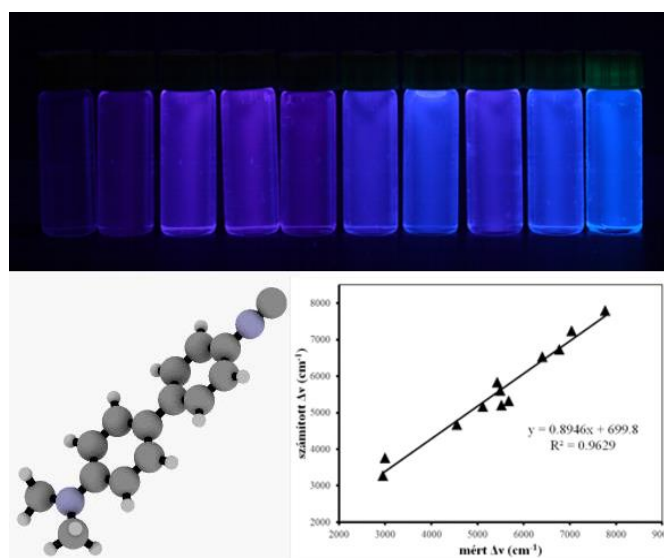




4-amino-4'-izocianobifenil származékok, mint potenciális szolvatokróm fluoroforok



Készítette:

Kovács Sándor Lajos

III. évf. vegyészmérnök BSc

Témavezető:

Dr. Nagy Miklós

egyetemi adjunktus

Debreceni Egyetem Természettudományi és Technológia Kar

Alkalmazott Kémiai Tanszék

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	1
2. Irodalmi előzmények	2
1.1 Fényemittáló Diódák (LED)	2
1.2 Szerves fényemittáló diódák (OLED)	3
1.3 A Fluoreszcencia	3
1.4 Jablonski-diagram	6
1.5 Fluoreszcens élettartama és kvantumhasznosítási tényező	7
2.6 Fluoreszcenciás kioltás	9
2.7 Fluoreszcenciás spektrofotométer	9
2.8 Fluoroforok	10
2.9 Valódi fluoroforok	11
2.10 Nem valódi fluoroforok	11
2.11 Szolvatokróm effektus	12
2.12 Lippert – Mataga egyenlet:	13
2.13 Lippert egyenlet	14
2.14 Kamlet Taft egyenlet	14
2.15 Catalán megközelítés	15
2.16 Szolvatokróm anyagok	16
3. Kísérleti rész	17
3.1 Felhasznált anyagok	17
3.2 A 4-amino-4'-izocianobifenil (ICAB) szintézise	17
3.3 A 4-(N-metilamino)-4'-izocianobifenil (monoMICAB) és 4-(N,N-dimetilamino)-4'-izocianobifenil (diMICAB) szintézise	18
3.4 Alkalmazott vizsgálati módszerek	19
3.4.1 Magmágneses rezonancia spektroszkópia (NMR)	19
3.4.2 UV – Vis spektroszkópia	19
3.4.3 Fluoreszcenciás mérés	20
4. Eredmények és értékelésük	21
4.1 Az ICAB és származékainak NMR spektroszkópiai vizsgálata	22
4.2 Steady-state optikai tulajdonságok vizsgálata	24
4.2.1 UV-Vis mérések	24
4.2.2 Fluoreszcencia mérések	26
4.3 A szolvatokróm viselkedés leírása	32

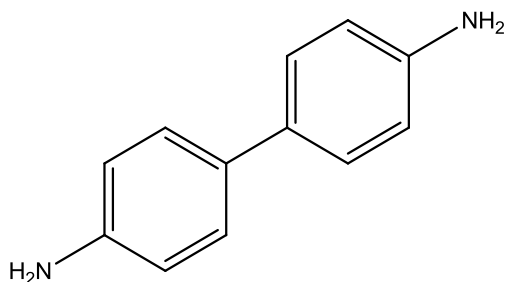
4.3.1	A termékek oldószer kölcsönhatásának értelmezése Lippert–Mataga elmélet szerint	32
4.3.2	A termékek oldószer kölcsönhatásának Kamlet – Taft leírás szerinti értelmezése: ..	33
4.3.3.	A termékek oldószer kölcsönhatásának értelmezése Catalán leírás szerint.....	36
4.4	ICAB származékok piridinnel képzett komplexek vizsgálata	38
4.5	ICAB származékok kvantumkémiái vizsgálata	42
5.	Összefoglaló	44
6.	Summary	45
7.	Irodalomjegyzék	46
8.	Melléklet	47
8.1	ICAB és származékainak szimulált ^1H -NMR spektrumai.....	47
8.2	ICAB és származékainak szimulált ^{13}C -NMR spektrumai:	48
8.3	monoMICAB és diMICAB abszorpciós spektrumai:	50
8.4	ICAB származékok excitációs és emissziós spektrumai	52
8.5	A számításokhoz használt Kamlet – Taft és Catalán paraméterek.....	56

Rövidítésjegyzék

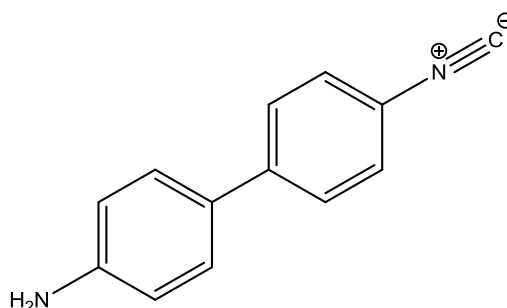
A dolgozatban praktikus okokból a vizsgált vegyületek triviális, illetve általunk kitalált rövidített neveit használjuk. Alábbiakban szeretném a rövidítésekhez tartozó molekulák teljes nevét és szerkezetét feltüntetni:

Benzidin

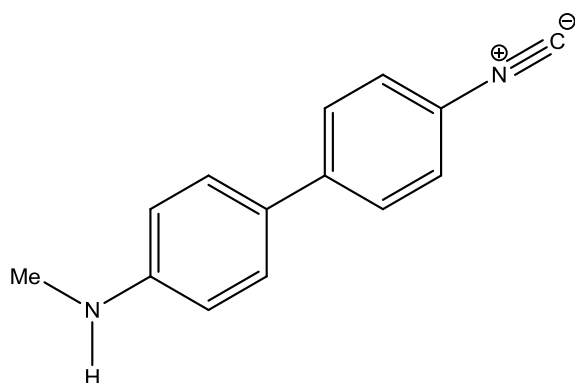
4,4'-diaminobifenil

**ICAB**

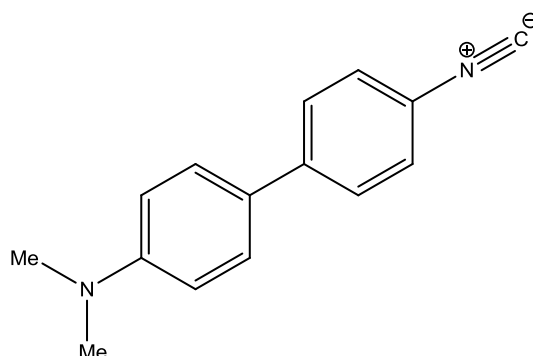
4-amino-4'-izocianobifenil

**monoMICAB**

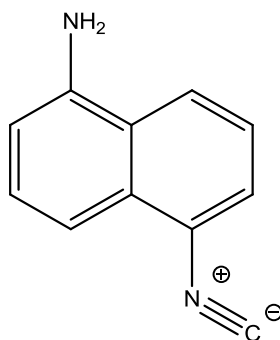
4-(N-metilamino)-4'-izocianobifenil

**diMICAB**

4-(N,N-dimetilamino)-4'-izocianobifenil

**ICAN**

1-amino-5-izocianonaftalin



Köszönetnyilvánítás

Hálával tartozom témavezetőmnek Dr. Nagy Miklósnak a Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszék adjunktusának a kutatómunkámban való közreműködéséért, a dolgozatírásom során nyújtott elengedhetetlen segítségéért valamint szakmai tanácsaiért, amelyek nélkül ez a dolgozat nem jöhetett volna létre.

Szeretnék köszönetet mondani Rácz Dávid PhD hallgatónak, a kísérletek és vizsgálatok során nyújtott segítségéért.

Köszönöm Dr. Purgel Mihály tudományos segédmunkatársnak a Debreceni Egyetem Fizikai Kémiai Tanszék oktatójának a kvantumkémiai számításokat.

Továbbá köszönetemet szeretném kifejezni a Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszékének, hogy biztosította számomra a kutatómunkához szükséges eszközöket.

Legvégül szeretném megköszönni családomnak a békés és nyugodt háttér biztosítását és a töretlen biztatást.

Köszönjük az OTKA K-101850 és a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0036 pályázatok által nyújtott anyagi segítséget. A kutatás a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése országos program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

1. Bevezetés

Az elmúlt 20 évben kiemelkedő fejlődést ért el fluoreszcens anyagok kutatása. Alkalmazhatóak a biokémiában, mint sejtjelölők, élettani folyamatok nyomon követésére úgymint DNS szekventálás, genetikai vizsgálatok, biokémiai mérések (radioaktív jelölők helyettesítése) valamint alkalmazhatóak fényforrásként is, képi megjelenítők készítésére. A szerves fényemittáló diódák (OLED) előnye bármely más képi megjelenítő eszközzel szemben, hogy kis energiafogyasztásúak, olcsón előállíthatóak és már kis molekulatömegű fluoreszcens anyagok is képesek fény emittálására. Minden felsorolt alkalmazás hasznosságát növelheti, ha a fluorofor még szolvatokróm is. Ezen fluoroforok emissziós tulajdonságai az oldószer polaritásától és a környezettel való specifikus kölcsönhatásoktól függenek. A jelenség lényege, hogy az oldószer polaritásának változtatásával az emittált fény hullámhossza változik. Ennek oka a molekulán belüli töltésmegoszlás.[1]

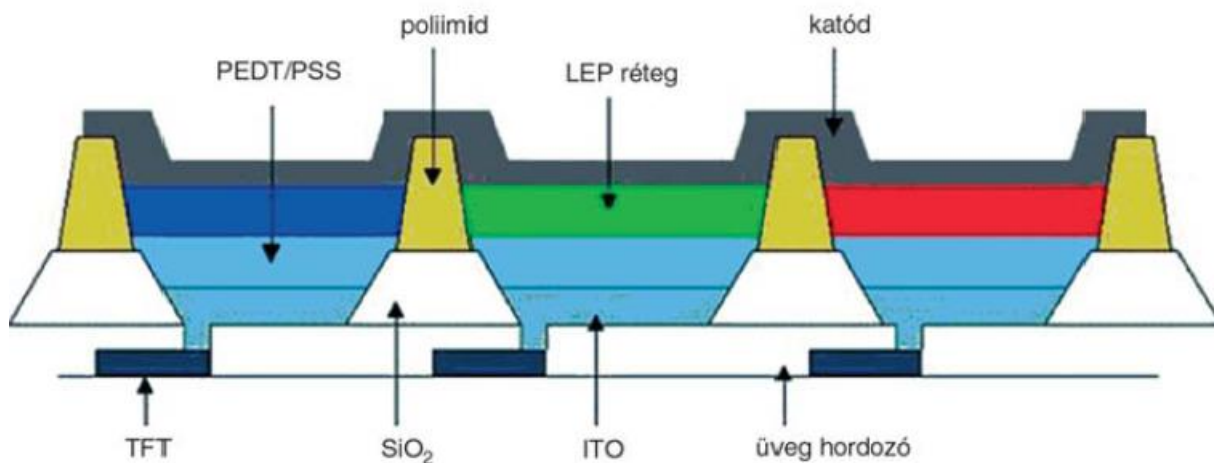
A képi megjelenítésben kulcsfontosságú fehér fény előállítása. Ezt legegyszerűbben külön-külön a három alapszín emittáló fluoroforral tudjuk megtenni. A gyakorlatban számos olyan vegyület ismert, amely képes vörös vagy zöld fény emittálni, viszont csak kevés olyan, amelyik kék fényt. A kék fényt emittáló anyagoknak jelentős alkalmazásai vannak a biológiában, például sejtfestékeként. itt rendkívül előnyös a szolvatokróm tulajdonság, ugyanis festés után asejtek különböző polaritású részei eltérő színnel világítanak. A gyakorlatban alkalmazott fluoreszcens festékek közül a legelterjedtebbek a naftalinszármazékok: a 6-lauroil-2-dimetilamoninaftalin (LAURDAN) vagy a 6-propionil-2-dimetilnaftalin (PRODAN). Ezek a naftalinszármazékok olyan elektron donor és elektron akceptor csoportot tartalmaznak, amelyek térben elszeparálva kapcsolódnak a naftalin gyűrűhöz, így lehetséges a molekulán belül töltésmegoszlás kialakulása, ezáltal a molekula dipólusmomentumának a megnövekedése.

Kutatócsoportunk célja olyan intelligens molekulák költségghatékony előállítása, amelyek kék színt képesek emittálni és alkalmazásuk gazdaságos. Ilyen például a korábban előállított formális PRODAN-származék, az izocianoaminonaftalin (ICAN), melynek érdekessége, hogy a PRODAN-ban is jelen levő karbonil csoport helyett izonitril csoportot építettünk be. Az ICAN analógiájára a naftalin gyűrűt bifenilre cseréltük benzydint használva, mint olcsó és a gyakorlatban széles körben alkalmazott festék alapanyagot. Úgy gondoltuk, hogy a donor és az akceptor csoportok közti távolságot tovább növelve nő a töltésmegoszlás, így a dipólusmomentum, ezáltal kiszélesíthetjük az emittált fény hullámhossz-tartományát. Az így kapott vegyület a 4-amino-4'-izocianobifenil. (ICAB). A polarizálhatóság növelésének érdekében előállítottuk a vegyület dimetil-származékát (diMICAB), illetve melléktermékként az alapvegyület monometilezett származékát is (monoMICAB).

2. Irodalmi előzmények

1.1 Fényemittáló Diódák (LED)

Napjainkban az egyik legfontosabb fényelektromos eszköz a fényemittáló dióda (LED), ugyanis mind az iparban, mind a háztartásban széleskörű felhasználási lehetőségekkel rendelkezik. A fényerő, hatásfok, hajlékonyság, alacsony energia felhasználás, élettartam valamint az olcsó kialakítás a legfőbb szempontok. Ezek a tulajdonságok segítették elő a LED-ek kereskedelmi elterjedését pl. a közlekedésben (közlekedés irányító lámpák), fényreklámoknál és számos más helyen. Hagyományosan a LED-ek fémötvözetekből épülnek fel. Ilyen fémötvözetek a GaAsP (sárgától pirosig) vagy a GaP (zöldtől pirosig). A fényerőség növelésére különböző anyagokat, mint például AlGaAs (piros), AlInGaP (sárgászöldtől pirosig) és InGaN (kék, zöld és fehér) alkalmaznak. [2] 1993-tól fehér fény előállítására is lehetőség nyílt, ugyanis ekkor találta fel három japán kutató a kék fényt emittáló diódát (GaN), amiért 2014-ben fizikai Nobel-díjat kaptak. Felépítését tekintve anódként indium-ón-oxidot (ITO) használnak, amelynek felületét plazmakezeléssel teljesen simává kell tenni a rövidzárlatok elkerülése végett. [3]



1. ábra: Egy háromszínű LED felépítése

1.2 Szerves fényemittáló diódák (OLED)

Az utóbbi években intenzív kutatások folynak a szerves fényemittáló anyagokból felépülő elektrolumineszcens eszközök technológiájának fejlesztésére. Fő motiváció olyan technológiák kialakítása, amely kizorítja katódsugárcsöves megjelenítő eszközöket kedvezőbb energiafogyasztásuk és jobb fényintenzitásuk miatt. A folyadékkristályos kijelzők (LCD) ígéretesek voltak bizonyos szempontokból, azonban a láthatóság és az élesség növelésére előnyösebb olyan kijelzők alkalmazása, amik emittálják a fény, mintsem reflektálják, vagy áteresztik. A szerves fényemittáló diódák (OLED) biztató alternatíva lenne az LCD kijelzők valamint a LED kijelzők helyett.[4] Nagy előnyük, hogy bármilyen felületre felvihetőek, így akár nagyon vékony illetve hajlékony kijelzőket is alakíthatunk ki, valamint csekély energia szükséges a működtetésükhöz. Felépítésük analóg a fényemittáló diódákéval, a különbség az anód és a katód anyagában van, ezek között nem fémötvözet van, hanem szerves anyag. Ez utóbbi megválasztása az emittált fény hullámhossz tartomány függésében történik. Ezen anyagok különlegessége a foszforeszcenciában illetve a lumineszcenciában rejlik. Bár a legintenzívebb kutatások a fényemittáló polimerek (LEP) területén folynak a legelső, LED-ekben alkalmazott szerves fluoreszcens festékek kis molekulájú anyagok voltak, mint pl. a trisz-(8-hidroxikinolin) alumíniummal képzett komplexek, (Alq3). Ezért nagyon fontos kutatási terület a kis molekulájú kék fény emittáló szerves festékanyagok fejlesztése, melyeknél külön előnyt jelenthet a szolvatokróm viselkedés, azaz az emittált fény hullámhosszát a hordozó felületének polaritásával is szabályozni lehet.

1.3 A Fluoreszcencia

A fluoreszcenciát már a 19. század közepén felfedezték. Sir John Frederick William Herschel volt az első 1845-ben, aki megfigyelte a jelenséget. A kísérlet során Sir Herschel egy üveg tonik oldatot tett ki a napfényre, aminek a felülete kék színnel világított. Ő az akkori tudományos ismeretek alapján nem tudta a jelenséget megmagyarázni. Ezt a szokatlan jelenséget újravizsgálta Sir G. G. Stokes 1852-ben, és magyarázattal tudott szolgálni. Bemutatta, hogy a fényelnyelést fénykibocsátás kíséri. Stokes egy prizma segítségével a napfényt alkotóelemeire bontotta. Amikor egy kinin-szulfát oldattal teli üveget tett a látható fény útjába, látszólag semmi nem történt, viszont amikor az ibolya spektrumtartomány útjába tette, az oldat kéken világított. Ez a kísérlet arra engedte következtetni, hogy a fényelnyelést fénykibocsátás követi. Kijelentette, hogy az emittált fény hullámhossza mindig nagyobb, mint a gerjesztő fény hullámhossza. Ezt később Stokes-törvényként vált ismeretessé.

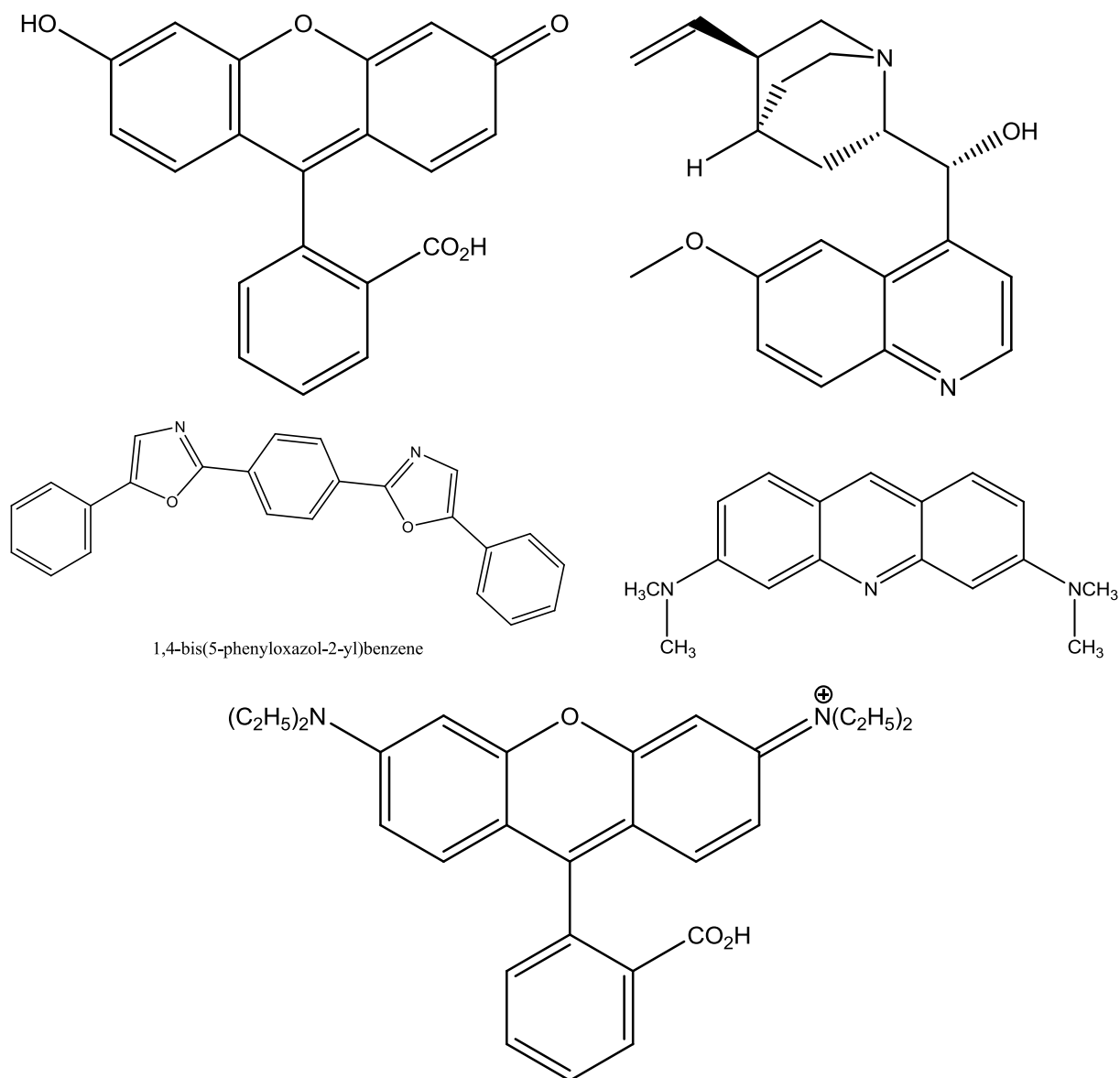
Lumineszcenciának nevezzük azt a folyamatot, amely során valamely anyagból fénykibocsátás történik. Alapvetően két kategóriára bonthatjuk – foszforeszcencia és fluoreszcencia – a gerjesztett állapot természetétől függően, illetve hogy meddig tart fénykibocsátás. Viszont a lumineszcenciának lehetnek más típusai is (1. táblázat). Gerjesztett állapotban az elektronok magasabb energiájú pályákra ugranak. Amikor a gerjesztett elektron visszatér az alapállapotba, fény formájában távozik a felszabaduló energia. A fluoreszcenciás fénykibocsátás általában 10^{-8} másodpercig tart, tehát a fluoreszcens részecske élettartama 10 ns. Az élettartam úgy definiálható, mint az az átlag idő, amely a gerjesztett állapotból az alapállapotba történő visszaalakuláshoz szükséges. A fluoreszcencia rövid élettartama miatt az időfelbontásos emissziós méréshez olyan műszerek szükségesek, melyek optikája és elektronikája elég érzékeny.

Jelenség	A gerjesztés módja
Fotolumineszcencia (fluoreszcencia, foszforeszcencia)	Fényelnyelés (fotonok)
Radiolumineszcencia	Ionizáló sugarak (Röntgen sugarak, α , β , γ)
Katódlumineszcencia	Katódsugarak (elektronnyalábok)
Elektrolumineszcencia	Elektromos mező
Termolumineszcencia	Hevülés után elsődleges energiatároló (radioaktív besugárzás)
Kemolumineszcencia	Kémiai folyamatok (pl. oxidáció)
Biolumineszcencia	Biokémiai folyamatok
Tribolumineszcencia	Súrlódási és elektrosztatikus energiák
Szonolumineszcencia	Ultrahang

1. táblázat: A lumineszcencia különböző fajtái

Foszforeszcenciás emisszió során a gerjesztett állapotból történik fénykibocsátás. Az gerjesztő energiaforrás megszűnése után 10^3 - 10^0 s-ig tart az emisszió. Ezek a molekulák néhány percig sugároznak, amíg a gerjesztett anyag vissza nem tér az alapállapotba. Foszforeszcencia nem észlelhető szobahőmérsékleten fluidumban, mivel az emisszióval olyan dezaktiváló folyamatok is versengenek, mint a sugárzásmentes bomlás és bizonyos kioltási folyamatok.

Fluoreszcencia tipikusan aromás molekulák esetében figyelhető meg, ezekben ugyanis vannak nem konjugált elektronpárok, amelyek gerjeszthetőek. Ezeket az aromás vegyületeket fluorofor anyagoknak nevezzük.

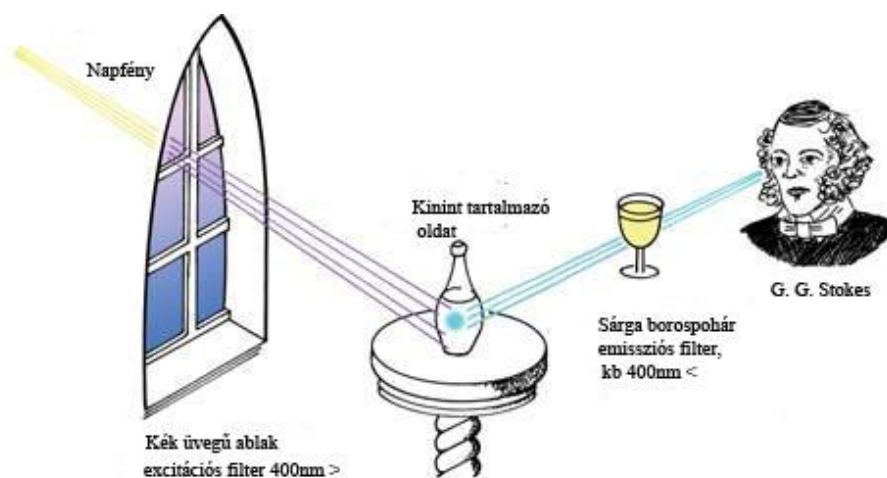


2. ábra: Néhány fluorofor (Fluoreszcein, Kinin, POPOP, Akridin narancs, Rodamin B)

Az első ismert fluorofor, a kinin vizsgálatával fejlesztették ki az első spektrofluorimétert, amit 1950-ben mutatott be az amerikai Nemzeti Egészségügyi Intézet (National Institutes of Health, NIH). [5] A kinin mellett számos fluorofor anyaggal is találkozhatunk az életben, mint például a klorofill, amelynek fluoreszcenciája a vörös tartományba tolódik, és a növényekben végbemenő szerves folyamatok számára alakítja át a napsugárzást energiává, a fluoreszcein (oldata zölden emittál), amellyel rejtett vérfoltokat lehet előhívni, illetve a jelölőfestékként használatos fluorit ásvány (folypát, CaF_2), amely kéken emittál. [6]

A kinin, amely a tonikban is megtalálható, egy jó példa ezekre. Egy üveg tonikot kitéve a napra, kék színű fény jelenik meg az üdítőital felszínén. Amennyiben az üveget a beeső napfény irányába állítjuk, és kevés poláros oldószert, például alkoholt adunk a rendszerhez,

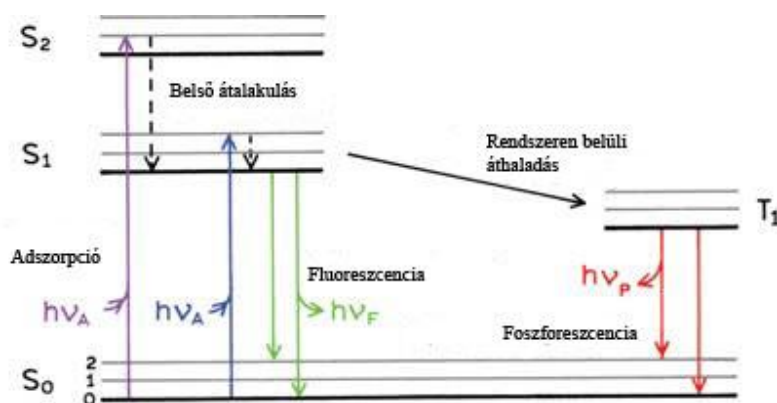
annak dielektromos állandója lecsökken, így jobban látható a kék fény. A kinin gerjesztését a napfényben lévő ultraibolya fény teszi lehetővé. Amikor a kinin visszatér alapállapotba, a kibocsátott fény hullámhossza körülbelül 450 nm.



3. ábra: Sir G.G. Stokes vizsgálata a kinin tartalmú oldaton

1.4 Jablonski-diagram

Az abszorpciót és emissziót kísérő folyamatokat Jablonski-diagramon szokták ábrázolni. Különböző formában használják a Jablonski-diagramot a különféle molekuláris folyamatok ábrázolására, amelyek gerjesztett állapotban játszódnak le. Alexander Jablonski tekinthető a fluoreszcens spektroszkópia megteremtőjének. Munkássága az 1920-as – 30-as évek tehető, amikor is kiemelkedő kísérleti munkájával jelentős felfedezéseket ért el az oldatok fluoreszcenciájának alapvető vizsgálatában. Annak érdekében, hogy megmagyarázza kísérleteinek az eredményeit, meghatározta az átmeneti állapotot az excitáció és az emisszió között, valamint olyan tényezőket is vizsgált, amelyek felelősek a lumineszcencia depolarizációjáért.



4. ábra: Jablonski diagram

Az alap-, első- és második elektronállapotot az S_0 , S_1 illetve S_2 jelöli. Minden energiaszint felosztható rezonancia-energiaszintekre, amiket a számok (0,1,2) jelölnek. Az állapotok közötti átmenetet a függőleges vonalak mutatják, ezzel jelezve a fényabszorpció természetét. Az átmenet időtartama túl kevés az atommag elmozdulásához, így a magtávolság állandó marad. Ezt Frank–Condon elvnek nevezik. Belső átalakulás kétféle módon történhet. Nemsugárzó átmenet történhet akkor, ha a magasabb és az alacsonyabb energiájú szint vibrációs állapota összekapcsolódik. Amennyiben rendszeren belüli áthaladásról beszélünk az átmenet azonos spinmultiplicitással történik. Szobahőmérsékleten a hőenergia nem elegendő ahhoz, hogy jelentős mértékben elősegítse a gerjesztett állapotot. Az energiakülönbség S_0 és S_1 gerjesztett állapotok között túl nagy ahhoz, hogy azt az S_1 hőállapot betöltse. Emiatt használnak hő helyett fényt a fluoreszcens anyagok gerjesztésére. Az S_1 állapotban lévő molekulák belső átalakulással jutnak át T_1 triplet állapotba. Az innen történő emissziót foszforeszcenciának nevezzük.

1.5 Fluoreszcens élettartama és kvantumhasznosítási tényező

A fluoreszcens anyagok élettartama és kvantumhasznosítási tényezője a legfontosabb jellemező tulajdonságok közé tartoznak. A kvantumhasznosítási tényező az emittált és az elnyelt fotonok hányadosaként számítható. Az emisszió élettartama azért fontos, mert ebből következtethetünk a fluorofor anyagok egyéni relaxációs folyamatára, ami a gerjesztett állapotból az alapállapotba történő visszatérésért felel.

$$Q = \frac{\Gamma}{\Gamma + k_m} \quad (1)$$

ahol:

Q... kvantumhasznosítási tényező

Γ a fluorofor emissziós hányada

k_m ... fluorofor sugárzásmentes bomlásainak aránya

A kvantumhasznosítási tényező értéke 1-hez tart, ha a sugárzásmentes bomlások hányada jóval kisebb, mint az emissziós hányad, $k_m \ll \Gamma$. Értéke a relaxáció miatt általában 1-nél kisebb.

A gerjesztett állapot élettartama úgy definiálható, mint az az átlagidő, amely ahhoz szükséges, hogy a gerjesztett állapot visszaalakuljon alapállapottá. Ez általában 10 ns-ig tart.

$$\tau = \frac{1}{\Gamma + k_m} \quad (2)$$

A kibocsátás véletlenszerű esemény. Néhány molekula (körülbelül a molekulák 63%-a) pontosan $t = \tau$ időpillanatban emittál fotont. A fennmaradó 37% $t > \tau$ időben bomlik el. Amennyiben a sugárzásmentes bomlások hányadát (k_m) nullának vesszük, tehát a sugárzásmentes bomlások hiányában kapott időt természetes élettartamnak nevezzük.

$$\tau_t = \frac{1}{\Gamma} \quad (3)$$

A természetes élettartam az excitációs és emissziós spektrumból valamint a moláris abszorpciós együtthatóból számítható. A sugárzással történő bomlás arányát az alábbi egyenlettel határozhatjuk meg:

$$\Gamma \cong 2,88 \cdot 10^9 n^2 \cdot \frac{\int F(\bar{\nu}) d\bar{\nu}}{\int \frac{F(\bar{\nu}) d\bar{\nu}}{\bar{\nu}^3}} \cdot \int \frac{\varepsilon(\bar{\nu})}{\bar{\nu}} \cdot d\bar{\nu} = 2,88 \cdot 10^9 n^2 < \bar{\nu}^3 >^{-1} \int \frac{\varepsilon(\bar{\nu}) \cdot d\bar{\nu}}{\bar{\nu}} \quad (4)$$

ahol:

$F(\bar{\nu})$...az emissziós spektrum a hullámhossz függvényében ábrázolva

$\varepsilon(\bar{\nu})$...az abszorpciós spektrum

n... törésmutató

Az integrálok az S_0 és S_1 átmenetekhez tartozó abszorpciós és emissziós spektrumok esetében értelmezhetők. A fenti kifejezés sok esetben jól alkalmazható, különösen polinukleáris aromás

szénhidrogének oldatánál. Példaként Γ értéke perilénre $1,8 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$, természetes élettartama 5,5 ns.

2.6 Fluoreszcenciás kioltás

A fluoreszcenciás intenzitás számos úton csökkenthető. A folyamatot, amivel ez elérhető kioltásnak (kvencselésnek) nevezzük, és különböző mechanizmusokkal játszódhat le. Ütközési kioltásról akkor beszélünk, amikor a gerjesztett állapotban lévő fluorofor dezaktiválódik egy másik, oldatban lévő molekulával való ütközése miatt. A folyamatot a Stern – Volmer egyenlettel írhatjuk le:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K[Q] = 1 + k_q \tau_0 [Q] \quad (5)$$

ahol:

K ... Stern – Volmer kioltási állandó

k_q ... biokémiai kioltási állandó

τ_0 ... a molekulák élettartama kioltás nélkül

$[Q]$... a kvencselő anyag koncentrációja

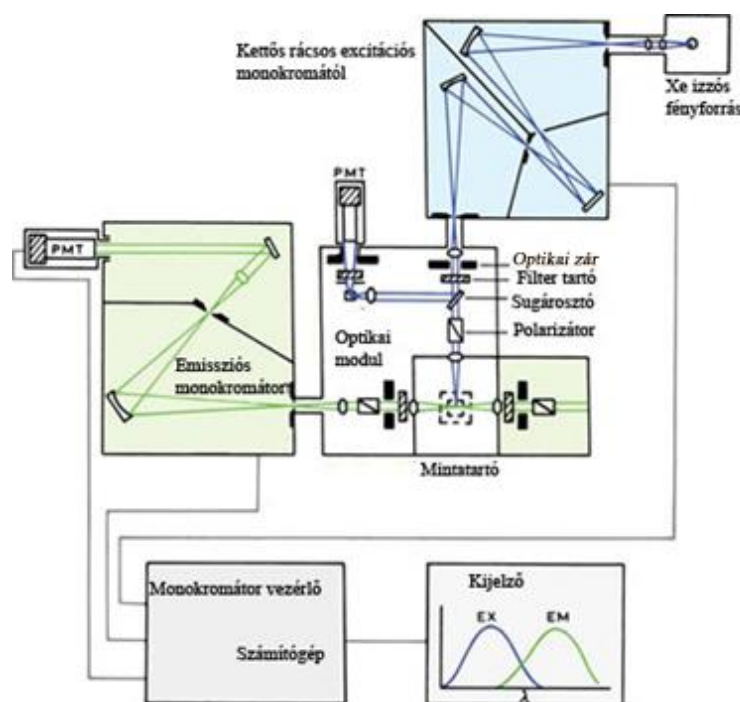
Az ütközéskor a gerjesztett molekula átadja energiáját a másik molekulának, ami gyakran hő formájában sugárzódik ki. Ütközési kvencserként viselkedhet az oxigén, a halogének, és egyes amin tartalmú vegyületek. Az ütközési kvencselés mellett más folyamatok is okozhatják a fluoroforok intenzitásának csökkenését. Ilyen például a komplexképződés, amikor az oldatban a fluorofor olyan komplexet képez, amely nem képes emisszióra.

2.7 Fluoreszcenciás spektrofotométer

A legtöbb spektrofluoriméterrel képesek vagyunk mérni mind az emissziós, mind az excitációs spektrumokat. Ezeket az adatokat a hullámhossz (nm) vagy a hullámszám (cm^{-1}) függvényében jelenítjük meg. A hullámhosszt és a hullámszámot könnyen átszámíthatjuk egymásba úgy, hogy egymás reciprokát vesszük. A hullámszám lineáris összefüggésben van az energiával, azonban a spektrumokat legtöbbször a hullámhossz függvényében adjuk meg.

Egy ideális műszernek az emissziós spektrum esetén az emittált foton vagy energia hányadát kell mutatnia a felvett hullámhosszakon, az excitációs spektrum esetén pedig a fluorofor relatív emisszióját, minden gerjesztési hullámhosszon. A legtöbb fluorofor kvantumhasznosítási

tényezője és emissziója függ a gerjesztési hullámhossztól. Ennek eredményeként az excitációs spektrumnak nagyon fontos szerepe van a mérésben. Az emissziós spektrum azonos fluoroforra nézve is változhat, amennyiben más műszeren vizsgáljuk, ugyanis a műszerek érzékenysége különböző lehet. Az 5. ábra egy általános spektrofluoriméter működését vázolja fel. Az eszköz fényforrásként Xe lámpát használ, mivel az minden hullámhosszon nagy intenzitást biztosít 250 nm-től. Az eszközben ugyancsak látható egy excitációs és egy emissziós monokromátor is. Ezek motorizálva vannak, hogy a hullámhossz automatikusan meghatározható legyen. Detektorként fotoelektronsokszorozót használnak, mellyel megfelelő elektronikus jelfeldolgozó eszközök által mennyiségi meghatározásra is lehetséges.



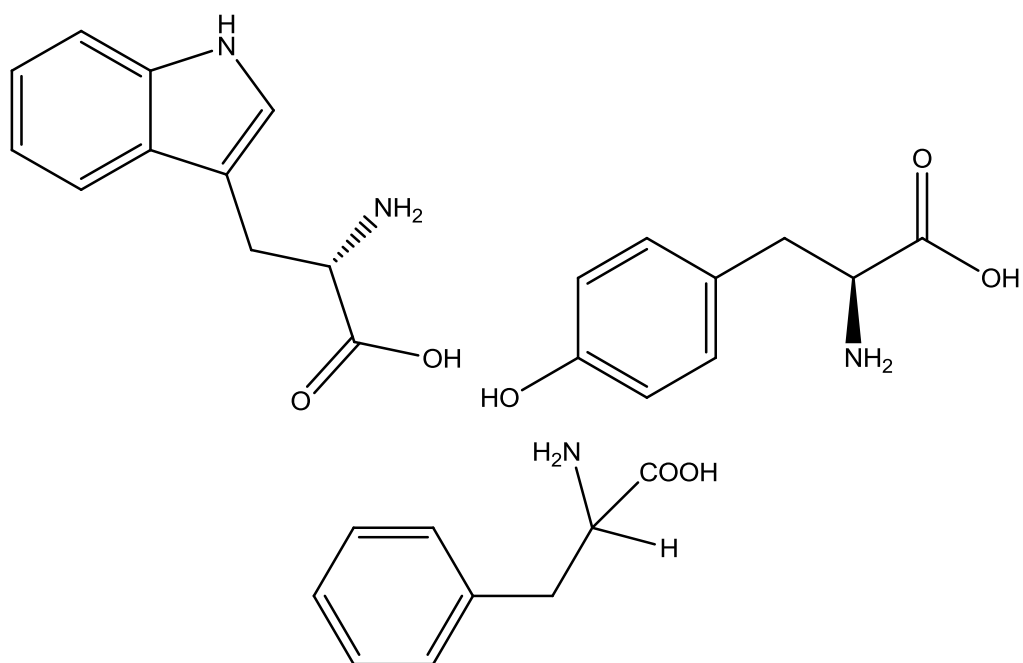
5. ábra: Spektrofluoriméter elvi rajza

2.8 Fluoroforok

A fluoroforok kutatása az egyik legfontosabb a spektrofluorimetriában. Ma már több ezer fluorofort ismerünk. Legegyszerűbb esetben ezeket két csoportra oszthatjuk: valódi és nem valódi fluoroforok. Valódi fluoroforok azok az anyagok, amelyek külső beavatkozás nélkül, természetes úton képesek fényt emittálni. Ilyenek az aromás aminosavak, NADH, flavonoidok, klorofill, valamint a piridoxil származékai. Nem valódi fluoroforokat nemfluoreszcens vizsgálándó mintákhoz adnak, amelyek fluoreszcenciát generál ezekben, illetve amelyek megváltoztatják a minta spektrumának tulajdonságait. Ilyen anyagok a danzil, fluoreszcein, rodamin és más anyagok. A fluoroforok száma drámaian nőtt az elmúlt évtizedekben.

2.9 Valódi fluoroforok

A valódi fluoroforok olyan aromás aminosavakból erednek, mint a triptofán, a tirozin vagy a fenilalanin. A triptofán indol csoportja a proteinekben az UV elnyelés és kibocsátás forrását dominánsan csökkenti. Hasonló kvantumhasznosítási tényezővel rendelkezik a tirozin a triptofánhoz képest, de az emissziós spektruma jóval szűkebb hullámhossz-tartományt fog át. Az eredeti proteinekben a tirozin emissziója gyakran kvencselődik, ami a peptidlánccal való interakciója vagy a triptofán energia-transzferjének köszönhető.



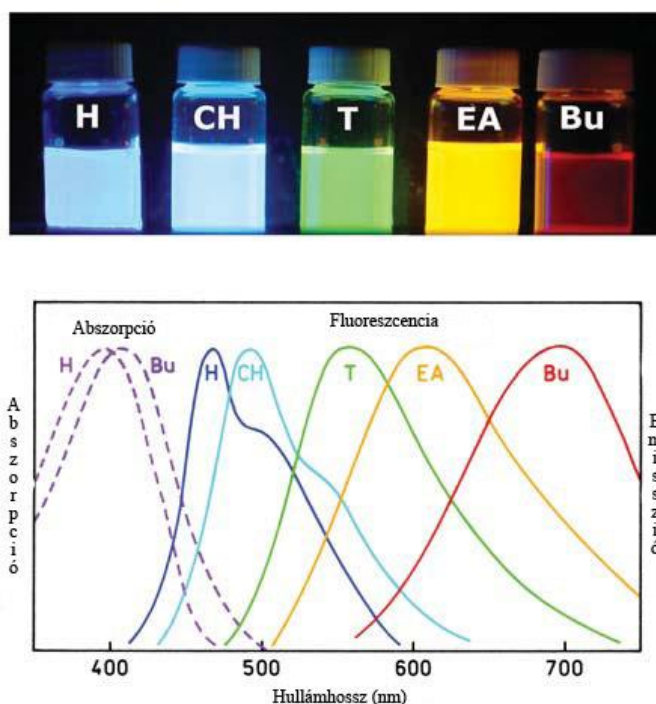
6. ábra: Valódi fluoroforok: Triptofán, tirozin és fenilalanin

2.10 Nem valódi fluoroforok

A molekulák jelentős része nem fluoreszcens, vagy a valódi fluorofor nem elég érzékeny a kiválasztott kísérlethez. A DNS és a lipidek nem sorolhatók a valódi fluoroforok közé. Ezeknél a fontos molekuláknál nem valódi fluoroforokat használnak azok megjelölésére. Proteineket gyakran kromoforokkal jelölnek meg a nagyobb emissziós és excitációs hullámhosszuk miatt, ellentétben az aromás aminosavakkal. Ezután már a megjelölt molekula könnyen nyomon követhető és vizsgálható.

2.11 Szolvatokróm effektus

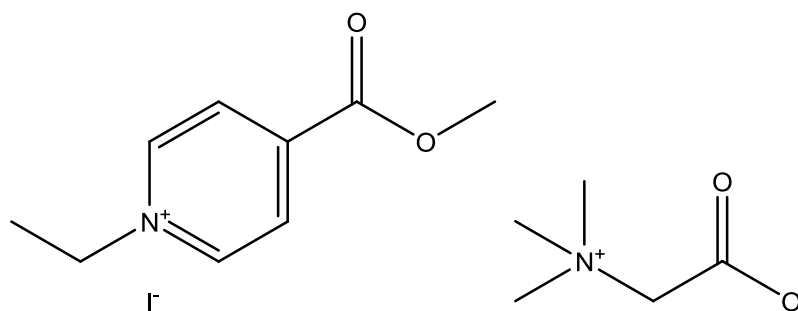
Különböző összetételű kémiai anyagok abszorpciós/emissziós spektrumára hatással van a körülötte lévő közeg, mely befolyásolja az anyag emissziós maximumának pozícióját, intenzitását és az abszorpciós hullámhossz képét. Ez a jelenség szolvatokróm effektusként ismeretes. Azonban nem csak az oldott részecskék képesek a jelenségre, hanem megfigyelhető szilárd állapotban és számos felületen vagy felületben. Szolvatokróm effektust a fényemittáló molekula gerjesztett- és alapállapotának különböző szolvatációja eredményez. Meghatározó tényezői a polarizáció, a szolvatáció, az oldószer-oldott anyag közötti hidrogén-kötés, a dipólusmomentum nagysága valamint az oldott anyag aggregációja. [7] Mivel olyan helyeken is alkalmazható, ahol nagyon érzékeny és kíméletes reaktánsok szükségesek, így előszeretettel használják a kémiai és biológiai makrorendszerek kutatásában. Amellett szolvatokróm festékként is használhatóak, mivel az oldószer polaritásának változásával változik az emittált fény hullámhossza. A jelenség a töltésmegoszláson alapszik, ehhez szükséges egy vegyületen belül elektron donor valamit elektron akceptor csoport.



7. ábra: A különböző polaritású oldószerekben oldott DNS fényképe és emissziós spektruma

H: hexán; CH: ciklohexán; T: toluol; EA: etil-acetát; Bu: butanol

A jelenséget először 1862-ben figyelte meg Berthelot és Péan de Saint Gilles [8]. A molekulák alapállapotának és első gerjesztési szintjének egymástól eltérő szolvatációját vizsgálták. Áttörést viszont Meinshutkinn munkája hozott 1890-ben, amikor tercier aminok alkilezését végezte.[9] 1958-ban Kosower használt először szolvatokróm anyagokat oldószerek polaritásainak meghatározására. Erre vonatkozóan megalkotta a Z-skálát, melyet a 4-metoxikarbonil-1-etilpridínium-jodid (8. ábra) szolvatokróm eltolódására alapozott. Később Dimrith és Reichardt betain festéket ajánlottak e helyett, amely kivételesen nagy negatív szolvatokróm hatással bír.



8. ábra: 4-metoxikarbonil-1-etilpridínium-jodid, betain

Az oldószer polaritásának növekedésével az abszorpciós sáv hipszokróm (kék irányú) eltolódását negatív szolvatokróm hatásnak nevezzük. Ezzel ellentétben a batokróm (vörös irányú) eltolódást pozitív szolvatokróm hatásnak nevezzük. A különböző polaritású oldószerekben oldott szolvatokróm részecskék emissziójának eltolódása tapasztalati polaritátskála felállítására is használható. [10]

Általában a festék-molekulák erős szolvatokróm effektust mutatnak, ha gerjesztésükkor jelentős változás következik be dipólusmomentumukban. Ha az oldószer dipólusmomentuma megnő az elektronátmenet során, az pozitív szolvatokróm hatást eredményez, ha az oldószer dipólusmomentuma viszont csökken gerjesztéskor, negatív szolvatokróm hatást figyelhetünk meg.[11]

2.12 Lippert – Mataga egyenlet:

Az egyenlet leírja a Stokes – eltolódás változását az oldószer – (pl.: törésmutató, dielektromos állandó) és a fluoreszcens molekula (pl.:dipólusmomentum) tulajdonsága között:

$$v_a - v_f = \frac{2}{hc} \cdot \left(\frac{\varepsilon-1}{2\varepsilon+1} - \frac{n^2-1}{2n^2+1} \right) \cdot \frac{(\mu_E - \mu_G)^2}{a^3} + konstans \quad (6)$$

ahol:

v_a ... abszorpciós hullámszám

v_f ... emissziós hullámszám

h ... Planck-állandó

c ... Fénysebesség

a ... fluorofoor tartózkodási területének az átmérője

μ_E ... gerjesztett állapot dipólusmomentuma

μ_G ... alapállapot dipólusmomentuma

n ... törésmutató

2.13 Lippert egyenlet

$$hc\Delta v = hc(v_a - v_f) = \frac{2\Delta f}{a^3} (\mu_E - \mu_G)^2 + konstans \quad (7)$$

ahol:

Δv ... Stokes eltolódás (az excitációs és az emissziós maximum közti eltolódás)

Δf ...orientációs polarizálhatóság

Ha nincs az oldószer és az fluorofoor polaritása között számottevő különbség, az egyenlet a következőképpen módosul:

$$hc\Delta v = \Delta f \left[\frac{\varepsilon-1}{\varepsilon+2} - \frac{n^2+1}{n^2+2} \right] \frac{2n^2+1}{n^2+2} + konstans \quad (8)$$

ahol:

$$\Delta f = \frac{2}{hc\alpha^3} (\mu_G^2 - \mu_E^2 - \mu_G^2 \mu_E^2 \cos\alpha) \quad (9)$$

α ...a gerjesztett- és az alapállapot dipólusmomentuma által bezárt szög. [12] [13]

2.14 Kamlet Taft egyenlet

A fizikai, kémiai és más paraméterek (reakcióhányados, egyensúlyi állandó) vizsgálására a legelfogadottabb a multi-paraméteres megközelítés. Kamlet-Taft π^* skála rászolgált a különleges figyelemre, ugyanis sikeresen alkalmazható IR, NMR, ESR és UV-vis abszorpciók

maximumok helyének vagy intenzitásának meghatározására. A megfigyelt paramétert Y -nal jelöljük és a hozzá tartozó variánsokat az alábbi általánosított egyenlet mutatja be:

$$Y = Y_0 + s\pi^* + a\alpha + b\beta \quad (10)$$

ahol:

π^* ... polaritás/polarizálhatóság hatása az oldószerre

α ... oldószer HBD (hidrogen bond donor) savassága

β ... oldószer HBA (hidrogen bond acceptor) bázicitása

Az „s”, „a”, és „b” állandók leírják az egyedi hozzájárulásokat minden egyes folyamatok érzékenységeire. A koefficiensek minden értéken végigfutnak és legtöbb esetben kisebb értéket adnak „s” koefficiensnél, ami az oldószer-oldott anyag dipól-dipól kölcsönhatásánál gyengébb, hidrogén kötést donáló vagy fogadó oldószer tulajdonságát jelzi. A Kamlet-Taft adatfeldolgozás előnye, hogy kiszűri a mennyiségi tulajdonságokat, mint például a hidrogén-kötés. Hátránya viszont, hogy csak egy paraméter jellemzi a depolaritást és a polarizálhatóságot (π^*).

A $d\delta$, ami ezen a paraméter korrekciójául szolgál nem alkalmas a probléma megoldására, mert nem lehetséges két rokon oldószer között a polarizálhatóság hatásának differenciálása. (δ három értéket vehet fel: 1 → aromás oldószer, 0,5 → polihalogenizált oldószer, 0 → alifás oldószer). További hátránya, hogy a paraméterek meghatározása nem egy jól meghatározott referencia folyamaton, hanem számtalan minta átlagolt mérésének a deriválásán alapszik.

2.15 Catalán megközelítés

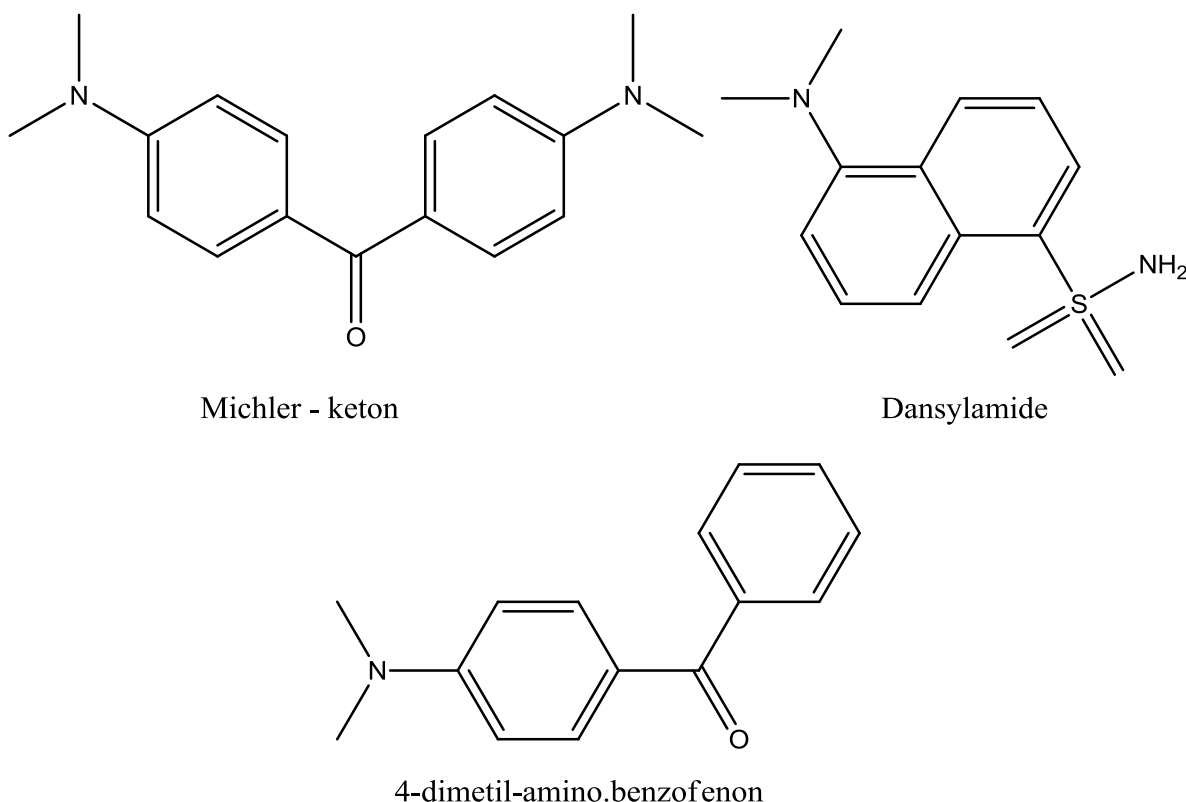
Az utóbbi években Catalán és munkatársai három alternatív tapasztalati polarizációs skálát mutatott be: SA SB SPP. A Catalán megközelítés előnye, hogy minden szolvatokróm oldószer paraméter jól meghatározható referencia homomorfiás szolvatokróm minta párokon alapszik és ezek a paraméterek (SP) a szolvatokróm mérési eljárás során lépcsőzetes különbség mutatkozik a környezet polarizálhatóságában. Catalán féle meghatározás során egy másik multi-paraméteres egyenlet javasolt, amelyben két fajlagos és két nem fajlagos paramétert hasonlítunk össze.

$$\tilde{\nu} = \tilde{\nu}_{max,0} + a_{SA}SA + b_{SB} \cdot SB + s_{SP}SP + t_{SdP}SdP \quad (11)$$

A fotofizikális adatok multi-lineáris regresszióján keresztül a koefficiensek egyidejűleg tartalmazottak, tehát hozzájárulnak az oldószer tulajdonságainak, úgymint savasság (SA vagy α), bázicitás (SB vagy β) vagy polaritás, polarizálhatóság (SP, SdP vagy π^*) valamint a festék fotofizika tulajdonságának viszonylagos becsléséhez.[14]

2.16 Szolvatokróm anyagok

Szolvatokróm anyagok segítségével képesek vagyunk oldószerek polaritásának meghatározására. Ezeket az anyagokat indikátorként használhatjuk oldószerek polaritásának meghatározására, biológiai molekulák követésére és azok biológiai funkcióinak azonosítására. Gyakran a polaritás-érzékeny jelzőmolekulák használata az egyetlen mód arra, hogy fehérjéket vagy lipideket és ezek kettős rétegeit, valamint természetes membránokat vizsgáljunk. [15]



9. ábra: Néhány szolvatokróm anyag

3. Kísérleti rész

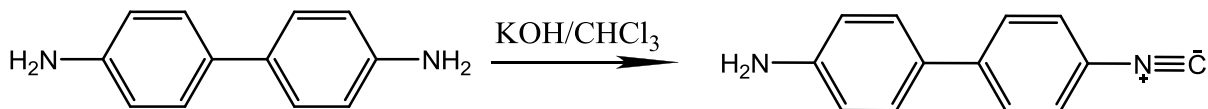
3.1 Felhasznált anyagok

Oldószer neve	Oldószer képlete	Tisztaság	Gyártó neve
Aceton	C ₃ H ₆ O	A.r.	Molar Chemicals
Acetonitril	C ₂ H ₃ N	Analitikai tisztaság	VWR
Ciklohexán	C ₆ H ₁₂	A.lt.	Reanal
Deuterált kloroform	CDCl ₃	99% D	Sigma-Aldrich
Diklórmétán (DKM)	CH ₂ Cl ₂	A.r.	Molar Chemicals
DMF	C ₃ H ₇ NO	HPLC minőség	VWR
Dioxán	C ₄ H ₈ O ₂	A.lt.	Reanal
DMSO	C ₂ H ₆ SO	HPLC minőség	Carlo Erba
Etil-acetát	C ₄ H ₈ O ₂	A.r.	Molar Chemicals
Hexán	C ₆ H ₁₄	A.r.	Molar Chemicals
Izopropanol	C ₃ H ₈ O	A.r.	Molar Chemicals
Kloroform	CHCl ₃	A.r.	Molar Chemicals
Metanol	CH ₄ O	A.r.	VWR
Piridin	C ₅ H ₅ N	HPLC minőség	VWR
THF	C ₄ H ₈ O	HPLC minőség	VWR
Toluol	C ₇ H ₈	HPLC minőség	Molar Chemicals

2. táblázat: A kísérletekhez felhasznált anyagok

3.2 A 4-amino-4'-izocianobifenil (ICAB) szintézise

Nyomásálló reaktorcsőben végeztük a kísérletet. A kevertetést mágneses keverővel valósítottuk meg. A reaktorcsőbe benzidint (2,00 g, 10,9 mmol), kloroformot (15 ml), kálium-hidroxidot (3,00 g, 53,48 mmol), és vizet (10 ml) tettünk. A reakciót 120 °C-on 3 napig folyamatosan kevertetve végeztük. Lehűlés után az elegyet extraháltuk, a szerves fázist MgSO₄-on szárítottuk, majd bepároltuk. A 2,03 g nyersterméket (sötétbarna, kristályos) normál fázisú szilikagélre párolva, szilikagéllal töltött oszlopra vittük fel és oszlopoztuk diklórmétán eluenssel. 71 mg diizonitrilt és 0,53 g amino-izonitrilt kaptunk. A kitermelés 25%.



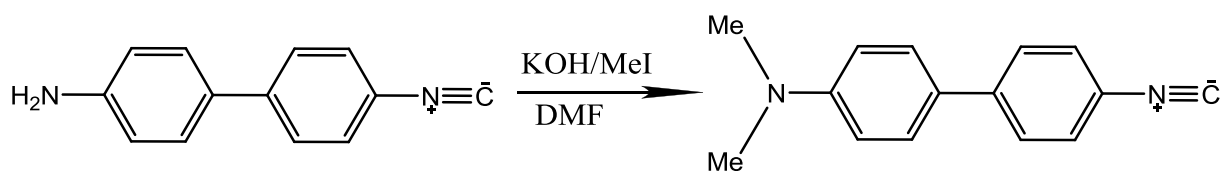
10. ábra: 4-amino-4'-izocianobifenil (ICAB) szintézise



11. ábra: Az ICAB szintézishez használt kísérleti elrendezés, bombacsővel, olajfürdővel.

3.3 A 4-(*N*-metilamino)-4'-izocianobifenil (*monoMICAB*) és 4-(*N,N*-dimetilamino)-4'-izocianobifenil (*diMICAB*) szintézise

A kísérletet egy 100 cm³-es gömblombikban folyamatosan kevertetve végeztük el. A lombikba 4-amino-4'-izocianobifenilt (0,200 g, 1,03 mmol), metil-jodidot (192 μ l, 3,09 mmol), kálium-hidroxidot (0,28 g, 5 mmol) és absz. dimetil-formamidot tettünk. 1 nap után már számottevő konverzió és kevés kiindulási anyag látható a vékonyrétegen. Tovább kevertettük 3 napig, így minimális volt a kiindulási anyag mennyisége. A reakcióelegyet kb. 20 ml diklórmetánnal, majd háromszor (sós) vízzel választótölcsérben extraháltuk, a diklórmetános fázist MgSO₄-on szárítottuk, majd bepároltuk. A 190 mg nyersterméket (a kiindulási anyaghoz hasonló halványsárga kristályos anyag) diklórmetán : hexán 1:1 (v/v) elegyével normál fázisú szilikagélen oszlopoztuk. 60 mg (27%) monometil-, 62 mg (28%) dimetil-ICAB származékot sikerült kinyernünk. Mindkét termék fehér, kristályos.



12. ábra: 4-(N,N-dimetilamino)-4'-izocianobifenil (diMICAB) előállítása

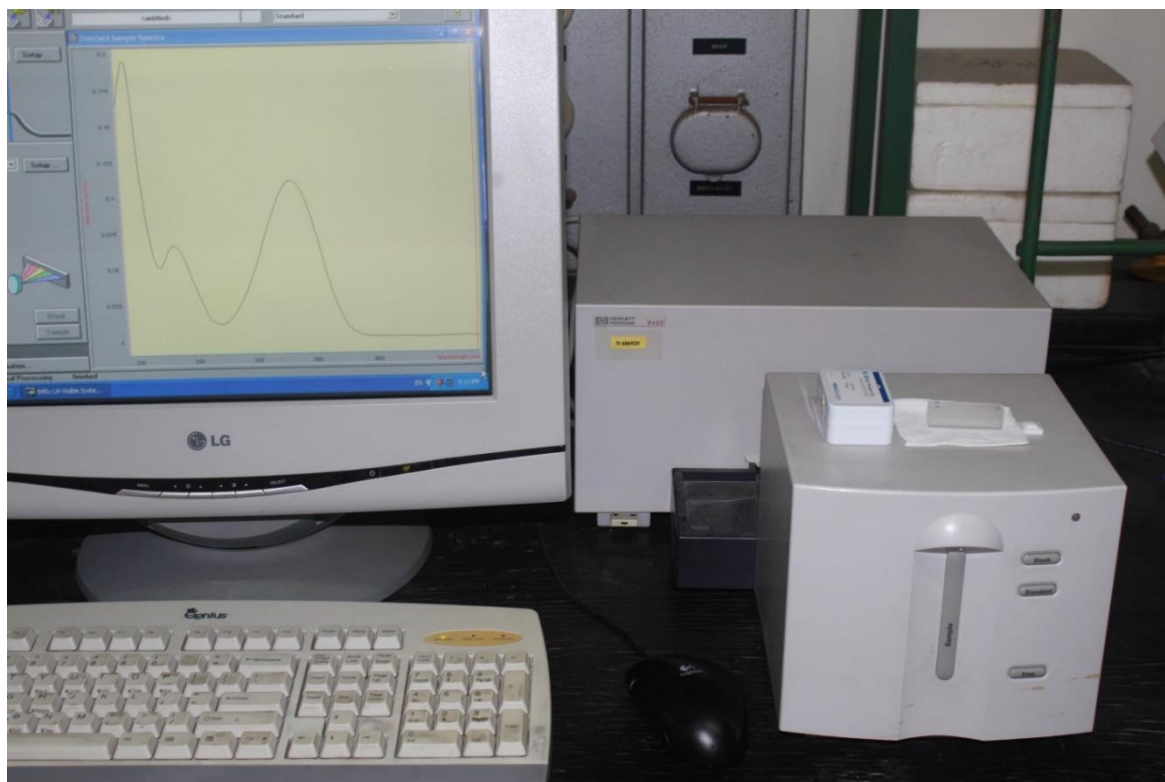
3.4 Alkalmazott vizsgálati módszerek

3.4.1 Magmágneses rezonancia spektroszkópia (NMR)

A méréseket Bruker Avance DRX-400 típusú készüléken végeztük 25 °C-on-on CDCl₃-ban. Az ¹H-NMR spektroszkópai vizsgálatokat 400 MHz-en, a ¹³C-NMR-t 100 MHz-en hajtottunk végre. Belső standardként tetrametil-szilánt (TMS) használtunk.

3.4.2 UV – Vis spektroszkópia

Az ultraibolya-látható fotometriás méréseket HP 8453 diódasoros spektrofotométerrel végeztük, 1 cm-es fényúttal rendelkező kvarc küvettában, a méréshez 3,00 cm³ oldatot készítettünk elő.



13. ábra: Az UV-vis mérésekhez használt fotométer

3.4.3 Fluoreszcenciás mérés

A fluoreszcenciás vizsgálatokat egy Xe-lámpa fényforrással ellátott Jasco FP-8200 spektrofluoriméteren végeztük. Az excitációs és emissziós spektrumokat szobahőmérsékleten rögzítettük 2,5 nm excitációs és 5,0 nm emissziós sávszélesség, illetve 100 nm/perc pásztázási sebesség mellett alacsony intenzitáson. A minták koncentrációját úgy állítottuk be, hogy az abszorbanciájuk 0,1 alatt maradjon, az önabszopciót elkerülendő. A kvantumhasznosítási tényező számításához 0,1 mol/dm³ koncentrációjú kinin-szulfát kénsavas oldatát használtuk referenciaoldatként ($\Phi_k=55\%$).



14. ábra: A fluoreszcenciás méréshez használt spektrofluoriméter

4. Eredmények és értékelésük

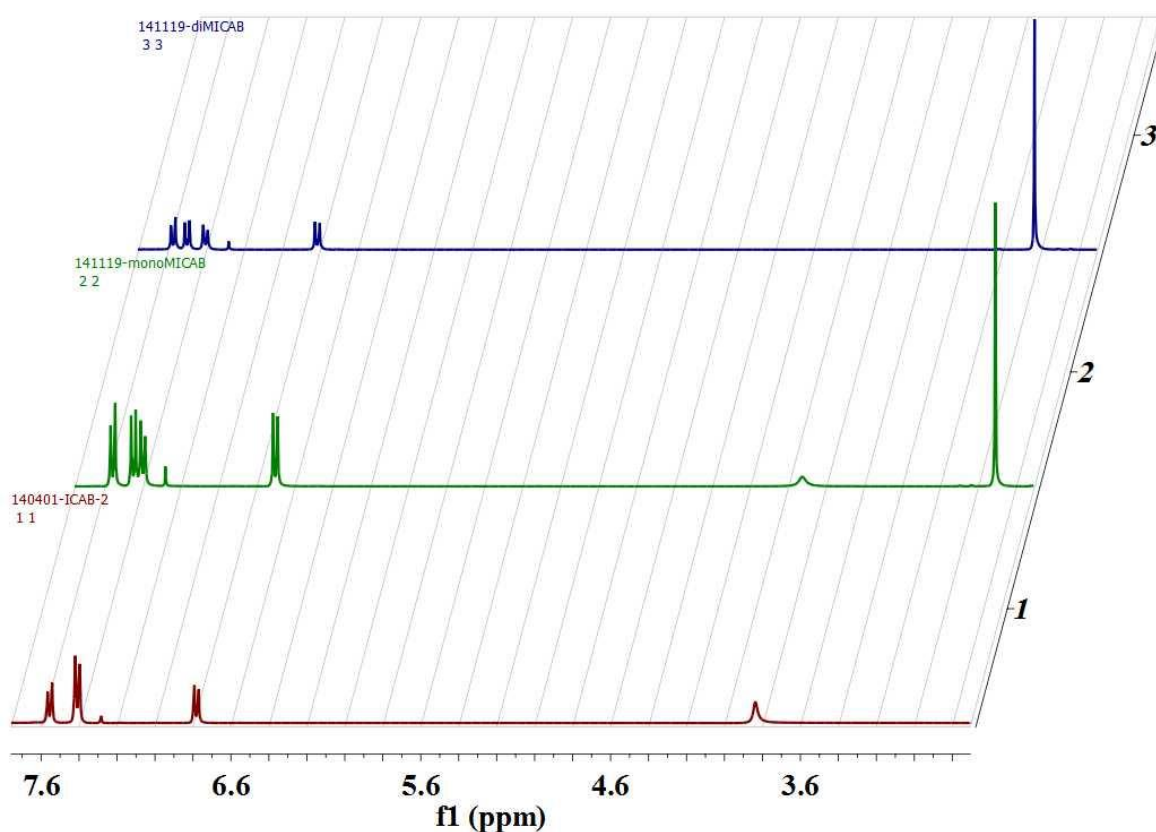
A legismertebb naftalin alapú szolvatokróm anyagok a LAURDAN (6-lauroil-1,2-dimetilamoninaftalin) és a PRODAN (6-propionil-1,2-dimetilaminonaftalin). A karbonil és a dimetilamino csoport között parciális töltésszétválás valósul meg, mely jelentős dipólusmomentumot kölcsönöz a molekulának. Ez a dipólusmomentum gerjesztéssel tovább növelhető, ami az oldószermolekuláknak a gerjesztett fluorofofor körüli átrendeződéséhez vezet. Az újrendeződés csökkenti a gerjesztett állapot energiáját, ezáltal jelentősen megváltoztatja az emissziós folyamat Stokes-eltolódását. Kutatócsoportunk a világon elsőként helyettesítette a karbonil csoportot izociano csoporttal, ezzel egy nagyon egyszerűen előállítható és a PRODAN-hoz hasonló kiváló szolvatokróm tulajdonságokkal rendelkező molekulát az 1-amino-5-izocianonaftalint (ICAN) kapva.

Kutatócsoportunk célja egy az ICAN-hoz hasonló molekulacsalád kifejlesztése volt. A szolvatokróm viselkedést alapvetően meghatározó dipólusmomentumot akartuk tovább növelni a donor (amino) és az akceptor (izociano) csoportok közötti távolság növelésével. A naftalin vázat ezért bifenilre cseréltük (ICAB), valamint a molekula polarizálhatóságának növelése érdekében metil csoportokat vittünk fel az aminocsoportra (monoMICAB, diMICAB). Kiindulási anyagként a 4,4'-diaminobifenilt (benzidin) választottuk egyrészt a para-szubsztituensek közötti nagy távolság (ezáltal várhatóan nagy polarizációs tengely), valamint a benzidin sokoldalú felhasználása (pl. festékipar) és könnyű hozzáférhetősége miatt. A benzidin optikai tulajdonságait referenciaként használtuk az általunk előállított vegyületek vizsgálatánál.

4.1 Az ICAB és származékainak NMR spektroszkópiai vizsgálata

Benzidinből kiindulva diklórkarbénés reakcióval (CHCl_3 , KOH, reflux) állítottuk elő az ICAB-ot, melyet oszlopkromatográfiás tisztítás után metil-jodiddal reagáltattunk bázis jelenlétében. A képződő mono- és dimetil származékokat szintén oszlopkromatográfiával tisztítottuk. A termékek tisztaságát és szerkezetét ^1H - és ^{13}C -NMR spektroszkópiával ellenőriztük.

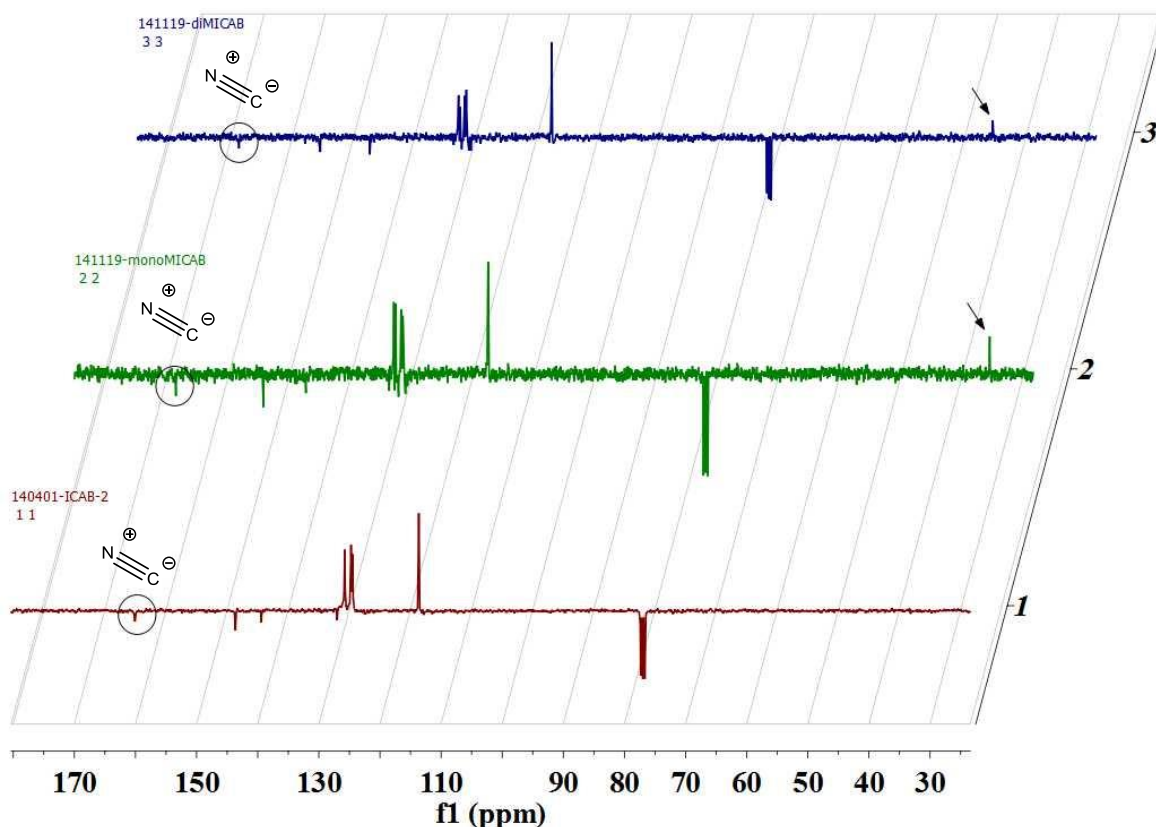
A mérések igazolják, hogy minden ICAB származékok esetében tiszta anyagot kaptunk, a csúcsok a várt értékeknél jelentek meg, ahogyan a 15. ábrán is jól megfigyelhető. A szimulált spektrumok, amelyek segítségével beazonosítottuk a csúcsokat, a dolgozat Függelékében találhatóak.



15. ábra: Az ICAB (piros), monoMICAB (zöld) és diMICAB (kék) ^1H -NMR spektrumai, (CDCl_3 , 25 °C)

A spektrumokon csakis az adott molekulához tartozó jelek találhatóak igazolva mindhárom anyag tisztaságát. Az amino csoporthoz tartozó diffúz jelet körülbelül 3,9 ppm-nél láthatjuk. Megfigyelhetjük, ahogy az első metil csoport felvitelével csökken az amin jele, miközben ~3,2 ppm-nél megjelenik a metil csoport csúcsa. A dimetil származéknál az amin jel teljesen eltűnik,

a metil csoport jele pedig kétszeres intenzitású a monometil származék metil jeléhez viszonyítva.



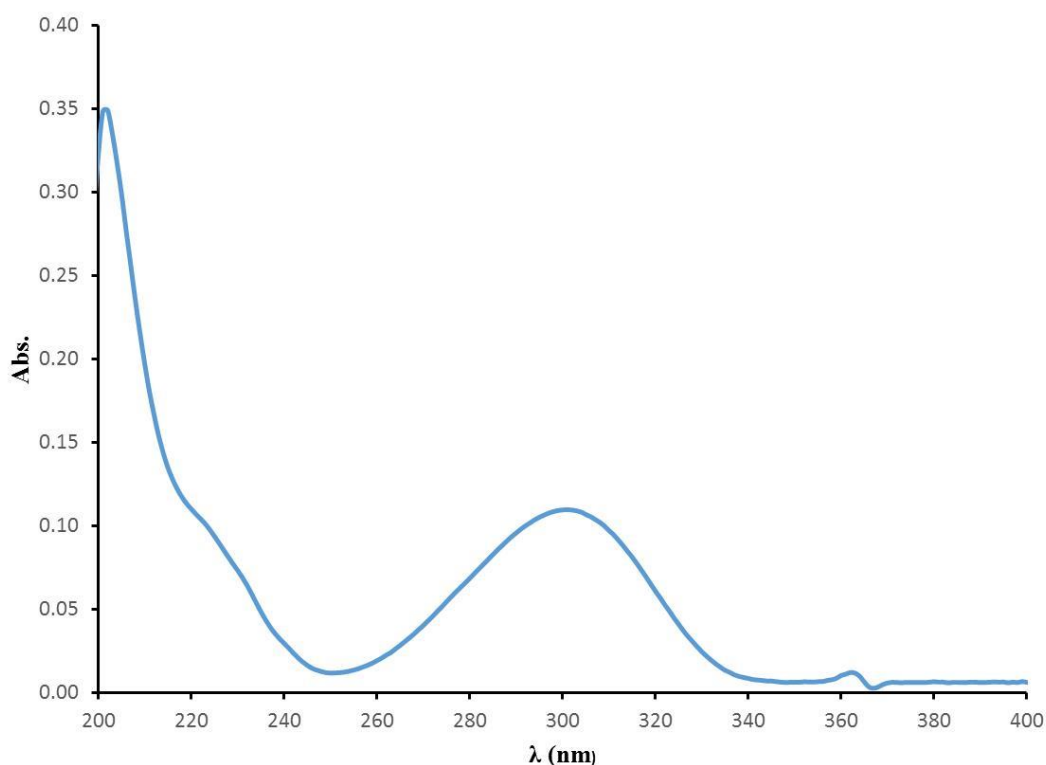
16. ábra: Az ICAB (piros), monoMICAB (zöld) és diMICAB (kék) ^{13}C -NMR spektrumai, (CDCl_3 , 25 °C)

A 16. ábrán bemutatott ^{13}C -NMR spektrumokon sem azonosítható szennyeződés jele egyik esetben sem. Az izociano csoport mind a három esetben 165 ppm-nél található, ami megegyezik a várt értékkel. Az oldószer deuterál-kloroform volt, aminek a tripletje 77 ppm-nél látható. A monoMICAB, valamint a diMICAB spektrumán fellelhető a felvitt metil csoport jele 35 ppm-nél illetve 45 ppm-nél.

4.2 Steady-state optikai tulajdonságok vizsgálata

4.2.1 UV-Vis mérések

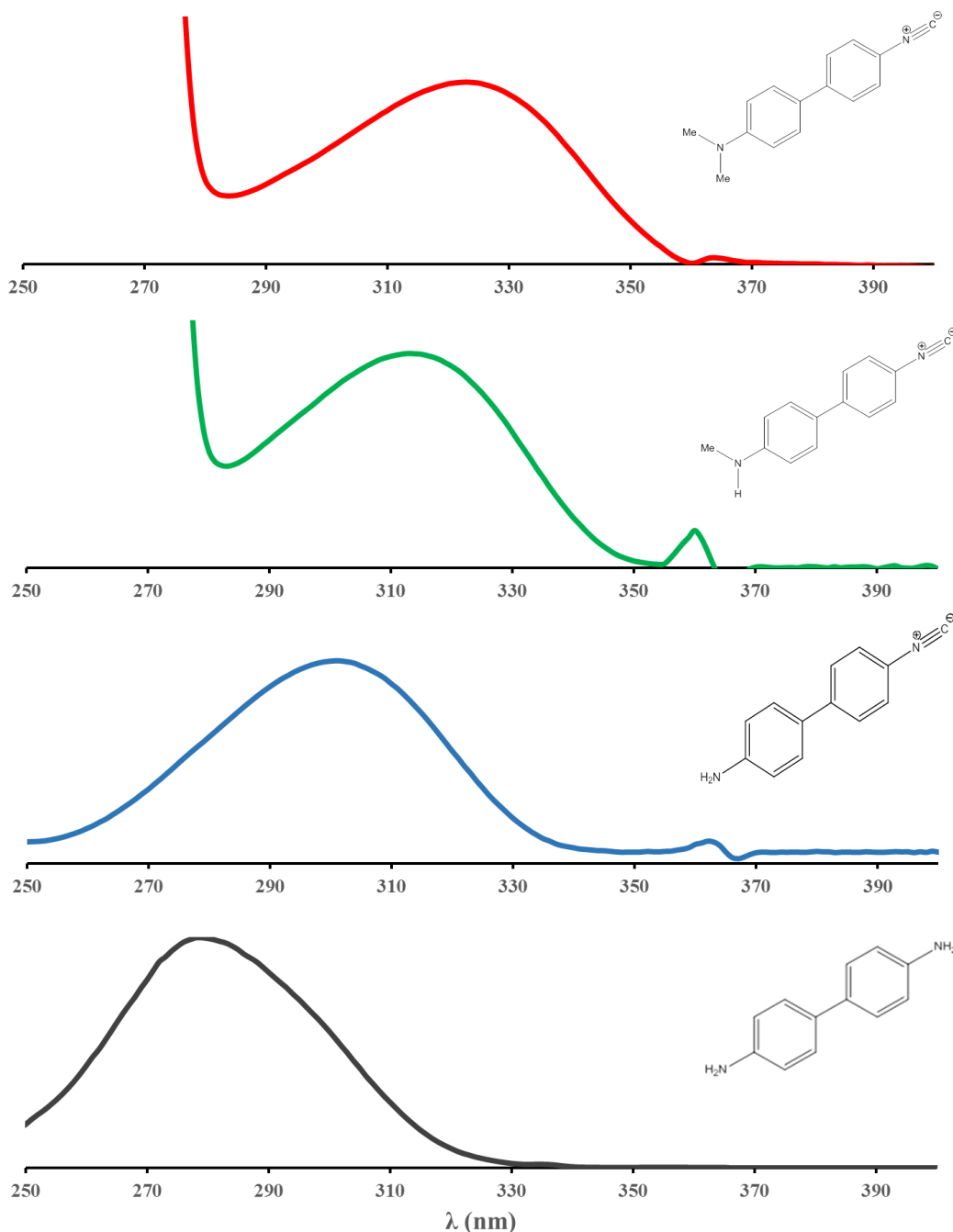
A termékek gerjesztési hullámhosszának meghatározásához UV-vis méréseket végeztünk. Az abszorpciós spektrumok felvétele segített a fluoreszcens méréseknél alkalmazott koncentrációk meghatározásánál is, ugyanis az emissziós méréseket olyan koncentrációknál kell végezni, ahol az abszorbancia értéke 0,1 alatt van, a gerjesztés során fellépő önabszorpciót elkerülendő. Az alábbi ábrán az ICAB hexánban felvett abszorpciós spektruma látható. A többi termék spektruma a Mellékletben kerül bemutatásra.



17. ábra: ICAB hexánban mért abszorbancia spektruma

A spektrum elég egyszerű felépítésű: egy nagy energiájú elnyelési sávot figyelhetünk meg 200-240 nm között, mely valószínűleg a π - π^* átmenetekhez tartozik. A HOMO-LUMO átmenet széles, kis intenzitású csúcsként figyelhető meg 300 nm körüli maximummal. A 18. ábrán jól megfigyelhető az izonitril csoport bevitelének hatása a molekulák abszorpciós spektrumának kinézetére. A benzidin amino csoportjának izonitrilre cserélése az eredetileg 279 nm-nél található csúcsot ~20 nm-el feljebb 301 nm-re tolja az amino és izonitril csoport közötti töltésmegoszlás kialakulása miatt. A molekulában az izonitril- elektronszívó, az amino csoport elektronküldő tulajdonságú. Az elektronküldő tulajdonságot az NH_2 -csoport metilezésével

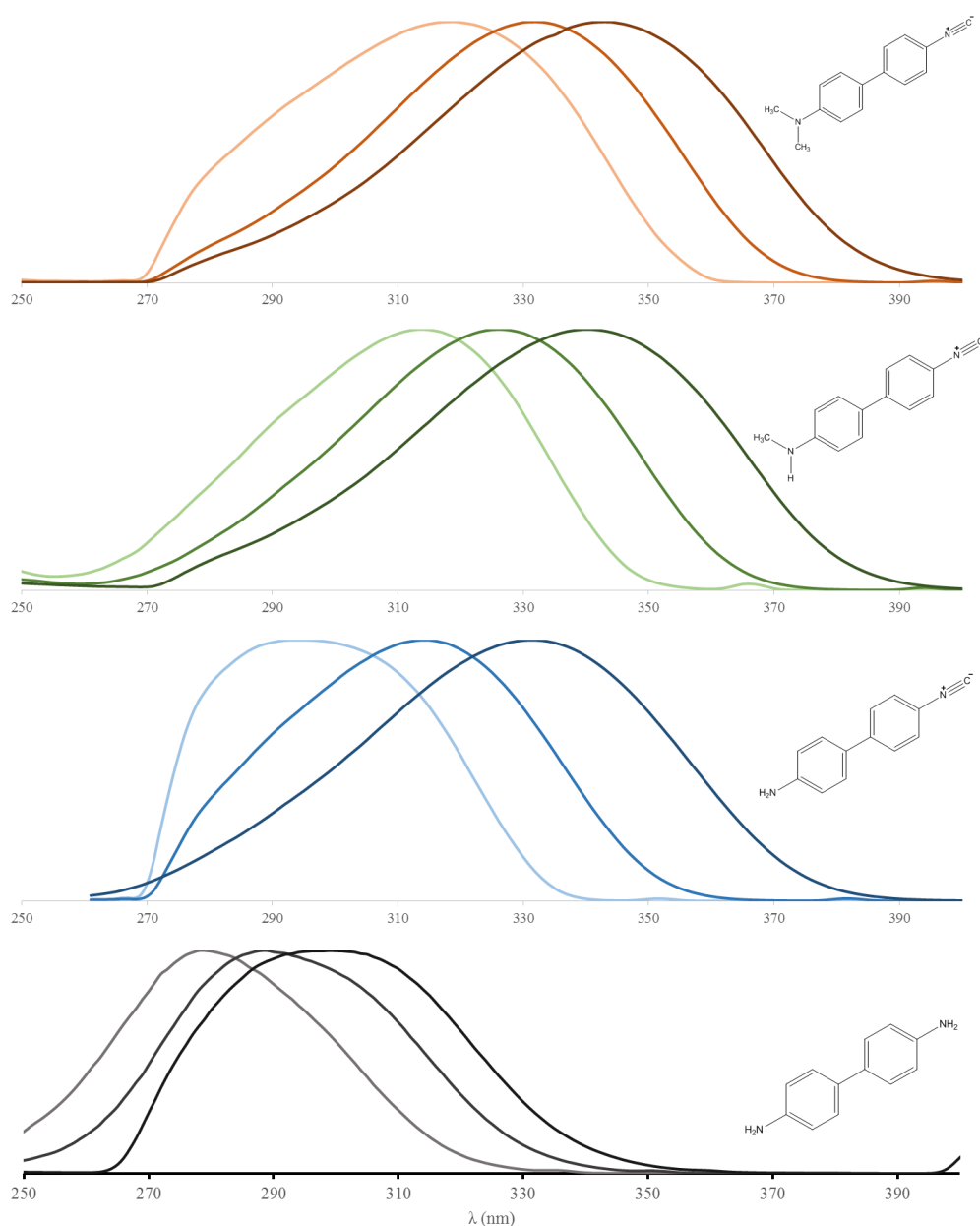
fokozhatjuk. Ezúton a töltésmegoszlás nagyobb mértékű lehet, mely a HOMO-LUMO átmenet energiáját csökkenti, ezáltal az abszorpciós csúcs helyzetét nagyobb hullámhosszak irányába tolja el. Ez a batokróm eltolódás jól megfigyelhető a 18. ábrán: Egy metil csoport bevitele több mint 10 nm eltolódást, az újabb metil csoport bevitele pedig további 10 nm eltolódást eredményez. Az abszorpciós maximum helyzetét tehát 279-nm-ről 323 nm-re sikerült eltolnunk diMICAB esetében a kiindulási benzidinhoz képest. Az alacsonyabb gerjesztési energia jobb gyakorlati alkalmazhatósággal párosulhat. Továbbiakban fluoreszcens méréseknél ezt a csúcst használtuk gerjesztésre.



18. ábra: Benzidín, ICAB, monoMICAB, diMICAB hexánban mért abszorpciós spektrumai

4.2.2 Fluoreszcencia mérések

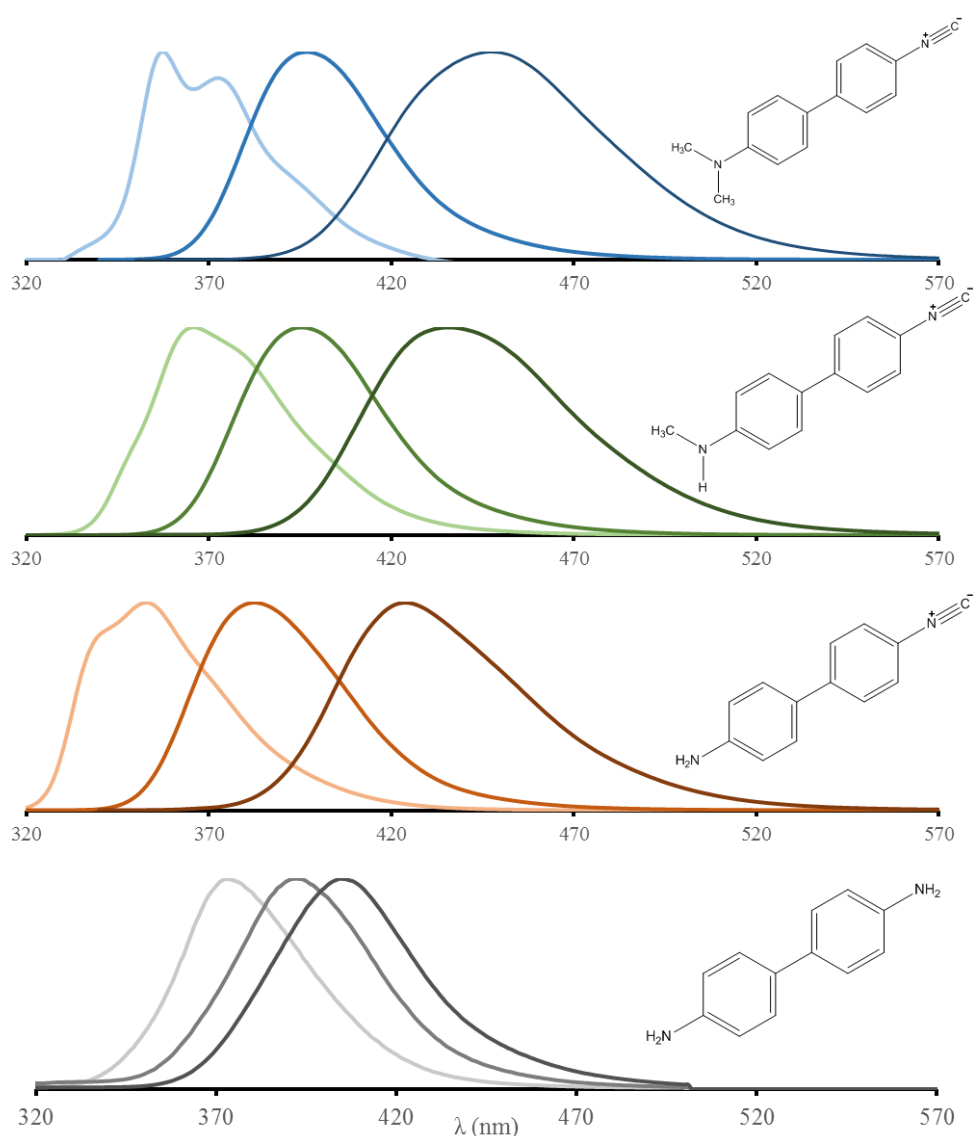
Az UV spektrumok felvétele után minden vegyület esetén meghatároztuk a gerjesztési (excitációs) spektrumot. A HOMO-LUMO átmenet csúcsát használva felvettük az emissziós spektrumokat majd ezek legintenzívebb csúcsait használva meghatároztuk a hozzájuk tartozó gerjesztési spektrumokat. Különböző oldószerekben vizsgálva az excitációs maximum helyzete benzidin esetében 279-306 nm, ICAB esetében 298-329 nm, monoMICAB esetében 305–338 nm, valamint diMICAB esetében 315–340 nm között található. A molekulák excitációs spektrumait a 19. ábrán, illetve a Mellékletben mutatom be.



19. ábra: A Benzidin, ICAB, monoMICAB, diMICAB hexánban, dioxánban és DMSO-ban (balról jobbra) mért excitációs spektrumai. (20°C , $V=3\text{cm}^3$, $c = 4,12 \cdot 10^{-7}\text{M}$)

Az excitációs spektrumokon is jól megfigyelhető, hogy a benzidin NH_2 -csoportját izonitrillé alakítva a gerjesztési energia lecsökken. A batokróm eltolódás a jobb konjugációval és az amino- és izonitril-csoport közötti töltésmegoszlás következtében lecsökkent HOMO-LUMO távolsággal magyarázható. Az excitációs maximumok csak kis oldószerfüggést mutatnak, azaz 20-30 nm-es tartományon belül helyezkednek el. Ez jó összhangban van az elmélettel, miszerint az abszorpciós spektrumok alakját csak kevésbé befolyásolják az oldószerhatások. A Frank-Condon elv szerint ugyanis a gerjesztés pillanatszerű az atommagok mozgásához képest, így az alapállapotú és a gerjesztett állapotú molekulageometria megegyezik, a szolvátburok szerkezete is változatlan marad.

Következő lépésként a gerjesztési maximumok ismeretében megvizsgáltuk az anyagok emissziós spektrumait is:



20. ábra: Benzidin, ICAB, monoMICAB, diMICAB hexánban, dioxánban és DMSO-ban (balról jobbra) mért emissziós spektrumai. (20°C , $V=3\text{cm}^3$, $c = 4,12 \cdot 10^{-7}\text{M}$)

Benzidin esetén a 20. ábrán jól megfigyelhető, hogy az emissziós maximumok az összes vizsgált oldószerben az UV tartományban helyezkednek el. Ezt vizuális megfigyeléseink is alátámasztották: UV-lámpa alatt sem 254 sem 365 nm-es gerjesztéssel nem észleltünk fluoreszcenciát, így erről a sorozatról fényképfelvétel sem készült. A legalacsonyabb emissziós hullámhosszt hexánban mértünk (372 nm), a legmagasabb hullámhosszt pedig DMSO-ban (403 nm), eltolódás mértéke $\Delta\lambda=31$ nm. Az eltolódás közel azonos az excitációs tartománynál tapasztalt értékkel (~ 37 nm), ami alapján bátran kijelenthető, hogy a benzidin nem jöhet szóba, mint szolvatokróm molekula gyakorlati alkalmazásoknál.

Az izociano csoport felvitelének hatása legjobban az emissziós spektrumokban jelentkezik. A benzidinnél megfigyelt 30 nm-es szolvatokróm tartomány mindegyik általunk előállított vegyületnél közel, vagy több mint háromszorosára szélesedett. ICAB esetén a legalacsonyabb hullámhosszt hexánban (353 nm) mértünk, a legmagasabb hullámhosszt pedig vízben (457 nm), az eltolódás értéke $\Delta\lambda=107$ nm.

monoMICAB esetén a legalacsonyabb hullámhosszt hexánban (357 nm) mértünk, a legmagasabb hullámhosszt pedig vízben (458 nm), az eltolódás mértéke $\Delta\lambda=92$ nm.

diMICAB esetében a legalacsonyabb hullámhosszt hexánban (357 nm) mértünk, a legmagasabb hullámhosszt pedig DMSO-ban (447 nm), az eltolódás mértéke $\Delta\lambda=90$ nm. Némileg meglepő, hogy vízben a vártnál jóval kisebb eltolódást (417 nm) tapasztaltunk, emiatt a diMICAB szolvatokróm tartománya is szűkebb lett ~ 10 - 20 nm-rel az elvártnál. A jelenség valószínűleg annak tulajdonítható, hogy a diMICAB nem tartalmaz szabad NH hidrogént, amely a vízzel kölcsönhatásba tudna lépni, így az oldhatóságot javítani. Feltételezéseink szerint vízben a molekuláink a gyenge oldhatóság miatt asszociálódnak így a környezetük apolárosabb lesz az elvártnál. Hexánban és ciklohexánban kettős csúcsot kaptunk, mely kisebb mértékben már az ICAB spektrumában is megjelent. Az emissziós sáv felhasadása valószínűleg egy N-H, vagy N-C rezgési átmenet megjelenésének tulajdonítható az emissziós spektrumban.

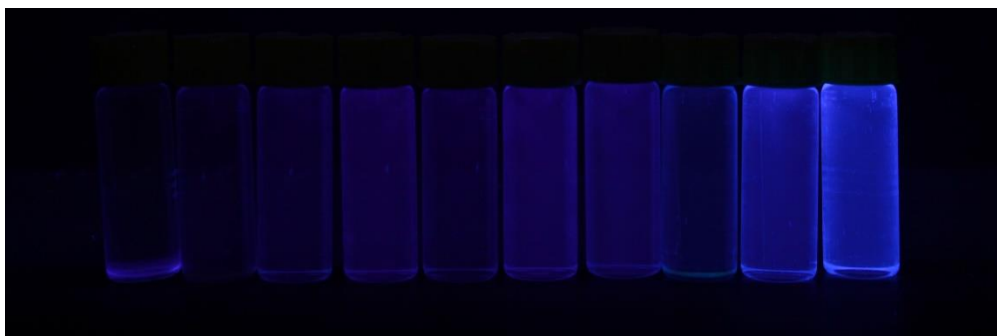
Az adatok összehasonlításával megállapítható, az alapvegyületre ráépítve az elektron donor csoportot jelentősen megnöveltük az eltolódás mértékét. A metil csoportok hozzáadása némileg csökkentette az eltolódás mértékét, jelentősen nem befolyásolta azt. Ezeken a diagramokon tisztán látható az alapvegyület és a termékek oldószer függése. Látható, hogy az oldószer polaritásának növelésével tolódik el vörös irányba az emittált fény hullámhossza. Ezt a jelenséget pozitív szolvatokróm - vagy batokróm tulajdonságnak nevezzük.

Az általunk vizsgált molekulák: benzidin, ICAB, monoMICAB és diMICAB spektrális adatainak szemléletes összesítése a 3. táblázatban kerül bemutatásra.

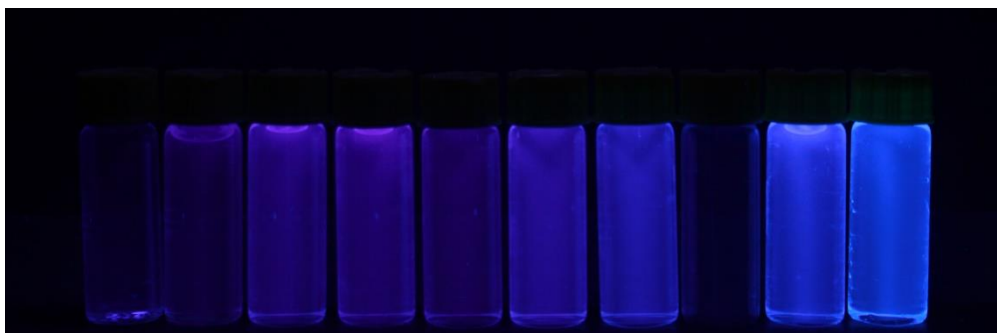
	$\lambda(\text{ex})$ nm				$\lambda(\text{em})$ nm				Stokes shift ($\Delta\nu$, cm ⁻¹)				Φ_F (%)		
	<i>Benzidin</i>	<i>ICAB</i>	<i>monoMICAB</i>	<i>diMICAB</i>	<i>Benzidin</i>	<i>ICAB</i>	<i>monoMICAB</i>	<i>diMICAB</i>	<i>Benzidin</i>	<i>ICAB</i>	<i>monoMICAB</i>	<i>diMICAB</i>	<i>ICAB</i>	<i>monoMICAB</i>	<i>diMICAB</i>
<i>Hexán</i>	279	301	313	323	373	353	366	357	9033	4894	4626	2949	13,41	5,51	5,93
<i>Ciklohexán</i>	-	302	316	325	-	354	368	360	-	4864	4472	2991	6,1	7,21	7,43
<i>Toluol</i>	295	310	323	329	295	371	388	387	7857	5304	5187	4555	6,59	6,1	5,82
<i>Diklórmétán</i>	286	307	322	336	384	390	405	412	8923	6932	6365	5490	6,45	12,26	6,73
<i>THF</i>	306	319	331	334	394	396	406	408	7299	6095	5581	5430	7,1	8,42	14,61
<i>Kloroform</i>	305	305	322	331	384	398	400	405	6745	7661	6056	5520	1,9	6,16	2,69
<i>Etil-acetát</i>	285	315	326	330	391	397	403	406	9512	6557	5861	5672	5,91	5,97	6,52
<i>Dioxán</i>	289	315	326	330	392	383	395	397	9092	5636	5358	5114	17,32	8,02	6,63
<i>Aceton</i>	-	329	325	327	-	407	427	422	-	5825	7350	6884	4,58	5,23	5,05
<i>Metanol</i>	281	308	327	333	397	419	422	430	10398	8601	6884	6774	0,84	4,73	1,49
<i>Piridin</i>	-	325	336	340	-	415	421	422	-	6673	6009	5715	0,49	0,32	5,77
<i>Acetonitril</i>	286	310	324	333	393	410	421	429	9520	7868	7111	6720	6,11	8,59	7,64
<i>DMF</i>	299	314	335	339	403	423	435	433	8631	8206	6862	6404	7,23	4,76	15,08
<i>DMSO</i>	292	318	338	340	404	424	436	447	9494	7862	6650	7040	7,32	6,14	6,97
<i>Víz</i>	281	298	305	315	401	457	458	417	10650	11675	10953	7765	0,08	0,08	0,43

3. táblázat: A benzidin, ICAN, monoMICAB, diMICAB emissziós hullámhossza $\lambda_{(\text{em})}$, excitációs hullámhossza $\lambda_{(\text{ex})}$, Stokes eltolódása és kvantumhasznosítási tényezője.

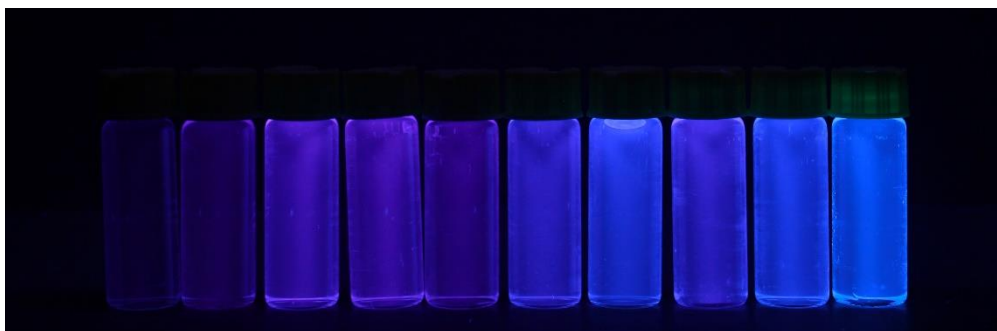
Benzidint nem mértünk minden oldószerben, mivel néhány oldószer abszorpciós tartománya átfed a benzidin excitációs tartományával. Kvantumhasznosítási tényezőt sem számoltunk, mivel a benzidin gyakorlati alkalmazását gátolja a csak az UV tartományban található emissziója. A Stokes-eltolódásokról elmondható, hogy az elvárásoknak megfelelően az oldószer polaritás indexével együtt nőnek. A kvantumhasznosítási tényezők nagy szórással rendelkeznek, nem mutatnak összefüggést sem a polarizáció – sem a dipólusmomentum változásával. Általánosan elmondható, hogy nem rendelhető egyik fluoroforhoz sem magas kvantumhasznosítási tényező. A legmagasabb értéket az ICAB dioxánnal készített oldatával mértük: 17,32%-ot.



21. ábra: ICAB oldatsorozat balról jobbra növekvő polaritás szerint.



22. ábra: monoMICAB oldatsorozat balról jobbra növekvő polaritás szerint.



23. ábra: diMICAB oldatsorozat balról jobbra növekvő polaritás szerint $\lambda=365$ nm-en gerjesztve. Az oldatok polaritás szerinti sorrendben a következők a 21-23. ábrákon: hexán, toluol, diklór-metán, tetrahidrofurán, 1,4-dioxán, acetone, acetonitril, piridin, dimetil-formamid és dimetil-szulfoxid. Az oldatok koncentrációja $0,056 \frac{mg}{cm^3}$

A 21-23. ábrán vizuálisan is jól megfigyelhetők a vizsgált vegyületeink emissziós tulajdonságai. ICAB esetében még csak a két legpolárosabb oldószerben DMF-ben és DMSO-ban tapasztalunk intenzív, látható kék fény-emissziót, monoMICAB esetében már az oldószerek felében, míg diMICAB-nál a legapolárosabbakat (pl hexán) kivéve szinte minden oldószerben. Jegyezzük meg, hogy vizuális észlelésnél nem csak az emissziós maximum helye, hanem az emissziós csúcs alakja is befolyásolja a látványt. ICAB-tól diMICAB felé haladva az emissziós csúcs egyre nagyobb hányada esik a látható tartományba. A képsorozat nagyszerűen bizonyítja a szolvatokróm viselkedést is, azaz az emittált fény hullámhosszának oldószer polaritás függését is: pl. diMICAB-nál apoláros oldószerben (hexán) az emissziós maximum

$\lambda_{\max} = 357$ nm, poláros oldószerben (DMSO) az emissziós maximum $\lambda_{\max} = 447$ nm. Figyeljük meg, hogy ICAB és monoMICAB esetében piridinben (jobbról a harmadik üvegcse) a vártnál kisebb az emittált fény intenzitása, gyakorlatilag kioltódást (quenching) tapasztalunk. A jelenség a szabad NH hidrogénnel keresztüli hidrogénhidas piridin komplex kialakulásával magyarázható, amire a későbbiekben még visszatérünk. diMICAB esetében, ahol nincs szabad NH hidrogén nem is tapasztalunk kioltódást piridin jelenlétében.

4.3 A szolvatokróm viselkedés leírása

A szolvatokróm viselkedés leírására több elmélet is született az elmúlt évtizedekben. Ezek között találhatók szemiempirikus megközelítések, ahol a mért és számított spektrális paramétereket hasonlítják össze, valamint a tisztán elméleti, kvantumkémiai megközelítés.

4.3.1 A termékek oldószer kölcsönhatásának értelmezése Lippert–Mataga elmélet szerint

Legegyszerűbb megközelítés a Lippert-Mataga egyenlet, amely a Stokes-eltolódás és az orientációs polarizálhatóság között teremt kapcsolatot a bevezetőben már ismertetett 7. egyenlet szerint

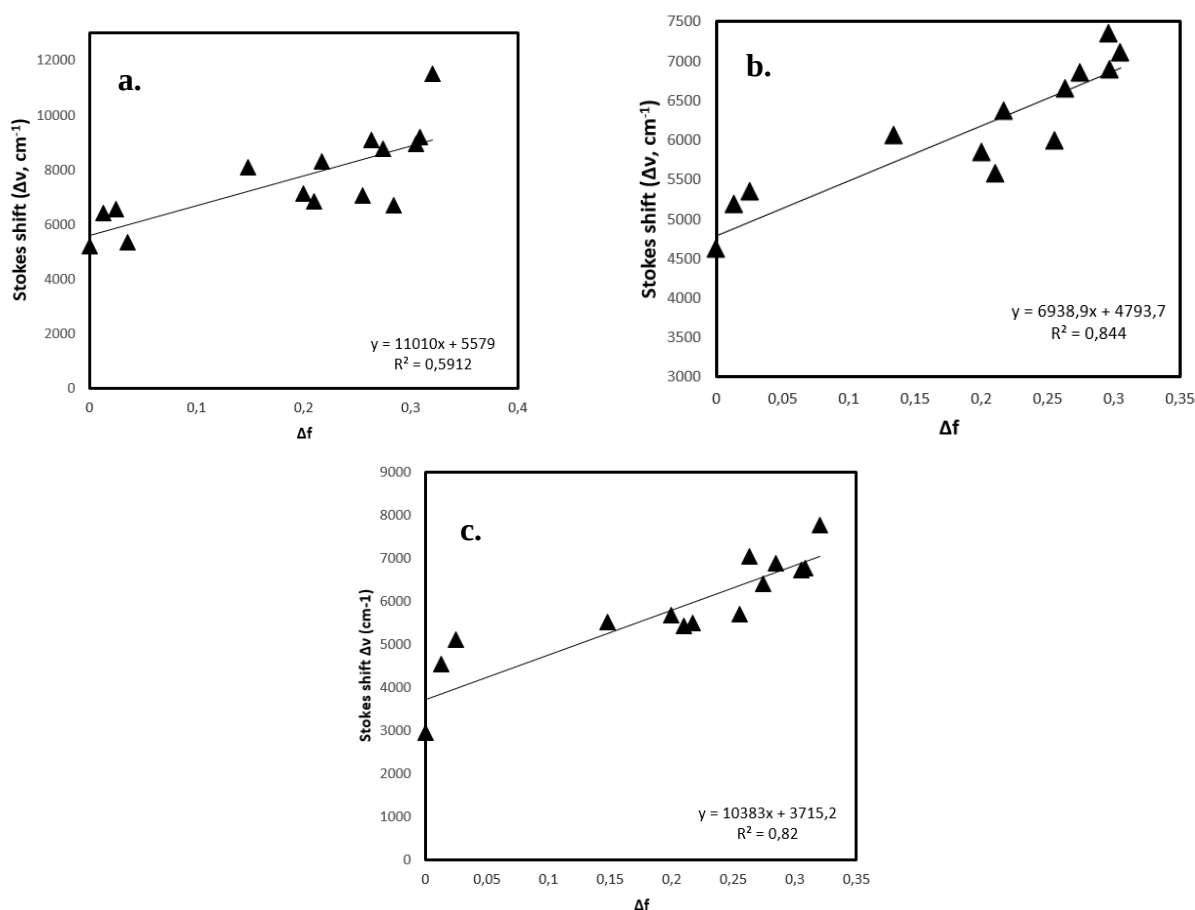
$$hc\Delta\nu = hc(\nu_a - \nu_f) = \frac{2\Delta f}{a^3} (\mu_E - \mu_G)^2 + konstans \quad (7)$$

ahol:

$\Delta\nu$... Stokes eltolódás (az excitációs és az emissziós maximum közti eltolódás)

Δf ...orientációs polarizálhatóság

Ha a Stokes eltolódásokat ábrázoljuk a Δf függvényében egyenest kellene kapnunk. Az illesztéseket a 24. ábra mutatja be. Ahogyan az az ábrán is jól látható elég gyenge illeszkedést kaptunk nagy szórással. A Lippert Mataga elmélet hiányossága, hogy leírásnál csak az oldószer dielektromos állandóját és törésmutatóját vszi figyelembe és eltekint a specifikus oldószer-oldott anyag kölcsönhatásoktól. használata ezért elég korlátolt, a mi esetünkben sem alkalmas így másik leírási módot kerestünk.



24. ábra: Az ICAB (a.), monoMICAB (b.) és diMICAB (c.) Δf (törésmutató és dielektromos állandó különbsége) függvényében ábrázolt Stokes eltolódása

4.3.2 A termékek oldószer kölcsönhatásának Kamlet – Taft leírás szerinti értelmezése:

Mivel a Lippert–Mataga elmélet nem alkalmazható a fluorofor–oldószer közötti speciális kölcsönhatások matematikai leírására, ezért egy másik leírásra támaszkodunk. A Kamlet–Taft elmélet az oldószer–oldat közötti savassági-, bázicitási- és polarizáltsági/polaritási tulajdonságok figyelembe vételével írja le a fluorofor viselkedését az alábbi multiparaméteres egyenlet (10) felhasználásával:

$$Y = Y_0 + s\pi^* + a\alpha + b\beta \quad (10)$$

ahol:

π^* ... polaritás/polarizálhatóság hatása az oldószerre

α ... oldószer HBD (hidrogen bond donor) savassága

β ... oldószer HBA (hidrogen bond acceptor) bázicitása

λ a vizsgált spektrális tulajdonság, pl.: emissziós maximum, Stokes-eltolódás, az oldószerfüggő α , β és π^* paraméterek irodalmi táblázatokban megtalálhatóak. Az általunk használt paraméterek a függelékben megtalálhatóak.

E három paraméter figyelembevételével multilineáris regresszió analízissel meghatároztuk a Kamlet-Taft egyenletben szereplő együtthatókat, ahogyan a 13-18. egyenletekben feltüntettük:

$$\nu_{em,max}(cm^{-1}) = (27850 \pm 514) - (1285 \pm 600) \cdot \alpha - (2888 \pm 1017) \cdot \beta - (3017 \pm 947) \cdot \pi^* \quad (13)$$

$$\Delta\nu(cm^{-1}) = (4904 \pm 678) + (2489 \pm 793) \cdot \alpha + (1563 \pm 1343) \cdot \beta + (2426 \pm 1251) \cdot \pi^* \quad (14)$$

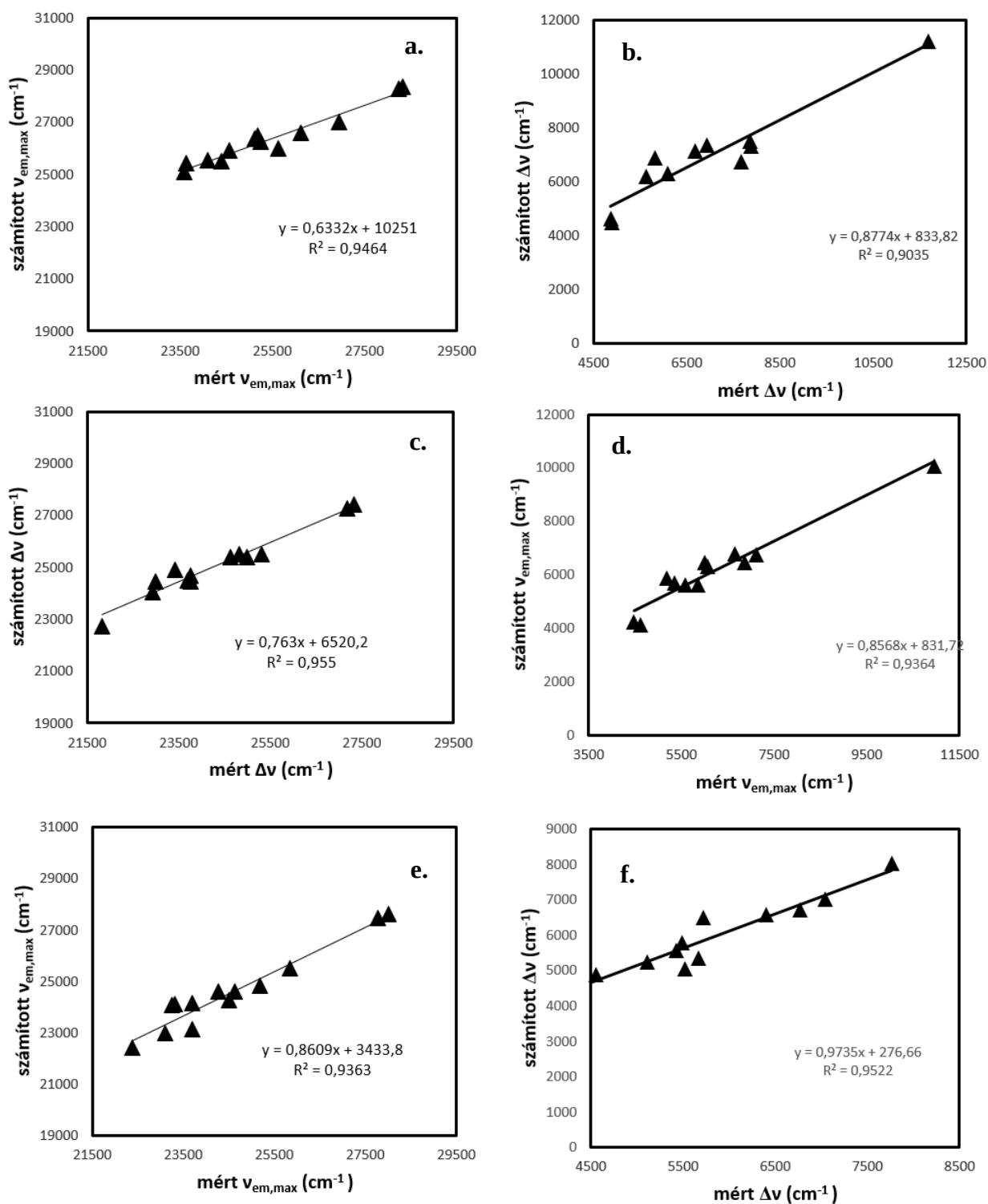
$$\nu_{em,max}(cm^{-1}) = (27363 \pm 444) - (1024 \pm 518) \cdot \alpha - (2717 \pm 878) \cdot \beta - (2528 \pm 818) \cdot \pi^* \quad (15)$$

$$\Delta\nu(cm^{-1}) = (4245 \pm 592) + (2442 \pm 692) \cdot \alpha + (1194 \pm 1172) \cdot \beta + (1787 \pm 1092) \cdot \pi^* \quad (16)$$

$$\nu_{em,max}(cm^{-1}) = (27363 \pm 444) - (1024 \pm 518) \cdot \alpha - (2717 \pm 878) \cdot \beta - (2528 \pm 818) \cdot \pi^* \quad (17)$$

$$\Delta\nu(cm^{-1}) = (4245 \pm 592) + (2442 \pm 692) \cdot \alpha + (1194 \pm 1172) \cdot \beta + (1787 \pm 1092) \cdot \pi^* \quad (18)$$

A (13) és (14)-es egyenletek az ICAB-hoz, a (15) és (16)-es egyenletek a monoMICAB-hoz, (17) és (18)-os egyenletek a diMICAB-hoz tartoznak. Ezen együtthatók ismeretében a fenti egyenletek segítségével összehasonlíthatjuk a mért és számolt emissziós maximumokat illetve a Stokes-eltolódásokat. Az értékeket a víz kivételével az összes vizsgált oldószerre kiszámoltuk és a kísérleti értékek ismeretében ábrázoltuk a 25. ábrán látható módon.



25. ábra: Az ICAB (a., b.), monoMICAB (c., d.) és diMICAB (e., f.) mért és számolt emissziós maximuma (a., c., e.), Stokes – eltolódása (b., d., f.) a Kamlet – Taft elmélet szerint.

A mért és számolt adatok nagyon jó illeszkedést mutatnak, kis szórással. A regressziós együttható értéke minden esetben meghaladja legalább a 0,9-et ezért megállapítható, hogy a Kamlet-Taft elmélet alkalmas az ICAB, monoMICAB és diMICAB szolvatokróm

tulajdonságának leírására, valamint hogy ezen molekulák valódi szolvatokróm viselkedést mutatnak.

4.3.3. A termékek oldószer kölcsönhatásának értelmezése Catalán leírás szerint

Az elmélet, hasonlóan a Kamlet–Taft elméletéhez, ugyanúgy multi-paraméteres egyenlettel írja fel a fluoroforok kölcsönhatását az oldószerekkel. A különbség, hogy Catalán a polaritás/polarizáltságot két külön paraméterrel jellemzi, ami a már bemutatott (11) egyenlet mutatja.

$$\tilde{\nu} = \tilde{\nu}_{max,0} + a_{SA}SA + b_{SB} \cdot SB + s_{SP}SP + t_{SdP}SdP \quad (11)$$

Az adatokat szintén multilineáris regressziós adatelemzéssel vizsgáltuk és az alábbi egyenleteket írtuk fel:

$$\nu_{em,max}(cm^{-1}) = (36072 \pm 1540) - (3298 \pm 781) \cdot SA - (1972 \pm 953) \cdot SB - (9056 \pm 2108) \cdot SP - (4748 \pm 1692) \cdot SdP \quad (19)$$

$$\Delta\nu(cm^{-1}) = (-2569 \pm 1990) + (4336 \pm 1009) \cdot SA - (501 \pm 1232) \cdot SB + (9206 \pm 2724) \cdot SP + (3761 \pm 2187) \cdot SdP \quad (20)$$

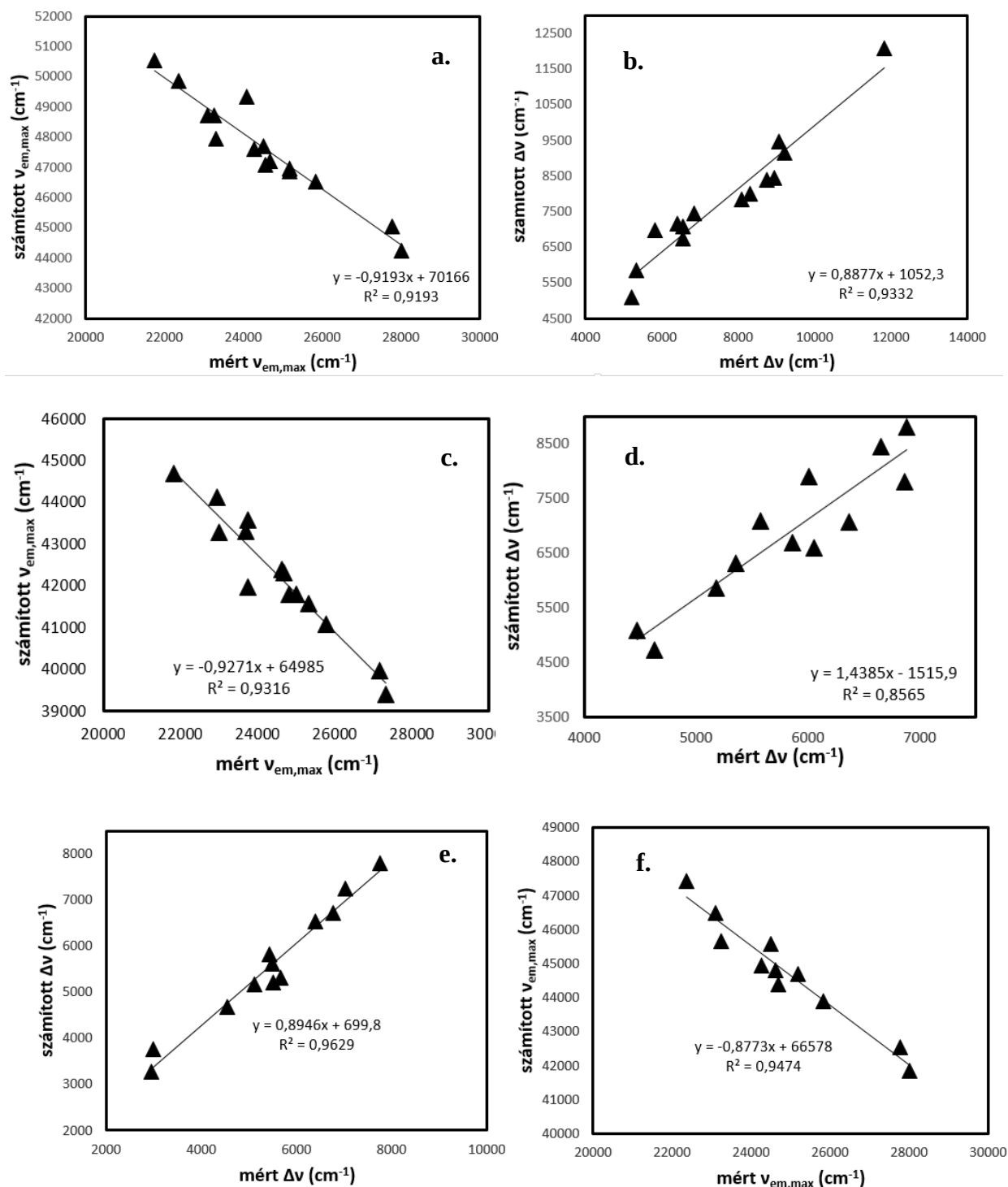
$$\nu_{em,max}(cm^{-1}) = (33345 \pm 1567) - (2361 \pm 794) \cdot SA - (1545 \pm 969) \cdot SB - (5271 \pm 2144) \cdot SP - (5215 \pm 1721) \cdot SdP \quad (21)$$

$$\Delta\nu(cm^{-1}) = (689 \pm 1916) + (3174 \pm 972) \cdot SA - (1065 \pm 1186) \cdot SB + (2347 \pm 2623) \cdot SP + (4891 \pm 2106) \cdot SdP \quad (22)$$

$$\nu_{em,max}(cm^{-1}) = (34790 \pm 1864) - (1495 \pm 945) \cdot SA - (2909 \pm 1153) \cdot SB - (7299 \pm 2551) \cdot SP - (4061 \pm 2048) \cdot SdP \quad (23)$$

$$\Delta\nu(cm^{-1}) = (-1648 \pm 1964) + (2288 \pm 996) \cdot SA - (1641 \pm 1215) \cdot SB + (4596 \pm 2688) \cdot SP + (3856 \pm 2158) \cdot SdP \quad (24)$$

A (19) és (20)-as egyenletek az ICAB-hoz, (21) és (22)-as egyenletek a monoMICAB-hoz, (23) és (24)-es egyenletek a diMICAB-hoz tartoznak. A fenti egyenletek segítségével az alábbi diagramokat lehet felvenni:



26. ábra: Az ICAB (a., b.), monoMICAB (c., d.) és diMICAB (e., f.) mért és számolt emissziós maximuma (a., c., e.), Stokes – eltolódása (b., d., f.) a Catalán elmélet szerint.

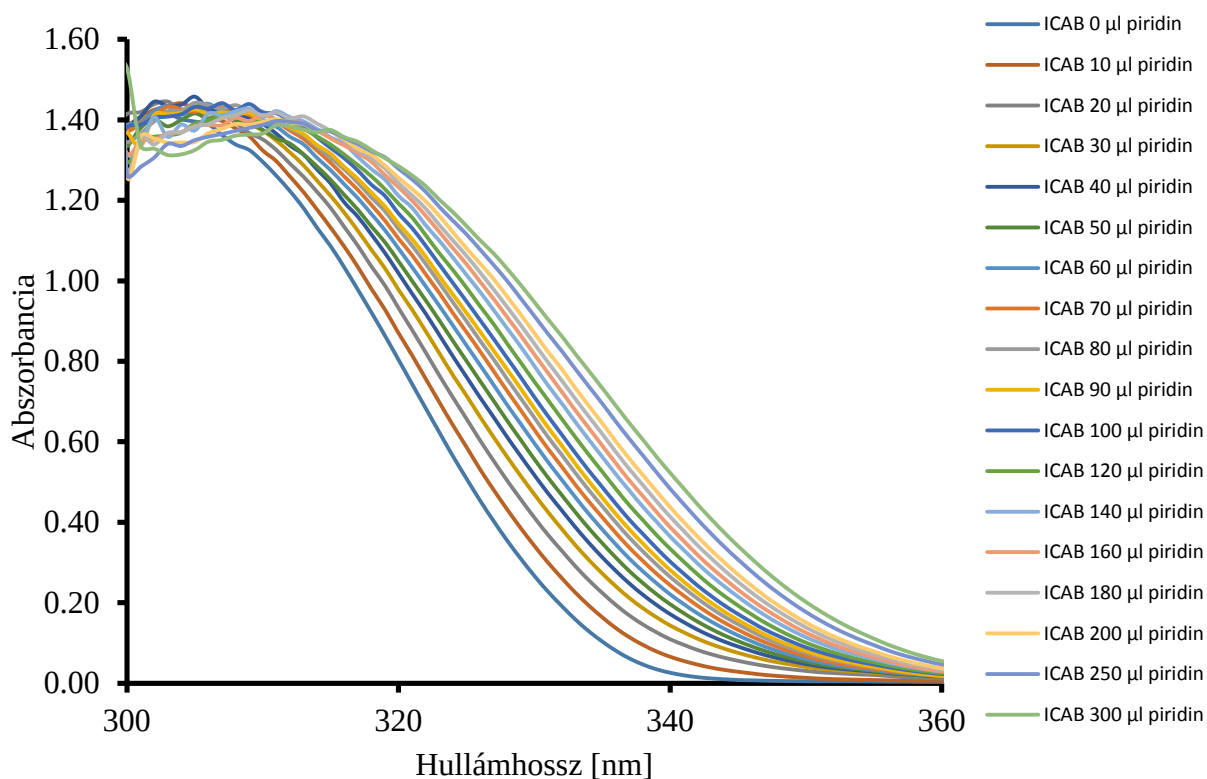
A 26-os ábrán látható egyenesekről általában ugyanaz mondható el mint a Kamlet-Taft egyenlettel számoltaknál: Nagyon jó illeszkedést tapasztalunk a mért és számolt értékek között 0,9 vagy afölötti R^2 értékekkel. Egyetlen kivétel monoMICAB Stokes – eltolódása

(d.). A kiértékelés során rendre a piridin értékeit figyelmen kívül kellett hagynunk, mert nagyon nagy szórással rendelkezett. Ennek az oka az lehet, hogy a monoMICAB piridinben komplexet képez, ezáltal kioltás miatt változik a fluoreszcenciás tulajdonsága.

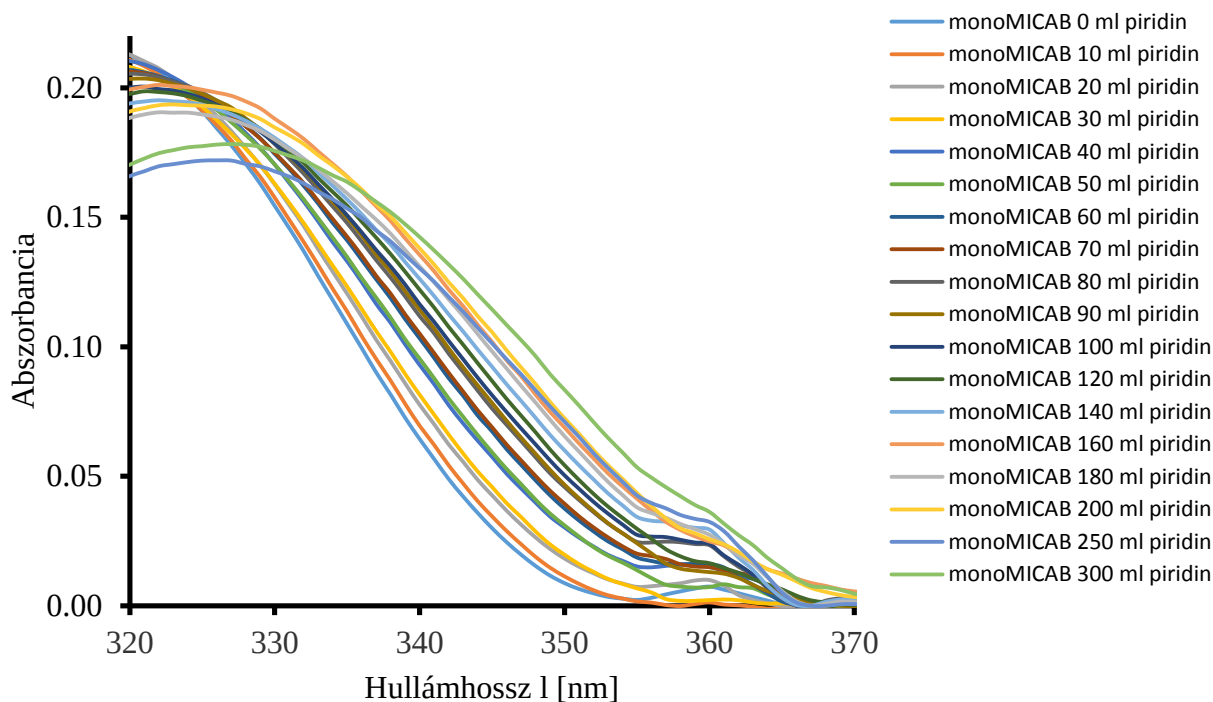
4.4 ICAB származékok piridinnel képzett komplexek vizsgálata

Kutatócsoportunk az ICAN származékok vizsgálata során már korábban megfigyelte, hogy piridinben fluoreszcencia kioltás lép fel, amit a fluorofor piridinnel képzett komplexével tudtuk magyarázni. [16] Továbbá az irodalomban számos utalást találhatunk, hogy az aromás NH- csoporttal rendelkező fluoroforok hidrogén-kötéssel komplexet képeznek piridinnel.

Célunk volt annak kiderítése, hogy ICAB származékoknál is ugyanez a viselkedés figyelhető-e meg. A jelenség legkönnyebben UV-vis titrálással követhető nyomon, ugyanis a komplexnek kissé másak a spektrális tulajdonságai. Az ICAB és monoMICAB piridin jelenlétében felvett UV titrálási spektrumait a 27-28. ábra szemlélteti.



27. ábra: ICAB UV-vis titrálási spektruma. Az egymást követő vonalak 10 µl piridin hozzáadását mutatják



28. ábra: monoMICAB UV-vis titrálási spektruma. Az egymást követő vonalak 10 μ l piridin hozzáadását mutatják

Mindkét ábrán jól megfigyelhető, hogy piridin hozzáadás hatására az abszorpciós sávok batokróm eltolódást szenvednek és a nagyobb hullámhosszak felé nő az abszorbancia. Mindkét effektus jellemző a hidrogén-kötésű komplex kialakulására. Alacsonyabb hullámhosszaknál abszorbancia csökkenést kellene tapasztalnunk, azonban sajnos ez a régió átfed a piridin elnyelési tartományával így ezt a részt nem tudjuk felhasználni a kiértékelésnél. Jól megfigyelhető viszont egy komplexképződésre utaló izobesztikus pont kialakulása 310 nm-nél ICAB és 325 nm-nél monoMICAB esetében. diMICAB esetében semmilyen spektrális változást nem tapasztaltunk piridin hozzáadása után. Kijelenthető, hogy az amino csoport hidrogénje fontos szerepet tölt be a hidrogén kötéses komplex kialakításában. A komplexek feltételezett szerkezetét a 29. ábrán tüntettük fel.



29. ábra: A monoMICAB és ICAB piridinnel képzett komplexeinek feltételezett szerkezete

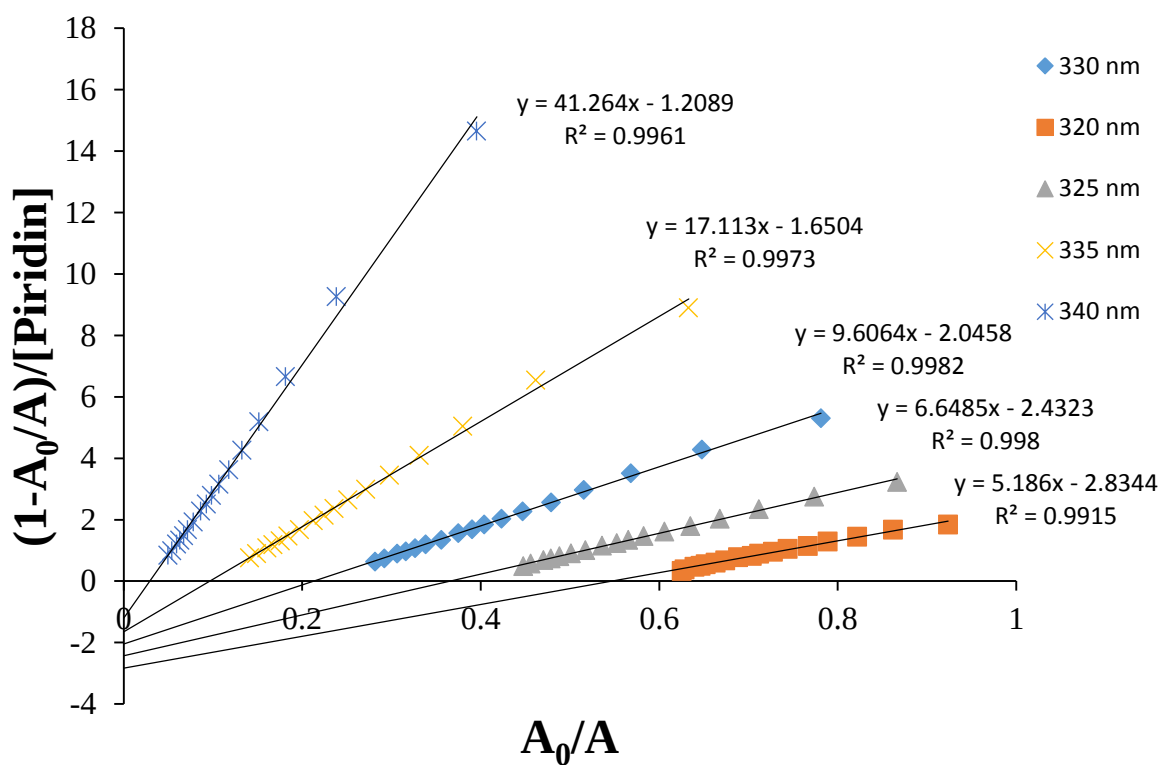
A komplexképződésre az alábbi egyensúly írható fel:



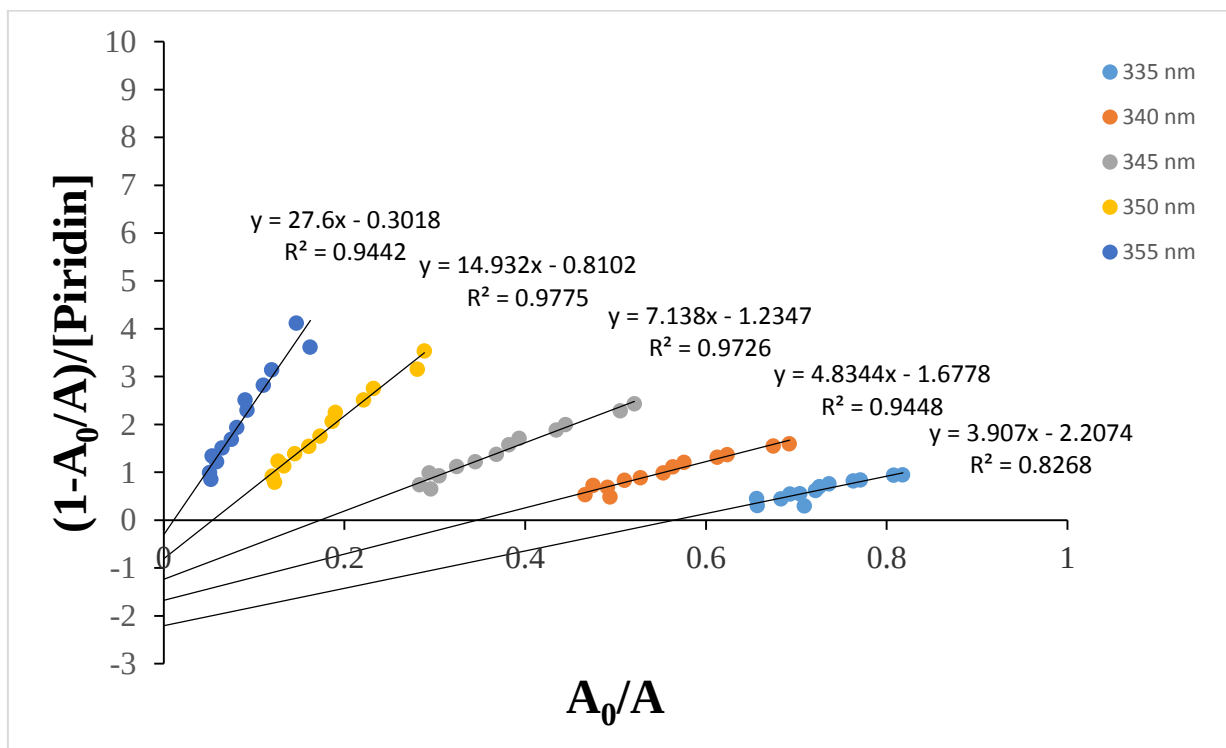
Az egyensúlyban N az ICAB-ot vagy monoMICAB-ot, P pedig a piridint szimbolizálja. Erre az az egyensúlyra felírható a következő egyenlet:

$$\frac{1 - (A_0 / A)}{[piridin]} = -(K_H) + \left(\frac{\varepsilon_H}{\varepsilon_N} K_H \right) \cdot \frac{A_0}{A} \quad (26)$$

ahol, A_0 és A a piridin hiányában és jelenlétében mért abszorbanciát, λ hullámhosszon, ε_H és ε_N a hidrogénkötésű komplex és a szabad ICAB kioltási állandója, K_H pedig a hidrogén kötés, illetve a komplexképződési folyamat egyensúlyi állandója. A titrálási spektrumokról különböző hullámhosszakon leolvastuk az egyes piridin mennyiségekhez tartozó abszorbancia értékeket és behelyettesítettük a 12 egyenletbe. Az egyenletet ábrázolva tengelymetszetként a komplexképződés egyensúlyi állandójának -1 szeresét kapjuk, ahogyan a 30-31. ábrán is láthatjuk. A következő értékeket kaptuk $K_H = 2 \pm 1$ ICAB esetében, monoMICAB esetében pedig $K_H = 1 \pm 1$. Látható, hogy a komplexképződés kis egyensúlyi állandóval játszódik le ezért nagy piridin mennyiség szükséges a kimutatásához. A nagy pontatlanságot a kis spektrális effektusok okozzák, azonban az irodalomban is hasonló értékekkel és hibákkal találkozhatunk aromás aminok és piridin közötti kölcsönhatások vizsgálatánál.



30. ábra: ICAB abszorbanációjának linearizációja. A pontokat az izobesztikus ponttól növekvő távolságra vettük fel.

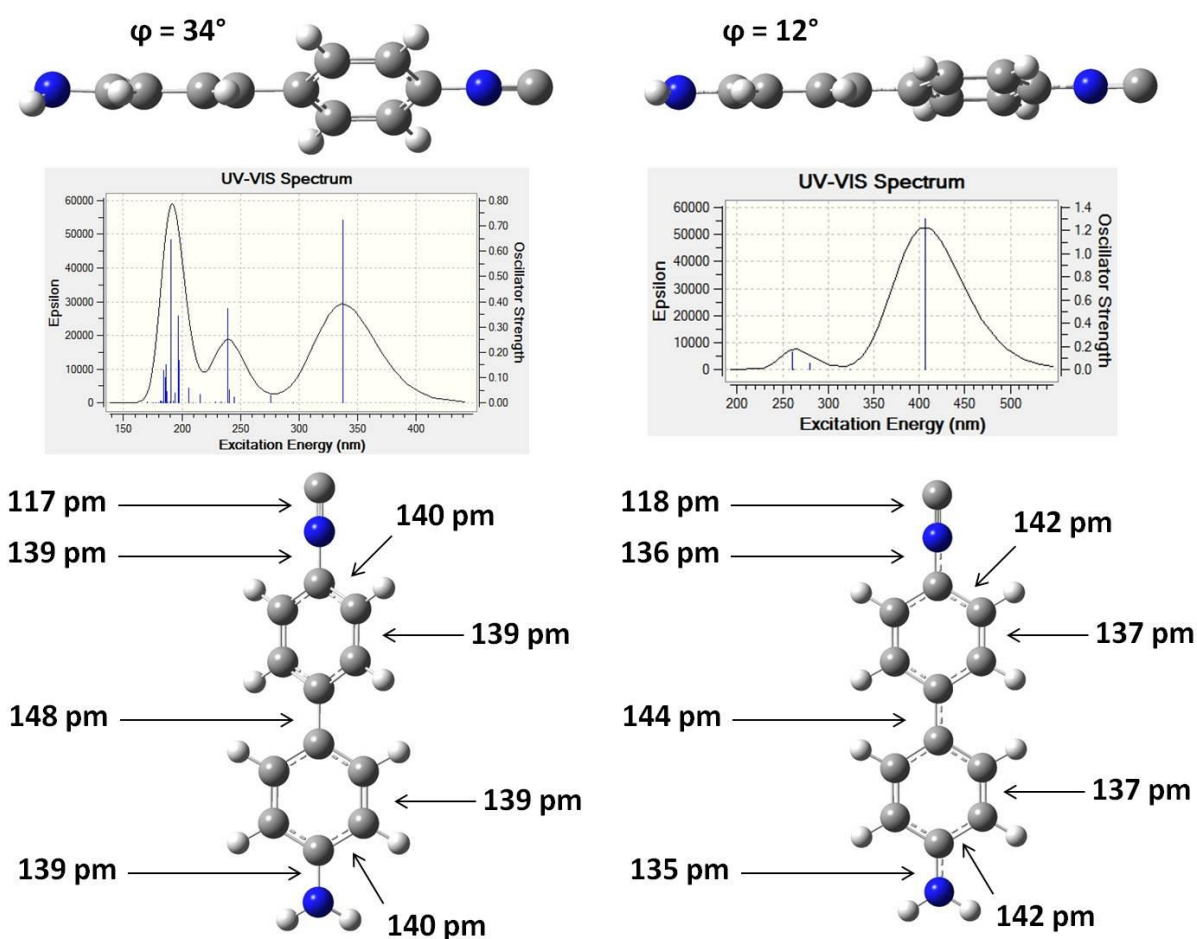


31. ábra: monoMICAB abszorbanációjának linearizációja.

4.5 ICAB származékok kvantumkémiai vizsgálata

Az optikai tulajdonságok magyarázatára a Debreceni Egyetem Fizikai Kémiai Tanszékének munkatársaival együttműködve kvantumkémiai számításokat végeztünk. Meghatároztuk a vizsgált vegyületek optimált szerkezetét alap illetve gerjesztett állapotban, dipólusmomentumaikat és kiszámoltuk spektrumaikat.

A dipólusmomentumok várakozásainkkal összhangban mind alap, mind gerjesztett állapotban nagyobbak adódtak ($\mu=8,6$ D ill. $\mu=22$ D), mint a korábban vizsgált ICAN származékok ($\mu=8,23$ és $\mu=14,96$ D) esetében. Az ICAB származékok mégis rosszabb szolvatokróm viselkedést mutattak. Ezt az ellentmondást a molekulaszerkezetek kiszámolása után tudtuk feloldani.

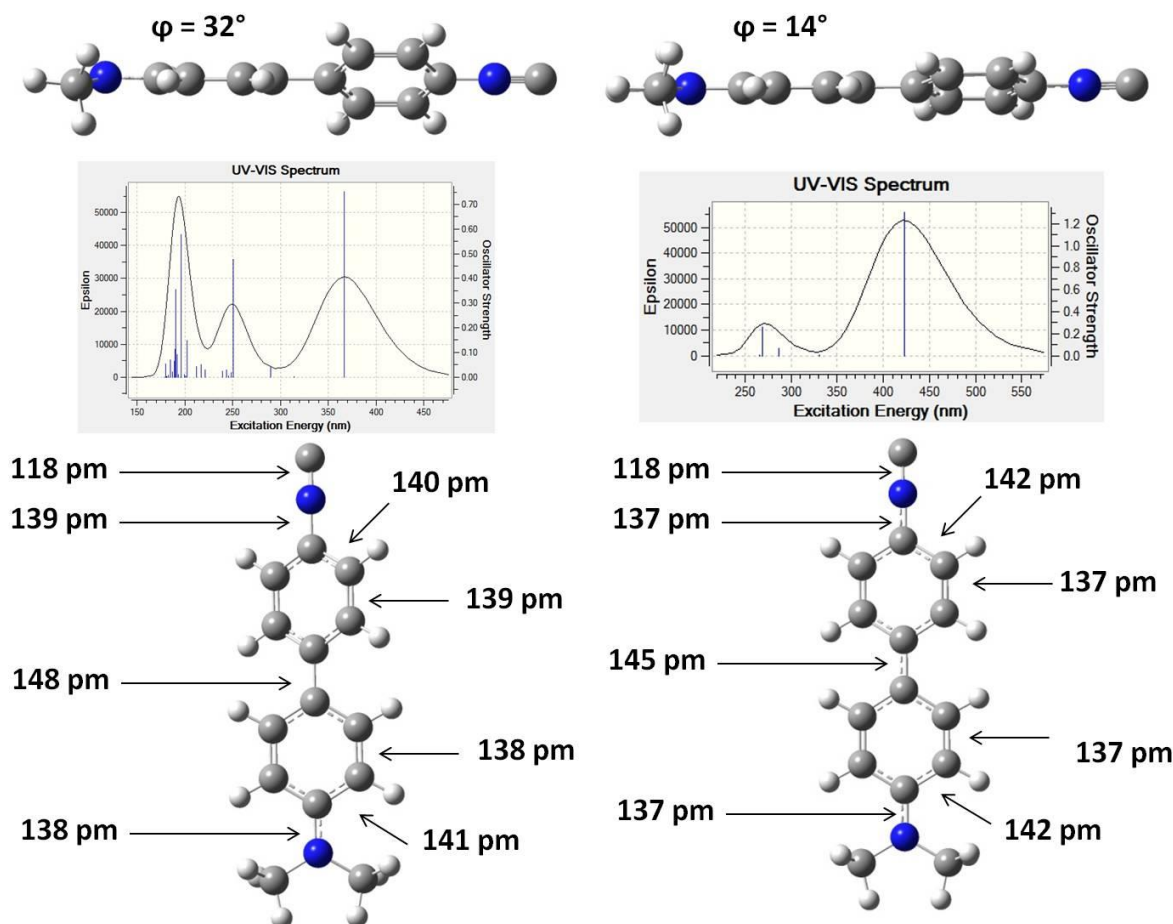


32. ábra: Az ICAB kvantumkémiai adatai.

A fenti ábrán jól megfigyelhető, hogy alapállapotban nem síkalkatú a molekula az ICAB két benzolgyűrűje jelentősen elfordul egymáshoz képest a diéderes szög $\varphi = 34^\circ$. Gerjesztett állapotban a molekula síkabb alkatúvá válik $\varphi = 12^\circ$. A szabad rotáció csökkenti az aromás rendszer delokalizációját a két gyűrű között. Alapállapotban 148 pm a távolság az 1-1' szénatomok között és a program is egyszeres kötést jelzi ezt a kötést. Gerjesztett állapotban a

kötéstávolság 144 pm-re csökken, ami a kötésrend növekedését jelzi és ez jól megfigyelhető a szerkezetben a konjugációra utaló szaggatott vonal megjelenésével. Az alapállapotú számolt UV-vis spektrum nagyon jó egyezést mutat a mért spektrummal.

A diMICAB számolt szerkezetei nagy hasonlóságot mutatnak az ICAB esetében kapottakkal. Az alapállapotú diéderes szög 2 fokkal csökkent 34-ről 32fokra a gerjesztett állapot, viszont ugyanennyivel nőtt 12-ről 14 fokra. A diMICAB jobb szolvatokróm viselkedését az amino csoport dimetilézés következtében fellépő jobb elektrondonor tulajdonságaival ezáltal a nagyobb töltésmegosztással magyarázhatjuk. Ez a viselkedés nagyon jól megfigyelhető a gerjesztett állapotokra DMSO-ban számolt UV spektrumokon is. ICAB esetében az emissziós maximum ~408 nm míg diMICAB-ra ~425 nm. Ez jó egyezésben van a valós mért értékekkel, melyek 424 illetve 447 nm. A különbségek még pontosabbak 17 nm a számolt és 23 nm a mért. Az eltérés a mért és számított értékek között annak tulajdonítható, hogy a szoftver az úgynevezett „polarized medium” megközelítést használja azaz csak az oldószer polaritását veszi figyelembe és elhanyagolja a speciális oldott anyag–oldószer kölcsönhatásokat.



33. ábra. A diMICAB kvantumkémiai adatai

5. Összefoglaló

Munkánk során új, hatékony, 4-amino-4'-izocianobifenil (ICAB) alapú szolvatokróm fluoreszcens vegyületcsaládot fejlesztettünk ki. Az alapvegyületként szolgáló 4-amino-4'-izocianobifenilt a könnyen hozzáférhető, elterjedten használt benzidinből kiindulva állítottuk elő diklórkarbénos reakcióval. A jobb fluoreszcens tulajdonságok elérése érdekében az ICAB-ból N-metil (monoMICAB) és N,N-dimetil (diMICAB) származékokat készítettünk. A reakciók enyhe körülmények között jó kitermeléssel mentek végbe.

Az anyagok optikai tulajdonságait UV-vis és fluoreszcenciás módszerekkel vizsgáltuk. Az izociano csoport bevitele jelentős batokróm eltolódást okozott az abszorpciós maximum helyzetében az UV spektrumban a benzidinhez képest (279 nm vs 301 nm, hexánban). Az amino csoport metilezésével a vöröseltolódás tovább nőtt: a monometil származék nál 313 nm-re, a dimetil származéknál 323 nm-re. Az amino és izociano csoportok közötti töltésmegoszlás kedvező hatása sokkal hangsúlyosabban jelentkezett az emissziós spektrumokban. Míg a kiindulási benzidin gyakorlatilag nem tekinthető szolvatokróm vegyületnek, mivel a teljes emissziós eltolódása a különböző oldószerekben $\Delta\lambda_{em,max} \sim 30$ nm az ICAB-nál ez az érték jelentősen megnőtt $\Delta\lambda_{em,max} \sim 104$ nm-re. A monoMICAB és diMICAB esetében is hasonlóan kiváló tartományokat kaptunk: $\Delta\lambda_{em,max} \sim 92$ nm és $\Delta\lambda_{em,max} \sim 90$ nm. A benzidin emissziós maximumai 400 nm közelében vagy az alatt találhatók, ami a gyakorlati alkalmazásokat megnehezíti. Az izociano származékoknál az emissziós maximumok helyzetében is jelentős batokróm eltolódást figyeltünk meg a következő sorrendben ICAB < monoMICAB < diMICAB. A dimetil származék poláros oldószerekben nagyon szép kék emissziót mutatott, jó kvantumhasznosítási tényezőkkel.

A vegyületek szolvatokróm viselkedésének matematikai leírására a Lippert-Mataga, Kamlet-Taft, valamint a Catalán elméletet alkalmaztuk. A Kamlet-Taft illetve Catalán leírás szerint nagyon jó egyezéseket találtunk a mért és a számított spektrális értékek között az illeszkedés értékei közel vannak vagy megaladják a 0,9-et. Ennek fényében kijelenthetjük, hogy 4-amino-4'-izocianobifenil és származékai valódi szolvatokróm viselkedést mutatnak.

A szabad NH-hidrogént tartalmazó származékok piridinnel fluoreszcenciás kvencselődést mutatnak. Piridinben hidrogén kötésű komplex képződését mutattuk ki ICAB és monoMICAB esetében, míg a diMICAB nem kvencselhető piridinnel.

Kvantumkémiai számítások alapján megállapítottuk, hogy az 1-1' kötés körül a benzol gyűrűk szabadon rotálódhatnak, ezáltal nem lesz teljes az egész molekulára kiterjedő konjugáció és a vártnál kissé előnytelenebb emissziós tulajdonságokat kapunk. Az említett vegyületek ennek ellenére is jó eséllyel pályázhatnak, mint kék fényt emittáló diódák festékanyagai.

6. Summary

Our aim was to develop a novel, efficient series of fluorescent compounds, based on 4-amino-4'-isocyanobiphenyl (ICAB). 4-amino-4'-isocyanobiphenyl, acting as base compound was synthesized from benzidine, a widely used, easy-to-access material, by a reaction with dichlorocarbene. In order to achieve better fluorescent properties, N-methyl (monoMICAB) and N,N-dimethyl (diMICAB) derivatives were prepared from ICAB. Reactions were carried out in mild conditions with good yields.

Optical properties of the synthesized compounds were investigated by UV-Vis and fluorescent methods. A significant bathochromic shift was observed on the absorption maximum in the UV-Vis spectrum by the incorporation of the isocyanide group compared to the one of benzidine (301 nm vs 279 nm in hexane, respectively). The redshift was further increased by the methylation of the amino group: 313 nm for the monomethyl and 323 nm for the dimethyl derivative. The positive effect of the charge separation was more pronounced in case of the emission spectra. While the starting compound, benzidine cannot be accepted as a solvatochromic compound, since its whole emission shift in different solvents is $\Delta\lambda_{em,max} \sim 30$ nm, it has been significantly increased to $\Delta\lambda_{em,max} \sim 104$ nm in case of ICAB. Similar excellent ranges were obtained in case of monoMICAB and diMICAB: $\Delta\lambda_{em,max} \sim 92$ nm and $\Delta\lambda_{em,max} \sim 90$ nm, respectively. Emission maxima of benzidine were below 400 nm, which make practical applications difficult. A significant bathochromic shift was observed in the position of the emission maxima of the isocyano-derivatives as the followings: ICAB < monoMICAB < diMICAB. Dimethyl derivative showed beautiful blue emission in polar solvents with good quantum yields.

Mathematical description of the solvatochromic behavior of the compounds was carried out by the Lippert-Mataga, Kamlet-Taft, and the Catalán theories. Using the Kamlet-Taft and the Catalán theories a good correlation was achieved between the measured and the calculated values, regression coefficient was close to or above 0.9. Based on that it can be concluded that the 4-amino-4-isocyanobiphenyl and its derivatives show real solvatochromic behavior.

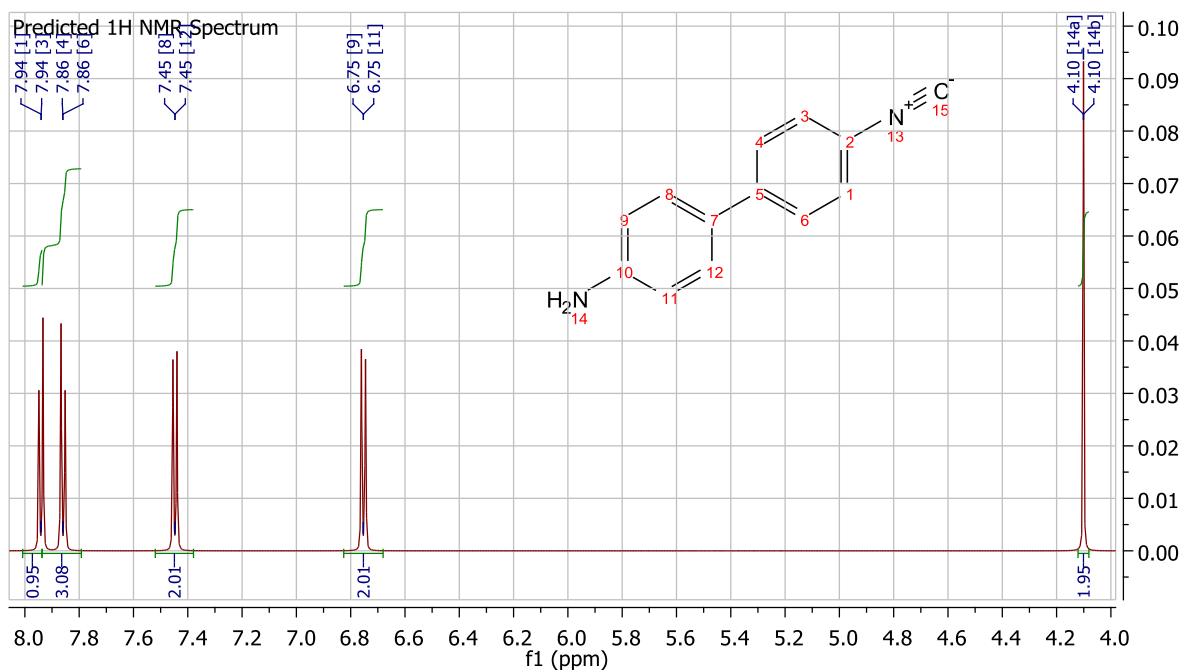
Derivatives having free NH-hydrogen show fluorescent quenching by pyridine. The formation of a hydrogen-bonded complex was observed in pyridine in the case of ICAB and monoMICAB, while diMICAB cannot be quenched by pyridine.

Based on quantum chemical calculations it was concluded that benzene rings can be freely rotate around 1-1' bond, so the conjugation would not be spread to the whole molecule, therefore more disadvantageous emission properties are obtained. However, the above mentioned molecules can be promising dyes for light emitting diodes.

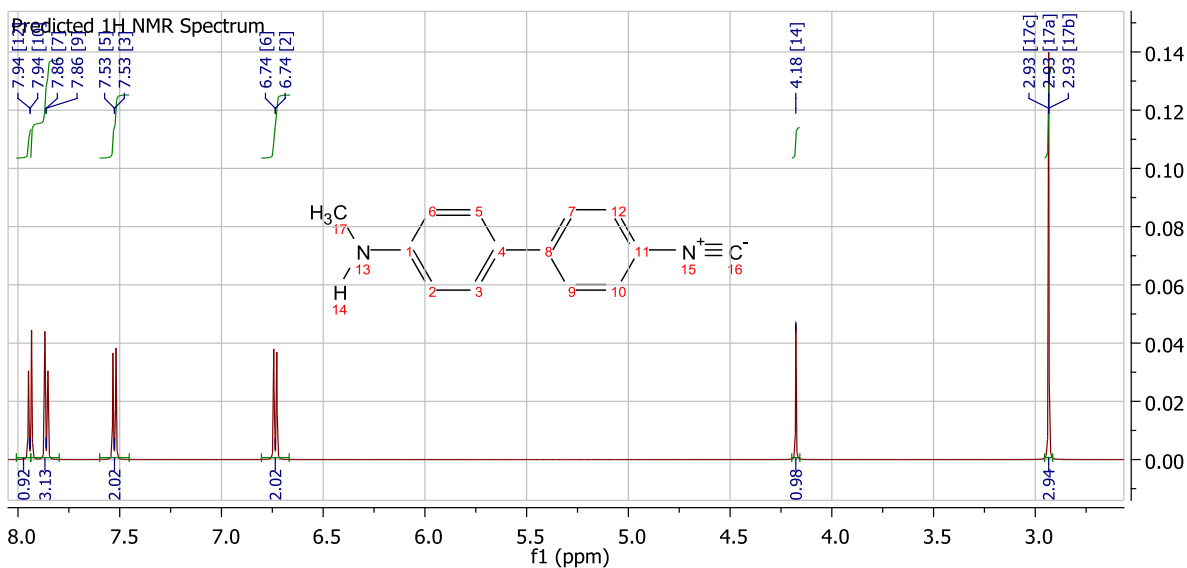
7. Irodalomjegyzék

- [1] Joseph R. Lakowicz: Principles of Fluorescence Spectroscopy. Third Edition, 2006.
- [2] Advanced light emitting diodes structures for optoelectronic applications, 2003.
- [3] Dr. Nagy Miklós, Pazurik István, Dr Kéki Sándor, Dr Zsuga Miklós: *Műanyag és Gumi: Fényemittáló polimerek*, 46. évfolyam, 1. szám, 2009.
- [4] Ananth Dobadapur: Organi Light Emitting Diodes, *Pergamon*, Vol. 102, No. 2-3, 1997
- [5] Benard Valeur: Molecular Fluorescence Principles and Applications, 2001, p:7
- [6] Udenfriend S.: Development of the spectrophotofluorometer and its commercialization, *Protein Sci.* 4, 1995, p: 542-551
- [7] Joseph R. Lakowicz: Principles of Fluorescence Spectroscopy. Third Edition, 2006
- [8] Berthelot, M.; Péan de Saint – Gilles, L.: *Ann. Chim. Phys.* 3 Sér., 67, 1863, p: 255-359
- [9] Maters, B.R., Thompson B.J.: Selected papers on multiphoton excitation microscopy SPIE Optical Engineering Press, Bellingham, Washington, 2003.
- [10] Hard S.J., Jiji R.D.: Light emitting diode excitation emission matrix fluorescence spectroscopy. *Analyst* 127, 2002, p:1643-1699
- [11] Dávid Rácz, Miklós Nagy, Attila Mándi, Miklós Zsuga, Sándor Kéki: *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 270, 2013, p:16-27
- [12] Mataga, M. Z., *Phys. Chem.*, A132, 1932, p: 432-448
- [13] Lippert, V. E.: *Z Electrochem.* 61., 1957, p: 962 – 975
- [14] Mihaela Homocianu¹, Anton Airinei, Dana Ortansa Dorohoi: Solvent Effects ont he Electronic Absorption and Fluorescence Spectra, *Journal of Advanced Research in Physics* 2(1), 011105 (2011)
- [15] Bahshiev, N.G.: *Opt. Spectrosc.* 13, 1962, p:24-26
- [16] Dr. Miklós Nagy, Dávid Rácz, Dr. László Lázár, Dr. Mihály Purgel, Tamás Ditrói, Dr. Miklós Zsuga, Prof. Dr. Sándor Kéki: Solvatochromic Study of Highly Fluorescent Alkylated Isocyanonaphthalenes, Their π -Stacking, Hydrogen-Bonding Complexation, and Quenching with Pyridine, *ChemPsysChem*, Vol. 15, Issue 16, p.: 3614–3625, aug.28. 2014

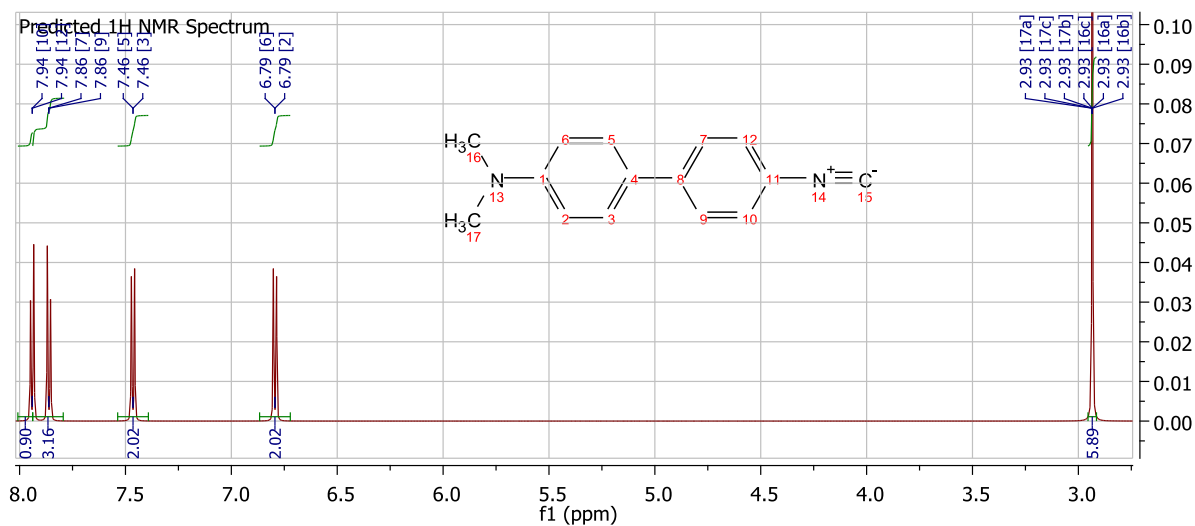
8. Melléklet

8.1 ICAB és származékainak szimulált ^1H -NMR spektrumai

M1) ICAB szimulált spektruma

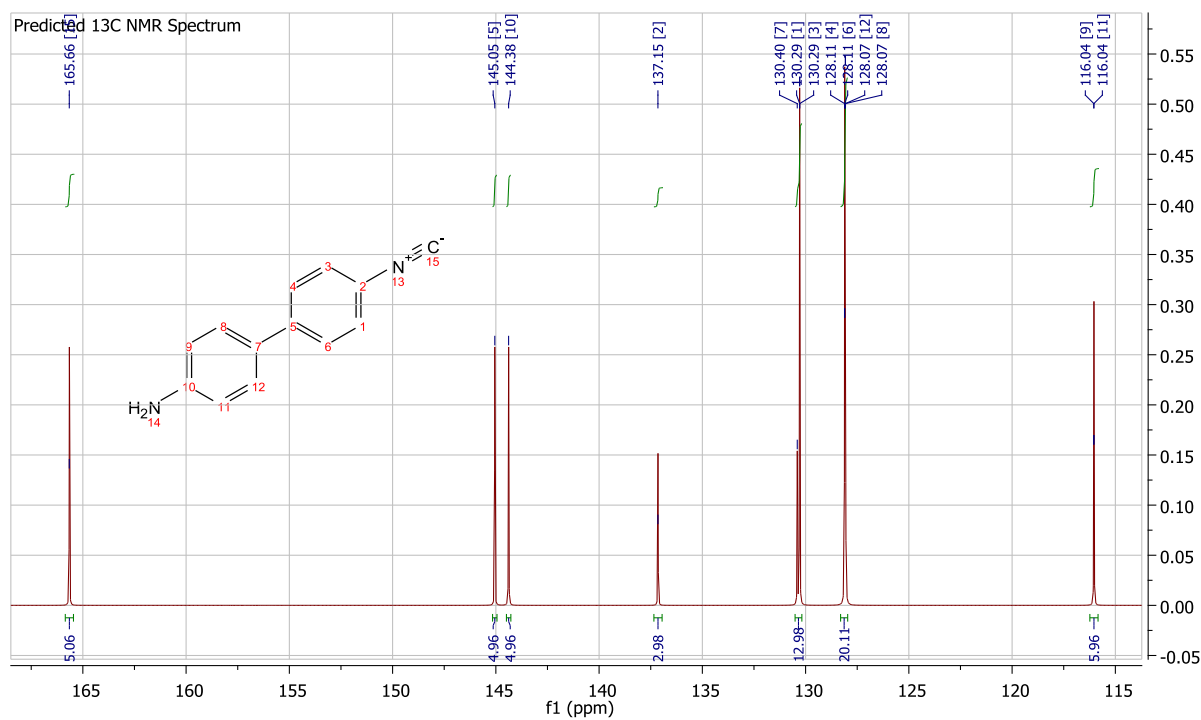


M2) monoMICAB szimulált spektruma

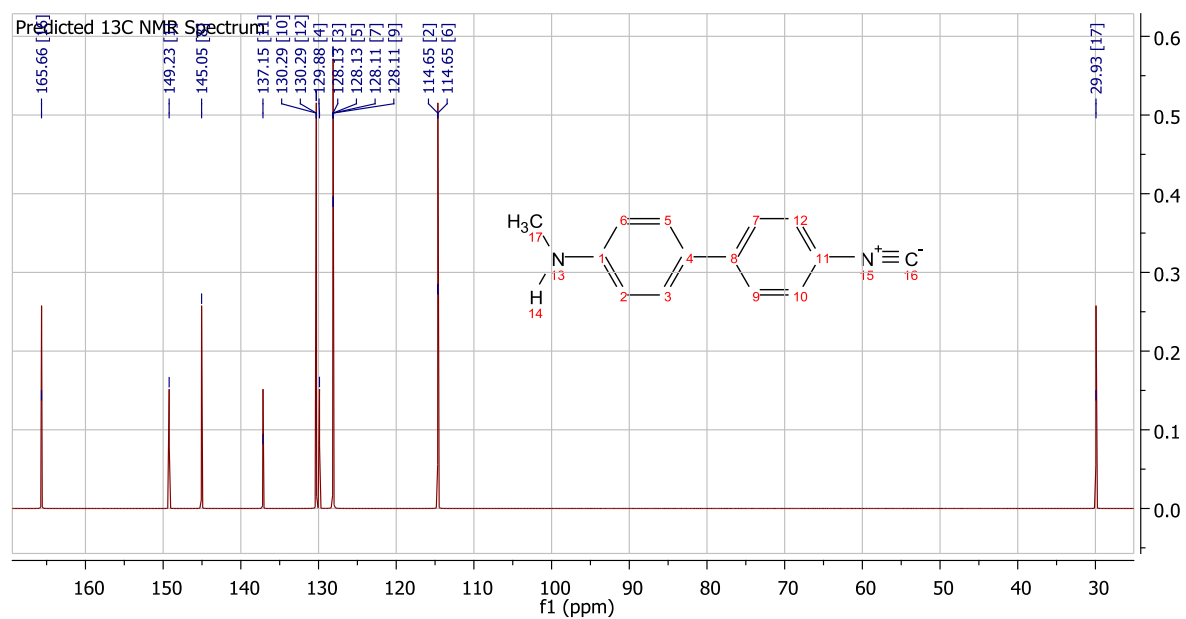


M3) diMICAB szimulált spektruma

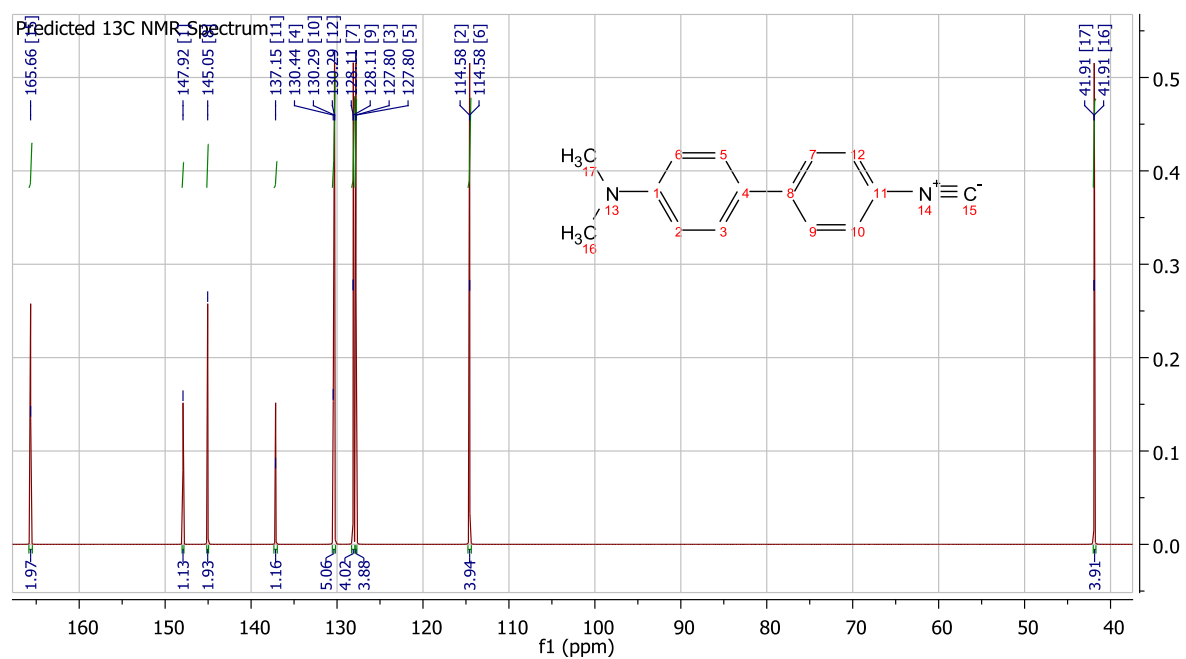
8.2 ICAB és származékainak szimulált ^{13}C -NMR spektrumai:



M4) ICAB szimulált spektruma

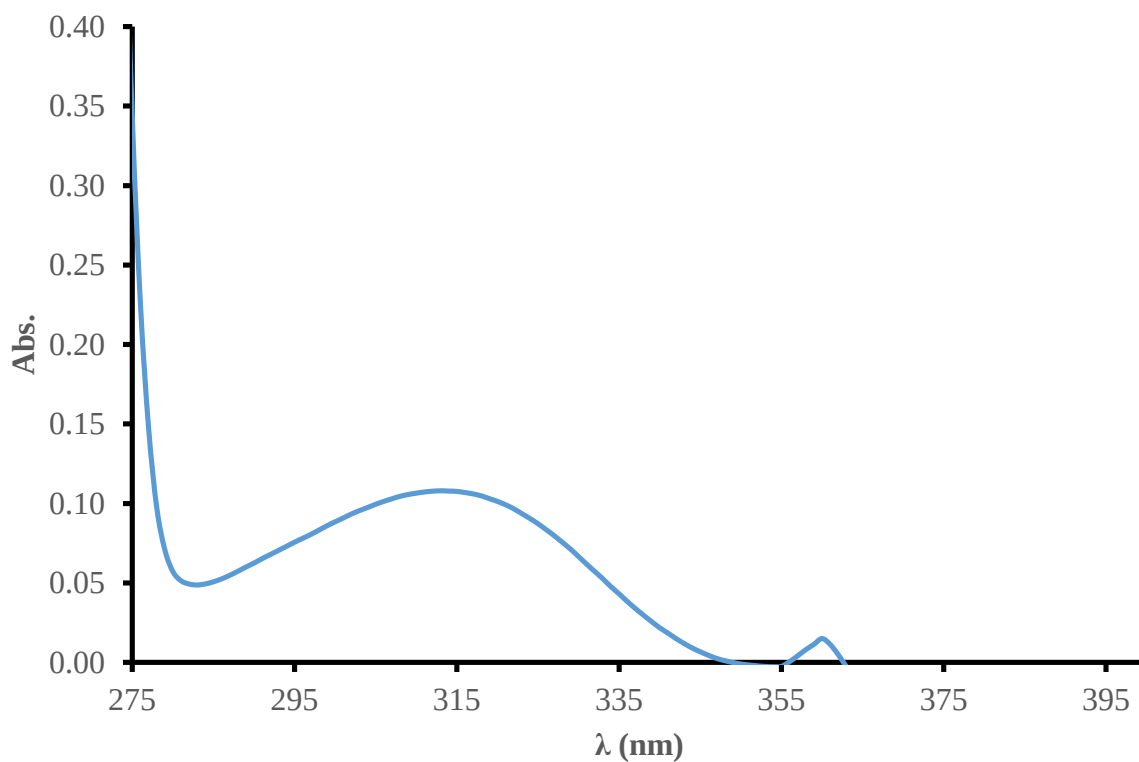


M5) monoMICAB szimulált spektruma



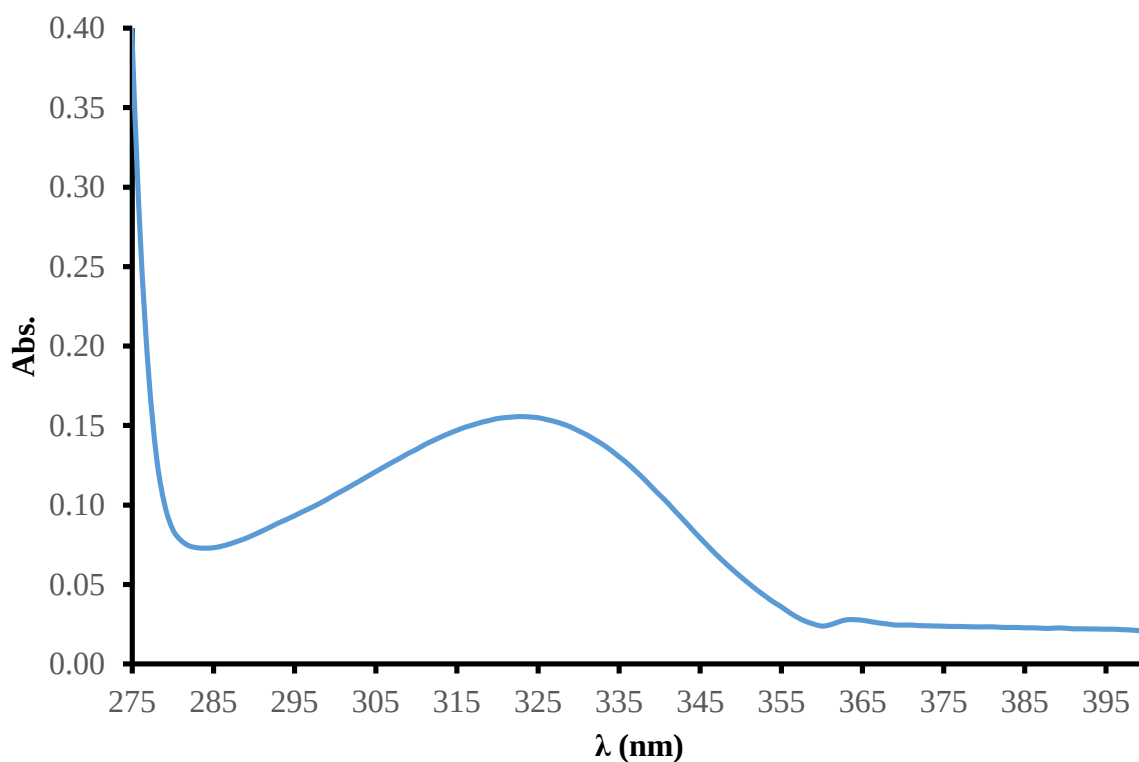
M6) diMICAB szimulált spektruma

8.3 monoMICAB és diMICAB abszorpciós spektrumai:



M7) ábra: A monoMICAB hexánban mért abszorbancia spektruma

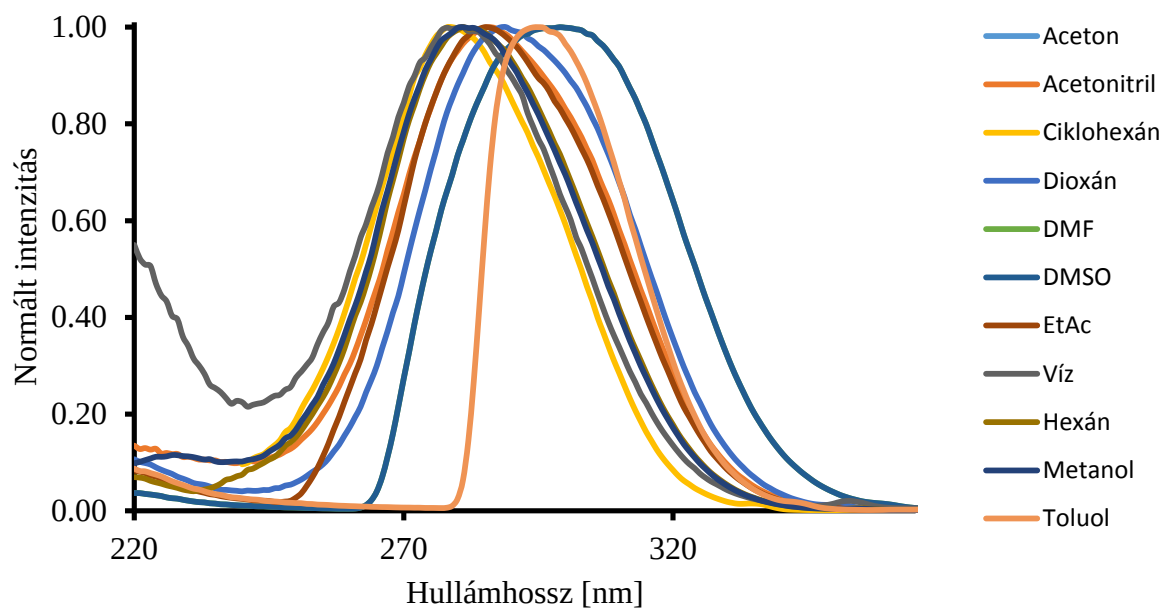
Hasonlóan a 17. ábrához ez a spektrum is egyszerű felépítésű. A HOMO-LUMO átmenet széles tartományban valósul meg kis intenzitású csúccsal 315 nm körüli maximummal. A metil csoport beépítésével eltoltuk a gerjesztési maximumot hozzávetőlegesen 15 nm-rel.



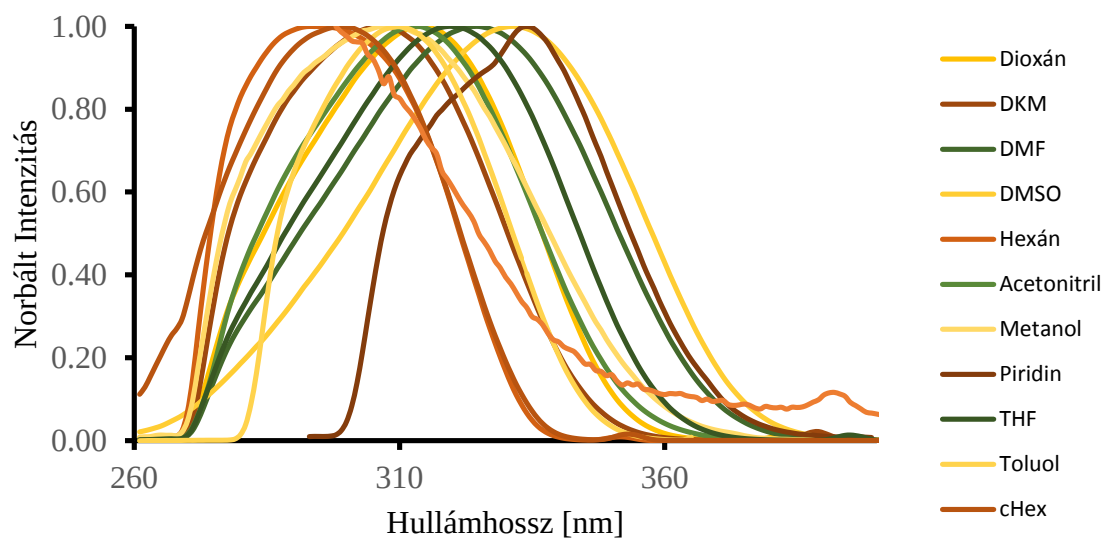
M8) ábra: A diMICAB hexánban mért abszorbania spektruma

Az M7-es abszorpciós spektrumhoz képest, nem nagy különbség állapítható meg. A HOMO – LUMO átmenet hasonlóan a korábbiakkal itt is széles tartományban valósul kis intenzitású csúccsal. Azonban a második metil csoport felvételével az abszorpciós maximum tovább tolódott ~10 nm-rel.

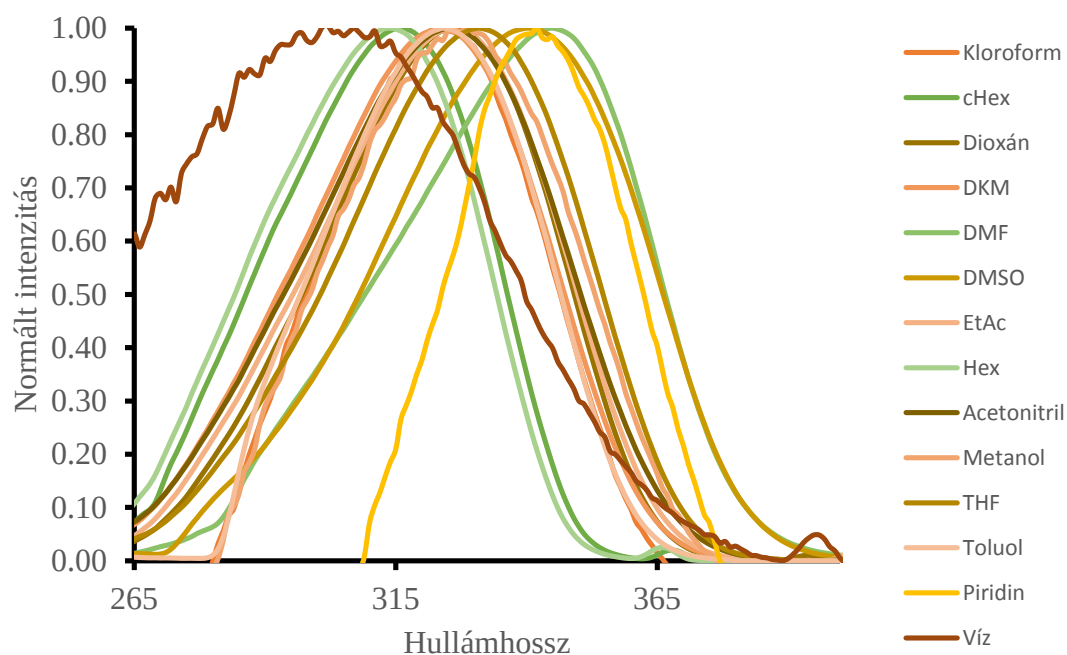
8.4 ICAB származékok excitációs és emissziós spektrumai



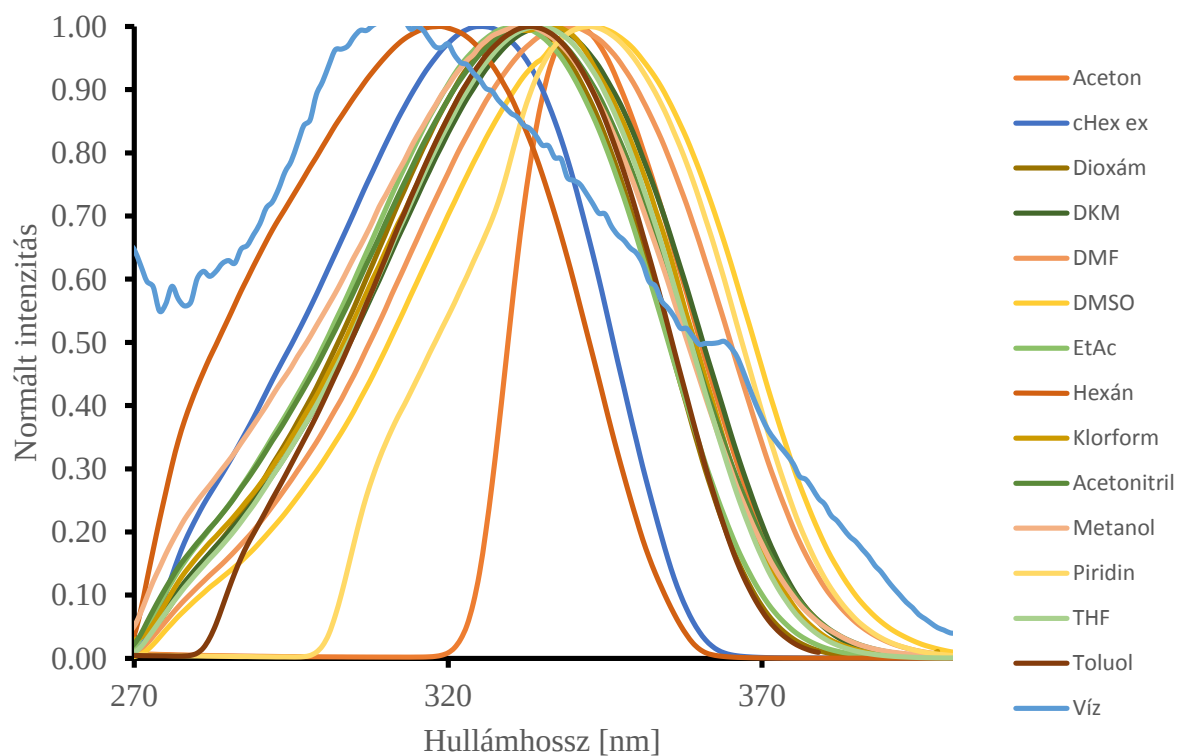
M9) ábra: A benzidin excitációs spektrumai különböző oldószerekben.



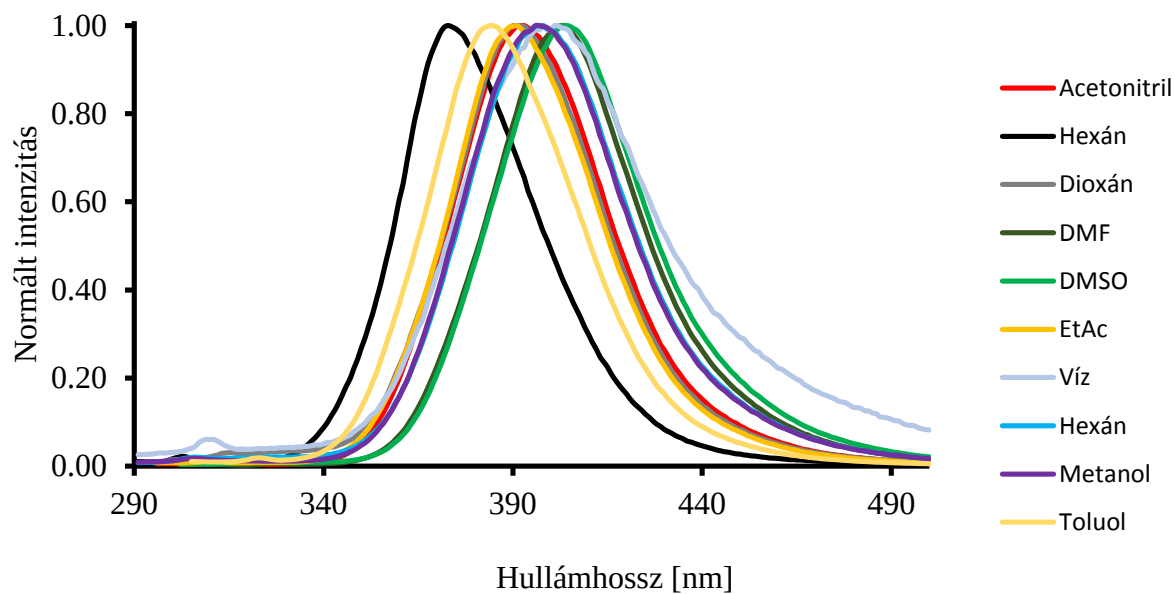
M10) ábra: Az ICAB excitációs spektrumai különböző oldószerekben.



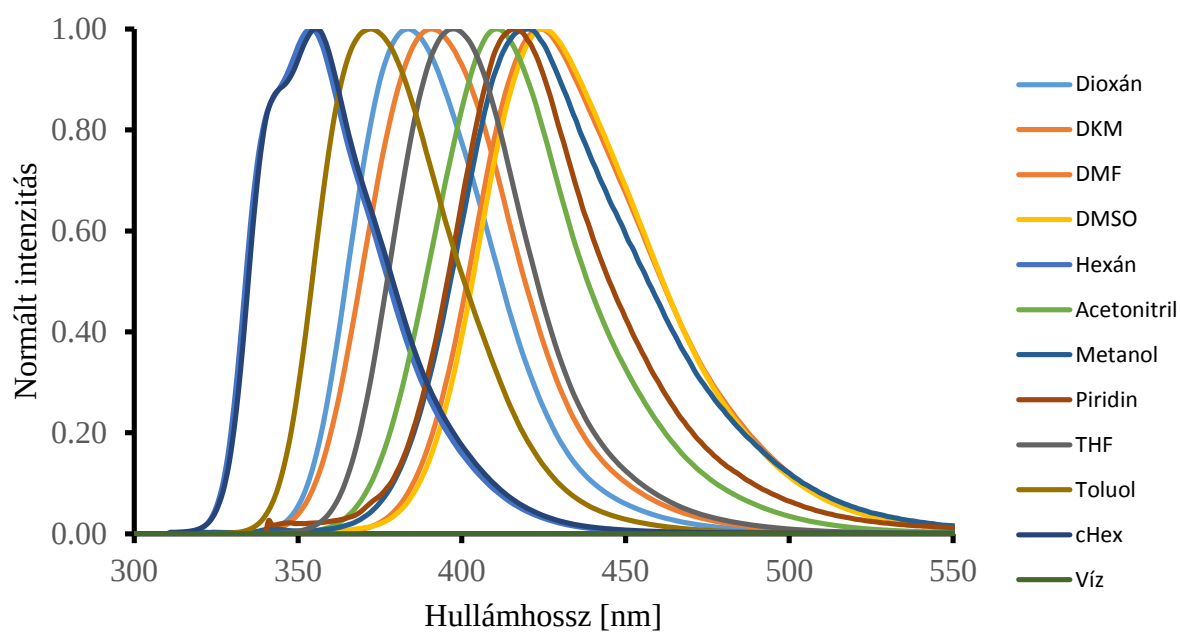
M11) ábra: A monoMICAB excitációs spektrumai különböző oldószerekben.



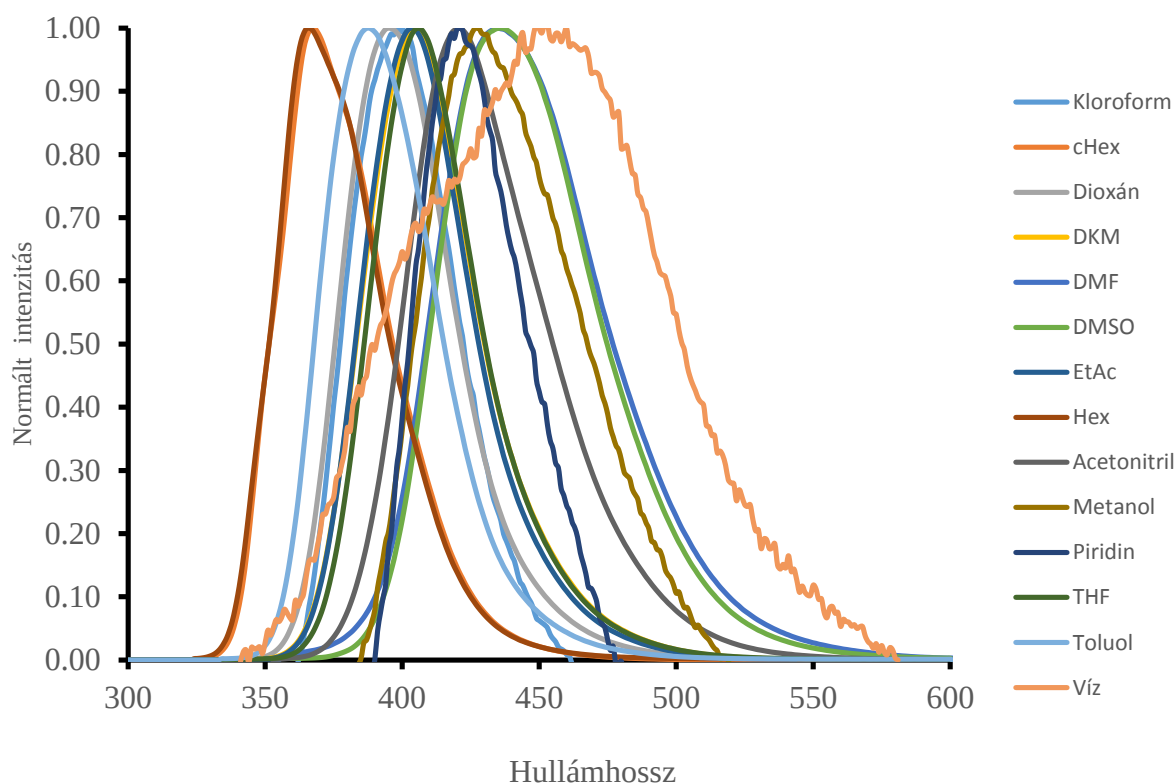
M12) ábra: A diMICAB excitációs spektrumai különböző oldószerekben.



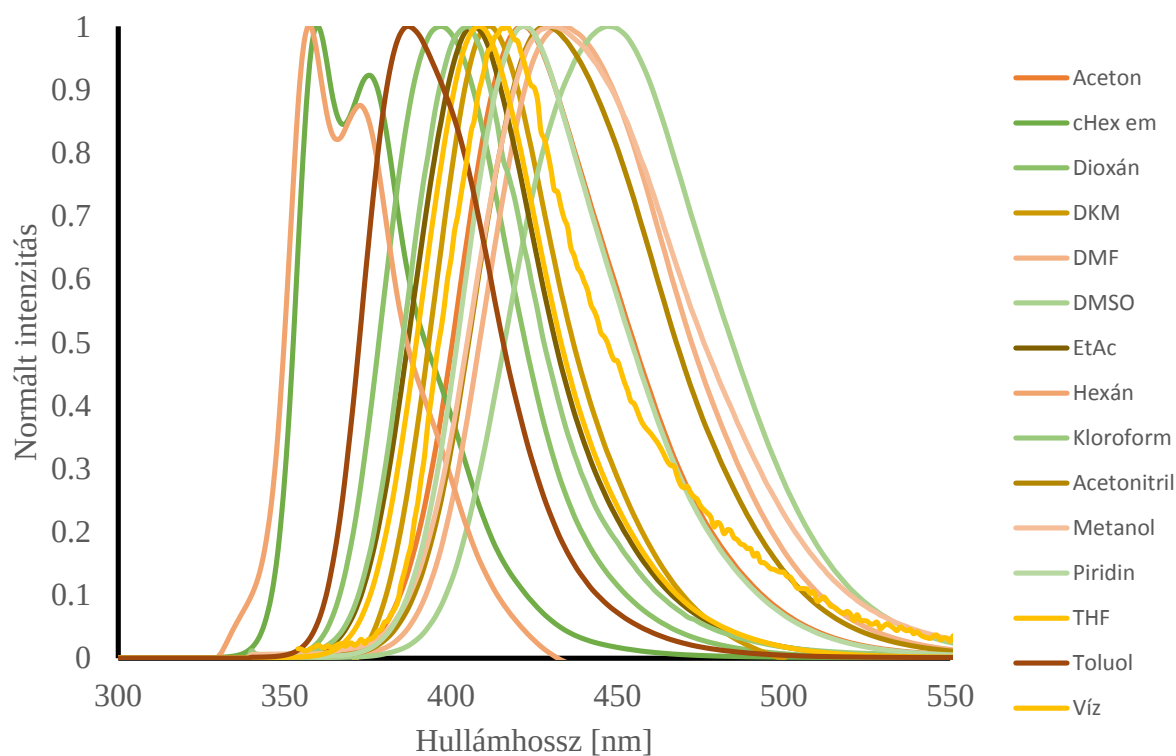
M13) ábra: Benzidin emissziós spektrumai különböző oldószerekben.



M14) ábra: ICAB emissziós spektrumai különböző oldószerekben.



M15) ábra: monoMICAB emissziós spektrumai különböző oldószerekben.



M16) ábra: diMICAB emissziós spektrumai különböző oldószerekben.

8.5 A számításokhoz használt Kamlet–Taft és Catalán paraméterek

Oldószer	Polaritás Index	Kamlet - Taft paraméterek			Catalán paraméterek			
		a	b	π^*	SA	SB	SP	SdP
Hexán	0	0	0	-0,04	0	0,056	0,6164	0,519
Ciklohexán	0	0	0	0	0	0,073	0,683	0,557
Toluol	2,4	0	0,1	0,54	0	0,128	0,7816	0,655
Diklórmétán	3,1	0,13	0,1	0,82	0,04	0,178	0,7612	0,876
THF	4,0	0	0,55	0,58	0	0,591	0,7139	0,838
Kloroform	4,1	0,2	0,1	0,53	0,047	0,071	0,7833	0,786
Etil-acetat	4,4	0	0,45	0,55	0	0,542	0,6558	0,795
Dioxán	4,8	0	0,37	0,55	0	0,444	0,7374	0,701
Aceton	5,1	0,08	0,43	0,71	0	0,475	0,651	0,881
Metanol	5,1	0,98	0,66	0,6	0,605	0,545	0,6079	0,857
Piridin	5,3	0	0,64	0,87	0,033	0,581	0,8416	0,922
Acetonitril	5,8	0,19	0,4	0,75	0,044	0,286	0,895	0,6448
DMF	6,4	0	0,69	0,88	0,031	0,613	0,7589	0,939
DMSO	7,2	0	0,76	1	0,072	0,647	0,8295	1
Víz	10,2	1,17	0,47	1,09	1,062	0,025	0,681	0,997

M17) táblázat: A méréshez használt oldatok polaritás indexei, Kamlet–Taft- és Catalán paraméterei