

ESR-Untersuchungen zur Photochemie des Acridinorange

ESR Investigations on the Photochemistry of Acridine Orange

Hartmut Schmidt und Axel Laßmann

Institut für physikalische Biochemie, Universität Frankfurt a. M.

(Z. Naturforsch. **29 c**, 301–302 [1974]; eingegangen am 26. Februar 1974)

Acridine Orange, ESR, Spin Trap, Nitromethane, Hydrogen Addition

Acridinfarbstoffe werden in photochemischen und photobiologischen Reaktionen häufig als Sensibilisatoren eingesetzt. Im Falle der photodynamischen Desaktivierung von Lysozym in Gegenwart von Acridinorange konnten wir zeigen¹, daß der elektronisch angeregte Farbstoff Sauerstoff in den Singulettzustand $^1\Delta_g$ überführt, der dann weiter mit dem Enzym reagiert. Im Verlauf der photodynamischen Reaktion wird jedoch auch der Farbstoff teilweise zerstört. Die Kinetik der Farbstoffbleichung läßt sich nicht allein auf der Grundlage des von uns postulierten Reaktionsschemas verstehen².

Von vielen Farbstoffen ist bekannt, daß bei Einstrahlung in die langwelligste Absorptionsbande intermediär semioxydierte und/oder semireduzierte Photoprodukte entstehen. Derartige radikalische Zwischenprodukte wurden blitzlichtspektroskopisch auch für Acridinorange nachgewiesen^{3,4} und müssen bei einer detaillierteren Beschreibung des photodynamischen Reaktionsverlaufs sicherlich berücksichtigt werden.

Zum Nachweis derartiger Zwischenprodukte sollte die ESR-Spektroskopie besonders geeignet sein, da über die Hyperfeinstruktur unmittelbar Rückschlüsse auf die Struktur der Radikale möglich sind⁵. Die Anwendung dieser Methode scheitert meistens daran, daß bei kontinuierlicher Bestrahlung von Farbstofflösungen bei Zimmertemperatur die stationäre Konzentration der radikalischen Zwischenprodukte unterhalb der Nachweisgrenze der herkömmlichen ESR-Spektrometer liegt. Diese Schwierigkeiten lassen sich durch Zusatz geeigneter Substanzen („Spinfänger“) umgehen, die mit kurzlebigen Radikalen unter Bildung langlebiger Sekundärradikale („Spinaddukte“) reagieren. Die primär gebildeten Zwischenprodukte lassen sich auf diese Weise auf Grund der Hyperfeinstruktur der Spinaddukte identifizieren⁶.

Sonderdruckanforderungen an Dr. H. Schmidt, Institut für physikalische Biochemie der Universität, D-6000 Frankfurt/Main, Sandhofstr. 3.

Bei Bestrahlung einer methanolisch-wäßrigen Acridinorangelösung bei pH 10,0 in Gegenwart von Nitromethan mit Licht >435 nm läßt sich als einziges Radikal das in Abb. 1 wiedergegebene nachweisen. Das Spektrum läßt sich eindeutig einem CH_3NO_2^- -Radikal zuordnen ($a_N = 25,78 \pm 0,06$ G, $a_H = 12,15 \pm 0,10$ G). (Das Nitromethan-Anion (pK 10,3) ist ein gut untersuchter Spinfänger^{7,8}. Die von uns gemessenen Aufspaltungsparameter stimmen ausgezeichnet mit den aus der Literatur bekannten Daten überein⁷.)

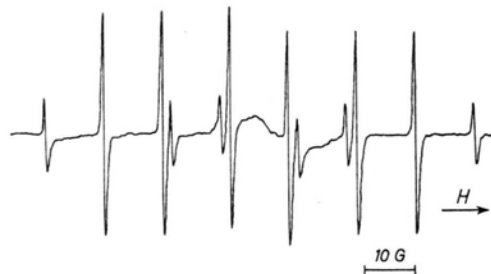


Abb. 1. ESR-Spektrum des CH_3NO_2^- -Radikals. Acridinorange: $5 \cdot 10^{-3}$ mol·l⁻¹, Nitromethan: $1 \cdot 10^{-1}$ mol·l⁻¹, Lösungsmittel: 30 Gew.-% Methanol/70 Gew.-% Wasser, pH 10,0. Unter diesen Bedingungen liegt Nitromethan zu 33% als Anion und Acridinorange zu 70% als Kation vor. Bestrahlung >435 nm. Lampe: Osram XBO 1600 W, Filter: 20 cm H_2O , Wärmereflexionsfilter 112+116 (Schott & Gen., je 3 mm dick), Kantenfilter GG 435 (Schott & Gen.); Temperatur 23 °C.

Für die Bildung des CH_3NO_2^- -Radikals gibt es mindestens drei Möglichkeiten:

1. Es wird ein freies H-Atom addiert:



Bei der Bestrahlung wäßrig-methanolischer Acridinorangelösungen (in Abwesenheit von Nitromethan) mit Licht >435 nm bei 77 °K lassen sich ESR-spektroskopisch tatsächlich H-Atome und neben Tripletspektren des Farbstoffs⁹ außerdem noch ein uncharakteristisches Radikal-Signal ohne Hyperfeinstruktur nahe $g=2$ nachweisen. Bei Einstrahlung von Licht >320 nm sind im Spektrum deutlich Resonanzen zu erkennen, die von $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ - und CHO -Radikalen herrühren; bei noch kurzwelligerer UV-Bestrahlung entstehen darüber hinaus noch CH_3 -Radikale.

Die vom Methanol stammenden Radikale sollten in flüssiger Phase ebenfalls mit dem Nitromethan-Anion unter Bildung charakteristischer Spinaddukte reagieren⁸. Derartige Spezies konnten wir bei der Bestrahlung mit Licht >435 nm bei Zimmertemperatur nicht nachweisen.

Die Herkunft der Wasserstoff-Atome kann auf Grund unserer Experimente nicht erklärt werden.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

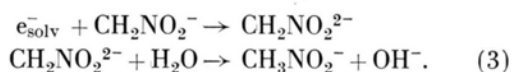
On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

2. Das CH_2NO_2^- -Radikal könnte auch durch Wasserstoffübertragung von semireduziertem Acridinorange ($\text{AOH}\cdot$) auf das Nitromethan-Anion entstanden sein:



(AO^+ = Acridinorange-Kation). Eine Entscheidung zwischen (1) und (2) lassen unsere ESR-Messungen nicht zu.

3. CH_3NO_2^- -Radikale bilden sich auch bei der Reaktion des Nitromethan-Anions mit solvatisierten Elektronen ^{7, 8, 10, 11}:



Die Bildung solvatisierter Elektronen während der Bestrahlung mit Licht $> 435 \text{ nm}$ müßte aus energetischen Gründen über einen Zwei-Quanten-Prozeß verlaufen. Die Ionisierungsenergie des Farbstoff-Triplettzustands beträgt nach Untersuchungen von Tani ¹², umgerechnet auf Methanol/Wasser (30 : 70) als Lösungsmittel, $4,44 \text{ eV}$ ($\triangleq 280 \text{ nm}$). Zanker und Miethke ¹³ konnten noch bei $35\,500 \text{ cm}^{-1}$, vermutlich sogar bis $45\,000 \text{ cm}^{-1}$ Triplett-Triplett-Absorptionsbanden nachweisen. Eine Photoionisierung des Farbstoffs bei der Bestrahlung mit Licht $> 435 \text{ nm}$ ist also auf jeden Fall sehr unwahrscheinlich.

Gegen (3) spricht außerdem die von uns gemessene pH-Abhängigkeit der CH_3NO_2^- -Bildung. Die Radikalbildung läuft parallel zur CH_2NO_2^- -Konzentration entsprechend dem Gleichgewicht: $\text{CH}_3\text{NO}_2 + \text{OH}^- \rightleftharpoons \text{CH}_2\text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$ ($\text{pK} = 10,3$). Nach Untersuchungen von Asmus und Mitarbeitern ^{10, 11} sollten solvatisierte Elektronen auch mit dem neutralen Nitromethan unter Bildung von CH_3NO_2^- -Radikalen reagieren. Im Gegensatz dazu bilden H-Atome unter diesen Bedingungen mit Nitromethan keine Spinaddukte.

Acridinorange reagiert mit dem Nitromethan-Anion bereits in einer langsamen Dunkelreaktion unter Abnahme der Farbstoff-Extinktion im sichtbaren Spektralbereich. (Die Dunkelreaktion führt allerdings zu keiner Radikalbildung!) Wir haben daher ähnliche Experimente mit dem indifferenten Spinfänger 2-Methylnitrosobutanon-3 ⁶ durchgeführt (pH 7). Auch mit diesem Spinfänger ließen sich neben symmetrischen Spinaddukten ⁶, die von der photolytischen Spaltung der Nitroso-Verbindungen herrühren, lediglich H-Atom-Additionsprodukte nachweisen.

Die Art der entstandenen Radikale wird durch die Gegenwart von Sauerstoff nicht beeinflusst.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die materielle Unterstützung.

¹ H. Schmidt u. P. Rosenkranz, Z. Naturforsch. **27b**, 1436 [1972].

² P. Rosenkranz u. H. Schmidt, unveröffentlicht.

³ G. Blauer u. H. Linschitz, J. Chem. Phys. **33**, 937 [1960].

⁴ A. Kellmann, Photochem. Photobiol. **14**, 85 [1971].

⁵ I. H. Leaver, Aust. J. Chem. **24**, 735 [1971].

⁶ C. Lagercrantz, J. Phys. Chem. **75**, 3466 [1971]. E. G. Janzen, Accounts Chem. Res. **4**, 31 [1971].

⁷ D. Behar u. R. W. Fessenden, J. Phys. Chem. **76**, 1710 [1972].

⁸ K. Eiben u. R. W. Fessenden, J. Phys. Chem. **72**, 3387 [1968].

⁹ H. Schmidt, Z. Phys. Chem. NF **80**, 44 [1972].

¹⁰ K.-D. Asmus u. I. A. Taub, J. Phys. Chem. **72**, 3382 [1968].

¹¹ K.-D. Asmus, A. Henglein u. G. Beck, Ber. Bunsenges. Phys. Chem. **70**, 459 [1966].

¹² T. Tani, Photogr. Sci. Eng. **14**, 72 [1970]; **11**, 129 [1967].

¹³ V. Zanker u. E. Miethke, Z. Phys. Chem. NF **12**, 13 [1957].