a vízmolekulák valószínűleg részt vesznek az izocianát intermedier (R1) képződéséhez vezető sebességmeghatározó reakciólépésben. Továbbá az is értelmezhető, hogy a k_{Hg} értékek legmeredekebb növekedése THF esetén következik be, mivel a növekvő víztartalmú oldószerkeverék polaritásának legnagyobb relatív változása alacsony polaritású társoldószer esetén várható. A víz azonban

nemcsak reagensként működhet (specifikus kölcsönhatás), hanem növeli a reakcióközeg általános polaritását (nem specifikus kölcsönhatás), ami valószínűleg kedvez az R1 reakció végbemenetelésének. Így a k_{Hg} értékek megfigyelt növekedése a növekvő vízkoncentráció mellett specifikus és nem specifikus kölcsönhatások eredménye lehet. Az 1. táblázat adataiból a k_{H_2O} esetében csak mérsékelt változások tapasztalhatók. Így a k_{H_2O} értékek nem annyira szignifikánsan változnak a növekvő vízkoncentrációval, mint a k_{Hg} értékek. Például ACN esetében a k_{Hg} értékének körülbelül 12-szeres növekedése figyelhető meg $[H_2O] = 16,7$ M-ról 33,3 M-ra, míg a megfelelő k_{H_2O} értékek csak 4-szeres növekedést mutatnak.

4.1.2 *Reakciók víz/protikus oldószer elegyben*

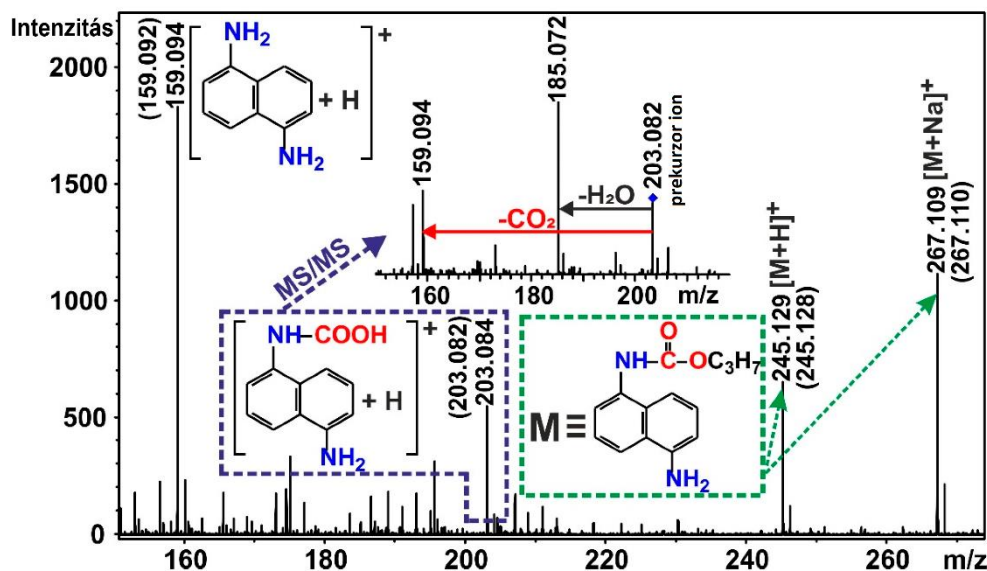
A kísérletek során alkalmazott protikus oldószerek: EtOH és iPrOH. Az 1,5-ICAN $HgCl_2$ jelenlétében vízben/protikus oldószerekben hasonlóan viselkedik, mint a vízben/aprotikus társoldószerekben, azaz az emisszió körülbelül 500 nm-en folyamatosan csökken a fluoreszcencia intenzitásának növekedésével párhuzamosan 410-420 nm körül, amint azt a 10. ábra mutatja a víz/2-propanol (iPrOH) keverékben.



10. ábra: Az emissziós spektrumok alakulása az 1,5-ICAN víz/iPrOH és HgCl_2 keverékével való reakciója során **(a)** Az 1,5-DAN és a végtermék normalizált fluoreszcencia (FL) intenzitása **(b)** A fluoreszcencia intenzitások változásai = 412 nm-en és 499 nm-en 30 másodperces intervallumokban **(c)** Kísérleti körülmények: $[\text{H}_2\text{O}] = 27,8 \text{ mol/L}$ ($\sim 50 \%$ (V/V)), $[1,5\text{-ICAN}] = 2,5 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$, $[\text{HgCl}_2] = 1,2 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ és $T = 25^\circ\text{C}$.

Ha a termék emissziós spektrumát összehasonlítjuk az 1,5-DAN-ével (10b ábra), nyilvánvaló, hogy a végtermék nem 1,5-DAN (vagy nem kizárólagosan). Érdekes, hogy az „ABC” reakciómodell még mindig képes leírni a fluoreszcencia intenzitás változásait az idő függvényében, amint azt a 10c ábra mutatja. A víz/iPrOH keverékben képződött reakciótermék(ek) meghatározására ESI-MS méréseket végeztünk. Az ESI-MS reakcióelegyei a fluoreszcencia kísérletekhez hasonlóan készültek, de az ESI-MS kísérletekben

egy nagyságrenddel nagyobb koncentrációban alkalmaztam az 1,5-ICAN-t. A víz/iPrOH oldat oldószerkeletében kapott reakcióelegy ESI-MS spektruma a 11. ábrán látható.

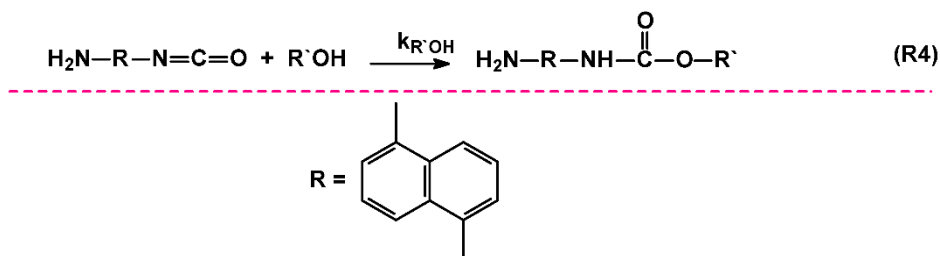


11. ábra: Az 1,5-ICAN víz/iPrOH és HgCl₂ elegyével végzett reakciójában kapott reakcióelegy ESI-MS spektruma.

A zárójelben lévő számok a számított m/z értékek. A szaggatott vonallal jelölt képlet a protonált (5-amino-naftalin-1-il)-karbaminsav MS/MS spektrumát mutatja m/z 203-nál.

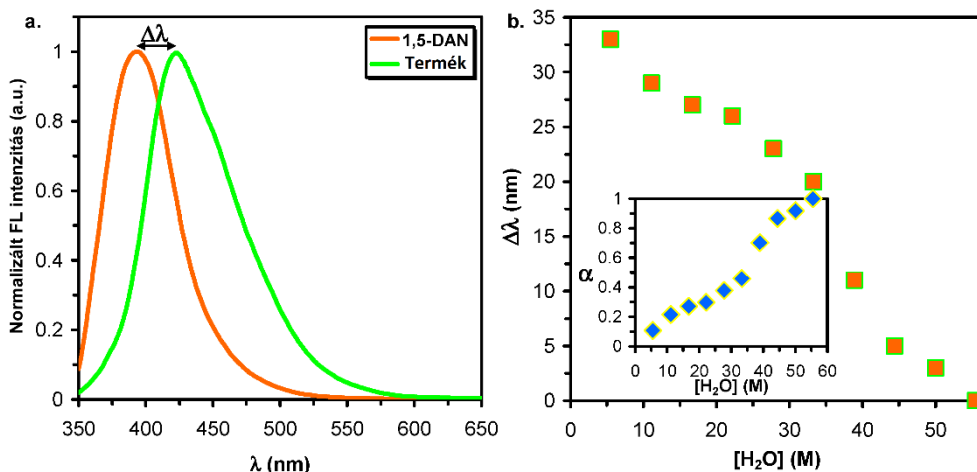
Amint a 11. ábrán látható, az ESI-MS spektrum a protonált 1,5-DAN, (5-amino-naftalin-1-il)-karbaminsav és izopropil-(5-amino-naftalin-1-il)-karbamát (uretán) jelenlétét mutatja 159, 203 és 245 m/z értékeknél. A 11. ábra szerint a mért és a számított m/z (a megfelelő összetétel alapján) értékek is jó egyezést mutatnak. Az (5-amino-naftalin-1-il)-karbaminsav jelenlétének további megerősítésére a 203 m/z értékű ionokat MS/MS vizsgálatnak vetettük alá. Az MS/MS spektrum H₂O és CO₂ molekula-vesztést mutat, ami

alátámasztja a karbaminsav jelenlétét a reakcióelegyben. Valójában az (5-amino-naftalin-1-il)-karbaminsav és az izopropil-(5-amino-naftalin-1-il)-karbamát képződése megerősíti az izocianátcsoportok kialakulását. Az izocianátok vízzel reagálva 1,5-DAN-t eredményezhetnek a karbaminsavak (8. ábra: R2 és R3) víz és protikus társoldószerek, például 2-propanol vagy etanol jelenlétében történő bomlásával. Vízzel reagálva 1,5-DAN képződhet a karbaminsavak bomlása révén. Másrésztől alkoholokkal is reagálhatnak, így karbamát-származék keletkezik, amint az a reakciósémán is látható (12. ábra). Az a megállapítás, hogy a reakcióelegyben karbamát és karbaminsav van jelen, megerősítik, hogy a reakció során intermedierként izocianát képződik.



12. ábra: 1,5-ICAN reakciója alkoholokkal.

Ez utóbbi reakció, azaz az alkoholok izocianátokhoz történő nukleofil addíciója képezi az ipari poliuretán (PUR) gyártás alapját is⁵⁵. Így megállapítható, hogy az izocianocsoport aminná és karbamáttá történő átalakulása egyidejűleg történik meg a víz/alkohol elegyekben. Ezenkívül az 1,5-DAN-hoz és az etil-(5-aminonaftalin-1-il) karbamáthoz tartozó széles fluoreszcens sávot vizsgálva nyilvánvaló, hogy nem különálló sávként jelennek meg, hanem egymásra szuperponálódva. Következésképpen valószínűleg összetett a spektrum és csak az emissziós maximumok eltolódása látható a növekvő víztartalommal, amint azt a 13. ábra mutatja.



13. ábra: (a) A kapott termék és az 1,5-DAN normalizált emissziós spektrumai. **(b)** Maximális hullámszámok különbségeinek változása. Kísérleti körülmények: $[1,5\text{-ICAN}] = 2,5 \times 10^{-6} \text{ mol/l}$, $[\text{HgCl}_2] = 1,2 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$ és $T = 25^\circ\text{C}$.

A 13a. ábrán az 1,5-DAN (narancssárga spektrum) és a reakció során keletkező termék(ek) (zöld spektrum) normalizált emissziós maximumainak (FL) spektrumait ábrázoltam, az ábrán észrevehető, hogy a kapott termék nem 1,5-DAN, vagyis nem kizárólagosan 1,5-DAN-t tartalmaz. A két spektrum különbsége $\Delta\lambda$ látható. A megadott $\Delta\lambda$ értékeket ugyanazon oldószer felhasználásával mértem meg. A 13b. ábrán a maximális hullámszámok különbségeinek változása az víz/EtOH elegyben. A kék színű spektrum értékei az α értékek változását mutatja a víz/EtOH keverék vízkoncentrációjának a függvényében (13b. ábra).

Amint az a 13. ábrán látható jelentős különbség ($\Delta\lambda$) van az 1,5-DAN λ_{max} értékei és a reakciótermék λ_{max} értékei között. Másrészt az 13b. ábrából is kitűnik, hogy a $\Delta\lambda$ érték a vízkoncentráció növekedésével csökken. Ez utóbbi megállapítás valószínűleg annak tudható be, hogy nagyobb víztartalom mellett az 1,5-DAN nagyobb mennyiségben képződik, mint a karbamát származék. Ha feltételezem, hogy az R2 (8. ábra) és R4 (12. ábra) reakciók párhuzamosan

mennek végbe, és a képződött karbaminsav viszonylag gyorsan lebomlik (R3) (8. ábra), akkor az 1,5-DAN/karbamát molaránya megegyezik a megfelelő pszeudo sebesség együtthatók arányával, azaz $k_{H_2O}/k_{R'OH}$. Figyelembe véve, hogy mindkét fluoreszcencia sáv viszonylag széles és Gauss-szerű görbével leírható, az 1,5-DAN (DAN) és a karbamát származék (CAR) fluoreszcencia sávjaiból álló csúcs maximális λ értéke közelíthető.

$$\lambda = Y_{DAN}\lambda_{DAN,max} + Y_{CAR}\lambda_{CAR,max} \quad (35)$$

ahol Y_{DAN} és Y_{CAR} az 1,5-DAN és az összetett csúcs intenzitásához hozzájáruló karbamát származék fluoreszcencia intenzitási hányada, $Y_{DAN} = \varepsilon_{DAN}C_{DAN}/(\varepsilon_{DAN}C_{DAN} + \varepsilon_{CAR}C_{CAR})$ és $Y_{CAR} = 1 - Y_{DAN}$, ahol ε_{DAN} and ε_{CAR} a moláris emisszió együtthatók, a C_{DAN} és a C_{CAR} az 1,5-DAN és a karbamát származék koncentrációja.

Továbbá, ha feltételezzük, hogy a $\varepsilon_{DAN} \approx \varepsilon_{CAR}$ érvényes, akkor az Y_{DAN} és Y_{CAR} értékek most a megfelelő móltörtökre vonatkoznak, azaz X_{DAN} és X_{CAR} (35) egyenletet átalakíthatjuk a következők szerint:

$$\Delta\lambda = (1 - X_{DAN})(\lambda_{CAR,max} - \lambda_{DAN,max}) \quad (36)$$

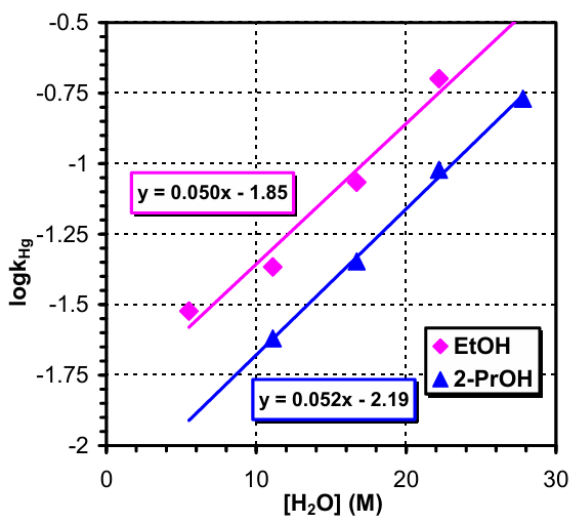
ahol $\Delta\lambda$ a hullámhossz különbség a termék és az 1,5-DAN emissziós maximuma között azonos oldószer összetételben. Az EtOH-ban lévő $\lambda_{CAR,max}$ értékét a $\lambda_{CAR,max}$ értékek nulla vízkoncentrációra való extrapolációjával becsültem meg.

Ekkor a k_{H_2O} és $k_{H_2O} + k_{R'OH}$ (α) arányát a (37) egyenlettel fejezhetjük ki:

$$\alpha = \frac{k_{H_2O}}{k_{H_2O} + k_{R'OH}} = 1 - \frac{\Delta\lambda}{\lambda_{CAR,max} - \lambda_{DAN,max}} \quad (37)$$

Ahol a k_{H_2O} , $k_{R'OH}$ a sebességi együtthatók, $\Delta\lambda$ a hullámhossz különbség a termék és az 1,5-DAN emissziós maximuma között azonos oldószer összetételben, $\lambda_{DAN,max}$ a DAN fluoreszcencia spektrum maximális hullámhossz értéke és a $\lambda_{CAR,max}$ a karbamát fluoreszcencia spektrum maximális hullámhossza.

Amint az a 13b. ábrán látható, a vízkoncentráció növekedésével a $\Delta\lambda$ értéke csökken, és a α növekszik a vízkoncentrációval. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy magasabb víztartalmú keverékben az 1,5-DAN képződése előnyös, míg a magas alkoholkoncentrációjú oldószerekben a karbamát származékot eredményező reakció dominál az 1,5-DAN képződéssel szemben.



14. ábra: A $\log k_{Hg}$ értékek változása a protikus társoldószeres vízkoncentrációjával. Kísérleti körülmények: $[1,5\text{-ICAN}] = 2,5 \times 10^{-6}$ mol/l, $[\text{HgCl}_2] = 1,2 \times 10^{-3}$ mol/l és $T = 25$ °C.

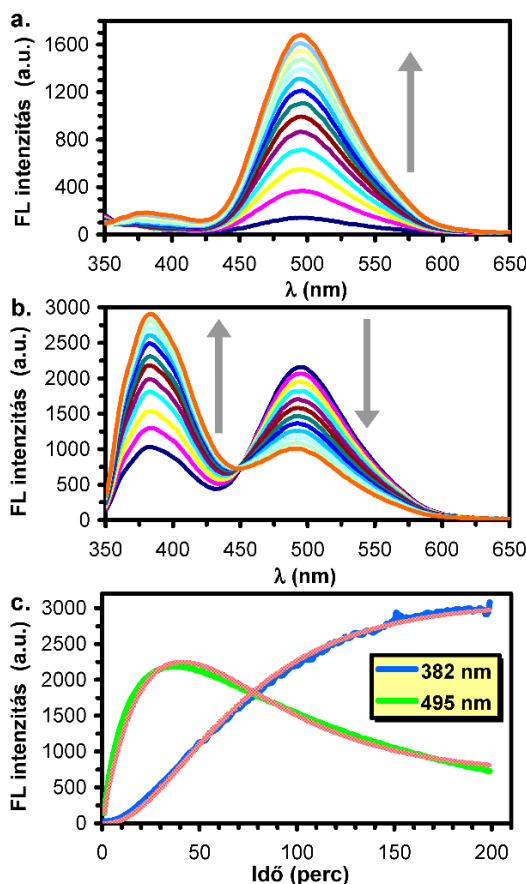
2. táblázat: Az 1,5-ICAN reakciójának pszeudo elsőrendű együtthatói különböző víz/protikus társoldószer keverékekben, HgCl₂ jelenlétében. A kapott sebességi együtthatók hibái ±10% -on belül voltak. Kísérleti körülmények: [1,5-ICAN] = $2,5 \times 10^{-6}$ mol/l, [HgCl₂] = $1,2 \times 10^{-3}$ mol/l és T = 25 °C.

	k (perc ⁻¹)	[H ₂ O] (mol/L)				
		5,5	11,1	16,7	22,2	27,8
EtOH	k_{Hg} (k_1)	0,030	0,043	0,086	0,20	-
	$k_{H_2O}+k_{R'OH}$ (k_2)	0,43	0,40	0,63	0,68	-
iPrOH	k_{Hg} (k_1)	-	0,024	0,045	0,095	0,17
	$k_{H_2O}+k_{R'OH}$ (k_2)	-	0,091	0,14	0,12	0,18

Továbbá, amint az a 14. ábrából és a 2. táblázat adataiból kiderül, a sebességi együttható (k_{Hg}) értékek jelentősen növekednek a vízkoncentráció növekedésével. Az EtOH-ban kifejezett k_{Hg} relatív értéke az iPrOH-t tartalmazó oldószerkeverékekben kapott értékekhez képest nem változik jelentősen, azaz a $k_{Hg,EtOH}/k_{Hg,iPrOH}$ arány körülbelül 2 (lásd a szaggatott kerettel jelölt adatokat a 2. táblázatban). Így az adatok azt is mutatják, hogy a reakciók gyorsabban mennek végbe az EtOH-t tartalmazó oldószerkeverékekben, mint az azonos összetételű iPrOH-ban. Ezzel szemben a $k_{H_2O} + k_{R'OH}$ értékei nem változnak jelentősen, de az 1,5-DAN és a karbamát származék képződéséhez vezető reakciók aránya jelentősen változik, amint azt fentebb bemutattam (13b. ábra). Az iPrOH/víz keverékekhez képest EtOH/vízben tapasztalható nagyobb k_{Hg} és $k_{H_2O} + k_{R'OH}$ értékek (dielektromos állandó = 18,3, ⁶¹) nagy valószínűséggel a víz/EtOH oldószerkeverék (dielektromos állandó = 22,4 ⁶¹) a víz/iPrOH rendszerénél nagyobb polaritásnak tulajdonítható.

4.1.3 Az 1,5-DIN reakciója vízzel és HgCl_2 -vel

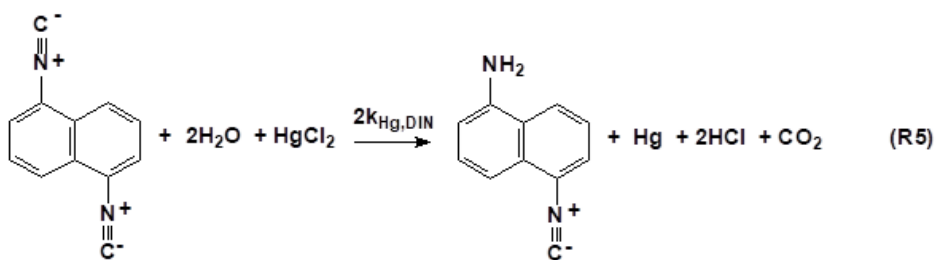
Két izocianocsoport diaminná történő átalakulásának kinetikáját is tanulmányoztam víz és HgCl_2 jelenlétében. Ebben a kísérletben az 1,5-diizocianonaftalin (1,5-DIN) reakcióját az 1,5-ICAN-hoz hasonlóan, fluorimetriásan követtem. Az 1,5-DIN tartalmú reakcióelegy fluoreszcens spektrumának változásait a 15. ábra mutatja.



15. ábra: Az emissziós spektrumok alakulása az 1,5-DIN THF/víz és HgCl_2 keverékével való reakciója során 0-27 perc (a) és 90-210 perc időintervallumban (b) A fluoreszcencia intenzitásának változásait $\lambda = 382$ nm és 495 nm mellett 60 másodperces időközönként rögzítettem. A kék és a zöld folytonos vonalak a mért fluoreszcencia intenzitást $\lambda = 382$ nm és 495 nm-en, a piros folytonos vonalak pedig a (33) és (34) egyenlet segítségével illesztett

görbékét jelentik (15c. ábra). Kísérleti körülmények: $[H_2O] = 27,8 \text{ mol/L}$ ($\sim 50 \% (V/V)$), $[1,5\text{-DIN}] = 2,5 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$, $[HgCl_2] = 1,2 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ és $T = 25^\circ C$

Amint az a 15a. és 15b. ábrákon látható, 495 nm-nél megjelent az 1,5-ICAN-ra jellemző emissziós sáv és ennek a sávnak az intenzitása folyamatosan növekszik, amíg el nem éri a maximális értéket, amelyet az intenzitás lassú csökkenése követ. Ezen kívül, az 382 nm-en történő intenzitás csökkenéssel párhuzamosan egy új sáv alakul ki, amelynek intenzitása folyamatosan növekszik. Ez a megállapítás egyszerűen értelmezhető: a kezdeti 1,5-DIN nem fluoreszcens, és egyik izociano csoportjának aminná történő átalakulása során fluoreszcens 1,5-ICAN keletkezik (16. ábra).



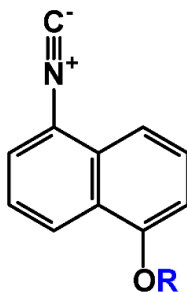
16. ábra: 1,5-DIN reakciója vízzel és HgCl₂-vel. A sebességi együttható kettes szorzója ($k_{Hg,DIN}$) azt fejezi ki, hogy az 1,5-DIN-ben két izocianocsoport van, amelyek azonos reaktivitásúak.

A reakció kezdetekor 492 nm-en a spektrum intenzitásának meredek növekedése kíséri, amelyet az idővel (30 perc után) mérsékelt csökkenés követ. Ezzel a folyamattal párhuzamosan, mivel a maradék izociano csoport aminná alakul, így látható az 1,5-ICAN képződése az R1, R2 és R3 reakciókon keresztül (8. ábra). 90 perc elteltével 382 nm-en egy spektrum figyelhető meg. Az "ABC" modellnek az R5 (16. ábra) reakcióval való kiegészítésével és az 1,5-ICAN rendszerbenn meghatározott pszeudo elsőrendű sebesség-együtthatók alkalmazásával (víz/THF keverékben $[H_2O] = 27,8 \text{ mol/l}$, azaz k_{Hg} (k_1) = 0,025 és k_{H_2O} (k_2) = 0,22 min^{-1} mellett (1. táblázat), valamint a (33) és

(34) egyenlet illesztésével jó egyezést találtunk, ami az a 15c. ábrán látható. Az illesztés alapján a $k_{Hg,DIN}$ $0,015 \text{ min}^{-1}$, ami kisebb, mint k_{Hg} , jelezve az aminocsoport pozitív szubsztitúciós hatását az izocianocsoporthoz képest.

4.1.4 Az ICOL és ICON szerkezete

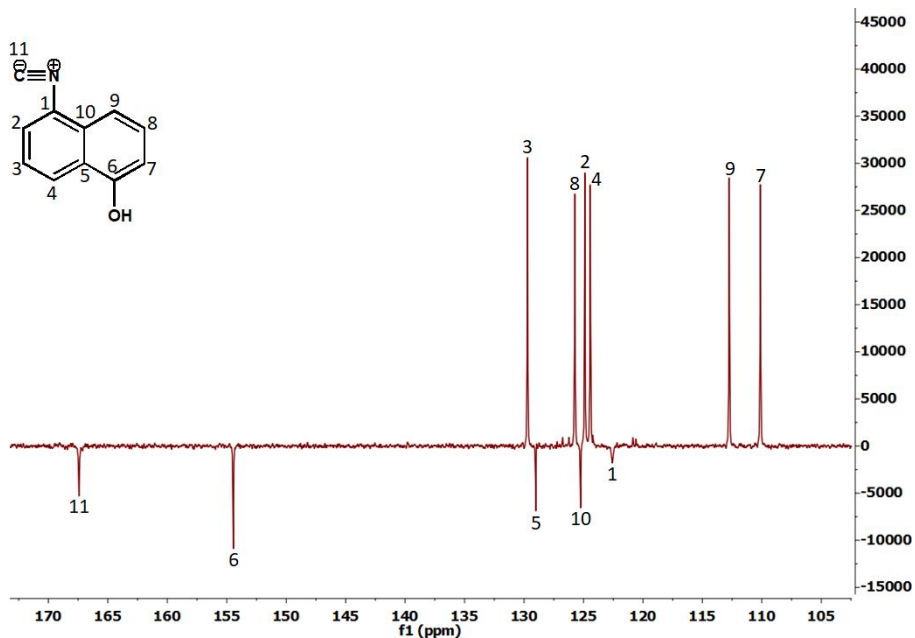
A 17. ábrán látható az ICOL és ICON szerekezete. Jellegzetes push-pull szerkezetű molekula mind a kettő, ahol a naftalin vázhoz egy elektron donor (a hidroxil, illetve oktiloxi csoport), és egy elektronakceptor (izociano csoport) kapcsolódik.



$R = -H$, 5- izocianonaftalin-1-ol (ICOL)

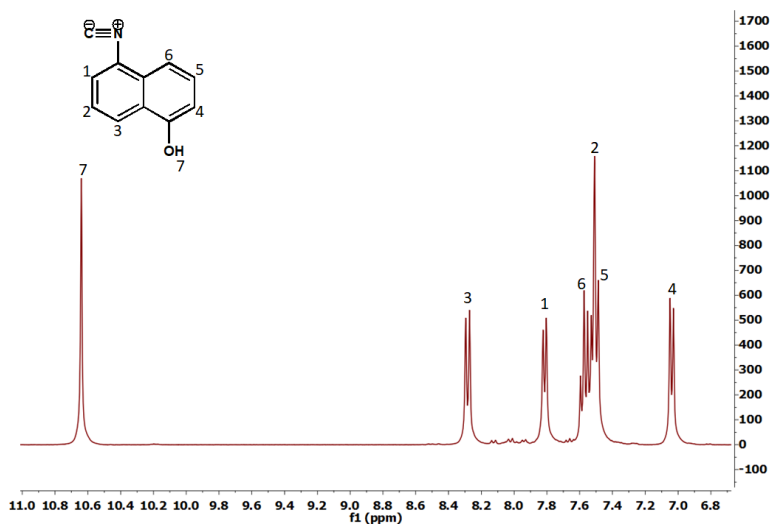
$R = -C_8H_{17}$, 5-izociano-1-(oktiloxi)naftalin (ICON)

17. ábra: A vizsgált vegyületek kémiai szerkezete



18. ábra: Az 5-izocianonftalin-1-ol (ICOL) ¹³C-NMR spektruma

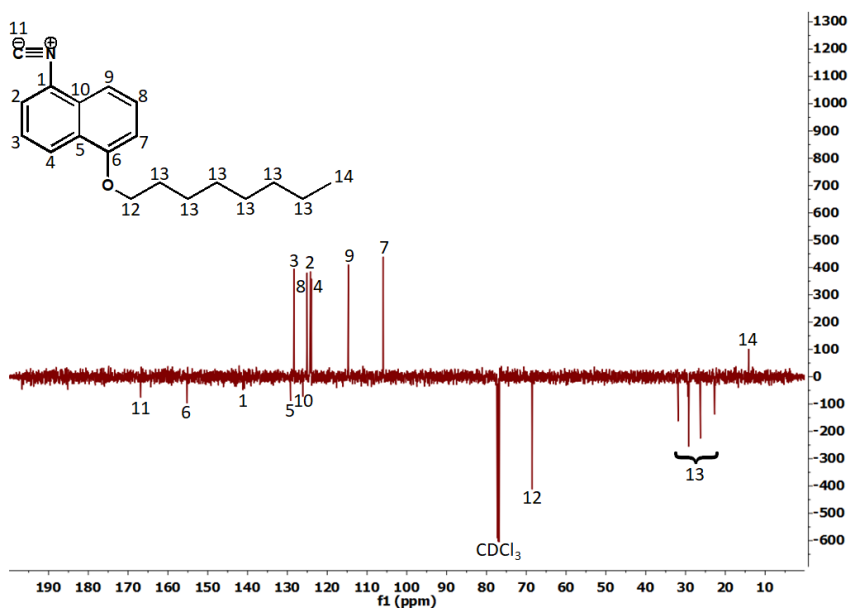
δ_c (DMSO-D6, 90 MHz): 110.0 (C2), 112.7 (C4), 122.5 (C8), 124.4 (C6), 124.8 (C9), 125.2 (C7), 125.7 (C3), 129.0 (C10), 129.7 (C1,C5), 167.4 (CNC) ppm.



19. ábra: Az 5-izocianonftalin-1-ol (ICOL) ¹H-NMR spektruma

δ_H (DMSO-D₆, TMS, 360 MHz): 7.03 (2H), 7.55 (3H), 7.81(1H), 8.28 (1H), 10.64 (1H, C-OH)ppm.

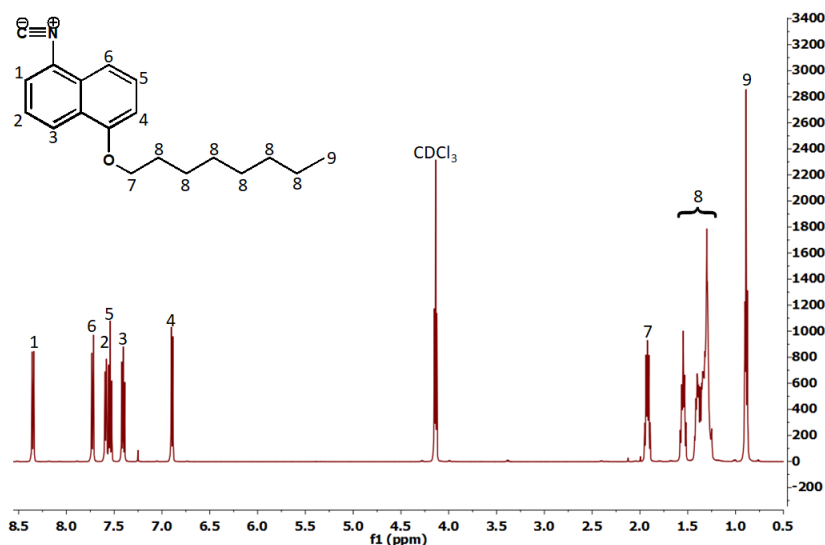
A ICOL szerkezetét NMR 500 műszerrel határoztam meg a kapott ¹³C- és ¹H-NMR spektrumait a 18. és 19. ábra tartalmazza.



20. ábra: Az 5-izociano-1-oktiloxinaftalin (ICON) ¹³C-NMR spektruma

δ_C (CDCl₃, 500 MHz) : 14.1 ppm (C14), 22.6 - 31.8 ppm (C13), 68.5 ppm (C12), 105.9 ppm (C7), 114.6 ppm (C9), 123.9 ppm (C4), 124.1 ppm (C2), 125.1 ppm (C8), 126.0 ppm (C10), 128.3 ppm (C3), 129.1 ppm (C5), 141.0 ppm (C1), 155.2 ppm (C6), 166.7 ppm (CNC).

A 20. és 21. ábrán látható az 5-izociano-1-oktiloxinaftalin (ICON) ¹H- és ¹³C-NMR spektruma.

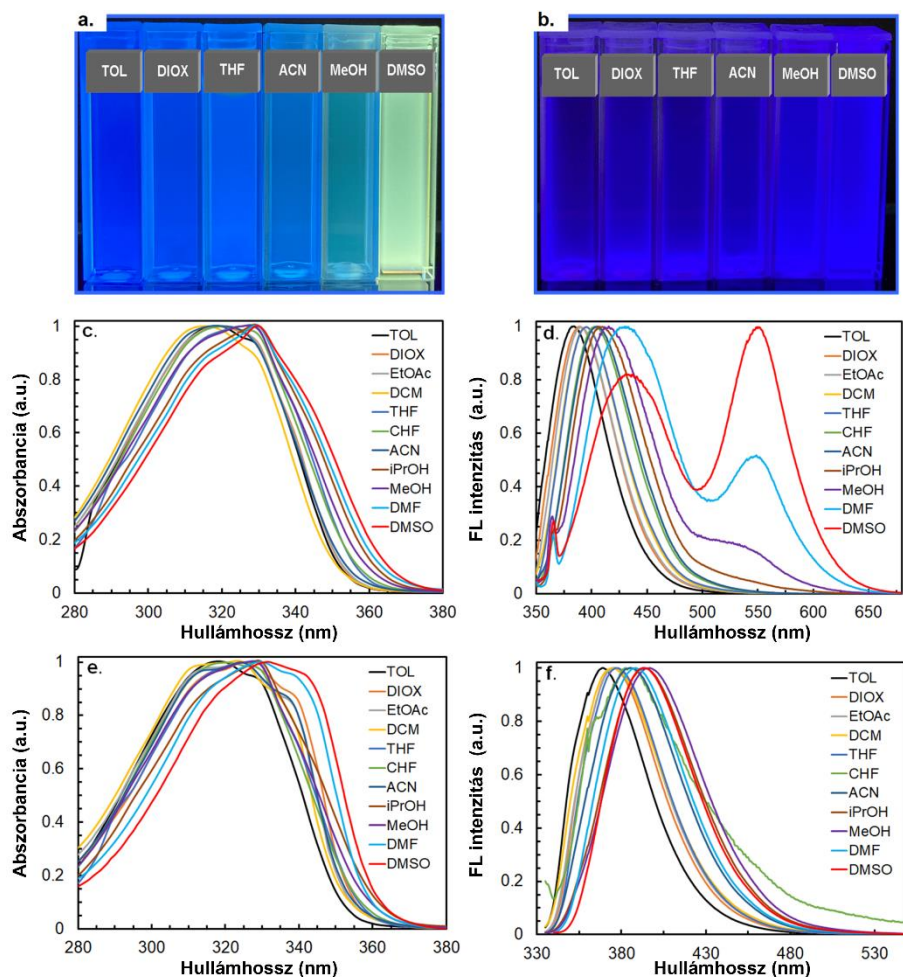


21. ábra: Az 5-izociano-1-oktiloxinaftalin (ICON) ^1H -NMR spektruma

δ_{H} , (CDCl_3 , TMS, 500 MHz): 0.89 pm (3H), 1.25-1.55 pm (12H) 1.93 pm (2H), 6.90 pm (1H), 7.41 pm(1H), 7.54 pm (1H), 7.59 pm (1H), 7.73 pm (1H) 8.35 (1H) ppm.

4.1.5 UV-VIS és fluoreszcencia: Az izocianonaftalin-1-ol (ICOL) és az 5-izociano-1-(oktiloxi)naftalin (ICON) tulajdonságai

Az 5-izociano-naftalin-1-ol (ICOL) és 5-izociano-1(oktiloxi)naftalin (ICON) abszorpciós (UV-Vis) és emissziós tulajdonságait különböző polaritású és protondonor/akceptor tulajdonságokkal rendelkező oldószerek felhasználásával vizsgáltam. A spektrofotométeren mért abszorbancia spektrumokat és az emissziós spektrumokat a 22. ábra mutatja, míg az ICOL és ICON oldatok mért optikai tulajdonságait a 3., illetve a 4. táblázat tartalmazza.



22. ábra: Az 5-izocianonaftalin-1-ol (ICOL) **(a)** és az 5-izociano-1-(oktiloxi)-naftalin (ICON) fluoreszcenciájának megjelenítése **(b)**. Az ICOL **(c,d)** és ICON **(e,f)** UV-Vis és fluoreszcencia spektruma különböző oldószerekben oldva.

A 22a. ábrán az ICOL, a 22b. ábrán az ICON fluoreszcenciás jelensége látható különböző oldószerek esetében, míg a 22c. és a 22d. ábra az ICOL UV és fluoreszcencia spektrumát mutatja be. A 22e. és 22f. ábrán pedig az ICON UV és fluoreszcencia spektrumai láthatóak. Észrevehető a 22d. spektrumon a DMSO (nagyobb) és DMF esetében egy 550 nm körül megjelenik még egy csúcs.

A fluoreszcenciás mérések eredményeit két táblázatban foglaltam össze: a 3. táblázat az ICOL, míg a 4. táblázat az ICON eredményeit tartalmazza.

3. táblázat: ICOL mért és számított optikai tulajdonságai

5-izocianonaftalin-1-ol						
No.	Oldószer	λ_{em} (nm)	λ_{ex} (nm)	$\Delta\nu$ (cm⁻¹)	ε (M⁻¹cm⁻¹)	Φ_F
1	TOL	384	320	5208	6005	0.44
2	DIOX	389	323	5253	5540	0.60
3	EtAc	392	322	5546	6420	0.43
4	DKM	395	318	6130	6150	0.70
5	THF	395	329	5079	6160	0.69
6	CHCl ₃	402	322	6180	5510	0.51
7	ACN	404	320	6498	5900	0.47
8	i-PrOH	410	330	5913	5330	0.12
9	MeOH	415	329	6299	6220	0.04
10	DMF	432	330	7155	6200	0.07
11	DMSO	435	329	7407	5200	0.05

ahol, λ_{em} az emisszós maximum, λ_{ex} a gerjesztési maximum, $\Delta\nu$ a Stokes - eltolódás, ε a moláris abszorpciós koefficiens, Φ_F a kvantum hatások.

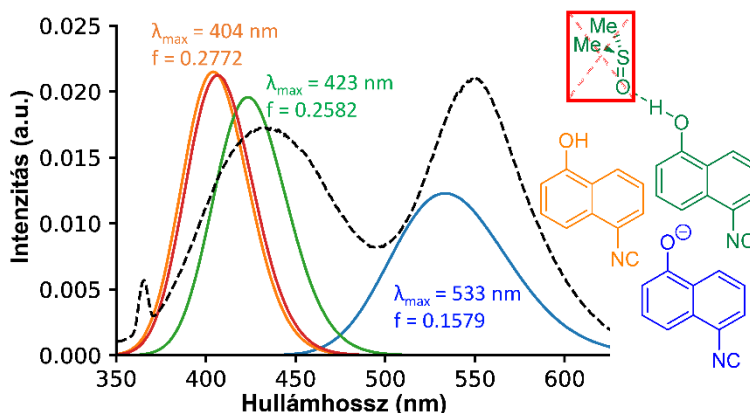
4. táblázat: ICON mért és számított optikai tulajdonságai

5-izociano-1-(oktiloxi)naftalin						
No.	Oldószer	λ_{em} (nm)	λ_{ex} (nm)	$\Delta\nu$ (cm ⁻¹)	ε (M ⁻¹ cm ⁻¹)	Φ_F
1	TOL	368	325	3595	10890	0.36
2	DIOX	375	326	4008	11900	0.50
3	EtAc	376	325	4173	11920	0.33
4	DKM	374	320	4512	11190	0.17
5	THF	377	327	4056	12020	0.41
6	CHCl ₃	385	328	4514	10870	0.07
7	ACN	385	325	4795	10850	0.38
8	i-PrOH	394	322	5675	10020	0.42
9	MeOH	395	320	5934	9690	0.33
10	DMF	387	330	4463	11800	0.50
11	DMSO	395	334	4624	11820	0.68

ahol, λ_{em} az emissziós maximum, λ_{ex} a gerjesztési maximum, $\Delta\nu$ a Stokes - eltolódás, ε a moláris abszorpciós koefficiens, Φ_F a kvantum hatásfok.

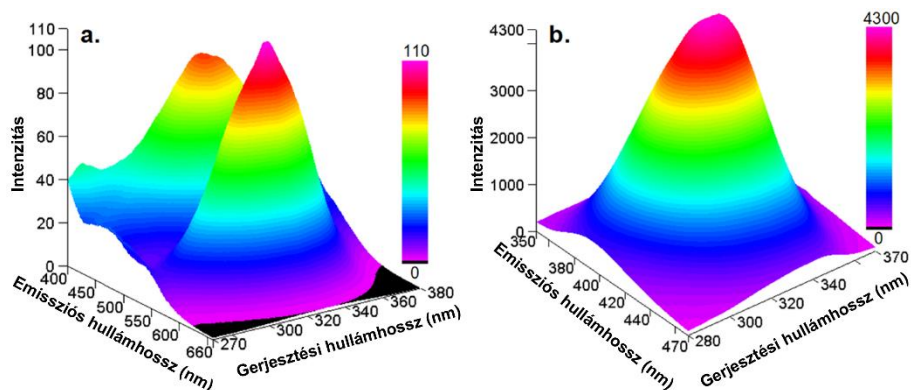
Amint a 22. ábrán, valamint az 3. és 4. táblázat adataiból látható, mind az ICOL, mind az ICON pozitív szolvatokróm hatást mutat, azaz az abszorpciós és az emissziós spektrum vörösfény irányába tolódik el az oldószer polaritásának növelésével. Az ICON gerjesztési maximumai és moláris abszorpciós együtthatói nagyobbak, mint az ICOL esetében a hosszú alkilánc (oktil) pozitív induktív hatása miatt. Az ICOL emissziós maximumai 385 nm-ről 435 nm-re tolódnak el, míg az ICON esetében 368 nm-ről 395 nm-re, a toluoltól a DMSO felé haladva. Ez arra utalhat, hogy a naftol-hidroxilcsoport gerjesztett állapotban hatékonyabban kölcsönhatásba léphet a környező oldószermolekulákkal, ezáltal csökkentve az alap és a gerjesztett állapot közötti energiarést. Továbbá a 3. és 4. táblázat adataiból az is megállapítható, hogy az ICOL kvantumhasznosítási tényezője jelentősen csökken az oldószer polaritásának növekedésével; például a Φ_F értéke THF-ben 0,69-ről 0,07-re csökken DMF-ben. A poláris oldószerekben a kisebb Q_F -értékek az alap- és a gerjesztett állapot közötti szűkebb energiarésnek tulajdoníthatók, amely

ezekben az oldószerekben megnövekedett sugárzás nélküli lecsengési sebességgel jár. Az ICON esetében nem állapítható meg hasonló összefüggés. Az egyik legérdekesebb eredmény azonban az ICOL kettős emissziója poláris oldószerekben. Az 1-naftol is kettős emissziót mutat, de az ICOL-ban az elektronszívó izocianocsoport jelenléte miatt a második emissziós sávja hosszabb hullámhossznál (550 nm) jelenik meg, mint az 1-naftol esetében (460 nm)⁸⁸. Továbbá, amint az 22d. ábrán látható, a sáv intenzitása 550 nm körül növekszik a rövidebb hullámhosszú sávhoz képest $i\text{PrOH} < \text{MeOH} < \text{DMF} < \text{DMSO}$ sorrendben, ahogy ezt a színváltozás is jelzi (22. ábra). Mivel az ICON esetében nem találtunk ilyen kettős emissziót, a hosszabb hullámhosszú sáv az 1-naftolhoz hasonlóan a gerjesztett anion (azaz izocianonaftolat ion) emissziójának tulajdonítható, amely ESPT útján keletkezik. Ezt a 23. ábrán látható időfüggő sűrűségfunkcionál-elmélettel (TD-DFT) számított eredmények is alátámasztják. A számított spektrumok azt mutatják, hogy egy egyszerű ICOL-DMSO kölcsönhatás nem magyarázza meg a nagy csúcselválást, és hogy az 550 nm-en megfigyelt emisszió a deprotonált ICOL-nak tulajdonítható.



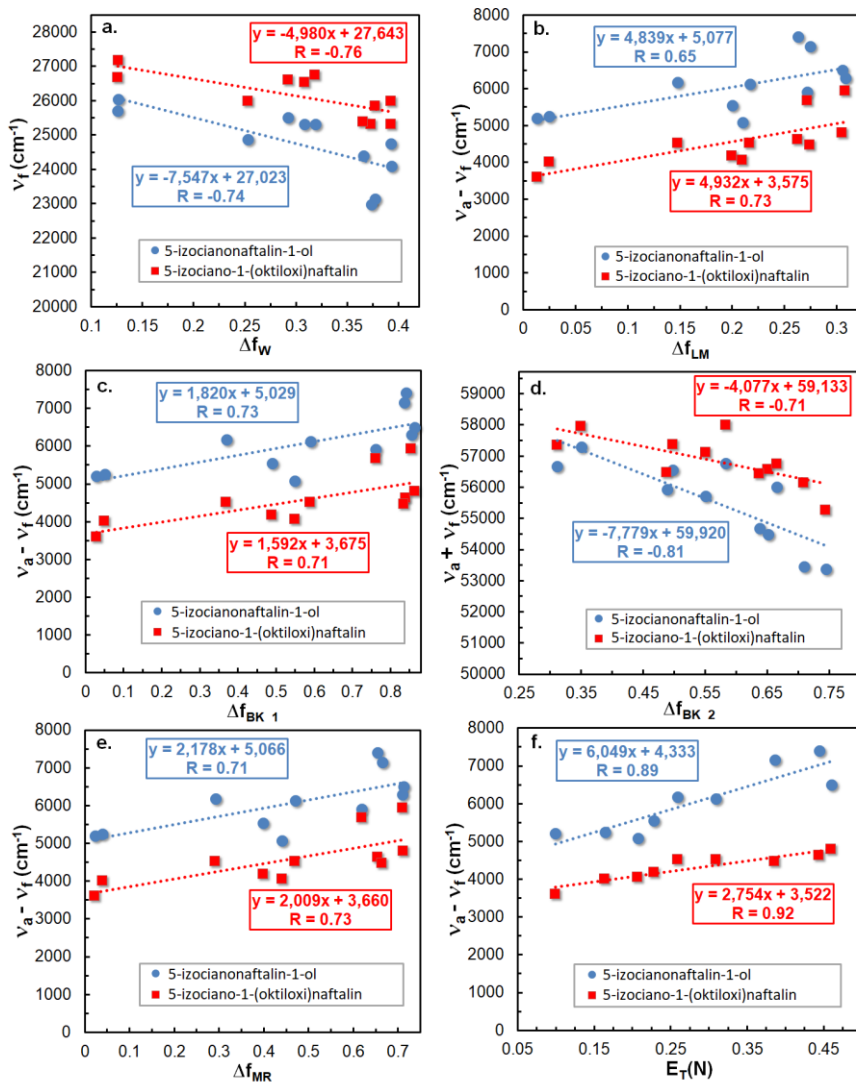
23. ábra: A dimetil-szulfoxidban (DMSO) lévő 5-izocianonaftalin-1-ol (ICOL) számított emissziós spektrumai, amelyek csak az első emissziós csúcsokat mutatják be.

A narancssárga és kék vonalak megfelelnek az ICOL semleges és deprotonált formáinak. A zöld vonal az ICOL-DMSO adduktnak felel meg. A piros vonal annak az esetnek felel meg, amikor a DMSO-t eltávolítottuk az adduktból, miközben az ICOL molekula geometriája változatlan maradt. A szaggatott fekete vonal a kísérleti spektrumot mutatja be, amelyet átméreteztem, hogy megfeleljen a számított spektrum intenzitástartományának.



24. ábra: Dimetil-szulfoxidban (DMSO) oldott 5-izocianonaftalin-1-ol (ICOL) **(a)** és 5-izociano-1-(oktil-oxi)-naftalin (ICON) **(b)** 3D-fluoreszcens diagramja.

Az ICOL és az ICON 3D-fluoreszcencia spektrumai a 24. ábrán látható. Amint a 24. ábrából kiderül, nem jelenik meg új sáv az ICON gerjesztési hullámhosszának megváltoztatásakor (24b. ábra), ami egyetlen emittáló anyag jelenlétét jelzi. Megfigyelhető azonban, hogy az ICOL DMSO-oldat esetében (24a. ábra) a gerjesztési hullámhossz változtatásával a rövidebb és a hosszabb hullámhossznál lévő emissziós sáv intenzitása párhuzamosan változik. Ez utóbbi megállapítás arra utal, hogy a gerjesztés egyetlen anyagon történik, de a kibocsátás két különböző anyagból származik. A következőkben az ICOL és az ICON szolvatokróm tulajdonságaira összpontosítottam. Különböző oldószerek hatásának tanulmányozása az ICOL és ICON emissziós viselkedése, valamint az alap (μ_G) és a gerjesztett állapotú dipólusmomentum (μ_E) becsléseire, a Weller ²⁴, Lippert –Mataga ^{27,29}, Bilot-Kawski ^{89,90}, McRea ⁹¹ és Reichardt ⁹² módszereket alkalmaztam. Ezen módszerek szerint a spektrális jellemzők, pl. a Stokes-eltolódások, vagy a maximális emissziós intenzitású hullámszám a megfelelő oldószer polaritás függvényeként ábrázolható, és a kísérleti adatokhoz való lineáris illesztésekből a fajlagos dipólusmomentumok meghatározhatók. Ezek az illesztéseket a 25. ábrán mutatom be.



25. ábra: (a) Weller; **(b)** Lippert-Mataga; **(c)** és **(d)** Bilot-Kawski; **(e)** McRea és **(f)** Reichardt diagrammok. Az ábrákon az 5-izocianonaftalin-1-ol (ICOL) és az 5-izociano-1-(oktiloxi)naftalin (ICON) polaritás függvényei láthatóak.

A 25. ábrán a jelölések a következők: Δf_w , Δf_{LM} , Δf_{BK_1} , Δf_{BK_2} és Δf_{MR} a Weller, Lippert-Mataga, Bilot-Kawski és a McRea oldószer polaritás függvényei. Az $E_T(N)$ a normalizált Reichardt-paraméter, R pedig a korrelációs együttható.

A 25. ábrán látható diagrammok értékeléséhez és elemzéséhez használt valamennyi egyenletet az irodalmi áttekintésben foglaltam össze. Az adatok a 5. és 6. táblázatban találhatóak.

5. táblázat. Oldószerek törésmutató és permittivitás értékei

Ssz	Oldószer	n	ϵ
1	1,4-dioxán	1,422	2,25
2	2-propanol	1,378	17,90
3	Acetonitril	1,344	37,50
4	Kloroform	1,448	4,81
5	Diklórmétán	1,425	8,93
6	Dimetilszulfoxid	1,480	46,70
7	Etil-acetát	1,372	6,02
8	Metanol	1,328	32,7
9	N,N-dimetilformamid	1,430	36,71
10	tetrahidrofurán	1,407	7,58
11	Toluol	1,497	2,38

6. táblázat: Az oldószerek Kamlet-Taft (α - oldószer savassága, β - oldószer bázikussága, π^* - oldószer polarizálhatósága) paraméterei és E_N^T értékei

Ssz	Oldószer	α	β	π^*	E_N^T
1	1,4-dioxán	0,00	0,37	0,49	0,164
2	2-propanol	0,76	0,84	0,48	0,546
3	Acetonitril	0,19	0,40	0,66	0,460
4	Kloroform	0,20	0,10	0,69	0,259
5	Diklórmétán	0,13	0,10	0,73	0,309
6	Dimetilszulfoxid	0,00	0,76	1,00	0,444
7	Etil-acetát	0,00	0,45	0,45	0,228
8	Metanol	0,98	0,66	0,60	0,762
9	N,N-dimetilformamid	0,00	0,69	0,88	0,386
10	tetrahidrofurán	0,00	0,55	0,50	0,207
11	Toluol	0,00	0,11	0,49	0,099

Amint a 25. ábra mutatja, mérsékelt korrelációs együtthatójú lineáris illesztéseket kaptam. A dipólusmomentumok ezen grafikonokból becsült értékeit az 7. táblázatban foglaltam össze.

7. táblázat: Az 5-izociano-naftalin-1-ol és az 5-izociano-1-(oktiloxi)naftalin Weller-(W), Lippert-Mataga (LM), Bilot-Kawski (BK), McRea (MR), Reichardt-(R) és időfüggő sűrűségfukcionál-elméleti (TD-DFT) módszerei által meghatározott alapállapot (μ_G), gerjesztett állapot (μ_E) és a gerjesztett és alapállapotú ($\Delta\mu$) dipólmomentumok közötti különbség. A dipólmomentumok Debye (D) egységekben vannak megadva.

	<i>5-izocianonaftalin-1-ol (ICOL)</i>					
	W	LM	BK	MR	R	TD-DFT
μ_G (D)	-	-	$5,6 \pm 0,4$	-	-	5,3
μ_E (D)	$6,9 \pm 1,0$	-	$9,0 \pm 0,5$	-	-	9,3
$\Delta\mu$ (D)	-	$5,5 \pm 1,1$	$3,4 \pm 0,9$	$3,7 \pm 0,6$	$3,4 \pm 0,3$	4,0
	<i>5-izociano-1-(oktiloxi)naftalin (ICON)</i>					
	W	LM	BK	MR	R	TD-DFT
μ_G (D)	-	-	$2,5 \pm 0,4$	-	-	5,8
μ_E (D)	$5,6 \pm 0,8$	-	$5,7 \pm 0,5$	-	-	10,4
$\Delta\mu$ (D)	-	$5,6 \pm 0,9$	$3,2 \pm 0,9$	$3,6 \pm 0,6$	$2,3 \pm 0,2$	4,6

Az 7. táblázatban bemutatott adatok szerint valamennyi alkalmazott modell közel egyezik abban, hogy az ICOL és ICON molekulák gerjesztéskor közelítőleg azonos dipólváltozásokat ($\Delta\mu$) mutatnak. A Bilot-Kawski, McRea és Reichardt módszerek hasonló $\Delta\mu$ értékeket eredményeztek (3,2 D-3,7 D, kivéve az ICON-t), míg a Lippert-Mataga megközelítés nagyobb $\Delta\mu$ értékeket jósolt mind az ICOL, mind az ICON esetében (azaz 5,5 D és 5,6 D). A μ_G , μ_E és $\Delta\mu$ értékeket szintén TD-DFT-vel számítottuk ki. A számolt értékek és az eredmények megegyeznek az ICOL molekula empirikus Bilot-Kawski modelljével.

A Kamlet és Taft (KT) ^{93,94} által javasolt multilineáris regresszióanalízist (MLR) is elvégeztem, hogy megismerjem a specifikus és nem specifikus anyag kölcsönhatások az ICOL és az ICON fluoreszcencia tulajdonságaira gyakorolt hatását. A KT-paramétereket, mint például a gázfázisú π - π^* elektronikus átmenet (ν_o) fluoreszcens hullámszáma, a hidrogénkötés-donor (a_α), a hidrogénkötés-akceptor (b_β) kölcsönhatás jellemző paramétereket és a polaritást/polarizálhatóságot (c_{π^*}) a (14) egyenletnek a kísérleti adatokhoz való illesztésével becsültem meg.

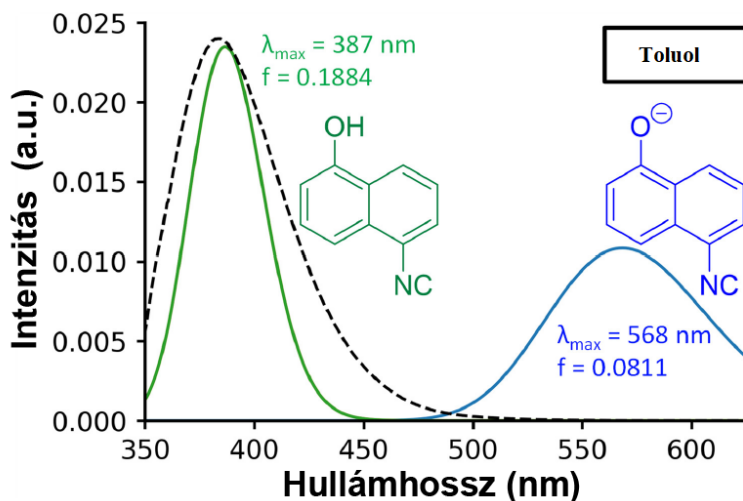
$$Y = Y_o + \alpha a_\alpha + \beta b_\beta + \pi^* c_{\pi^*} \quad (14)$$

ahol Y a megfigyelt kibocsátási maximumot (ν_F) vagy a Stokes-eltolódást ($\Delta\nu$) jelöli, Y_o a kibocsátási maximum (ν_o) vagy a Stokes-eltolódás ($\Delta\nu_o$) a gázfázisban; α , β és π^* jelentése az oldószerek savassága, bázikussága és polaritása/polarizálhatósága. Az a , b és c együtthatók tulajdonképpen azt adják meg, hogy a vizsgált jellemző egy adott oldószerben milyen mértékben függ az oldószer tulajdonságait leíró α , β és π^* paraméterektől. Például az a paraméter megmutatja, hogy a Y mennyire érzékeny az oldószer savasságára (α)

Ahogy az a 8. táblázat adataiból kiderül, a (14) egyenletben szereplő összes oldószerparaméter negatív a ν_F -ek esetében, ami megerősíti, hogy mindegyik paraméter hozzájárult az emissziós spektrumokban megfigyelt vöröseltolódáshoz. Másrészt, a legnagyobb abszolút c_{π^*} értékek alapján megállapítható, hogy a nem specifikus oldott anyag-oldószer kölcsönhatások gyakorolták a legnagyobb hatást mind az ICOL, mind az ICON emissziós spektrumára. Ezen kívül a b_β magasabb abszolút értékei (1730 cm^{-1} és 1305 cm^{-1}) az a_α -hoz képest (615 cm^{-1} és 1050 cm^{-1}) megerősítik, hogy az ICOL és az ICON tulajdonságait elsősorban az oldószer bázikussága határozza meg.

8.táblázat: A Kamlet-Taft paraméterek (Y_o , a_α , b_β , c_{π^*}) és hibáik az 5-izocianonaftalin-1-olra és az 5-izociano-1-(oktiloxi)naftalinra a kibocsátási maximumból (ν_f) becsülve) és a Stokes-eltolás ($\Delta\nu$).

	<i>5-izocianonaftalin-1-ol (ICOL)</i>			
	Y_o (cm ⁻¹)	a_α (cm ⁻¹)	b_β (cm ⁻¹)	c_{π^*} (cm ⁻¹)
ν_f (cm ⁻¹)	28320 ± 2890	-615 ± 245	-1730 ± 310	-4180 ± 445
$\Delta\nu$ (cm ⁻¹)	3250 ± 380	555 ± 320	315 ± 210	4000 ± 580
	<i>5-izociano-1-(oktiloxi)naftalin (ICON)</i>			
	Y_o (cm ⁻¹)	a_α (cm ⁻¹)	b_β (cm ⁻¹)	c_{π^*} (cm ⁻¹)
ν_f (cm ⁻¹)	28100 ± 190	-1050 ± 130	-1305 ± 235	-1735 ± 250
$\Delta\nu$ (cm ⁻¹)	3730 ± 1020	2520 ± 700	-2540 ± 1270	2980 ± 1360



26. ábra: Az ICOL toluolban kifejezett számított emissziós spektruma, amely csak az első emissziós csúcsokat mutatja a protonált és a nem protonált forma esetében.

Az összes spektrumot egységnyi területre normalizáltam (26. ábra). A zöld és kék vonalak az ICOL semleges és deprotonált formáinak felelnek meg, csak implicit solvatációt használva. A szaggatott fekete vonal a kísérleti spektrumnak felel meg, amelyet átméreteztem, hogy megfeleljen a számított spektrumok maximális intenzitásának.

4.1.6 Az ICOL-származék savassága

Mint korábban említettem, az ICOL kettős emissziója poláris oldószerekben kisebb hullámhosszakon az ICOL semleges formájának, míg a nagyobb hullámhosszakon történő emisszió az ICOL deprotonált formájának tulajdonítható. Az ICOL azonban gyengén fluoreszkál vízben, és csak egy alacsony intenzitású sáv van jelen 540 nm-nél, körülbelül 0,007 kvantumhasznosítási tényező mellett, ami az ICOL semleges formájának hiányát jelzi. Az ICOL alap- és gerjesztett állapotú pK_a értékeinek meghatározásához az ICOL abszorpciós és emissziós spektrumait különböző pH-értékek mellett vettem fel. Az ICOL pK_a alap- és gerjesztett állapotú értékeit meghatároztam, melyek $8,4 \pm 0,3$ és $0,9 \pm 0,07$ -nek adódtak. Az abszorbancia értékeket két hullámhosszon felírva:

$$Abs(\lambda_1) = \varepsilon_{HA,1}[HA] + \varepsilon_{A,1}[A^-] \quad (38)$$

$$Abs(\lambda_2) = \varepsilon_{HA,2}[HA] + \varepsilon_{A,2}[A^-] \quad (39)$$

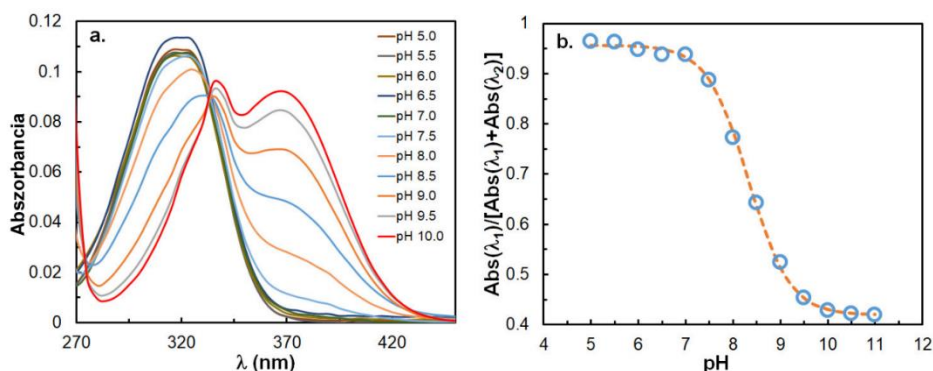
ahol $\varepsilon_{HA,1}$, $\varepsilon_{HA,2}$, $\varepsilon_{A,1}$ és $\varepsilon_{A,2}$ fluoreszcencia esetén a moláris emisszió, a λ_1 és λ_2 a semleges és anionos forma. Az abszorbancia arányokat a következőképpen felírva:

$$\frac{Abs(\lambda_1)}{Abs(\lambda_1) + Abs(\lambda_2)} = \frac{\varepsilon_{HA,1} + \varepsilon_{A,1} \left[\frac{K_a}{[H^+]} \right]}{\varepsilon_{HA,1} + \varepsilon_{A,1} \left[\frac{K_a}{[H^+]} \right] + \varepsilon_{HA,2} + \varepsilon_{A,2} \left[\frac{K_a}{[H^+]} \right]} \quad (40)$$

egyszerűsítve és behelyettesítve a $p_1 = \varepsilon_{A,1}/\varepsilon_{HA,1}$; $p_2 = \varepsilon_{A,2}/\varepsilon_{HA,1}$; $p_3 = \varepsilon_{HA,2}/\varepsilon_{HA,1}$;

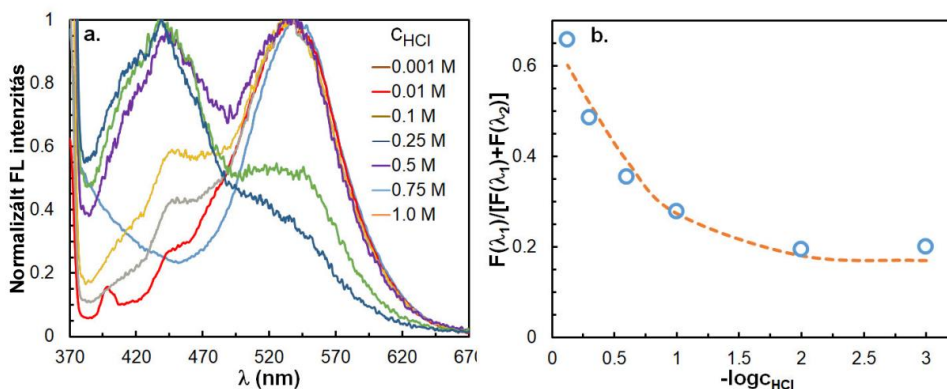
$$\frac{\text{Abs}(\lambda_1)}{\text{Abs}(\lambda_1) + \text{Abs}(\lambda_2)} = \frac{1 + p_1 10^{\text{pH} - \text{pK}_a}}{1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}_a} (p_1 + p_2) + p_3} \quad (41)$$

A fluoreszcencia spektrumok esetében megfigyelhető, hogy az oldat savasságának növelésével az emissziós intenzitások csökkentek, valószínűleg a H^+ -ionok kioltása miatt. Ugyanezt az egyenletet (41) alkalmaztam az alapállapotú pK_a meghatározására.



30. ábra: Az abszorpciós spektrum **(a)** és az ICOL normalizált abszorbancia $[\text{Abs}(\lambda_1)/(\text{Abs}(\lambda_1) + \text{Abs}(\lambda_2))]$ (41) értékének változása a pH függvényében **(b)**. Az ICOL koncentrációja $19,7 \mu\text{M}$ és $\lambda_1 = 325 \text{ nm}$ és $\lambda_2 = 365 \text{ nm}$.

A 30b. ábrán normalizált abszorbancia arányt ábrázoltam a pH függvényében. Ebben az esetben arány pár van feltüntetve, ami érzékenyebb detektálást tesz lehetővé. Az ábra jól kifejezi, hogy egy dimenzió nélküli pH függő spektrális arányról van szó.



31. ábra: (a) Az ICOL normalizált emissziós spektrumának és (b) $F(\lambda_1)/(F(\lambda_1)+F(\lambda_2))$ értékének változása a HCl-koncentráció függvényében. Az ICOL koncentrációja 50,6 μM és $\lambda_1 = 440 \text{ nm}$ és $\lambda_2 = 540 \text{ nm}$.

A 31a. ábrán az ICOL normalizált emissziós spektrumai láthatóak különböző HCl koncentrációban. A 31b. ábrán az $F(\lambda_1)/(F(\lambda_1)+F(\lambda_2))$ a fluoreszcencia intenzitásarányt ábrázoltam a pH függvényében. Az $F(\lambda_1)$ a deprotonált forma, ahol, a $\lambda_1 = 440 \text{ nm}$, és az $F(\lambda_2)$ a protonált forma ($\lambda_2 = 540 \text{ nm}$).

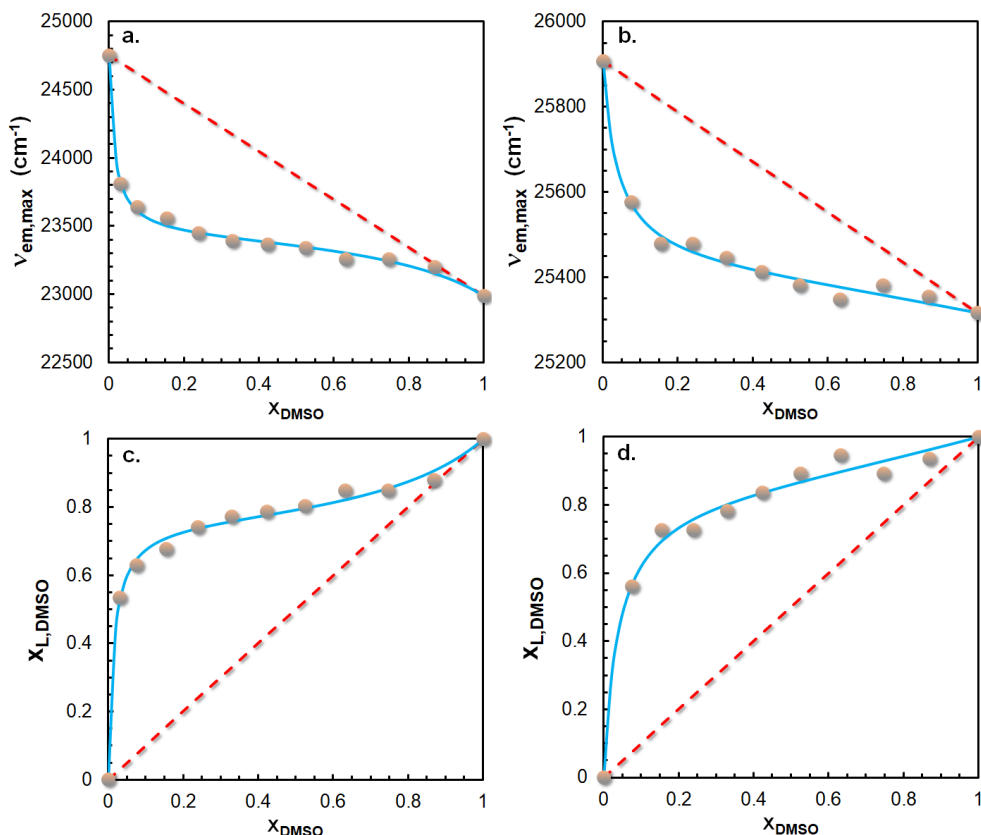
$$pK_a - pK_a^* = \frac{N_A h}{2.3RT} (\nu_{\text{avg,HA}} - \nu_{\text{avg,A}^-}) \quad (42)$$

A Förster- egyenlet (42) az alap- és gerjesztett állapotú savassági állandók különbségét adja meg. Ahol a pK_a az alap állapotban mért savi disszociációs állandó logaritmusa, a pK_a^* a gerjesztett állapotban mért savi disszociációs állandó logaritmusa, N_A az Avogadro- szám ($6,022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$), h a Planck-állandó ($6,626 \cdot 10^{-34} \text{ Js}$), az R az egyetemes gázállandó ($8,314 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$), T a hőmérséklet (K), a $\nu_{\text{avg,A}^-}$ a deprotonált forma (A^-) átlagos frekvenciája az emissziós spektrumban (cm^{-1}), a $\nu_{\text{avg,HA}}$ a protonált forma (HA) átlagos frekvenciája az emissziós spektrumban. A $\nu_{\text{avg,HA}}$ és $\nu_{\text{avg,A}^-}$ különbsége adja meg, hogy mennyire változik a molekula savassága, ha gerjesztett állapotba kerül.

A (42) egyenlet a Förster- egyenlet, amelynek segítségével meghatározható a pK_a^* , ⁹⁵ amely 0,07 értéket eredményezett, ami jó egyezést mutat a kísérletileg meghatározott értékkel. Az 1-naftolra vonatkozó pK_a értékei 9,4 és 0,5 ⁹⁶. Így kísérleteim arra is rámutattak, hogy az elektronszívó izociano-csoport jelenlétében mind az alapállapot, mind a gerjesztett állapot savassága egyidejűleg növelhető. Hasonló hatásokról számoltak be a ciano-naftolok esetében is^{86,87}. Megjegyzendő azonban, hogy a pK_a^* meghatározott értéke csak látszólagos értéknek tekinthető, mivel az anionos forma proton által kiváltott kioltása nagyobb $[H^+]$ -nál is végbemehet ⁸⁸.

4.1.7 Az ICON és ICOL származékok szolvatációja

Az ICOL és az ICON esetében is megvizsgáltam fluoreszcens tulajdonságaikat különböző DMSO/ACN összetételű eleggyel. A mérések eredményeit a 32. ábra tartalmazza.



32. ábra: Az emissziós maximumok változásai a dimetil-szulfoxid (DMSO) móltörtjének függvényében az acetonitril (ACN) + DMSO keverékekben az (a) az (ICOL) és (b) az (ICON) esetében. A DMSO lokális móltört változása a (c) ICOL és (d) ICON a DMSO móltört függvényében. Az ICOL és ICON oldatok koncentrációja rendre 1,68 μ M és 2,45 μ M volt. Az ICOL gerjesztési hullámhossza 320 nm, míg az ICON-é 325 nm. A folytonos kék vonalak a (42) egyenlet alapján számított illesztett görbéket mutatják, míg a piros szaggatott vonalak az ideális (lineáris) viselkedést szemléltetik.

A 32a. ábrából és a 32b. ábrák alapján megállapítható, hogy mind az ICOL, mind az ICON esetében a DMSO domináns szerepet játszik a szolvatációs

burok kialakításában, ami $v_{em,max}$ értékek jelentős eltérésében nyilvánul meg az ideális (lineáris) viselkedéstől. Szelektív szolvatációról akkor beszélünk, ha a fluorofor közvetlen környezetében az oldószerkelet összetétele eltér a makroszkopikus összetételtől^{75,78}.

Ennek számszerű jellemzésére a DMSO móltörtjét az ICOL és ICON molekulák közvetlen környezetében ($x_{L,DMSO}$) a (43) egyenlet segítségével határoztam meg^{97,98}.

$$x_{L,DMSO} = \frac{v_{em,max} - v_{max1}}{v_{max2} - v_{max1}} \quad (43)$$

ahol v_{max1} és v_{max2} rendre az 1. oldószer (acetonitril) és 2. oldószer (DMSO) oldataiban mért emissziós maximumokat jelentik. Amint a 32c. és 32d. ábrán látható, a DMSO lokális móltörtje mind az ICOL, mind az ICON esetében jelentősen eltér a makroszkopikus móltörttől. Például az ICOL rendszerben $x_{DMSO} = 0,03$ mellett a számított lokális DMSO-móltört $x_{L,DMSO} = 0,53$ értéket vett fel. Az emissziós maximumok ($v_{em,max}$) oldószerösszetétel-függésének leírására a kétlépcsős oldószer-csere-modellt alkalmaztam, melyet a (44) egyenlet fejez ki :

$$v_{em,max} = \frac{v_{max1}(1-x_2)^2 + v_{max2}f_{2/1}x_2^2 + v_{max12}f_{12/1}(1-x_2)x_2}{(1-x_2)^2 + f_{2/1}x_2^2 + f_{12/1}(1-x_2)x_2} \quad (44)$$

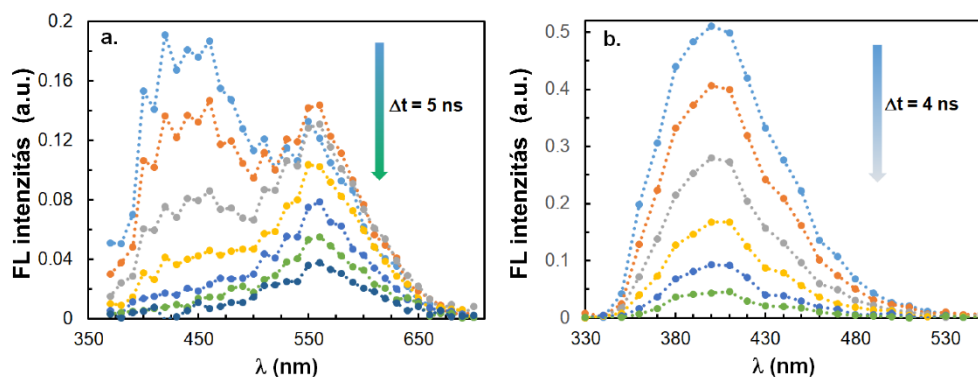
ahol $f_{2/1}$ és $f_{12/1}$ rendre a 2. oldószer (DMSO) és az 1. oldószer (acetonitril) szolvatációjának mértékét jellemzik az 1. oldószerhez viszonyítva, míg v_{max12} az emissziós maximum értéke abban az esetben, amikor a szolvatációs burok az 1. és a 2. oldószer azonos arányban tartalmazza.

A 32a. ábrán a folytonos kék vonal a (44) egyenlet alapján illesztett görbét jelöli. Az illesztés során $v_{max12} = (23\,430 \pm 30) \text{ cm}^{-1}$, $f_{2/1} = 19,0 \pm 7,7$ és $72,9$

$\pm 11,5$ értékeket kaptam az ICOL esetében. Az ICOL-lal ellentétben az ICON esetében azt találtam, hogy az egylépcsős oldószercsere-modell (ebben az esetben $f_{2/1} = f_{12/1}$ a (44) egyenletben)) elegendő a kísérletin $v_{em,max}$ - koncentráció görbe leírására. Az illesztés során $v_{max12} = (25\,460 \pm 20) \text{ cm}^{-1}$ és $f_{2/1} = f_{12/1} = 32,5 \pm 8,7$ paramétereket kaptam.

4.1.8 Az ICOL és az ICON-származékok időfüggő emissziós tulajdonságai (TRES)

Az ICOL és ICON időfüggő emissziós tulajdonságait hat különböző polaritású oldószerben lézerfotometriával tanulmányoztam, és az így kapott emissziós spektrumokat az idő függvényében vettem fel. A kísérletek során a következő oldószereket alkalmaztam: acetonitril, toluol, tetrahidrofurán, diklórmetán, metanol és dimetil-szulfoxid. Az oldatok koncentrációja $1,77 \mu\text{M}$ és $1,96 \mu\text{M}$ volt az ICOL és ICON esetében. A 33. ábrán az ICOL és az ICON DMSO-oldatainak időfüggő emissziós spektrumai láthatók



33. ábra: Az 5-izocianonaftalin-1-ol (ICOL) (a) és az 5-izociano-1-(oktil-oxi)-naftalin (ICON) (b) DMSO-oldatának időfüggő emissziós spektruma. Az ICOL és az ICON koncentrációja rendre $1,77 \mu\text{M}$ és $1,96 \mu\text{M}$. A gerjesztési hullámhossz 355 nm volt.

Amint a 33a. ábrán látható, az ICOL steady-state fluoreszcencia spektrumához hasonlóan az időfelbontású emissziós spektruma (TRES) két sáv jelenlétét is mutatja 430 nm -en és 550 nm -en, amelyek megfelelnek a semleges

izocianonaftol és az izocianonaftolát anionok emissziójának. A vizes DMSO-nak miatt deprotonálódik A 33a. ábráról is látható, hogy a semleges izocianonaftol molekulák fluoreszcencia intenzitása időben lényegesen gyorsabban csökken, mint az izocianonaftolát anionoké, ami idővel vöröseltolódást idéz elő. Ezen kívül az ICON DMSO-oldatának TRES-spektrumai is nagy hasonlóságot mutatnak a steady-state fluoreszcencia spektrumaival, amely egyetlen sávként jelenik meg 395 nm hullámhossznál. Másrészt meg kell jegyezni, hogy a TRES-spektrum alakja nem változott az időben, ami arra utal, hogy a gerjesztést követően az oldószermolekuláknak elegendő idejük van ahhoz, hogy a gerjesztett állapotú fluorofor molekulák köré szerveződjenek, vagyis az emisszió oldószer-relaxált állapotból történt. Az ICOL-hoz és az ICON-hoz a hat különböző oldószerben meghatározott fluoreszcenciás lecsengési állandókat a 9. táblázatban foglaltam össze.

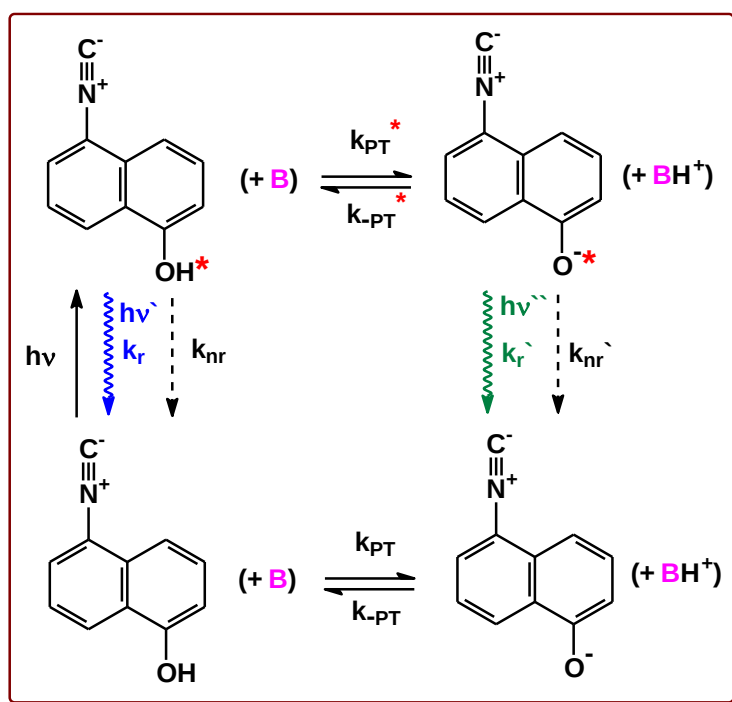
9. táblázat: ICOL és ICON fluoreszcencia lecsengési állandó (k_r), nem sugárzásos átmenetek lecsengési állandója (k_{nr}) és a teljes fluoreszcencia lecsengési állandók (k_t) értékei különböző oldószerek esetében.

	Sebességi állandók (k_t, k_r, k_{nr}) $\times 10^{-8}$ (s^{-1})					
	5-izocianonaftalin-1-ol			5-izociano-1-(oktiloxi)naftalin		
	k_t	k_r	k_{nr}	k_t	k_r	k_{nr}
Toluol	1,41	0,62	0,79	2,44	0,88	1,56
Tetrahidrofurán	1,25	0,86	0,39	2,63	1,08	1,55
Diklórmétán	0,99	0,69	0,30	1,96	0,33	1,63
Acetonitril	1,23	0,58	0,65	2,33	0,89	1,44
Metanol	2,00	0,08	1,92	1,96	0,65	1,31
Dimetilszulfoxid	1,23*0,68**	(0,03),(0,02)	(1,2),(0,66)	1,75	1,19	0,56

*440 nm-en meghatározva, ** 550 nm-en meghatározva

Amint az a fenti táblázat adataiból kiderül, az ICON teljes fluoreszcencia lecsengési állandója csak egy szűk tartományon belül változott (azaz $1,75 \times 10^8$ s^{-1} és $2,63 \times 10^8$ s^{-1} között, ami 5,7 ns és 3,8 ns közötti élettartamnak felel meg).

Amíg az ICOL esetében ezek az értékek szélesebb tartományt fednek le (azaz $9,9 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ és $2,00 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ között, 10,1 ns és 5,0 ns közötti élettartamnak felel meg), és hosszabb gerjesztett állapotú élettartamot találtam az ICOL esetében. Továbbá a 9. táblázatból feltételezhető, hogy meghatározható az ICOL sebességi állandója poláris proton-akceptor oldószerekben, például DMSO-ban. A kísérleti eredmények alapján egy mechanizmust javasoltam az ICOL kettős emissziójának értelmezésére.



34. ábra: Az 5-izocianonaftalin-1-ol (ICOL) kettős emissziójára javasolt mechanizmus.

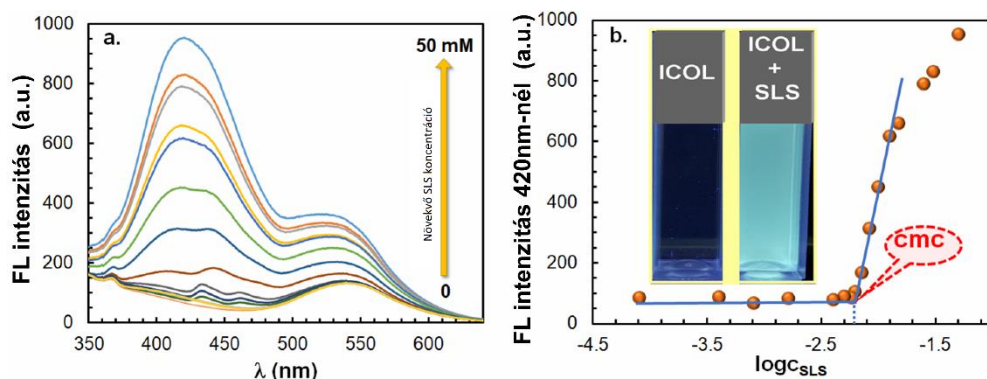
* gerjesztett állapotot jelöl.

A 34. ábra szerint a semleges ICOL az S_0 alapállapotból az S_1 állapotba gerjesztődik. Gerjesztés után a fluorofor körüli poláris proton-akceptor mikrokörnyezetben két fő folyamat mehet végbe párhuzamosan: (i) a semleges ICOL alapállapotba történő relaxációja sugárzásos (k_r) és nem sugárzásos (k_{nr}),

lecsengésekkel megy végbe, melynek során $h\nu'$ energiájú fotonokat emittál (kék emisszió). Másik lehetséges út (ii) a gerjesztett állapotú ICOL molekulák protontranszferen mennek keresztül, ezáltal gerjesztett állapotú izociano-naftolát ionok (k_{PT}^*) képződnek (azaz gerjesztett állapotú protontranszfer (ESPT) megy végbe). Ez utóbbi folyamat a $h\nu''$ energiájú fotonok emissziójával (zöld emisszió) alapállapotba (k_r') történő relaxációval jár együtt. Így, ha $k_r + k_{nr} > k_{PT}^*$, akkor részleges protontranszfer megy végbe (azaz az emisszió mind az ICOL semleges, mind anionos formájából származik), amint azt már a DMSO és DMF esetében is megfigyeltem. Másrészt $k_r + k_{nr} < k_{PT}^*$ esetén, csak az anionos formából származó emisszió figyelhető meg, ahogy az ICOL vizes oldata esetében is. Azonban, azokban a mikrokörnyezetekben, amelyek nem képesek protonok befogadására, mint például toluolban vagy diklór-metán oldószerekben, a k_{PT}^* -nek nagyon kis értéke lesz a $k_r' + k_{nr}'$ -hez képest; így a neutrális forma miatt csak egy sáv jelenik meg a fluoreszcencia spektrumokban.

4.1.9 Az ICOL és az ICON fluoreszcens tulajdonságai nátrium-lauril- szulfát (SLS) jelenlétében

Az ICOL vizes oldata csak gyenge fluoreszcenciát mutat 540 nm emissziós maximumon. Ha azonban növekvő koncentrációban nátrium-lauril-szulfát (Sodium laureth sulfate) SLS-t adunk a vizes ICOL-oldathoz, a fluoreszcencia egyre intenzívebbé válik és két további emissziós sáv jelenik meg 415 nm és 442 nm körül, amint az a 35a. ábrán látható. Ezzel szemben, az ICON vizes oldatban hasonló kvantumhatásfokot mutat, mint más oldószerekben.



35. ábra: (a) Az emissziós spektrum és a fluoreszcencia intenzitás változása 420 nm-en **(b)** 5-izocianonaftalin-1-ol (ICOL) különböző koncentrációjú nátrium-lauril-szulfát (SLS) jelenlétében. Az ICOL koncentrációja 50,6 μM . A kuvetta az ICOL vizes oldatának fluoreszcenciáját mutatja SLS nélkül és SLS jelenlétében. A gerjesztési hullámhossz 327 nm volt.

Körülbelül 6 mM SLS-koncentráció felett minden emissziós sávban kékeltozódás és az SLS-koncentráció növekedésével járó jelentős intenzitásnövekedés figyelhető meg (35a. ábra). A fluoreszcencia intenzitásának gyors növekedése a víz-micella határfelületen található és/vagy az ezekbe a micellákba ágyazott ICOL molekulák jelenlétének tulajdonítható. Az ICOL, SLS jelenlétében tapasztalható fluoreszcencia intenzitás növekedése valószínűleg a vízmolekulák ICOL molekulák felé történő korlátozott elérhetőségének köszönhető.

Az is megállapítható, hogy ilyen körülmények között az ICOL jelentős deprotonálódás gerjesztett állapotban megy végbe, így fluoreszcens izocianonaftalát ion képződik. Ezért az ESPT jelenléte bizonyítja, hogy az ICOL molekulák olyan mikrokörnyezetben tartózkodnak, amely képes protonokat befogadására. Továbbá a 35a. ábrán az is látható, hogy az ICOL szolvatokróm tulajdonsága miatt az emissziós spektrumok ICOL molekulák jelenlétét mutatják különböző mikrokörnyezetben: egyik polárisabb környezetben (442 nm), a másik pedig kevésbé poláris környezetben (415 nm).

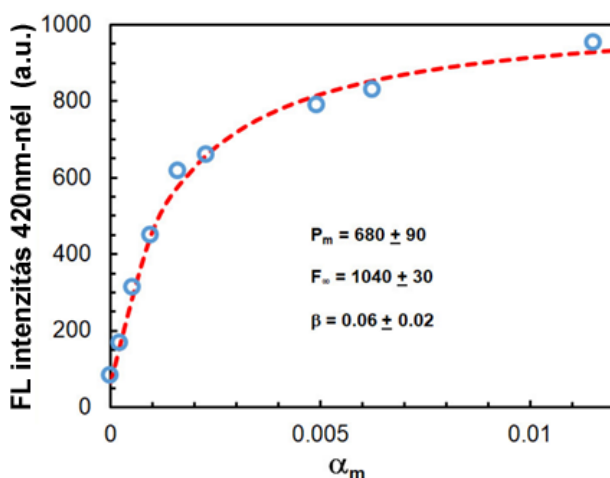
Ezen kívül, ahogy az SLS koncentrációja növekszik, az emissziós maximumok alacsonyabb emissziós hullámhosszak felé tolódik (azaz 434 nm-ről 415 nm-re és 462 nm-ről 442 nm-re). Nagyobb SLS-koncentrációk esetén azonban ez a két sáv átfed, ami egy meghatározott emissziós maximumot eredményez a 400-450 nm tartományban. Ez az eredmény arra utalhat, hogy a micellák átrendeződnek az SLS-koncentráció növelésével.

A 35b. ábráról leolvasható a cmc (kritikus micella koncentráció) $6,3 \times 10^{-3}$ M, ($\log_{\text{SLS}} = -2,2$), ami közel van a vizes oldatú SLS irodalmi cmc értékéhez (8×10^{-3} M) ⁹⁹. A cmc értéknél jelennek meg a micellák, e fölött az intenzitás stabilizálódik, mert minden molekula micellában van. Az ICOL nemcsak a cmc monitorozására, hanem mikrokörnyezete polaritásának kimutatására is alkalmas fluorofor. Az emissziós spektrumokból tehát arra lehet következtetni, hogy az ICOL molekulák részben a poláris mikrokörnyezetben, a micellák "nedves héjában" helyezkednek el.

A (45) egyenlet egy kiterjesztett leírás azokra az esetekre, amikor az hozzáadott micellák mellett a szabad fluorofor oldatából származó emissziót is figyelembe vesszük.

$$F = \frac{F_{\infty}}{\alpha_m + \frac{1 - \alpha_m}{P_m}} \left[\alpha_m + \frac{\beta}{P_m} (1 - \alpha_m) \right] \quad (45)$$

ahol F fluoreszcencia-intenzitás, P_m a fluorofor megoszlási együtthatója, és az α_m a fluorofor disszociáció foka. F_{∞} és β a fluoreszcencia intenzitása $\alpha_m = 1$ mellett (teljes disszociáció esetén), valamint a fluorofor vizes oldatának relatív emissziós intenzitási aránya az azonos fluorofor koncentrációjú micellákhoz képest.

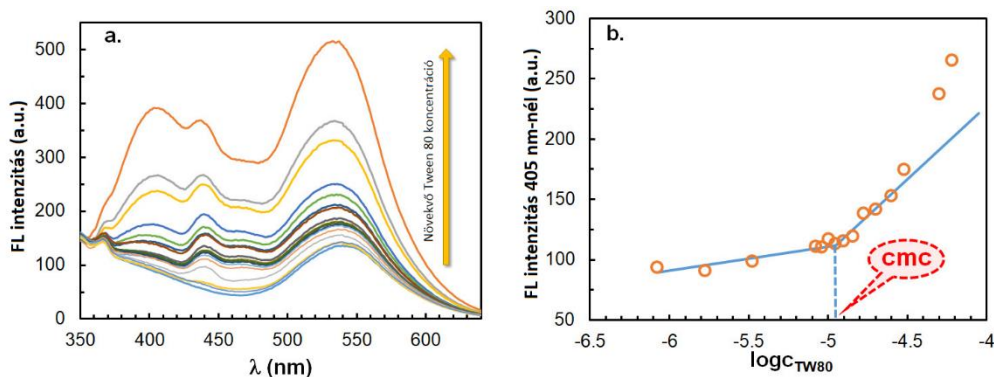


36. ábra: A fluoreszcencia intenzitásának (FL) változása 420 nm-en α_m -mel. az ICOL SLS micellás rendszerhez

A P_m és β értékeinek meghatározásához az F értékeket az α_m függvényében ábrázoltam, és a (45) egyenletet illesztettem a kísérleti adatokhoz (36. ábra). A P_m és a β esetében 680 ± 90 és $0,06 \pm 0,02$ értékeket kaptam.

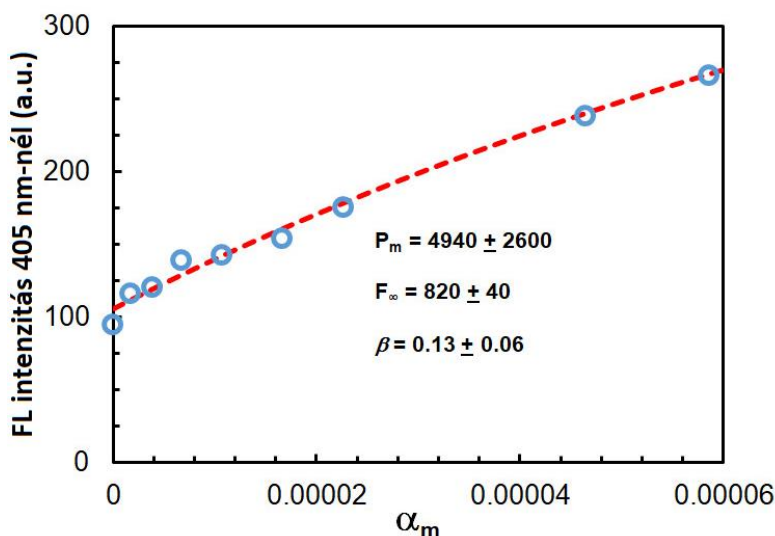
4.1.10 Az ICOL és az ICON fluoreszcens tulajdonságai Tween80 jelenlétében

Hasonló kísérleteket végeztünk nem ionos polioxietilén(20)-szorbitán-monooleát, másnéven Tween80 (TW80) felületaktív anyag jelenlétében is. A TW80 egymást követő hozzáadása az ICOL oldat vizes oldatához 405 nm-en és 440 nm-en emissziós sávok megjelenését eredményezte az izocianonaftolát-ionból származó 535 nm-es sáv mellett (37. ábra).



37.ábra: (a) Az emissziós spektrum és a fluoreszcencia-intenzitás változása 405 nm-en (b) 5-izocianonaftalin-1-ol (ICOL) vizes oldata esetében Tween 80 (TW80) jelenlétében, különböző koncentrációkban. Az ICOL koncentrációja: 50,6 μM .

Az ICOL-t tartalmazó SLS micellákhoz hasonló két kisebb hullámhosszú sáv valószínűleg az ICOL molekulák emissziójából származik, amelyek két különböző polaritású mikrokörnyezetben találhatók. A fluoreszcencia intenzitásokat a $\log c_{\text{TW80}}$ függvényében ábrázolva meghatároztam a TW80 cmc értékét is, amelyre a szakirodalomban a TW80-ra vonatkozóan megadott értékhez (0,016 mM) közeli 0,011 mM értéket kaptam (37. ábra)⁹⁸. Az ICOL-TW80 micellás rendszer P_m és β értékeit a (45) egyenlet alkalmazásával 4940 ± 2630 és $0,13 \pm 0,06$ adódtak (38. ábra). Bár a meghatározott P_m és β értékek viszonylag nagy hibákat mutatnak, a P_m érték ugyanabban a nagyságrendben van, mint a pirénnel adalékolt Tween 80 micellás rendszerénél ($P_m = 4160$)¹⁰⁰.

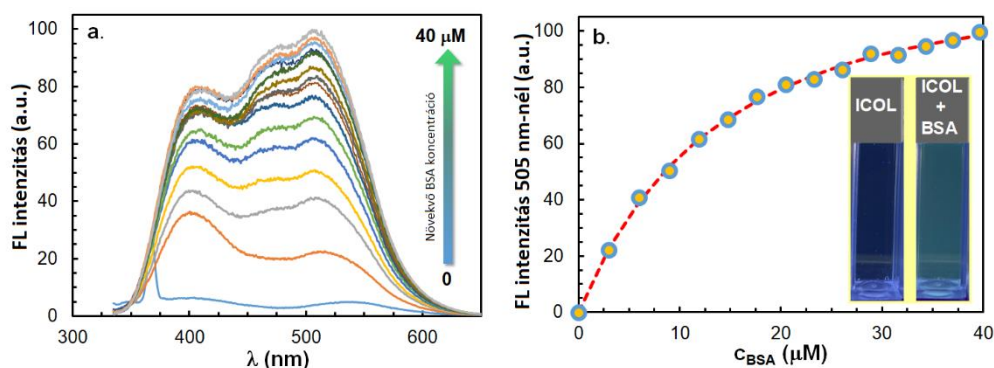


38. ábra: A fluoreszcencia-intenzitás változása 405 nm-en az α_m függvényében az ICOL-Tween 80 micellás rendszerben

4.1.11 Az ICOL és az ICON fluoreszcens tulajdonságai szarvasmarhaszérum albumin (BSA) jelenlétében

Az ICOL fluoreszcens tulajdonsága, valamint a víz és egy kevésbé poláris környezet közötti megoszlása biomolekulák vizsgálatára is alkalmazható (pl. szarvasmarhaszérum-albumin (BSA) esetében). Amint azt a 39a. ábra és a 39b. ábra mutatja, az emissziós maximumok mind a 405 nm-en, mind az 505 nm-en növekedtek a BSA hozzáadásakor. Itt fontos megjegyezni, hogy a 327 nm-en gerjesztett BSA-oldat kék színű fluoreszcenciát mutatott, amelynek maximális hullámhossza 414 nm, így a különböző koncentrációjú BSA-oldatok emissziós spektrumait kivontam a BSA-ICOL oldatok megfelelő emissziós spektrumaiból. Az ICOL fluoreszcencia-intenzitás növekedése BSA jelenlétében annak tulajdonítható, hogy a vízmolekulák a BSA kevésbé poláros részébe „beágyazott” ICOL molekulákhoz kevésbé férnek hozzá. Továbbá az is valószínű, hogy ilyen körülmények között az ICOL deprotonációja

gerjesztett állapotban történik. Az így létrejövő ESPT-sáv (gerjesztett állapotú protontranszfer) azonban feltehetően annak köszönhető, hogy a BSA kevésbé poláris mikrokörnyezete miatt gerjesztett állapotú anion kevésbé képes hidrogénkötéseket létrehozni, mint az víz. Ezen kívül a BSA-koncentráció növelésével egy új, 475 nm körüli sáv jelent meg. Ennek a sávnak jelenléte az emissziós spektrumokban azt jelezheti, hogy az ICOL molekulák képesek kötődni a BSA különböző polaritású részeihez. A kísérleteinkben alkalmazott BSA-felesleg miatt feltételezhető, hogy 1:1 összetételű ICOL-BSA addukt alakult ki, és az ICOL-BSA addukt képződését 505 nm-en követtem (39b. ábra).

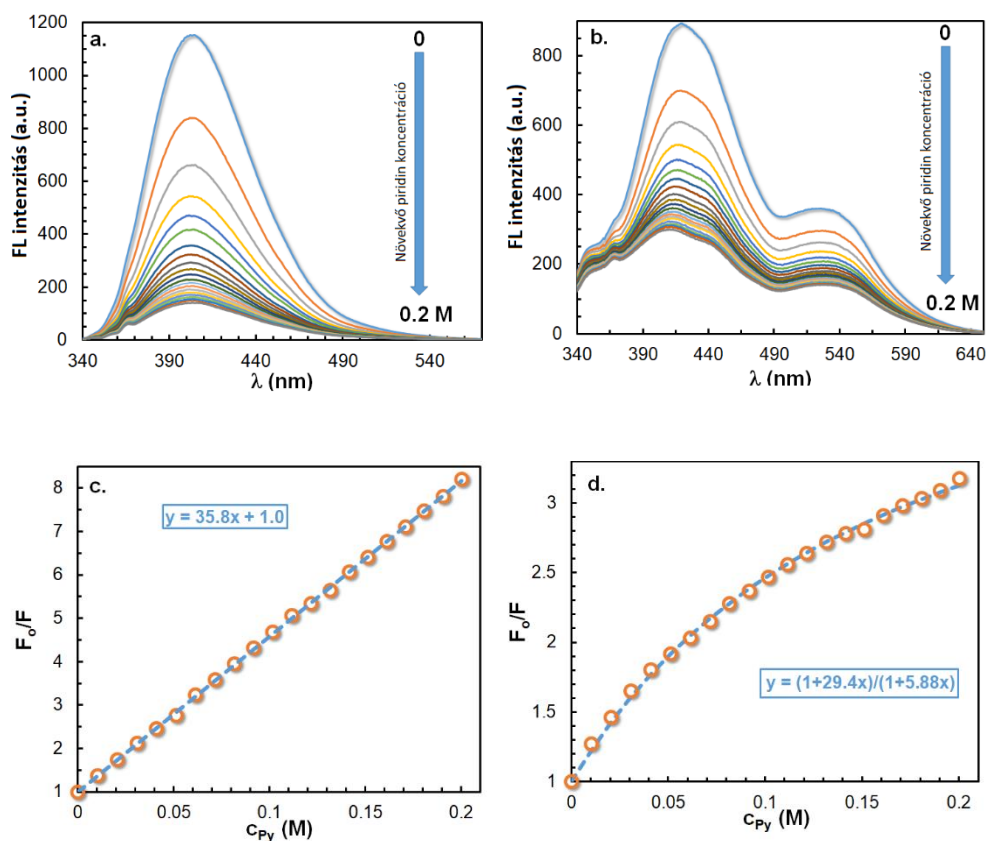


39. ábra: (a) Az emissziós spektrum; **(b)** a fluoreszcencia intenzitás változása 505 nm-en 5-izocianonaftalin-1-ol vizes oldata esetében szarvasmarha-szérumalbumin (BSA) jelenlétében, különböző koncentrációkban. Az ICOL koncentrációja 1,68 μM , a gerjesztési hullámhossz 327 nm.

Amint az a 39b. ábrán látható, a BSA-nak növekvő koncentrációban történő hozzáadása az 505 nm-en történő emisszió növekedését eredményezte.

4.1.12 Fluoreszcencia kioltás piridinnel

Az ICOL és ICON származékok szolvatokróm tulajdonságainak vizsgálata során azt találtam, hogy az ICOL és ICON piridines oldata egyáltalán nem mutatott fluoreszcenciát, ami a fluoreszcencia kioltására utal. Az emisszió kioltás mechanizmus vizsgálata érdekében az ICOL és ICON acetonitriles oldataihoz különböző koncentrációban piridin acetonitriles oldatát adtam és felvettem az emissziós spektrumokat. A 40. ábra a steady-state emissziós spektrumok változását mutatja piridint növekvő koncentrációban az ICOL oldatához adva.



40. ábra: Az emissziós spektrumok változása a piridin koncentrációval. **(a)** 5-izocianonaftalin-1-ol (ICOL) intenzitás változása acetonitril oldatban és **(b)** ICOL vizes oldatára nátrium-lauril-

szulfát (SLS) jelenlétében 25 mM koncentrációban. Az ICOL koncentrációja $1,2 \times 10^{-4}\text{M}$, a gerjesztési hullámhossz 327 nm. **(c),(d)** a Stern-Volmer görbét mutatják be 404 nm-en, illetve 430 nm-en. A kék szaggatott vonalak a (46) és (47) egyenlet illesztett görbéi.

A Stern - Volmer görbét alkalmazzák leggyakrabban egy a fluoreszcencia kioltás leírására. A görbe megmutatja a fluorofor élettartam változását a kioltóanyag koncentrációjának függvényében. Az F_o/F az intenzitás változását adja meg.

$$\frac{F_o}{F} = 1 + K_a c_{Py} \quad (46)$$

ahol F_o és F kezdeti és a pillanatnyi fluoreszcencia, K_a a kioltási állandó és c_{Py} a piridin koncentrációja.

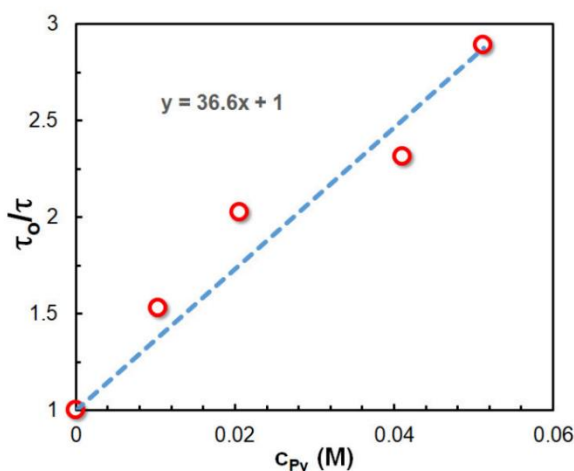
Az ICOL molekulák hozzáférhetetlen része (f_{na}) a módosított Stern-Volmer-egyenlettel határozható meg²¹:

$$\frac{F_o}{F} = \frac{1 + K_a[Py]}{1 + f_{na} K_a[Py]} \quad (47)$$

Amint a 40. ábrán látható, a piridinkoncentráció növelésével az emisszió intenzitása csökken anélkül, hogy az emissziós maximumban bármilyen eltolódás következne be. Továbbá a Stern-Volmer görbe meredekségére az ICOL esetében $K_a = 35,8 \pm 0,2$ értéket, míg az ICON-nál azonos feltételek mellett nagyon hasonló $K_a = 34,1 \pm 0,2$ értéket kaptam.

Annak megállapítására, hogy a kioltási folyamat dinamikus vagy statikus jellegű-e, időfelbontásos emissziós spektrumokat (TRES) is felvettem az ICOL acetonnitrilos oldatáról. A τ a fluoreszcencia élettartamát jelenti, vagyis mennyi ideig marad a fluorofor gerjesztett állapotban. A τ_o/τ arány az élettartam csökkenését méri, míg az előzőekben az F_o/F aránnyal csak az intenzitás

csökkenését vizsgáltuk meg. Az ICOL-ra vonatkozó TRES-kísérletek eredményei azt mutatták, hogy a gerjesztett állapot élettartama $\tau = 8,1$ ns-ról 3,5 ns-ra csökkent, ha a piridin koncentrációját 0-ról 0,1 M-ra növeltem. Ezenkívül a τ_0/τ értékét ábrázolva a piridin koncentráció függvényében a meredekségre $36,6 \pm 2,6$ értéket kaptam (41. ábra), ami nagyon közel van az ICOL steady-state fluoreszcencia módszerrel meghatározott értékéhez. A kapott görbe lineáris, tehát a piridinnel történő kioltás tisztán dinamikus jellegű.

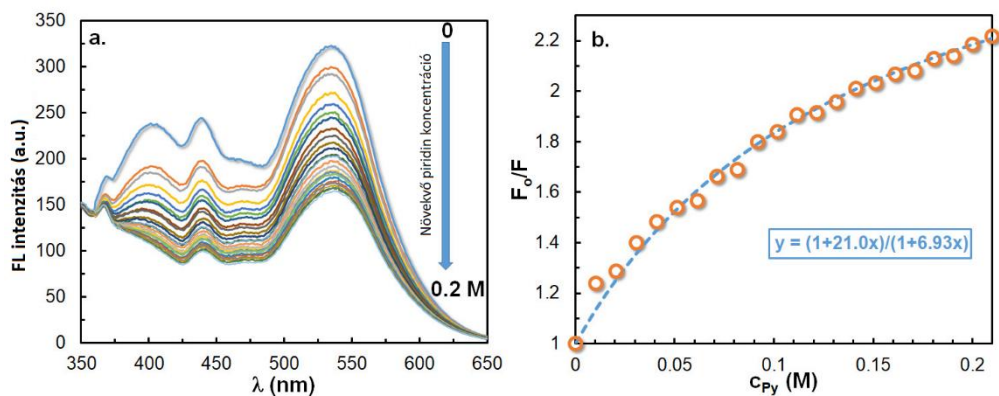


41. ábra: Stern-Volmer-görbe (τ_0/τ), az ICOL piridinnel kioltott acetonitril-oldatára, ahol τ_0 és τ a fluoreszcencia élettartama kioltó hiányában, illetve jelenlétében. Az ICOL koncentrációja 1,7 μ M volt, a gerjesztési hullámhossz pedig 355 nm. A kék szaggatott vonalak az illesztett görbét (46) egyenlet alapján.

Az ICOL piridinnel történő kioltását SLS micellák jelenlétében is megvizsgáltam a cmc felett. Ahogy az várható volt, a 40b. ábra szerint a piridin hozzáadása a micellákat tartalmazó oldathoz a fluoreszcencia intenzitásának csökkenését eredményezte anélkül, hogy az emissziós spektrumok eltolódtak volna. Ezen kívül a Stern-Volmer-diagram (40d. ábra), szemben az ICOL micella-mentes oldatával (40c. ábra), lefelé görbületet mutat, ami két különböző mikrokörnyezet jelenlétére utal: amelyek közül az egyik nem, vagy

kevésbé hozzáférhető a kioltó piridin molekulák számára, míg a másik frakció teljes mértékben elérhető a piridin molekuláknak.

A (47) egyenletnek a kísérleti F_o/F adatokhoz való illesztésével megbecsülhető a K_a és az f_{na} értéke, amelyekre $29,4 \pm 0,7$ és $0,20 \pm 0,01$ értéket kaptam. Ezen adatok alapján feltételezhető, hogy a kioltási állandó értéke nagyon hasonlít a micellák hiányában (acetonitrilben) kapott értékhez. Továbbá megállapítható, hogy az ICOL molekulák kb. 4/5-e a poláris felszín közelében található (azaz a Stern és/vagy Gouy-Chapman rétegeknél), míg a fluorofor molekulák kb. 1/5-e az SLS micellák nem poláris régiójában helyezkednek el, ami ezeket a molekulákat elérhetetlenné teszi a kioltó molekulák számára. Hasonló kioltási kísérleteket végeztem az ICOL-TW80 micellák esetében is. Az ICOL-TW80 micelláris rendszer Stern-Volmer-diagramja (42. ábra) szintén lefelé irányuló görbületet mutatott, hasonlóan az ICOL-SLS rendszerhez (35. ábra), amely szintén jelzi az ICOL molekulák nem elérhető frakciójának jelenlétét a kioltó piridin molekulák számára. A (46) egyenletnek a kísérleti adatokhoz való illesztésének eredményeként $K_a = 21,0 \pm 1,0$ és $f_{na} = 0,33 \pm 0,01$ értéket kaptam. Az ICOL-TW80 micellák kapott kioltási állandója és f_{na} értékei azt jelzik, hogy az ICOL molekulák kevésbé hozzáférhetők a kioltó piridin molekulák számára.



42. ábra: Az emissziós spektrumok változása az ICOL piridin koncentrációjával (Py) és vizes oldatával Tween 80 jelenlétében 50 μ M koncentrációban. **(a)** Az ICOL koncentrációja $5,9 \times 10^{-5}$ M, gerjesztési hullámhossza 327 nm. **(b)** Stern-Volmer ábrázolások, 505 nm-en. A kék szaggatott vonal a (47) által illesztett görbe

5. Összefoglalás

Az aromás izocianidokról, beleértve az izociano-naftalin származékokat is, bebizonyosodott, hogy nagyon hatékony fluoreszcens érzékelők a vízben lévő Hg(II) ionok mennyiségi meghatározására. Ennek a csoportnak az egyik legfontosabb tagja az 1-amino-5-izocianonaftalin (1,5-ICAN). Az 1,5-ICAN reakcióját vizsgáltam vízzel és HgCl₂-al, fluoreszcencia spektroszkópiával és tömegspektrometriával követtem a folyamatokat, hogy mélyebb betekintést nyerjek ennek az összetett reakciónak a kinetikájába és mechanizmusának részleteibe. Az 1,5-ICAN vízzel és HgCl₂-al történő reakcióit különböző összetételű víz/társoldószer keverékekben végeztem. A kísérlet során alkalmazott társoldószer aprotikus oldószer (tetrahidrofuránt, acetonitrilt és N,N-dimetil-formamidot), valamint protikus oldószer (etanol és 2-propanol) voltak. Megállapítottam, hogy protikus társoldószerrel, az 1,5-DAN mellett (5-aminonaftalin-1-il)karbamát képződött a közbelső izocianát alkohollal való nukleofil addíciós reakciójában. Az így létrejövő fluoreszcencia intenzitás-idő görbék egy irreverzibilis, egymást követő reakciómodell segítségével írtam le, amelyben izocianát és karbaminsav intermedierek, valamint diamino és karbamát (protikus oldószer esetén) termékek képződését feltételeztem. Az 1,5-DAN és a karbamátszármazék képződését ESI-MS és ESI-MS/MS mérések is igazolták víz/aprotikus oldószer esetében. Továbbá, a modellnek a kísérleti fluoreszcencia-idő görbékhez történő illesztésével meghatároztam a sebességi állandókat. A sebességi állandók a vízkoncentrációval THF < ACN < DMF sorrendben növekedtek az aprotikus társoldószer esetén, míg a protikus társoldószer esetén a sorrend EtOH > iPrOH szerint változott. Azt is alátámasztottam, hogy a diamino- és karbamát-származékok protikus oldószerben történő képződése egyidejűleg megy végbe és az amino-karbamát funkcióhoz viszonyított aránya

a vízkoncentráció növekedésével nőtt. Ezen túlmenően, egy bemutatott modell alkalmasnak bizonyult az 1,5-diizocianonaftalin (1,5-DIN) 1,5-diaminonaftalinná (1,5-DAN) történő átalakulás kinetikájának leírására.

A szolvatokróm vagy gerjesztett állapotú protontranszfer (ESPT) tulajdonságokkal rendelkező fluoreszcens szondák alapvető eszközök a komplex biológiai vagy kémiai rendszerek tanulmányozásához. Az 5-izocianonaftalin-1-ol (ICOL), egy új fluorofor, amely mindkét jellemzőt tartalmazza. Különböző szolvatokróm módszereket, például Lippert-Matagát és Bilot-Kawskit, valamint időfelbontásos emissziós spektroszkópiát (TRES) alkalmaztam, hogy betekintést nyerjek a gerjesztett állapot tulajdonságaiba. Az összehasonlításához az ICOL oktiloxi-származékát, az 5-izociano-1-(oktiloxi)naftalint (ICON) is előállítottam. Megállapítottam, hogy a belső töltésátvitel (ICT) az ICOL izociano- és -OH-csoportjai között játszódik le és meghatároztam az ICOL és az ICON alap- és gerjesztett állapotainak dipólmomentumainak értékeit. Továbbá az ICOL emissziós spektrumában egy második, nagyobb hullámhosszú sávot (zöld színű emisszió) figyeltem meg nagyobb polaritású oldószerekben (kettős emisszió), az alacsonyabb hullámhosszakon jelen lévő sáv (kék színű emisszió) mellett. Ennek a kettős emissziónak a mértéke a 2-propanol < metanol < DMF < DMSO nagyságrendjében nő. Az ICOL kettős fluoreszcenciájának jelenléte ezekben az oldószerekben az ESPT-nek tulajdonítható. Az ICOL esetében $pK_a = 8,4 \pm 0,3$ és $0,9 \pm 0,7$ alap- és gerjesztett állapotú értékeket határoztam meg, ami a gerjesztett állapotban a savasság jelentős növekedését jelzi. A TRES kísérletek azt mutatták, hogy az ICOL és az ICON gerjesztett állapotának élettartama 10,1 ns-től 5,0 ns-ig és 5,7 ns-től 3,8 ns-ig terjedt. Ezen kívül bemutattam, hogy az ICOL nemcsak az ionos (nátrium-lauril-szulfát (SLS)) és a nem ionos felületaktív anyagok (Tween 80) kritikus micellák koncentrációjának (cmc),

hanem más micelláris paramétereknek, például a megoszlási hányadosoknak a hatékony mutatójaként is alkalmazható, valamint a biomakromolekulák üregeiben lévő mikrokörnyezetek (pl. BSA) feltérképezésére is. Arra is rámutattam, hogy a piridin általi fluoreszcencia-kioltás hatékonyan felhasználható az ICOL molekulák azon frakcióinak meghatározására, amelyek a víz micellák határfelületén és a micellák belső terében találhatók.

6. Summary

Aromatic isocyanides, including isocyanonaphthalene derivatives, have been shown to be very effective fluorescent sensors for the quantitative determination of Hg(II) ions in water. One of the most important members of this group is the 1-amino-5-isocyanonaphthalene (1,5-ICAN). I studied the reaction of 1,5-ICAN with water and HgCl₂, and followed the processes by fluorescence spectroscopy and mass spectrometry to gain deeper insight into the kinetics and mechanistic details of this complex reaction. The reactions of 1,5-ICAN with water and HgCl₂ were carried out in water/cosolvent mixtures of different compositions. The cosolvents used in the experiment were aprotic solvents (tetrahydrofuran, acetonitrile and N,N-dimethylformamide) and protic solvents (ethanol and 2-propanol). I found that (5-aminonaphthalen-1-yl)carbamate was formed in the nucleophilic addition reaction of the intermediate isocyanate with alcohol in the presence of protic cosolvents, in addition to 1,5-DAN. The change in the resulting fluorescence intensity *versus* time curves was described using an irreversible, sequential reaction model, in which the formation of isocyanate and carbamic acid intermediates, as well as diamino and carbamate (in the case of protic solvents) products were assumed. The formation of 1,5-DAN and the carbamate derivative was also confirmed by ESI-MS and ESI-MS/MS measurements in the case of water/aprotic solvents. Furthermore, the rate constants were determined by fitting the model to the experimental fluorescence intensity-time curves. By fitting the model parameters to the experimental data, we were able to determine the corresponding pseudo first-order rate coefficients. The rate coefficients increased with water concentration in the order THF < ACN < DMF for aprotic cosolvents, while for protic cosolvents the order changed according to EtOH > iPrOH. I also confirmed that the formation of diamino and carbamate

derivatives in protic solvents occurs simultaneously, and the ratio of the amino to the carbamate function increased with increasing water concentration. In addition, the presented model proved to be suitable for describing the kinetics of the transformation of 1,5-diisocyanonaphthalene (1,5-DIN) to 1,5-diaminonaphthalene (1,5-DAN).

Fluorescent probes with solvatochromic or excited-state proton transfer (ESPT) properties are essential tools for studying complex biological or chemical systems. 5-Isocyanonaphthalen-1-ol (ICOL), a novel fluorophore that contains both features were synthesized. I used various solvatochromic methods, such as Lippert-Matagá and Bilot-Kawski, as well as time-resolved emission spectroscopy (TRES) to gain insight into the excited state properties. For comparison, I also prepared the octyloxy derivative of ICOL, i.e., the 5-isocyano-1-(octyloxy)naphthalene (ICON). I found that internal charge transfer (ICT) occurs between the isocyano and -OH groups of ICOL, and I determined the values of the dipole moments of the ground and the excited states of ICOL and ICON. Furthermore, I observed a second, higher wavelength band (green emission) in the emission spectrum of ICOL in solvents of higher polarity (dual emission), in addition to the band present at lower wavelengths (blue emission). The extent of this dual emission increases in the order of 2-propanol < methanol < N,N-dimethylformamide, (DMF) < dimethyl sulfoxide (DMSO). The presence of dual fluorescence of ICOL in these solvents was attributed to ESPT. For ICOL, I determined the ground and the excited state pK_a values of 8.4 ± 0.3 and 0.9 ± 0.7 , respectively, indicating a significant increase in acidity in the excited state. TRES experiments showed that the excited state lifetimes of ICOL and ICON ranged from 10.1 ns to 5.0 ns and from 5.7 ns to 3.8 ns. Furthermore, I demonstrated that ICOL can be used not only as an effective indicator of the critical micelle concentration (cmc) of ionic (sodium lauryl

sulfate (SLS)) and non-ionic surfactants (Tween 80), but also as an effective indicator of other micellar parameters, such as partition coefficients, and for mapping microenvironments in the cavities of biomacromolecules (e.g. BSA). I also pointed out that fluorescence quenching by pyridine can be effectively used to determine the fractions of ICOL molecules that are located at the water-micelle interface and in the micelle interior.

Irodalomjegyzék

1. Thangudu, S. Next Generation Nanomaterials: Smart Nanomaterials, Significance, and Biomedical Applications. In *Applications of Nanomaterials in Human Health*; Khan, F. A., Ed.; Springer Singapore: Singapore, 2020; pp 287–312. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4802-4_15.
2. Aguilar, M. R.; Román, J. S. *Smart Polymers and Their Applications*; Woodhead, 2019.
3. Rogers, C. A.; Barker, D. K.; Bennett, K. D.; Wynn, Jr., R. H. Demonstration Of A Smart Material With Embedded Actuators And Sensors For Active Control; Udd, E., Ed.; Boston, MA, 1989; p 90. <https://doi.org/10.1117/12.948892>.
4. Takagi, T. Recent Research on Intelligent Materials. *Journal of Intelligent Material Systems and Structures* **1996**, *7* (3), 346–352. <https://doi.org/10.1177/1045389X9600700317>.
5. Becker, W. Fluorescence Lifetime Imaging – Techniques and Applications. *Journal of Microscopy* **2012**, *247* (2), 119–136. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.2012.03618.x>.
6. Wang, Z.; Zheng, Y.; Zhao, D.; Zhao, Z.; Liu, L.; Pliss, A.; Zhu, F.; Liu, J.; Qu, J.; Luan, P. Applications of Fluorescence Lifetime Imaging in Clinical Medicine. *J. Innov. Opt. Health Sci.* **2018**, *11* (01), 1830001. <https://doi.org/10.1142/S179354581830001X>.
7. Rácz, D.; Nagy, M.; Mándi, A.; Zsuga, M.; Kéki, S. Solvatochromic Properties of a New Isocyanonaphthalene Based Fluorophore. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2013**, *270*, 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2013.07.007>.
8. Nagy, M.; Kovács, S. L.; Nagy, T.; Rácz, D.; Zsuga, M.; Kéki, S. Isocyanonaphthalenes as Extremely Low Molecular Weight, Selective, Ratiometric Fluorescent Probes for Mercury(II). *Talanta* **2019**, *201*, 165–173. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.04.007>.
9. *Overcoming Environmental Risks to Achieve Sustainable Development Goals: Lessons from the Japanese Experience*; Nakajima, T., Nakamura, K., Nohara, K., Kondoh, A., Eds.; Current Topics in Environmental Health and Preventive Medicine; Springer Singapore: Singapore, 2022. <https://doi.org/10.1007/978-981-16-6249-2>.
10. Jameson, D. M. *Introduction to Fluorescence*; CRC Press, 2014.
11. Valeur, B.; Berberan-Santos, M. N. A Brief History of Fluorescence and Phosphorescence before the Emergence of Quantum Theory. *J. Chem. Educ.* **2011**, *88* (6), 731–738. <https://doi.org/10.1021/ed100182h>.
12. Clarke, E. D. Account of a Newly Discovered Variety of Green Fluor Spar, of Very Uncommon Beauty, and with Remarkable Properties of Colour and Phosphorescence. *The Annals of Philosophy* **1819**, *14*, 34–36.
13. Herschel, J. F. W. On a Case of Superficial Colour Presented by a Homogeneous Liquid Internally Colourless. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1845**, *135*, 143–145.
14. Stokes, G. G. On the Change of Refrangibility of Light. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1852**, *142*, 463–562.
15. Santra, M.; Moon, H.; Park, M.; Lee, T.; Kim, Y. K.; Ahn, K. H. Dramatic Substituent Effects on the Photoluminescence of Boron Complexes of 2-(Benzothiazol-2-yl)Phenols. *Chemistry A European J* **2012**, *18* (32), 9886–9893. <https://doi.org/10.1002/chem.201200726>.

16. Zhao, Z.; Lam, J. W. Y.; Tang, B. Z. Tetraphenylethene: A Versatile AIE Building Block for the Construction of Efficient Luminescent Materials for Organic Light-Emitting Diodes. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22* (45), 23726. <https://doi.org/10.1039/c2jm31949g>.
17. Zhang, X.; Chi, Z.; Xu, B.; Jiang, L.; Zhou, X.; Zhang, Y.; Liu, S.; Xu, J. Multifunctional Organic Fluorescent Materials Derived from 9,10-Distyrylanthracene with Alkoxy Endgroups of Various Lengths. *Chem. Commun.* **2012**, *48* (88), 10895. <https://doi.org/10.1039/c2cc36263e>.
18. Wang, H.; Ji, X.; Page, Z. A.; Sessler, J. L. Fluorescent Materials-Based Information Storage. *Mater. Chem. Front.* **2020**, *4* (4), 1024–1039. <https://doi.org/10.1039/C9QM00607A>.
19. Bagchi, B.; Oxtoby, D. W.; Fleming, G. R. Theory of the Time Development of the Stokes Shift in Polar Media. *Chemical Physics* **1984**, *86* (3), 257–267. [https://doi.org/10.1016/0301-0104\(84\)80014-2](https://doi.org/10.1016/0301-0104(84)80014-2).
20. Kasha, M. Characterization of Electronic Transitions in Complex Molecules. *Discuss. Faraday Soc.* **1950**, *9*, 14. <https://doi.org/10.1039/df9500900014>.
21. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; Lakowicz, J. R., Ed.; Springer US: Boston, MA, 2006. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4>.
22. Dr. Nagy, A. Optikai Alapok Az ELI-ALPS Tükrében.
23. Rose, H. E. Breakdown of the Lambert-Beer Law. *Nature* **1952**, *169* (4294), 287–288. <https://doi.org/10.1038/169287a0>.
24. Weller, A. Innermolekularer Protonenübergang Im Angeregten Zustand. *Zeitschrift für Elektrochemie, Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie* **1956**, *60* (9–10), 1144–1147. <https://doi.org/10.1002/bbpc.19560600938>.
25. Weller, A. Electron-Transfer and Complex Formation in the Excited State. *Pure and Applied Chemistry* **1968**, *16* (1), 115–124. <https://doi.org/10.1351/pac196816010115>.
26. Weller, A. Fast Reactions of Excited Molecules. *Prog. React. Kinet.* **1961**, *1*, 187–214.
27. Lippert, E. Spektroskopische Bestimmung Des Dipolmomentes Aromatischer Verbindungen Im Ersten Angeregten Singulettzustand. *Zeitschrift für Elektrochemie, Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie* **1957**, *61* (8), 962–975. <https://doi.org/10.1002/bbpc.19570610819>.
28. Mataga, N. Solvent Effects on the Absorption and Fluorescence Spectra of Naphthylamines and Isomeric Aminobenzoic Acids. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1963**, *36* (6), 654–662. <https://doi.org/10.1246/bcsj.36.654>.
29. Mataga, N.; Kaifu, Y.; Koizumi, M. Solvent Effects upon Fluorescence Spectra and the Dipolemoments of Excited Molecules. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1956**, *29* (4), 465–470. <https://doi.org/10.1246/bcsj.29.465>.
30. Lippert, E. Dipolmoment Und Elektronenstruktur von Angeregten Molekülen. *Zeitschrift für Naturforschung A* **1955**, *10* (7), 541–545. <https://doi.org/10.1515/zna-1955-0707>.
31. McRae, E. G. Solvent Effects on Merocyanine Spectra. *Spectrochimica Acta* **1958**, *12* (2–3), 192–210. [https://doi.org/10.1016/0371-1951\(58\)80034-X](https://doi.org/10.1016/0371-1951(58)80034-X).
32. Airinei, A.; Homocianu, M.; Dorohoi, D. O. Changes Induced by Solvent Polarity in Electronic Absorption Spectra of Some Azo Disperse Dyes. *Journal of Molecular Liquids* **2010**, *157* (1), 13–17. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2010.07.011>.
33. Aaron, J.-J.; Maafi, M.; Kersebet, C.; Párkányi, C.; Antonious, M. S.; Motohashi, N. A Solvatochromic Study of New Benzo[a]Phenothiazines for the Determination of Dipole Moments and Specific Solute–Solvent Interactions in the First Excited Singlet State. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **1996**, *101* (2–3), 127–136. [https://doi.org/10.1016/S1010-6030\(96\)04442-5](https://doi.org/10.1016/S1010-6030(96)04442-5).

34. Olmsted, John. Calorimetric Determinations of Absolute Fluorescence Quantum Yields. *J. Phys. Chem.* **1979**, 83 (20), 2581–2584. <https://doi.org/10.1021/j100483a006>.
35. Rurack, K. Fluorescence Quantum Yields: Methods of Determination and Standards. In *Standardization and Quality Assurance in Fluorescence Measurements I*; Resch-Genger, U., Ed.; Springer Series on Fluorescence; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2008; Vol. 5, pp 101–145. https://doi.org/10.1007/4243_2008_019.
36. Adams, M. J.; Highfield, J. G.; Kirkbright, G. F. Determination of Absolute Fluorescence Quantum Efficiency of Quinine Bisulfate in Aqueous Medium by Optoacoustic Spectrometry. *Anal. Chem.* **1977**, 49 (12), 1850–1852. <https://doi.org/10.1021/ac50020a053>.
37. Eastman, J. W. QUANTITATIVE SPECTROFLUORIMETRY-THE FLUORESCENCE QUANTUM YIELD OF QUININE SULFATE. *Photochem & Photobiology* **1967**, 6 (1), 55–72. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1967.tb08790.x>.
38. Morita, M.; Yoshinaga, J.; Edmonds, J. S. The Determination of Mercury Species in Environmental and Biological Samples (Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* **1998**, 70 (8), 1585–1615. <https://doi.org/10.1351/pac199870081585>.
39. Rodríguez, J. Mercury Methylation in Boreal Aquatic Ecosystems under Oxidic Conditions and Climate Change: A Review. *Front. Mar. Sci.* **2023**, 10, 1198263. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1198263>.
40. Driscoll, C. T.; Mason, R. P.; Chan, H. M.; Jacob, D. J.; Pirrone, N. Mercury as a Global Pollutant: Sources, Pathways, and Effects. *Environ. Sci. Technol.* **2013**, 47 (10), 4967–4983. <https://doi.org/10.1021/es305071v>.
41. Li, X.-G.; Dou, Q.; Huang, M.-R. Titrimetric Analysis of Total Mercury Ions Including Mercury(I) Ions. *Monatsh Chem* **2008**, 139 (10), 1157–1162. <https://doi.org/10.1007/s00706-008-0867-7>.
42. Holzbecher, J.; Ryan, D. E. The Fluorimetric Determination of Mercury. *Analytica Chimica Acta* **1973**, 64 (3), 333–336. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)82463-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)82463-6).
43. Palma, R. J.; Pearson, K. H. A Spectropolarimetric Titrimetric Method for the Determination of Cadmium, Mercury, Lead and Bismuth. *Analytica Chimica Acta* **1970**, 49 (3), 497–504. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)86826-9](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)86826-9).
44. Kulomäki, S.; Lahtinen, E.; Perämäki, S.; Väisänen, A. Determination of Mercury at Picogram Level in Natural Waters with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry by Using 3D Printed Metal Scavengers. *Analytica Chimica Acta* **2019**, 1092, 24–31. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.09.075>.
45. Zhang, R.; Chen, W. Nitrogen-Doped Carbon Quantum Dots: Facile Synthesis and Application as a “Turn-off” Fluorescent Probe for Detection of Hg²⁺ Ions. *Biosensors and Bioelectronics* **2014**, 55, 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.11.074>.
46. Guang, S.; Tian, J.; Wei, G.; Yan, Z.; Pan, H.; Feng, J.; Xu, H. A Modified Fluorescein Derivative with Improved Water-Solubility for Turn-on Fluorescent Determination of Hg²⁺ in Aqueous and Living Cells. *Talanta* **2017**, 170, 89–96. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.03.108>.
47. Zhang, Y.; Chen, H.; Chen, D.; Wu, D.; Chen, Z.; Zhang, J.; Chen, X.; Liu, S.; Yin, J. A Colorimetric and Ratiometric Fluorescent Probe for Mercury (II) in Lysosome. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2016**, 224, 907–914. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.11.018>.
48. Ma, F.; Sun, M.; Zhang, K.; Wang, S. A Ratiometric Fluorescence Sensor for Highly Selective and Sensitive Detection of Mercuric Ion. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2015**, 209, 377–383. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.11.105>.

49. Liu, W.; Wang, X.; Wang, Y.; Li, J.; Shen, D.; Kang, Q.; Chen, L. Ratiometric Fluorescence Sensor Based on Dithiothreitol Modified Carbon Dots-Gold Nanoclusters for the Sensitive Detection of Mercury Ions in Water Samples. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2018**, 262, 810–817. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.01.222>.
50. Ngororabanga, J. M. V.; Tshentu, Z. R.; Mama, N. A New Highly Selective Colorimetric and Fluorometric Coumarin-Based Chemosensor for Hg²⁺. *J Fluoresc* **2020**, 30 (5), 985–997. <https://doi.org/10.1007/s10895-020-02542-x>.
51. Ngororabanga, J. M. V.; Tshentu, Z. R.; Mama, N. A Highly Selective and Sensitive ESIPT-Based Coumarin–Triazole Polymer for the Ratiometric Detection of Hg²⁺. *New J. Chem.* **2019**, 43 (30), 12168–12177. <https://doi.org/10.1039/C9NJ01366K>.
52. Tian, M.; Wang, C.; Ma, Q.; Bai, Y.; Sun, J.; Ding, C. A Highly Selective Fluorescent Probe for Hg²⁺ Based on a 1,8-Naphthalimide Derivative. *ACS Omega* **2020**, 5 (29), 18176–18184. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01790>.
53. Zhang, X.; Shi, W.; Chen, X.; Xie, Z. Isocyano-Functionalized, 1,8-Naphthalimide-Based Chromophore as Efficient Ratiometric Fluorescence Probe for Hg²⁺ in Aqueous Medium. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2018**, 255, 3074–3084. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.09.132>.
54. Wang, X.; Wang, Q.-G.; Luo, Q.-L. Synthesis of Isonitriles from N-Substituted Formamides Using Triphenylphosphine and Iodine. *Synthesis* **2014**, 47 (01), 49–54. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1379111>.
55. Marquardt, D. W. An Algorithm for Least-Squares Estimation of Nonlinear Parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics* **1963**, 11 (2), 431–441. <https://doi.org/10.1137/0111030>.
56. Sawai, H.; Takizawa, T. Reaction of Isocyanides with Mercuric Chloride. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1976**, 49 (7), 1906–1908. <https://doi.org/10.1246/bcsj.49.1906>.
57. Sawai, H.; Takizawa, T. The Reaction of Isocyanide—Mercuric Chloride Complexes with Amines. Preparation of Guanidines. *Journal of Organometallic Chemistry* **1975**, 94 (3), 333–343. [https://doi.org/10.1016/S0022-328X\(00\)86941-7](https://doi.org/10.1016/S0022-328X(00)86941-7).
58. Sawai, H.; Takizawa, T. Oxidative α -Addition of Isonitrile by Use of Mercuric Salts Synthesis of Urea and Urethane. *Tetrahedron Letters* **1972**, 13 (42), 4263–4266. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)94290-X](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)94290-X).
59. Chen, Z.; Yang, W.; Yin, H.; Yuan, S. Kinetics of Water–Isocyanate Reaction in N, N -Dimethylformamide. *Chinese Journal of Chemical Engineering* **2017**, 25 (10), 1435–1441. <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2017.03.012>.
60. Abushammala, H. A Simple Method for the Quantification of Free Isocyanates on the Surface of Cellulose Nanocrystals upon Carbamation Using Toluene Diisocyanate. *Surfaces* **2019**, 2 (2), 444–454. <https://doi.org/10.3390/surfaces2020032>.
61. Smallwood, I. M. *Handbook of Organic Solvent Properties*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 1996.
62. Song, Y.; Wei, W.; Qu, X. Colorimetric Biosensing Using Smart Materials. *Advanced Materials* **2011**, 23 (37), 4215–4236. <https://doi.org/10.1002/adma.201101853>.
63. Parasassi, T.; Krasnowska, E. K.; Bagatolli, L.; Gratton, E. Laurdan and Prodan as Polarity-Sensitive Fluorescent Membrane Probes. *Journal of Fluorescence* **1998**, 8 (4), 365–373. <https://doi.org/10.1023/A:1020528716621>.
64. Mohapatra, M.; Mishra, A. K. Excited State Proton Transfer Based Fluorescent Molecular Probes and Their Application in Studying Lipid Bilayer Membranes. *Photochem Photobiol Sci* **2019**, 18 (12), 2830–2848. <https://doi.org/10.1039/c9pp00294d>.

65. Hofstetter, S.; Denter, C.; Winter, R.; McMullen, L. M.; Gänzle, M. G. Use of the Fluorescent Probe LAURDAN to Label and Measure Inner Membrane Fluidity of Endospores of *Clostridium* Spp. *Journal of Microbiological Methods* **2012**, *91* (1), 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.07.023>.
66. Diwu, Z.; Lu, Y.; Zhang, C.; Klaubert, D. H.; Haugland, R. P. Fluorescent Molecular Probes II. The Synthesis, Spectral Properties and Use of Fluorescent Solvatochromic Dapoxyl Dyes. *Photochem & Photobiology* **1997**, *66* (4), 424–431. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1997.tb03168.x>.
67. Perochon, E.; Toccanne, J.-F. Synthesis and Phase Properties of Phosphatidylcholine Labeled with 8-(2-Anthroyl)-Octanoic Acid, a Solvatochromic Fluorescent Probe. *Chemistry and Physics of Lipids* **1991**, *58* (1–2), 7–17. [https://doi.org/10.1016/0009-3084\(91\)90106-L](https://doi.org/10.1016/0009-3084(91)90106-L).
68. Suppan, P. Invited Review Solvatochromic Shifts: The Influence of the Medium on the Energy of Electronic States. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **1990**, *50* (3), 293–330. [https://doi.org/10.1016/1010-6030\(90\)87021-3](https://doi.org/10.1016/1010-6030(90)87021-3).
69. Fukuda, R.; Chidthong, R.; Cammi, R.; Ehara, M. Optical Absorption and Fluorescence of PRODAN in Solution: Quantum Chemical Study Based on the Symmetry-Adapted Cluster-Configuration Interaction Method. *Chemical Physics Letters* **2012**, *552*, 53–57. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2012.09.062>.
70. Chattopadhyay, N. Excited State Proton Transfer of Carbazole. A Convenient Way to Study Microheterogeneous Environments. *IJMS* **2003**, *4* (7), 460–480. <https://doi.org/10.3390/i4070460>.
71. Amdursky, N.; Rashid, M. H.; Stevens, M. M.; Yarovsky, I. Exploring the Binding Sites and Proton Diffusion on Insulin Amyloid Fibril Surfaces by Naphthol-Based Photoacid Fluorescence and Molecular Simulations. *Sci Rep* **2017**, *7* (1), 6245. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06030-4>.
72. Förster, Th. Elektrolytische Dissoziation Angeregter Moleküle. *Zeitschrift für Elektrochemie und angewandte physikalische Chemie* **1950**, *54* (1), 42–46. <https://doi.org/10.1002/bbpc.19500540111>.
73. Kagel, H.; Frohme, M.; Glöckler, J. Photoacids in Biochemical Applications. *JCB* **2019**, *4* (1–2), 23–30. <https://doi.org/10.3233/JCB-189004>.
74. Amdursky, N.; Simkovitch, R.; Huppert, D. Excited-State Proton Transfer of Photoacids Adsorbed on Biomaterials. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118* (48), 13859–13869. <https://doi.org/10.1021/jp509153r>.
75. Spry, D. B.; Goun, A.; Fayer, M. D. Deprotonation Dynamics and Stokes Shift of Pyranine (HPTS). *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111* (2), 230–237. <https://doi.org/10.1021/jp066041k>.
76. Kohse, S.; Neubauer, A.; Pazidis, A.; Lochbrunner, S.; Kragl, U. Photoswitching of Enzyme Activity by Laser-Induced pH-Jump. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (25), 9407–9411. <https://doi.org/10.1021/ja400700x>.
77. Peretz-Soroka, H.; Pevzner, A.; Davidi, G.; Naddaka, V.; Kwiat, M.; Huppert, D.; Patolsky, F. Manipulating and Monitoring On-Surface Biological Reactions by Light-Triggered Local pH Alterations. *Nano Lett.* **2015**, *15* (7), 4758–4768. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.5b01578>.
78. Förster, Th. Elektrolytische Dissoziation Angeregter Moleküle. *Zeitschrift für Elektrochemie und angewandte physikalische Chemie* **1950**, *54* (1), 42–46. <https://doi.org/10.1002/bbpc.19500540111>.
79. Förster, Th. Formation and Dissociation of Excited Dimers. *Pure and Applied Chemistry* **1963**, *7* (1), 73–78. <https://doi.org/10.1351/pac196307010073>.

80. Pigot, C.; Noirbent, G.; Brunel, D.; Dumur, F. Recent Advances on Push–Pull Organic Dyes as Visible Light Photoinitiators of Polymerization. *European Polymer Journal* **2020**, *133*, 109797. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109797>.
81. Saway, J.; Salem, Z. M.; Badillo, J. J. Recent Advances in Photoacid Catalysis for Organic Synthesis. *Synthesis* **2021**, *53* (03), 489–497. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1705952>.
82. Nagy, M.; Rácz, D.; Nagy, Z. L.; Fehér, P. P.; Kalmár, J.; Fábián, I.; Kiss, A.; Zsuga, M.; Kéki, S. Solvatochromic Isocyanonaphthalene Dyes as Ligands for Silver(I) Complexes, Their Applicability in Silver(I) Detection and Background Reduction in Biolabelling. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2018**, *255*, 2555–2567. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.09.061>.
83. Nagy, M.; Rácz, D.; Lázár, L.; Purgel, M.; Ditrói, T.; Zsuga, M.; Kéki, S. Solvatochromic Study of Highly Fluorescent Alkylated Isocyanonaphthalenes, Their π -Stacking, Hydrogen-Bonding Complexation, and Quenching with Pyridine. *ChemPhysChem* **2014**, *15* (16), 3614–3625. <https://doi.org/10.1002/cphc.201402310>.
84. Nagy, M.; Rácz, D.; Nagy, Z. L.; Fehér, P. P.; Kovács, S. L.; Bankó, C.; Bacsó, Z.; Kiss, A.; Zsuga, M.; Kéki, S. Amino-Isocyanoacridines: Novel, Tunable Solvatochromic Fluorophores as Physiological pH Probes. *Sci Rep* **2019**, *9* (1), 8250. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44760-9>.
85. Kovács, S. L.; Nagy, M.; Fehér, P. P.; Zsuga, M.; Kéki, S. Effect of the Substitution Position on the Electronic and Solvatochromic Properties of Isocyanoaminonaphthalene (ICAN) Fluorophores. *Molecules* **2019**, *24* (13), 2434. <https://doi.org/10.3390/molecules24132434>.
86. Tolbert, L. M.; Haubrich, J. E. Enhanced Photoacidities of Cyanonaphthols. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112* (22), 8163–8165. <https://doi.org/10.1021/ja00178a049>.
87. Tolbert, L. M.; Haubrich, J. E. Photoexcited Proton Transfer from Enhanced Photoacids. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116* (23), 10593–10600. <https://doi.org/10.1021/ja00102a028>.
88. Harris, C. M.; Selinger, B. K. Acid-Base Properties of 1-Naphthol. Proton-Induced Fluorescence Quenching. *J. Phys. Chem.* **1980**, *84* (11), 1366–1371. <https://doi.org/10.1021/j100448a016>.
89. Bilot, L.; Kowski, A. Zur Theorie Des Einflusses von Lösungsmitteln Auf Die Elektronenspektren Der Moleküle. *Zeitschrift für Naturforschung A* **1962**, *17* (7), 621–627. <https://doi.org/10.1515/zna-1962-0713>.
90. Bilot, L.; Kowski, A. Der Einfluß Des Lösungsmittels Auf Die Elektronenspektren Lumineszierender Moleküle. *Zeitschrift für Naturforschung A* **1963**, *18* (1), 10–15. <https://doi.org/10.1515/zna-1963-0103>.
91. McRae, E. G. Theory of Solvent Effects on Molecular Electronic Spectra. Frequency Shifts. *J. Phys. Chem.* **1957**, *61* (5), 562–572. <https://doi.org/10.1021/j150551a012>.
92. Reichardt, C. Empirical Parameters of Solvent Polarity as Linear Free-Energy Relationships. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1979**, *18* (2), 98–110. <https://doi.org/10.1002/anie.197900981>.
93. Kamlet, M. J.; Abboud, J. L. M.; Abraham, M. H.; Taft, R. W. Linear Solvation Energy Relationships. 23. A Comprehensive Collection of the Solvatochromic Parameters, .Pi.*, .Alpha., and .Beta., and Some Methods for Simplifying the Generalized Solvatochromic Equation. *J. Org. Chem.* **1983**, *48* (17), 2877–2887. <https://doi.org/10.1021/jo00165a018>.
94. Taft, R. W.; Kamlet, M. J. The Solvatochromic Comparison Method. 2. The .Alpha.-Scale of Solvent Hydrogen-Bond Donor (HBD) Acidities. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98* (10), 2886–2894. <https://doi.org/10.1021/ja00426a036>.

95. Förster, Th. Die p_H -Abhängigkeit Der Fluoreszenz von Naphthalinderivaten. *Zeitschrift für Elektrochemie und angewandte physikalische Chemie* **1950**, 54 (7), 531–535. <https://doi.org/10.1002/bbpc.19500540707>.
96. Yanai, T.; Tew, D. P.; Handy, N. C. A New Hybrid Exchange–Correlation Functional Using the Coulomb-Attenuating Method (CAM-B3LYP). *Chemical Physics Letters* **2004**, 393 (1–3), 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2004.06.011>.
97. Skwierczynski, R. D.; Connors, K. A. Solvent Effects on Chemical Processes. Part 7. Quantitative Description of the Composition Dependence of the Solvent Polarity Measure E_T (30) in Binary Aqueous–Organic Solvent Mixtures. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1994**, No. 3, 467–472. <https://doi.org/10.1039/P29940000467>.
98. Silva, M. A. D. R.; Da Silva, D. C.; Machado, V. G.; Longhinotti, E.; Frescura, V. L. A. Preferential Solvation of a Hydrophobic Probe in Binary Mixtures Comprised of a Nonprotic and a Hydroxylic Solvent: A View of Solute–Solvent and Solvent–Solvent Interactions. *J. Phys. Chem. A* **2002**, 106 (37), 8820–8826. <https://doi.org/10.1021/jp0145964>.
99. Mandal, A. B.; Nair, B. U.; Ramaswamy, D. Determination of the Critical Micelle Concentration of Surfactants and the Partition Coefficient of an Electrochemical Probe by Using Cyclic Voltammetry. *Langmuir* **1988**, 4 (3), 736–739. <https://doi.org/10.1021/la00081a041>.
100. Tummino, P. J.; Gafni, A. Determination of the Aggregation Number of Detergent Micelles Using Steady-State Fluorescence Quenching. *Biophysical Journal* **1993**, 64 (5), 1580–1587. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(93\)81528-5](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(93)81528-5).