

Forschungsbericht 235

Dr. rer. nat. K. Rurack

Steady-State and Time-Resolved Spectroscopy of Ion-Sensitive Fluorescent Probes

ISBN 3-89701-362-2

Im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit stehen Untersuchungen des spektroskopischen und komplexometrischen Verhaltens verschiedener Ionen-sensitiver Fluoreszenzsonden. Drei der vier Sondentypen folgen dabei einem herkömmlichen Prinzip zur Signalerzeugung und entsprechen in ihrem molekularen Aufbau einem *fluoreszierenden Liganden* ($\text{BP}(\text{OH})_2$) bzw. sogenannten *intrinsischen* Ladungstransfer-(ICT)-Fluoreszenzsonden (Donor-Akzeptor-substituierte Chalkone) und Elektronentransfer-(ET)-Fluoreszenzsonden (substituierte Triaryl- Δ_2 -pyrazoline). Die beiden letzten Systeme sind modular konzipiert, so dass signalgebender Fluorophor und komplexierender Rezeptor gezielt modellierbar sind. Im Fall der ICT-Sonden sind beide Einheiten elektronisch konjugiert, bei den ET-Sonden sind sie dagegen elektronisch weitgehend entkoppelt und das Signal wird durch Beeinflussung eines weitreichenden Elektronentransferprozesses generiert. Die Sonde vierten Typs, ein Bordipyrrromethenderivat (BDP), ist ebenfalls modular aufgebaut. Bei ihr sind Fluorophor und Rezeptor aber nur durch den stark vorverdrillten Aufbau des Moleküls „virtuell“ entkoppelt. Neben diesem Einsatz eines alternativen Mechanismus zur Signalerzeugung standen vor allem die Steuerung der Selektivität durch gezielte Modifikation des Rezeptors sowie mögliche Verbesserungen der fluorometrischen Metallionenanalytik hinsichtlich Nachweiselektivität und -sensitivität durch Aufnahme zeitaufgelöster Fluoreszenzspektren (TRES) im Vordergrund der Untersuchungen.

Unter Zuhilfenahme einer Reihe von Modellsubstanzen, NMR spektroskopischer Messmethoden und quantenchemischer Rechnungen wurden ausserdem allgemeine Erkenntnisse über das lichtinduzierte Verhalten der einzelnen Farbstoffklassen gewonnen.

Der fluoreszierende Ligand $\text{BP}(\text{OH})_2$ zeigt, analog seiner Mutterverbindung 2,2'-Bipyridyl, komplexierungsinduzierte Änderungen in seinem Absorptions- und Fluoreszenzverhalten bei Anwesenheit von Übergangs- und Schwermetallionen. Während paramagnetische Ionen wie Cu^{II} oder Ni^{II} (und auch Hg^{II}) zur statischen Fluoreszenzlöschung führen, bilden die diamagnetischen Ionen Zn^{II} und Cd^{II} stark fluoreszierende Komplexe mit einer ionenspezifischen Fluoreszenzlebensdauer im ns-Zeitbereich. Beide Komplexe sind im angeregten Zustand stabil, was sich u. a. in einer, gegenüber dem freien Liganden stark herabgesetzten Geschwindigkeitskonstante für strahlungslose Desaktivierungsprozesse manifestiert. Die Absorptions- und Emissionsspektren der Komplexe überlappen stark und eine Unterscheidung mittels statischer Spektroskopie ist in beiden Fällen nur sehr begrenzt möglich. Die Trennung beider Komponenten gelingt allerdings unter Einsatz der zeitaufgelösten Fluoreszenzspektroskopie und an mehreren synthetischen $\text{Zn}^{\text{II}}/\text{Cd}^{\text{II}}$ -haltigen Proben konnte beispielhaft der Gewinn an Selektivität durch Aufnahme der TRES mit anschließender global-analytischer Auswertung gezeigt werden.

Die intrinsischen Fluoreszenzsonden des Chalkontyps tragen den Kationen-selektiven Rezeptor im Donorteil des Moleküls und zeigen bei Komplexbildung durch Schwächung des Donors eine starke Abnahme des intramolekularen Ladungstransferprozesses. Im unkomplexierten Zustand erfolgt Fluoreszenz, je nach molekularem Aufbau und Polarität des Lösungsmittels, aus einem polaren direkt angeregten (E^*) oder unter Einfachbindungsverdrillung und Reaktion im angeregten Zustand besetzten, hochpolaren Ladungstransferzustand (A^*). Als konkurrierende Prozesse spielen dabei mögliche Besetzungen eines nicht fluoreszierenden, polaren (K^*) bzw. schwach polaren (P^*) Übergangszustandes eine Rolle. Des Weiteren ist in diesem Farbstoffsystem die Möglichkeit der Fluoreszenzlöschung durch benachbarte, tiefliegende $\text{n}\pi^*$ Zustände (in unpolaren Lösungsmitteln) sowie durch verstärkte interne Konversion aufgrund des geringen energetischen Abstandes von Grund und angeregtem Zustand (in hochpolaren Lösungsmitteln) gegeben. Bei Kationenkomplexbildung in polaren Lösungsmitteln wird vor allem, wie oben angedeutet, der Donor abgeschwächt, und es kommt zu einer moderaten Fluoreszenzverstärkung.

Neben der erhöhten Fluoreszenzquantenausbeute resultiert der Effekt in Ionen-spezifischen Fluoreszenzlebensdauern der Komplexe. Durch den Austausch eines Stickstoff-Sauerstoff- gegen einen Stickstoff-Schwefel-Makrozyklus im Rezeptorteil des Systems konnte die Ionenselektivität von den Alkali- und Erdalkalimetallionen zu den thiophilen Metallionen Ag^{I} und Hg^{II} umgeleitet werden, wobei insbesondere die Fluoreszenzverstärkung in Gegenwart des herkömmlich als Fluoreszenzlöcher bekannten Hg^{II} -Ions analytisch wertvoll ist.

Die ET-Sonden des Triaryl- Δ_2 -pyrazolin-Typs zeigen gegenüber den ICT-Sonden nur geringe spektrale Effekte, die Ioneninduzierte Fluoreszenzverstärkung ist dagegen wesentlich größer. Durch den gezielten Einsatz der

unterschiedlichen Rezeptoren lassen sich hier ebenfalls die Selektivitäten steuern. In vergleichenden Untersuchungen konnten für die 5-*p-N,N*Dialkylanilino-3-benzthiazol-1-phenyl- Δ_2 -pyrazoline die intramolekularen Prozesse charakterisiert werden, die Fluoreszenzlöschung im unkomplexierten und ein „Anschalten“ der Fluoreszenz im gebundenen Zustand bewirken. In diesen Molekülen findet der intramolekulare Ladungstransfer im Hauptchromophor im sub-ps Bereich statt und wird in hochpolaren Lösungsmitteln durch einen Elektronentransferprozess auf der ps-Zeitskala vom weitgehend elektronisch entkoppelten Rezeptor zum Akzeptorteil des Hauptchromophors gelöscht.

Die „virtuelle“ Entkopplung von Fluorophor und Rezeptor im BDP-Derivat ermöglicht schließlich die Erzeugung von sehr grossen Fluoreszenzverstärkungssignalen bei Komplexierung. In diesen stark vorverdrillten Donor-Akzeptor-Biarylen geht der direkt angeregte emittierende Zustand (LE) in polaren Lösungsmitteln in einen hochpolaren, verdrillten radikalionischen Ladungstransferzustand (CT) über. Emission aus letzterem ist stark verboten und erfolgt, je nach Lösungsmittelpolarität, (weit) rotverschoben zur Fluoreszenz des LE, so dass schon in mittelpolaren Lösungsmitteln eine weithin getrennte, duale Fluoreszenz zu beobachten ist. In hochpolaren Lösungsmitteln sind beide Fluoreszenzen nahezu vollständig gelöscht.

Metallionenkomplexierung führt zur Unterbrechung des CT-Prozesses und somit zu einem „Anschalten“ der LE-Emission mit Fluoreszenzverstärkungsfaktoren > 1000. Dieser Prozess ist dabei so sensitiv, dass für die meisten Kationenkomplexe zwei spektral sehr stark überlappend absorbierende und emittierende Komplexkonformere anhand ihrer Fluoreszenzlebensdauer unterschieden werden können.