

## 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 zeigen<sup>1</sup>, 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 verstehen<sup>2</sup>.

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<sup>3,4</sup> 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 sind<sup>5</sup>. 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 identifizieren<sup>6</sup>.

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

Bei Bestrahlung einer methanolisch-wäßrigen Acridinorangeflösung 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  $\text{CH}_3\text{NO}_2^-$ -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<sup>7,8</sup>. Die von uns gemessenen Aufspaltungsparameter stimmen ausgezeichnet mit den aus der Literatur bekannten Daten überein<sup>7</sup>.)

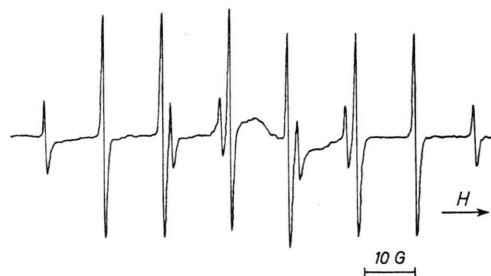


Abb. 1. ESR-Spektrum des  $\text{CH}_3\text{NO}_2^-$ -Radikals. Acridinorange:  $5 \cdot 10^{-3}$  mol·l<sup>-1</sup>, Nitromethan:  $1 \cdot 10^{-1}$  mol·l<sup>-1</sup>, Lösungsmittel: 30 Gew.-% Methanol/70 Gew.-% Wasser, pH 10,0. Unter diesen Bedingungen liegt Nitromethan zu 33% als Anion und Acridinorange zu 70% als Kation vor. Bestrahlung  $>435$  nm. Lampe: Osram XBO 1600 W, Filter: 20 cm H<sub>2</sub>O, Wärmereflexionsfilter 112+116 (Schott & Gen., je 3 mm dick), Kantenfilter GG 435 (Schott & Gen.); Temperatur 23 °C.

Für die Bildung des  $\text{CH}_3\text{NO}_2^-$ -Radikals gibt es mindestens drei Möglichkeiten:

1. Es wird ein freies H-Atom addiert:



Bei der Bestrahlung wäßrig-methanolischer Acridinorangeflösungen (in Abwesenheit von Nitromethan) mit Licht  $>435$  nm bei 77 °K lassen sich ESR-spektroskopisch tatsächlich H-Atome und neben Tripletspektren des Farbstoffs<sup>9</sup> 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  $\text{CHO}$ -Radikalen herrühren; bei noch kürzwelligerer UV-Bestrahlung entstehen darüber hinaus noch  $\text{CH}_3$ -Radikale.

Die vom Methanol stammenden Radikale sollten in flüssiger Phase ebenfalls mit dem Nitromethan-Anion unter Bildung charakteristischer Spinaddukte reagieren<sup>8</sup>. Derartige Spezies konnten wir bei der Bestrahlung mit Licht  $>435$  nm bei Zimmertemperatur nicht nachweisen.

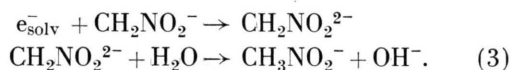
Die Herkunft der Wasserstoff-Atome kann auf Grund unserer Experimente nicht erklärt werden.

2. Das  $\text{CH}_2\text{NO}_2^-$ -Radikal könnte auch durch Wasserstoffübertragung von semireduziertem Acridinorange ( $\text{AOH}\cdot$ ) auf das Nitromethan-Anion entstanden sein:



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

3.  $\text{CH}_3\text{NO}_2^-$ -Radikale bilden sich auch bei der Reaktion des Nitromethan-Anions mit solvatisierten Elektronen <sup>7, 8, 10, 11</sup>:



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 <sup>12</sup>, umgerechnet auf Methanol/Wasser (30 : 70) als Lösungsmittel,  $4,44 \text{ eV}$  ( $\cong 280 \text{ nm}$ ). Zanker und Miethke <sup>13</sup> 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  $\text{CH}_3\text{NO}_2^-$ -Bildung. Die Radikalbildung läuft parallel zur  $\text{CH}_2\text{NO}_2^-$ -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 <sup>10, 11</sup> sollten solvatisierte Elektronen auch mit dem neutralen Nitromethan unter Bildung von  $\text{CH}_3\text{NO}_2^-$ -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 <sup>6</sup> durchgeführt (pH 7). Auch mit diesem Spinfänger ließen sich neben symmetrischen Spinaddukten <sup>6</sup>, 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.

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

<sup>2</sup> P. Rosenkranz u. H. Schmidt, unveröffentlicht.

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

<sup>4</sup> A. Kellmann, Photochem. Photobiol. **14**, 85 [1971].

<sup>5</sup> I. H. Leaver, Aust. J. Chem. **24**, 735 [1971].

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

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

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

<sup>9</sup> H. Schmidt, Z. Phys. Chem. NF **80**, 44 [1972].

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

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

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

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