

Makrociklusos vegyületekbe ékelődés hatása a fényelnyelést követő folyamatokra

BICZÓK László,* MISKOLCZY Zsombor, MEGYESI Mónika és HARANGOZÓ József Gábor

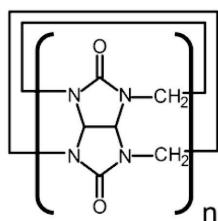
MTA Természettudományi Kutatóközpont, Anyag- és Környezetkémiai Intézet, Magyar tudósok körútja 2., 1117 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

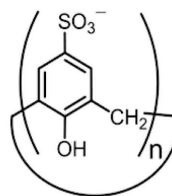
A fényvel előidézett kémiai változások alapvető szerepet játszanak a modern technológiákban, mert nagyon kis térrészben, lokálisan is megvalósíthatók, a fény intenzitásának vagy hullámhosszának változtatásával könnyen szabályozhatók, és nagy reakciósebesség eléréséhez nem szükséges magas hőmérséklet. A fotokémiai folyamatok szelektivitása sokszor lényegesen jobb, mint a termikus reakcióké, és gyakran közvetlenül előállíthatók olyan termékek, melyek egyébként csak több lépésben nyerhetők. A fény azonban nemcsak a kémiai átalakulásokhoz szükséges energiaforrásként, hanem információ hordozóként is alkalmazható. Oldatok fényelnyelési sajátásaiból következtethetünk a komponensek közötti kölcsönhatásra, vagy az oldott anyagok mennyiségére. A kibocsátott fény intenzitása, hullámhossza, polarizációfoka és ezek időbeli változása sokoldalú, nagy érzékenységgel detektálható információt nyújt a gerjesztett molekulák mikrokozmetéről és átalakulásairól.

A molekulák fényelnyelést követő folyamatai alapvetően megváltoztathatók, ha azokat makrociklusos vegyületek

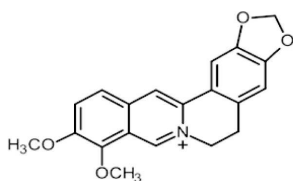
üregébe építjük be. E jelenség felhasználható például lézerefestékek fotostabilitásának növelésére,¹ különféle analitikai módszerek,² vagy fényvel szabályozható tulajdonságú anyagok³ és felületek kifejlesztésére. Makrociklusokat nanoreaktorként is alkalmazták fotoaddíciós folyamatok hatékonyságának és szelektivitásának javítására.⁴ A vízoldható makrociklusok közül a régóta használt ciklodextrinek nagy hátránya, hogy az üregükbe kötődés egyensúlyi állandója kicsi. Ezért egyre inkább előtérbe kerülnek a sokkal stabilabb szupramolekulákat alkotó kukurbit[n]urilokkal (CBn) és 4-szulfonáto-kalix[n]arénekkel (SCXn) (1.Ábra) kapcsolatos kutatások. A két metilénsoporttal összekapcsolt n darab glikoluril egységből álló, hordó alakú CBn vegyületcsalád különböző méretű tagjait először 2000-ben sikerült előállítani.⁵ A flexibilis vázú, 4-szulfonáto-fenol csoportokat tartalmazó SCXn homológok pedig 1987 óta ismertek.⁶ Mindkét makrociklus típus közös jellemzője, hogy nem toxikusak, és erősen kötődnek pozitív töltésű szerves vegyületekhez. E tulajdonságok miatt különösen jól alkalmazhatók biokompatibilis szupramolekuláris szerkezetek alkotórészeként, vagy gyógyszerhatóanyag hordozóként.⁷⁻¹⁰



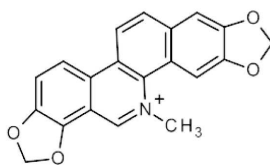
Kukurbit[n]uril (CBn)



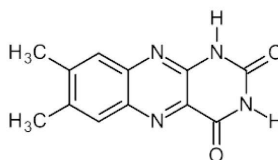
4-Szulfonáto-kalix[n]arén (SCXn)



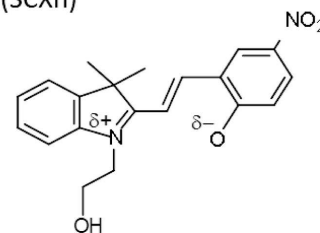
Berberin (B⁺)



Szangvinarin (SA⁺)



Lumikróm (Lc)



transz-Merocianin (t-MC)

1. Ábra. A kutatások során használt vegyületek szerkezeti képlete.

Munkánk során rákellenes hatású alkaloidoknak, a B2 vitamin bomlástermékének, a lumikrómnak és egy fény hatására reverzibilis szerkezetváltozásra képes anyagnak CBn és SCXn üregbe ékelődését tanulmányoztuk. Fő célunk annak a megismerése volt, hogy a szupramolekuláris komplex képződése miként befolyásolja a fluoreszcenciás sajátosságokat, nukleofil addíciót, fotooxidációt, fototautomerizációt,

protonálódást és a fotokróm átalakulásokat. Vizsgálni kívántuk azt is, hogy a makrociklus mérete és szerkezete hogyan hat ezekre a folyamatokra. E kutatások során alkalmazott vegyületek képletét az 1. Ábra mutatja. A használt makrociklusok és a különböző ciklodextrinek üregének méretét az 1. Táblázatban hasonlítottuk össze.¹¹ SCX6-ra és SCX8-ra vonatkozó adatokat nem lehet

* Tel.: (+36) 1 382 6614 ; e-mail: biczok.laszlo@ttk.mta.hu

megadni, mert többféle konformációt vehetnek fel oldatban, és térszerkezetük komplexképződéskor változhat.

1. Táblázat. Makrociklusos vegyületek üregének mérete számításba véve az atomok van der Waals sugarát¹¹

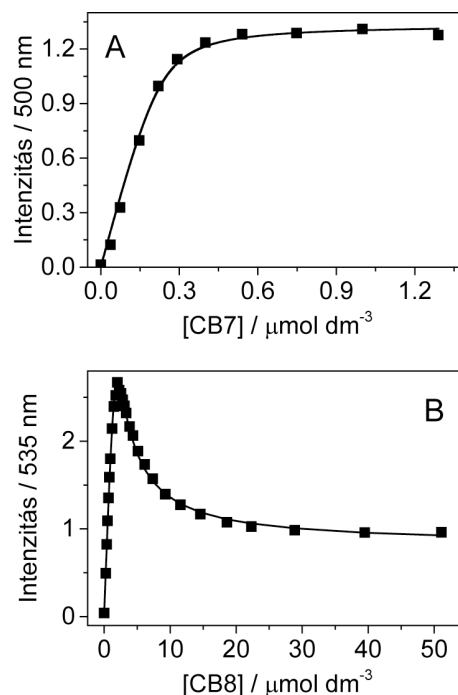
	Üreg		Üreg térfogat (nm ³)
	magasság (nm)	Üreg átmérő (nm) legkisebb legnagyobb	
CB7	0,91	0,54 0,73	0,279
CB8	0,91	0,69 0,88	0,479
SCX4 ¹²	a	a	0,120 - 0,102
α -ciklodextrin	0,79	0,47 0,53	0,174
β -ciklodextrin	0,79	0,60 0,65	0,262
γ -ciklodextrin	0,79	0,75 0,83	0,427

^a flexibilitás miatt nem határozható meg pontosan

2. Berberin beékelődés kukurbiturilokba

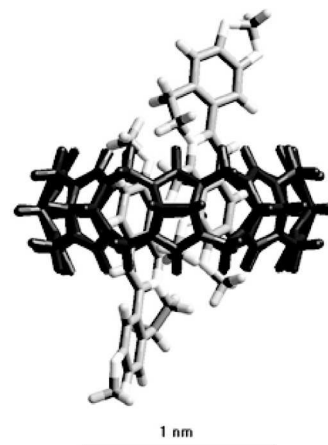
A berberin (B⁺) egy gyógyhatású természetes izokinolin alkaloid, mely vízben elhanyagolható mértékben fluoresszkál. A 7 glikoluril egységet tartalmazó kukurbit[7]urilba (CB7) egy B⁺ molekula tud beépülni. A CB7 apoláros üregébe ékelődés hatására a B⁺ szingulett gerjesztett állapotai közötti energiakülönbség jelentősen megváltozik a vízben tapasztaltnál képest, ezért a gerjesztett molekula sugárzásmentes energiavesztése nagymértékben lassul. Így a B⁺ fluoresszcencia élettartama és kvantumhatásfoka több mint két nagyságrendet növekszik CB7-be ékelődéskor. A 2. Ábra bemutatja a CB7 és az eggyel nagyobb tagszámú homológ, a kukurbit[8]uril (CB8) adagolása során fellépő B⁺ fluoresszcencia változást. A CB8 esetén megfigyelhető eltérő viselkedés abból ered, hogy tágasabb üregébe nemcsak egy, hanem két B⁺ is beékelődhet. Kis CB8 koncentrációknál főleg az erősebben fluoresszkáló 2B⁺-CB8 szupramolekula keletkezik, míg töményebb CB8 oldatokban B⁺-CB8 asszociátumok dominálnak. A Hyperchem 8.0 programmal végzett AM1 félempirikus számításokkal kapott legkisebb energiájú 2:1 komplex szerkezetét a 3. Ábra mutatja. Az 1:1 komplex hasonló elrendeződésű, az izokinolin gyűrű helyezkedik el a makrociklus belsejében. A 2. Ábrán látható mérési eredmények számítógépes illesztésével meghatározott egyensúlyi állandók jól egyeztek az izotermális kalorimetrikus titrálásokból számított értékekkel. Az utóbbi módszer előnye, hogy az entalpiaváltozás (ΔH) közvetlen mérésével információt kaptunk a B⁺ és CBn közötti reakció termodinamikai paramétereiről és a keletkezett komplex összetételéről is. A 2. Táblázatban összefoglalt adatok jól mutatják, hogy mindhárom komplex entalpiavezérelt folyamatban keletkezik. Biedermann és munkatársainak eredményei szerint^{13,14} a CBn apoláros, nem polarizálható üregében a vízmolekulák közötti kölcsönhatás gyenge, nem alakul ki hidrogénkötéssel összetartott hálózat. Így a vízmolekulák energiája a makrociklusban lényegesen nagyobb, mint a makrocikluson kívül.

A B⁺ beépülésekor a CBn-ben elhelyezkedő nagyenergiájú vízmolekulák kiszorulnak az üregből, és az oldószer molekulák hálózatához kapcsolódásuk jelentősen hozzájárul a komplexképződéskor fellépő entalpia csökkenéshez. A legkisebb hőfelszabadulást az első B⁺ CB8-ba ékelődése okozza, mert a tágas CB8 üregben különbözik legkevésbé a



2. Ábra. B⁺ fluoresszcencia intenzitásának változása a CB7 (A) és CB8 (B) koncentráció függvényében. Gerjesztési hullámhossz 345 nm (A) és 385 nm (B).

vízmolekulák energiája az oldószerként jelenlevőektől. Ezért a B⁺-CB8 képződéskor jár a legkisebb energianyereséggel a víz egy részének kiszorítása a makrociklusból. A komplexek stabilitásához jelentősen hozzájárul a B⁺ delokalizált pozitív



3. Ábra. 2B⁺-CB8 komplex szerkezete AM1 módszerrel végzett számítások szerint az atommag koordinátákat ábrázolva.

2. Táblázat. Komplexek fluoresszcencia kvantumhatásfoka (Φ_f) és fluoresszcencia élettartama (τ_f), továbbá a kötődés egyensúlyi állandója (K) és termodinamikai paramétere 298 K-en^{15,16}

	B ⁺ -CB7	B ⁺ -CB8	2B ⁺ -CB8
Φ_f	0,26	0,023	0,043
τ_f /ns	11,6	2,0	4,1
K/10 ⁶ dm ³ mol ⁻¹	24 ^a	9,4 ^a	1,9 ^a
ΔH /kJ mol ⁻¹	-38 ^a	-25 ^a	-69 ^a
ΔS /J mol ⁻¹ K ⁻¹	13 ^a	50 ^a	-110 ^a

^a Kalorimetrikus titrálásból.

töltése és a C_{Bn} negatív parciális töltésű oxigénatomjai közötti elektrosztatikus vonzás. Az entrópia változás (ΔS) mértékét két ellentétes hatás eredője határozza meg. A C_{Bn} üregéből és a B⁺ hidrátburkából kiszabaduló vízmolekulák pozitív entrópia hozzájárulást okoznak, míg a makrociklusba ékelődés negatív entrópia hozzájárulást eredményez, mert csökkenti a szabadsági fokok számát. B⁺-CB8 keletkezésekor az előbbi, 2B⁺-CB8 képződésekor pedig az utóbbi tényező dominál. Ha a C_{Bn} makrociklusokat mikroreaktorként vagy késleltetett hatóanyagfelszabadulást biztosító gyógyszerhordozóként kívánjuk alkalmazni, akkor alapvető fontosságú a beékelődési és disszociációs folyamatok kinetikájának megismerése, hiszen termodinamikai adatokból nem lehet következtetni az egyes reakciólépések sebességére. Vizsgálataink^{15,16} előtt a szakirodalomban még nem közöltek C_{Bn} komplexképződésre vonatkozó aktiválási entalpia vagy aktiválási entrópia értékeket, és CB8-ba ékelődés minden lépésére kiterjedő kinetikai eredményeket.

A B⁺ elhanyagolható fluoreszcenciája vízben és különböző komplexeinek eltérő fotofizikai paraméterei lehetővé tették, hogy a fluoreszcenciaintenzitás növekedésének detektálásával közvetlenül kövessük a C_{Bn} komplexek koncentrációjának időbeli változását. A megállított áramlásos kísérleti módszer biztosította a komponensek gyors összekeveredését. A különböző B⁺ és C_{Bn} koncentrációknál felvett fluoreszcenciaintenzitás időbeli változás adatok számítógépes modellezésével megkaptuk a komplexképződésre vezető asszociációs (k_a) folyamat és a komplex disszociáció (k_d) sebességi együtthatóját. B⁺-CB7 képződés esetén a k_a és k_d mennyiségek hőmérséklet-függéséből aktivációs entalpia (ΔH^\ddagger) és aktivációs entrópia (ΔS^\ddagger) értékeket határoztunk meg.

3. Táblázat. Komplexképződés kinetikai paraméterei 283 K-en^{15,16}

	B ⁺ -CB7	B ⁺ -CB8	2B ⁺ -CB8
$k_a/10^6 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$	8,8	64	5,0
$\Delta H_a^\ddagger/\text{kJ mol}^{-1}$	32		
$\Delta S_a^\ddagger/\text{J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$	2,6		
k_d/s^{-1}	0,16	3,8	0,6
$\Delta H_d^\ddagger/\text{kJ mol}^{-1}$	69		
$\Delta S_d^\ddagger/\text{J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$	-19		

4. Táblázat. Berberin-SCX_n komplexek fluoreszcencia kvantumhatásfoka (Φ_f) és keletkezésük egyensúlyi állandója (K) 298 K-en savas és lúgos közegben¹⁹

	SCX8		SCX6		SCX4	
pH	2,0	12,2	2,0	12,2	2,0	12,2
$K/10^4 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$	24	21	0,93	2,0	0,30	0,60
Φ_f	0,019	^a	0,0064	^a	0,018	^a

^a Elhanyagolható intenzitású fluoreszcencia.

A B⁺-SCX_n komplexek lúgos közegben nem fluoreszkálnak. Az SCX_n fenolát formája lényegesen könnyebben oxidálható, mint a csak fenol egységeket tartalmazó makrociklus. A komplexen belüli elektronátadás a fenolátcsoportról a szingulett gerjesztett B⁺-re gyors energiavesztést okoz, amivel a lényegesen lassabb fluoreszcencia kibocsátás nem tud versenyezni.

A 3. Táblázatban összegyűjtött adatok jól mutatják, hogy mindhárom komplexképződés sebességi együtthatója lényegesen kisebb a vízben lejátszódó diffúziókontrollált reakciók sebességi együtthatójánál ($k_{\text{diff}} = 6.5 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 298 K-en).¹⁷ A B⁺ behatolása a CB7 üregébe kb. 7-szer lassabb, mint a nagyobb méretű CB8-ba, és a folyamat jelentős aktiválási entalpiát igényel. A röntgendiffrakciós mérések szerint⁵ a CB7 bejáratának átmérője csak 0,54 nm, míg a középső rész belső átmérője 0,73 nm az atomok van der Waals sugarát figyelembe véve.¹¹ Valószínűleg a makrociklus szűk peremének átmeneti, ellipszoid alakú torzulása szükséges a B⁺ beékelődéséhez. A második B⁺ kapcsolódása a B⁺-CB8-hoz szintén térbeli gátlás miatt lassabb, mint a B⁺-CB8 képződése. A komplexek disszociációja nagy aktiválási entalpiájú folyamat, ezért másodperc nagyságrendű időskálán játszódik le. A B⁺-CB7 disszociáció negatív aktiválási entrópiája arra utal, hogy az átmeneti állapot hidratációja jelentős entrópia csökkenést okoz.

3. Berberin beépülés 4-szulfonáto-kalixarének üregébe

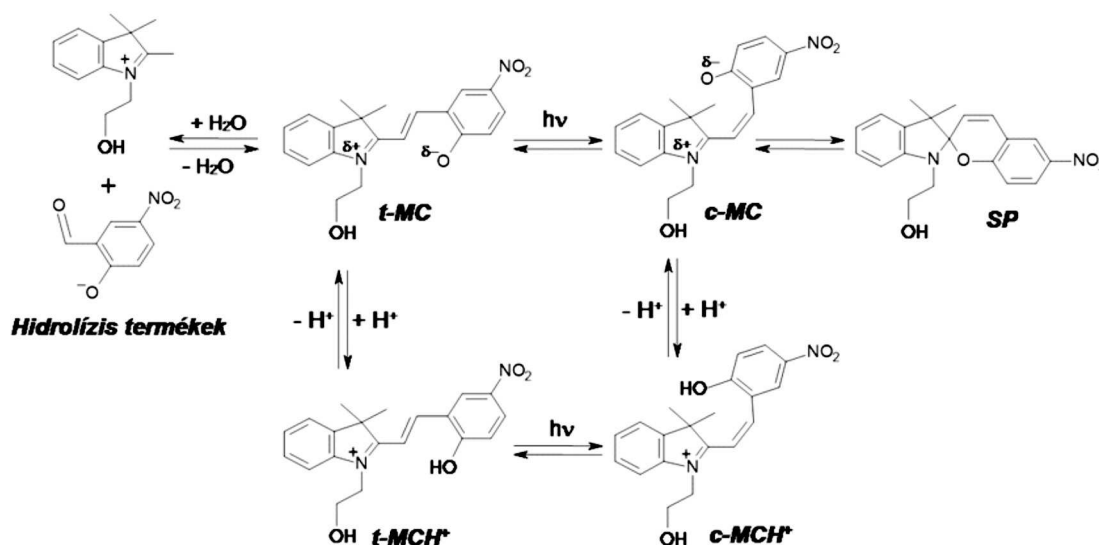
Az SCX_n szulfonátcsoportjai 2,0 pH-jú oldatban már teljesen disszociálnak, de fenolát nem képződik.¹⁸ A fenol OH-csoportok közül 12,2 pH-n az SCX4-ben 1-2, az SCX6-ban 2-3 és az SCX8-ban 4 deprotonált.¹⁸ E flexibilis, kevésbé apoláros belsejű makrociklusok nagy negatív töltésük ellenére B⁺-nel sokkal kisebb stabilitású komplexet képeznek,¹⁹ mint az erősen apoláros üregű C_{Bn} vegyületek. A 4. Táblázat mutatja a spektrofotometrikus titrálásokkal 298 K-en meghatározott komplexképződési egyensúlyi állandókat. A nagyméretű SCX8 szerkezete könnyedén tud hozzáigazodni a B⁺-hez, így ez a homológ kötődik legerősebben. A partnerek közötti optimális kölcsönhatást biztosító elrendeződés kialakulása térbeli gátlás miatt a kisebb makrociklusokkal egyre kevésbé valószínű, ezért a K értékek jelentősen csökkennek a gyűrűmérettel. A fenol OH-csoportok közötti hidrogénkötés csökkenti az SCX6 és SCX4 flexibilitását, következésképpen akadályozza a B⁺ beépülést. Lúgos közegben az OH-szubsztituensek egy részének disszociációja miatt ez a hatás kisebbé válik, és kb. kétszeresére nő az egyensúlyi állandó a pH 2-n mért értékhez képest.

4. Makrociklusba ékelődés hatása fotokróm vegyület átalakulásaira és hidrolízisére

A fotokrómizmus két jelentősen eltérő elnyelési spektrumú vegyület közötti fényel előidézett reverzibilis átalakulás. Az ilyen folyamatokat széleskörben hasznosítják például fényel szabályozható tulajdonságú anyagokban, nagyfelbontású képalkotó eljárásokban és optikai információtárolásra.

Az alkalmazási lehetőségek kiterjesztését gátolja, hogy a fotokrom anyagok általában nem oldódnak vízben, vagy hidrolizálnak. Kimutattuk, hogy a fotoaktív vegyület beépítése makrociklusokba megoldást jelenthet ezekre a problémákra.²⁰⁻²²

A 4. Ábrán feltüntetett szerkezeti képletű szintelen spirobenzopirán (SP) vízben savkatalizált termikus reakcióval sárga protonált *transz*-merocianinná (*t*-MCH⁺) alakul, mely semleges vagy lúgos közegben narancsvörös *transz*-merocianinná (*t*-MC) deprotonálódik. A *t*-MCH⁺ saverőssége jelentősen csökken makrociklusok üregébe ékelődés hatására (5. Táblázat). Ennek oka, hogy a komplexképződés megváltoztatja a festékmolekula elektroneloszlását, mikrokozmetét, és a gazdavegyület negatív vagy parciális negatív töltése akadályozza a protonvesztést. A komponensek közötti elektrosztatikus vonzás növeli a kötődés erősségét is, így a *t*-MCH⁺ mindegyik makrociklussal stabilabb komplexet alkot, mint a *t*-MC. Legnagyobb egyensúlyi állandót a tágas, apoláros üregű CB8-cal kaptunk, ahol hidrofób kölcsönhatás is elősegíti a kötődést, és a merocianin dimetilindolin része teljesen be tud ágyazódni. A kisebb CB7-be már csak a dimetilindolin benzolgyűrűje fér bele, így gyengébb kölcsönhatás alakul ki. A 4. Ábra összefoglalja a merocianin vizes oldatában végbemenő folyamatokat, az 5. Táblázat pedig mutatja a makrociklusos vegyületek hatását a fotokrom reakciók kinetikai paramétereire. CB8-hoz kötődés mindegyik átalakulás sebességét befolyásolja. A *t*-MC jellegzetes narancsvörös színű oldatát 505 nm hullámhosszú fényvel



4. Ábra. *t*-MC fotokémiai és termikus átalakulása.

azonban *c*-MCH⁺ fototermetet kapunk. Ezekben a makrociklusokban a *c*-MCH⁺ protonvesztése gátolt, ezért nem tud SP-vé alakulni. A CB7 üregébe csak a dimetilindolin rész benzolgyűrűje fér be, így a komplexképződés a *c*-MCH⁺ további átalakulását nem gátolja. Sőt, a komplexképződés következtében létrejövő elektroneloszlás változás elősegíti a SP keletkezését. A termikus *c*-MCH⁺ → *t*-MCH⁺ izomerizációt az SCX_n-hez kötődés nagymértékben lassítja. A teljes visszaalakuláshoz 298 K-en több mint egy nap szükséges. A kis reakciósebesség oka a megnövekedett aktiválási energia. (5. Táblázat). A kisebb méretű, merevebb SCX4-hez kapcsolódás valószínűleg térbeli gátlás miatt

besugározva fokozatos elszíntelenedés figyelhető meg, mert gerjesztett állapotban lejátszódó *transz*-*cisz* izomerizációt követő gyűrűzáródással SP keletkezik. Azonos körülmények között a *t*-MC-CB8 komplex 3-szor lassabban reagál, mint a szabad *t*-MC. Ez arra utal, hogy a makrociklus akadályozza a spiroszerkezet kialakulását, de nem gátolja meg. Elegendő fény mennyiség elnyelésével teljesen átalakítható a *t*-MC SP-vé. E folyamat sebessége csak a fényintenzitástól függ, a hőmérséklettől nem.

Az SP stabilitása kisebb a CB8-komplexben, és 298 K-en kb. 2 óra alatt termikus reakcióban visszaképződik a *t*-MC-CB8. Ugyanezen a hőmérsékleten CB8-at nem tartalmazó oldatban ehhez sokkal hosszabb időre van szükség. A reakció sebessége együtthatójának hőmérsékletfüggéséből CB8 üregében a vízben mértnél 33 kJ mol⁻¹-gyel kisebb Arrhenius-féle aktiválási energiát (E_A) és több mint 5 nagyságrenddel kisebb preexponenciális tényezőt (A) határoztunk meg. A többi makrociklus sem a *t*-MC → SP fotokémiai reakciót, sem a termikus visszaalakulást nem befolyásolta. CB8-komplex esetén tapasztalt jelentős reakciósebesség változásban fontos szerepe lehet annak, hogy a CB8 ürege erősen apoláros jellegű. Az SP → *t*-MC reakció aktiválási energiájának csökkenését figyelték meg, amikor etanol oldószert benzolra cserélték.²³

Savas közegben a merocianin OH-csoportja nem disszociál. A sárga *t*-MCH⁺ oldat teljesen elveszíti a színét, ha 410 nm hullámhosszú fényvel fotolizáljuk. Vízben és CB7 üregében SP keletkezik. CB8-, SCX8- és SCX4- komplexekben

különösen nagy aktiválási energiát eredményez. A jelentős A-faktor nagy aktiválási entrópiára, és arra utal, hogy a *cisz*-*transz* izomerizáció átmeneti állapotában a komponensek lazábban kötöttek, mint a kiindulási komplexben. Ezzel ellentétben a CB8-ba kötött *c*-MCH⁺ izomerizációját lényegesen kisebb aktiválási energia és negatív aktiválási entrópia jellemzi.

A CB8 különleges sajátossága, melyet a többi vizsgált makrociklus nem mutat, hogy felhasználható *t*-MC lúgos közegben lejátszódó hidrolízisének gátlására. E reakció sebességmeghatározó lépése egy OH⁻ addíció, végtermékként

5. Táblázat. Makrociklusba ékelődés hatása a savérösszegré (pK_a), a kötődés egyensúlyi állandói (K) 298 K-en és a fotokrom reakciók kinetikai jellemzői²⁰⁻²²

		H ₂ O	CB8	CB7	SCX8	SCX4
<i>t</i> -MCH ⁺	pK_a	4,52	5,60	5,73	6,02	5,35
<i>t</i> -MCH ⁺	$K/10^4 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$		200	7,4	2,3	2,5
<i>t</i> -MC	$K/10^4 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$		17	^a	0,32	0,35
<i>t</i> -MC + hv → SP	relatív sebesség ^b	1,00	0,33	^a	1,00	1,00
SP → MC	A/s^{-1}	6×10^{14}	3×10^9	^a	6×10^{14}	6×10^{14}
	$E_A/kJ \text{ mol}^{-1}$	107	74	^a	107	107
<i>t</i> -MCH ⁺ + hv → termék	relatív sebesség ^b	1,00	>1,00	2,30	1,00	>1,00
termék → <i>t</i> -MCH ⁺	A/s^{-1}	6×10^{12}	2×10^{11}	6×10^{12}	4×10^{15}	6×10^{16}
	$E_A/kJ \text{ mol}^{-1}$	96	92	96	116	124

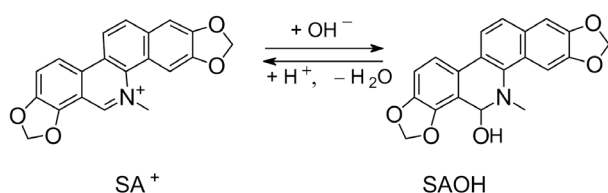
^a Komplexképződés nem mutatható ki.

^b Komplexátlatlan molekula átalakulásának sebességéhez képest azonos körülmények között.

pedig Fischer bázis és 4-nitro-szalicilaldehid keletkezik. (4. Ábra) Ha a *t*-MC CB8-ban helyezkedik el, akkor a CB8 üreg bejáratánál levő parciális negatív töltéssel rendelkező oxigénatomok elektrosztatikus taszítása akadályozza az OH⁻ anionok addícióját, így a *t*-MC bomlás jelentősen lassul. A következő fejezetben bemutatjuk, hogy kisebb méretű vegyület stabilitása hatékonyan növelhető CB7 segítségével.

5. Szangvinarin–CB7 komplexképződés hatása nukleofil addíciós és fotooxidációs reakciókra

A szangvinarin (SA⁺) egy rákellenes, gomba- és baktériumölő tulajdonságokkal rendelkező természetes benzo[c]fenantridin alkaloid. NMR és elnyelési spektroszkópiai vizsgálataink igazolták,²⁴ hogy a SA⁺ elég hosszú molekula ahhoz, hogy mindkét vége beékelődjön egy-egy CB7-be. Az 1:2 komplex stabilitási állandója azonban csak $1000 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$, mert a két CB7 peremén elhelyezkedő oxigének parciális negatív töltése taszítja egymást. Az 1:1 komplex képződésének egyensúlyi állandója 3 nagyságrenddel nagyobb. A SA⁺ vízben mért $\Phi_F = 0,038$ fluoreszcencia kvantumhatásfoka és $\tau_F = 2,3$ ns szingulett gerjesztett állapot élettartama, CB7 üregében $\Phi_F = 0,37$ -re és $\tau_F = 17,5$ ns-ra nő. Az 1:1 és 1:2 komplexek fluoreszcenciás sajátosságai között nem tapasztalható különbség. A Φ_F és τ_F mennyiségek hasonló változásából arra következtethetünk, hogy a komplexképződés elsősorban az SA⁺ szingulett gerjesztett állapotának sugárzásmentes energiavesztését lassítja, a fluoreszcencia kibocsátás sebességét pedig csekély mértékben befolyásolja. A biológiailag aktív kationos forma (SA⁺) 6-helyzetű szénatomjára OH⁻ addicionálódhat, és ekkor az 5. Ábrán feltüntetett reverzibilis folyamatban semleges SAOH keletkezik. Az NaOH adagolás hatására fellépő elnyelési és fluoreszcencia spektrum változásokat a 6A. Ábra szemlélteti. A nukleofil addíció megszünteti a



5. Ábra. Szangvinarin kationos (SA⁺) és semleges (SAOH) formája.

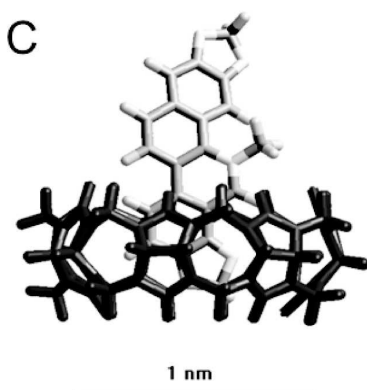
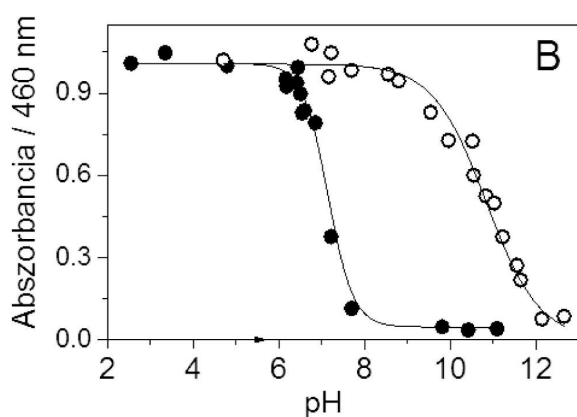
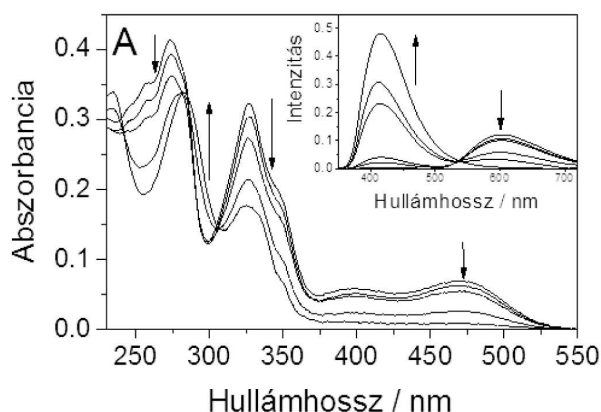
heterociklusos gyűrű aromás jellegét, ezért a spektrumok alapvetően különböznek savas és lúgos közegben. Így a SA⁺ természetes pH indikátorként alkalmazható. A 460 nm-en mért abszorbancia mutatja az SA⁺ koncentráció változását a pH függvényében (6B. Ábra). SA⁺–CB7 komplex képződése 3,69 egységnyi eltolódást okoz a pH-függésben. A 6C. Ábra illusztrálja az SA⁺–CB7 komplex szerkezetét. Az SA⁺ 6-helyzetű szénatomja a makrociklus belsejében helyezkedik el. A CB7 üreg bejáratának nagy elektronsűrűsége elektrosztatikusan gátolja a negatív töltésű OH⁻ ionok közeledését. Így a CB7-be ékelődés jelentősen lassítja az OH⁻ addíciót.

Oxigén jelenlétében vízben 329 nm hullámhosszú fény hatására az SAOH szelektíven oxidálódik 6-oxi-szangvinarinná. A fluoreszcencia intenzitás 428 nm-en mért csökkenése alapján jól követhető az SAOH mennyiségének változása. A 7. Ábrán a 0 és 0,88 mmol dm⁻³ CB7 koncentrációjú oldatok fotolízise során kapott adatokat tüntettük fel. Az SAOH fogyása másodrendű kinetikát mutat, hiszen a fluoreszcencia intenzitásának reciprok értéke egyenesen arányos a besugárzási idővel.

Az SAOH és CB7 közötti komplexképződés egyensúlyi állandójára $245 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$ értéket becsültünk.²⁴ A CB7 hatékonyan óvja meg az SAOH-t a fotooxidációtól hiszen kísérleti körülményeink között az SAOH-nak csak kb. 18%-a kötődött CB7-hez. Teljes SAOH komplexálódást nem lehet elérni a CB7 korlátozott oldhatósága miatt.

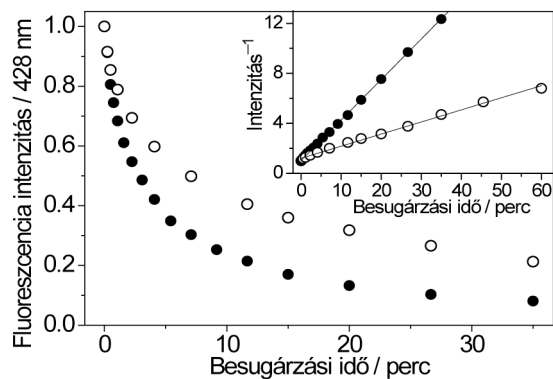
6. Lumikrom tautomerizáció CB7 üregében²⁵

A lumikrom (Lc) oldhatósága CB7 jelenlétében megnő, ami komplexképződésre utal. A vízben oldott Lc elnyelési és fluoreszcencia spektruma CB7 adagolás hatására a 8. Ábrán látható módon változik. A kezdeti spektrum intenzitása csökken, és nagyobb hullámhosszak felé eltolódott új sáv jelenik meg. A spektrális változások alapján az 1:1 komplexképződés egyensúlyi állandójára $8300 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$ értéket kaptunk. Az Lc fluoreszcencia 440 nm-en exponenciális lecsengést mutat 2,7 ns élettartammal. CB7 mennyiségének növelésekor egy új, 5,1 ns élettartamú fluoreszcencia komponens figyelhető meg egyre nagyobb amplitúddal. E fluoreszcencia izoalloxazin szerkezetű

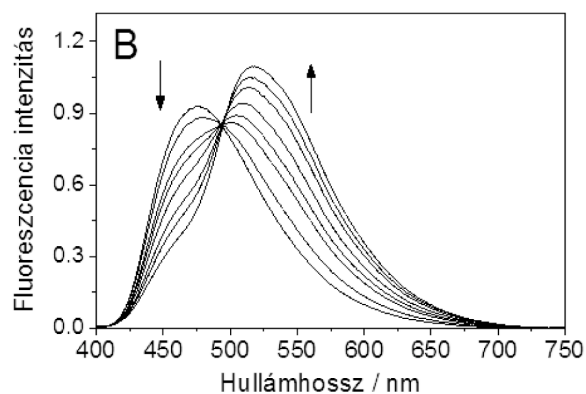
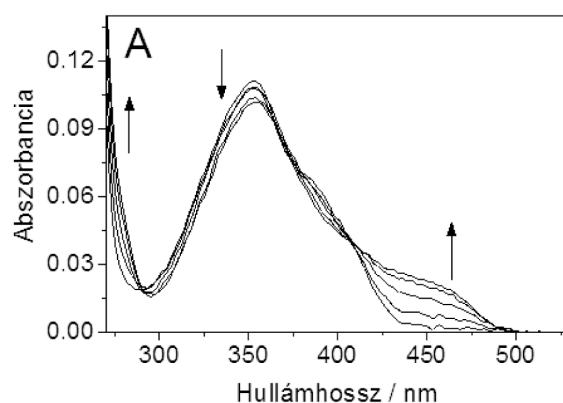


6. **Ábra.** (A) Szangvinarin elnyelési spektruma 6,4, 6,5, 6,8, 7,0, 7,2 pH-n és fluoreszcencia spektruma 6,4, 6,6, 6,8, 7,2, 7,5, 9,8 pH-n vízben 309 nm hullámhosszú fényel gerjesztve. (B) Relatív abszorbancia 460 nm-en a pH függvényében 0 (●) és 0,1 mmol dm⁻³ (○) CB7 koncentrációjú oldatban. (C) SA⁺-CB7 komplex szerkezete HyperChem 8.0 programmal RM1 módszerrel végzett számítások alapján az atommag koordinátákat ábrázolva.

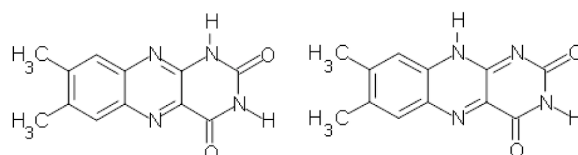
tautomer-CB7 (T-CB7) komplextől ered, mert a hosszú hullámhosszknál megjelenő elnyelési és fluoreszcencia sávok megfelelnek az izoalloxazin szerkezetű riboflavin spektrumában láthatóakkal, a T-CB7 fluoreszcencia élettartama pedig jól egyezik a riboflavinéval²⁶ (5,15 ns). Nagy (1 mmol dm⁻³) CB7 koncentráció jelenlétében már csaknem teljes a komplexképződés. Mégis a T-CB7 fluoreszcencia mellett még 1,7 ns élettartamú emisszió is tapasztalható, ami nem tautomerizálódott Lc-CB7 komplexnek tulajdonítható. A CB7 üregébe az Lc vagy T dimetilbenzol része ékelődik be. A CB7 oxigénatomjaival létrejövő hidrogénkötés elősegíti az izoalloxazin típusú elektroneloszlás kialakulását.



7. **Ábra.** 6,1 μmol dm⁻³ SAOH fluoreszcencia intenzitásának változása 329 nm hullámhosszú fényel besugárzás során 0,06 mol dm⁻³ KOH tartalmú oldatban (●) és 0,88 mol dm⁻³ (○) CB7 jelenlétében. Beillesztett ábra: a fluoreszcencia intenzitásának reciprok értéke a besugárzási idő függvényében.



C



Lumikróm (Lc)

Tautomer (T)

8. **Ábra.** (A) 10,8 μmol dm⁻³ Lc elnyelési spektruma 0, 32, 143, 352 és 732 μmol dm⁻³ CB7; (B) fluoreszcencia spektrumok 0, 15, 48, 70, 112, 217, 336 és 713 μmol dm⁻³ CB7 jelenlétében vízben 350 nm hullámhosszú gerjesztő fényt alkalmazva; (C) Lc és T szerkezeti képlete.

7. Kísérleti rész

A kereskedelmi forgalomban kapható vegyületeket használtunk: berberin-klorid (Sigma), szangvinarin-klorid (Sigma), lumikróm (Aldrich), N-(2-hidroxietyl)-3',3'-dimetil-6-nitrospiro[2H-1-benzopirán-2,2'-indoline] (TCI), szulfonátocalixarének (TCI). Nagy tisztaságú kukurbiturilokat Dr. Anthony I. Day (New South Wales Egyetem, Canberra, Ausztrália) készítette. A berberin-kloridot szilikagél (Merck) oszlopon kromatográfias módszerrel tisztítottuk etanollal eluálva. Oldószerként háromszor desztillált vizet alkalmaztunk. Az oldatok pH-ját NaOH vagy HCl adagolással állítottuk be, és Consort C832 műszerrel mértük. Az elnyelési spektrumokat Unicam UV 500 spektrofotométerrel, a fluoreszcenciaspektrumokat Jobin-Yvon Fluoromax-P spektrofluoriméterrel vettük fel. Az utóbbi berendezéshez Applied Photophysics RX2000 kiegészítő egységet használtunk a megállított áramlási módszerrel végzett kísérletekhez. A fluoreszcencia-lecsengéseket Picoquant és Hamamatsu egységekből házilag összeépített készülékkel mértük. A kb. 100 ps villanásidejű 372 nm hullámhosszú gerjesztő fényimpulzusokat egy diódelezer szolgáltatva. A fotokémiai reakciókat 150 W-os xenon lámpa fényét monokromátoron átvezetve valósítottuk meg 1×0,4 cm-es kvarc küvétában az oldatok teljes térfogatát besugározva. Az izotermális kalorimetriai titrálásokat MicroCal VP-ITC műszerrel végeztük. Az eredményeket ORIGINPRO 8, vagy saját fejlesztésű MATLAB programokkal értékeltük ki. Kvantumkémiai számításokhoz HyperChem 8.0 programot használtunk.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönik az OTKA-nak a K104201 számú pályázatra nyújtott anyagi támogatást.

Hivatkozások

- Mohanty, J.; Jagtap, K.; Ray, A. K.; Nau, W. M.; Pal, H. *ChemPhysChem* **2010**, *11*, 3333-3338.
- Ghale, G.; Nau, W. M. *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 2150-2159.
- Ma, X.; Tian, H. *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 1971-1981.

Effect of inclusion in macrocycles on photoinduced processes

Because encapsulation in macrocyclic compounds has a great potential in the design of fluorescence assays, molecular-scale devices, sensors, functional materials, tailor-made photoactive supramolecular systems, and in drug delivery, the host-guest complex formation was studied with nontoxic cucurbiturils (CBn) and 4-sulfonatocalixarenes (SCXn) (Figure 1). In the present paper we review our recent results on the inclusion complex formation of two natural alkaloids, a photochromic merocyanine dye, and lumichrome, the major product of the photodecomposition of riboflavin.

Berberine (B⁺), a pharmaceutically important natural alkaloid produced a very stable 1:1 inclusion complex with cucurbit[7]uril (CB7) leading to about 500-fold fluorescence intensity enhancement. This effect was attributed to the substantial deceleration of the rate of internal conversion from the singlet-excited state in the nonpolar cavity of the host. In the more spacious interior of the cucurbit[8]

- Pemberton, B. C.; Raghunathan, R.; Volla, S.; Sivaguru, J. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 12178-12190.
- Kim, J.; Jung, I.-S.; Kim, S.-Y.; Lee, E.; Kang, J.-K.; Sakamoto, S.; Yamaguchi, K.; Kim, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 540-541.
- Shinkai, S.; Araki, K.; Tsubaki, T.; Arimura, T.; Manabe, O. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1987**, 2297-2299.
- Guo, D.-S.; Liu, Y. *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 1925-1934.
- Perret, F.; Lazar, A. N.; Coleman, A. W. *Chem. Commun.* **2006**, 2425-2438.
- Masson, E.; Ling, X.; Joseph, R.; Kyeremeh-Mensah, L.; Lu, X. *RSC Adv.* **2012**, *2*, 1213-1247.
- Walker, S.; Oun, R.; McInnes, F. J.; Wheate, N. J. *Isr. J. Chem.* **2011**, *51*, 616-624.
- Lagona, J.; Mukhopadhyay, P.; Chakrabarti, S.; Isaacs, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4844-4870.
- Ghosh, I.; Nau, W. M. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2012**, *64*, 764-783.
- Biedermann, F.; Uzunova, V. D.; Scherman, O. A.; Nau, W. M.; De Simone, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 15318-15323.
- Biedermann, F.; Vendruscolo, M.; Scherman, O. A.; De Simone, A.; Nau, W. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 14879-14888.
- Miskolczi, Z.; Biczók, L. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 20147-20156.
- Miskolczi, Z.; Biczók, L. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118*, 2499-2505.
- Montalti, M.; Credi, A.; Prodi, L.; Gandolfi, M. T. *Handbook of Photochemistry*; 3rd ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2006.
- Suga, K.; Ohzono, T.; Negishi, M.; Deuchi, K.; Morita, Y. *Supramol. Sci.* **1998**, *5*, 9-14.
- Megyesi, M.; Biczók, L. *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *424*, 71-76.
- Miskolczi, Z.; Biczók, L. *J. Phys. Chem. B* **2011**, *115*, 12577-12583.
- Miskolczi, Z.; Biczók, L. *Photochem. Photobiol.* **2012**, *88*, 1461-1466.
- Miskolczi, Z.; Biczók, L. *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 648-653.
- Flannery, J. B., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 5660-5671.
- Miskolczi, Z.; Megyesi, M.; Tárkányi, G.; Mizsei, R.; Biczók, L. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 1061-1070.
- Miskolczi, Z.; Biczók, L.; Görner, H. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2009**, *207*, 47-51.
- Penzkofer, A.; Bansal, A. K.; Song, S. H.; Dick, B. *Chem. Phys.* **2007**, *336*, 14-21.

uril (CB8) macrocycle not only one but also two B⁺ cations were embedded. Isothermal calorimetric titrations showed that B⁺ encapsulation in CB7 and CB8 was enthalpy controlled. The kinetics of complex formation was followed in real time by recording the substantial fluorescence intensity change after rapid mixing of host and guest by stopped-flow technique. The rate constants of ingress into the cavity were 2-3 orders of magnitude smaller than for a diffusion-controlled process because the tight portal of the host caused constrictive binding. The equilibrium constants of B⁺ confinement were significantly lower in 4-sulfonatocalixarenes (SCXn) than in cucurbiturils (CBn), and substantial binding affinity diminution was found with the decrease of the cavity size. B⁺-SCXn complexes did not emit fluorescence in strongly basic solution because electron transfer from the phenolate moieties of the host to the singlet-excited B⁺ led to efficient nonradiative energy dissipation.

A frequently applied spiropyran, N-(2-hydroxyethyl)-3',3'-dimethyl-6-nitro-spiro[2H-1-benzopyran-2,2'-indoline] (SP) was found to be unstable in water as well as in CBn and SCXn cavities, and transformed to merocyanine (MC) or protonated merocyanine

(MCH⁺) depending on pH. The preferential binding of MCH⁺ to CBn and SCXn brought about considerable pK_a increase. The inclusion in CB7 accelerated the photoinduced¹ conversion of MCH⁺ to the SP isomer, but the rates of the other photochromic processes were not altered. The other studied cavitands precluded the MCH⁺ → SP photochemical reaction. The embedment of MC in CB8 significantly inhibited the decomposition of the dye via hydrolysis. The effect of 1:1 inclusion complex formation on the kinetics of photochromic transformations were revealed at various temperatures. The Arrhenius parameters of the SP → MC reaction were significantly smaller in CB8 than in water due to the low polarity inside the cavity of the macrocycle and less degrees of freedom in CB8 for the transition states of all elementary reaction steps.

Sanguinarine (SA⁺), a biologically active natural benzophenanthridine alkaloid, formed a very stable 1:1 complex

with CB7, but the binding of the second CB7 had much smaller driving force. SA⁺ inclusion in CB7 led to protection against the nucleophilic attack of OH⁻ at the 6 position. The selective photooxidation of the alkaloid in basic solution to 6-oxysanguinarine was inhibited by embedment in CB7. The marked change of the fluorescence properties upon complexation with CB7 originated from the deceleration of the nonradiative deactivation from the singlet-excited state. The release of alkaloid from CB7 could be controlled by the change of pH.

The solubility of lumichrome (Lc) significantly increased in the presence of CB7 due to 1:1 encapsulation with equilibrium constant of 8300 M⁻¹. The alteration of the absorption and fluorescence spectra upon addition of CB7 indicated that host-guest interactions promoted the partial tautomerization of the CB7-bound Lc in the ground state to a structure of isoalloxazine-type electron density distribution.