



FLUORESZCENCIÁS JELZŐANYAGOK KÖLCSÖNHATÁSA  
HIDROGÉNKÖTÉST LÉTESÍTŐ ANYAGOKKAL ÉS MICELLÁKKAL

Doktori (PhD) értekezés

Miskolczy Zsombor

Témavezető: Dr. Biczók László  
Konzulens: Dr. Kéki Sándor

Debreceni Egyetem  
Természettudományi Doktori Tanács  
Kémiai Doktori Iskola  
Debrecen, 2007

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Természettudományi Doktori Tanács Kémiai Doktori Iskola reakciókinetika és katalízis programja keretében készítettem a Debreceni Egyetem természettudományi doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2007. szeptember

Tanúsítom, hogy Miskolczi Zsombor doktorjelölt 2006 - 2007 között a fent megnevezett Doktori Iskola reakciókinetika és katalízis programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javaslom.

Debrecen, 2007. szeptember

Dr. Biczók László  
MTA doktora

## Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzés	1
2. Irodalmi áttekintés	3
2. 1. Oldószerhatás az elnyelési és fluoreszcencia színképre	3
2. 2. Fotofizikai folyamatok	4
2. 3. Gerjesztett állapot élettartama	7
2. 4. Kvantumhasznosítási tényezők	9
2. 5. Vizsgált vegyületsaládok	10
2. 5. 1. Ionfolyadékok	10
2. 5. 2. Benzofenoxazin vázú vegyületek, 2-hidroxiid-nílusvörös	12
2. 5. 3. Piridokarbazol típusú alkaloidok	13
2. 5. 4. Alloxazin vázú vegyületek	15
3. Kísérleti körülmények és számítási módszerek	19
3. 1. Felhasznált vegyszerek	19
3. 2. Mérési módszerek	22
3. 2. 1. Spektrofotometria	22
3. 2. 2. Emissziós színképek felvétele	23
3. 2. 3. Fluoreszcenciaintenzitás időfüggésének mérése	23
3. 2. 4. Vezetőképesség mérés	25
3. 3. Számítási módszerek	26
3. 3. 1. Alapállapotú egyensúlyi állandó meghatározása elnyelési spektrumokból 1:1 komplexképződés esetén	26
3. 3. 2. Fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezőjének meghatározása	28
3. 3. 3. Komplexképződés gerjesztett állapotban, kioltási sebességi együttható meghatározása	28
3. 3. 4. Fluoreszcencia élettartam és a kioltási sebességi együttható meghatározása	30
3. 3. 5. Mátrix Rang Analízis (MRA)	31
3. 3. 6. PSEQUAD	31
4. Kísérleti eredmények és értékelésük	33
4. 1. Az ionfolyadékok aggregációja és micellaképzése vízben	33
4. 1. 1. A $[C_4mim][C_8SO_4]$ micellaképződése vízben	33
4. 1. 2. A 2-hidroxiid-nílusvörös festék mikrokozmoszának polaritása $[C_4mim][C_8SO_4]$ ionfolyadék micellában	37
4. 1. 3. $[C_8min]Cl$ aggregációja és vegyes micellaképződése SDS-tal	38
4. 2. A 2-hidroxiid-nílusvörös hidrogénhid-komplexeinek vizsgálata	41
4. 2. 1. Erős bázis hatása	41
4. 2. 2. $H_2SO_4$ hatása	43
4. 2. 3. N-Metil-imidazol (NMeIm) hatása különböző oldószerekben	46
4. 2. 4. Más szerves bázisok hatása	52
4. 3. Ellipticin fotofizikai sajátosságai és hidrogénhid-komplex képző anyagok hatása	57
4. 3. 1. Az ellipticin és 6-metil-ellipticin elnyelési és emissziós színképe	57
4. 3. 2. Trifluor-ecetsav hatása (TFA) metanolban	59
4. 3. 3. Tetrabutil-ammónium-hidroxiid ( $Bu_4NOH$ ) hatása	60
4. 3. 4. Oldószer hatása a fotofizikai paraméterekre	63
4. 3. 5. Fluoridion hatása az elnyelési és emissziós színképre	65
4. 3. 6. Acetátion hatása az elnyelési és emissziós színképre	69
4. 3. 7. Szerves nitrogéntartalmú vegyületek hatása	70
4. 4. Anionok kölcsönhatása lumikrómmal	74
4. 4. 1. Anionok hatása az elnyelési színképre	74
4. 4. 2. Anionok hatása a fluoreszcenciára	76
4. 4. 3. A víz hatása a F kötődésére	78
5. Összefoglalás	82
6. Summary	85
7. Irodalomjegyzék	90
8. Függelék	97



## 1. Bevezetés és célkitűzés

A fluoreszcenciás módszerek egyre inkább tért hódítanak biológiai, biokémiai kutatásokban és az anyagtudományban. Népszerűségük nagy érzékenységüknek, jó szelektivitásuknak és egyszerűségüknek köszönhető. A fluoreszcenciás jelzőanyagok révén információt nyerhetünk a mikrokörnyezetben végbemenő változásokról, így alkalmazhatók sejten belüli változások és molekulák kötődésének kimutatására, ionok, molekulák szelektív detektálására. A különféle alkalmazási területeknek leginkább megfelelő festékek kifejlesztése érdekében fontos feltárni, hogy a molekulaszervezet és a mikrokörnyezet miként befolyásolja a fluoreszcenciás sajátságokat, valamint a gerjesztett molekulák energiavesztési folyamatait.

A hidrogénkötés alapvetően befolyásolja az energiavesztési folyamatok sebességét. Az  $n-\pi^*$  és  $\pi-\pi^*$  gerjesztett állapotokkal rendelkező molekulákban hidrogénkötés hatására megváltozhat az energiaszintek egymáshoz viszonyított helyzete, ami befolyásolja a szingulett és triplett gerjesztett állapotok közötti átmenet sebességi együtthatóját. Az intermolekuláris hidrogénkötések kialakulása, vagy azok erősségének változása növelheti a rezgési csatolást az alap és gerjesztett állapotok között, ami hatékony energiavesztést okozhat.

Kutatásaink fő célja, hogy olyan intenzíven fluoreszkáló anyagokat találjunk, amelyeknek a fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezője és a gerjesztett állapot élettartama jelentősen függ a mikrokörnyezet polaritásától, hidrogénkötésre képes anyagok jelenlététől. Feltárjuk, hogy ezek a tényezők miként befolyásolják a gerjesztett állapotból kiinduló különféle folyamatok egymáshoz viszonyított sebességét. A legalkalmasabbnak bizonyuló vegyületeket felhasználjuk mikroheterogén rendszerek tanulmányozására.

Annak ellenére, hogy az ionfolyadékokkal foglalkozó közlemények száma az utóbbi években rohamosan növekedett, e vegyületek aggregációját vízben még nem vizsgálták szisztematikusan kutatásaink megkezdése előtt. A micellaképződés elvileg bármilyen kísérleti módszerrel követhető, ha a vizsgált tulajdonság hirtelen változást szenved a kritikus micella-koncentrációnál. Olyan festéket kerestünk,

mely alkalmas a micellák Stern rétegében végbemenő változások érzékeny követésére, amelynek az elnyelési és fluoreszcencia színe, fluoreszcencia élettartama, a gerjesztett állapotának energiája és oldékonysága is jelentősen megváltozik, ha beékelődik a micellába. E feltételeknek megfelel a 2-hidroxid-nílusvörös.

Ez a vegyület más szempontból is ígéretesnek tűnő jelzőanyag, hiszen fenolos hidroxidcsoportja kötőhelyet biztosít hidrogénhid-akceptor vegyületek számára. Szokatlan tulajdonsága, hogy fényelnyelés hatására alig változik a OH csoport sáverőssége. Részletes vizsgálatokat terveztünk annak a kérdésnek a megválaszolására, hogy ilyen esetben a nitrogén-heterociklusos molekulákkal vagy aminokkal alkotott komplex fluoreszcenciás sajátságai függenek-e a hidrogénhid-akceptor komponens báziserősségétől. A gerjesztett molekulák energiavesztési folyamatainak vizsgálata terén tapasztalható intenzív kutatómunka ellenére kevés adat található a szakirodalomban a hidrogénhíddal összekapcsolt molekulák fotofizikai folyamatait meghatározó tényezőkről. Nem ismertek általános törvényszerűségek, melyek alapján megjósolható lenne, hogy a hidrogénhid-komplekképződés miként módosítja a gerjesztett állapotból kiinduló energiavesztési folyamatok fő irányát és kinetikáját. Munkánkkal e kérdések megválaszolásához is hozzá kívántunk járulni.

Munkánkat kiterjesztettük egy piridokarbazol típusú alkaloid, az ellipticin hidrogénhid-komplexeinek vizsgálatára. E vegyület mind hidrogénhid-donor, mind hidrogénhid-akceptor jellegű kötőhellyel rendelkezik, így képes sokféle típusú vegyülethez kötődni. Tanulmányozni kívántam a metanol jelenlétében tapasztalt kettős fluoreszcencia okát és anionokkal történő kölcsönhatás fotofizikai következményeit.

A riboflavin fotobomlásának és biodegradációjának a fő terméke az alloxazinvas lumikróm. Tautomerizációját csak tömény ecetsav, illetve piridin oldatokban gerjesztett állapotban figyelték meg. Olyan vegyületet kerestem, aminek kis mennyisége is képes befolyásolni a lumikróm tautomerizációját, ami analitikai alkalmazásokra is lehetőséget nyújtana.

## 2. Irodalmi áttekintés

### 2. 1. Oldószerhatás az elnyelési és fluoreszcencia színeképre

Az elnyelési illetve lumineszcenciaspektrumok maximumának a helye, valamint a kémiai reakciók hozama oldószerfüggő [1]. Ma ez már hozzátartozik a vegyész általános ismereteihez. 1862-ben Berthelot és Péan de Saint-Gilles, ecetsav etanollal történő észterezését vizsgálva, közölték először a kémiai reakciók oldószerfüggését [2]. Claisen [3], Knorr [4] és Wislicenus [5] egymástól függetlenül, egyidejűleg keto-enol tautomerizációt vizsgálva 1,3-dikarbonil vegyületeken, 1896-ban mutattak rá arra, hogy az oldószer a kémiai egyensúlyt is befolyásolja. 1903-ban Stobbe két csoportra osztotta az oldószerket, aszerint hogy milyen készséggel izomerizálódnak bennük a tautomerizációra képes vegyületek [6], ami bizonyos mértékig tükrözi az oldószer modern osztályozását, miszerint megkülönböztetünk H-híd donor (protikus) és aprotikus oldószerket.

Az 1-fenil-4-[(4-ciano-1-naftil)metilén]piperidin festék emissziós maximuma 407 nm n-hexánban, poláris oldószerben nagyobb hullámhossz felé tolódik el [7], pl. acetonitrilben 694 nm-re. Pirén és makrobiciklusos ciklofán között kialakuló 1:1 összetételű részecske képződésének egyensúlyi állandója  $10^6$  faktorial változik, ha széndiszulfid oldószerből vizes közegbe térünk át [8-10]. Mindezek a változások az oldószer polaritásbeli különbségéből adódnak. De mit jelent az oldószer polaritása? A leegyszerűsített, idealizált elektrosztatikus modell, amely az ionok és dipól molekulák szolvatálódását írja le, az oldószer strukturálatlan kontinuumnak feltételezi, így fizikai állandókat vezethettek be (dielektromos állandó, permanens dipólus momentum), amivel a közeg jellemezhető. Azonban az anyag/oldószer kölcsönhatása molekuláris, mikroszkopikus szinten játszódik le, így az elektrosztatikus megközelítés gyakran eltér a realitástól. A valóságban a közeghatás kielégítő kvantitatív leírásához figyelembe kellene venni az összes specifikus és nem specifikus anyag/oldószer, oldószer/oldószer, valamint nagy koncentrációknál anyag/anyag kölcsönhatást. Ezért, gyakorlati megfontolások

alapján 1965-ben bevezetik az oldószer polaritás fogalmát [1,11], ami figyelembe vesz minden kölcsönhatást az anyag és oldószer között. Nyilvánvalóan az így definiált oldószer polaritás kvantitatívan egyetlen fizikai paraméterként kellene, hogy jellemezze az oldószeret, ezért célszerű volt bevezetni egy empirikus paramétert a polaritás jellemzésére. Természetesen olyan anyagot kell választani, amelynek valamilyen tulajdonsága érzékeny a mikrokörnyezetre, nem lép kémiai reakcióba az oldószerrel, könnyen kezelhető, és jól oldódik számos oldószerben [12]. Kosower 1958-ban felállította az első spektroszkópai oldószer polaritás skálát [13]. Majd később bevezetik napjaink legnépszerűbb, nagy tartományú,  $E_T(30)$  skálát, amelynek alapjául a piridinium N-fenolát betain festék szolgál [14]. Körülbelül 360 oldószernek határozták meg a polaritását a következő összefüggéssel:

$$E_T(30) = hc \nu_{\max} N_A = (28591 / \lambda_{\max} (nm)) \quad (\text{kcal mol}^{-1}) \quad (1)$$

ahol,  $\nu_{\max}$  és  $\lambda_{\max}$  a legnagyobb hullámhosszhoz tartozó elnyelési sáv maximumának hullámszáma, illetve hullámhossza.

Az elnyelési és lumineszcenciaspektroszkópiás mérések egyszerűségének köszönhetően számos szolvatokrom vegülettel meghatároztak empirikus oldószer polaritás paramétereket. A fluoreszkáló vegyületek nemcsak az oldószer polaritás meghatározásra kiválóak, hanem használhatók mikroheterogén közegek, biokémiai, biológiai rendszerek tanulmányozására is. Gyakran a polaritásra érzékeny vegyületek használata az egyetlen út a proteinek szerkezetváltozásának a követésére.

## 2. 2. Fotofizikai folyamatok

Fényelnyelés hatására megváltozik a molekulák elektroneloszlása, ennek következtében pedig a sav-bázis erősségük, oxidációs vagy redukációs tulajdonságaik is módosulnak. A Perrin-Jablonski diagram (1. ábra) szemléletes módon ismerteti egy molekula fény hatására bekövetkező lehetséges fotofizikai folyamatait. Szobahőmérsékleten a molekulák a Boltzmann törvény értelmében

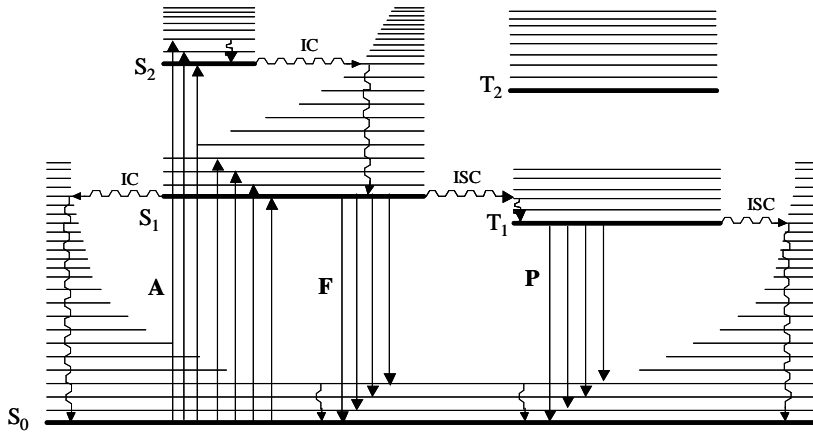
alapállapotban ( $S_0$ ) vannak. Foton elnyelésével a molekula magasabb elektrongerjesztett állapotba ( $S_{1,2}$ ) kerül. A diagramon feltüntetett fotofizikai folyamatok leggyakoribb időtartamait az 1. táblázatban foglaltam össze.

Szingulett gerjesztett állapotban a molekula átlagosan  $10^{-8}$  s ideig tartózkodhat, innen különböző típusú folyamatokban kerülhet vissza alapállapotba, melyek között megkülönböztetünk sugárzásos és sugárzásmentes átmeneteket. Azonos multiplicitású energiaállapotok között foton kibocsátással fluoreszcencia (F), míg sugárzásmentes átmenettel belső konverzió mehet végbe (az általánosan használt „internal conversion” rövidítését (IC) használom a továbbiakban). A belső konverzió lényegesen kisebb sebességgel következik be az  $S_1$ - $S_0$  energiaállapotok között, mint az  $S_2$ - $S_1$  között. A különböző elektrongerjesztett állapotok közötti energiakülönbség csökkenésekor a belső konverzió felgyorsul.

Amikor egy anyag fluoreszkál, akkor a fotonkibocsátás a gerjesztést rövid időn belül ( $10^{-3}$ - $10^2$  ns) követi. Legáltalánosabb formája az  $S_1$ - $S_0$ , ritkább esetekben:  $S_2$ - $S_0$ ,  $T_2$ - $T_1$  átmenetek is megvalósulnak. Ha alap és gerjesztett állapotban a rezgési szintek közötti energiakülönbségek megegyeznek, akkor a fluoreszcencia színekép az első elnyelési sáv tükörképe. A fluoreszcencia maximum és a legnagyobb hullámhosszhoz tartozó abszorpciós maximum közötti energiakülönbség adja meg a Stokes eltolódást. A gerjesztett molekula  $S_1$  szinten néhány tíz pikoszekundum és pár száz nanoszekundum közötti ideig tartózkodhat a vegyület szerkezetétől, illetve a környezettől függően.

Gerjesztés után a fluoreszcenciaintenzitás exponenciálisan csökken egy a molekulára jellemző idővel, ami a fluoreszkáló állapot átlagos élettartamát tükrözi.

A harmadik lehetséges energiavesztési folyamat az  $S_1$  energiaállapotból a spinváltó átmenet, mely különböző multiplicitású gerjesztett energiaszintek között jöhet létre (továbbiakban az angol kifejezésből származó rövidítést „intersystem crossing” ISC-t fogom használni). Az  $S_1$ - $T_n$  spintiltott, sugárzásmentes folyamat elég gyors ( $10^{-14}$ - $10^{-8}$  s) ahhoz hogy versengjen a fluoreszcenciával és belső konverzióval.



1. ábra Perrin-Jablonski diagram. A: fényelnyelés, F: fluoreszcencia, P: foszforeszcencia IC: belső konverzió, ISC: spinváltó átmenet, S: szingulett-, T: triplettenergia-állapot.

Foszforeszcencia (P), különböző multiplicitású állapotok közötti átmenet, amikor a fotonkibocsátás általában  $10^{-3}$ - $10$  s alatt történik. A fotonkibocsátás sebességi együtthatója nagyon kicsi, ezért általában kis hőmérsékleten és/vagy merev környezetben (üvegben) észlelhető.

1. táblázat Néhány fotofizikai folyamat leggyakoribb időtartama szobahőmérsékleten, oldatban [15]

Átmenet	Fotofizikai folyamat	Időtartam
$S_n \rightarrow S_1$	Belső koverzió	$10^{-14} - 10^{-11}$ s
$S_1 \rightarrow S_0$	Belső koverzió	$10^{-9} - 10^{-7}$ s
$S_1 \rightarrow S_0 + h\nu$	Fluoreszcencia	$10^{-12} - 10^{-7}$ s
$S_1 \rightarrow T_n$	Spinváltó átmenet	$10^{-14} - 10^{-8}$ s
$T_n \rightarrow T_1$	Belső koverzió	$10^{-14} - 10^{-11}$ s
$T_1 \rightarrow S_0$	Spinváltó átmenet	$10^{-6} - 10$ s
$T_1 \rightarrow S_0 + h\nu$	Foszforeszcencia	$10^{-3} - 10$ s

Ilyen körülmények között a triplett állapot élettartama néhány másodperc, sőt perc nagyságrendű is lehet. A foszforeszcenciaspektrum nagyobb hullámhossznál jelenik meg, mint a fluoreszcencia-szinkép.

Ha az  $S_1$  és  $T_1$  energiaállapotok között kicsi az energiakülönbség, és a triplett élettartam elég hosszú, akkor bekövetkezhet a triplett állapotból a szingulett állapotba átmenet ( $T_1-S_1$ ), ami E-típusú (először az eozinnál figyelték meg, innen ered az elnevezésében szereplő E betű) késleltetett fluoreszcenciát eredményezhet. A folyamat termikusan aktivált, következésképpen nagyobb hatékonysággal következik be nagyobb hőmérsékleten.

Ha triplett állapotban levő molekulák koncentrációja nagy, két triplett ( $T_1$ ) gerjesztett molekula ütközhet, triplett-triplett annihiláció következhet be, vagyis az ütközésből keletkező energia elégséges lehet a  $T_1-S_1$  átmenet megvalósulásához. Ezt elsőként a pirénnél figyelték meg, ezért az ily módon létrejövő fénykibocsátást P-típusú késleltetett fluoreszcenciának is szokták nevezni.

### 2. 3. Gerjesztett állapot élettartama

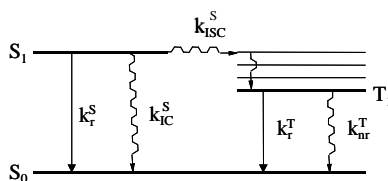
A fényelnyelést követő fotofizikai folyamatok sebességi együtthatóját a 2. ábrán a következőképpen jelöltem:  $k_r^S$  fluoreszcencia sebességi együttható

$k_{IC}^S$  belső konverzió sebességi együtthatója

$k_{ISC}^S$  spinváltó átmenet sebességi együtthatója

$k_r^T$  foszforeszcencia sebességi együtthatója

$k_{nr}^T$  a  $T_1-S_0$  átmenet sebességi együtthatója



2. ábra Fényelnyelést követő lehetséges fotofizikai folyamatok

Legyen  $[A]$  a fluoreszcenciás jelzőanyag koncentrációja. Bevilágítást hatására A molekula  $S_1$  gerjesztett állapotba kerül, ahonnan foton kibocsátással vagy

sugárzásmentes folyamattal visszajut alapállapotba. A klasszikus fotokémiából is jól ismert összefüggéssel, figyelembe véve a lehetséges folyamatokat, a gerjesztett molekula koncentrációjának időbeli változása megadható:

$$-\frac{d[{}^1A^*]}{dt} = (k_r^S + k_{nr}^S)[{}^1A^*] \quad (2)$$

ahol  $k_{nr}^S = k_{IC}^S + k_{ISC}^S$ , integrálva a kifejezést a következő egyenletet kapjuk,

$$[{}^1A^*] = [{}^1A^*]_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau_s}\right) \quad (3)$$

ahol  $[{}^1A^*]_0$  a fényelnyelés hatására gerjesztett állapotba került molekulák koncentrációja,  $\tau_s$  pedig az  $S_1$  gerjesztett állapot élettartama, ami megadható az alábbi összefüggéssel:

$$\tau_s = \frac{1}{k_r^S + k_{nr}^S} \quad (4)$$

A fluoreszcenciaintenzitás megfelel az egységnyi idő alatt egységnyi térfogatban kibocsátott fotonok számával, és természetesen függ a gerjesztett állapotban levő molekulák koncentrációjától. Időbeni változása megadható az:

$$i_F(t) = k_r^S [{}^1A^*] = k_r^S [{}^1A^*]_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau_s}\right) \quad (5)$$

összefüggéssel. A  $k_r^S$  sebességi együttható Strickler és Berg által javasolt összefüggéssel becsülhető [16].

$$\frac{1}{\tau_r} = k_r^S = 2,88 \cdot 10^{-9} n^2 \langle \bar{\nu}_F^{-3} \rangle_{Av}^{-1} \int \epsilon d\bar{\nu} / \bar{\nu} \quad (6)$$

ahol  $\langle \bar{\nu}_F^{-3} \rangle_{Av}^{-1}$  a fluoreszcencia átlagos frekvenciája,  $\int \epsilon d\bar{\nu} / \bar{\nu}$  a  $S_1$ - $S_0$  abszorpciós sáv integrálja,  $n$  pedig a közeg törésmutatója. Látható, hogy  $k_r^S$  értéke egyenesen arányos a  $S_1$ - $S_0$  abszorpciós sáv alatti területtel és a fluoreszcencia frekvenciájával, vagyis minél kisebb a moláris abszorpciós együttható értéke, annál kisebb a fluoreszcencia kibocsátás sebességi együtthatója. Az oldószer polaritásának változásával a színek abszorpciós maximumának a helye is megváltozik,  $\pi$ - $\pi^*$  típusú gerjesztett állapot esetén apoláristól poláris oldószer felé haladva mind az abszorpciós, mind a fluoreszcencia színekben batokróm eltolódás tapasztalható

(kisebb frekvencia), ami a fluoreszcencia sebességi együttható csökkenéséhez vezet.

#### 2. 4. Kvantumhasznosítási tényezők

Az elnyelt fotonok és a fluoreszcenciaként visszakapott fotonok számának aránya adja a fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezőt.

$$\phi_F = \frac{k_r^S}{k_r^S + k_{nr}^S} = k_r^S \tau_S \quad (7)$$

Hasonlóan megadható a spinváltó átmenet valószínűsége is:

$$\Phi_{ISC} = \frac{k_{ISC}^S}{k_r^S + k_{nr}^S} = k_{ISC}^S \tau_S \quad (8)$$

A belső konverzió kvantumhasznosítási tényezőjére pedig a

$$\Phi_{IC} = \frac{k_{IC}^S}{k_r^S + k_{nr}^S} = k_{IC}^S \tau_S = 1 - \Phi_F - \Phi_{ISC} \quad (9)$$

összefüggés érvényes.

## 2. 5. Vizsgált vegyületcsaládok

A dolgozatban az ionfolyadékok viselkedését mutatom be vizes közegben, valamint négy festékmolekula (2-hidroxid-nílusvörös, ellipticin, 6-metil-ellipticin és lumikróm) fotofizikai tulajdonságait befolyásoló tényezőket vázolom.

### 2. 5. 1. Ionfolyadékok

Az ionfolyadékok története 1914-re nyúlik vissza, amikor Walden az etilammónium-nitrátot (o.p. 12<sup>0</sup>C) állította elő etil-aminból és tömény salétromsavból [17], de ez a felfedezés kevés figyelmet kapott. A tudományterület talán legnagyobb felfedezése Hurley [18] és Hurley és Weir [19] nevéhez fűződik, amikor 1948-ban felfedezték a szobahőmérsékleten folyékony kloroaluminát ionfolyadékokat. Majd hosszú szünet után az 1980-as években került ismét középpontba, amikor a kloroaluminát ionfolyadékokat Hussey [20] és Seddon széleskörűen vizsgálta [21] mint átmenetifém komplexek oldószereit, főleg elektrokémiai és spektroszkópiai módszerekkel. Az első közlemény, melyben az alacsony olvadáspontú ionfolyadékokat reakcióközegként említik 1986-ban jelent meg [22]. Az alumínium tartalmú ionfolyadékoknak nagy hátrányuk, hogy igen érzékenyek vízre, valamint sok szerves anyaggal inkompatibilisek, ilyenek például az alkoholok és aceton. Nagy áttörést jelentett 1992-ben Wilkes felfedezése: levegőn stabil, nedvességre nem érzékeny imidazolium só típusú ionfolyadékokat állított elő [23]. Ez lehetőséget teremtett új, környezetbarát ipari eljárások tervezésére. Az eddig használt hagyományos és egyben káros oldószereket lassan kiszoríthatja az iparból. Megjelenésével világszerte felkeltette az érdeklődést, alkalmazzák preparatív eljárásokban oldószerként, homogén katalízis során és elválasztás-technikában egyaránt [24-26]. Nagy ionos vezetőképességgel rendelkeznek, így különböző elektrokémiai reakciók hajthatók bennük végre [27]. Nagy előnyük, hogy kicsi a gőznyomásuk, nem éghetők, még 300-400 °C körüli hőmérsékleten is használhatók [28-30].

Micellaképződést találtak az 1-decil-3-metil-imidazolium-bromid:víz elegyben [39], valamint 1-butil-3-metil-imidazolium-hexafluoro-foszfát ionfolyadék:víz:Laureth 4 összetételű oldatban [32]. Az amfifil vegyületek ionfolyadékban is aggregálódnak [33,34].

A fluorozott szénláncú N-metil-(N-butil)-imidazolium-sók is felületaktív anyagként viselkednek, hisz az 1-hexil-3-metil-imidazolium-hexafluoro-foszfát ionfolyadék felületi feszültségét lecsökkentik [35].

Az ionfolyadék:víz elegyek termodinamikáját és fázisegyensúlyát már vizsgálták [36], mivel ennek ismerete szükséges az extrakciós módszerek kidolgozásához [37]. Vizsgálták az ionszerkezet hatását az ionfolyadék és víz elegyedésére [38], valamint tanulmányozták a víz molekuláris állapotát 1-alkil-3-metil-imidazolium-kationú,  $[\text{SbF}_6]^-$ ,  $[\text{BF}_4]^-$ ,  $[\text{ClO}_4]^-$ ,  $[\text{CF}_3\text{SO}_3]^-$ ,  $[(\text{CF}_3\text{SO}_2)_2\text{N}]^-$ ,  $[\text{NO}_3]^-$  és  $[\text{CF}_3\text{CO}_2]^-$  aniont tartalmazó ionfolyadékokban [39]. Kimutatták, hogy a levegőből abszorbeált víz többnyire “szabad” (nem asszociálódott) formában van jelen, miközben anion-HOH-anion típusú H-híd kötést alakít ki, 0,2-1,0 mol  $\text{dm}^{-3}$  koncentráció tartományban, az anionnal. A H-híd kötés erőssége  $[\text{SbF}_6]^- < [\text{BF}_4]^- < [\text{ClO}_4]^- < [\text{CF}_3\text{SO}_3]^- < [\text{NO}_3]^- < [\text{CF}_3\text{CO}_2]^-$  sorban nő.

Az előbbieken bemutatott ionfolyadékokat levegőn hagyva akár 1 mol  $\text{dm}^{-3}$  vizet is megköthetnek. A víz megváltoztatja polaritásukat, viszkozitásukat, vezetőképességüket, hatása lehet a bennük lejátszódó reakciók hozamára, feloldhat más vegyületeket, mint például  $\text{CO}_2$ -ot [40]. Az ionfolyadékban abszorbeálódni képes víz mennyisége jól szabályozható az anion és kation változtatásával [39]. Az ionfolyadék vízdoldhatósága erősen függ az aniontól: bármilyen arányban elegyedik (pl. ha az anion  $\text{BF}_4^-$ ), részben elegyedik (pl. ha  $\text{Br}^-$  az anion), vagy nem elegyedik egyáltalán vízzel (pl. ha anionként  $\text{PF}_6^-$ -tartalmaz).

A világszerte tapasztalható intenzív kutatások ellenére a szakirodalomban nem találtunk szisztematikus vizsgálatot az ionfolyadékok micellaképződésére vonatkozóan, illetve arra, hogy alkalmasak-e a hagyományos felületaktív anyagok tulajdonságainak módosítására. Az irodalomból ismert, hogy a kritikus micella-

koncentráció (cmc) és az aggregációs szám (N) csökken az ellenion sugarának a növekedésével, valamint N a cmc növekedésével is csökken [41,42].

### **2. 5. 2. Benzofenoxazin vázú vegyületek, 2-hidroxi-nílusvörös**

A fluoreszcenciás jelzőanyagok használata az utóbbi időben igen elterjedt biológiailag fontos molekulák, mint a DNS, proteinek, gyógyszerek hatásmechanizmusának tanulmányozására. Népszerű alkalmazásuk a fluoreszcenciaspektroszkópia nagy érzékenységének köszönhető. Számos festék kereskedelmi forgalomban megvehető, de kevés azon festékek száma, amely 600-1000 nm tartományban nyeli el a fényt, ezek sokkal szelektívebbek és könnyebben alkalmazhatóak [43,44]. Egy jó fluoreszcenciás jelzőanyag nagy a fluoreszcencia hatásfoka, nagy a moláris abszorpciós együtthatója, jelentős Stokes eltolódású és nem utolsó sorban nagy kémiai és fotokémiai stabilitással kell, hogy rendelkezzen. Előnyös, ha reaktív funkciókat tartalmaz, ami lehetővé teszi a kötődést más vegyületekhez, mint például biomolekulákhoz, valamint fontos hogy érzékeny legyen a mikrokörnyezetének kismértékű megváltozására. Mindezek ismeretében kezdtük el vizsgálni a benzofenoxazin vázú festékeket, amelyek között a mikrokörnyezet polaritására érzékenyen reagáló is található [45].

A benzo[a]fenoxazin-5-on egyes származékai erősen fluoreszkálnak 600 nm-nél hosszabb hullámhossztartományban, ahol más, pl. biológiai rendszerekben jelenlévő anyagok zavaró hatása nem érvényesül [46]. A nílusvörös festék erősen kötődik a fehérjék hidrofób részéhez, lipoproteinekhez és lipidekhez, valamint nagy fluoreszcencia hatásfoka folytán nagyon kis koncentrációban is hatékony jelzőanyag. Mivel ilyen körülmények között nem toxikus, ezért *in vivo* kísérletekben is kiválóan használható például sejten belüli morfológiai változások követésére is [47] vagy májkárosodást előidéző vegyületek kiszűréséhez [48].

Bár a nílusvörös festéket széles körben alkalmazzák biológiai kutatásokhoz, lipidek sejten belüli felhalmozódásának meghatározására [49-51], valamint a membránok dinamikájának és mikroheterogenitásának vizsgálatára [52-55],

ligandum enzimhez való kötődésének kimutatására [56], ionfolyadékok tanulmányozására [57], kevés adat van az irodalomban fotofizikai sajátosságairól és szubsztituált származékainak fluoreszcenciás viselkedéséről.

Az 1-hidroxid, illetve 2-hidroxid (5. ábra) származéknak az előállítását az irodalomban ismert: 5-dietil-amino-2-nitrozo-fenol-hidrokloridot 1,5- illetve 1,6 dihidroxi-naftalinnal dimetil-formamidban 4 órán át kell visszafolyatni [58]. A reakciók jó, 70, illetve 65%-os hozammal mennek végbe. Az 1-hidroxid származék gyengén fluoreszkál [43], de a laboratóriumunkban végzett korábbi munkák igazolták, hogy a 2-hidroxid-nílusvörös jól alkalmazható jelzőanyagként [45].

A következő megfontolások alapján kezdtük el vizsgálni a 2-hidroxid-nílusvörös (HONV) fluoreszcenciás jelzőanyagot: (1) a hidroxid szubsztitúció a vegyület fotofizikai sajátosságait csak kis mértékben változtatja meg, így minden jó tulajdonsága megmarad, azonban a vegyület oldékonyságát apoláris közegben lecsökkenti. (2) Vízen rosszul oldódik, valamint a fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezője is kicsi vízben így alkalmazhatóvá válik micellák Stern-rétegének tanulmányozására; (3) a fenolos hidroxidcsoport beépítésével új kötőhelyet biztosítunk hidrogénhíd-akceptorok, mint pl. N-t tartalmazó heterociklusos vegyületek és aminok számára. Az irodalomban csak olyan vizsgálatokról olvashatunk [59-66], amikor a használt hidrogénhíd-donor vegyületeknek gerjesztett állapotban megnő a savassága. Előzetes vizsgálataink szerint a HONV különleges tulajdonsága, hogy  $pK_a$  értéke fényelnyelés hatására alig változik.

### 2. 5. 3. Piridokarbazol típusú alkaloidok

Az ellipticin (5. ábra) és az olivacin természetes piridokarbazol típusú alkaloidok. Apocynaceae és Loganiaceae növény családban gyakran együtt fordulnak elő, és mivel hasonló a szerkezetük, igen nehéz az elválasztásuk [67]. Az ellipticint először egy trópusi örökzöld, *Ochrosia elliptica* Labill fa törzséből vonták

ki, valószínűleg innen kapta a nevét is [68]. Szerves szintézissel is előállítható, bár kissé körülményesen és kis hozammal [69-71].

Számos ellipticin származék antitumor hatást mutat, mellrák, leukémia kezelésére ígéretesnek látszik [72]. Planáris molekula lévén könnyen beépül a DNS bázispárok közé, amely szükséges, de nem elégséges a biológiai hatás kifejtésére. Enzimatisz folyamatok inhibitora, és különböző redox folyamatokban vehet részt. Éppen biológiai szerepük miatt a vizsgálatok túlnyomó többségét vizes közegben végezték, azonban nem szabad figyelmen kívül hagyni, hogy biológiai rendszerekben nem csak poláris, hanem kevésbé poláris mikrokörnyezetek is kialakulhatnak. Számos származékát előállították annak érdekében, hogy felderítsék a piridokarbazol típusú alkaloid kölcsönhatás mechanizmusát a DNS bázisokkal. Fontaine és munkatársai a pazaellipticint és származékait tanulmányozva rámutattak arra, hogy a pazaellipticin fiziológiai pH-n - ellentétben az ellipticinnel - nem semleges, így biológiailag könnyebben felhasználható, mert könnyebben képezhet vízben oldódó sókat [73], valamint könnyebben diffundál *in vivo* a DNS felé [74]. Kimutatták hogy, az ellipticin 6-os helyzetű nitrogénje 7,4-es pH-n protonálódik, az ötös gyűrű NH csoportja pedig csak erős bázikus közegben disszociál [75]. Az ellipticin kationos formája oldódik csak vízben, amely sokkal kevésbé aktív, mint a semleges forma [76]. A vegyület vízben való oldékonysága növelhető, ha beépítik  $\gamma$ - vagy módosított  $\beta$ -ciklodextrinbe [75,77], illetve micellába [78]. Vízben oldhatóvá tehető, ha cukor részt kötnek hozzá [79].

Az ellipticin, mint ahogy a karbazol vegyületcsaládhoz tartozó más vegyületek is, erősen fluoreszkál, és fluoreszcenciája pH függő, amit kvantitatív kimutatásoknál felhasználnak [80,81]. Már rég köztudott, hogy gerjesztett állapotban megváltozik a molekula elektroneloszlása, aminek következtében módosul a kötéseerősség [82,83]. Kvantumkémiai számítások megerősítették, hogy gerjesztés hatására az ellipticin 6-os helyzetű nitrogénjének savassága, míg a 2-es helyzetben levő nitrogén bázicitása megnő [84,85].

Az ellipticin ötös gyűrűjében elhelyezkedő NH csoport révén kötődhet H-híd akceptor vegyületekhez, mint például anionokhoz illetve szerves

nitrogéntartalmú bázisokhoz. A 2-es helyzetű nitrogén pedig alkalmas kötőhely lehet H-híd donor vegyületeknek. Irodalomból ismert, hogy etil-alkoholban 430 nm-es maximumú emissziós sávja 520 nm-re tolódik el, ha megsavanyítják az oldatot, vagyis ha a piridil rész protonálódik [86].

Csatolt pirrol és piridin gyűrűket tartalmazó heterociklusos vegyületekben fény hatására ún. dupla proton átadást figyeltek meg, mely jelentős szerepet játszik a gerjesztett állapot energiavesztési folyamataiban [87,88]. Sok közlemény foglalkozik a protikus oldószerekben lejátszódó tautomerizáció mechanizmusának felderítésével [89-91]. Az ellipticintől csupán egy metil csoport helyzetében különböző, olivacin kettős fluoreszcenciáját do Cabo és munkatársai oldószer által elősegített fotokémiai tautomerizációnak tulajdonították. Feltételezésük szerint molekulán belüli protonátmenet valósul meg, a pirrol gyűrűről a piridin gyűrűre, és ez okozza a nagyobb hullámhosszú emissziót metanolban [92].

Nagy biológiai fontossága ellenére az irodalomban nagyon kevés eredményt közöltek az ellipticin fotofizikai tulajdonságairól.

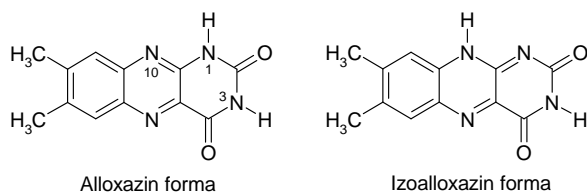
#### 2. 5. 4. Alloxazin vázú vegyületek

Az alloxazint először Kühling (1891) állította elő az alloxán és o-feniléndiamin kondenzációs reakciójával [93]. Az alloxazin vázú vegyületek nagy jelentőségét csak akkor ismerték fel, amikor kitudt, hogy a B<sub>2</sub> vitamin az alloxazin tautomerjéből, az izoalloxazinból levezethető vegyület. A 9-es helyzetben szubsztituált izoalloxazinvázas vegyületek a flavinok. Talán az egyik legismertebb képviselőjük a riboflavin, melynek hiánya az emberi szervezetben számos megbetegedéshez vezethet, különböző bőrbetegségeket, növekedési zavarokat idézhet elő, és a hajhulláshoz vezető folyamatban is szerephez jut. A riboflavinnal rokon vegyület a sejtek működéséhez elengedhetetlenül szükséges flavin adenin dinukleotid illetve a flavin mononukleotid.

A riboflavin fotobomlásának és biodegradációjának a fő terméke a lumikróm, fotofizikai sajátságait már széles körben tanulmányozták.

Az alloxazin és izoalloxazin származékai számos biológiai és fotokémiai folyamatban vesznek részt [94-96].

H-híd-akceptor és donor csoportot egyaránt tartalmaznak. A molekulában a 3-as és 1-es helyen következhet be deprotonálódás. Az irodalomban az 1-es helyzetben nem szubsztituált nitrogént tartalmazó vegyületeknél figyeltek meg tautomerizációt gerjesztett állapotban 1-2 mól/dm<sup>3</sup> ecetsav, illetve piridin jelenlétében.



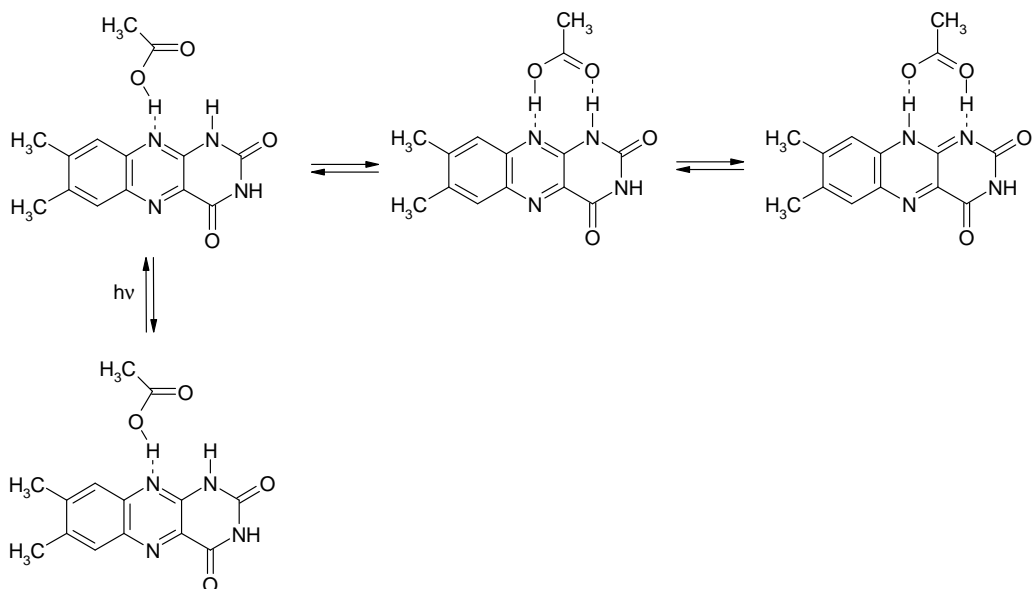
3. ábra A lumikróm alloxazin és izoalloxazin formája

Az oldószertől függően két mechanizmust állítottak fel. Az első, poláris környezetben, mint acetonitril, alapállapotban nem képződik tautomer, hanem H-híd komplex jön létre a 10-számú N-en keresztül. Fényelnyelés hatására megnő a 10 számú N bázicitása és megnő az 1 helyzetű N savassága, és két H-hídat tartalmazó, nyolcas tagszámú gyűrűs komplex keletkezik az ecetsavval, majd ezen keresztül képződik az izoalloxazin szerkezet (4. Ábra). Apoláris környezetben, 1,2-diklór-etánban, viszont már alapállapotban kialakul a dupla H-híd komplex [97].

Koziolowa különbözőképpen metilezett alloxazin vázú vegyületek fotokémiai tautomerizációját vizsgálta eltérő polaritású oldószerekben [98]. Az alloxazin fototautomerizációra való hajlama nagymértékben függ a vázon különböző helyen és számban található metilcsoportoktól.

A metilcsoportok helye és száma valamelyest módosítja az 1 helyzetű nitrogén gerjesztett állapotú pK-ját (2. táblázat). A fototautomerizációra való készség e pK\*(N<sub>1</sub>) értéktől függ. A legtöbb esetben kis gerjesztett állapotú pK\*(N<sub>1</sub>)-val jellemezhető vegyületek piridin jelenlétében jó hozammal tautomerizálódnak. A kilences helyzetben metilezett alloxazin (kis pK\*(N<sub>1</sub>)-al

rendelkezik, mégis kis hatékonysággal tautomerizálódik, valószínűleg szterikus okok miatt).



4. ábra A lumikróm fototautomerizációja tömény ecetsavat tartalmazó acetonitrilben [97]

A 6-metil-alloxazin (6M-All) és a 6,8-dimetil-alloxazin (6,8M-All) vegyületeknek nagy a tautomerizációra való készségük annak ellenére, hogy nagy a  $pK^*(N_1)$  értékük. Az N-1-es helyzetben szubsztituált alloxazin és 6,9M-All esetében piridinben nem képződik tautomer gerjesztett állapotban.

2. táblázat Különböző helyen és számban metilezett alloxazin  $pK^*(N_1)$  értékei [98]

Alloxazin	H	6M-	7M-	8M-	9M-	6,7M-	7,8M-	6,8M-	7,9M-	6,9M-
$pK^*(N_1)$	2,3	4,7	3,7	2,7	4,0	5,9	3,6	6,1	5,7	6,3

$pK^*(N_1)$  az egyes helyzetű nitrogén gerjesztett állapotú deprotonálódási állandója,  
M- metilcsoportot jelöl

Az alloxazin és flavin (izoalloxazin) színeképpen a nagyobb energiához tartozó sáv az oldószer polaritásának, valamint H-híd kötőkéességének növekedésével vörös felé tolódik el, amit az oldószerrel alkotott hidrogénkötéssel magyaráznak [99]. Ezt a feltételezést kvantumkémiai számítással is alátámasztották

[100]. Az irodalomban rámutattak arra, hogy a lumikróm (7,8-dimetil-alloxazin) és a riboflavin nagyobb energiához tartozó elnyelési sávja jelentősen eltolódik hexafluoro-2-propanol (HFIP) jelenlétében [97,101,102]. Mivel mind az alloxazin, mind az izoalloxazin szerkezettel jellemezhető vegyületnél a HFIP ugyanolyan változást okozott, megállapították, hogy a fent vázolt hatásért az 5-ös számú nitrogén a felelős. Koziol és munkatársai rámutattak arra, hogy az alloxazin vázú vegyületeknél hidrogénkötés először az N10, majd N5 és végül a két karbonil oxigéneken keresztül valósul meg [102].

A szingulett gerjesztett lumikróm sugárzásos és sugárzásmentes átmenetének sebességi állandója csökken az oldószer polaritásának és protikus jellegének növekedésével [99]. Sikorska és munkatársai feltárták a lumikróm gerjesztett állapotú tautomerizációjának hőmérsékletfüggését tömény ecetsav jelenlétében [103].

### 3. Kísérleti körülmények és számítási módszerek

#### 3. 1. Felhasznált vegyszerek

Munkám során négy heterociklusos vegyület, a 2-hidroxiid szubsztituált nílusvörös festék (HONV), az ellipticin (E), 6-metil-ellipticin (ME) és a lumikróm (Lc) fotofizikai sajátságait vizsgáltam. Ezeknek az anyagoknak a szerkezeti képletét az 5. ábra mutatja. A HONV festéket használat előtt szilikagél (Merk) oszlopon kromatografáltuk. Az eluálószer 20:80 térfogatarányú etil-acetát:kloroform elegy volt.

A felhasznált vegyszereket a témák szerinti csoportosításban ismertetem.

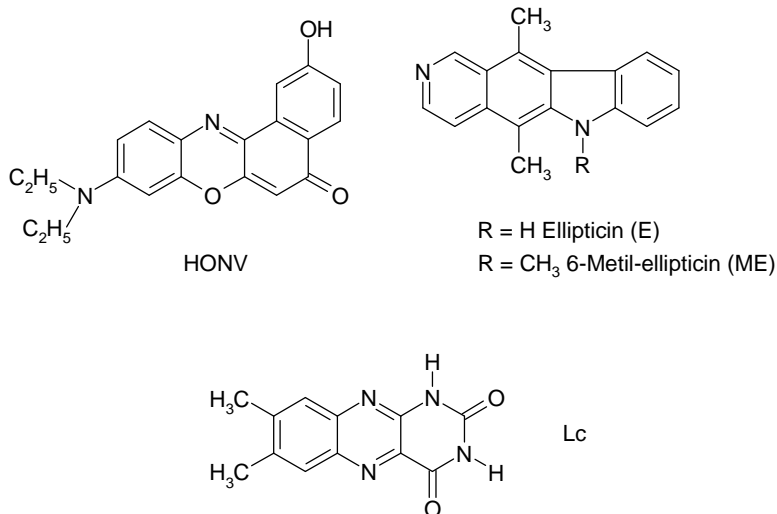
Az ionfolyadékok micellaképződésének tanulmányozásához felhasznált anyagok (6. ábra), 1-butil-3-metil-imidazolium-oktil-szulfát ( $[\text{C}_4\text{mim}][\text{C}_8\text{SO}_4]$ ), 1-oktil-3-metil-imidazolium-klorid ( $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$ ), 1-butil-3-metil-imidazolium-klorid ( $[\text{C}_4\text{mim}]\text{Cl}$ ), nátrium-dodecil-szulfát (SDS), nátrium-oktil-szulfát (SOS) Fluka gyártmányúak voltak. A  $[\text{C}_4\text{mim}][\text{C}_8\text{SO}_4]$ -ot használat előtt tisztítottuk: 7,2-es pH-jú foszfát pufferben feloldottuk és diklór-metánnal extraháltuk. A szerves fázist többször vízzel mostuk, majd vákuumban szárítottuk.

Nátrium-hidroxiid granulátumot (NaOH), 98%-os kénsavat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), 1 mól  $\text{dm}^{-3}$ -es tertabutil-ammonium-hidroxiid metanolos oldatot ( $\text{Bu}_4\text{NOH}$ ) és 1,8-diaza-biciklo[5.4.0]undec-7-ént (DBU) használtam a HONV sav-bázis tulajdonságainak vizsgálatához. A fenolos OH hidrogénhíd-kötőképességét klórpíridin (ClPy), piridin (Py), 4-metil-piridin (MPy), 2,4-dimetil-piridin (DMPy), 2,4,6-trimetil-piridin (TMPy), N-metil-imidazol (NMeIm) és 1-butil-amin jelenlétében vizsgáltam (7. ábra). A szerves N-tartalmú bázisokat használat előtt desztilláltam és nitrogén alatt tároltam. Valamennyi eddig említett vegyszer kereskedelmi forgalomban hozzáférhető, mi az Aldrich cégtől vásároltuk őket.

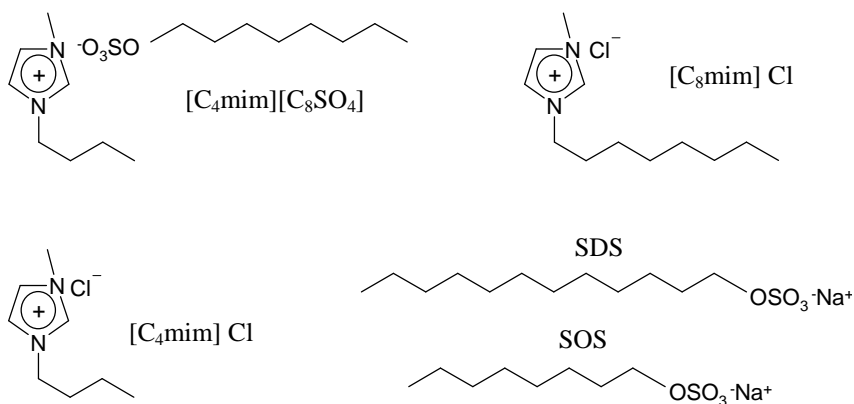
A lumikrómot (7,8-dimetil-alloxazin) az Aldrich, míg az ellipticint a Fluka cégtől szereztük be, és minden további tisztítás nélkül használtuk. A 6-metil-ellipticint az irodalomban ismert recept szerint szintetizáltuk [104]. Az adalékként

használt tetrabutil-ammonium-sót (8. ábra) használat előtt vákuumban szárítottuk és exikátorban tároltuk.

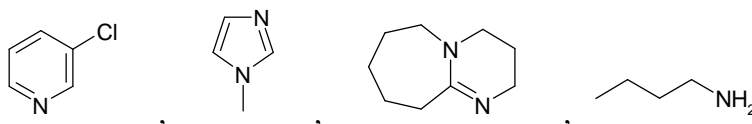
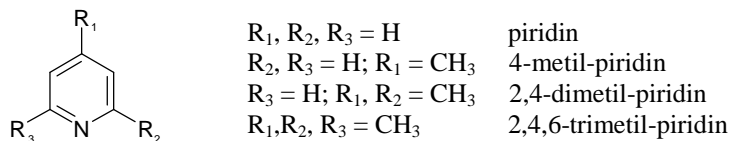
A felhasznált vegyszerek szerkezeti képlete az 5-8 ábrán látható.



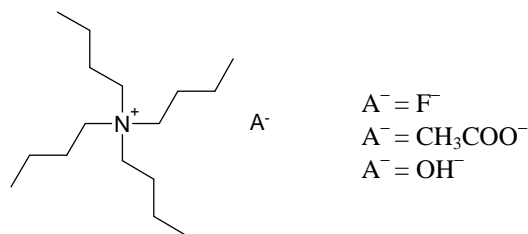
5. ábra 2-hidroxid-nílusvörös (bal oldal), ellipticin illetve 6-metil-ellipticin (jobb oldal) és lumikróm (alsó) szerkezeti képlete



6. ábra A felhasznált ionfolyadékok és felületaktív anyagok



7. ábra Alkalmazott szerves hidrogénhíd-akceptor vegyületek. Az ábrán fentről-lefelé és balról-jobbra haladva: piridin és származékai, klórpiridin, N-metil-imidazol, DBU és butil-amin



8. ábra Tetrabutil-ammónium-só szerkezeti képlete

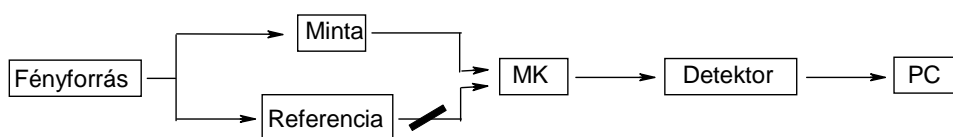
A HPLC minőségű oldószerek Aldrich, Merck és Reanal gyártmányúak voltak.

### 3. 2. Mérési módszerek

Kísérleteimet a méréstípustól függetlenül szobahőmérsékleten végeztem.

#### 3. 2. 1. Spektrofotometria

Az UV-látható elnyelési színeképet Unicam UV 500 kétsugaras spektrofotométerrel 200-800 nm hullámhossz tartományban, 120 nm/perc léptetési sebességgel 1 nm felbontással vettem fel. A berendezés vázlata a 9. ábrán látható.

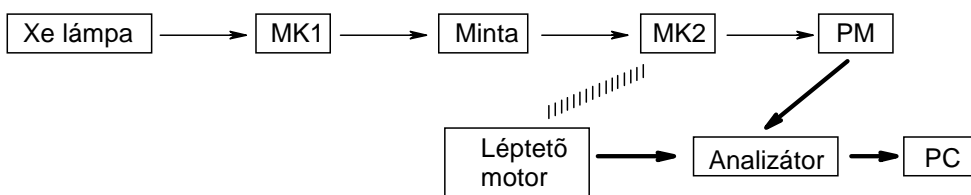


9. ábra A spektrofotométer működésének sematikus rajza. MK: monokromátor, PC: számítógép, / késleltető

A fényforrást a látható fény tartományában wolfram lámpa, az UV tartományban deutérium lámpa biztosítja. A mérésekhez 1 illetve 5 cm-es rétegvastagságú kvarc küvettákat használtam. A monokromátor a kívánt hullámhosszúságú monokromatikus fény kiválasztására szolgál. A kétsugaras készülékeknél a sugárforrásból kilépő fényt két fényútra bontják, amelyekből az egyik a referenciaoldaton, a másik a mintán halad keresztül. Ezzel kiküszöbölhető a tápfeszültség, a fényforrás esetleges ingadozásából származó hiba, sőt az adalék esetleges elnyelése is amennyiben a referenciaoldat is azonos koncentrációjú adalékot tartalmaz, mint a minta. Tovább csökken a hiba, ha a műszer egy monokromátort és egy detektort használ, ilyenkor azonban meg kell oldani, azt hogy a mintán és referenciaoldaton áthaladó fény eltérő időben érjen a monokromátorhoz, detektorhoz. A beérkező fényt a detektor érzékeli, majd elektromos jellé alakul, a számítógép képernyőjén pedig kirajzolódik a színekép.

### 3. 2. 2. Emissziós színeképek felvétele

A fluoreszcenciaspektrumokat egy fotonszámlálásos detektálást alkalmazó, Jobin Yvon Fluoromax-P nagyérzékenységű spektrofluoriméterrel vettem fel. A berendezés vázlata a 10. ábrán látható. A gerjesztő fényt egy 150 W-os OSRAM gyártmányú Xenon lámpa biztosítja. A kívánt hullámhosszat a műszerbe épített MK1 monokromátor választja ki. A detektor a mintatartó után, a gerjesztő fény beesési irányára merőlegesen helyezkedik el. A minta lumineszcenciáját az MK2 monokromátor után elhelyezett fotoelektron-sokszorozó érzékeli. Az MK2-höz kapcsolt léptetőmotor a hullámhosszat 1 nm lépésekben változtatja, és minden monokromátor állásnál azonos ideig számlálja a beérkező fluoreszcenciafotonokat.



10. ábra A spektrofluoriméter sematikus rajza. Xe: xenonlámpa, MK:monokromátor, PM: fotoelektron-sokszorozó, PC: számítógép, vékony vonal: optikai jel, vastag vonal: elektronikus jel, /// : mechanikus jel

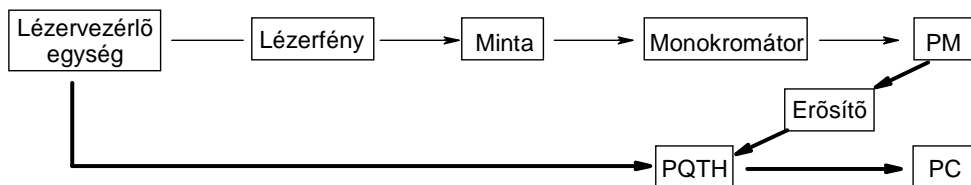
A kedvezőbb jel-zaj viszony érdekében a színekép felvételének sebességét 1,4 s/nm-nek választottam. A fluoreszcenciaspektrumot korrigálni kell, ugyanis a fotoelektronsokszorozó és a monokromátorok érzékenysége is hullámhosszfüggő. A spektrumok korrigálását a gyártó cég által biztosított szoftverbe épített korrekciós függvényvel végeztem.

### 3. 2. 3. Fluoreszcenciaintenzitás időfüggésének mérése

A szingulett gerjesztett molekulák élettartama általában 10 ps és 100 ns időtartományba esik. Ilyen élettartamok mérésére a legáltalánosabban használt eljárás az időkorrelált elsőfoton-számlálás módszere [105]. A mérés alapelve, hogy

gerjesztés után a fotonkibocsátás valószínűség eloszlása arányos a fluoreszcenciaintenzitás időfüggésével. A mérésekhez használt berendezés vázlata a 11. ábrán látható.

Gerjesztő fényforrásként a Picoquant által forgalmazott 400 nm és 632 nm hullámhosszú diódlézereket, valamint 340 nm hullámhosszú fényt kibocsátó diódát használtam. A lézertény-impulzus félértékszélessége 80 ps volt. A minta által kibocsátott fluoreszcenciát a beeső fény irányára merőlegesen elhelyezett Oriol monokromátorhoz csatlakoztatott hűthető Hamamatsu fotoelektron-sokszorozó érzékelt. A keletkező jel egy erősítőn keresztül kerül a Picoquant Timeharp 100 egységbe. A lézertény villanásával egyidejűleg egy START jel érkezik a



11. ábra Fluoreszcencia élettartam mérésére használt berendezés sematikus rajza.

PM: fotoelektronsokszorozó, PQTH: Picoquant Timeharp elektronika, PC: számítógép,  
vékony vonal: optikai jel, vastag vonal: elektronikus jel

jelfeldolgozó elektronikába, ami elindítja a kondenzátor feltöltődését. Eközben a minta fluoreszkálni kezd. A detektált első foton által keltett jel (STOP impulzus) leállítja a kondenzátor feltöltődését. A kondenzátoron levő feszültség így természetesen arányos lesz a START és STOP jel között eltelt idővel. A szoftver a sokcsatornás analízátor ennek az időnek megfelelő csatornájában eggyel növeli a beütésszámot. A leírt folyamat ismétlődik és sok ezer fényvillanás után kirajzolódik a fluoreszcenciaintenzitás időfüggése.

Mivel a villanás félértékszélessége és az élettartamok hasonló nagyságrendűek, ezért az észlelt fluoreszcencia lecsengés  $I(t)$  a valódi lecsengés  $G(t)$  és a detektálórendszer által torzított gerjesztőfény-intenzitás időfüggésének  $H(t)$  konvolutája.

$$I(t) = \int_0^t G(t-t')H(t')dt' \quad (10)$$

A  $H(t)$  függvényt közvetlenül mérni tudtuk úgy, hogy a vizsgálni kívánt minta helyett fényszóró oldatot (LUDOX-ot) helyeztünk a mintatartóba. Az  $I(t)$  és a  $H(t)$  ismeretében pedig rekonvolúciós módszerrel [106] ki tudtuk számítani a valódi lecsengési paramétereket.

### 3. 2. 4. Vezetőképesség mérés

Az elektromos vezetőképességet egy Consort C832-es műszerrel határoztuk meg. A műszert minden mérés előtt KCl oldattal kalibráltam. A vezetőképesség hőmérsékletfüggését a műszer automatikusan korrigálja.

### 3. 3. Számítási módszerek

#### 3. 3. 1. Alapállapotú egyensúlyi állandó meghatározása elnyelési spektrumokból 1:1 komplexképződés esetén

Az alapállapotú hidrogénkötés egyensúlyi állandóját a spektrumokban az adalék hatására bekövetkezett változásokból határoztam meg. Ha csak az alábbi egyensúly lehetséges az oldatban



akkor az egyensúlyi állandó: 
$$K = \frac{[AB]}{[A][B]} = \frac{\alpha[A]_0}{(1-\alpha)[A]_0[B]_0 - \alpha A_0}, \quad (12)$$

ahol  $[A]$  a szabad, vizsgálandó molekula egyensúlyi koncentrációja,

$[B]$  az adalék egyensúlyi koncentrációja,

$[AB]$  az 1:1 komplex koncentrációja,

$\alpha$  az 1:1 komplexált A molekulák hányada,

$[A]_0$  a szabad A molekula kiindulási koncentrációja,

$[B]_0$  a bemért adalék koncentráció.

Ha  $[B]_0 \gg \alpha[A]_0$ , akkor  $[B] \approx [B]_0$ , és

$$K = \frac{\alpha}{(1-\alpha)[B]_0}. \quad (13)$$

A fényelnyelésre felírható a Beer-Lambert törvény:

$$Abs = \lg \frac{I_0}{I} = \epsilon cl, \quad (14)$$

ahol  $I_0$  a megvilágító fényintenzitás,

$I$  az oldatból kilépő, észlelt fényintenzitás,

$\epsilon$  a moláris elnyelési tényező,

$l$  az optikai úthossz,

$c$  a vizsgált anyag koncentrációja.

Adalék nélkül: 
$$Abs_0 = [A]_0 \epsilon^A l, \quad (15)$$

adalékkal: 
$$Abs = (1-\alpha)[A]_0 \epsilon^A l + \alpha[A]_0 \epsilon^{AB} l, \quad (16)$$

azokon a hullámhosszakon, ahol B nem nyel el fényt.

ahol  $Abs_0$ ,  $[A]_0$  az adalékanyag nélküli abszorbanca illetve koncentráció,  
 $\epsilon^A$ ,  $\epsilon^{AB}$  a szabad A molekula illetve a komplex moláris abszorpciós  
együtthatója.

A (13)-ból  $\alpha$ -t kifejezve és a (16)-be helyettesítve:

$$Abs = Abs_0 \left( \frac{1 + K[B]_0 \epsilon^{AB} / \epsilon^A}{1 + K[B]_0} \right) \quad (17)$$

A (17) függvény nemlineáris illesztésével a K egyensúlyi állandó a mérési pontokból közvetlenül, transzformáció nélkül megkapható.

Ha viszont az adalék nincs nagy feleslegben, akkor a  $[B] \approx [B]_0$  közelítés nem alkalmazható.

$$[B]_0 = [B] + [AB] \quad (18)$$

összefüggésből kifejezve a komplex koncentrációját

$$[AB] = [B]_0 - [B] \quad (19)$$

$$[A]_0 = [A] + [AB] \quad (20)$$

összefüggésből kifejezve a szabad molekula egyensúlyi koncentrációját, valamint a (19) összefüggést felhasználva kapjuk

$$[A] = [A]_0 - [B]_0 + [B] \quad (21)$$

Az (19) és (21) összefüggést a (17)-be behelyettesítve

$$K = \frac{[B]_0 - [B]}{[B]([A]_0 - [B]_0 + [B])} \quad (22)$$

rendezve egy másodfokú egyenletet kapunk

$$K[B]^2 + (K[A]_0 - K[B]_0 + 1)[B] - [B]_0 = 0 \quad (23)$$

az egyenletet megoldva [B]-re, és a Beer-Lambert törvény alapján felírt (24) összefüggést felhasználva

$$Abs^\lambda = \epsilon^A [A]_0 + \epsilon^{AB} ([B]_0 - [B]) \quad (24)$$

az összefüggés a következő alakot ölti, ha a detekálás  $\lambda$  hullámhosszán B fényelnyelése elhanyagolható:

$$Abs^\lambda = Abs_0^\lambda + \frac{Abs_\infty^\lambda - Abs_0^\lambda}{2} \left\{ 1 + \frac{[B]_0}{[A]_0} + \frac{1}{K[A]_0} - \left[ \left( 1 + \frac{[B]_0}{[A]_0} + \frac{1}{K[A]_0} \right)^2 - 4 \frac{[B]_0}{[A]_0} \right]^{\frac{1}{2}} \right\} \quad (25)$$

$Abs_0^\lambda$  illetve  $Abs_\infty^\lambda$  jelöli az adalékanyag nélküli és a nagyon nagy adalékanyag koncentráció tartományra extrapolált abszorbanciákat.

A (25) függvény nemlineáris illesztésével a K egyensúlyi állandó a mérési pontokból közvetlenül megkapható [127].

### 3. 3. 2. Fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezőjének meghatározása

A fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezőt ( $\Phi_F$ ) relatív mérésel, irodalomból ismert kvantumhasznosítási tényezőjű anyagot, ( $\Phi_F^0$ ) vonatkoztatási alapul választva számítottam ki. Például 1 N  $H_2SO_4$  oldatban a kinin-szulfátra közölt érték 0,546 [107]. A mérendő és a vonatkoztatási alapul választott két oldat törésmutatójának ( $n, n_0$ ), a gerjesztő fény hullámhosszán mért abszorbanciának ( $A, A_0$ ), illetve a teljes spektrumban kibocsátott fluoreszcenciafotonok számának ( $I, I_0$ ), (a referenciaanyagra vonatkozó mennyiségeket 0-val jelöltem) ismeretében, a vizsgált anyag fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezője a következő összefüggéssel adható meg:

$$\Phi_F = \Phi_F^0 \frac{I (1 - 10^{-A_0}) n^2}{I_0 (1 - 10^{-A}) n_0^2} \quad (26)$$

### 3. 3. 3. Komplexképződés gerjesztett állapotban, kioltási sebességi együttható meghatározása

A sztatikus és dinamikus kioltást kísérletileg könnyű megkülönböztetni. Sztatikus kioltáskor alapállapotú komplexálódás hatására az eredetileg fluoreszkáló anyag koncentrációja csökken, az állandó gerjesztő fényintenzitásnál mért fluoreszcenciaintenzitása az adalék koncentrációjának növekedésével szintén egyre kisebbé válik. Mivel sztatikus kioltás esetén gerjesztett állapotban nincs kölcsönhatás, a fluoreszcencia élettartama nem változik. Dinamikus kioltás során nem alapállapotban, hanem gerjesztett állapotban jön létre kölcsönhatás a

fluoreszkáló vegyület és az adalékanyag között, így fluoreszcencia lecsengési idő rövidülése figyelhető meg.

Ha az elnyelési spektrumban adalék hatására nem következik be változás, vagyis csak gerjesztett állapotban keletkezik komplex, akkor exciplex képződésről beszélünk (mely az **excited complex** angol kifejezésekből ered).

Ha dinamikus kioltás történik, akkor a Stern-Volmer összefüggés (27) alapján a gerjesztett állapot kioltás sebességi együtthatója ( $k_q$ ) számítható.

$$\frac{I_0}{I} = 1 + k_q \tau_0 [H], \quad (27)$$

ahol  $I_0$  az adalék nélkül mért fluoreszcenciaintenzitás,  
 $I$  a fluoreszcenciaintenzitás adalékanyag hozzáadása után,  
 $[H]$  az adalékanyag koncentrációja,  
 $\tau_0$  a gerjesztett molekula élettartama, adalék nélkül.

Ha a detektálás hullámhosszán csak a keletkező asszociátum fluoreszkál, akkor fluoreszcenciaintenzitás növekedése figyelhető meg, ilyenkor a mérés folyamán a komplex képződése követhető nyomon.

Abban az esetben, amikor a szabad molekula és a komplex is fluoreszkál, a mért intenzitás a két részecske aránya szerint változik attól függően, hogy melyik fluoreszkál erősebben.

Ha egyidejűleg alap- és gerjesztett állapotban is jelen van a komplex, az alapállapotú egyensúly kialakulása az elnyelési színeképben követhető nyomon.

Ha csak a szabad molekula fluoreszkál, kioltás figyelhető meg. Ebben az esetben a kibővített Stern-Volmer összefüggés érvényes:

$$\frac{I_0}{I} = (1 + K[H])(1 + k_q \tau_0 [H]), \quad (28)$$

ahol  $K$  az alapállapotú egyensúlyi állandót jelenti.

Ha a szabad molekula és a képződő asszociátum is fluoreszkál,  $\Phi_F$  a hidrogénhid-képző adalék koncentrációjának bonyolult a függvénye [108]. Azokban az esetekben, amikor gerjesztett állapotban a hidrogénkötés képződés és felhasadás sebességi együtthatói nagyon nagyok vagy nagyon kicsik a szabad molekula és a

komplex élettartamának reciprokához képest, a kifejezés a következő alakra egyszerűsíthető:

$$\Phi_F = \Phi_F^0 \left( \frac{1 + a[H]_0}{1 + b[H]_0} \right) \quad (29)$$

$\Phi_F^0, \Phi_F$  a szabad illetve a komplexált molekula fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezője,

$a, b$  a rendszerre jellemző állandók.

a) Ha  $k_{képz.} \gg \frac{1}{\tau_{sz}}$  és  $k_{felhas.} \gg \frac{1}{\tau_k}$ ,  $a$  és  $b$  paraméter a gerjesztett állapot hidrogénhíd-

komplex képzésének egyensúlyi állandóját is tartalmazza.

b) Ha  $k_{képz.} \ll \frac{1}{\tau_{sz}}$  és  $k_{felhas.} \ll \frac{1}{\tau_k}$ ,  $a$  és  $b$  paraméter az alapállapotú egyensúlyi

állandót tartalmazza.

### 3. 3. 4. Fluoreszcencia élettartam és a kioltási sebességi együttható meghatározása

A számításokat a Picoquant FluoFit programmal, nemlineáris legkisebb négyzetösszeg dekonvolúciós módszerrel végeztem. A fluoreszcencia lecsengéseket egy, két illetve ritkán három exponenciális tagot tartalmazó függvényekkel illesztettem.

$$I(t) = \sum A_i * e^{-\frac{t}{\tau_i}} \quad (30)$$

így megkaptam a  $\tau_i$  élettartamok valamint a  $A_i$  preexponenciális tényezők értékét. A számítógépes illesztés jóságát a  $\chi^2$  paraméter és a maradékérték ( $r(t_i)$ ) ábrázolása alapján ítélem meg [105].

$$\chi^2 = \frac{1}{N-p} \sum_{i=1}^N \frac{[I_m(t_i) - I_{sz}(t_i)]^2}{I_m(t_i)} \quad (31)$$

$$r(t_i) = \frac{[I_m(t_i) - I_{sz}(t_i)]}{\sqrt{I_m(t_i)}} \quad (32)$$

ahol  $N$  a mérési adatok és  $p$  az illesztett paraméterek száma,  $(I_m(t_i))$  az  $i$ -edik csatornában mért érték, míg  $(I_{sz}(t_i))$  ugyanehhez az időhöz tartozó számított érték. A kapott paramétereket akkor fogadtam el, ha a maradékérték eloszlása egyenletes volt és a  $\chi^2$  kisebb volt 1,3-nál.

Ha adalékanyag hatására dinamikus kioltás lép fel, a fluoreszcencia lecsengési idők

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau_0} + k_q[H], \quad (33)$$

egyenlet szerinti ábrázolása egyenest ad, amelynek meredeksége megadja a kioltási sebességi együtthatót ( $\tau$  jelöli a  $[H]$  adalékanyag koncentráció jelenlétében,  $\tau_0$  pedig az adalékanyag nélkül mért fluoreszcencia lecsengési időt).

### 3. 3. 5. Mátrix Rang Analízis (MRA)

Az oldatban levő, egymástól független fényelnyelő részecskék számát Mátrix Rang Analízissel (MRA) határoztuk meg [109]. A MRA programot Peintler Gábor honlapjáról <http://www.staff.u-szeged.hu/~peintler/index.html> töltöttem le. A Mátrix Rang Analízisre azért volt szükség, hogy a PSEQUAD program számára szükséges összetételmatrixot ésszerűen meg tudjuk adni.

### 3. 3. 6. PSEQUAD

A lumikróm illetve ellipticin + adalék rendszerekben az egyensúlyi állandókat, és a képződő komplexek moláris abszorpciós színeképeit a PSEQUAD programmal határoztam meg [110], mivel ezekben a rendszerekben több egyensúlyi folyamat is végbemegy. A PSEQUAD programot a Debreceni Egyetemen Zékány László és Nagypál István fejlesztette ki. A PSEQUAD olyan program, amely Newton-Raphson féle iterációt alkalmazva potenciometriás és/vagy spektrofotometriás módszerrel végzett egyensúlyi mérések kiértékelésére alkalmas. A program mindaddig végzi a közelítést, amíg a  $\Sigma(A_{mért} - A_{számított})^2$  kifejezés értéke minimumot nem ér el ( $A$  az oldat abszorbanciája). A program minden megadott abszorbanciaértéknél kiszámítja az összes képződő részecske egyensúlyi

koncentrációját és a hozzátartozó standard deviáció értékét. Az iterációsorozat végén megkapjuk a legjobb illeszkedésnek megfelelő egyensúlyi állandók értékét és azok hibáját, a rendszerben jelenlevő eltérő elnyelési sajátságokkal rendelkező részecskék moláris abszorpciók együtthatóit és a hozzájuk tartozó hibákat, valamint az úgynevezett illesztési paramétert is, amely a közelítés jóságát jellemző  $A_{\text{mért}} - A_{\text{számított}}$  átlaga. Spektrofotometriás adatok kiértékelésekor bemenő paraméterként a mért abszorbanciaértékek mellett meg kell adnunk a festék és az adalék koncentrációját, a komponensek és az asszociátumok összetételét, amely a kémiai evidenciák és az MRA számítások alapján feltételezett részecskéket tartalmazza, a stabilitási szorzatok ismert illetve becsült értékét. Pontosabb és egyszerűbb számítás érdekében az adalék nélküli festék színképét és a hozzá tartozó moláris abszorpciók együttható értékeit rögzítettük.

Egy adott rendszer modelljének a feltételezett asszociációs folyamatok összességét nevezzük. Azt a modellt tekintjük helyesnek, amelynél az illesztési paraméter a legkisebb, és természetesen kémiai megfontolások alapján értelmezhető.

## 4. Kísérleti eredmények és értékelésük

### 4. 1. Az ionfolyadékok aggregációja és micellaképzése vízben

#### 4. 1. 1. A $[C_4mim][C_8SO_4]$ micellaképződése vízben

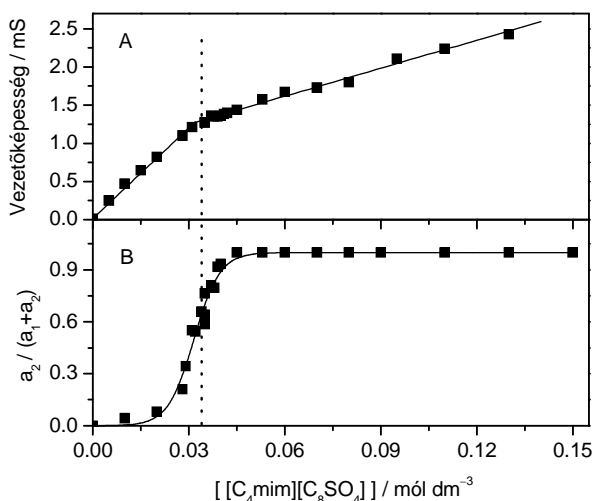
Micella akkor képződik, ha a molekula amfifil felépítésű, vagyis hidrofób és hidrofil csoportot egyaránt tartalmaz. Az ilyen vegyületek, mint pl. nátrium-dodecil-szulfát (SDS), nátrium-oktil-szulfát (SOS) megfelelő oldószerekben, meghatározott töménységi és hőmérsékleti viszonyok mellett önként halmazokká, un. micellákká aggregálódnak. Azt a koncentrációt, ami felett megindul a micellaképződés kritikus micella-koncentrációnak nevezzük (cmc).

Az 1-butil-3-metil-imidazolium-oktil-szulfát ( $[C_4mim][C_8SO_4]$ ), valamint 1-oktil-3-metil-imidazolium-klorid ( $[C_8mim][Cl]$ ) (6. ábra) viselkedését tanulmányoztam vízben. Látható a hasonlóság az  $[C_4mim][C_8SO_4]$  és az SOS között, csupán a kationjukban térnek el egymástól. A  $[C_8mim][Cl]$  esetében az apoláris szénlánc nem az anionhoz (mint  $[C_4mim][C_8SO_4]$  esetében), hanem a kationhoz kapcsolódik. A szerkezeti analógia alapján gondoltuk, hogy az ionfolyadékok is hasonlóan viselkednek, mint a felületaktív anyagok, vagyis vizes közegben micellákat alkothatnak.

A molekulák asszociációja irányított olyképpen, hogy a micellában a poláris végek a víz felé helyezkednek el, míg a micella belsejét az apoláris alifás szénláncok alkotják. Attól függően, hogy az apoláris lánchoz negatív vagy pozitív töltésű szubsztituens kapcsolódik, megkülönböztetünk anionos, illetve kationos micellát. Így a  $[C_4mim][C_8SO_4]$  vegyület anionos, míg  $[C_8min]Cl$  ionfolyadék kationos micellát képezhet.

A micellák egy jelentős tulajdonsága az, hogy vízben nem, vagy csak nagyon rosszul oldódó vegyületeket képesek feloldani. Ha a feloldandó vegyület apoláris, akkor ennek molekulái a micella belsejében halmozódnak fel, míg ha amfifil felépítésű, akkor keverék micellákat kaphatunk [111].

A micellaképzés illetve a kritikus micella-koncentráció (cmc) elvileg bármilyen tulajdonság koncentráció-függésének mérésével meghatározható, ha a változás elég hirtelen a cmc-nél. Az egyik legáltalánosabban alkalmazott módszer a vezetőképesség mérés, ezt használtuk mi is. Különböző koncentrációjú  $[C_4mim][C_8SO_4]$  ionfolyadék oldatok vezetőképességét a koncentráció függvényében ábrázolva a 12.A ábrát kaptuk.



12. ábra A vezetőképesség (A) és a fluoreszcencia lecsengés mérések kiértékeléséből származtatott preexponenciális tényezők arányának (B) változása a  $[C_4mim][C_8SO_4]$  koncentrációjának a függvényében, vízben

Látható hogy a vezetőképesség mérésből származó görbe két lineáris szakaszból áll. Híg oldatokban az ionok közötti kölcsönhatás elhanyagolható, így a vezetőképesség a koncentrációval egyenesen arányos. A cmc-nek megfelelő koncentrációnál a molekulák asszociálódnak, nagy micella-ionokat alkotnak, mely nemcsak méretében (nagyobb méret kisebb mozgékonyaság), de minőségileg is különbözik a kis iontól. A micella-ion elektromos potenciálja nem csökken oly rohamosan a távolság függvényében, mint az egyszerű kis ion esetében, ami ahhoz vezet, hogy a szabad ellenion mozgásában erősen korlátozott [111]. Ezzel magyarázható a görbe második kisebb meredekségű egyenese. A görbe két lineáris szakaszának a

metszéspontja adja meg a kritikus micella-koncentrációt, amely az  $[\text{C}_4\text{mim}][\text{C}_8\text{SO}_4]$  esetén  $0,031 \text{ mol/dm}^3$ -nek adódott.

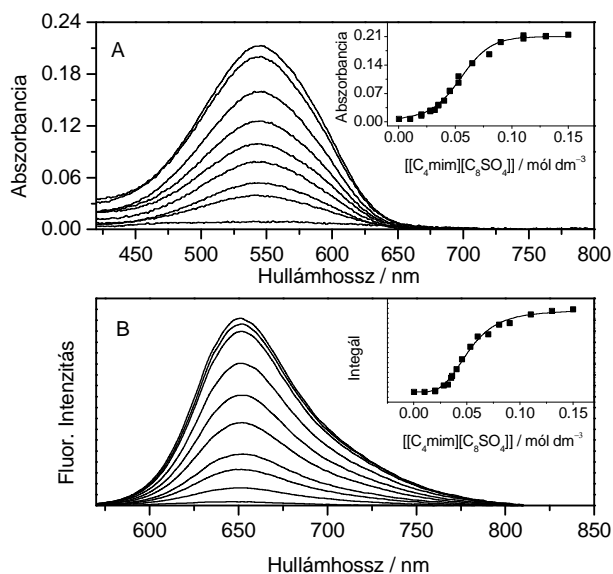
A kritikus micella-koncentrációt több fontos tényező szabályozza, ilyen az apoláris szénlánc hossza, valamint az ellenion mérete [112]. A  $[\text{C}_4\text{mim}]^+$  nagy méretének köszönhetően a  $[\text{C}_4\text{mim}][\text{C}_8\text{SO}_4]$  ionfolyadék kritikus micella-koncentrációja sokkal kisebb, mint a hasonló szerkezetű, azonban kisebb ellenionnal rendelkező SOS felületaktív anyagé ( $0,134 \text{ M}$ ).

Korábbi munkák során sikerült találni egy olyan festéket, amely vízben alig oldódik és elnyelési színképe nagyon érzékeny a mikrokörnyezet polaritására, ez a 2-hidroxid-nílusvörös (HONV) [45]. A festéknek  $43 \text{ nmol}$ -ját próbáltuk feloldani különböző koncentrációjú,  $5 \text{ ml}$  térfogatú ionfolyadék vizes oldatokban, és ezen oldatoknak vettük fel az elnyelési-és fluoreszcenciaspektrumait, valamint fluoreszcencia lecsengéseit. A 13.A illetve 13.B ábrán az abszorpciós és fluoreszcenciaspektrumok láthatóak, a belső kis ábrákon az abszorpciós maximum ( $550 \text{ nm}$ ) és a fluoreszcenciaspektrum integráljának a változását ábrázoltuk az ionfolyadék koncentrációjának a függvényében. Mivel a festék elhanyagolható mértékben oldódik vízben, kezdetben nem jelenik meg sáv az elnyelési- és fluoreszcenciaspektrumban. Növelve az ionfolyadék koncentrációját az oldat színes lesz, és  $0,11 \text{ mol/dm}^3$  ionfolyadék koncentráció felett a  $43 \text{ nmol}$  HONV festék teljesen feloldódik. Ilyen körülmények között is a festék koncentrációja körülbelül négy nagyságrenddel kisebb, mint az ionfolyadéké. Ez biztosítja, hogy egy micellában nagy valószínűséggel csak egy festék molekula épül be.

Mind a fluoreszcencia- mind az elnyelési spektroszkópiás módszer eredménye jó egyezést mutat a vezetőképesség-méréssel, mivel az abszorbancia és fluoreszcenciaintenzitás  $0,031 \text{ mol/dm}^3$  ionfolyadék koncentráció környéken kezd el nőni.

A fluoreszcencia lecsengések mérése során  $0,009 \text{ mol/dm}^3$  ionfolyadék koncentrációig, valamint  $0,045 \text{ mol/dm}^3$  koncentráció feletti tartományban exponenciális fluoreszcencia lecsengést tapasztaltam. Az előbbi esetben  $\tau_1 = 0,86 \text{ ns}$ , míg a nagy koncentrációknál  $\tau_2 = 2,29 \text{ ns}$  fluoreszcencia élettartamokat mértem.

A közbeeső koncentrációtartományban a lecsengések két exponenciális tagot tartalmazó függvényel írhatóak le. A rövidebb élettartam a vízben oldott festékhez rendelhető, míg a második élettartam a micellába beépült festékhez tartozik. A 12.B ábrán az időben felbontott fluoreszcencia mérések kiértékeléséből származtatott preexponenciális tényezők aránya ( $a_2/(a_1+a_2)$ ) az ionfolyadék koncentrációjának a függvényében látható. Az S alakú görbe inflexiós pontja megegyezik a vezetőképesség merésből származó kritikus micella-koncentrációval.

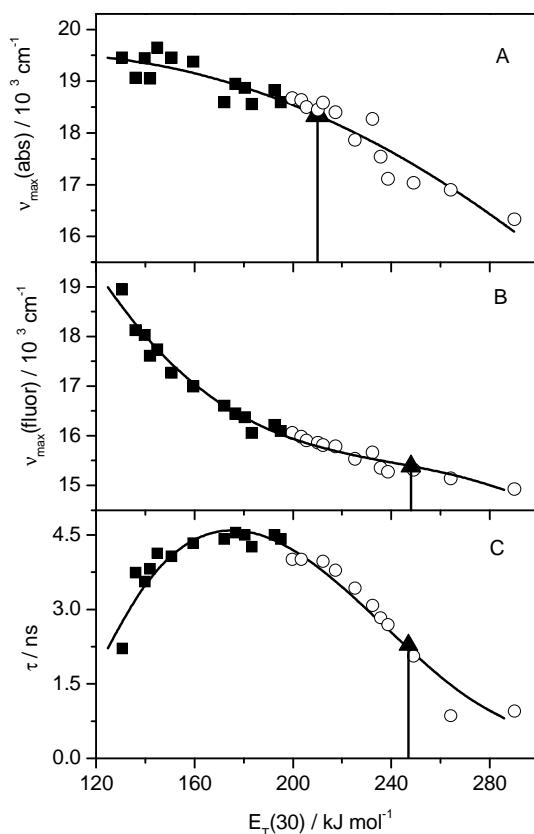


13. ábra A HONV elnyelési (A) és fluoreszcenciaspektrumának (B) a változása vízben  $[\text{C}_4\text{mim}][\text{C}_8\text{SO}_4]$  hatására. A belső ábrák az abszorpciós maximum (550nm) és fluoreszcenciaspektrum integráljának a változását mutatják az ionfolyadék koncentrációjának a függvényében

Négy egymástól független kísérleti módszerrel sikerült igazolni, hogy a vizsgált  $[\text{C}_4\text{mim}][\text{C}_8\text{SO}_4]$  micellát képez vízben, melynek a kritikus micella-koncentrációja  $0,031 \text{ mól/dm}^3$ .

#### 4. 1. 2. A 2-hidroxiid-nílusvörös festék mikrokörnyezetének polaritása [C<sub>4</sub>mim][C<sub>8</sub>SO<sub>4</sub>] ionfolyadék micellában

A mikrokörnyezet polaritásának a jellemzésére az  $E_T(30)$  paramétert használtuk [12]. A HONV festék igen érzékeny a mikrokörnyezete polaritására [45].



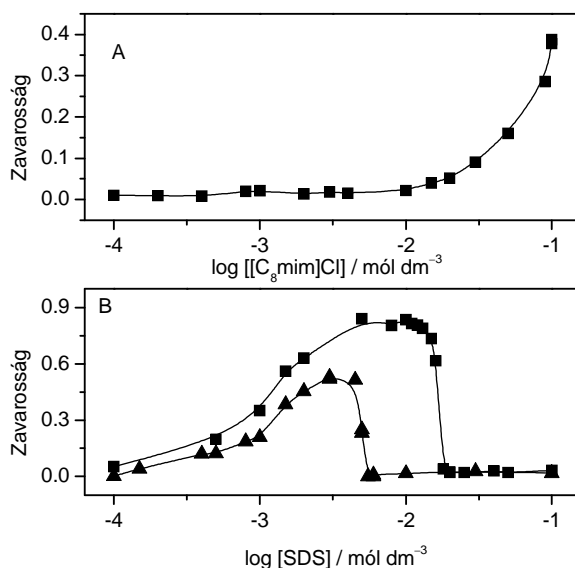
14. ábra A [C<sub>4</sub>mim][C<sub>8</sub>SO<sub>4</sub>] micellába épült HONV festék mikrokörnyezetében uralkodó polaritás ( $E_T(30)$ ) meghatározása abszorpciós (A), fluoreszcenciás (B), időfelbontott fluoreszcenciás (C) mérésekkel. A HONV fotofizikai paraméterei az  $E_T(30)$  oldószer polaritás paraméterének függvényében aprotikus (■) és hidroxid csoportot tartalmazó oldószerben (○) [45]

A laboratóriumunkban végzett korábbi munkák eredményeként ismert [45] e festék elnyelési- és fluoreszcenciaspektrum maximumának valamint a fluoreszcencia élettartamának a változása az  $E_T(30)$  paraméter függvényében, amelyet a 14. ábra szemléltet. Az ionfolyadékba beépült festék mikrokozonyezetének a polaritását a 14. ábrán háromszögek jelzik. Alapállapotú festék mikrokozonyezetére jelentősen kisebb polaritást mértünk ( $E_T(30) = 210 \text{ kJ mol}^{-1}$ ), mint a fluoreszcencia maximumból ( $E_T(30) = 248 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) és fluoreszcencia élettartamból ( $E_T(30) = 247 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) származtatott érték. Ilyen különbség nem észlelhető a nátrium-dodecilszulfát micellában [45]. Az alapállapotú festék által detektált kis polaritás arra utal, hogy a micella határfelületi rétegben kevés vízmolekula helyezkedik el az ellenion nagy mérete és hidrofób jellege miatt. Fényelnyelés hatására a HONV karbonilcsoportjának oxigénjén az elektronsűrűség megnő, ami növeli a molekula hidrogénhíd-akceptor jellegét. Így a gerjesztett HONV sokkal könnyebben lép kölcsönhatásba vízzel, mint az alapállapotú.

#### 4. 1. 3. $[C_8\text{min}]Cl$ aggregációja és vegyes micellaképződése SDS-tal

Ha az ionfolyadék kationja tartalmazza az n-oktil csoportot, vagyis az 1-oktil-3-metil-imidazolium-klorid esetében, a vegyület vízdékonysága meglehetősen kicsi, már  $5 \text{ mmol/dm}^3$  koncentrációnál az oldat zavarossá válik (15.A ábra). A zavarosságot ( $1-T$ ) a  $400 \text{ nm}$  hullámhossznál mért transzmitanciából ( $T$ ) számítottuk. Az eredmény azt mutatja, hogy a  $[C_8\text{min}]Cl$  nem képez micellát, hanem aggregálódik.

Megvizsgáltuk, hogy mi történik SDS felületaktív anyag hozzáadására. Azt tapasztaltuk, hogy kezdetben az oldat zavarossága nő, majd 2:1 SDS:ionfolyadék arányánál az oldat kitisztul, ami vegyes micellaképződéssel magyarázható (15.B ábra).

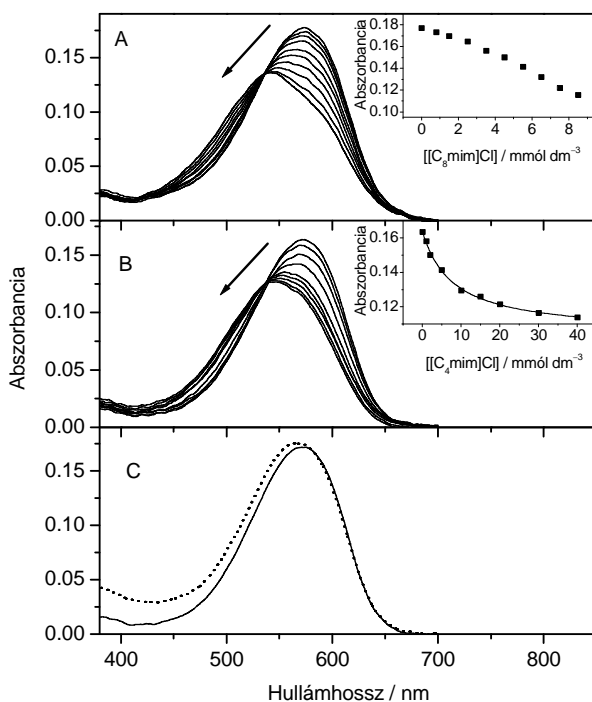


15. ábra Az oldat zavarosságának a változása  $[C_8\text{mim}]Cl$  koncentráció logaritmusának a függvényében (A)  $3 \text{ mmól/dm}^3$  ( $\blacktriangle$ ) illetve (B)  $10 \text{ mmól/dm}^3$  ( $\blacksquare$ ) koncentrációjú  $[C_8\text{mim}]Cl$  vizes oldat zavarosságának a változása SDS hatására

A következő kísérlettel igazoltuk előző feltevésünket. Kritikus micella-koncentráció feletti koncentrációjú nátrium-dodecil-szulfát oldatban feloldott HONV spektrumának a változását vizsgáltuk  $40 \text{ mmól/dm}^3$  NaCl hatására (16.C ábra). Az tapasztalható, hogy a spektrum csupán kis mértékben tolódik el. Így az ionfolyadék okozta spektrumváltozás nem sóhatásnak tulajdonítható.

Az ionfolyadék koncentrációjának fokozatos növelése a spektrumban hipszokrórn eltolódást eredményez, ami azt sugallja, hogy a határfelületi rétegben (ahol a festék van) csökken a polaritás. Az ionfolyadék nagy kationja akadályozza a víz behatolását a határfelületi rétegbe.

Az 16.B és 16.A ábrának a belső részén  $572 \text{ nm}$ -en mért abszorbanciaváltozás van ábrázolva az 1-butil-3-metil-imidazolium-klorid ( $[C_4\text{mim}]Cl$ ) és  $[C_8\text{mim}]Cl$  koncentrációjának a függvényében, a változás menete teljesen eltérő.



16. ábra 0,02 mol/dm<sup>3</sup> koncentrációjú SDS vizes oldatában feloldott HONV fluoreszcenciás jelzőanyag elnyelési spektrumának a változása 0 – 8,5 mmól/dm<sup>3</sup>  $[C_8mim]Cl$  (A); 0 – 40 mmól/dm<sup>3</sup>  $[C_4mim]Cl$  (B) és 40 mmól/dm<sup>3</sup> NaCl hatására (C)

A  $[C_4mim]Cl$  által okozott változást az 1:1 komplexálódást feltételező függvény (17. összefüggés) tökéletesen leírja. A legjobb nemlineáris illesztést az ábrán folytonos vonal jelzi, melyből az egyensúlyi állandóra 110 dm<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup> értéket kaptunk. Ezzel szemben az  $[C_8mim]Cl$  már kis koncentrációnál beépül az SDS micellába, az egyensúly már nem írható le 1:1 komplexállódással, ami arra utal, hogy vegyes micella képződött.

## 4. 2. A 2-hidroxid-nílusvörös hidrogénhíd-komplexeinek vizsgálata

Mint ahogy az előző fejezetben kiderült, a HONV kiválóan alkalmas micellaképződés tanulmányozására és a Stern rétegben uralkodó polaritás becslésére. Felmerül azonban a kérdés, hogy biológia rendszerekben alkalmazható-e jelzőanyagként. Így megvizsgáltuk, hogyan viselkedik a biológiai rendszerekben is előforduló szerves nitrogéntartalmú bázisok jelenlétében.

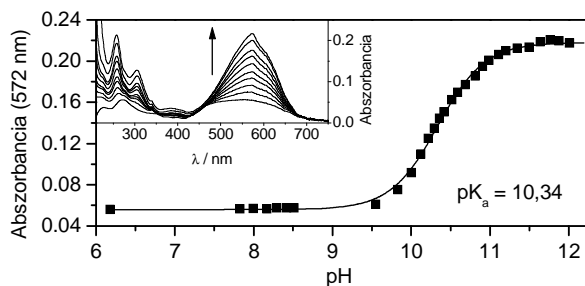
A HONV szerkezeti felépítéséből adódóan gerjesztett állapotban intramolekuláris töltésátvitel következhet be, H-híd akzeptorként viselkedhet a karbonilcsoportja réven, a fenolos hidroxidcsoport pedig alkalmas kötőhely lehet bázisok számára. Megvizsgáltuk, hogy fényelnyelés hatására nő-e a molekula savassága, vagyis gerjesztett állapotú protontranszfer megvalósul-e, valamint azt, hogy a fenolos OH hidrogénhídkötő képessége mily módon változik különböző szerves nitrogéntartalmú bázisokkal szemben.

### 4. 2. 1. Erős bázis hatása

Mivel a HONV festék nem oldódik jól vízben ezért a pK meghatározását 5 tf%-os CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O elegyben végeztük. A 17. ábra belső részén a HONV elnyelési spektrumának a változása látható NaOH hatására. A 17. ábra az 572 nm-en megfigyelt abszorbanciaváltozást mutatja be a pH függvényében. A 9,5-11,5 pH tartományban jelentős abszorbancianövekedés figyelhető meg, ami a fenolos hidroxidcsoport deprotonálódásával magyarázható. Elsőrendű Boltzman függvényt illesztve a pontokra

$$y = \frac{A_0 - A_\infty}{1 + \exp[(\text{pH} - \text{pK}_a)/P]} + A_\infty \quad (34)$$

melyben a pK<sub>a</sub> a deprotonálódási egyensúlyi állandó negatív logaritmus, A<sub>0</sub> és A<sub>∞</sub> adalékmentes festék és a deprotonált HONV abszorbancia értéke, P pedig egy további illesztési paraméter. A festék deprotonálódási állandójának negatív logaritmus, az illesztés szerint, 10,34-nek adódott, ami jó egyezést mutat az irodalomban fenolra közölt 10-es értékkel [113].

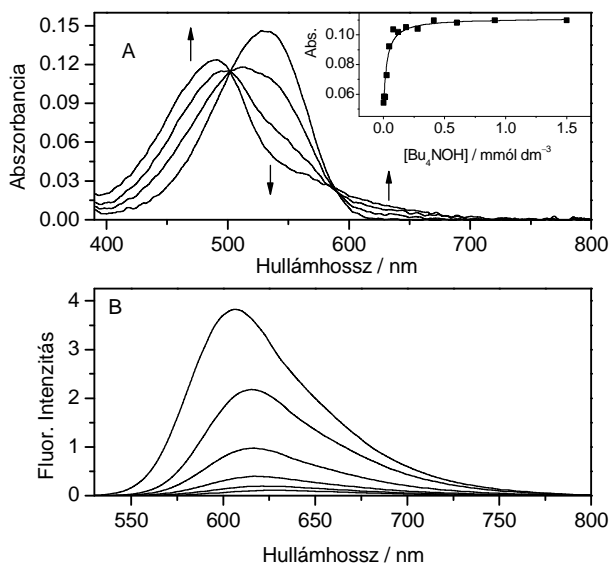


17. ábra Az 572 nm-en mért abszorbancia változása a pH függvényében, a folytonos vonal a nemlineáris illesztés legjobb eredményét mutatja. A belső ábra a HONV elnyelési spektrumának változása 5tf%  $CH_3OH/H_2O$  elegyben NaOH hatására

Vizes közegben a fenolát HONV formának kicsi a fluoreszcencia hatásfoka.

Teljesen más viselkedést tapasztaltunk, amikor acetonitriles közegben erős bázisként tetrabutil-ammonium-hidroxidot ( $Bu_4NOH$ ) adagoltunk. A 18.A ábrán jól látható, hogy az elnyelési spektrum kiszélesedik, és az abszorpciós maximum nagyobb energia felé tolódik az adalék koncentrációjának a fokozatos növelésével. Körülbelül az adalék tízszeres feleslegénél az összes festék deprotonálódik. A 491 nm maximumú sáv az ionpárhoz rendelhető. A festék elnyelési spektrumának eltérő viselkedése acetonitrilben és víztartalmú elegyben azt mutatja, hogy a kisebb polaritású oldószer nem segíti elő a festék szabad fenolát formájának a képződését. A 18.A ábra belső részén a 470 nm mért abszorbanciaváltozást ábrázoltam a bázis koncentrációjának a függvényében, ami jól leírható az 1:1 komplexálódást feltételező függvénnyel. A legjobb illesztést az ábrán folytonos vonal jelzi. A deprotonálódás egyensúlyi állandójának negatív logaritmusára  $4,54 \pm 0,03$  értéket kaptunk. A  $0-0,91 \text{ mmól/dm}^3$   $Bu_4NOH$  koncentráció tartományban fluoreszcencia kioltást tapasztaltunk (18.B ábra) és a fluoreszcenciaintenzitás maximuma fokozatosan 606 nm-ről 630-nm-re tolódott az adalék koncentrációjának a növelésével. Ennek ellenére a fluoreszcencia élettartam független a  $Bu_4NOH$  koncentrációtól,  $4,5 \pm 0,2$  ns értéket mértünk. Az adalék koncentrációja túl kicsi ahhoz, hogy dinamikus kioltás létrejöhessen. Az alapállapotú mérésből

származtatott egyensúlyi állandó értéke hasonló a fluoreszcencia mérésből számított értékkel, következésképpen gerjesztett állapotban nincs reakció.



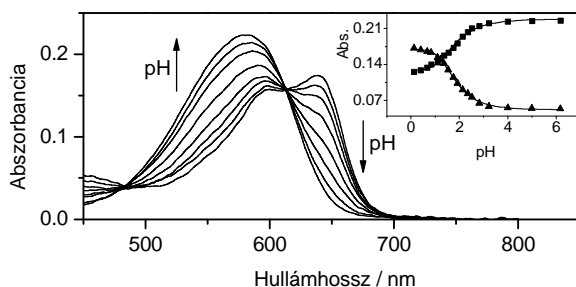
18. ábra A  $Bu_4NOH$  okozta változás az elnyelési spektrumban (A) és a fluoreszcenciaspektrumban (B) acetonitrilben. A belső ábra a 470 nm-en mért abszorbancia változását mutatja az adalék koncentrációjának a függvényében

A  $Bu_4NOH$  által okozotthoz hasonló jelenséget tapasztaltunk acetonitrilben, ha erős szerves bázisként DBU-t használtunk.

#### 4. 2. 2. $H_2SO_4$ hatása

A titrálást 20 tf%-os  $CH_3CN/H_2O$  elegyben végeztük. Sav hatására az elnyelési spektrumban jelentős változás figyelhető meg (19. ábra). Az elnyelési spektrumban 580 nm-es sáv intenzitása sav hatására fokozatosan csökken és 638 nm hullámhossznál egy másik sáv felnő. Ez nem lehet más, mint a protonálódott festék ( $HONRH^+$ ). A belső ábra a két abszorpciós maximumnak a változását

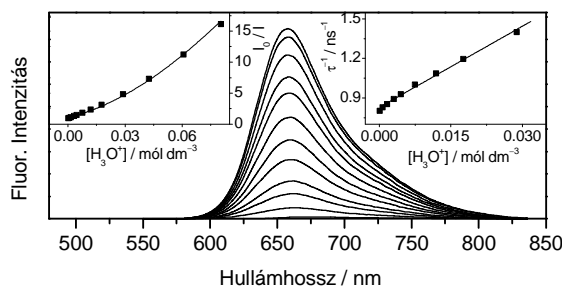
mutatja be a pH függvényében, melyekre az előzőekben tárgyalt Boltzmann (34) függvényt illetve hasonló,  $pK=1,8$ , protonálási együtthatót kaptunk.



19. ábra Sav hatása a HONV elnyelési spektrumára, az oldószer 20 tf%  $CH_3CN/H_2O$  elegy.

A belső ábra az 580 (■) és 638 (▲) nm-en a pH függvényében ábrázolt abszorbanciaváltozást mutatja. Az illetett függvényt folytonos vonal jelzi

Míg az elnyelési spektrum sav hatására teljesen megváltozott, a fluoreszcenciaspektrum szerkezete változatlan maradt (20. ábra).

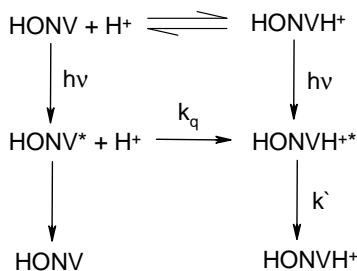


20. ábra Sav hatása a HONV emissziós szinképére, az oldószer 20tf%  $CH_3CN/H_2O$  elegy. A

bal belső ábra a fluoreszcenciaintenzitások arányát mutatja az oxoniumion koncentráció függvényében. A jobb belső ábrán a fluoreszcencia élettartam reciproka látható az oxoniumion koncentráció függvényében. A folytonos vonalak a nemlineáris illesztés eredményét mutatják

Az 1-3 pH tartományban jelentős fluoreszcencia kioltást tapasztaltunk, mivel a protonált festéknek kicsi a fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezője. Ebben a

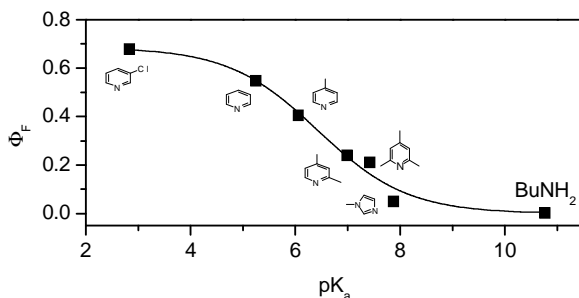
tartományban a fluoreszcencia lecsengéseket két exponenciális tagot tartalmazó összefüggéssel tudtuk leírni (30. összefüggés). Az egyik élettartam csökkent az oldat savasságának növekedésével, a másik pedig változatlan 100 ps körüli maradt. Az oldatban lejátszódó folyamatokat a 21. ábra szemlélteti:



21. ábra A HONV fotofizikai folyamatai sav jelenlétében

Alapállapotban egyensúly van a HONV és a protonált forma ( $\text{HONVH}^+$ ) között, melynek az egyensúlyi állandója  $63 \text{ dm}^3 \text{ mól}^{-1}$ . Fény hatására mind a HONV, mind a  $\text{HONVH}^+$  gerjesztett állapotba kerül, majd energiát veszítve visszatér alapállapotba. Ha a gerjesztett HONV egy  $\text{H}^+$ -nal ütközik, akkor egy gerjesztett  $\text{HONVH}^+$  keletkezik. A számítások során kiderült, hogy itt viszont nincs idő arra, hogy egyensúly álljon be, mert a protonálódott festék energiavesztése sokkal gyorsabb, minthogy az egyensúly beállna. A 20. ábra jobb felső belső része az élettartam reciprokanak a változását mutatja az oxónium-ion koncentrációjának függvényében. A pontokra a 33. függvényt illesztve egy egyenest kapunk melynek a meredeksége a  $k_q$  sebességi állandót adja meg. A 20. ábra bal felső részén a fluoreszcenciaintenzitások aránya látható ( $I_0/I$  ahol  $I_0$  a kiindulási,  $I$  pedig a mindenkori intenzitást jelöli) az oxóniumion koncentráció függvényében. Erre tökéletesen illeszkedik a kibővített Stern-Volmer egyenlet (28. függvény). Az illesztéssel számított alapállapotú  $\text{pK}_a$ -ra 1,97 adódott. Ha jobban megfigyeljük az ábrát, azt láthatjuk, hogy csak elég nagy savmennyiség okoz változást a spektrumban, így valószínűleg nem a fenolos OH disszociációja szorítódik vissza, hanem valamelyik nitrogén protonálódik. Következésképpen ez a mérés nem adott információt a fenolos OH savasságának megváltozásáról gerjesztett állapotban. Ha viszont H-híd akceptor vegyületeket adunk a fluoreszcenciás jelzőanyag oldatához,

akkor azok nem kötődhetnek máshova, csak a fenolos hidroxidcsoporthoz. Ennek a gondolatmenetnek az alapján megmértük a HONV fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezőjét különböző szerves bázisokban (22. ábra). A közeg bázicitásának növekedésével csökken a fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezője.



22. ábra A HONV fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezőjének a változása különböző bázicitású közegekben. A pK<sub>a</sub> értékek irodalmi adatok [114]

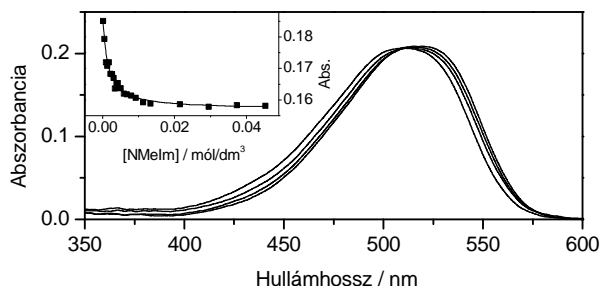
A görbe inflexiós pontja kb. 6,4 pK<sub>a</sub>-jú közegben található. Mivel klórpipridinben kioltást nem tapasztaltunk, megállapíthatjuk, hogy a festék savassága nem nő jelentős mértékben fényelnyelés hatására.

Hogy mi is a kioltás oka és mi a folyamatok mechanizmusa, azt részletesen az N-metil-imidazol (NMeIm) példáján mutatom be, majd röviden szemléltetem más szerves bázisok hatását is.

#### 4. 2. 3. N-Metil-imidazol (NMeIm) hatása különböző oldószerekben

A HONV és NMeIm közötti kölcsönhatást különböző oldószerekben vizsgáltam. Az NMeIm koncentráció fokozatos növelése az elnyelési spektrum enyhe hipszokróm eltolódását okozza. Az 23. ábra butil-klorid oldószerben mutatja e jelenséget. 510,5 nm-nél izobesztikus pont található. A belső ábra az 536 nm-en megfigyelt abszorbanciaváltozást mutatja az adalék koncentrációjának a függvényében. A mérési pontok nagyon jól leírhatók az 1:1 komplex képződésére

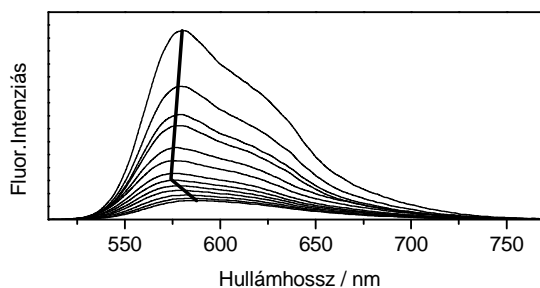
levezetett függvénnyel (17. összefüggés). A nemlineáris legkisebb négyzetösszeges illesztéssel  $K=580$  illetve  $630 \text{ dm}^3 \text{ mól}^{-1}$  értéket kaptunk az alapállapotú hidrogénkötési egyensúlyi állandóra butil-kloridban, illetve toluolban. Diklórmetánban és acetonitrilben a kis abszorbanciaváltozás miatt ezzel a módszerrel nem tudunk kellő pontossággal egyensúlyi állandót számítani.



23. ábra Az *N*-metil-imidazol hatása a HONV ( $7,5 \times 10^{-6} \text{ mól/dm}^3$ ) elnyelési spektrumára butil-kloridban. A belső ábra az 536 nm-en mért abszorbanciát mutatja az adalék koncentrációjának a függvényében

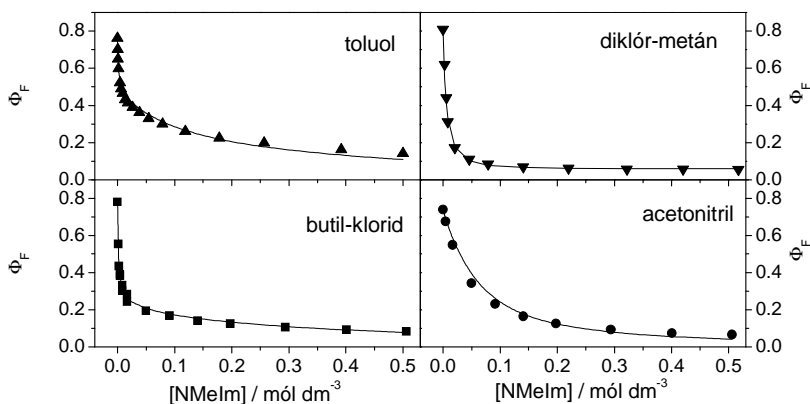
A  $0-0,09 \text{ mól dm}^{-3}$  NMeIm koncentrációtartományban a fluoreszcencia maximuma  $580 \text{ nm}$ -től  $576 \text{ nm}$ -re tolik (24. ábra), mivel a hidrogénhíd-komplex emissziója lesz domináns a szabad festékéhez képest, ami összhangban van az elnyelési spektrum kék eltolódásával. A spektrum hipszokróm eltolódása arra utal, hogy gerjesztett állapotban a H-híd kölcsönhatás gyengébb, mint alapállapotban [115]. Ez éles ellentmondásban van a fenolos OH-t tartalmazó aromás vegyületek szokásos viselkedésével, amelyek hidrogénhídkötő-képessége fényelnyelés hatására megnő [116].

Kvantumkémiail számításokkal alátámasztották, hogy a nílusvörös festék fenoxazin részhez kapcsolódó benzolgyűrűjének az elektronsűrűsége nagyon hasonló gerjesztett és alapállapotban [117].



24. ábra A HONV fluoreszcenciaspektrumának a változása NMeIm hozzáadás hatására butil-kloridban.  $[NMeIm] = 0 - 0,5 \text{ mól/dm}^3$

Ennél fogva a HONV fenolos OH-jának jelentős hidrogénkötő-képességbeli, savasságbeli növekedését sem várnánk, és nem is találtunk ilyen jellegű viselkedést.



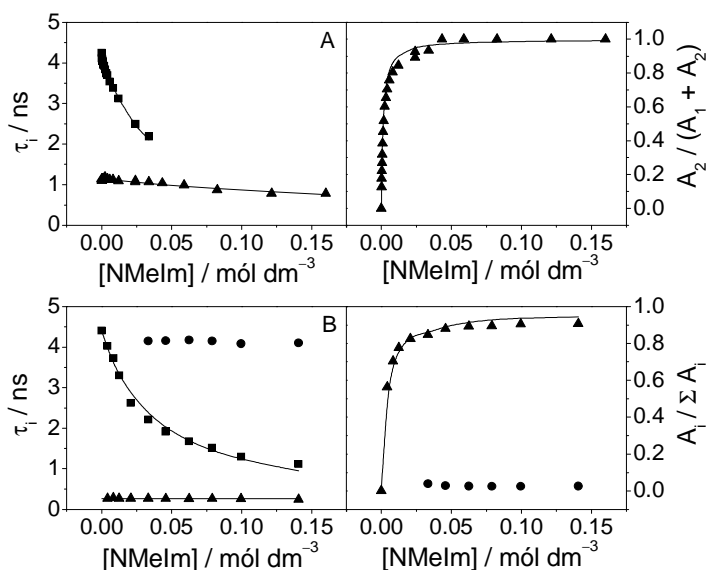
25. ábra A 2-hidroxi-nílusvörös festék fluoreszcencia hatásfokának a változása NMeIm koncentrációjának a függvényében különböző polaritású oldószerekben. A folytonos vonalak a nemlineáris illesztés legjobb eredményét mutatják

Alapállapotban a H-híd komplex teljesen kialakul  $0,09 \text{ mól/dm}^3$  NMeIm koncentrációnál, azonban tovább növelve az NMeIm mennyiségét a fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényező további csökkenése tapasztalható butil-kloridban (25. ábra) és toluolban, miközben a fluoreszcencia-színkép maximuma  $587 \text{ nm}$ -re

tolódik el. Ez a jelenség nem tapasztalható poláris oldószerben, mint például acetonitrilben és diklór-metánban. Ami azt sugallja, hogy apoláris oldószerekben a gerjesztett hidrogénhíd-komplex NMeIm-lal szinten kölcsönhatásba lép. A 25. ábra a HONV fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezőjét mutatja NMeIm koncentrációjának a függvényében különböző oldószerekben. A kapott görbéken két jól elkülöníthető szakasz látható, a kezdeti meredek rész az alapállapotban kialakuló hidrogénkötésnek tulajdonítható, míg a kevésbé meredek rész a dinamikus kioltástól ered. Poláris oldószerekben, mint az acetonitril, versengés van az adalék és az oldószer között a H-kötés kialakításáért, valamint a reaktánsok jobban szolvatálódnak, ezért a sztatikus és a dinamikus kioltás nem különböztethető meg.

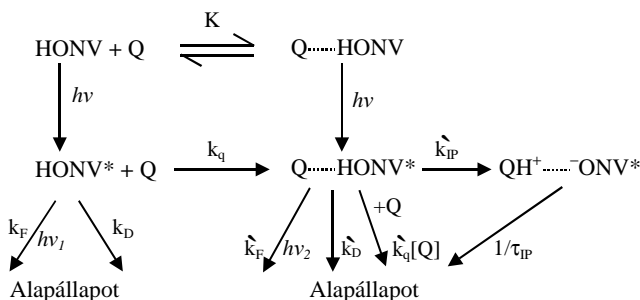
A mechanizmus megismeréséhez élettartammérésekre volt szükség. A HONV fluoreszcencia lecsengése minden oldószerben egy exponenciális tagot tartalmazó függvénnyel jól leírható, ez is alátámasztja azt az előzőekben tárgyalt tényt, hogy nincs gerjesztett állapotú protontranszfer. Kis mennyiségű adalék hatására a mért lecsengés csak két exponenciális tagot tartalmazó függvénnyel írható le toluolban és butil-kloridban. Egy reprezentatív képet látunk a 26. ábrán, ahol az élettartam illetve a preexponenciális tényezők aránya van ábrázolva a NMeIm koncentrációjának a függvényében. A hosszabb élettartam a nem komplexálódott festékhez tartozik, míg a rövidebb a hidrogénhíd-komplexhez rendelhető. Butil-kloridban mind a szabad, mind a komplexálódott festék kioltódik metil-imidazol hatására. Polárisabb oldószerekben a szolvatációs energia elég nagy ahhoz, hogy gerjesztett állapotban a hidrogénkötés mentén protonátadással ionpár képződhessen. Így a diklór-metánban és acetonitrilben észlelt harmadik lecsengési paraméter a gerjesztett ionpár élettartamának felel meg. Hogy alátámasszuk ezt a feltevésünket, egy független kísérletet végeztünk. Erős bázist adtunk a rendszerhez (DBU, illetve  $\text{Bu}_4\text{NOH}$ ), így állítottuk elő a festék fenolát formáját. Ekkor is 4,3 ns élettartamot mértünk, ami jó egyezést mutat a poláris oldószerekben NMeIm jelenlétében mért ionpár fluoreszcencia élettartamával.

A mérési eredmények kiértékelése során megállapítottuk, hogy a gerjesztett HONV visszaképződése a gerjesztett hidrogénhíd-komplexből sokkal lassabb, mint a többi energiavesztési folyamat.



26. ábra Az időfelbontott fluoreszcencia paraméterek  $\tau_1$  (■),  $\tau_2$  (▲),  $\tau_3$  (●) és a preexponenciális tényezők arányának a változása *N*-metil-imidazol koncentrációjának a függvényében butil-kloridban (A) és CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ban (B)

A feltételezett reakciómodellt a 27. ábra mutatja. Az alapállapotú komplexálódást UV-látható spektrofotometriás módszerrel mutattuk ki és meghatároztuk az egyensúlyi állandóját. A gerjesztett hidrogénhíd-komplex képződik direkt gerjesztéssel alapállapotból, valamint kialakul a már gerjesztett festék NMeIm-lal való kölcsönhatása során. Az utóbbi folyamat a felelős a gerjesztett HONV ( $\tau_1$ ) élettartamának a rövidüléséért. A gerjesztett molekulák egy része fluoreszcencia kibocsátással, valamint belső konverzióval tér vissza alapállapotba.  $\Phi_F$ ,  $\tau_1$  és  $\tau_2$  együttes kiértékeléséhez az Excel Solver programot használtuk.



27. ábra A 2-hidroxid-nílusvörös és szerves bázis között kialakuló fotofizikai folyamatok

A 27. ábra alapján a következő összefüggéseket vezettük le:

$$\tau_1 = \frac{1}{k + k_q[Q]} \quad (34)$$

$$\tau_2 = \frac{1}{k' + k'_q[Q]} \quad (35)$$

$$\frac{A_2}{A_1 + A_2} = \left(1 + \frac{\epsilon_\lambda k_F}{\epsilon'_\lambda k'_F K[Q]}\right)^{-1} \quad (36)$$

$$\Phi_F = k_F \frac{a/(K[Q] + a)}{(k + k_q[Q])} + k'_F \frac{k_q[Q] + kK[Q]/(K[Q] + a)}{(k' + k'_q[Q])(k + k_q[Q])} \quad (37)$$

Ahol  $[Q]$  a szerves N tartalmú bázis koncentrációja,  $K$  az alapállapotú egyensúlyi állandó, ahol  $k = 1/\tau_0 = k_F + k_D$ ,  $k' = 1/\tau'_0 = k'_F + k'_D + k'_{IP}$ .  $A$   $\epsilon$ ,  $\tau_0$ ,  $k_F$ ,  $k_D$  és  $k_q$  a HONV gerjesztő hullámhosszhoz tartozó moláris abszorpciós együtthatója, a festék fluoreszcencia élettartama, fluoreszcencia kioltási sebességi együttható, a belső konverzió sebességi együtthatója valamint a gerjesztett állapot kioltás sebességi együtthatója. Az ionpár képződésének a sebességi együtthatója ( $k_{IP}$ ) elhanyagolhatóan kicsi toluol és butil-klorid oldószerekben. Mivel az elnyelési spektrum izobesztikus pontjának megfelelő hullámhosszon gerjesztve vettük fel a fluoreszcenciaspektrumokat, a szabad festék és a komplex moláris abszorpciós együtthatójának aránya  $a = \epsilon_\lambda / \epsilon'_\lambda = 1$ -nek felel meg. Az időfelbontott fluoreszcencia méréseknél a gerjesztő hullámhossz 400 nm volt, ebben az esetben a  $\epsilon_\lambda / \epsilon'_\lambda$  arány 0,67. A  $K$  értékét az elnyelési spektrumokból számítottuk az 1:1 komplexálódást feltételező 17. egyenlet alapján, a  $k$  és  $k_F$  értéket az adalék nélküli

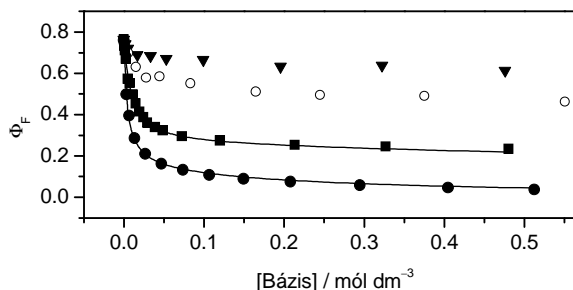
festék oldatban határoztuk meg. A többi paramétert a 34-37 egyenletek felhasználásával nemlineáris illesztéssel kaptuk. Azokban az esetekben, amikor az adalék kis abszorbanciaváltozást eredményezett, az alapállapotú egyensúlyi állandó értékét a  $\tau_1$ ,  $\tau_2$ ,  $A_2/\Sigma A_i$  és  $\Phi_F$  értékek koncentrációfüggéséből globális illesztéssel határoztuk meg. A legjobb illesztésnek megfelelő paraméter értékeket a 3. táblázatban gyűjtöttem össze. A 25. és 26. ábrán a folytonos vonalak a számított értékeknek felelnek meg. Toluolban a  $k_q$  -t nem tudtuk kellő pontossággal meghatározni mivel a  $\tau_1$  és  $\tau_2$  élettartamok nem különböztek elegendő mértékben egymástól.

A 3. táblázatból jól látható, hogy a  $K$  és  $k_q$  értékek csökkennek az oldószer polaritásának növekedésével, mivel polárisabb oldószerekben a jobb szolvatálódás akadályozza a hidrogénkötés létrejöttét. Az oldószer polaritása a legnagyobb, tizennyolcszoros, változást a HONV:NMeIm komplex élettartamában eredményezi, ami a gyengén fluoreszkáló ionpár képződéséből és a belső konverzió felgyorsulásából ered. A fluoreszcencia sebességi együtthatóra minden esetben közel azonos értéket számítottunk. Acetonitrilben és diklór-metánban a hidrogénhíd-komplex élettartama 140 illetve 260 ps, és független a metil-imidazol koncentrációtól, mivel túl rövid ideig él ahhoz, hogy ütközhesse egy másik metil-imidazol molekulával.

#### 4. 2. 4. Más szerves bázisok hatása

A 28. ábra a fluoreszcencia hatásfokának a változását mutatja butil-amin és különböző N-heterociklusos vegyületek koncentrációjának a függvényében toluolban. A klórpipridin és piridin elhanyagolható kioltást okoz, így fel sem tüntettük az ábrán. Az NMeIm hatására történő kioltás a leghatékonyabb, ennél kicsit kisebb a TMPy hatása, majd további csökkenés tapasztalható, ha a Py gyűrűhöz kevesebb metilcsoport kapcsolódik, vagyis a kioltás mértéke arányos a bázis erősségével. A görbe kezdeti meredek szakasza az alapállapotú hidrogénhíd-

komplekképződésnek tulajdonítható, a második kevésbé meredek rész pedig a dinamikus kioltástól ered.



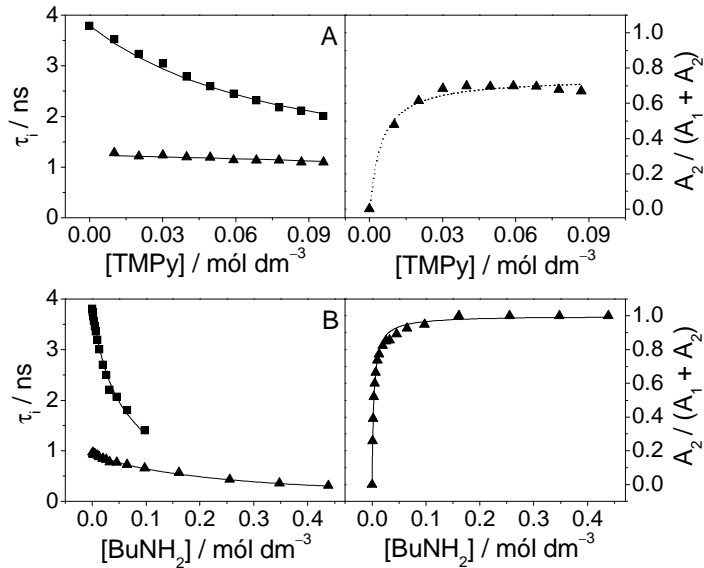
28. ábra A fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezők különböző koncentrációjú szerves bázisok jelenlétében toluolban. (▼) 4-metil-piridin, (○) 2,4-dimetil-piridin, (■) 2,4,6-trimetil-piridin, (●) n-butil-amin

Az időben felbontott fluoreszcencia lecsengési paramétereinek és a preexponenciális tényezők arányának a változása a TMPy illetve a BuNH<sub>2</sub> koncentrációjának a függvényében toluolban a 29. ábrán látható. A TMPy és BuNH<sub>2</sub> jelenlétében a fluoreszcencia lecsengések két exponenciális tagot tartalmazó függvénnyel írhatók le toluolban, mert ionpár nem képződik ilyen apoláris oldószerben. Butil-aminnal az N-metil-imidazoléhoz hasonló viselkedést találtunk (29. ábra), azonban a TMPy esetében jelentős eltérést tapasztaltunk, a preexponenciális tényezők aránya nem tartott egyhez, amikor alapállapotban a komplex már teljesen kialakult. A 30. ábra alapján a következő összefüggések vezethetők le:

$$\tau_{2,1} = \frac{2}{k + k_q[Q] + k' + k_{-q} + k'_q[Q] \pm \sqrt{(k + k_q[Q] - k' - k_{-q} - k'_q[Q])^2 + 4k_q k_{-q}[Q]}} \quad (38)$$

$$\Phi_F = \frac{k_F \{k_{-q} + (k' + k'_q[Q])a / (K[Q] + a)\} + k'_F \{k_q[Q] + kK[Q] / (K[Q] + a)\}}{k(k' + k_{-q} + k'_q[Q]) + k_q[Q](k' + k'_q[Q])} \quad (39)$$

ahol  $k' = k'_F + k'_D$ , a többi paraméter megfelel a 34-37 összefüggésekben szereplőkkel. Ezen függvényekkel kapott legjobb illesztéseket a 28. és 29. ábrán folytonos vonal jelzi.

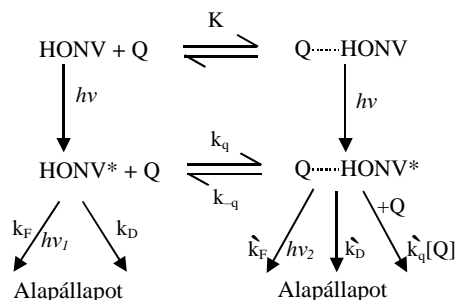


29. ábra Az időben felbontott fluoreszcencia lecsengési paraméterek  $\tau_1$  (■),  $\tau_2$  (▲) és a preexponenciális tényezők arányának a változása TMPy (A) és BuNH<sub>2</sub> (B) koncentrációjának a függvényében toluolban

A számított fotofizikai paramétereket a 3. táblázatban tüntettem fel. Poláris oldószerben és/vagy erős bázis jelenlétében az  $A_2/\Sigma A_i = 1$  értéket mértünk nagy adalék koncentrációknál, ami arra utal, hogy a hidrogénhíd-komplex keletkezése gerjesztett állapotban irreverzibilis folyamat. Így az összes vizsgált rendszer, egy kivételével (TMPy toluolban) leírható a 34-37 összefüggésekkel. Toluolban azonban a gerjesztett TMPy-HONV komplex disszociál, mivel a HONV és a komplex energiája között kicsi a különbség gerjesztett állapotban. Növelve az oldószer polaritását vagy a bázis erősséget az energiakülönbség nő, és a folyamat irreverzibilissé válik.

A polárisabb oldószerekben a reaktánsok jobban szolvatálódnak és versengés van hidrogénkötés kialakításáért az oldószer és az adalék között, ezért a számított  $K$  és  $k_q$  értékek mindig jelentősen kisebbek acetonnitrilben, mint a kisebb

polaritású oldószerekben. A belső konverzió sebességi együtthatója gyakorlatilag független a mikrokoznyezettől és báziserősségtől.



30. ábra A HONV és TMPy közötti fotofizikai folyamatok toluolban

Miyasaka és munkatársai megállapították, hogy az 1-hidroxid-pirén piridin hatására kioltódik nem fluoreszkáló hidrogénhíd-komplexen keresztül, amelyben az elektron és proton elmozdulása elősegíti a  $\pi$ -rendszerek közötti töltésátvitelt [118]. A HONV: metil-piridin rendszerben a kis energiájú gerjesztett állapot, valamint a festék kedvezőtlen redox potenciálja miatt az elektronátadás nem mehet végbe. A gerjesztett komplex élettartama apoláris környezetben két nagyságrenddel nagyobb, mint az 1-hidroxid-pirén: piridin rendszerre közölt. A butil-amin H-híd-komplex képződésén át a HONV fluoreszcenciáját kioltja, ugyanakkor a nem szubsztituált nílusvörös nem lép kölcsönhatásba butil-ammal, ami igazolja, hogy nem valósul meg elektronátadás.

A hidrogénhíd-komplex bimolekuláris kioltásának sebességi együtthatója ( $k_q$ ) a  $\text{BuNH}_2 > \text{NMeIm} > \text{TMPy}$  sorban csökken és csak butil-kloridban illetve toluolban mérhető, ahol a gerjesztett komplex élettartama elég nagy. A festék környezetében megjelenő második H-híd donor molekula a mikrokoznyezet polaritását és bázicitását megnöveli, így a belső konverzió felgyorsul.

A poláris oldószerekben megjelenő, a gerjesztett ionpárnak tulajdonított 4 ns körüli élettartam összhangban van azzal, hogy a protontranszfer még gyenge bázisok jelenlétében is fontos szerepet kap, hisz ilyen körülmények között az ionpár képződése kedvezményezett.

3. táblázat A 2-hidroxiid nílusvörös és szerves N- tartalmú bázis között lejátszódó fotofizikai folyamatok jellemző paraméterei

	Oldószer	pK <sub>a</sub>	K dm <sup>3</sup> mól <sup>-1</sup>	k <sub>F</sub> / 10 <sup>9</sup> s <sup>-1</sup>	k <sub>D</sub> / 10 <sup>9</sup> s <sup>-1</sup>	k <sub>q</sub> / 10 <sup>9</sup> dm <sup>3</sup> mól <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup>	k <sub>-q</sub> / 10 <sup>9</sup> dm <sup>3</sup> mól <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup>	k <sub>F</sub> ' / 10 <sup>9</sup> s <sup>-1</sup>	k <sub>D</sub> ' + k <sub>IP</sub> ' 10 <sup>9</sup> s <sup>-1</sup>	τ <sub>0</sub> ns	k <sub>q</sub> ' / 10 <sup>9</sup> dm <sup>3</sup> mól <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup>	τ <sub>IP</sub> ns
2,4-dimetil- piridin	CH <sub>3</sub> CN	6.99 <sup>a</sup>	1.0±0.4	0.16±0.01	0.059±0.003	1.1±0.1		0.08±0.01	2.7±0.4	0.36±0.04		
2,4,6- trimetil- piridin	CH <sub>3</sub> CN	7.43 <sup>a</sup>	2.0±0.5	0.16±0.01	0.059±0.003	0.8±0.2		0.05±0.01	≥9	≤0.11		4.1±0.2
	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>		18±3	0.18±0.01	0.043±0.003	2.8±0.2		0.17±0.02	6.9±0.8	0.14±0.02		
	Toluol		110±15	0.2±0.01	0.062±0.003	2.9±0.2	0.084±0.008	0.14±0.02	0.58±0.06	1.24±0.12	0.17±0.04	
N-metil- imidazol	CH <sub>3</sub> CN	7.88 <sup>b</sup>	9±2	0.16±0.01	0.059±0.003	1.7±0.1		0.11±0.02	7.1±0.7	0.14±0.02		4.1±0.2
	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>		150±20	0.18±0.01	0.043±0.003	5.9±0.4		0.21±0.02	3.6±0.3	0.26±0.02		4.2±0.2
	BuCl		580±80	0.18±0.01	0.055±0.003	7.1±0.5		0.17±0.01	0.71±0.03	1.14±0.05	2.8±0.3	
	Toluol		630±80	0.20±0.01	0.062±0.003	c		0.12±0.01	0.26±0.1	2.63±0.13	1.7±0.2	
Butil-amin	CH <sub>3</sub> CN	10.77 <sup>a</sup>	14±3	0.16±0.01	0.059±0.003	1.8±0.2		0.12±0.01	≥10	≤0.11		4.6±0.2
	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>		200±30	0.18±0.01	0.043±0.003	4.6±0.3		0.14±0.02	7.1±0.7	0.14±0.02		3.9±0.2
	Toluol		260±30	0.20±0.01	0.062±0.003	5.0±0.3		0.15±0.01	0.90±0.04	0.95±0.04	5.1±0.5	
Bu <sub>4</sub> NOH	CH <sub>3</sub> CN											4.6±0.2
	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>											4.4±0.2
DBU	CH <sub>3</sub> CN											4.5±0.2
	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>											4.3±0.2

a. Irod. [114.a], b. Irod..[114.b], c. nem tudtuk kellő pontossággal meghatározni

### **4. 3. Ellipticin fotofizikai sajátosságai és hidrogénhíd-komplex képző anyagok hatása**

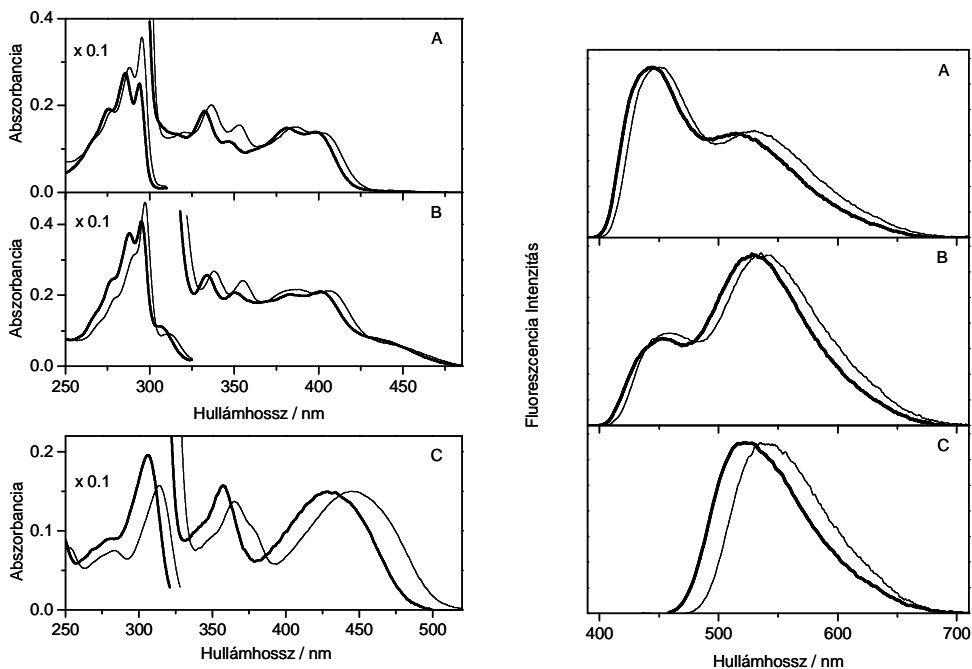
A természetes piridokarbazol típusú alkaloidok közé tartozó ellipticin számos származéka biológiai aktivitással rendelkezik [72]. Mind hidrogénhíd-donor, mind hidrogénhíd-akceptor molekulákhoz kötődhet.

A következő fejezetben először az ellipticin (E) és 6-metil származékának (ME) a fotofizikai sajátosságait mutatom be különböző polaritású, protikus és aprotikus oldószerekben, majd az ellipticin hidrogénhíd-akceptor anyagokkal, anionokkal való kölcsönhatását vázolom.

#### **4. 3. 1. Az ellipticin és 6-metil-ellipticin elnyelési és emissziós színe**

Az ellipticin 6-os helyzetben történő metilezése csak kis mértékben módosítja az elnyelési és emissziós színek alakját, enyhe batokróom eltolódást okoz. Kis oldószerfüggést találtunk aprotikus oldószerekben, de alkoholokban jelentős változás figyelhető meg. Mint ahogy a 31. ábrán is jól látható, etilén-glikolban egy új sáv jelenik meg 420 nm környékén, ami hexafluoro-izopropanolban (HFIP) kiteljesedik. A fluoreszcencia-színképben nagyobb vörös eltolódást tapasztaltunk (4. táblázat) az oldószer polaritásának változtatásával, mint az elnyelési színképben. Úgy az ellipticin mint a 6-metil származékának fluoreszcenciaspektruma etanolban hasonlít az aprotikus közegben kapotthoz. Az időben felbontott fluoreszcencia mérésekből származó lecsengések kellő pontossággal egy exponenciálissal leírhatók. Ezzel ellentétben, metanolban és etilén-glikolban kettős fluoreszcenciát látunk, míg HFIP-ban csak a nagyobb hullámhosszhoz tartozó sáv jelenik meg (31. ábra). Az 520 nm körüli sáv a piridin csoportján protonálódott molekulához rendelhető, mivel ennek a sávnak a megjelenése kapcsolatban van az oldószer savasságával. Dimetil-szulfoxidban metanol > 1,1,1-trifluor-etanol > HFIP > szukcin-imid > trietil-ammónium-klorid > trifluor-ecetsav (TFA) sorban változik az oldószer savassága a 29,0; 23,45; 17,9; 14,7; 9,0 és 3,45 pK<sub>a</sub> értékeknek megfelelően [119]. Így minden olyan oldószernek,

amely savasabb, mint a HFIP produkálnia kell 420 nm körüli abszorpciós sávot. Metanolban az E és ME is csak elhanyagolható mértékben protonálódik alapállapotban, mégis kettős fluoreszcenciát mutatnak, ami arra utal, hogy

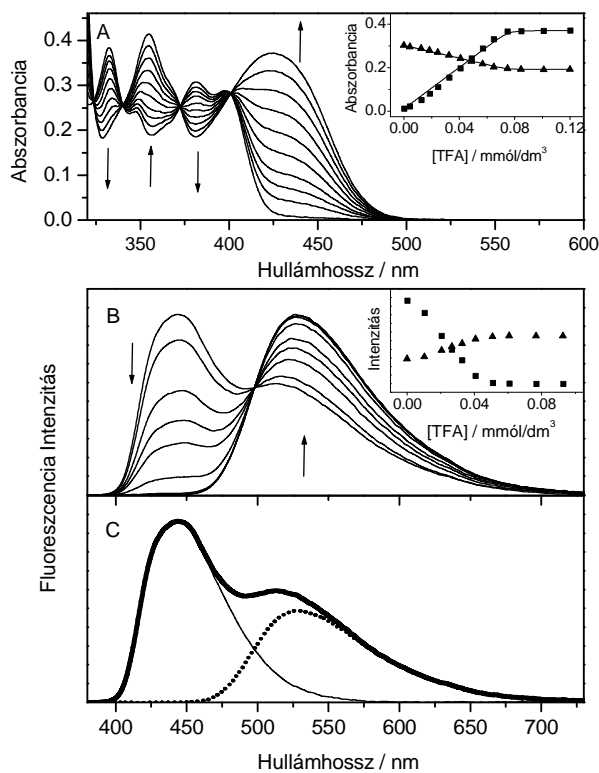


31. ábra Az ellipticin (vastag vonal) és 6-metil-ellipticin (vékony vonal) abszorpciós és emissziós színeke metanolban (A), etilén-glikolban (B), hexafluoro-2-propanolban (C)

fényelnyelés hatására megnő a bázicitásuk. Egy korábbi cikkben do Cabo és munkatársai azt feltételezték, hogy oldószer által elősegített fotokémiai protonátadás valósul meg az ellipticintől csupán egy metil csoport helyzetében különböző, olivacin pirrol és piridin gyűrűje között, és ez okozza a nagyobb hullámhosszú emissziót metanolban és dioxán:víz elegyben [120]. A 6-metil-ellipticin kettős fluoreszcenciája egyértelműen kizárja a tautomerizáció lehetőségét, hisz a pirrol gyűrű N-szubsztitúciója következtében a molekulában nem marad disszociálisan proton. A gerjesztett állapotú protonálódás alátámasztása érdekében savval és bázissal történő titrálásokat végeztünk.

### 4. 3. 2. Trifluor-ecetsav hatása (TFA) metanolban

A 32.A ábrán az ellipticin elnyelési színeképében bekövetkező változást követhetjük nyomon TFA koncentrációjának fokozatos növelésével metanolban. A 25. összefüggést a 320-510 nm tartományában mért spektrofotometriás adatokhoz globálisan illesztve a protonálódás egyensúlyi állandójára nagyobb, mint  $3 \times 10^7 \text{ dm}^3 \text{ mól}^{-1}$  értéket kaptunk. A számításból nyert színekép pedig megegyezett a HFIP-ban mérttel. A TFA az ellipticin fluoreszcenciát kioltja, miközben a nagyobb hullámhosszhoz tartozó emisszió intenzitása fokozatosan nő (32.B ábra).



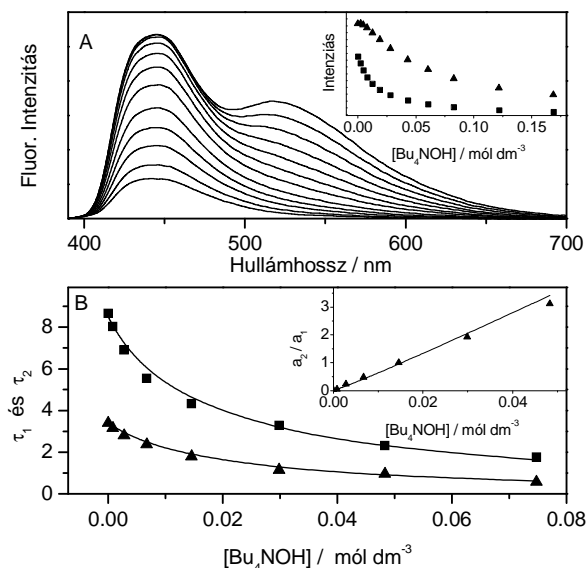
32. ábra TFA hatása az ellipticin ( $7,5 \times 10^{-5} \text{ mól dm}^{-3}$ ) elnyelési (A) illetve emissziós (B) színeképre. A belső (A) ábra 385(▲) illetve 425(■) nm mért abszorbanca, (B) 444(■) és 580 (▲) nm mért fluoreszcenciaintenzitás-változást mutatja a TFA koncentrációjának a függvényében. Az ellipticin felbontott emissziós színeképe metanolban (C)

A fluoreszcencia élettartam nem változik  $0 - 3 \times 10^{-5}$  mól/dm<sup>3</sup> TFA koncentrációtartományban, ami arra utal, hogy csak alapállapotú komplexálódás van. A fluoreszcencia lecsengések két exponenciális tagot tartalmazó függvénnyel írhatók le ( $\tau_1 = 3,4$  ns és  $\tau_2 = 8,6$  ns). A rövidebb fluoreszcencia élettartamhoz tartozó preexponenciális tényező értéke (550 nm-en detektálva) nő a sav koncentrációjának növekedésével, de még  $4 \times 10^{-5}$  mól/dm<sup>3</sup> TFA koncentrációnál is negatív. Ez igazolja, hogy a fotoindukált protonálódás sokkal kisebb fontosságú, mint az alapállapotú reakció. Nagy TFA koncentrációnál, amikor alapállapotban csak protonált forma van jelen a fluoreszcencia egy exponenciális lecsengést mutat ( $\tau = 8,6$  ns), ami azt bizonyítja, hogy a protonált forma disszociációja gerjesztett állapotban elhanyagolható. A 32.C ábra azt támasztja alá, hogy az ellipticin fluoreszcenciája metanolban két részből tevődik össze, jelen van mind a semleges, mind a protonálódott ellipticintől eredő emisszió egyaránt.

#### 4. 3. 3. Tetrabutyl-ammónium-hidroxid (Bu<sub>4</sub>NOH) hatása

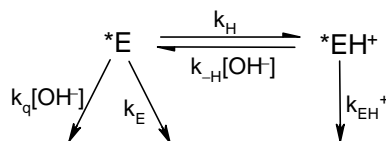
A Bu<sub>4</sub>NOH elhanyagolható változást okoz az ellipticin elnyelési színekében, miközben jelentősen megváltoztatja a fluoreszcenciás viselkedését metanolban. Jól látható a 33.A ábrán, hogy az 520 nm-hez tartozó sáv fokozatosan eltűnik, míg enyhe fluoreszcencia kioltás figyelhető meg 442 nm-en.

Időben felbontott fluoreszcenciás mérésekre volt szükség, hogy feltérképezzük a gerjesztett állapotban lejátszódó folyamatokat, és meghatározzuk a kinetikai paraméterek értékét. Mindkét emissziós sávban mért fluoreszcencia lecsengéseket két exponenciális tagot tartalmazó függvénnyel lehetett kellő pontossággal kiértékelni, miközben mindkét hullámhosszon azonos lecsengési paramétereket számítottunk. Ez igazolja, hogy a gerjesztett állapotban az ellipticin protonálódása reverzibilis folyamat.



33. ábra Az ellipticin ( $6 \times 10^{-5} \text{mól/dm}^3$ ) fluoreszcencia-színképében (A) és fluoreszcencia élettartamában (B)  $\text{Bu}_4\text{NOH}$  hatására bekövetkező változás metanolban. Az ábra belső részén 442(■) illetve 520 (▲) nm mért fluoreszcenciaintenzitás (A) illetve 435 nm-en mért preexponenciális tényezők arányának (B)  $\text{Bu}_4\text{NOH}$  koncentrációfüggését mutatja

A 33.B ábra a  $\tau_2$  és  $\tau_1$  lecsengési paraméterek, valamint a preexponenciális tényezők arányának ( $a_2/a_1$ ) a  $\text{Bu}_4\text{NOH}$  koncentrációfüggését mutatja. Az a tény, hogy az ellipticin fluoreszcenciaintenzitása még az összes protonált részecske eltűnése után is csökken, azt sugallja, hogy az ellipticin fluoreszcenciát a hidroxidionok kioltják.



34. ábra Az ellipticin: $\text{Bu}_4\text{NOH}$  rendszerben lejátszódó fotofizikai folyamatok

A fluoreszcenciaintenzitás időfüggését 435 nm-en mérve az  $a_2/a_1$  arány nő. Ebből arra következtettünk, hogy a gerjesztett állapotú protonált ellipticin

Bu<sub>4</sub>NOH-val reagálva protont veszít. Az 34. ábra alapján a következő összefüggések vezethetők le.

$$I(t) = a_1 \exp(-t/\tau_1) + a_2 \exp(-t/\tau_2) \quad (40)$$

$$\tau_{2,1} = \frac{2}{X + Y \pm \sqrt{(Y - X)^2 + 4k_H k_{-H} [\text{OH}^-]}} \quad (41)$$

$$a_2 / a_1 = (X - 1/\tau_1) / (1/\tau_2 - X) \quad (42)$$

ahol  $X = k_E + k_H + k_q [\text{OH}^-]$ ,  $Y = k_{\text{EH}^+} + k_{-H} [\text{OH}^-]$ ,  $k_H$ ,  $k_{-H}$  és  $k_q$  a protonált ellipticin képződési sebességi együttható, a Bu<sub>4</sub>NOH és protonált illetve semleges ellipticin közötti reakció sebességi együtthatója gerjesztett állapotban, míg a  $k_E$  és  $k_{\text{EH}^+}$  a gerjesztett ellipticin és protonált ellipticin unimolekuláris energiavesztésének sebességi együtthatója. Az  $1/k_{\text{EH}^+} = 8,6$  ns (TFA jelenlétében mért) és az  $1/(k_E + k_H) = 3,4$  ns (tiszta metanolban mért) értékeket rögzítettünk. Az 41, 42 összefüggéseket felhasználva pedig globális illesztéssel a következő sebességi együttható értékeket kaptuk:  $k_H = 9,8 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ ,  $k_{-H} = 1,8 \times 10^{10} \text{ dm}^3 \text{ mól}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ,  $k_E = 2,0 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$  és  $k_q = 6,4 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mól}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . Érdekes megjegyezni, hogy 12-szer nagyobb értéket kaptunk a protonált E képződési sebességi együtthatójára ( $k_H$ ), mint amit az ellipticinnel rokon, olivacin oldószer által elősegített intramolekuláris fotoindukált protonálódásra közöl az irodalom [120].

Ha a 6-metil származékot titráljuk Bu<sub>4</sub>NOH oldattal metanolban, azt tapasztaltuk, hogy a nagyobb hullámhosszhoz tartozó fluoreszcenciasáv-intenzitása csökken, miközben a semleges ellipticinhez rendelhető sáv intenzitása fokozatosan nő. A ME nem oltódik ki, így a  $k_q$  érték elhanyagolható. A fluoreszcencia lecsengési paraméterek egyidejű kiértékeléséből  $1/k_{\text{EH}^+} = 9,0$  ns és  $1/(k_E + k_H) = 4,5$  ns felhasználásával a következő értékeket kaptuk:  $k_H = 1,5 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ ,  $k_{-H} = 1,1 \times 10^{10} \text{ dm}^3 \text{ mól}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ,  $k_E = 7,2 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ . Látható, hogy a  $k_H$  értéke nő, valamint a  $k_{-H}$  értéke csökken, ha az ellipticint 6-os helyzetben metilezzük. Valószínűleg a gerjesztett ME piridil nitrogénjén nagyobb az elektronsűrűség, mint az ellipticinén.

#### 4. 3. 4. Oldószer hatása a fotofizikai paraméterekre

Az 4. táblázatban foglaltam össze az ellipticin és 6-metil-ellipticin különböző oldószerekben mért fotofizikai paramétereit. Látható, hogy az ellipticin elnyelési és emissziós színekében az oldószer polaritás növelésével jelentősebb vörös eltolódás jelentkezik, mint a 6-metil származékánál. Egy ezzel ellentétes hatás tapasztalható a protonált molekulák esetén, itt ugyanis nagyobb változást mutat a  $\text{MEH}^+$ . Az első szingulett gerjesztett állapot energiáját  $E(S_1)$  az összenormált elnyelési és emissziós színeképek metszéspontjának energiájaként számítottuk. Poláris oldószer stabilizálja az ellipticin  $S_1$  energiaszintjét, de kisebb oldószerhatás észlelhető a protonált ellipticin  $E(S_1)$  értékeiben. A metilezés illetve az oldószer polaritás változtatás növeli a fluoreszcencia élettartamát ( $\tau_F$ ), mivel úgy a sugárzásos, mint a sugárzásmentes folyamatok lassulnak. A kis  $\tau_F$  érték metanolban és etilén-glikolban részben a gerjesztett állapotú protonátadáستól ered. A fluoreszcencia kisugárzás sebességi együtthatója ( $k_F = \Phi_F / \tau_F$ ) a Strickler és Berg által javasolt egyenlettel (6) összhangban csökken az oldószer polaritásának növekedésével, valamint protonálódáskor, mivel ekkor a fluoreszcenciaspektrum batokrom eltolódást mutat. Mindkét gerjesztett vegyület sugárzásmentes energiavesztési sebességi együtthatóinak összege ( $k_{NR} = (1 - \Phi_F) / \tau_F$ ) csak kis mértékben különbözik az összes vizsgált oldószerben. Ez alól kivételt képez a metanol, ahol közel 50%-kal nagyobb értéket mértünk az ellipticinre. Ez valószínűleg annak köszönhető, hogy energiavesztés jön létre a pirrol N-H csoportja és a metanol oxigén atomja között létrejött intermolekuláris H-híddal kapcsolatos rezgéseken keresztül. A 6-metil-ellipticin esetében ez a folyamat nem kaphat szerepet.

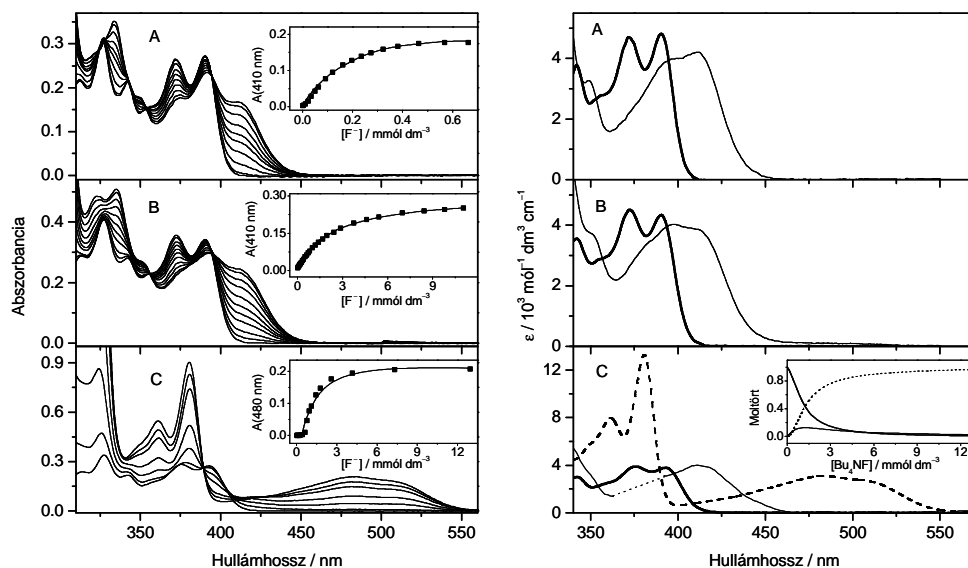
4. táblázat Az ellipticin és 6-metil-ellipticin fotofizikai sajátosságai különböző oldószerekben

	Oldószer	$\lambda_{\max}(\text{abs}) / \text{nm}$		$\lambda_{\max}(\text{fl}) / \text{nm}$		$\tau / \text{ns}$		$\Phi_F$		$k_F / 10^7 \text{ s}^{-1}$		$k_{\text{NR}} / 10^7 \text{ s}^{-1}$		$E(S_1) / 10^{-3} \text{ cm}^{-1}$	
		SW	LW	SW	LW	435 nm	550 nm	SW	LW	SW	LW	SW	LW	SW	LW
Ellipticin	Toluol	390		404		9,2		0,40		4,3		6,5		25,21	
	CH <sub>3</sub> CN	393		434		10,7		0,34		3,2		6,2		24,70	
	Etanol	401		444		14,0		0,43		3,1		4,1		24,18	
	Metanol	399	424	444	516	3,4	8,6 <sup>a</sup>	0,080	0,060	2,4	0,70	27	11	24,15	20,98
	Etiléne- glikol	402	426	454	524	4,1 <sup>a</sup>	9,2 <sup>a</sup>	b	b	b	b	b	b	23,37	20,97
	Hexafluoro- 2-propanol		428		525		6,4		0,061		0,95		15		20,88
6-Metil-ellipticin	Toluol	402		418		10,7		0,35		3,3		6,1		24,39	
	CH <sub>3</sub> CN	402		436		11,6		0,31		2,7		6,0		24,09	
	Etanol	403		445		14,6		0,42		2,9		4,0		23,92	
	Metanol	403	442	452	533	4,5	9,0 <sup>a</sup>	0,11	0,1	2,4	1,1	20	10	23,81	20,43
	Etiléne- glikol	407	444	458	541	5,7 <sup>a</sup>	9,9 <sup>a</sup>	b	b	b	b	b	b	23,2	20,38
	Hexafluoro- 2-propanol		446		545		4,9		0,057		1,2		19		20,16

<sup>a</sup> kétexponenciális lecsengés hosszabb élettartama    <sup>b</sup>  $\Phi_F$  nem lehet meghatározni, mivel két elnyelő részecske van alapállapotban  
 SW, LW a kis illetve a nagy hullámhosszhoz tartozó értékek

### 4. 3. 5. Fluoridion hatása az elnyelési és emissziós színeképre

Az ellipticin elnyelési színeképe az oldószer polaritásától függetlenül nagyon érzékenynek bizonyult a fluoridion jelenlétére. Már kis mennyiségű  $F^-$  anion is jelentős spektrális változást okoz, melyet jól szemléltet a 35. ábra. Toluolban és diklór-metánban, vagyis kevésbé poláris oldószerekben 400-440 nm tartományban egy új sáv jelenik meg a spektrumban.



35. ábra  $F^-$  hatása az ellipticin elnyelési színeképre különböző oldószerekben: (A) toluol, (B)  $CH_2Cl_2$  és (C)  $CH_3CN$ . A belső ábra (A) és (B) a 410 nm-en, míg a (C) a 480 nm-en mért abszorbanciaváltozást mutatja a  $F^-$  koncentráció függvényében. A jobboldali ábra a PSEQUAD programmal számított,  $EH:F^-$  rendszerben jelenlevő egymástól független részecskék elnyelési színeképeit mutatja különböző oldószerekben. A belső ábra a részecskék móltörtje a  $F^-$  koncentrációjának a függvényében

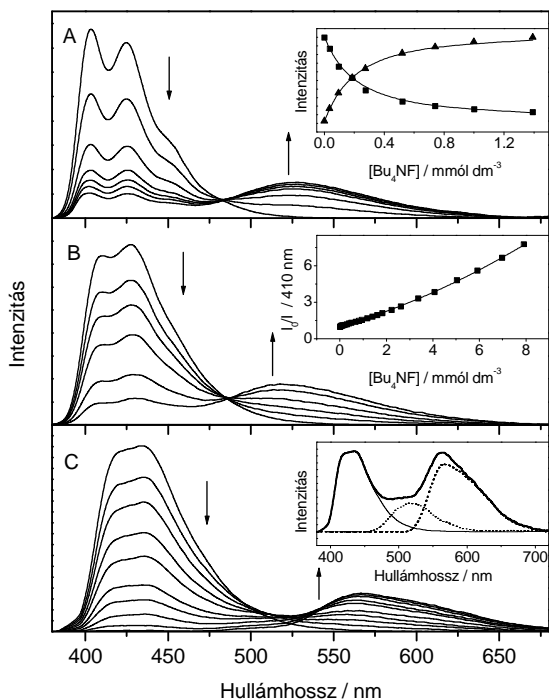
A belső ábrákon a 410 nm-en mért abszorbanciaváltozás látható az adalék koncentrációjának a függvényében. A folytonos vonalak a legjobb illesztéseknek felelnek meg. A változás 1:1 komplexálódással leírható, ezt nemcsak a PSEQUAD programmal végzett számítás, hanem a mátrix rang analízis is alátámasztja. A polárisabb diklór-metánban a komplexálódás egyensúlyi állandója sokkal kisebb,

mint toluolban (5. táblázat). Jelentős változást tapasztaltunk az előzőekhez képest acetonitril oldószerben. Kis fluoridion koncentrációnál az előzőekhez hasonló viselkedést figyeltünk meg, azonban tovább növelve a fluoridion koncentrációt 450-550 nm közötti hullámhossztartományban egy új sáv jelent meg, amelyet a deprotonálódott ellipticinhez rendelhetünk, hiszen erős bázis,  $4,3 \times 10^{-4}$  mol/dm<sup>3</sup> nátrium-metoxid acetonitrilben hasonló változást eredményezett. A kezdetben képződő H-híd komplex egy újabb fluoridionnal lép kölcsönhatásba kialakítva az oldatban egy E<sup>-</sup> és HF<sub>2</sub><sup>-</sup> ionpárt. Ezt alátámasztja az a tény, hogy míg toluolban és diklór-metánban a spektrofotometriás titrálás jó izobesztikus pontot eredményezett, acetonitrilben ilyen nem figyelhető meg, és a 35.C ábra belső részén szemléltetett 480 nm-en mért abszorbanciaváltozás is kétlépcsős egyensúlyra utal. A PSEQUAD programmal számított egyensúlyi állandókra  $\log K_1 = 2,4 \pm 0,04$  és  $\log K_2 = 3,47 \pm 0,04$  értéket kaptunk toluolban. Az első egyensúlyi állandó tovább csökkent az oldószer polaritásának növekedésével, mint ahogy várható volt. Az egy nagyságrenddel nagyobb második egyensúlyi állandó arra utal, hogy a második fluoridion kötődése sokkal könnyebben megvalósul, mint az első. A PSEQUAD programmal információt nyertünk nemcsak a komplexképződés egyensúlyi állandóiról, hanem a rendszerben jelenlevő egymástól független részecskék elnyelési színekéről is (35. ábra). Az ellipticin és a fluoridion között kialakuló 1:1 komplex moláris abszorpciós színeképei az oldószer polaritásbeli különbségéből adódóan kismértékben eltérnek. Második fluoridionnal való kötődés következtében egy új sáv jelenik meg acetonitrilben a 450-550 nm tartományban, amit az irodalomban is a deprotonálódott ellipticinhez rendelnek. Ezért arra következtettünk, hogy a második fluoridion az ötös gyűrűben levő NH-csoportot deprotonálja. Így egy ellipticin anion és HF<sub>2</sub><sup>-</sup> keletkezik. A HF<sub>2</sub><sup>-</sup> nagy kötési energiája (38,6 kcal mol<sup>-1</sup> gáz fázisban [121]) és a képződő ionok solvatációs energiája elősegíti ezt a reakciót acetonitrilben.

A 35. ábra belső része a különböző abszorpciós sajátságokkal rendelkező, rendszerben jelenlevő egymástól független fényelnyelő részecskék móltörtjét

mutatja az adalék koncentráció függvényében. Látható, hogy az 1:1 összetételű részecske móltörtje soha nem haladja meg a 0,13-at.

Gerjesztett állapotban is akárcsak alapállapotban, mátrix rang analízissel toluol és diklór-metán oldószerekben két, míg acetonitrilben három fluoreszkáló részecskét találtunk. A 36. ábra belő részén az  $1,75 \text{ mmól/dm}^3 \text{ F}^-$  jelenlétében felvett fluoreszcencia-színképet felbontva megkaptuk a rendszerben jelenlevő részecskék emissziós színképét.



36. ábra Az ellipticin emissziós színképének a változása  $\text{F}^-$  hatására (A) toluol, (B)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , (C)  $\text{CH}_3\text{CN}$  oldószerekben. Belső ábra (A) a 404 (■) illetve 530 (▲) nm-en mért intenzitásváltozást mutatja az adalék koncentrációjának a függvényében, (B) a 410 nm-en  $\text{F}^-$  nélkül mért és különböző  $\text{F}^-$  koncentrációk jelenlétében kapott intenzitás aránya látható az  $\text{F}^-$  koncentrációjának a függvényében, (C)  $1,75 \text{ mmól/dm}^3 \text{ F}^-$  ion jelenlétében felvett színkép és felbontása látható

A nagyobb hullámhosszú fluoreszcencia sáv a deprotonálódott ellipticinhez rendelhető, mivel 500 nm-es gerjesztés mellett (ahol csak az 1:2 összetételű részecske nyeli el a fényt) is ugyanezt kapjuk. 1,75 mmól/dm<sup>3</sup> fluoridion jelenlétében felvett fluoreszcencia-színképéből kivonva az E<sup>-</sup> és E fluoreszcenciáját, megkapjuk a hidrogénhíd-komplex spektrumát, mely hasonlít a toluolban és diklór-metánban mért 1:1 összetételű részecske színképére. E<sup>-</sup> csak acetonnitrilben alakul ki, ahol a keletkező ionok szolvatálódása elősegíti a folyamatot.

Annak ellenére, hogy a fluoreszcenciaspektrum hasonlóan változik fluoridion hatására toluolban és diklór-metánban, az időfelbontott fluoreszcencia mérésekből származó eredmények eltérőek. Toluolban 415 nm-en detektálva, ahol a komplex emissziója nem jut szerephez, egy fluoridion koncentrációtól független  $9,1 \pm 0,3$  ns-os élettartamot, míg az 1:1 komplex emissziós sávjában 550 nm-en detektálva  $12,6 \pm 0,3$  ns-os szintén koncentrációtól független élettartamot találtunk, ami egyértelműen bizonyítja, hogy csak sztatikus kioltás megy végbe. A 36.A ábra belső része a 404 és 530 nm hullámhosszon mért fluoreszcenciaintenzitás változását mutatja a fluoridion koncentrációjának a függvényében. A folytonos vonalak a PSEQUAD programmal származtatott legjobb illesztéseknek felelnek meg, melyekből, a spektrofotometriás titrálásból származó log K értékekhez hasonló egyensúlyi állandót számítottunk.

Diklór-metánban a fluoreszcencia élettartam változik a fluoridion koncentrációjával, ami arra utal, hogy ebben az esetben dinamikus kioltás is végbemehet. A fluoreszcencia élettartam reciprok értékét az adalék koncentrációjának függvényében ábrázolva egyenest kapunk, aminek a meredekségéből a  $k_q = 5,7 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mól}^{-1} \text{ s}^{-1}$  adódik a gerjesztett állapot kioltás sebességi együtthatójára. A hidrogénhíd-komplex nem lép kölcsönhatásba még egy fluoridionnal, mivel az élettartama állandó  $23,7 \pm 0,5$  ns-os értéket mutat a fluoridion koncentrációtól függetlenül. Mivel együttesen jelen van dinamikus és sztatikus kioltás is az ellipticin emisszió intenzitás Stern-Volmer ábrázolása egy felfelé hajló görbét eredményez, ami kellő pontossággal leírható a 28. összefüggéssel (36.B ábra belső része, legjobb illesztést folytonos vonal jelzi). Az

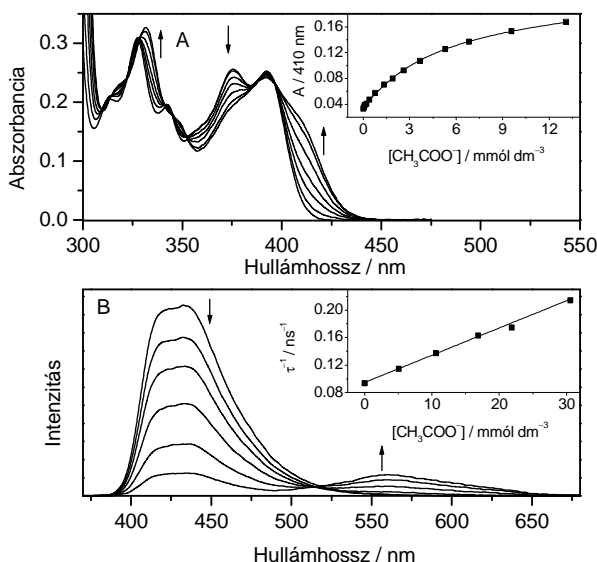
élettartammérésekből származtatott  $k_q$  sebességi együtthatót felhasználva, valamint E élettartamát (14,4 ns) rögzítve az alapállapotú egyensúlyi állandóra a spektrofotometriás mérésekkel összhangban levő  $\log K = 2,67$  értéket kaptunk.

Acetonitrilben az E fluoreszcencia élettartama szintén csökken fluoridiontól, és a gerjesztett állapot kioltás sebességi együtthatójára  $6,3 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mól}^{-1} \text{ s}^{-1}$  számítható. Az  $E^-$  szelektív gerjesztésekor (500 nm) 10,7 ns-os fluoreszcencia élettartamot kaptunk, míg 340 nm gerjesztve is pillanatszerűen keletkezik az  $E^-$  fluoreszcencia, ami arra utal, hogy az  $E^-$  túlnyomó többségében alapállapotban képződik.

#### 4. 3. 6. Acetátion hatása az elnyelési és emissziós színekre

Acetátion hatására az ellipticin spektrumában bekövetkező változás acetonitrilben 1:1 komplexálódással leírható, és hasonló egyensúlyi állandót kaptunk akár csak fluorid esetében (5. táblázat). Mint ahogy a 37. ábrából is jól látható, 440-550 nm tartományban nem jelenik meg a deprotonálódott ellipticinhez rendelhető sáv, ami az acetátion kis bázicitásával magyarázható.

A fluoreszcencia-színképben a fluoridionhoz hasonló változást eredményez az acetátion is azzal a különbséggel, hogy a hidrogénhid-komplex emisszió intenzitása jelentősen kisebb. Az acetátion kicsit erősebb bázis, mint a fluoridion, mivel a konjugált savuk  $pK_a$  értéke vízben 4,75 illetve 3,2 [122]. Mivel gerjesztett állapotban az ellipticin NH csoportjának a savassága megnő, így könnyebben valósul meg a proton átadás az acetátionnak. Az  $E^-$  csak kis mennyiségében képződhet dinamikus folyamat útján, mivel abban a koncentrációtartományban, ahol ez a folyamat létrejöhetne szinte minden ellipticin molekula már alapállapotban H-híddal kötődik acetátionhoz.



37. ábra Az ellipticin ( $6,5 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$ ) elnyelési (A) és emissziós (B) színekében  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  által okozott változás acetonnitrilben. A belső ábra: a 410 nm-en mért abszorbanciaváltozás az adalék koncentrációjának a függvényében, (B) a fluoreszcencia élettartam Stern-Volmer ábrázolása

Az ellipticin fluoreszcencia élettartam reciprokának acetátion koncentrációfüggéséből a fluoreszcencia kioltás sebességi együtthatójára  $3,9 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  értéket kaptunk.

#### 4. 3. 7. Szerves nitrogéntartalmú vegyületek hatása

Az ellipticin esetében a szerves N-tartalmú bázisok nem hidroxidcsoporton keresztül (mint a HONV esetében), hanem az NH-csoporton keresztül kötődnek.

Bár a DBU az egyik legerősebb szerves bázis, mégis eltérő változást okoz az ellipticin színekében, mint a fluoridion. Poláris oldószerben is csak 1:1 összetételű részecskét képez (38. ábra), melynek a stabilitási állandója egy nagyságrenddel kisebbnek adódott, mint az E és  $\text{F}^-$  között kialakuló H-híd-komplexre számított érték. Nagy bázicitásának ellenére sem tudta deprotonálni az ellipticint alapállapotban, így arra következtethetünk, hogy az ellipticin  $\text{pK}_a$  értéke

nagyobb, mint a DBU konjugált savára acetonitrilben meghatározott  $pK_a=24,34$  érték [123]. Következésképpen a  $HF_2^-$  gyengébb sav a protonált DBU-nál és a  $pK_a$  értéke nagyobb acetonitrilben mint 24,34.

Acetonitrilben DBU hatására fluoreszcencia kioltást látunk, és nagyobb hullámhossz tartományban megjelenik a deprotonálódott ellipticin emissziója (38. ábra). Az anion jelenlétében tapasztalt viselkedéssel ellentétben nem találtunk hidrogénhíd-komplex emissziót, mivel a H-hídon keresztül a fotoindukált proton átadás sokkal gyorsabban végbemegy, mint az energiavesztésre vezető folyamatok. A fluoreszcencia élettartam reciprokának a DBU koncentrációjának a függvényében való ábrázolásából a gerjesztett állapot kioltás sebességi együtthatójára  $2 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mól}^{-1} \text{ s}^{-1}$  értéket számítottunk. Az  $E^-$  élettartamára hasonló értéket kaptunk, mint a fluorid- illetve acetátion jelenlétében ( $11,8 \pm 0,4 \text{ ns}$ ).

Toluolban DBU hatására az ellipticin emissziós színekének alakja nem változik, de mind sztatikus, mind dinamikus kioltás történik, ami jól látható a fluoreszcenciaintenzitás Stern-Volmer ábrázolásából. Az apoláris oldószer nem stabilizálja az ionpárt, így a gyors protonmozgás hatékony energiavesztést eredményez.

Kisebb bázicitású N-metil-imidazol ( $pK_a = 7,12$  vízben [126]) elhanyagolható kioltást eredményez toluolban, mivel a gerjesztett ellipticin savassága nem elég nagy, ahhoz hogy a komplexen belül jelentős protonelmozdulás bekövetkezzen. Másrészt acetonitrilben alapállapotban nincs az NMeIm és az ellipticin között kölcsönhatás, azonban gerjesztett állapotban fluoreszcencia kioltás megy végbe, és a spektrum alakja is megváltozik. A kis intenzitású  $E^-$  emisszió mutatja, hogy gerjesztett állapotban megvalósul a protontranszfer. A 415 nm mért fluoreszcencia lecsengést két exponenciális tagot tartalmazó függvénnyel lehetett jól leírni, ami arra utal, hogy gerjesztett állapotban a hidrogénhíd-komplex keletkezése reverzibilis folyamat.



38. ábra Az ellipticin emissziós színeképében DBU (A) illetve NMeIm (B) által okozott változás acetónitrilben. A belső ábra: (A) a fluoreszcencia élettartam reciprokának változása a DBU koncentrációjának a függvényében, (B) a fluoreszcencia lecsengési paramétereinek NMeIm koncentráció függése

A fluoreszcencia lecsengés paraméterek koncentrációfüggését a következő összefüggés adja meg.

$$\tau_{1,2} = \frac{2}{X + \tau_C^{-1} \pm \sqrt{(X - \tau_C^{-1})^2 + 4k_q k_{-q} [\text{NMeIm}]}} \quad (44)$$

ahol  $X = 1/\tau_0 + k_q[\text{NMeIm}]$ ,  $\tau_0$  és  $\tau_C$  az ellipticin és a gerjesztett H-híd-komplex élettartamát jelöli,  $k_q$  és  $k_{-q}$  pedig a komplex képződésének és disszociációjának a sebességi együtthatója. A  $\tau_1$  és  $\tau_2$  együttes kiértékelése során a komplex élettartamára 5,1 ns értéket kaptunk, a  $k_q$  és  $k_{-q}$  értékeket a 5. táblázat tartalmazza.

A H-híd-komplex képződése, deaktiválódási mechanizmusa és fluoreszcenciás sajátosságai nagymértékben függenek a H-híd akzeptortól, valamint az oldószer polaritástól.

A fluorid- valamint acetátion kis bázicitásának ellenére, a hidrogénhíd-komplex fluoreszcencia nagy Stokes eltolódása azt jelzi, hogy gerjesztés hatására jelentősen megváltozik a komplex szerkezete.

5. táblázat Az ellipticin:H-híd-akceptor rendszerben az alapállapotú komplexképződés egyensúlyi állandójának logaritmus, valamint fluoreszcencia kioltás sebességi együtthatója

Adalék	Oldószer	log K	$k_q / 10^9$ $\text{dm}^3 \text{mól}^{-1} \text{s}^{-1}$
$\text{F}^-$	Toluol	3,8	c
	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	2,62	5,5
	$\text{CH}_3\text{CN}$	2,4 <sup>a</sup> 3,47 <sup>b</sup>	6,3
$\text{CH}_3\text{COO}^-$	$\text{CH}_3\text{CN}$	2,24	4,0
DBU	toluol	2,14	4,4
	$\text{CH}_3\text{CN}$	0,83	2,0
NMeIm	toluol	1,32	c
	$\text{CH}_3\text{CN}$	c	1,7 <sup>d</sup> 0,39 <sup>e</sup>

<sup>a</sup> 1:1 komplex, <sup>b</sup> 2:1 komplex, <sup>c</sup> elhanyagolható, <sup>d, e</sup> a reverzibilis folyamat képződési és disszociálódási sebességi együtthatója

#### 4. 4. Anionok kölcsönhatása lumikrómmal

Az alloxazin és izoalloxazin származékok számos biológiai és fotokémiai folyamatban vesznek részt. A riboflavin fotobomlásának és biodegradációjának a fő terméke a lumikróm, amelynek fotofizikai sajátosságait széles körben tanulmányozták, mivel az alloxazin váza fotoindukált tautomerizációval izoalloxazin szerkezetűvé alakulhat.

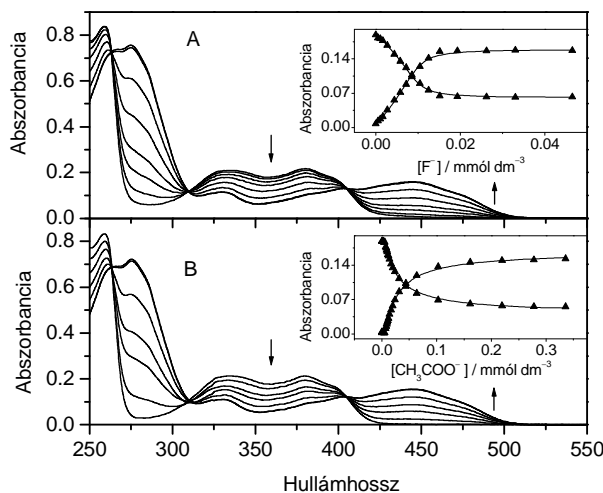
Az előző fejezetben kimutattuk, hogy a fluorid- illetve az acetátion is viselkedhet H-híd-akceptorként. E munkánk kiterjesztéseképpen megvizsgáltuk a lumikróm kötődését különféle anionokhoz acetonitrilben és acetonitril:víz elegyekben.

##### 4. 4. 1. Anionok hatása az elnyelési színeképre

A lumikróm elnyelési spektruma igen érzékenynek bizonyult fluorid- (39.A ábra) illetve acetátionra (39.B ábra), míg  $0,1 \text{ mol/dm}^3$   $\Gamma^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ , és  $\text{ClO}_4^-$  - től nem tapasztaltunk változást. Már nyomnyi mennyiségű  $\text{F}^-$  hatására is 443 nm-en egy új sáv jelenik meg, míg a 259 nm-es maximumú sáv 275 nm-re tolódik el. Körülbelül  $0,02 \text{ mmol/dm}^3$   $\text{F}^-$  jelenlétében a komplex teljesen kialakul. Ezt igazolja, hogy tovább növelve az adalék koncentrációját az elnyelési spektrum változatlan marad. Az ilyen körülmények között felvett spektrum hasonlít az analóg szerkezetű, de izoalloxazin vázú lumiflavinéhoz [99], ami azt sugallja, hogy a  $\text{F}^-$  hatására a lumikróm tautomerizálódik.

A rendszerben levő, egymástól független részecskék számát mátrix rang analízissel határoztuk meg. Két fényelnyelő részecskét feltételezve a maradék abszorbanciának elnyelési sáv alakja volt, három részecskét feltételezve viszont a maradék elnyelésre nulla körüli szórást találtunk. A spektrofotométeres adatoknak a PSEQUAD [110] programmal történő kiértékelése során is azt tapasztaltuk, hogy a rendszer nem írható le kellő pontossággal csak 1:1 komplexet feltételezve. Ha azonban a modellbe belevesszük az 1:2 komplexet is, akkor a számított és mért

adatok jól egyeztek. Így biztosan állíthatjuk, hogy a lumikróm acetonitrilben nemcsak 1:1 hanem 1:2 Lc:F<sup>-</sup> komplexet is képez fluoridionnal. A Lc-nak N(1) és N(3) helyzetben egyaránt van hidrogénhíd-donor kötőhelye.



39. ábra A F<sup>-</sup> (A) illetve CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup> (B) hatása a lumikróm ( $5 \times 10^{-6}$  mól/dm<sup>3</sup>) elnyelési színeképére acetonitrilben. A belső ábra: a 350 nm-en (■), illetve 450 nm-en (▲) mért abszorbanciaváltozás az anion koncentrációjának a függvényében

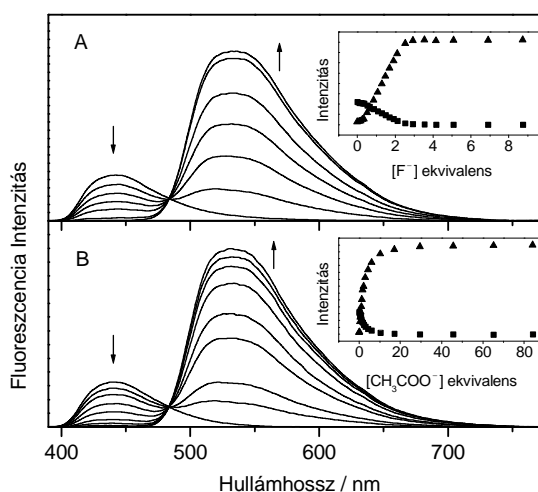
Koziolowa [98] kimutatta, hogy mind a két NH csoportnak hasonló a pK<sub>a</sub>-ja. Ezért a bázikus fluoridion az 1:1 komplex kialakításakor egyforma eséllyel kötődhet mind az N(1)H, mind az N(3)H helyzetben.

A 39. ábra belő része a 350 illetve 450 nm-en mért abszorbancia értékeket mutatja az adalék koncentrációjának a függvényében, a folytonos vonal a legjobb illesztésnek felel meg. Az LcF és LcF<sub>2</sub> komplex egyensúlyi állandójára log K<sub>1</sub> > 6,5 és log K<sub>2</sub> = 6,2 értéket kaptunk. Az acetátió az elnyelési spektrumban, a fluoridionhoz hasonló változást eredményez (39.B ábra). A spektrofotometriás adatok globális illesztéséből számított egyensúlyi állandókra 6,41 illetve 4,67 értéket kaptunk az Lc:Ac<sup>-</sup> illetve Lc:2Ac<sup>-</sup> összetételű komplexekre. Az 1:1 komplex elnyelési spektruma kis mértékben tér el a Lc elnyelési spektrumától, ami azt bizonyítja, hogy egyetlen ion kötődése nem okoz a molekulában jelentős

elektroneloszlás változást. Azonban a Lc és két anion közötti kölcsönhatás növeli az aromás gyűrűn az elektronsűrűséget, ami elősegíti a tautomerizációt.

#### 4. 4. 2. Anionok hatása a fluoreszcenciára

Fluorid- illetve acetátion hatására a Lc fluoreszcenciaintenzitásának csökkenésével párhuzamosan a 470-740 nm tartományban egy új sáv nő fel (40. ábra).



40. ábra A Lc fluoreszcencia-színképének a változása növekvő  $F^-$  (A) illetve  $CH_3COO^-$  (B) koncentráció hatására acetonitrilben ( $\lambda_{gerj} = 309$  nm). A belső ábra a 440 nm-en (■) és 530 nm-en (▲) detektált intenzitásváltozás

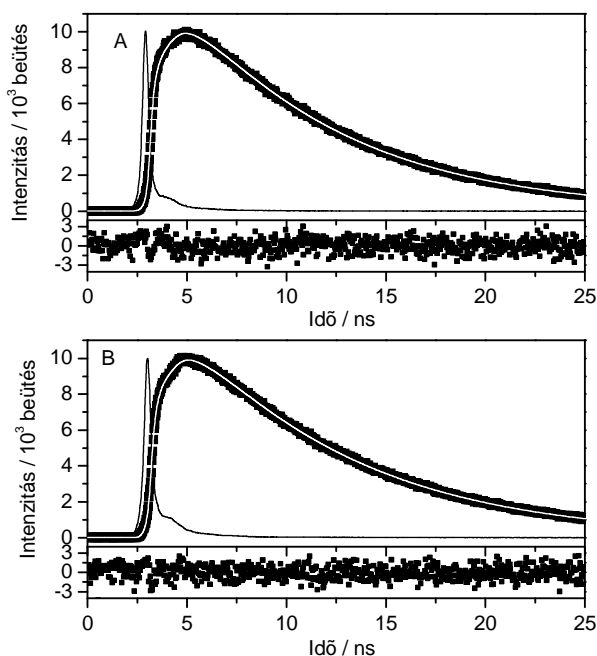
A mintát 309 nm-en világítottuk meg, így a Lc, az 1:1 és az 1:2 komplex egyaránt gerjesztődik. Az MRA-programmal a Lc-on kívül csak egy fluoreszkáló részecskét találtunk. Az 1:1 komplex fluoreszcenciájának a hiánya azt jelzi, hogy a molekula fény hatására nagyon gyors folyamatban tautomerizálódik. Az időben felbontott fluoreszcencia mérések arra utalnak, hogy a komplex 80 ps-nál rövidebb idő alatt izoalloxazin szerkezetűvé rendeződik át, ami kevesebb, mint a műszerünk időfelbontása.

A 40. ábra belső részén a 440 illetve 530 nm-en mért fluoreszcenciaintenzitás látható az anion koncentrációjának a függvényében. A kötődés erősségének a különbségét tükrözi az a tény, hogy 2,7 ekvivalens fluoridion illetve 29 ekvivalens acetátion jelenlétében érjük el a fluoreszcenciaintenzitás telítési értékét, vagyis ennél nagyobb adalék mennyiségtől a színkép már nem változik. A Lc 450 nm-en mért fluoreszcencia élettartama  $0,73 \pm 0,03$  ns és független az anion koncentrációjától. Ez nyilvánvalóan arra utal, hogy az anion okozta fluoreszcencia kioltás nem dinamikus folyamat.

A fluoreszcencia lecsengést 600 nm-en követve, aniontól függetlenül sokkal hosszabb,  $7,8 \pm 0,2$  ns-os élettartamot láttunk, ami jó egyezést mutat az irodalomban Sikorska és munkatársai által közölt, a lumiflavin acetonitriles oldatában mért 7,7 ns-os értékkel [99].

A nagy fluorid- illetve acetátion koncentrációjú oldatokban 0,14 fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezőt kaptunk, ami szintén közel azonos a lumiflavinra közölt 0,16 értékkel. A lumikróm fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezője acetonitrilben lényegesen kisebb, 0,028, ami megerősíti, hogy anionok jelenlétében jelentős molekulaszervezet változás történik. Érdeemes megjegyezni, hogy az időben felbontott fluoreszcencia mérések során fluoreszcencia felépülést láttunk, olyan anion koncentrációknál is, ahol alapállapotban csak az 1:2 összetételű komplex van jelen. Ez a jelenség csak fényelnyelést követő szerkezeti átrendeződéssel magyarázható.

Az 41. ábra egy jellegzetes képet mutat a fluoreszcenciaintenzitás időbeli változásáról. A lecsengések két exponenciális tagot tartalmazó függvénnyel írhatóak le.



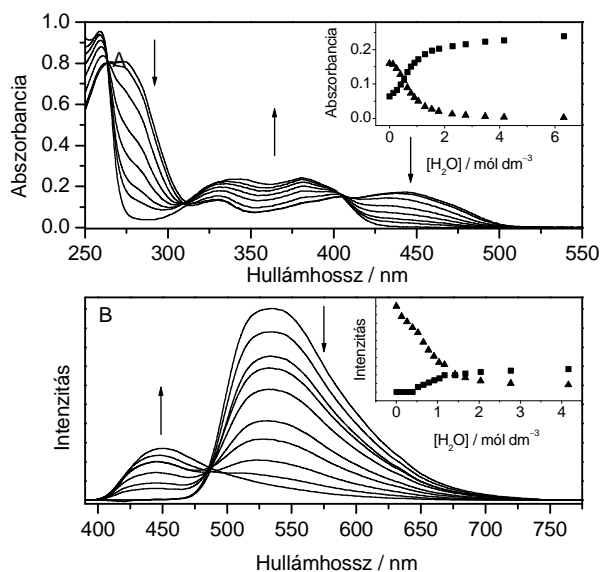
41. ábra A lumikróm fluoreszcenciaintenzitásának időfüggése fluorid- (A), illetve acetátion jelenlétében (B). Alul láthatók a számított és mért adatok eltéréséből származó, (32) összefüggés szerint kapott maradékértékek. Az oldószer acetonitril.

A számításokból a fluoreszcencia leengési paramétereire  $\tau_1 = 0,74$  ns és  $\tau_2 = 7,6$  ns, a preexponenciális tényezők arányára  $A_1/A_2 = -0,27$  értéket kaptunk 1 mmól/dm<sup>3</sup> F<sup>-</sup> jelenlétében, míg 2,38 mmól/dm<sup>3</sup> CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup> ion tartalmú oldatban ugyanezekre a mennyiségekre  $\tau_1 = 0,70$  ns,  $\tau_2 = 8$  ns és  $A_1/A_2 = -0,22$  értékeket számítottunk.

#### 4. 4. 3. A víz hatása a F<sup>-</sup> kötődésére

Köztudott, hogy a víz a fluoridiont erősen solvatálja ezáltal módosítja a reaktivitását [125].

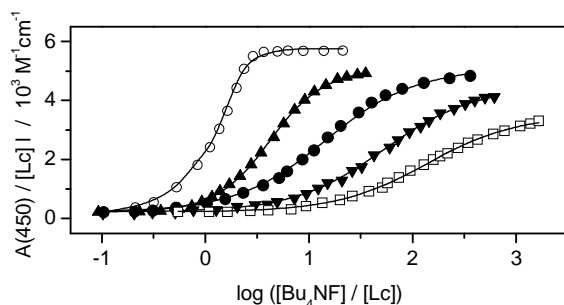
Acetonitrilben oldott  $2,57 \times 10^{-5}$  mol/dm<sup>3</sup> Lc elnyelési és fluoreszcenciaspektrumában víz hatására bekövetkező változást mutatja a 42. ábra  $1,53 \times 10^{-4}$  mol/dm<sup>3</sup> F<sup>-</sup> jelenlétében.



42. ábra H<sub>2</sub>O hatása a  $2,57 \times 10^{-5}$  mol/dm<sup>3</sup> Lc elnyelési (A) és kisugárzási (B) színekére,  $1,53 \times 10^{-4}$  mol/dm<sup>3</sup> F<sup>-</sup> jelenlétében acetonitrilben. Belső ábrák: (A) abszorbanancia változása 350 (■) és 450 nm-en (▲), (B) fluoreszcenciaintenzitás 450 (■) és 530 nm-en (▲)

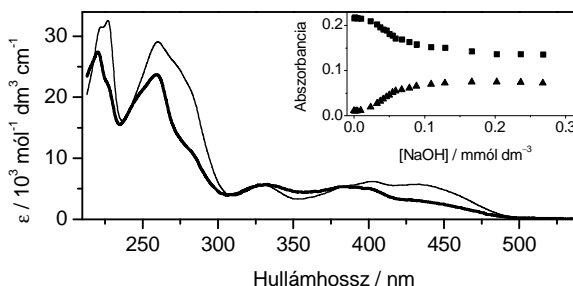
A fluoridion növekvő hidratálódása csökkenti a komplexálódási hajlamot, aminek következtében 2 mol/dm<sup>3</sup>-nál nagyobb víz koncentrációknál a tautomerizáció visszaszorul, míg 6 mol/dm<sup>3</sup> víz teljesen kizárja a Lc és F<sup>-</sup> közötti kölcsönhatást. Itt meg kell jegyezni, hogy nagyobb mennyiségű fluoridion jelenlétében ennél a vízmennyiségnél is megfigyelhető változás a színekben.

Az izoalloxazin forma kialakulása követhető nyomon, ha ábrázoljuk a 450 nm-en mért abszorbananciának a változását a Bu<sub>4</sub>NF ekvivalensnek a függvényében (43. ábra). Egyértelműen látszik, hogy a víz mennyiségének növekedésével egyre



43. ábra 450 nm-en mért moláris abszorbanca a  $F^-/Lc$  molarány logaritmusának függvényében acetonitrilben  $0 \text{ mol/dm}^3$  ( $\circ$ ),  $0,5 \text{ mol/dm}^3$  ( $\blacktriangle$ ),  $1 \text{ mol/dm}^3$  ( $\blacktriangledown$ ),  $2 \text{ mol/dm}^3$  ( $\bullet$ ) és  $3 \text{ mol/dm}^3$  ( $\square$ )  $H_2O$  jelenlétében

több fluoridionra van szükséges a tautomerizációhoz. Az adatok kiértékelésekor nyilvánvalóvá vált, hogy  $0 - 0,5 \text{ mol/dm}^3$  víz koncentráció tartományban kétlépcsős egyensúly van, míg  $1 - 6 \text{ mol/dm}^3$  víz jelenlétében csak 1:1 komplexállódást tapasztaltunk (6. táblázat). Az utóbbi esetben valószínűleg a hidrátburok stabilizálja a tautomér szerkezetet, így már egy  $F^-$ -ion is elősegíti az átalakulást.



44. ábra A Lc elnyelési színképe  $1,88 \text{ mmol/dm}^3 F^-$ -ion (vastag) illetve  $0,27 \text{ mmol/dm}^3 NaOH$  hatására (vékony). A belső ábra  $350$  ( $\blacksquare$ ) illetve  $450$  ( $\blacktriangle$ ) nm –en mért abszorbancaiváltozást mutatja a  $NaOH$  koncentrációjának a függvényében

A Lc  $1 \text{ mol/dm}^3$  vizet tartalmazó acetonitriles oldatát  $NaOH$ -dal titrálva azt tapasztaltuk, hogy  $450 \text{ nm}$ -en mért abszorbanca  $0,2 \text{ mmol/dm}^3$  bázis koncentrációnál határértéket ér el, ilyen körülmények között a Lc teljesen

deprotonálódott. A Lc elnyelési spektruma látható 1,88 mmól/dm<sup>3</sup> fluoridion illetve 0,27mM NaOH jelenlétében a 44. ábrán. Mivel a két spektrum eltérő jellegű, levonható az a következtetés, hogy a fluoridion nem csak bázisként viselkedik.

Az 6. táblázat a legjobb illesztésekből kapott egyensúlyi állandók logaritmusát szemlélteti. Jól látható, hogy a rendszerben jelenlevő víz mennyisége csökkenti az egyensúlyi állandók értékét, 1 – 3 mól/dm<sup>3</sup> koncentráció tartományban pedig elegendő egy fluoridion a tautomerizáció elősegítéséhez.

6. táblázat A Lc és anion közötti komplexálódás egyensúlyi állandóinak logaritmusai

Anion	Oldószer	log K <sub>1</sub>	log K <sub>2</sub>
F <sup>-</sup>	CH <sub>3</sub> CN	> 6,5	6,2
F <sup>-</sup>	CH <sub>3</sub> CN + 0,5 M H <sub>2</sub> O	4,99	5,06
F <sup>-</sup>	CH <sub>3</sub> CN + 1 M H <sub>2</sub> O	4,14	<sup>a</sup>
F <sup>-</sup>	CH <sub>3</sub> CN + 2 M H <sub>2</sub> O	2,91	<sup>a</sup>
F <sup>-</sup>	CH <sub>3</sub> CN + 3 M H <sub>2</sub> O	2,29	<sup>a</sup>
CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>	CH <sub>3</sub> CN	6,41	4,67

<sup>a</sup>. csak 1:1 komplex képződik

Nagy víz koncentrációnál a szolvát burok meggátolja a Lc és F<sup>-</sup> közötti kölcsönhatást, következésképpen a tautomerizációt.

## 5. Összefoglalás

Munkám során négy heterociklusos vegyület, a 2-hidroxid szubsztituált nílusvörös festék, az ellipticin, 6-metil-ellipticin és a lumikróm fotofizikai sajátságainak vizsgálatára összpontosítottam, mivel ezek erős, mikrokörnyezettől jelentősen függő fluoreszcenciát mutattak. Feltártam e vegyületek szingulett gerjesztett állapotának energiavesztési folyamatait befolyásoló tényezőket, hidrogénkötésre képes anyagok vagy ionfolyadékok hatását a fotofizikai sajátságokra.

Vezetőképeség mérésekkel, valamint a 2-hidroxid-nílusvörös festék oldhatóságának elnyelési és fluoreszcenciaspektroszkópiás vizsgálatával kimutattam, hogy az 1-butil-3-metil-imidazolium-oktil-szulfát ( $[C_4mim][C_8SO_4]$ ) micellát képez  $0,031 \text{ mol dm}^{-3}$ -nél nagyobb koncentrációjú oldatokban. Ha az ionfolyadék kationja tartalmazza az n-oktil csoportot (1-oktil-3-metil-imidazolium-klorid), akkor a vegyület vízdoldékonysága jelentősen lecsökken, már  $5 \text{ mmol dm}^{-3}$  koncentrációnál az oldat zavarossá válik, ami arra utal, hogy nem micella, hanem nagyobb aggregátumok képződnek. Nátrium-dodecil-szulfát (SDS) hatására az oldat zavarossága nő, 1:1 aránynál maximumot ér el. Tovább növelve az SDS koncentrációt az oldat vegyes micella képződése miatt kitisztul.

A 2-hidroxid-nílusvörös (HONV) kiváló jelzőanyagnak bizonyult micellák felületi rétegében végbemenő változások kimutatására is. Segítségével megállapítható nemcsak a kritikus micellakoncentráció, hanem a Stern réteg lokális polaritása is.

A festék fenolos hidroxidcsoportja alkalmas kötőhelyként szolgál hidrogénhíd-akceptor tulajdonságú molekulák számára. Feltártam, hogy nitrogéntartalmú szerves vegyületekkel létrejövő kölcsönhatás milyen körülmények között okoz nagymértékű fluoreszcencia kioltást. Spektrofotometriás módszerrel alapállapotú komplexálódást mutattam ki, a fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezőjének és élettartamának mérésével megállapítottam a gerjesztett állapot energiavesztésének mechanizmusát. Tanulmányoztam az egyes reakciók

sebességének függését az oldószer polaritásától, illetve az adalék bázicitásától. Jelentős HONV fluoreszcencia kvantumhatásfok csökkenést tapasztaltam szerves N-tartalmú vegyületek bázicitásának növekedésével, és igazoltam, hogy HONV segítségével a mikrokörnyezetében uralkodó báziserősség feltérképezhető. Kimutattam, hogy e festék savassága nem nő meg gerjesztett állapotban. Megállapítottam, hogy a hidrogénhid-komplex élettartama jelentősen függ az oldószer polaritásától és az adalék bázicitásától. Poláris oldószerben és/vagy erős bázis jelenlétében, ahol az időfelbontott fluoreszcencia preexponenciális együtthatóinak arányára  $A_2/\Sigma A_i = 1$  értéket mértünk nagy adalék koncentrációknál, a gerjesztett hidrogénhid-komplex keletkezése irreverzibilis folyamat. Gyenge bázis (TMPy) jelenlétében, toluolban az  $A_2/\Sigma A_i$  arány egynél lényegesen kisebbnek adódott, mert a gerjesztett TMPy-HONR disszociációja is bekövetkezett.

Vizsgálataimat kiterjesztettem az ellipticin nevű piridokarbazol típusú alkaloidra, melyben nem hidroxid, hanem NH csoport szolgál hidrogénhid-donorként. Az ellipticin és származékai biológiailag aktív, antitumor hatású vegyületek, fotofizikai tulajdonságukról azonban nagyon kevés ismeret található a szakirodalomban.

Megállapítottam, hogy az ellipticin gyengébben kötődik nitrogén tartalmú szerves bázisokhoz, mint a 2-hidroxid-nílusvörös festék. Fluorid- illetve acetation jelenlétében jelentős elnyelési és emissziós színképváltozást tapasztaltam. A hidrogénhid-komplex keletkezésének egyensúlyi állandója, valamint a gerjesztett ellipticin és anionok közötti kölcsönhatás mechanizmusa nagymértékű oldószerfüggést mutatott. Acetonitrilben már alapállapotban bekövetkezett az ellipticin deprotonálódása két fluoridion kötődésekor, mivel az oldószer polaritása elég nagy ahhoz, hogy stabilizálja a keletkező ionokat. Kimutattam, hogy két fluoridion deprotonálóképessége nagyobb, mint az egyik legerősebb szerves bázisé, a DBU-é.

Bizonyítottam, hogy metanolban a nagyobb hullámhosszhoz tartozó emissziós sáv nem az oldószer által elősegített *intramolekuláris* proton átadásból ered, amit az ellipticinnel rokon (csak egy metil csoport helyzetében különböző)

olivacin vegyületre javasol az irodalom, hanem a gerjesztett ellipticin *intermolekuláris* protonálódása okozza.

A riboflavin fotobomlásának és biodegradációjának fő termékéről, a lumikrómról kimutattam, hogy acetonitrilben nyomnyi mennyiségű fluorid- vagy acetátanion jelenlétében már alapállapotban is képes izoalloxazin szerkezetűvé átalakulni. Lumikróm tautomerizációt eddig csak fény hatására, gerjesztett állapotban, tömény ecetsavban illetve tömény piridinben figyeltek meg.

Tanulmányoztam a fluoridion hidratációjának hatását az alapállapotú tautomerizációra. Kimutattam, hogy a víz mennyiségének a növekedésével egyre több  $F^-$ -ionra van szükséges a tautomerizáció előidézéséhez, 0 – 0,5  $\text{mól/dm}^3$  víz koncentráció tartományban kétlépcsős egyensúly van, míg 1 – 6  $\text{mól/dm}^3$  víz jelenlétében csak 1:1 komplexálódást tapasztaltam. A lumikróm és  $F^-$  közötti kölcsönhatás csak 6  $\text{mól dm}^{-3}$  –nél nagyobb víz koncentrációnál vált elhanyagolhatóvá.

Kimutattam, hogy mind a lumikróm, mind az ellipticin kiválóan alkalmas szerves oldószerben fluorid- illetve acetátionok szelektív kimutatására, mivel a fluoreszcencia és az elnyelési spektrumban már kis ion mennyiségtől is jelentős változás tapasztalható.

## 6. Summary

The fluorescence techniques have become more and more popular in biological, biochemical research because of their high sensitivity, selectivity and simplicity. Fluorescent probes are employed to reveal changes in their microenvironment. In order to develop the most suitable dye for different purpose, it is important to reveal how the molecular structure and microenvironment influence the fluorescence properties and the deactivation rate constants of the excited probe.

Hydrogen bonding can modify the rate of deactivation processes. In molecules containing close-lying  $n-\pi^*$  and  $\pi-\pi^*$  excited states, hydrogen bonding exerts particularly large effect on the rate constants of relaxation processes because it alters the energy gap between these states.

In this dissertation, I focus on four heterocyclic compounds: 2-hydroxy-substituted Nile Red dye (HONR), ellipticine (E), 6-methylated ellipticine (ME) and lumichrome (Lc), whose photophysical properties are sensitive to the microenvironment and the presence of hydrogen-bond donors or acceptors. I reveal how the presences of hydrogen-bond acceptors or ionic liquids affect the kinetics of the singlet-excited state deactivation processes.

The air and moisture stable room temperature ionic liquids have currently received considerable attention as novel media for chemical synthesis, homogeneous catalysis and separation techniques. Their unique properties offer a great potential for industrial application as nonvolatile, nonflammable, environmentally benign alternatives to conventional organic solvents. Although there are a lot of studies about ionic liquids, we did not find any article in which the aggregation of ionic liquids had been systematically studied in water.

In order to determine the critical micelle concentration (CMC) one can measure any properties of solutions that changes suddenly at CMC. Electrical conductivity technique is widely used for determination of CMC. I have measured

conductivities in ionic liquid solutions of different concentration. Plotting the conductivity as a function of 1-butyl-3-methylimidazolium octyl sulfate ionic liquid ( $[\text{C}_4\text{mim}][\text{C}_8\text{SO}_4]$ ) concentration, a break can be seen, which originates from the onset of micellization. In order to apply spectrophotometric or fluorometric techniques for CMC determination, it is necessary to use a sensitive probe. HONR has been used in our laboratory to determine the CMC value of TX, SDS, SOS surfactants. This dye proved to be an excellent probe for the study of ionic liquid micelles as well. Because of its low solubility and fluorescence quantum yield in water, the samples were almost colorless and barely fluorescent below 0.02 M  $[\text{C}_4\text{mim}][\text{C}_8\text{SO}_4]$  concentration. The onset of ionic liquid micellization enhanced the solubility of the probe bringing about marked absorbance and fluorescence intensity increase. In agreement with the results of conductivity measurements, HONR also demonstrated that  $[\text{C}_4\text{mim}][\text{C}_8\text{SO}_4]$  forms micelle above 0.031 M concentration in water. In contrast, if the cation of ionic liquid contains n-octyl moiety, as in 1-octyl-3-methylimidazolium chloride ( $[\text{C}_8\text{mim}][\text{Cl}]$ ), the solubility in water becomes lower. The solution became turbid at 5mM concentration indicating that not micellization but formation of larger aggregates takes place.

I examined how sodium dodecil sulfate (SDS) influences the solubilization of  $[\text{C}_8\text{mim}][\text{Cl}]$ , and how the turbidity (measured at 400 nm) can be modified by surfactants. Aggregates were completely dissolved when the SDS:ionic liquid molar ratio was higher than about 2:1. This phenomenon was attributed to mixed micelle formation. It was proved that salt effect couldn't be responsible for the observed changes.  $[\text{C}_8\text{mim}][\text{Cl}]$  began to be incorporated into SDS micelles at fairly low concentration. Ionic liquids can be used to modify the properties of the conventional micelles.

HONR is an excellent probe not only for the determination of CMC but also for the characterization of the local polarity of the Stern layer in micelles because the photophysical properties of this dye are very sensitive to the polarity of the microenvironment.

The HO moiety of HONR is a good binding site for hydrogen-bond acceptor molecules. I revealed that under which condition could cause organic nitrogen compounds fluorescence quenching. With spectrophotometric titration, I determined the equilibrium constants of ground state complexation. Fluorescence yield and decay time measurements provided information on the mechanism of the deactivation processes and clarified how the reaction rates depend on the solvent polarity and the basicity of nitrogen compounds. Remarkable change in fluorescence yield was found with increasing basicity of additives. The more basic the complexed organic nitrogen compound was the lower was the fluorescence quantum yield of its hydrogen-bonded complex with HONR. Therefore HONR can be used to determine the basicity of microenvironment as well. Another remarkable finding of this work was that the acidity of HONR does not increase in the excited state, which is unique for these types of compounds. The electron density redistribution upon excitation generally brings about considerable acidity enhancement and rises the hydrogen bonding ability in aromatic compounds substituted with a phenolic OH group.

I pointed out that the lifetime of hydrogen-bonded HONR also depends on the polarity and basicity of the microenvironment. The fluorescence decay of HONR could be fitted well with a single exponential function, but when the solutions contained additive (organic nitrogen compound) the decay became two (in apolar media) or even three (in polar media) exponential. Based on the amplitude ratios of the fluorescence decay components, I concluded that the formation of hydrogen-bonded complex was an irreversible process in polar solution and/or in the presence of a strong base. In toluene, and in the presence of weak base, such as TMPy, the excited complex was formed in a reversible process. The bimolecular quenching of the excited hydrogen-bonded complex played a significant role in apolar solvents. Photoinduced displacement along the hydrogen-bond led to excited ion pairs in polar media.

I also studied pyridocarbazole type alkaloids, ellipticine and its 6-methylated derivative. In contrast with HONR, where OH moiety served as hydrogen-bond donor, the NH group of ellipticine was bound to organic nitrogen compounds. Thus, I could compare how the binding site influenced the hydrogen bonding power and the photophysical properties of the complex.

Ellipticin and its derivatives exhibit biological activities, for example, several ellipticine derivatives have reached the phase II of clinical trials. Despite the importance of ellipticine in the biomedical field no systematic studies have been performed to unravel the effect of hydrogen-bond acceptors on their photophysical properties. Hence, we studied the fluorescence properties of ellipticine in the presence of hydrogen-bond acceptors such as organic nitrogen compounds, fluoride and acetate anions.

Fluoride and acetate ions have a large effect on both the absorption and fluorescence spectra. Formation and deactivation mechanism as well as fluorescence properties of the excited hydrogen-bonded complexes of ellipticine significantly change for various hydrogen-bond acceptors, and also depend on the solvent polarity. In contrast with the behaviour in toluene and dichloromethane, interaction of ellipticine with two fluoride ions caused deprotonation in acetonitrile even in the ground state because the more polar media promoted the formation of ions. Since 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) cannot deprotonate ellipticine in the ground state, I concluded that interaction with two fluoride ions had much higher deprotonation power than one of the strongest organic base, DBU.

We compared the photophysical parameters of ellipticine to its 6-methylated derivative in various solvents. Since both compounds emitted dual fluorescence in methanol and ethylene glycol, the long-wavelength emission cannot be due to a tautomer form, suggested by de Cobo and coworkers for olivacine (a compound which differs from ellipticine just in the position of a methyl group). The N-substitution of the pyrrole ring removes the sole dissociable hydrogen from the molecule precluding thereby the possibility of photoinduced proton displacement. I attributed the second emission band to the protonation of the pyridine nitrogen

because the intensity of the long-wavelength fluorescence correlates with the acidity of the additives.

The major product of riboflavin photodecomposition and biodegradation is lumichrome. The tautomerization of lumichrome was described in literature only in excited state in concentrated acetic acid and pyridine. I established that the lumichrome was able to tautomerize in the presence of a trace amount of fluoride or acetate ions even in the ground state in acetonitrile. I unraveled how water influenced the reactivity of fluoride ion and lumichrome tautomerization. The more water contained the solution, the more fluoride ion was needed to bring about tautomerization. When the solution contained 0-0.5 M water, the change of the absorption spectra could be fitted properly when both 1:1 and 1:2 complexation of fluoride were assumed. In contrast only 1:1 binding was found in the presence of 1-6 M water. Probably, the more polar local environment and the hydrogen bonding interactions with the water molecules in the solvate shell stabilize the tautomer structure. No binding to Lc was observed in the presence of  $1.53 \times 10^{-4}$  M fluoride anion above 6 M water concentration. Probably hydrogen bonding interaction of fluoride with water molecules hindered complex formation. It is worth noting that higher amount of fluoride can induce spectral change even in the presence of 6 M water.

Even 0.1 M  $\text{I}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$  did not cause any change in the absorption or fluorescence spectra of ellipticine or lumichrome, but a small amount of fluoride or acetate ions brought about a remarkable change in acetonitrile. Consequently, both ellipticin and lumichrome are excellent probes for selective recognition of fluoride and acetate anions in organic solvents.

## 7. Irodalomjegyzék

- [1] C. Reichardt, *Solvents and Solvent Effect in Organic Chemistry*, 2nd ed., VCH Publishers: Weinheim (1988)
- [2] M. Berthelot, *Pban de Saint-Gilles*, *L. Ann. Chem. Phys.* **3**, Ser. **68**, 255 (1863)
- [3] L. Claisen, *Liebigs Ann. Chem.* **291**, 25 (1896)
- [4] L. Knorr, *Liebigs Ann. Chem.* **293**, 70 (1896)
- [5] W. Wislicenus, *Liebigs Ann. Chem.* **291**, 147 (1896)
- [6] H. Stobbe, *Liebigs Ann. Chem.* **326**, 347 (1903)
- [7] A. A. Ishchenko, *Russ. Chem. Rev.* **60**, 865 (1991)
- [8] M. H. Abraham, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **2**, 1343 (1972)
- [9] M. H. Abraham, *Prog. Phys. Org. Chem.* **11**, 1 (1974)
- [10] M. H. Abraham, *Pure. Appl. Chem.* **57**, 1055 (1985)
- [11] C. Reichardt, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **4**, 29 (1965)
- [12] C. Reichardt, *Chem. Rew.* **94**, 2319 (1994)
- [13] E. M. Kosower, *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 3253 (1985)
- [14] K. Dimroth, C. Reichardt, T. Siepmann, F. Bohlmann, *Liebigs Ann. Chem.* **661**, 1 (1963)
- [15] R. V. Bensasson, E. J. Land, T. G. Truscott, *Flash Photolysis and Pulse Radiolysis Contributions to the Chemistry of Biology and Medicine*, Pergamon Press
- [16] S. J. Stricker, R. A. Berg, *J. Chem. Phys.*, **37**, 814 (1962).
- [17] P. Walden, *Bull. Acad. Imper. Sci.(St. Petersburg)*, 1800 (1914)
- [18] F. H. Hurley, US Patent 2446331, *Chem. Abstr.*, 43, P7645b (1949)
- [19] H. L. Hurley, T. P. Weir Jr., *J. Electrochem. Soc.*, **98**, 207 (1951)
- [20] T. B. Scheffler, C. L. Hussey, K. R. Seddon, C. M. Kear, P. D. Armitage, *Inorg. Chem.*, **22**, 2099 (1983)
- [21] D. Appleby, C. L. Hussey, K. R. Seddon, J. E. Turp, *Nature*, **323**, 323614 (1986)

- [22] J. A. Boon, J. A. Levisky, J. L. Pflug, J. S. Wilkes, *J. Org. Chem.*, **51**, 480 (1986)
- [23] J. S. Wilkes, M. J. Zaworotko, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 965 (1992)
- [24] P. Wasserscheid, T. Welton (Eds.), *Ionic Liquid in Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim, (2003)
- [25] C. M. Gordon, *Appl. Catal. A, Gen.* **222**, 101 (2001)
- [26] A. M. Scurto, S. N. V. K. Aki, J. F. Brennecke, *Chem. Commun.*, 572 (2003)
- [27] C. Lagrost, D. Carrié, M. Vaultier, P. Hapiot, *J. Phys. Chem. A*, **107**, 745 (2003)
- [28] T. Welton, *Chem. Rev.*, **99**, 2071 (1999)
- [29] P. Wasserscheid, W. Keim, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **39**, 3772 (2000)
- [30] J. H. Davis Jr., P. A. Fox, *Chem. Commun.*, **11**, 1209 (2003)
- [31] J. Sirieix-Plenet, L. Gaillon, P. Letellier, *Talanta*, **63**, 979 (2004)
- [32] S. E. Friberg, Q. Yin, F. Pavel, R. A. Mackay, J. D. Holbery, K. R. Seddon, P. A. Aikens, *J. Disper. Sci. Technol.*, **21**, 185 (2000)
- [33] J. L. Anderson, V. Pino, E. C. Hagberg, V. V. Sheares, D. W. Armstrong, *Chem. Commun.*, 2444 (2003)
- [34] K. A. Fletcher, S. Pandey, *Langmuir*, **20**, 33 (2004)
- [35] T. L. Merrigan, E. D. Bates, S. C. Dorman, J. H. Davis Jr., *Chem. Commun.*, 2051 (2000)
- [36] L. Anthony, E. J. Maginn, J. F. Brennecke, *J. Phys. Chem. B*, **105**, 10942 (2001)
- [37] G.-T. Wei, Z. Yang, C.-Y. Lee, H. Y. Yang, C. R. C. Wang, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 5036 (2004)
- [38] K. R. Seddon, A. Stark, M. J. Torres, *Pure Appl. Chem.*, **72**, 2275 (2000)
- [39] L. Cammarata, S. G. Kazarian, P. A. Salterb, T. Welton, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **3**, 5192 (2003)
- [40] L. A. Blanchard, Z. Gu, J. F. Brennecke, *J. Phys. Chem. B*, **105**, 2437 (2001)
- [41] B. L. Bales, K. Tiguida, R. Zana, *J. Phys. Chem. B* **108**, 14948 (2004)
- [42] A. Bauer, S. Woelik, H. H. Kohler, *J. Phys. Chem. B* **108**, 2028 (2004)

- [43] M. S. J. Briggs, I. Bruce, J. N. Miller, C. J. Moody, A. C. Simmonds and E. Swann, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1**, 1051 (1997)
- [44] G. Patonary, M. D. Antoine, *Anal. Chem.*, **63**, 312A (1991); F. V. Bright, *Anal. Chem.*, **60**, 1031 A (1988)
- [45] K. Nagy, S. Göktürk, L. Biczók, *J. Phys. Chem. A* **107**, 8784 (2003)
- [46] M. B. Brown, J. N. Miller, N. J. Seare, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **13**, 1011 (1995)
- [47] H. Morjani, N. Aouali, R. Belhoussine, R. J. Veldman, T. Levade, M. Manfait, *Intern. J. Cancer*, **94**, 157 (2001)
- [48] M. K. McMillian, E. R. Grant, Z. Zhong, J. B. Parker, L. Li, R. A. Zivin, M. E. Burczynski, M. D. Johnson, *In Vitro & Mol. Toxicol.*, **14**, 177 (2001)
- [49] A. M. Klinkner, P. J. Bugelski, C. R. Waites, C. Louden, T. K. Hart and W. D. Kerns, *J. Histochem. Cytochem.*, **45**, 743 (1997)
- [50] P. M. Gocze, D. A. Freeman, *Cytometry*, **17**, 151 (1994)
- [51] W. J. Brown, T. R. Sullivan, *P. Greenspan Histochemistry* **97**, 349 (1992)
- [52] D. M. Freeman, R. R. Kroe, R. Ruffles, J. Robson, J. R. Coleman, C. A. Grygon *Biophys. J.*, **80**, 2375 (2001)
- [53] Ira, G. Krishnamoorthy, *Biochim. Biophys. Acta*, **1414**, 255 (1998)
- [54] M. M. G. Krishna, *J. Phys. Chem. A*, **103**, 3589 (1999)
- [55] G. Krishnamoorthy, Ira, *J. Fluoresc.*, **11**, 247 (2001)
- [56] S. B. Ruvinov, X. J. Yang, K. D. Parris, U. Banik, S. A. Ahmed, E. W. Miles, D. L. Sackett, *J. Biol. Chem.*, **270**, 6357 (1995)
- [57] A. J. Carmichael, K. R. Seddon, *J. Phys. Org. Chem.*, **13**, 591 (2000)
- [58] N. N. Alekseev, A. Ya. Gorelenko, N. N. Vasiliev, *Otkrytiya, Izobret., Prom. Obraztsy, Tovarnye Znaki*, **31**, 66, (1984), *Chem. Abstr.*, **101**, 230551 (1984)
- [59] L. M. Tolbert, K. M. Solntsev, *Acc. Chem. Res.*, **35**, 19 (2002)
- [60] L. M. Tolbert, S. M. Nesselroth, *J. Phys. Chem.*, **95**, 10331 (1991)
- [61] H. Miyasaka, A. Tabata, S. Ojima, N. Ikeda, N. Mataga, *J. Phys. Chem.* **97**, 8222 (1993)
- [62] H. Miyasaka, K. Wada, S. Ojima, N. Mataga, *Israel J. Chem.* **33**, 183 (1993)

- [63] M. M. Martin, W. R. Ware *J. Phys. Chem.* **82**, 2770 (1978)
- [64] J. Herbich, M. Kijak, A. Zielińska, R. P. Thummel, J. Waluk, *J. Phys. Chem. A* **106**, 2158 (2002)
- [65] L. Biczók, P. Valat, V. Wintgens, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1**, 4759 (1999)
- [66] N. Agmon, *J. Phys. Chem. A* **109**, 13 (2005)
- [67] V. K. Kansal, P. Potier, *Tetrahedron* **42**, 2389 (1986)
- [68] S. Goodwin, A. F. Smith, E. C. Horning, *J. Am. Chem. Soc.* **81**, 1903 (1959)
- [69] P. A. Cranwell, J. E. Saxton, *J. Chem. Soc.* 3482 (1962)
- [70] L. M. Tolbert, R. D. Merrick, *J. Org. Chem* **47**, 2811 (1982)
- [71] G. W. Gribble, M. G. Saulnier, J. A. Obaza-Nutaitis, D. M. Ketcha, *J. Org. Chem.* **57**, 5891 (1992)
- [72] D. A. Davis, G. W. Gribble, *Heterocycles* **34**, 1613 (1992)
- [73] M. P. Fontaine-Aupart, H. Laguitton-Pasquier, R. Pansu, L. Brian, E. Renault, M. C. Marden, C. Rivalle, E. Bisagni, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **2**, 1767 (1996)
- [74] V. K. Kansal, P. Potier, *Tetrahedron* **40**, 2389 (1988)
- [75] J. M. El Hage Chahine, J. P Bertignz, M. A. Schwaller, *J. Chem. Soc., Perkin Trans* **2**, 629 (1989)
- [76] J. B. Le Pecq, N. Dat Xouong, C. Gosse, C. Paoletti, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **71**, 5078 (1974)
- [77] M. Sbai, S. Ait-Lyazidi, D. A. Lerner, B. del Castillo, M. A. Martin, *Anal. Chim. Acta* **303**, 47 (1992)
- [78] M. Sbai, S. Ait-Lyazidi, D. A. Lerner, B. del Castillo, M. A. Martin, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **14**, 959 (1996)
- [79] T. Honda, M. Kato, M. Inoue, T. Shimamoto, K. Shima, T. Nakanishi, T. Yoshida, T. Noguchi, *J. Med. Chem.* **31**, 1295 (1988)
- [80] G. ByKadi, K. P. Flora, J. C. Bradock, G. K. Poochikian, *J. Chromatogr.* **409**, 426 (1987)
- [81] G. Muzard, J. P. Le Pecq, *J. Chromatogr.* **169**, 446 (1979)
- [82] T. Foerster, *Z. Electrochem.* **54**, 42 (1950)

- [83] A. Weller, *Z. Electrochem.* **56**, 662 (1952)
- [84] P. M. V. B. Barone, S. O. Dantas, D. S. Galvão, *J. Mol. Struct. (Theochem)* **465**, 219 (1999)
- [85] S. F. Braga, L. C. de Melo, P. M. V. B. Barone, *J. Mol. Struct. (Theochem)* **710**, 51 (2004)
- [86] M. Sbai, S. Ait-Lyazidi, D. A. Lerner, B. del Castillo, M. A. Martin, *Analyst* **121**, 1561 (1996)
- [87] C. A. Taylor, M. A. El-Bayoumi, M. Kasha, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **63**, 253 (1969)
- [88] J. Waluk, *Acc. Chem. Res.* **36**, 832 (2003)
- [89] R. S. Moog, M. Maroncelli, *J. Phys. Chem.* **95**, 10359 (1991)
- [90] M. Kijak, A. Zielinska, R. P. Thummel, J. Herbich, J. Waluk, *Chem. Phys. Lett.* **366**, 329 (2002)
- [91] O. H. Kwon, Y. S. Lee, H. J. Park, Y. Kim, D. Jang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **43**, 5792 (2004)
- [92] J. L. do Cabo, H. B. Faria, S. G. M. Portugal, M. A. A. Silva, I. M. Brinn, *Photochem. Photobiol.* **69**, 664 (1999)
- [93] Brukner Győző, *Szerves Kémia, Heterociklusos vegyületek*, 676. oldal
- [94] J. Chastain, D. B. McCormick, *Chemistry and Biochemistry of Flavonezymes*, **1**, CRC Press, Boston, 196 (1991)
- [95] T. Toyosaki, A. Hayashi, *Milchwissenschaft-Milk Sci. Int.* **48**, 607 (1993)
- [96] S. L. Palanuk, J. J. Warthesen, *Food Chem.* **27**, 115 (1988)
- [97] E. Sikorska, A. Koziolowa, M. Sikorski, A. Siemiarczuk, *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry* **157**, 5 (2003)
- [98] A. Koziolowa, *Photochem. Photobiol.*, **29**, 459 (1978)
- [99] E. Sikorska, I. V. Khmelinskii, W. Prukala, S. L. Williams, M. Patel, D. R. Worrall, J. L. Bourdelande, J. Koput, M. Sikorski, *J. Phys. Chem. A* **108**, 1501 (2004)
- [100] K. Nishimoto, Y. Watanabe, K. Yagi, *Biochim. Biophys. Acta*, **34**, 526 (1978)

- [101] J. Koziol, M. M. Szafran, *J. Photochem. Photobiol. B*, **5**, 429 (1990)
- [102] M. M. Szafran, J. Koziol, P. F. Heelis, *Photochem. Photobiol.* **52**, 353 (1990)
- [103] E. Sikorska, I. V. Khmelinskii, M. Kubicki, W. Prukala, G. Nowacka, A. Siemiarczuk, J. Koput, L. F. V. Ferreira, M. Sikorski, *J. Phys. Chem. A* **109**, 1785 (2005)
- [104] A. Langendoen, G-J. Koomen, U. K. Pandit, *Tetrahedron*, **44**, 3627 (1988)
- [105] D. V. O'Connor, D. Phillips, *Time-correlated Single Photon Counting*, Academic Press (1984)
- [106] J. N. Demas, *Excited State Lifetime Measurements*, Academic Press (1983)
- [107] D. F. Eaton, *Pure Appl. Chem.* **60**, 1107 (1988)
- [108] N. Mataga, T. Kubota, *Molecular Interactions and Electronic Spectra*, Marcel Dekker, Inc., New York, 348. old. (1970)
- [109] G. Peintler, I. Nagypál, A. Jancsó, I. R. Epstein, K. Kustin, *J. Phys. Chem. A*, **101**, 8013 (1997)
- [110] L. Zékány, I. Nagypál, D. J Leggett, *Computational method for determination of formation constants*, Plenum Press, New York, Chapter 8 (1985)
- [111] Wolfram Ervin, *Kolloidika II.1*, Tankönyvkiadó, Budapest, 125 old. (1976)
- [112] Szekrényesi Tamás, *Kolloidika I*, Tankönyvkiadó, Budapest, 160 old. (1983)
- [113] M. H. Abraham, P. P. Duce, D. V. Prior *J. Phys. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1355 (1989)
- [114] a.) R. C. Weast, (1989-90) *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 70<sup>th</sup> Edition. Pp. D-162. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, b.) Shinkai, I. (1996) Five-membered rings with two heteroatoms and fused carbocyclic derivatives. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II. Vol. 3*, (Editor in chief A. R. Katritzky, C. W. Rees and E. F. V. Scriven. pp. 80. Pergamon, Elsevier, Oxford
- [115] L. M. Tolbert, S. M. Nesselroth. *J. Phys. Chem.* **95**, 10331 (1991)
- [116] N. Agmon, *J. Phys. Chem. A* **109**, 13 (2005)
- [117] W. G. Han, T. Q. Liu, F. Himo, A. Toutchkine, D. Bashford, K. M. Hahn, L. Noodleman, *Chem. Phys. Chem.* **4**, 1084 (2003)

- [118] H. Miyasaka, A. Tabata, S. Ojima, N. Ikeda, N. Mataga, *J. Phys. Chem.* **97**, 8222 (1993)
- [119] F. G. Bordwell, *Acc. Chem. Res.* **21**, 456 (1988)
- [120] J. L. do Cabo, H. B. Faria, S. G. M. Portugal, M. A. A. Silva, I. M. Brinn, *Photochem. Photobiol.* **69**, 664 (1999)
- [121] J. W. Larson, T. B. McMahon, *Inorg. Chem.* **23**, 2029 (1984)
- [122] F. G. Bordwell, *Acc. Chem. Res.* **21**, 456 (1988)
- [123] I. Kaljurand, A. Kütt, L. Sooväli, T. Rodima, V. Mäemets, I. Leito, I. A. Koppel, *J. Org. Chem.* **70**, 1019 (2005)
- [124] C. S. Cassidy, L. A. Reinhardt, W. W. Cleland, P. A. Frey, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **2**, 635 (1999)
- [125] J. H. Clark, *Chem. Rev.* **82**, 429 (1980)
- [126] B. Valeur, *Molecular Fluorescence*, Wiley-VCH, Weinheim, 343 old. (2002)
- [127] C. Clower, K. M. Solntsev, J. Kowalik, L. M. Tolbert, D. Huppert, *J. Phys. Chem. A* **106**, 3114 (2002)

## 8. Függelék

### Az értekezés alapját képző közlemények:

1. Zsombor Miskolczi, Krisztina Sebők-Nagy, László Biczók, Sinem Göktürk  
„Aggregation and micelle formation of ionic liquids in aqueous solution”  
Chemical Physics Letters **400**, 296 (2004)

2. Krisztina Sebők-Nagy, Zsombor Miskolczi, László Biczók  
„Interaction of 2-Hydroxy Substituted Nile Red Fluorescent Probe with Organic Nitrogen Compounds”  
Photochemistry and Photobiology **81**, 1212 (2005)

3. Zsombor Miskolczi, László Biczók  
„Anion-induced changes in the absorption and fluorescence properties of lumichrome: A new off-the-shelf fluorescent probe”  
Chemical Physics Letters **411**, 238 (2005)

4. Zsombor Miskolczi, László Biczók  
„Fluorescent Properties of Hydrogen-bonded Ellipticine: A Special Effect of Fluorid Anion”  
J. Photochem. Photobiol. A, Chemistry **182**, 82 (2006)

5. Zsombor Miskolczi, László Biczók, István Jablonkai  
„Effect of Hydroxilic Compounds on the Photophysical Properties of Ellipticine and its 6-Methyl Derivative: The Origin of Dual Fluorescence”  
Chemical Physics Letters **427**, 76 (2006)

### **További közlemények:**

**6.** Csaba Gábor Ágoston, Zsombor Miskolczi, Zoltán Nagy and Imre Sóvágó  
„The effect of ring size of fused chelates on the stability constants and spectroscopic properties of nickel (II) and palladium (II) complexes of peptides”  
Polyhedron **22**, 2607 (2003)

**7.** Zsombor Miskolczi, József Nyitrai, László Biczók, Krisztina Sebők-Nagy, Tamás Körtvelyesi  
„Photophysical Properties of Novel Cationic Naphthalimides”  
J. Photochem. Photobiol. A, Chemistry **182**, 99 (2006)

**8.** Rozália Vanyúr, László Biczók, Zsombor Miskolczi  
„Micelle formation of 1-alkyl-3-methylimidazolium bromide ionic liquids in aqueous solution”  
Colloids and Surfaces A, Physicochemical and Engineering Aspects **299**, 256 (2007)

**9.** Zsombor Miskolczi, László Biczók, István Jablonkai  
„Dual fluorescence of 1-hydroxy-substituted Nile Red dye: Excited-state proton transfer along intramolecular hydrogen bond”  
Chemical Physics Letters **440**, 92 (2007)

### **Az értekezés anyagához kapcsolódó előadások és poszterek:**

**1.** Miskolczi Zsombor, Sebőkne Nagy Krisztina, Biczók László  
„Ionfolyadékok aggregációja és micellaképzése vízben”  
VII. Doktori Kémiai Iskola, Tahi 2004.ápr.27-28

**2. Sebőkné Nagy Krisztina, Miskolczi Zsombor, Biczók László**

„Benzo[a]fenoxazin-5-on vázú jelzőanyagok alkalmazása felületaktív anyag oldatok vizsgálatára”

MTA Tudományos Napok, Budapest, 2004. jún. 2-3

**3. K. Sebők-Nagy, Zs. Miskolczi, L. Biczók**

„A new fluorescent probe for the study of microheterogenous systems”

MTA Kémiai Kutatóközpont Nemzetközi Tudományos Tanácsadó Testületének tudományos ülése, Budapest, 2004. szept. 1-3

**4. Miskolczi Zsombor, Sebőkné Nagy Krisztina, Biczók László**

„2-Hidroxid szubsztituált Nílus vörös fluoreszcenciás jelzőanyag kölcsönhatása szerves nitrogénvegyületekkel és micellákkal”

Reakciókinetikai és Fotokémiai Munkabizottsági Ülés, Balatonalmádi, 2005. április 28-29

**5. Miskolczi Zsombor, Biczók László**

„Biológiai fontosságú vegyületek alkalmazása fluoreszcenciás jelzőanyagként”

Reakciókinetikai és Fotokémiai Munkabizottsági Ülés, Gyöngyöstarján, 2005. október 20-21

**6. Zsombor Miskolczi, László Biczók, Krisztina Sebők-Nagy (poszter)**

„Interaction of 2-Hydroxy Substituted Nile Red Fluorescent Probe with Organic Nitrogen Compounds”

14<sup>th</sup> International Conference on Luminescence, Peking, Kína, 2005 július 25-29

7. Biczók László, Miskolc Zsombor, Megyesi Mónika (poszter)

„Compounds of biological importance as fluorescent probes“

Central European Conference on Photochemistry,  
Bad Hofgastein, Austria, 2006. március 5-9

**További előadások és poszterek:**

8. Zsombor Miskolc Zsombor, Sándor Darabont (poszter)

„A  $\text{La}_{2/3}\text{Ca}_{1/3}\text{Mn}_{1-x}\text{In}(\text{Al})_x\text{O}_{3\pm\delta}$  előállítás és jellemzése szerkezeti és mágneses szempontból“

VIII. Nemzetközi Vegyészkonferencia, Kolozsvár, Románia, 2002.nov.15-17

9. Miskolc Zsombor, Ágoston Csaba, Nagy Zoltán, Sóvágó Imre

„Csatolt kelátgyűrűk hatása a peptidek Cu(II), Ni(II) és Pd(II) komplexeinek termodinamikai stabilitására és spektrális paramétereire“

XXXVIII. Komplexkémi Kollokvium, Gyula, 2003.május 21-23

10. Zoltán Nagy, Anikó Magyari, Zsombor Miskolc Zsombor and Imre Sóvágó (poszter)

„Ternary complexes of palladium(II) with thioether and imidazole ligands“

28<sup>th</sup> International Conference on Solution Chemistry, Debrecen, 2003. aug.23-28

11. Zoltán Nagy, Anikó Magyari, Zsombor Miskolc Zsombor and Imre Sóvágó (poszter)

„Complexation of monofunctional palladium(II) species with thioether and imidazole ligands“

IX. International Symposium on Inorganic Biochemistry, Szklarska Poreba, Poland, 2003.szept.4-7

## **Köszönetnyilvánítás**

Őszinte köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek Dr. Biczók Lászlónak, hogy lehetővé tette számomra a doktori munkám elkészítését az MTA Kémiai Kutatóközpont Lézerspektroszkópai Laboratóriumában. Megismerttetett a fotokémiában alkalmazott mérési módszerekkel, sokoldalú segítségével, hasznos tanácsaival elősegítette munkám minél nagyobb hatékonyságát.

Köszönöm a Lézerspektroszkópai Laboratórium minden tagjának a munkám során adott hasznos tanácsaikat, segítségüket, valamint a baráti légkört.

Végül de nem utolsó sorban szeretném megköszönni feleségemnek és szüleimnek támogatásukat és türelmüket.

# FLUORESZCENCIÁS JELZŐANYAGOK KÖLCSÖNHATÁSA HIDROGÉNKÖTÉST LÉTESÍTŐ ANYAGOKKAL ÉS MICELLÁKKAL

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

Írta: Miskolczy Zsombor okleveles kémia-fizika szakos tanár

Készült a Debreceni Egyetem kémiai doktori iskolája  
(Reakciókinetika és katalízis programja) keretében

Témavezető: Dr. Biczók László

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Dr. ....

tagok: Dr. ....

Dr. ....

A doktori szigorlat időpontja: 200... ..

Az értekezés bírálói:

Dr. ....

Dr. ....

Dr. ....

A bírálóbizottság:

elnök: Dr. ....

tagok: Dr. ....

Dr. ....

Dr. ....

Dr. ....

Az értekezés védésének időpontja: 200... ..