
UNIWERSYTET IM. ADAMA MICKIEWICZA W POZNANIU

WYDZIAŁ CHEMII



mgr Mateusz Gierszewski

PRACA DOKTORSKA

Promotor: prof. dr hab. Marek Sikorki

Promotor pomocniczy: dr Dorota Prukala

**Spektroskopia i fotofizyka pochodnych 5-
dezaalloksazyny. Ujęcie eksperymentalne i
teoretyczne**

**Spectroscopy and photophysics of 5-dezaalloxazine
derivatives. Experimental and theoretical approaches**

*Praca przedstawiona Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama
Mickiewicza w Poznaniu celem uzyskania tytułu doktora nauk chemicznych*

Poznań 2015

*Praca doktorska została wykonana
w Pracowni Fotochemii Stosowanej
Wydziału Chemii UAM
pod kierunkiem
Pana prof. dr hab. Marka Sikorskiego oraz
Pani dr Doroty Prukaty*

Składam serdecznie podziękowania

Panu prof. dr hab. Markowi Sikorskiemu, promotorowi pracy doktorskiej, za wskazanie interesującego tematu badawczego, okazaną życzliwość, pomoc, przekazaną wiedzę, dyskusje naukowe i wyrozumiałość.

Serdecznie dziękuję,

Pani dr Dorocie Prukale, promotorowi pomocniczemu pracy doktorskiej, za wszelką pomoc, cierpliwość, przekazane uwagi podczas tworzenia niniejszej pracy oraz wskazanie interesujących kierunków badawczych.

Składam podziękowania dla:

- Pana prof. dr hab. Jacka Koputa
- Pana prof. dr hab. Andrzeja Maciejewskiego
- Pani prof. dr hab. Ewy Sikorskiej
- Pani prof. dr hab. Jadwigi Mielcarek
- Pana prof. UAM dr hab. Gotarda Burdzińskiego
- Pana dr hab. Tomasza Goślińskiego
- Pana dr Jerzego Karolczaka
- Pana dr Tomasza Pędzińskiego
- Pani dr Małgorzaty Insińskiej-Rak
- Pani dr Aliny Krawczyk
- Pani dr Anny Golczak
- Pani dr Ewy Krystkowiak
- Pani mgr Julii Józkowiak

Pracę doktorską dedykuję **mojej Mamie**. Dziękuję za wsparcie, nieustanną
wiarę w moje możliwości, zainteresowanie i wszelką pomoc.

**Praca doktorska jest współfinansowana ze środków
badawczych Narodowego Centrum Nauki:**

- projekt badawczy z zakresu badań podstawowych "**Etiuda**"
(2013/08/T/ST4/00640); kierownik: mgr Mateusz Gierszewski
- projekt badawczy z zakresu badań podstawowych "**Opus**"
(2012/05/B/ST4/01207); kierownik: prof. dr hab. Marek Sikorski

Mgr Mateusz Gierszewski jest stypendystą **Fundacji Uniwersytetu
im. Adama Mickiewicza w Poznaniu** na rok akademicki 2014/2015

Obliczenia teoretyczne zostały wykonane z wykorzystaniem
infrastruktury PL-Grid oraz zasobów **Poznańskiego Centrum
Superkomputerowo-Sieciowego (PCSS)**

Streszczenie

Właściwości spektralne i fotofizyczne 5-deazaalloksazyny (5DAI), jej metylowych pochodnych, 10-etylo-5-deazaizoalloksazyny (10Et-5DIzoAI) oraz monometylowych pochodnych alloksazyny o budowie czteropierścieniowej zostały określone przy zastosowaniu metod eksperymentalnych oraz teoretycznych. Metodami absorpcyjno-emisyjnymi w zakresie UV/Vis scharakteryzowano stany singletowe tych cząsteczek. Związki te wykazują dość wysokie wartości wydajności kwantowej fluorescencji oraz stosunkowo długie czasy zaniku fluorescencji, natomiast położenie maksimum absorpcji i fluorescencji są uzależnione od struktury pochodnej oraz użytego rozpuszczalnika. Zarówno parametry spektralne jak i fotofizyczne badanych cząsteczek są odmienne w porównaniu do opisanych w literaturze trójpierścieniowych izo- i alloksazyn. Struktury elektronowe cząsteczek oraz przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet, singlet \rightarrow tryplet oraz tryplet \rightarrow tryplet zostały wyznaczone głównie przy wykorzystaniu metod DFT oraz *ab-initio*. W przypadku pochodnych 5DAI oraz badanych pochodnych alloksazyny określono, iż najniższy wzbudzony stan singletowy ma charakter π, π^* . Stany trypletowe wybranych cząsteczek zostały scharakteryzowane w acetonitrylu i wodzie poprzez rejestrację widm absorpcji przejściowej. Dla pochodnych 5DAI wyznaczono czas życia stanu trypletowego, który zanikał w mikrosekundowej skali czasowej oraz dla 5DAI w wodzie wyznaczono wydajność przejścia interkombinacyjnego ($\Phi_{ISC} = 0.43$). Przy zastosowaniu technik stacjonarnych oraz czasowo-rozdzielczych badana była potencjalna tautomeryzacja alloksazynowo \rightarrow izoalloksazynowa w obecności kwasu octowego, jako efekt reakcji podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym. Badane pochodne 5DAI zostały zdefiniowane jako wydajne sensybilizatory tlenu singletowego poprzez badanie charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego przy $\lambda = 1270$ nm, chociaż wartości wydajności tworzenia tlenu singletowego są niższe niż dla analogicznych alloksazyn. Określono również równowagi reakcji protonacji / deprotonacji w stanie podstawowym i wzbudzonym dla 5-deazaalloksazyny oraz 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny jak również zidentyfikowano możliwe formy strukturalne tworzące się w zależności od warunków pH, wliczając między innymi: kation, formę neutralną, monoaniony izo- i alloksazynowe oraz dianion o strukturze izoalloksazynowej. Pokazana została również użyteczność synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej w

badaniach różnych pochodnych flawin i 5-deazaflawin. Przy wykorzystaniu różnych skal polarności rozpuszczalników, wliczając skalę polarności Δf , E_T^N , SA, SB oraz czteroparametrową skalę Catalán'a określono efekty solwatochromowe dla wybranych pochodnych 5DA11 oraz określono potencjalne możliwości formowania wiązań wodorowych w stanie podstawowym i wzbudzonym pomiędzy badanymi cząsteczkami a rozpuszczalnikiem.

Abstract

Spectral and photophysical properties of 5-deazaalloxazine (5DAll), its methyl derivatives, 10-ethyl-5-dezaialloxazine (10Et-5DIzoAll) and alloxazine derivatives with four ring structure have been investigated using experimental and theoretical approach. UV/Vis absorption and emission spectroscopy have been used to describe the electronic structure of studied molecules. Values of the fluorescence quantum yield determined are relatively high, the fluorescence lifetimes are relatively long comparing to respective alloxazines. Position of absorption and emission maxima have been found as dependent on the position and number of methyl substituent and solvent used. Both spectral and photophysical properties of 10Et-5DIzoAll and 5DAll derivatives are different as compared to the respective iso- and alloxazines. The electronic structures of molecules and the predicted energies of singlet \rightarrow singlet, singlet \rightarrow triplet and triplet \rightarrow triplet transitions have been determined using the DFT and *ab-initio* methods. For 5DAll derivatives and for alloxazine derivatives with four ring structure the $S_0 \rightarrow S_1$ transition has been found having π, π^* character. The triplet excited states of selected molecules in water and in acetonitrile have been determined using transient absorption spectroscopy. The triplet lifetime for 5DAll derivatives have been found in a microsecond time range and the quantum yield of intersystem crossing for 5DAll in water have been determined as equal 0.43. Steady-state and time-resolved spectroscopy have been applied as tool to study excited-state double proton transfer reaction of 5DAll and alloxazine derivatives with four ring structure in the presence of acetic. It has been found that 5DAll derivatives can be used as efficient photosensitizers of singlet oxygen. The protonation / deprotonation equilibria for 5DAll and 13Me-5DAll in the ground and in the first excited singlet states have been determined in conjunction with identification of the possible structural forms present in respective pH, cation, the neutral form, monoanions of iso- and alloxazinic structures, and dianion of isoalloxazinic structure. The applications of the synchronous fluorescence spectroscopy have been implemented, especially in studies of mixtures of flavin and 5-deazaflavin type of compounds. Solvatochromic properties and the possible intermolecular solute-solvent hydrogen bonding interactions in the ground and in the first excited singlet states have been

described using different polarity scales, including Δf , E_T^N , SA, SB and the four-parameter scale proposed by Catalán.

Spis treści

Streszczenie	7
Abstract	9
1. Wstęp i cele pracy	14
2. Część literaturowa	19
2.1. Stany singletowe izo- i alloksazyn	19
2.1.1. Wprowadzenie	19
2.1.2. Lumichrom i lumiflawina	20
2.1.3. Alloksazyna i jej wybrane mono- i di-metylowe pochodne	27
2.1.4. Izoalloksazyny	30
2.2. Izo- i alloksazyny w stanach trypletowych	33
2.2.1. Wprowadzenie	33
2.2.2. Ryboflawina i 5-deazaryboflawina	33
2.2.3. Dimetylowe pochodne alloksazyny	39
2.3. Tlen singletowy i jego właściwości	43
2.4. Znaczenie flawin dla organizmów żywych oraz w gospodarce człowieka	52
2.5. Reakcja podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym dla pochodnych flawin	55
2.6. Równowagi kwasowo-zasadowe flawin	60
2.7. Efekty solwatochromowe dla flawin	69
2.8. Synchroniczna spektroskopia fluorescencyjna (SSF) jako technika badawcza stosowana w badaniach luminescencyjnych	74
3: Część eksperymentalna	82
3.1. Wykaz badanych związków	82
3.2. Wykaz stosowanych substancji i odczynników	85
3.3. Metody eksperymentalne stosowane w badaniach oraz używana aparatura	87
3.3.1. Pomiary stacjonarne absorpcyjno – emisyjne w zakresie UV/Vis oraz NIR	87
3.3.2. Pomiary emisyjne czasowo-rozdzielcze w zakresie UV/Vis oraz NIR	88
3.3.3. Nanosekundowy układ do badania absorpcji przejściowej	90
3.3.4. pH-metr Hanna Instruments	91
3.4. Opis stosowanych procedur pomiarowych	92
3.4.1. Widma absorpcji oraz molowy współczynnik absorpcji	92
3.4.2. Widma: emisji, wzbudzenia emisji, synchroniczne oraz całkowitej fluorescencji	92
3.4.3. Wydajności kwantowe fluorescencji, stałe: radiacyjnej i sumy nieradiacyjnych dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego	93
3.4.4. Wydajności kwantowe fotosensybilizowanego generowania tlenu singletowego	95
3.4.5. Równowagi kwasowo-zasadowe 5-deazaalloksazyny oraz 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny	98
3.5. Opis stosowanych procedur teoretycznych	99
4. Omówienie wyników badań własnych	101
4.1. Stany singletowe badanych pochodnych: ujęcie eksperymentalne	101
4.1.1. Spektroskopia i fotofizyka 5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych	101

4.1.2. Spektroskopia i fotofizyka 8-metylo-5-deazaalloksazyny i 9-metylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych	105
4.1.3. Spektroskopia i fotofizyka 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych	109
4.1.4. Spektroskopia i fotofizyka 1,3,8-trimetylo-5-deazaalloksazyny oraz 1,3,9-trimetylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych	112
4.1.5. Spektroskopia i fotofizyka 10-etylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych	116
4.1.6. Spektroskopia i fotofizyka pochodnych alloksazyny: 1MeFR i 3MeFR w wybranych rozpuszczalnikach organicznych	119
4.2. Stany trypletowe badanych pochodnych: ujęcie eksperymentalne	125
4.2.1. Widma absorpcji przejściowej 5-deazaalloksazyny w acetonitrylu i wodzie	125
4.2.2. Wyznaczenie wartości wydajności przejścia interkombinacyjnego dla 5-deazaalloksazyny w wodzie	128
4.2.3. Widma absorpcji przejściowej monometylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny: 8-metylo-5-deazaalloksazyny, 9-metylo-5-deazaalloksazyny oraz 10-etylo-5-deazaalloksazyny	130
4.2.4. Widma absorpcji przejściowej pochodnych alloksazyny: 1MeFR i 3MeFR	132
4.3. Stany singletowe i trypletowe badanych pochodnych - ujęcie teoretyczne	135
4.3.1. Energie przejść singlet → singlet dla 5-deazaalloksazyny z wykorzystaniem metod DFT oraz ab-initio w różnych bazach atomowych.	135
4.3.2. Energie przejść singlet → singlet dla monometylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny z wykorzystaniem metod DFT w różnych bazach atomowych	141
4.3.3. Energie przejść singlet → singlet dla dimetylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny z wykorzystaniem metod DFT w różnych bazach atomowych	148
4.3.4. Energie przejść singlet → singlet dla trimetylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny z wykorzystaniem metod DFT w różnych bazach atomowych	157
4.3.5. Energie przejść singlet → singlet dla tetrametylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny z wykorzystaniem metod DFT w różnych bazach atomowych	168
4.3.6. Energie przejść singlet → singlet dla 10-etylo-5-deazaalloksazyny z wykorzystaniem metod DFT w różnych bazach atomowych	172
4.3.7. Energie przejść singlet → singlet dla pochodnych alloksazyny: 1MeFR oraz 3MeFR z wykorzystaniem metod TD-DFT w różnych bazach atomowych	175
4.3.8. Rozkład gęstości atomowych, długości wiązań oraz momenty dipolowe dla wybranych pochodnych 5-deazaalloksazyny w podstawowym stanie singletowym, wzbudzonym stanie singletowym oraz trypletowym	182
4.3.9. Energie przejść singlet → tryplet oraz tryplet → tryplet dla wybranych pochodnych 5-deazaalloksazyny oraz pochodnych alloksazyny: 1MeFR i 3MeFR z wykorzystaniem metod DFT	188
4.3.10. Orbitale zaangażowane w najniższej energetycznie położonych przejściach singlet → singlet dla pochodnych 5-deazaalloksazyny oraz alloksazyn: 1MeFR i 3MeFR	193
4.4. Reakcja podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym dla pochodnych 5-deazaalloksazyny oraz alloksazyn: 1MeFR i 3MeFR	198
4.4.1. Widma absorpcji, emisji oraz synchroniczne dla 5-deazaalloksazyny oraz 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny w dichlorometanie w obecności kwasu octowego	198
4.4.2. Czasy zaniku fluorescencji dla 5-deazaalloksazyny w dichlorometanie w obecności kwasu octowego	203
4.4.3. Widma absorpcji, emisji oraz czasy zaniku fluorescencji dla 1MeFR i 3MeFR w DCM w obecności kwasu octowego	204
4.5. Widma synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej (SSF) oraz całkowitej fluorescencji flawin	208
4.5.1. Lumichrom, lumiflawina, 5-deazaalloksazyna	208
4.5.2. Mieszanina dwuskładnikowa: 5-deazaalloksazyna i lumichrom	211
4.5.3. Mieszanina trójskładnikowa: lumichrom, 5-deazaalloksazyna i lumiflawina	214
4.6. Procesy fotosensybilizowanego tworzenia tlenu singletowego przez 5-deazaalloksazyny	217

4.6.1. Wydajności kwantowe fotosensybilizowanego tworzenia tlenu singletowego w rozpuszczalnikach organicznych	218
4.6.2. Czasowo-rozdzielcza fosforescencja tlenu singletowego w rozpuszczalnikach organicznych	225
4.6.3. Wydajności kwantowe fotosensybilizowanego tworzenia oraz czasowo-rozdzielcza fosforescencja tlenu singletowego w wodzie deuterowanej	229
4.7. Równowagi kwasowo - zasadowe 5-deazaalloksazyn	231
4.7.1. Równowagi kwasowo-zasadowe 5-deazaalloksazyny	231
4.7.2. Równowagi kwasowo-zasadowe 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny	242
4.8. Efekty solwatochromowe dla pochodnych 5-deazaalloksazyny z wykorzystaniem różnych skal polarności	247
4.8.1. Analiza paramertów absorpcyjnych przy wykorzystaniu skali Δf	250
4.8.2. Analiza paramertów absorpcyjnych przy wykorzystaniu skali E_T^N	251
4.8.3. Analiza parametrów absorpcyjnych przy wykorzystaniu skali SA	253
4.8.4. Analiza paramertów absorpcyjnych przy wykorzystaniu skali SB	254
4.8.5. Analiza paramertów emisyjnych przy wykorzystaniu skali Δf	256
4.8.6. Analiza paramertów emisyjnych przy wykorzystaniu skali E_T^N	257
4.8.7. Analiza paramertów emisyjnych przy wykorzystaniu skali SA	258
4.8.8. Analiza paramertów emisyjnych przy wykorzystaniu skali SB	259
4.8.9. Efekty solwatochromowe przy wykorzystaniu skali multiparametrowej Catalán'a	260
5. Dyskusja końcowa i wnioski	265
6. Literatura	270
7. Spis publikacji, rozdziałów monografii oraz wystąpień na konferencjach krajowych i zagranicznych	285
Wykaz stosowanych skrótów i symboli	295
Wykaz tabel	299
Wykaz rysunków	304

1. Wstęp i cele pracy

Pierwotnym aktem oddziaływania światła z cząsteczkami chemicznymi jest absorpcja. Wywołuje ona w dalszej kolejności szereg procesów, głównie natury fizycznej oraz chemicznej, które mogą doprowadzić do istotnych zmian w strukturach elektronowych oraz energii cząsteczek. Niektóre molekuly przekształcają zaabsorbowaną energię w ciepło, inne wydajnie emitują promieniowanie w postaci fluorescencji lub fosforescencji. Nie bez znaczenia pozostaje możliwość udziału takich cząsteczek w reakcjach fotochemicznych zachodzących tak ze stanów singletowych jak i trypletowych. Dodatkowo, cząsteczki mogą przekazywać zaabsorbowaną energię innym molekułom obecnym w układzie na przykład w drodze sensybilizacji. Procesy zachodzące na drodze sensybilizacji, wliczając tutaj między innymi fotoizomeryzację lub fotoutlenianie, są bardzo ważną grupą procesów chemicznych, które mogą wpływać na przykład na stabilność i jakość produktów żywnościowych.

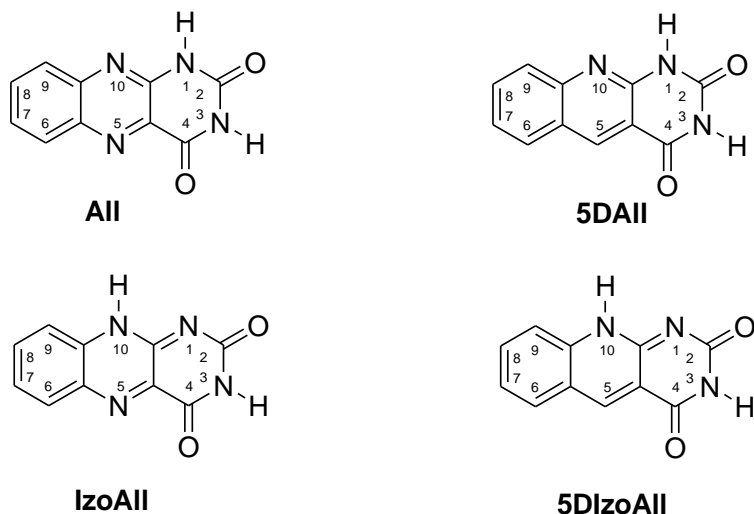
Flawiny, 5-deazaflawiny oraz produkty ich rozkładu: izoalloksazyny, alloksazyny, 5-deazaizoalloksazyny oraz 5-dezaalloksazyny stanowią przedmiot zainteresowań badawczych w wielu grupach badawczych z zakresu biologii, fotochemii, fotofizyki oraz spektroskopii. Ryboflawina (witamina B₂) to jedna z najważniejszych pochodnych z grupy flavin, która stanowi grupę prostetyczną w wielu flawoenzymach oraz w tak ważnych z biologicznego punktu widzenia molekułach jak FAD (dinukleotyd flawinowo-adeninowy) oraz FMN (mononukleotyd flawinowo-adeninowy) i jest jednym z ważniejszych sensybilizatorów tlenu singletowego w tkankach organizmów żywych. Ryboflawina jest związkiem rozpuszczalnym w wodzie, zarówno pochodzenia roślinnego jak i zwierzęcego, która pod wpływem ekspozycji na światło ulega rozkładowi na prostsze związki, w tym lumiflawinę zaliczaną do grupy izoalloksazyn. Ryboflawina została odkryta w 1879 roku przez Blythto jako składnik mleka. W późniejszych latach została także wyizolowana z innych źródeł naturalnych. Swoją nazwę zawdzięcza żółtej barwie oraz strukturze, w której można wyróżnić rybitolowy łańcuch boczny (1-3). Ryboflawinę w najwyższych stężeniach można odnaleźć w pożywieniu i napojach, w szczególności w wątrobie, jajkach oraz produktach mlecznych. Również bogatymi w ryboflawinę są drożdże oraz produkty fermentacyjne, wliczając w to piwo. Zawartość ryboflawiny w piwie oraz produktach nabiałowych (ser,

mleko) jest szczególnie istotna, ponieważ wystawienie ich na działanie światła może skutkować zajściem reakcji fotoutleniania (1,4-9).

Izo- i alloksazyny należą do związków heterocyklicznych zawierających w pierścieniu atomy azotu. Najbardziej znanym przedstawicielem jest lumichrom (7,8-dimetyloalloksazyna). Niepodstawione alloksazyny na atomie azotu N(1) ulegają pod wpływem promieniowania z zakresu UV/Vis procesowi przeniesienia protonu na atom N(10) w wyniku czego powstają izomeryczne związki – izoalloksazyny. Proces przeniesienia protonu odbywa się w obecności związków posiadających zdolność do tworzenia wiązań wodorowych z cząsteczką alloksazyny (kwas octowy, pirydyna).

5-Deazaflawiny są mniej rozpowszechnione w przyrodzie oraz wykazują mniejszą aktywność biologiczną w porównaniu do flawin. Wykazano, iż mogą spełniać rolę receptorów światła niebieskiego (10,11) jak również być kofaktorami w żółtych chromoforach (10). Wykazano również, iż pochodne 5-deazaflawin, włączając w to 5-deazaizoalloksazyny oraz 5-dezaalloksazyny, wykazują aktywność przeciwnowotworową in-vitro (12-16). Z kolei 5-dezaalloksazyny to grupa związków organicznych, która jest strukturalnie zbliżona do alloksazyn. Najistotniejszą cechą, która odróżnia 5-dezaalloksazyny od alloksazyn jest zastąpienie azotu N(5) obecnego w alloksazynach na grupę metinową (=CH). Podobnie jak w przypadku alloksazyn, najbardziej znanym przedstawicielem jest 5-deazalumichrom. Porównanie właściwości stanu podstawowego i pierwszego stanu wzbudzonego lumichromu i 5-deazalumichromu wskazuje na liczne podobieństwa (podobny solwatochromizm, pK_a oraz pK_a^*), jakkolwiek odnotowano różnice pomiędzy wartościami momentu dipolowego w stanie podstawowym i wzbudzonym. 5-Deazalumichrom, podobnie jak lumichrom, ulega reakcji przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym w obecności kwasu octowego, wydajność tego procesu jest także wyższa w porównaniu do 3-metylolumichromu. Dowodzi się, iż zastąpienie atomu azotu N(5) przez atom węgla w pierścieniu alloksazynowym ogranicza redystrybucję gęstości elektronowej zaangażowanej w proces fototautomeryzacji w regionie N(1)-C(10)-N(10). W literaturze przedmiotu brakuje dokładnych i systematycznych porównań pomiędzy pochodnymi 5-deazaizoalloksazyny i 5-dezaalloksazyny z analogicznymi izo- i alloksazynami. W związku z tym, głównym celem realizowanej pracy doktorskiej stało się wykazanie podobieństw i różnic w spektroskopii i fotofizyce pomiędzy wspomnianymi heterocyklicznymi pochodnymi. Porównanie struktur: alloksazyny,

izoalloksazyny, 5-dezaalloksazyny oraz 5-dezaizoalloksazyny zostało przedstawione na **Rysunku 1**.



Rysunek 1. Porównanie struktur: alloksazyny (All), izoalloksazyny (IzoAll), 5-dezaalloksazyny (5DAII) oraz 5-dezaizoalloksazyny (5DIzoAll)

W ramach realizacji tematu pracy doktorskiej zostały wykorzystane metody eksperymentalne z zakresu chemii fizycznej jak również obliczenia kwantowo-chemiczne. Finalnie, jedynym z najważniejszych celów rozprawy doktorskiej stało się znalezienie i przebadanie nowych, wydajnych sensybilizatorów tlenu singletowego, przede wszystkim spośród pochodnych 5-dezaalloksazyny. Wcześniejsze wyniki badań nad fotosensybilizowanym generowaniem tlenu singletowego z wykorzystaniem związków z grupy izo- i alloksazyn dowiodły, że zarówno izo- jak i alloksazyny są wydajnymi fotosensybilizatorami tworzenia tlenu singletowego. Jednakże, aby opisać w pełni procesy związane z fotoutlenianiem oraz sensybilizowanym tworzeniem tlenu singletowego należy w pierwszej kolejności zbadać stany elektronowe: podstawowy i wzbudzone, tak singletowe, jak i trypletowe dla pochodnych, które mogą być potencjalnymi fotosensybilizatorami tworzenia tlenu singletowego.

Do szczegółowych celów rozprawy doktorskiej należą:

- Badania właściwości spektralnych, fotofizycznych oraz fotochemicznych różnych alkilowych pochodnych 5-dezaalloksazyny i 5-deazaizoalloksazyny oraz monometylowych alloksazyn o strukturze czteropierścieniowej;
- Pomiary widm: absorpcji, emisji, synchronicznych, absorpcji przejściowej, wyznaczenie wydajności kwantowych fluorescencji, czasów życia wzbudzonego stanu singletowego i trypletowego w różnych rozpuszczalnikach organicznych, tak protycznych, jak i aprotycznych, polarnych i niepolarnych dla alkilowych pochodnych 5-dezaalloksazyny i 5-deazaizoalloksazyny oraz monometylowych czteropierścieniowych pochodnych alloksazyny;
- Określenie wpływu zastąpienia atomu azotu (izo- i alloksazyny) w pozycji 5 na grupę metinową (5-dezaalloksazyny i 5-deazaizoalloksazyny) na szereg właściwości spektralnych i fotofizycznych poprzez porównanie z danymi dostępnymi dla izo- oraz alloksazyn;
- Badanie równowag reakcji protonacji / deprotonacji, które ustalają się dla pochodnych 5-dezaalloksazyny w funkcji pH przy wykorzystaniu metod spektroskopii stacjonarnej oraz czasowo-rozdzielczej; opis form strukturalnych obecnych w różnych warunkach pH, identyfikacja indywiduów powstających w różnych warunkach pH środowiska;
- Badanie zdolności do tworzenia przez badane cząsteczki wiązań wodorowych zarówno w stanie podstawowym jak i wzbudzonym;
- Przeprowadzenie obliczeń i modelowania teoretycznego dla badanych pochodnych, wliczając w to: (i) optymalizację singletowego stanu podstawowego, (ii) optymalizację wyższych wzbudzonych stanów singletowych, (iii) optymalizację stanu trypletowego, (iv) wyznaczenie energii przejść singlet \rightarrow singlet, singlet \rightarrow tryplet oraz tryplet \rightarrow tryplet wraz z odpowiadającymi im siłami oscylatora, (v) określenie gęstości elektronowych w stanie podstawowym i wzbudzonym, momentów dipolowych – zestawienie i porównanie uzyskanych rezultatów z danymi eksperymentalnymi oraz danymi opublikowanymi dla cząsteczek izo- i alloksazyn;
- Badanie reakcji fotoindukowanego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym dla pochodnych 5-dezaalloksazyny oraz alloksazyn o budowie

czteropierścieniowej w obecności cząsteczek zdolnych do tworzenia wiązań wodorowych (m.in. kwasu octowego) i porównanie wyników dla analogicznych struktur alloksazynowych;

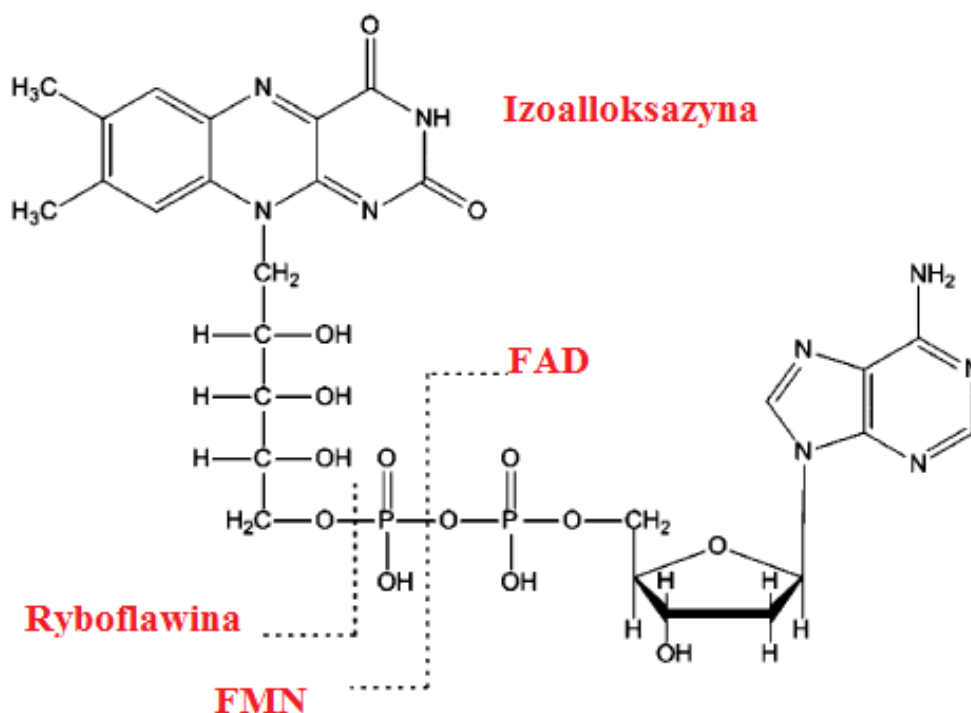
- Określenie pochodnych 5-dezaalloksazyny jako sensybilizatorów tworzenia tlenu singletowego w różnych rozpuszczalnikach przy wykorzystaniu spektroskopii stacjonarnej oraz czasowo-rozdzielczej w zakresie bliskiej podczerwieni oraz porównanie zdolności generowania tlenu singletowego przez badane cząsteczki do danych dostępnych dla odpowiednich izo- i alloksazyn;
- Wykorzystanie synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej (SSF) w badaniach mieszanin składających się z różnych pochodnych flawin oraz 5-dezaflawin.

2. Część literaturowa

2.1. Stany singletowe izo- i aloksazyn

2.1.1. Wprowadzenie

Izo- i aloksazyny są zaliczane do grupy heterocyklicznych pochodnych azotowych, które stanowią produkty rozkładu flawin – ważnych związków organicznych o znaczącej aktywności biologicznej, do których zaliczane są między innymi: ryboflawina (RFI), mononukleotyd flawinowy (FMN) oraz dinukleotyd flawinowo-adeninowy (FAD). Badanie właściwości spektralnych i fotofizycznych stanów singletowych zarówno przy wykorzystaniu metod eksperymentalnych, jak i teoretycznych szeregu izo- i aloksazyn stanowi przedmiot intensywnego zainteresowania licznych grup badawczych od wielu lat (17-28). Struktury: izoaloksazyny, ryboflawiny, FMN oraz FAD zostały przedstawione na **Rysunku 2**.



Rysunek 2. Struktura izoaloksazyny, ryboflawiny, FMN oraz FAD, na podstawie (1).

Najbardziej znanymi pochodnymi flawin są: lumiflawina (7,8,10-trimetyloizoalloksazyna) oraz lumichrom (7,8-dimetyloalloksazyna). Natomiast spośród 5-deazaflawin, dotychczas najczęściej opisywaną w literaturze cząsteczką był 5-deazalumichrom (7,8-dimetylo-5-dezaalloksazyna). Porównanie wybranych właściwości spektralnych i fotofizycznych dla 5-deazalumichromu oraz lumichromu dowodzi, iż pomimo podobieństwa strukturalnego, cząsteczki te posiadają podobne właściwości solwatochromowe, zbliżone wartości pK_a oraz pK_a^* , jednak wartości momentów dipolowych są nieco odmienne. Wyznaczone wartości wynoszą odpowiednio: w stanie podstawowym i wzbudzonym 5.0 D oraz 6.5 D dla 5-deazalumichromu oraz 5.1 D i 7.7 D dla lumichromu (29).

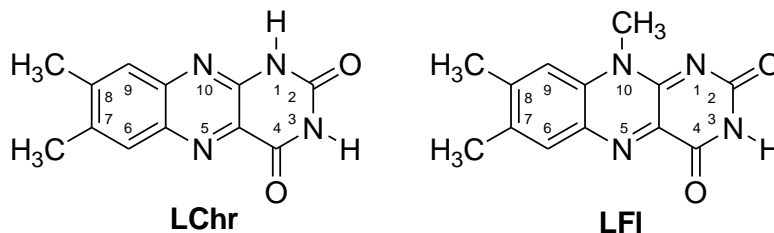
Szczególne zainteresowania stanami singletowymi izo- i alloksazyn rozpoczęły się w momencie odkrycia dla nich reakcji podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym w obecności związków zdolnych do tworzenia wiązań wodorowych, takich jak pirydyna lub kwas octowy. Najważniejszym substratem tej reakcji jest alloksazyna, która w stanie wzbudzonym tautomeryzuje do analogicznej izoalloksazyny. Jednakże, reakcja jest możliwa wyłącznie dla alloksazyn, które nie posiadają żadnych podstawników przy atomach N(1) oraz N(10) (30-33). Dodatkowo, izo- i alloksazyny stanowią interesujące sensybilizatory generowania tlenu singletowego w roztworach wodnych jak również w rozpuszczalnikach organicznych i organizmach żywych. Wykazano, iż pochodne flawin stanowią interesujące katalizatory procesów fotoutleniania sulfidów do sulfoksydów. Dla wyjaśnienia tego procesu proponuje się dwa odmienne mechanizmy: fotoutlenianie zachodzące przy udziale tlenu singletowego oraz przeniesienie elektronu (ET) poprzez stan trypletowy cząsteczki tlenu (34,35).

2.1.2. Lumichrom i lumiflawina

Lumichrom posiada w swojej strukturze heterocykliczny, trójpierścieniowy układ aromatyczny o konfiguracji wiązań typu „cis” przy atomach N(5) oraz N(10), dlatego jest zaliczany do alloksazyn. Z kolei lumiflawina posiada przy tych samych atomach układ „trans” i w związku z tym jest zaliczana do izoalloksazyn (**Rysunek 3**). Zarówno lumichrom jak i lumiflawina są znane literaturowo jako związki modelowe w opisie właściwości odpowiednio alloksazyn i izoalloksazyn. Porównanie wybranych parametrów spektralnych i fotofizycznych w stanach singletowych dla lumichromu i lumiflawiny w różnych rozpuszczalnikach organicznych zostało zawarte w **Tabeli 1**. Lumiflawina,

podobnie jak większość izoalloksazyn wykazuje batochromowe przesunięcia maksimum absorpcji i emisji we wszystkich pokazanych rozpuszczalnikach w porównaniu do lumichromu (alloksazyny). Obydwa związki wykazują w długofalowej części widma absorpcji dwa dobrze rozdzielone pasma. W przypadku LChr pierwsze z nich znajduje się zwykle w przedziale pomiędzy około 280 – 350 nm z maksimum przypadającym na około 330 nm. Drugie pasmo obejmuje obszar od około 350 nm do około 420 nm z maksimum przy około 380 nm (19,36). Z kolei dla LFl pierwsze pasmo notuje się w przedziale od ok. 300 nm do ok. 375 nm (z maksimum przypadającym na około 345 nm) oraz drugie pasmo w przedziale od ok. 380 nm do ok. 500 nm (z maksimum przy około 445 nm). Dokładne usytuowanie maksimum absorpcji jest uzależnione od zastosowanego rozpuszczalnika (**Tabela 1**). Przykładowe widma absorpcji i emisji lumichromu oraz lumiflawiny w acetonitrylu zostały przedstawione na **Rysunku 4**. Obliczenia teoretyczne przeprowadzone technikami DFT wskazują, iż przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ w przypadku lumiflawiny ma charakter π, π^* , natomiast dla lumichromu odnotowano przejście typu n, π^* (36). Fluorescencja jest interesującym kanałem dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego zarówno dla LChr jak i LFl. Stwierdzono, iż λ_F dla LFl jest praktycznie niezależne od polarności rozpuszczalnika, w przypadku DCE, ACN oraz MeOH odnotowano maksimum fluorescencji przy około 530 nm. LChr, podobnie jak w wypadku widm absorpcji, długofalowe przesunięcie λ_F odnotowano w metanolu (453 nm), natomiast w ACN i DCE $\lambda_F \sim 440$ nm (**Tabela 1**). Wykazano, iż lumiflawina posiada znacznie dłuższe czasy życia fluorescencji oraz fluorescencja staje się bardziej uprzywilejowanym kanałem dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego w porównaniu do lumichromu, przy zastosowaniu tego samego rozpuszczalnika. Ponadto, analizując przedstawione w **Tabeli 1** wartości czasów życia fluorescencji można stwierdzić, iż w przypadku LChr obserwuje się nieco dłuższy τ_F w metanolu (1.04 ns) w porównaniu do innych rozpuszczalników (acetonitryl, dichloroetan) – w tych układach czas życia fluorescencji wynosi około 0.6 ns. Podobne korelacje zostały znalezione dla lumichromu w DMSO i wodnym układzie buforowym (19). Jest to interpretowane poprzez większą stabilizację układu fluoryzującego, która ma miejsce wskutek istnienia oddziaływań specyficznych pomiędzy lumichromem a rozpuszczalnikami protycznymi. Z przedstawionych danych w **Tabeli 1** dla lumiflawiny wynika, iż dla tej cząsteczki nie obserwuje się podobnych efektów – czas życia fluorescencji, niezależnie od zastosowanego rozpuszczalnika, wynosi ok. 7 ns. Zarówno dla lumichromu jak i lumiflawiny notuje się wyższe wartości stałych

nieradiacyjnych w porównaniu do stałej radiacyjnej dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego w tych samych rozpuszczalnikach (**Tabela 1**).

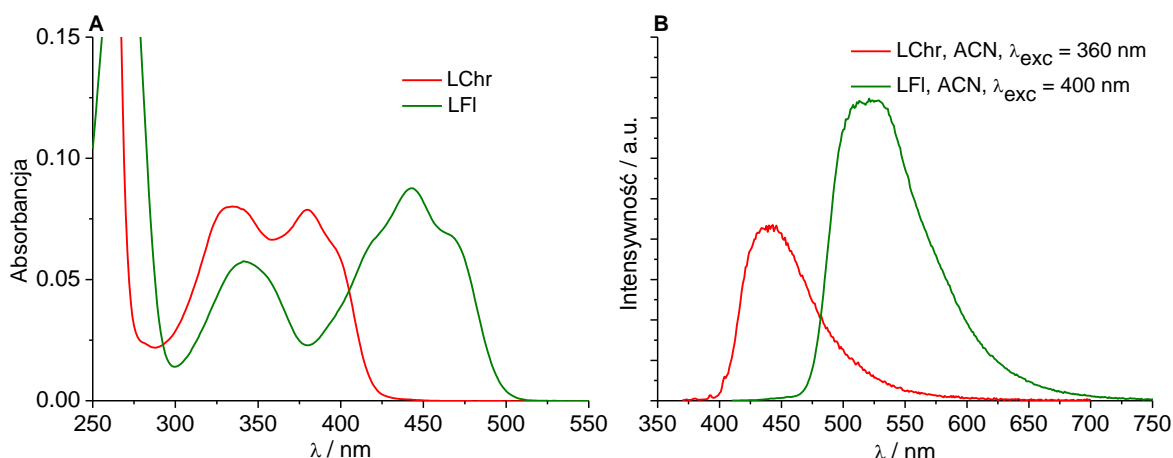


Rysunek 3. Struktura lumichromu (LChr) i lumiflawiny (LFl)

Tabela 1. Właściwości lumichromu i lumiflawiny w niektórych rozpuszczalnikach organicznych w stanach singletowych

Rozpuszczalnik	Związek	λ_2 /nm	λ_1 /nm	λ_F /nm	Φ_F	τ_F /ns	k_r / $10^8 s^{-1}$	Σk_{nr} / $10^8 s^{-1}$
ACN	LFl ^a	342	443	533	0.16	7.7	0.21	1.1
	LChr ^a	334	380	437	0.03	0.6	0.43	15.0
DCE	LFl ^a	345	447	533	0.15	6.8	0.22	1.3
	LChr ^a	344	382	440	0.03	0.6	0.43	16.0
MeOH	LFl ^a	351	442	531	0.13	6.8	0.19	1.3
	LChr ^a	339	384	453	0.03	1.0	0.30	9.3

λ_1 , λ_2 pozycje dwóch najniższych energetycznie pasm w widmach absorpcji, λ_F maksimum fluorescencji, Φ_F wydajność kwantowa fluorescencji, τ_F czas życia stanu singletowego, k_r stała radiacyjna, Σk_{nr} suma stałych nieradiacyjnych, w tabeli użyto skróty rozpuszczalników: ACN – acetonitryl, DCE – 1,2-dichloroetan, EtOH – etanol, MeOH – metanol, na podstawie: ^a(36).

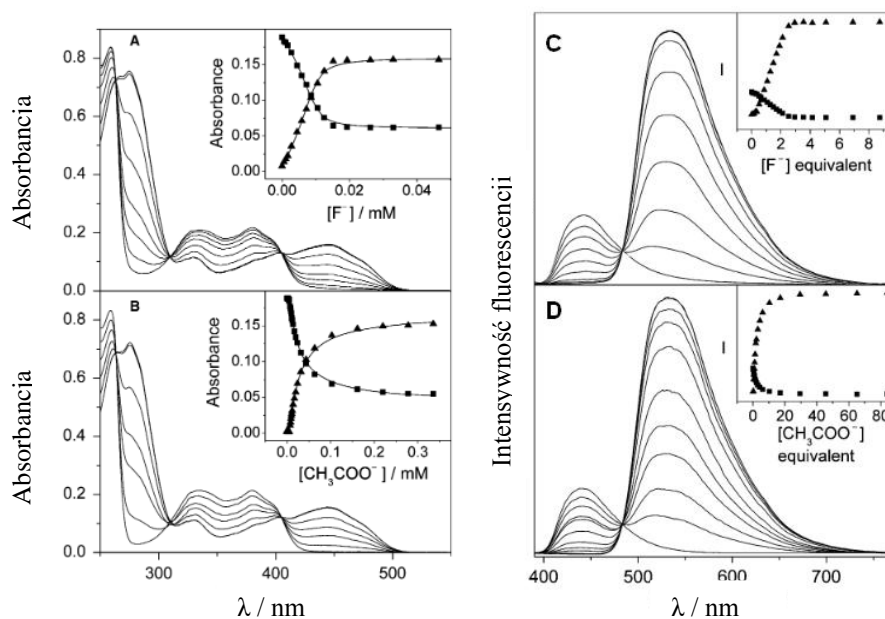


Rysunek 4. Widma absorpcji (A), widma emisji (B) LChr oraz LFl w acetonitrylu. Widma emisji otrzymano przy $\lambda_{exc} = 360$ nm (LChr) oraz $\lambda_{exc} = 400$ nm (LFl)

Początkowe wzmianki w literaturze dotyczące fluorescencji lumichromu zostały przeprowadzone przy zastosowaniu nanosekundowej czasowo-rozdzielczej fluorescencji. W tym przypadku zaobserwowano, iż w mieszaninach: pirydyna-dioksan oraz kwas octowy-etanol są obecne dwa pasma fluorescencyjne – jedno przy 440 nm, drugie długofalowe przy 540 nm. Pierwsze pasmo przypisano dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego lumichromu, natomiast drugie dla tautomeru flawinowego. Zauważono, iż drugi składnik (flawinowy) tworzy się w stanie wzbudzonym, a zdolności katalityczne wykazywała pirydyna oraz kwas octowy, który przez autorów został określony jako katalizator „dwufunkcyjny”. Stwierdzono, że szybkość procesu jest uzależniona od stężenia katalizatora (37). Podobne badania dotyczące fluorescencji metylowych pochodnych lumichromu oraz możliwej tautomeryzacji zostały przeprowadzone w mieszaninie metanol:kwas octowy dla 3-metylolumichromu oraz 1,3-dimetylolumichromu. Stwierdzono, iż w przypadku 1,3-dimetylolumichromu proces tautomeryzacji do formy izoalloksazynowej jest niemożliwy, natomiast dla 3-metylolumichromu stwierdzono, przy 5% stężeniu kwasu octowego, czasy zaniku fluorescencji odpowiednio: 0.9 ns (dla formy alloksazynowej) oraz 6.4 ns (dla tautomeru izoalloksazynowego), natomiast w miarę wzrostu stężenia kwasu octowego obserwowano stopniowe obniżenie czasu życia fluorescencji obydwu form, by w czystym kwasie octowym odnotować wartości: 80 ps (dla formy alloksazynowej) oraz 2.4 ns (dla formy izoalloksazynowej). Wykazano, iż utworzenie wiązania wodorowego pomiędzy atomem azotu N(10) 3-metylolumichromu a kwasem octowym stanowi wstępny etap przed utworzeniem wiązania wodorowego z N(1) 3-metylolumichromu, które jest niezbędne do zajścia procesu tautomeryzacji (38).

W innych badaniach udowodniono, iż lumichrom może silnie oddziaływać w stanie podstawowym z anionami fluorkowymi oraz octanowymi w roztworze acetonitrylu. Za pomocą miareczkowania spektrofotometrycznego pokazano, iż pomiędzy lumichromem a wspomnianymi anionami mogą tworzyć się kompleksy zarówno o stechiometrii 1:1 jak i 1:2. Pokazano, iż pod wpływem wzrostu stężenia zarówno anionu fluorkowego jak i octanowego, w widmach absorpcji obserwuje się powstanie nowego, batochromowego pasma absorpcji, które przypisano obecności formy izoalloksazynowej w układzie. Podobne zależności stwierdzono w widmach fluorescencji, gdzie obok emisji formy alloksazynowej obserwowano również emisję formy izoalloksazynowej. Wyjaśniono to jako efekt procesu redystrybucji gęstości elektronowej w pierścieniu heterocyklicznym wskutek obecności wspomnianych anionów w układzie (39). Widma absorpcji oraz fluorescencji

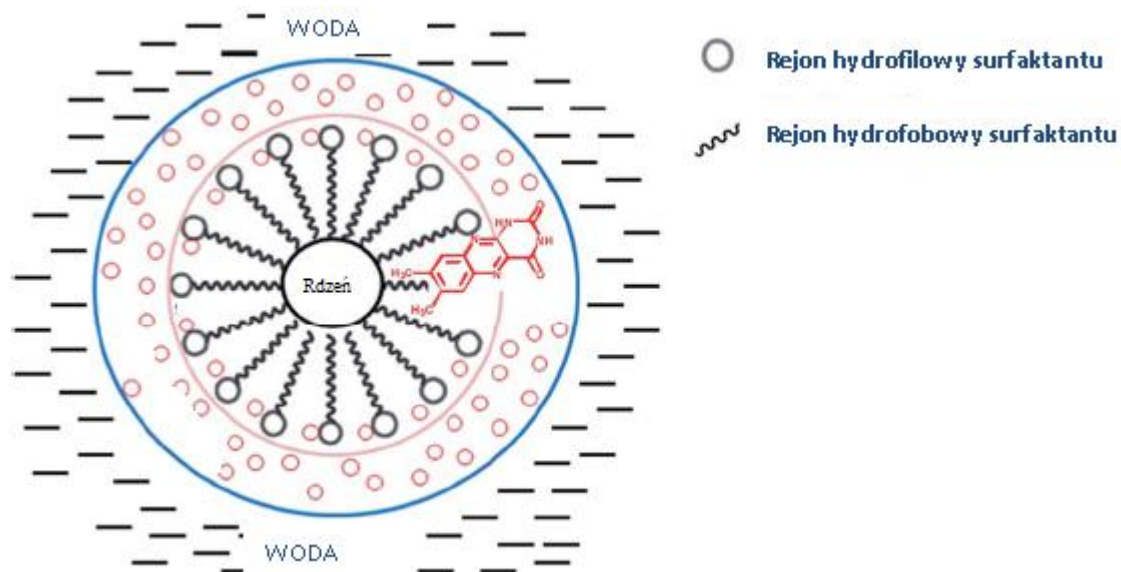
lumichromu powstające w efekcie miareczkowania jonami fluorkowymi oraz octanowymi przedstawiono na **Rysunku 5**.



Rysunek 5. Rezultaty miareczkowania spektrofotometrycznego lumichromu w acetonitrylu jonami fluorkowymi (**A**) oraz jonami octanowymi (**B**); wstawki na (**A**) i (**B**) oznaczają odchylenia absorbancji przy 350 nm (■) i 450 nm (▲), linie ciągłe odnoszą się do dopasowanej funkcji. Zmiana widm fluorescencji wskutek dodania wzrastającej ilości jonów fluorkowych (**C**) oraz octanowych (**D**) zarejestrowane przy $\lambda_{\text{exc}} = 309 \text{ nm}$; wstawki na (**C**) i (**D**) oznaczają zmiany intensywności fluorescencji przy 440 nm (■) oraz 530 nm (▲); na podstawie (39).

W innych badaniach wykazano, iż lumichrom może działać jako endogenna sonda fluorescencyjna i oddziaływać między innymi z nukleozasadami, nukleozydami oraz kwasami nukleinowymi. Stwierdzono, iż fluorescencja lumichromu może być wygaszana wskutek oddziaływania z kwasami nukleinowymi lub ich prekursorami. Stwierdzono, iż wygaszanie fluorescencji lumichromu w takich układach jest kontrolowane przez dyfuzję (40). Lumichrom stał się przedmiotem badań w roztworach wodnych w kationowych i anionowych micelach. Wykazano wpływ obecności różnych środków powierzchniowo czynnych, które tworzą micelle w roztworach wodnych na właściwości absorpcyjne i emisyjne lumichromu przy wykorzystaniu metod spektroskopii stacjonarnej oraz czasowo-rozdzielczej (41,42). W widmach absorpcji lumichromu znajdującego się w układach micelarnych stwierdzono obecność w długofalowej części widma dwóch charakterystycznych pasm absorpcji, które są notowane także w rozpuszczalnikach organicznych oraz dodatkowego, słabego pasma przy około 450 nm, za którego obecność odpowiada anion izoalloksazynowy. W miarę wzrostu stężenia surfaktantu odnotowano zmiany w widmach absorpcji, które świadczą o powstaniu oddziaływania pomiędzy LChr

a surfaktantem już w stanie podstawowym (42), natomiast w widmach fluorescencji, w tych samych warunkach, odnotowano wyraźne wygaszenie fluorescencji z hipsochromowym przesunięciem maksimum emisji, niezależnie od typu miceli, w porównaniu do emisji lumichromu w czystej wodzie. Wiąże się to bezpośrednio z obniżeniem wydajności kwantowych fluorescencji lumichromu w układach micelarnych (szczególnie kationowych) w porównaniu do czystej wody, chociaż przy stopniowym zwiększaniu długości łańcucha alkilowego w cząsteczkach stosowanych surfaktantów odnotowano wzrost w wydajności kwantowej fluorescencji. Proponowany przez autorów schemat wbudowania się i oddziaływania lumichromu z cząsteczkami surfaktantów został przedstawiony na **Rysunku 6**.



Rysunek 6. Schematyczne przedstawienie obecności lumichromu w środowisku micelarnym, na podstawie (42).

Lumichrom oraz jego pochodne są badane nie tylko w roztworach rozpuszczalników organicznych lub wodnych, ale również po przeprowadzeniu osadzania na ciele stałym. Do najpopularniejszych nośników organicznych wykorzystywanych do charakterystyki LChr należą głównie pochodne cyklodekstryny oraz celulozy (43,44).

Badania LChr osadzonego na celulozie wskazują, iż w widmach dyfuzyjno-odbiciowych są obecne dwa pasma absorpcji, których maksima są zlokalizowane przy 354 nm i 388 nm, natomiast maksimum fluorescencji zlokalizowane jest przy 460 nm i jest zbliżone do obserwowanego w polarnych rozpuszczalnikach. Badania czasowo-rozdzielcze wskazują na obecność trzech form emitujących promieniowanie (45), spośród których dwa wykazują dłuższy czas życia należący do odrębnych monoanionów związanych z deprotonacją

zachodzącą na atomach N(3) oraz N(1). Z kolei zastosowanie absorpcji przejściowej wskazuje na obecność dwóch indywiduów, spośród których jeden z nich został zidentyfikowany jako stan trypletowy (krótszy czas życia), natomiast drugi jako pół-zredukowany rodnik, podobny do zidentyfikowanego dla ryboflawiny jako efekt przeniesienia protonu z jednostki glukozy do grupy karbonylowej lumichromu. W przypadku użycia β -cyklodekstryn odnotowano, iż niektóre monometylowe pochodne mogą modyfikować właściwości fotofizyczne poprzez utworzenie długofalowej emisji, która powstaje jako skutek formowania się wiązań wodorowych pomiędzy β -cyklodekstryną a cząsteczką alloksazyny (46).

Przykładowo, LChr został poddany reakcji kompleksowania z 2-hydroksypropylo- β -cyklodekstryną, która stanowi jedną z częściej wykorzystywanych pochodnych cyklodekstryny w zastosowaniach farmaceutycznych. Przy wykorzystaniu metod absorpcyjno-emisyjnych wykazano, iż stechiometria reakcji kompleksowania pomiędzy lumichromem a 2-hydroksypropylo- β -cyklodekstryną wynosi 1:1 oraz zbadano wpływ substancji pomocniczych stosowanych w farmacji na przebieg kompleksowania, wliczając w to różne alkohole oraz bufony. Wykazano, iż zmiana substancji pomocniczej nie wpływa znacząco na kształt i położenie maksimów w widmach absorpcji i emisji, jednakże w miarę wzrostu stężenia pochodnej cyklodekstryny stwierdzono stopniowe obniżenie absorbancji układu. Autorzy interpretują to, jako efekt tworzenia kompleksów lumichrom – cyklodekstryna w stanie podstawowym. Podobny efekt został stwierdzony w czasie oceny intensywności fluorescencji oraz wydajności kwantowych fluorescencji. Zastosowanie metod czasowo-rozdzielczych pozwoliło wyznaczyć czasy życia fluorescencji w obecności oraz nieobecności procesu kompleksowania przez cyklodekstrynę. Stwierdzono, iż proces kompleksowania obniża wartość czasu życia fluorescencji (47). Ponadto, przy użyciu metod fluorymetrycznych badano procesy formowania kompleksów typu inkluzyjnego z lumichromem oraz β -cyklodekstryną. Uzyskane wysokie wartości stałych kompleksowania świadczą o możliwości formowania się tego typu kompleksów (48).

Podobnie do LChr, również lumiflawina stała się przedmiotem badań spektralnych i fotofizycznych nie tylko w homogenicznych układach rozpuszczalników organicznych, ale również w układach micelarnych. Związki o strukturze flawin, wliczając w to lumiflawinę były badane z użyciem spektroskopii stacjonarnej oraz czasowo-rozdzielczej w odwróconych układach micelarnych dokusanu sodowego w roztworze n-heksanu, do którego dodawano wodę. Rezultaty badań wskazują, że istotny wkład w modulowanie stanów wzbudzonych badanych flawin we wspomnianych układach micelarnych

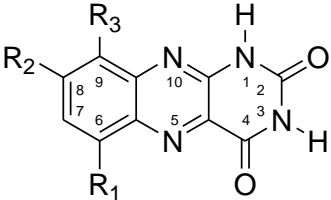
odgrywają wiązania wodorowe pomiędzy flawiną a dodawaną wodą (49). Stwierdzono, iż w widmach absorpcji lumiflawiny oraz innych pochodnych flawin następuje obniżenie molowego współczynnika absorpcji oraz pojawia się efekt hipsochromowy zarówno dla pasm odpowiadających za przejście $S_0 \rightarrow S_1$ jak również $S_0 \rightarrow S_2$ w porównaniu do widm absorpcji tych związków znajdujących się w buforze fosforanowym przy pH ~ 7 (49).

2.1.3. Alloksazyna i jej wybrane mono- i di-metylowe pochodne

Poza lumichromem (7,8-dimetyloalloksazyna) przedmiotem badań spektralnych i fotofizycznych stała się alloksazyna oraz jej wybrane alkilowe pochodne, głównie w roztworach rozpuszczalników organicznych. Dane dla wybranych związków zostały zebrane w **Tabeli 2**, natomiast struktury tych pochodnych przedstawiono na **Rysunku 7**.

W widmach absorpcji można wyróżnić charakterystyczne maksima pojawiające się w zakresie UV-Vis, podobnie jak to miało miejsce w przypadku opisanego wcześniej lumichromu. Typowe alloksazyny wykazują dwa dobrze rozdzielone pasma w długofalowej części widma absorpcji, pierwsze z nich zlokalizowane zwykle przy ok. 370 nm, natomiast drugie przy ok. 330 nm. Dokładne położenie maksimów absorpcji jest uzależnione od rodzaju badanej pochodnej oraz użytego rozpuszczalnika. Zgodnie z wynikami obliczeń teoretycznych, dwa rozdzielone maksima absorpcji w długofalowej części widma notowane dla alloksazyny i jej alkilowych pochodnych, są związane z dwoma niezależnymi przejściami elektronowymi typu π, π^* . Jednakże, w większości przypadków, najniżej zlokalizowanym przejściom typu π, π^* towarzyszy blisko położony stan typu n, π^* . Blisko położone stany typu n, π^* oraz π, π^* mogą w niektórych sytuacjach ulegać inwersji. Kolejność stanów n, π^* oraz π, π^* jest silnie związana z usytuowaniem podstawienia metylowego w pierścieniu alloksazynowym. Zgodnie z wynikami obliczeń teoretycznych metodami DFT przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ ma zwykle charakter π, π^* , tylko w przypadku alloksazyny oraz 8-metyloalloksazyny przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ ma charakter n, π^* (50) oraz dla 6,8-dimetyloalloksazyny, pośród pochodnych dimetylowych alloksazyn (51).

R ₁	R ₂	R ₃	Związek
H	H	H	All
CH ₃	H	H	6MeAll
H	CH ₃	H	8MeAll
H	H	CH ₃	9MeAll
CH ₃	CH ₃	H	68MeAll
CH ₃	H	CH ₃	69MeAll
H	CH ₃	CH ₃	89MeAll



The chemical structure shows a benzimidazole ring system. The benzene ring is numbered 6-9, and the imidazole ring is numbered 1-5. Substituents R₁, R₂, and R₃ are attached at positions 6, 7, and 8 respectively. The imidazole ring has NH groups at positions 1 and 3, and carbonyl groups at positions 2 and 4.

Rysunek 7. Struktura alloksazyny i jej wybranych mono- i di- metylowych pochodnych

Alloksazyny, niezależnie od ilości grup alkilowych w pierścieniu heterocyklicznym oraz ich usytuowania wykazują w widmach fluorescencji w rozpuszczalnikach organicznych, podobnie jak lumichrom oraz lumiflawina, zwykle jedno pasmo, dla którego usytuowanie maksimum jest uzależnione od struktury pochodnej oraz rozpuszczalnika. Zwykle w rozpuszczalnikach polarnych obserwuje się batochromowe przesunięcie maksimum emisji w porównaniu do rozpuszczalników niepolarnych. Dla przykładu, 6-metyloalloksazyna wykazuje maksimum fluorescencji przy 455 nm w dichloroetanie, natomiast w etanolu przy 460 nm (**Tabela 2**). Podobne prawidłowości można zauważyć analizując pozostałe pochodne alloksazyny. Zmierzone zaniki fluorescencji wskazują na obecność jednej formy emitującej promieniowanie, która zanika zwykle w czasie rzędu setek ps do kilku ns, a ich konkretna wartość zależy od rodzaju użytego rozpuszczalnika oraz struktury cząsteczki. Dłuższe czasy życia alloksazyn obserwuje się w rozpuszczalnikach polarnych (**Tabela 2**). Wyznaczone wartości stałych radiacyjnej i nieradiacyjnej dezaktywacji stanu wzbudzonego świadczą, iż fluorescencja nie jest uprzywilejowanym kanałem dezaktywacji stanu wzbudzonego alloksazyny oraz jej metylowych pochodnych, zdecydowanie bardziej uprzywilejowane są procesy nieradiacyjnej dezaktywacji. Obecność grup metylowych w pierścieniu alloksazynowym wpływa istotnie między innymi na wartości czasów życia stanu singletowego oraz wydajności kwantowe fluorescencji. Wprowadzenie grupy metylowej w pozycję C(7) i C(8) skutkuje obniżeniem wartości wydajności kwantowych fluorescencji oraz skróceniem czasu życia stanu singletowego.

Tabela 2. Właściwości alloksazyny oraz jej mono- i di- metylowych pochodnych w stanach singletowych

Rozpuszczalnik	Związek	λ_2 /nm	λ_1 /nm	λ_F /nm	Φ_F	τ_F /ns	k_r / $10^8 s^{-1}$	Σk_{nr} / $10^8 s^{-1}$
ACN	All ^a	320	372	432	0.009	0.35	0.26	28
	6MeAll ^a	333	380	452	0.017	0.9	0.19	11
	8MeAll ^a	335	370	426	0.017	0.4	0.41	25
	9MeAll ^a	333	379	449	0.018	0.7	0.29	16
	68MeAll ^b	350	-	461	0.020	1.24	0.16	7.9
	69MeAll ^b	343	388	491	0.080	8.88	0.09	1.0
	89MeAll ^b	351	375	461	0.019	1.14	0.16	6.1
DCE	All ^a	322	374	434	0.023	0.19	1.2	51
	6MeAll ^a	336	375	455	0.029	0.87	0.33	11
	8MeAll ^a	348	368	425	0.024	0.32	0.75	30
	9MeAll ^a	336	380	450	0.028	0.74	0.38	13
	68MeAll ^b	350	-	463	0.017	1.19	0.14	8.3
	69MeAll ^b	344	380	491	0.094	9.49	0.10	0.95
	89MeAll ^b	351	375	462	0.017	1.02	0.17	9.6
EtOH	All ^a	321	376	445	-	0.86	-	-
	6MeAll ^a	332	380	460	0.016	1.03	0.16	9.5
	8MeAll ^a	341	373	436	0.031	0.51	0.60	19
	9MeAll ^a	335	381	465	0.030	1.35	0.22	7.2
MeOH	68MeAll ^b	352	-	475	0.034	2.28	0.15	4.2
	69MeAll ^b	347	388	513	0.12	11.7	0.10	0.8
	89MeAll ^b	354	383	473	0.039	2.41	0.16	4.0

λ_1 , λ_2 pozycje dwóch najniższych energetycznie pasm w widmach absorpcji, λ_F maksimum fluorescencji, Φ_F wydajność kwantowa fluorescencji, τ_F czas życia stanu singletowego, k_r stała radiacyjna, Σk_{nr} suma stałych nieradiacyjnych, w tabeli użyto skrótów rozpuszczalników: ACN – acetonitryl, DCE – 1,2-dichloroetan, EtOH – etanol, MeOH – metanol, na podstawie: ^a (52) oraz ^b (51).

Z kolei obecność grupy metylowej w pozycjach C(6) oraz C(9) wywołuje przeciwny efekt, tj. podwyższenie wartości wydajności kwantowej fluorescencji oraz wydłużenie czasu życia stanu singletowego. Dodatkowo, obecność grupy metylowej w różnym usytuowaniu pierścienia alloksazynowego modyfikuje właściwości absorpcyjno-emisyjne. Dla przykładu, wprowadzenie grupy metylowej w pozycję C(8) łączy obydwie pasma absorpcji ze względu na batochromowe przesunięcie λ_2 oraz hipsochromowe przesunięcie λ_1 , co powoduje trudność w ich rozróżnieniu (52). Podobna sytuacja została odnotowana dla

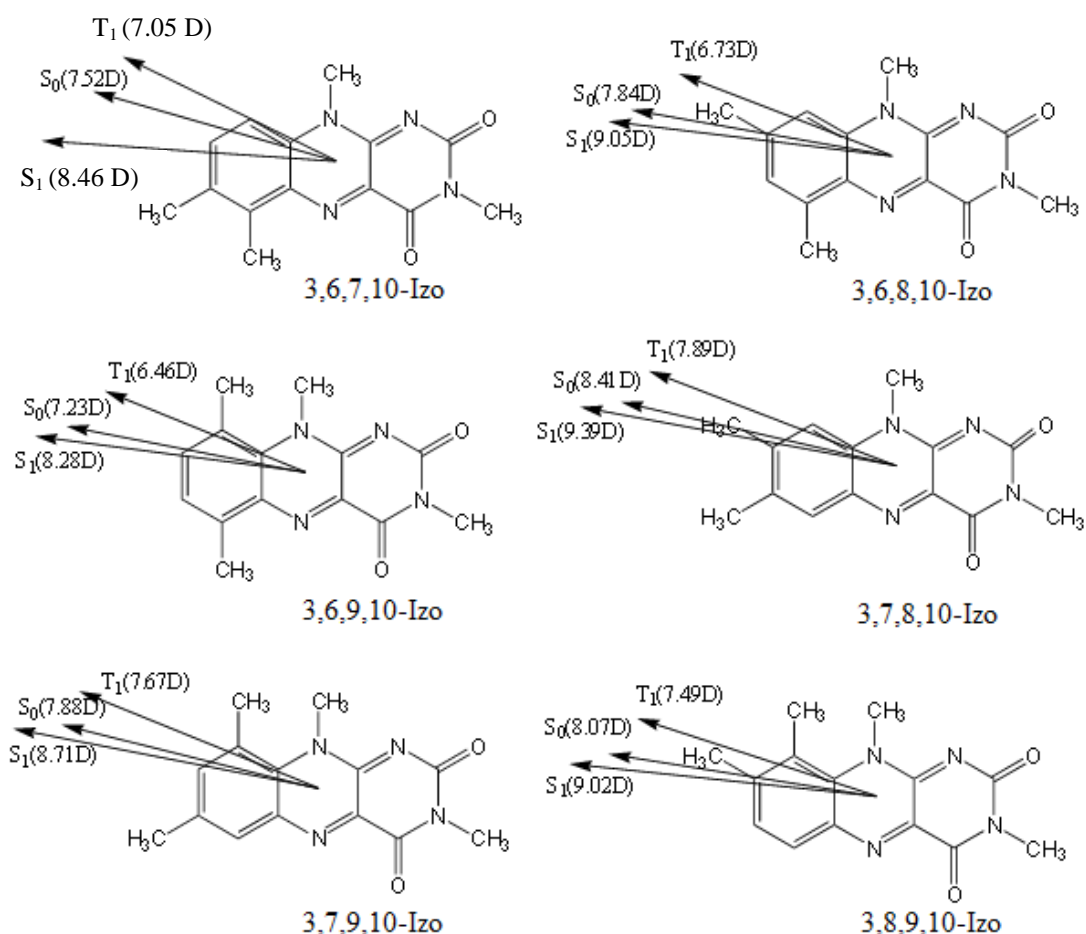
dimetylowych pochodnych alloksazyny, szczególnie dla 6,8-dimetyloalloksazyny. W tym przypadku w widmie absorpcji odnotowano obecność jednego, szerokiego pasma, z maksimum zlokalizowanym przy ok. 350 nm (dokładne położenie jest zależne od stosowanego rozpuszczalnika).

2.1.4. Izoalloksazyny

Jak wspomniano wcześniej, jednym z najczęściej wykorzystywanych układów modelowych w badaniach izoalloksazyn jest lumiflawina. Jednakże, inne cząsteczki oparte na strukturze izoalloksazyny, również są poddawane badaniom spektralnym i fotofizycznym. Wykazano, iż obecność grupy metylowej przy atomach węgla C(6) oraz C(9) powoduje wygaszanie fluorescencji oraz skrócenie czasu życia fluorescencji, podczas gdy przyłączenie grupy metylowej w pozycję C(7) powoduje przeciwny efekt (**Tabela 3**). Jedną z możliwości wyjaśnienia obserwowanego zjawiska stały się różnice w tworzeniu wiązań pomiędzy grupami metylowymi a pierścieniem izoalloksazynowym, które skutkują pojawieniem się odkształceń struktury izoalloksazynowej, które mogą sprzyjać wygaszaniu fluorescencji. Zaobserwowano również, iż absorpcja kationowej formy izoalloksazyny przesuwana się w kierunku wyższych energii w porównaniu do neutralnej postaci izoalloksazyny. Fluorescencja formy kationowej izoalloksazyny jest silnie wygaszana w roztworach wodnych oraz obserwuje się znaczne skrócenie czasów życia fluorescencji w tych warunkach. Prawdopodobnie, efekt ten wynika z silnego oddziaływania naładowanej formy izoalloksazyny z dipolami cząsteczek wody, które skutkują dezaktywacją nieradiacyjną (53). Porównanie odpowiednich maksimów absorpcji i fluorescencji izoalloksazyn z analogicznymi aloksazynami wskazuje, iż dla izoalloksazyn obserwuje się batochromowe przesunięcia w każdym przypadku, niezależnie od zastosowanego rozpuszczalnika.

Struktury elektronowe w stanach singletowych oraz trypletowych wraz z przewidywanymi energiami przejść $\text{singlet} \rightarrow \text{singlet}$, $\text{singlet} \rightarrow \text{tryplet}$ oraz $\text{tryplet} \rightarrow \text{tryplet}$ dla tetrametylo- podstawionych izoalloksazyn zostały ustalone na podstawie obliczeń teoretycznych metodami DFT oraz porównane z dostępnymi danymi eksperymentalnymi (54). Dodatkowo zostały ustalone orientacje i długości wektorów momentów dipolowych dla stanów: S_0 , S_1 oraz T_1 dla wybranych izoalloksazyn, przedstawiono na **Rysunku 8**. Wybrane parametry spektralne i fotofizyczne zarejestrowane w acetonitrylu dla kilku tetrametylo- podstawionych izoalloksazyn zostały zebrane w **Tabeli 3**. Wyznaczone

wielkości i kierunki momentów dipolowych dla różnych tetrametylo- podstawionych izoalloksazyn nie wykazują znaczących różnic, jeśli uwzględnia się zarówno różnice strukturalne w cząsteczkach oraz różne stany elektronowe. Praktycznie zawsze wektory momentów dipolowych są zorientowane na linii N(3) – C(8). Z kolei podwyższenie wartości momentów dipolowych obserwuje się w stanie S_1 natomiast obniżenie w stanie T_1 (54). Na podstawie obliczeń teoretycznych stwierdzono, iż najniższe energetycznie przejście singlet \rightarrow singlet pojawia się przy około 413 nm i ma charakter π,π^* , któremu dla wielu tetrametylo- podstawionych izoalloksazyn towarzyszy wyższe energetycznie przejście o charakterze n,π^* . Należy dodać, iż dla dwóch pochodnych: 3,6,8,10-tetrametyloizoalloksazyny oraz 3,8,9,10-tetrametyloalloksazyny najniższe energetycznie przejście singlet \rightarrow singlet ma charakter n,π^* , chociaż wyliczona różnica pomiędzy tym stanem, a kolejnym wyższym energetycznie (o charakterze π,π^*) wynosi około 800 cm^{-1} (54).



Rysunek 8. Struktury wybranych izoalloksazyn wraz z wyznaczonymi kierunkami i wartościami momentów dipolowych w różnych stanach elektronowych (S_0 , S_1 oraz T_1), na podstawie [54].

Tabela 3. Właściwości spektralne i fotofizyczne wybranych tetrametylo- podstawionych izoalloksazyn w acetonitrylu w stanach singletowych

Związek	λ_2/nm	λ_1/nm	λ_F/nm	Φ_F	τ_F /ns	k_r / 10^8s^{-1}	Σk_{nr} / 10^8s^{-1}
3,6,7,10-Izo ^a	349	448	543	0.17	3.9	0.44	2.1
3,6,8,10-Izo ^a	370	446	540	0.18	3.9	0.46	2.1
3,7,8,10-Izo ^a	342	444	531	0.47	6.9	0.68	0.77
3,7,9,10-Izo ^a	346	448	552	0.18	4.2	0.43	2.0

λ_1 , λ_2 pozycje dwóch najniższych energetycznie pasm w widmach absorpcji, λ_F maksimum fluorescencji, Φ_F wydajność kwantowa fluorescencji, τ_F czas życia stanu singletowego, k_r stała radiacyjna, Σk_{nr} suma stałych nieradiacyjnych, na podstawie: ^a(53,54)

2.2. Izo- i alloksazyny w stanach trypletowych

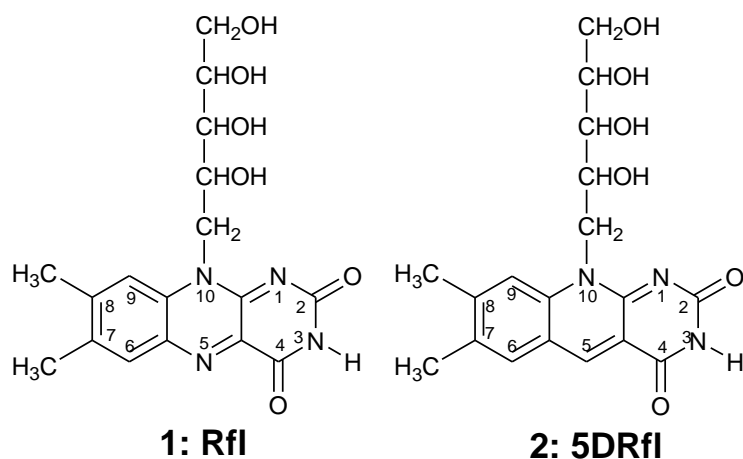
2.2.1. Wprowadzenie

Oprócz opisu stanów singletowych flawin, 5-deazaflawin oraz ich pochodnych ważną grupą zainteresowań badaczy stanowi charakterystyka stanów trypletowych tych pochodnych. Wynika to głównie z faktu, iż te stany elektronowe są w dużej mierze zaangażowane w procesy generowania reaktywnego tlenu singletowego oraz reakcje fotoutleniania, w których flawiny stanowią katalizatory. W związku z tym konieczne jest scharakteryzowanie stanów trypletowych, między innymi poprzez wyznaczenie ich energii, określenie wpływu rozpuszczalnika oraz modyfikacji strukturalnych cząsteczek na wartości czasów życia stanu trypletowego jak również określenie możliwych dróg dezaktywacji stanów trypletowych.

Flawiny i ich różne pochodne posiadają dość wysokie wartości wydajności przejścia interkombinacyjnego, a konkretne wartości są zależne od rodzaju flawiny oraz środowiska, w którym się znajdują. Pomimo wydajnego obsadzania stanów trypletowych, zmierzone widma fosforescencji w niskich temperaturach wskazują, iż stany trypletowe flawin zanikają raczej w sposób nieradiacyjny, oznaczone wartości wydajności kwantowych fosforescencji są niskie (55).

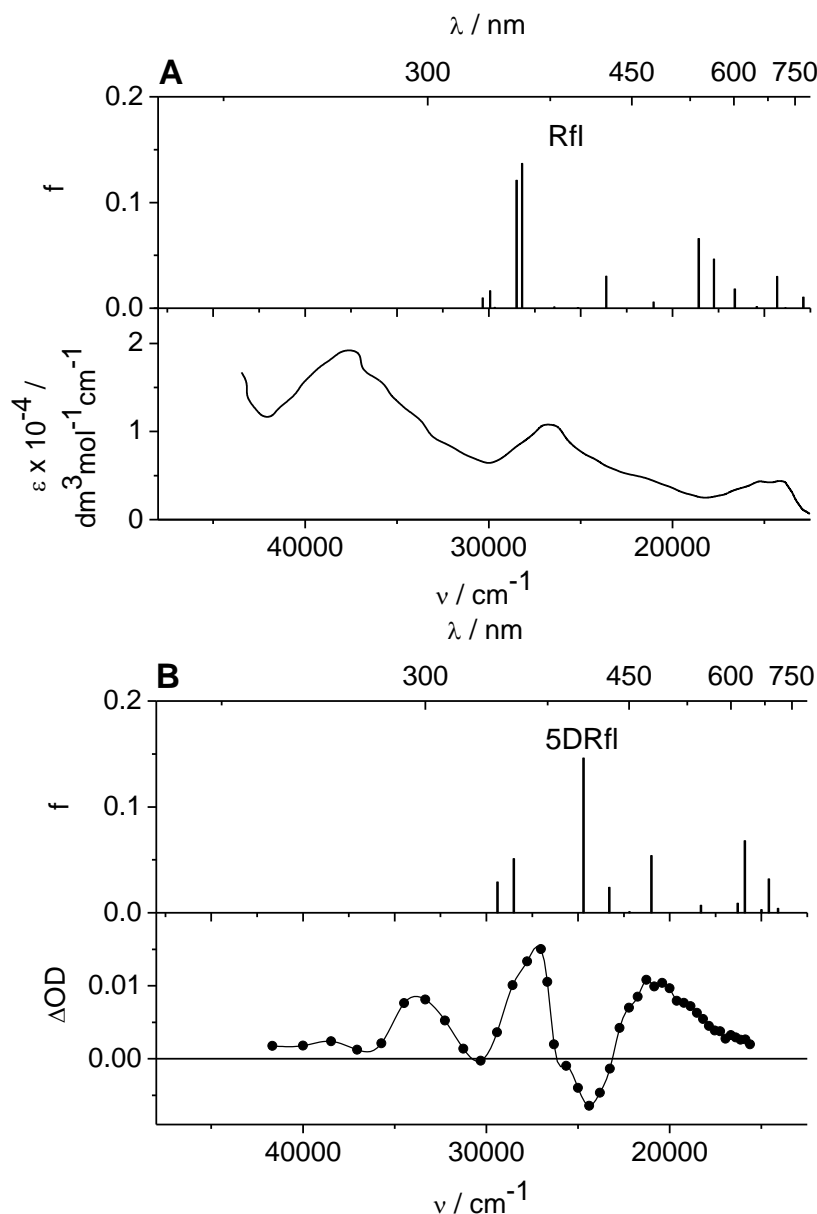
2.2.2. Ryboflawina i 5-deazaryboflawina

Ryboflawina (witamina B₂), której struktura została przedstawiona na **Rysunku 9** jest substancją o znanej aktywności biologicznej i stanowi prekursor tak ważnych koenzymów jak mononukleotyd flawinowy (FMN) oraz dinukleotyd flawinowo-adeninowy (FAD). Substancje te są szeroko rozpowszechnione w organizmach żywych zarówno w stanie wolnym jak i w układach sprzężonych (np. kompleksach białkowych) i stanowią ważne ogniwa w biologicznych układach reakcji redox przebiegających z wymianą elektronów (56). Ze względu na zaangażowanie flawin w reakcje zachodzące z transferem elektronów, biorą one udział w tak ważnych procesach regulujących funkcje życiowe roślin i zwierząt jak fototropizm, fototaksje oraz procesy fotodynamiczne (57).



Rysunek 9. Struktura ryboflawiny (Rfl) oraz 5-deazaryboflawiny (5DRfl)

Ryboflawina i jej pochodne są zaliczane do ważnych fotosensybilizatorów generowania tlenu singletowego (dane potwierdzające to stwierdzenie zostały przytoczone poniżej). Postuluje się, iż ryboflawina jest jednym z ważniejszych, endogennych fotosensybilizatorów, który niszczy DNA pod wpływem promieniowania z zakresu UVA oraz z zakresu widzialnego, działając głównie, jako fotosensybilizator tlenu singletowego oraz generując inne reaktywne formy tlenu na drodze reakcji związanych z przeniesieniem elektronu. W przypadku ryboflawiny, za generowanie reaktywnego tlenu singletowego, odpowiedzialne są stany trypletowe, z których następuje przeniesienie energii na tlen cząsteczkowy. Pod wpływem wzbudzenia laserowego 337 nm ryboflawina w buforowym roztworze fosforanowym generuje widmo absorpcji, w którym można wyróżnić maksima przy ok. 300, 380, 520 i 680 nm, natomiast ostry „bleaching” pojawia się przy ok. 440 nm. Autorzy pokazują m.in., iż czas życia stanu trypletowego ryboflawiny zależy od stężenia ryboflawiny. Dowodzi to, iż stan trypletowy ryboflawiny może być efektywnie wygaszany przez ryboflawinę w stanie podstawowym (singletowym). Wyznaczona stała wygaszania wynosi $6.2 \cdot 10^8 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (58). Zdecydowanie odmienne zachowanie ryboflawiny zostało stwierdzone w roztworze wodnym z dodatkiem buforu fosforanowego przy wzbudzeniu laserowym o wyższej energii (248 nm). W widmie absorpcji przejściowej, zarejestrowanym w tych warunkach, odnotowano obecność silnego maksimum absorpcji przy ok. 710 nm. Z dużym prawdopodobieństwem, jest to efekt obecności hydratowanego elektronu w roztworze (59,60) oraz postuluje się, iż w tych warunkach ryboflawina ulega jonizacji tworząc finalnie kationorodnik (58). Stany trypletowe ryboflawiny były badane przy wykorzystaniu metod eksperymentalnych oraz teoretycznych. Widmo absorpcji tryplet \rightarrow tryplet dla ryboflawiny w wodzie przy $\text{pH} \approx 6.8$ zostało przedstawione na **Rysunku 10A**.

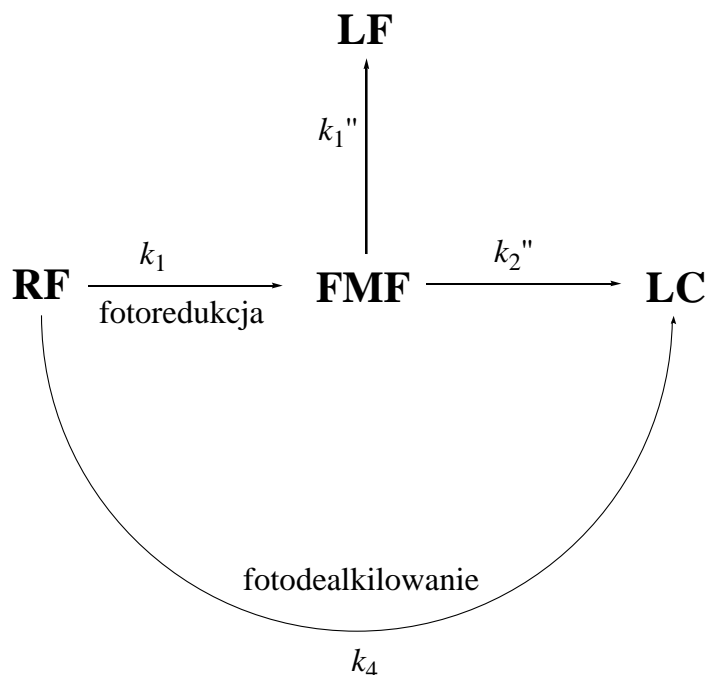


Rysunek 10. (A) Przewidywane przejścia T→T dla ryboflawiny otrzymane z użyciem metod TD-DFT (górnego panelu) oraz eksperymentalne widmo absorpcji T→T dla Rfl w roztworze wodnym przy pH ≈ 6.8 , $\lambda_{\text{exc}} = 355 \text{ nm}$ (dolny panel) na podstawie (61); (B) Przewidywane przejścia T→T dla 5-deazaryboflawiny otrzymane z użyciem metod TD-DFT (górnego panelu) porównane do eksperymentalnego widma absorpcji przejściowej (dolny panel) zarejestrowanego w metanolu ($\lambda_{\text{exc}} = 355 \text{ nm}$, $\text{OD}_{355} = 0.301$, 2 mJ/puls , $l = 1 \text{ cm}$) na podstawie (62).

Z kolei zastosowanie metod TD-DFT umożliwiło wyznaczenie energii przejść tryplet → tryplet. Pomimo zastosowania obliczeń teoretycznych w odniesieniu do fazy gazowej oraz rejestracji widma eksperymentalnego w roztworze wodnym, obserwuje się zadowalającą zgodność pomiędzy rezultatami teoretycznymi i eksperymentalnymi. Obliczenia teoretyczne umożliwiły wyznaczenie energii przejść tryplet → tryplet również o niższej energii (położonych w zakresie NIR) jednak ze względu na możliwości aparaturowe eksperymentalne

widmo absorpcji tryplet → tryplet zostało wyznaczone w zakresie 230 nm – 800 nm (61). Ponadto, ryboflawina może działać, jako fotosensybilizator tlenu singletowego. Wyznaczona dla niej energia stanu trypletowego wynosi ok. 200 kJ/mol (57) i znacznie przewyższa energię cząsteczki tlenu singletowego (94 kJ/mol), stąd możliwy jest transfer energii ze stanu trypletowego ryboflawiny do cząsteczki tlenu w stanie podstawowym (również trypletowym), która w efekcie przechodzi w stan wzbudzony (singletowy).

Ważnym aspektem w badaniach ryboflawiny są procesy fotolizy, ponieważ prowadzą one do powstania lumichromu oraz jego pochodnych. Badania fotolizy ryboflawiny w roztworach wodnych przeprowadzone w obecności substancji katalizujących, którymi były bufory: octanowy i węglanowy pokazały, iż warunki pH mają olbrzymi wpływ na stałe szybkości tej reakcji; znaczne podwyższenie wartości stałej szybkości zostało udowodnione w roztworze buforu węglanowego (pH 9.2-10.8) (63). Postuluje się, iż stan trypletowy ryboflawiny jest bardziej reaktywny w zasadowych warunkach pH, stąd faworyzowany jest przebieg fotolizy wraz ze wzrostem pH układu. Dodatkowo stwierdzono, iż w kwasowym pH następuje obniżenie intensywności fluorescencji, prawdopodobnie wskutek wygaszania wzbudzonego stanu singletowego ryboflawiny przez cząsteczki stosowanych buforów. W roztworach wodnych w różnych warunkach pH, w procesach fotolizy ryboflawiny mogą uczestniczyć zarówno wzbudzone stany singletowe jak i trypletowe, jednak wówczas mechanizmy procesów są odmienne. Wspólną cechą, niezależną od zaangażowanego wzbudzonego stanu ryboflawiny, jest akt absorpcji promieniowania z zakresu UV/Vis. W przypadku udziału stanu trypletowego w reakcji, następuje proces fotoredukcji ryboflawiny i tworzy się formylometyloflawina (64,65), która w środowisku wodnym ulega hydrolizie, tworząc lumichrom i lumiflawinę (66,67). Możliwa jest inna droga, mianowicie wzbudzony stan singletowy ryboflawiny ulega procesom fotodealkilowania tworząc bezpośrednio cząsteczkę lumichromu (65). Wykazano, iż w roztworach wodnych najbardziej prawdopodobna jest pierwsza droga fotolizy (63). Omawiany szlak reakcji prowadzący od ryboflawiny do lumichromu oraz lumiflawiny został przedstawiony na **Rysunku 11**. Z kolei badania procesów fotolizy ryboflawiny w obecności buforu boranowego w zakresie pH 8.0 – 10.5 wykazały istotne zaangażowanie wzbudzonych stanów singletowych w procesie formowania lumichromu z ryboflawiny (68). Ciekawe wydają się również badania procesów fotolizy ryboflawiny w kompleksie z kofeiną. Tego typu układ może poprawiać biodostępność oraz aktywność terapeutyczną witaminy.



Rysunek 11. Szlak reakcji prowadzący od ryboflawiny do lumichromu i lumiflawiny; na podstawie (63).

Wykazano, iż szybkość fotolizy ryboflawiny w przedziale pH 2.0-10.5 w obecności kofeiny jest mniejsza i skutkuje powstaniem kompleksu ryboflawina-kofeina o stechiometrii 1:1. Ponadto zmniejszoną szybkość fotolizy ryboflawiny w obecności kofeiny stwierdzono przy pH ~ 2 oraz powyżej 10. Jest to związane z pojawieniem się jonowych form ryboflawiny, które są mniej podatne na procesy fotolizy. Udowodniono, iż ryboflawina w obecności kofeiny jest najbardziej stabilna na fotolizę przy pH ~ 6 . Ponadto na szybkość fotolizy wpływa między innymi reaktywność stanu trypletowego ryboflawiny, dlatego w zakresie pH 7-10 odnotowano zwiększenie szybkości fotolizy ryboflawiny w obecności kofeiny (69).

Degradacja ryboflawiny może zachodzić również w układach biologicznych i naturalnych. Jednym z przykładowych, w którym występuje ryboflawina i ulega pod wpływem światła procesowi degradacji, jest mleko. Proces degradacji ryboflawiny skutkuje obniżeniem stężenia witaminy w mleku oraz przyczynia się do zmiany walorów smakowych. Wykazano, iż ryboflawina w takim układzie jest stabilna na podwyższoną temperaturę, czynniki utleniające oraz kwasy, natomiast wykazuje niestabilność w przypadku ekspozycji na światło oraz zasady (70-72). W innej pracy autorzy zidentyfikowali, przy użyciu analizy chromatograficznej HPLC a następnie przy wykorzystaniu spektroskopii NMR i analiz masowych, produkty procesu dekompozycji ryboflawiny znajdującej się w mleku, które zostało wcześniej poddane procesowi naświetlania. Wśród produktów znaleziono lumichrom, lumiflawinę oraz nierozłożoną ryboflawinę. Określono, iż lumiflawina powstawała już przy

pH ~ 7 (73). Przeprowadzone obliczenia teoretyczne przez Salzmanna i wsp. dla lumiflawiny, izoalloksazyny i 10-metyloizoalloksazyny pokazały, iż wartości stałych szybkości przejścia interkombinacyjnego w próżni są rzędu 10^9 s^{-1} a proces odbywa się głównie pomiędzy wzbudzonym stanem S_1 o charakterze π, π^* oraz stanem trypletowym T_2 o charakterze n, π^* . Energetyczna bliskość stanu S_2 o konfiguracji n, π^* podwyższa nieradiacyjną dezaktywację stanu S_1 przez konwersję wewnętrzną. W roztworze wodnym kanały przejścia interkombinacyjnego i konwersji wewnętrznej są energetycznie trudniej dostępne ze względu na niebieskie przesunięcie stanu n, π^* . Wyznaczone wartości stałej szybkości przejścia interkombinacyjnego w wodzie są rzędu 10^8 s^{-1} (74). Zbliżoną strukturalnie pochodną ryboflawiny, która należy do pochodnych 5-deazaflawin, jest 5-deazaryboflawina (**Rysunek 9**). Podstawową różnicą strukturalną pomiędzy Rfl oraz 5DRfl jest zastąpienie atomu azotu N5 (ryboflawina) na atom węgla (5-deazaryboflawina). 5-Deazaryboflawina jest interesującym sensybilizatorem tlenu singletowego ($\Phi_{\Delta} = 0.33$ w metanolu), jednak w porównaniu do ryboflawiny generuje go mniej wydajnie (dla Rfl $\Phi_{\Delta} = 0.51$ w metanolu) (61,62). 5-Deazaryboflawina jest aktywną biologicznie cząsteczką, jej obecność odnotowano między innymi w szlakach metabolicznych bakterii beztlenowych biosyntezujących metan (75). Pod wpływem wzbudzenia laserowego długością fali 355 nm, 5-deazaryboflawina rozpuszczona w metanolu generuje widmo absorpcji przejściowej, w którym maksima są zlokalizowane odpowiednio przy ok. 300, 400 oraz 470 nm, natomiast „bleaching” odnotowany został przy ok. 440 nm. Widmo absorpcji przejściowej dla 5-deazaryboflawiny w metanolu przedstawiono na **Rysunku 10**. Dane eksperymentalne zostały porównane z wynikami uzyskanymi na drodze teoretycznej z użyciem metod TD-DFT, które umożliwiły wyznaczenie energii przejść tryplet \rightarrow tryplet. Należy odnotować, iż czas życia stanu trypletowego 5DRfl w metanolu jest znacznie dłuższy w porównaniu do Rfl i wynosi 105 μs , natomiast dla Rfl w metanolu 3.7 μs (61,62). Użycie metod teoretycznych (TD-DFT) pozwoliło stwierdzić, iż najniższy stan trypletowy 5DRfl ma charakter π, π^* (62,76). W takiej konfiguracji elektronowej znacznie obniża się prawdopodobieństwo zajścia reakcji na drodze rodnikowej z inną cząsteczką, zdecydowanie bardziej uprzywilejowana jest reakcja zachodząca zgodnie z mechanizmem przeniesienia ładunku (np. elektronu). 5-Deazaryboflawina jest również używana, jako układ modelowy w badaniach mechanizmów reakcji zachodzących przy udziale flawin. Barra i wsp. wyznaczyli przy użyciu laserowej fotolizy błyskowej wartości stałych szybkości wygaszania stanu trypletowego 5-deazaryboflawiny przez różne pochodne amin i fenoli w roztworach metanolowych. Autorzy dowiedli, że aminy aromatyczne są wyraźnie bardziej efektywnymi wygaszaczami stanu

trypletowego 5-deazaryboflawiny w porównaniu do amin alifatycznych z podobnym potencjałem utlenienia. Z kolei, w przypadku różnych pochodnych fenolu otrzymano ujemne wartości stałych Hammetta. Autorzy uzasadniają ten wynik obecnością sprzężonego transferu zarówno protonu jak i elektronu. Ponadto na podstawie stałych szybkości wygaszania stanu trypletowego 5DRfl w obecności fenoli stwierdzono, iż łańcuch tyrozynowy we flawoproteinie umożliwia wydajną drogą degradacji stanu trypletowego flawiny (77). Interesujące wydają się również rezultaty badań strukturalnie zmodyfikowanej ryboflawiny w formie 1-deazaryboflawiny oraz 7,8-didemtyloryboflawiny i 8-izopropyloryboflawiny (76). Stwierdzono, iż pozbawienie atomu azotu w pozycji „1” sprawia, iż 1-dezaryboflawina nie tworzy stanu trypletowego, natomiast modyfikacje grup alkilowych wpływają na wydajność przejścia interkombinacyjnego i tym samym na zdolność obsadzania stanów trypletowych. Odnotowano, iż dla 7,8-didemtyloryboflawiny Φ_{ISC} wynosi 0.23, z kolei dla 8-izopropyloryboflawiny 0.50. Odnotowano, iż stan trypletowy obydwu cząsteczek zanika z podobną stałą czasową (76).

2.2.3. Dimetylowe pochodne alloksazyny

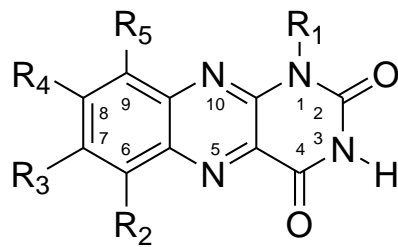
Oprócz opisu stanów trypletowych ryboflawiny oraz 5-deazaryboflawiny w kręgu zainteresowań badaczy znalazły się związki pochodne, mianowicie izo- i alloksazyny oraz 5-deazaalloksazyny. W niniejszym podrozdziale zostały przybliżone literaturowe informacje dostępne dla stanów trypletowych dimetylowych pochodnych alloksazyny, których struktury zostały przedstawione na **Rysunku 12**. Pod wpływem wzbudzenia laserowego (355 nm) dimetylowe pochodne alloksazyny wykazują również interesujące właściwości w nanosekundowej absorpcji przejściowej. Indywidua powstałe pod wpływem wzbudzenia, podobnie jak dla większości alloksazyn, zanikają z czasem mikrosekundowym, natomiast ujemne zmiany absorbancji są obserwowane przy ok. 390 nm praktycznie dla każdej dimetylowej pochodnej. W widmach absorpcji przejściowej, podobnie jak dla monometylowych pochodnych są obecne maksima zlokalizowane odpowiednio przy ok. 360, 440 i 520 nm. Analiza globalna wykonana dla 67MeAll, 68MeAll, 69MeAll, 79MeAll, 89MeAll w acetonitrylu wskazuje na zanik jednej formy z czasami życia odpowiednio: 14 μ s, 22 μ s, 12 μ s, 20 μ s, 13 μ s (51). Przedstawione w **Tabeli 4** dane świadczą, iż dimetylowe pochodne alloksazyny stanowią także interesujące fotosensybilizatory tlenu singletowego, spośród wymienionych 6,8-dimetyloalloksazyna stanowi najbardziej wydajny sensybilizator. Obliczenia teoretyczne pokazują, iż dla wszystkich wymienionych związków, najniższy stan

trypletowy ma charakter π,π^* . Wyznaczone teoretycznie energie przejść tryplet \rightarrow tryplet są hipsochromowo przesunięte w porównaniu do rejestrowanych widm absorpcji przejściowej. Dodatkowo należy podkreślić, iż widma absorpcji przejściowej rejestrowane są w różnych rozpuszczalnikach organicznych (zwykle metanol lub acetonitryl), ewentualnie woda, natomiast teoretyczne energie przejść tryplet \rightarrow tryplet są wyznaczane w większości w odniesieniu do fazy gazowej. Dla badanych dimetylowych pochodnych alloksazyny, w części UV/Vis, wyznaczono na drodze teoretycznej główne przejścia tryplet \rightarrow tryplet przy ok. $21 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$, $25 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$, $28 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$, $31 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ (51). Podobna sytuacja związana z obliczeniami teoretycznymi energii przejść tryplet \rightarrow tryplet została zauważona dla uracylu, mianowicie maksima absorpcji przejściowej w fazie gazowej były hipsochromowo przesunięte o około $1200\text{-}2500 \text{ cm}^{-1}$ w porównaniu do maksimów w widmach zarejestrowanych w roztworze wodnym (62,78).

Tabela 4. Czas życia stanu trypletowego (τ_T), wydajność sensybilizowanego generowania tlenu singletowego (Φ_Δ) oraz czas życia tlenu singletowego (τ_Δ) dla wybranych dimetylowych pochodnych alloksazyny w acetonitrylu, na podstawie (51).

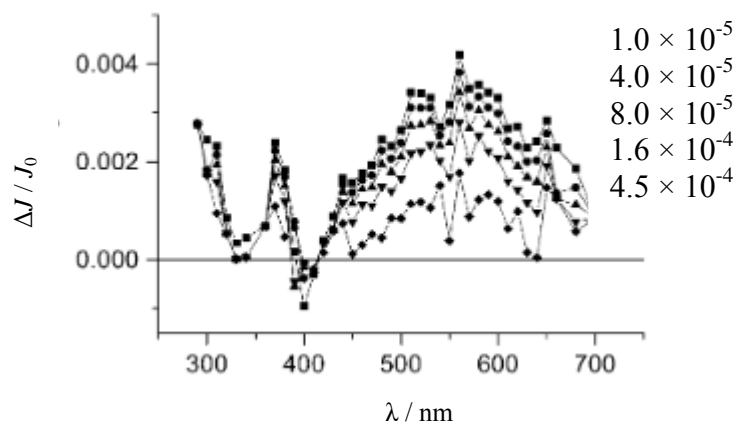
Związek	$\tau_T / \mu\text{s}$	Φ_Δ	$\tau_\Delta / \mu\text{s}$
67MeAll	14	0.88	76
68MeAll	22	0.91	79
69MeAll	12	0.85	80
78MeAll	11	0.73	75
79MeAll	20	0.86	80
89MeAll	13	0.81	78

R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	Związek
H	CH ₃	CH ₃	H	H	67MeAll
H	CH ₃	H	CH ₃	H	68MeAll
H	CH ₃	H	H	CH ₃	69MeAll
H	H	CH ₃	H	CH ₃	79MeAll
H	H	H	CH ₃	CH ₃	89MeAll
H	H	CH ₃	CH ₃	H	78MeAll
CH ₃	H	CH ₃	CH ₃	H	1MeLChr



Rysunek 12. Struktury wybranych dimetylowych pochodnych alloksazyny, dla których przybliżono informację na temat stanów trypletowych

Lumichrom, jako modelowa pochodna alloksazyn, jest również często wykorzystywana w opisie stanów trypletowych tych heterocyklicznych układów. Przykładowo, Encinas i wsp. zarejestrowali widma absorpcji przejściowej dla lumichromu w roztworze wodnym w obecności 1mM NaOH. Porównanie do danych dostępnych dla lumichromu w etanolu wskazuje na pewne różnice, mianowicie w roztworze etanolemym odnotowano maksimum przy 370 nm, natomiast w przypadku obecności wodorotlenku sodu, maksimum przesuwa się batochromowo do 520 nm, przy jednoczesnym wyraźnym obniżeniu pasma przy 370 nm. Autorzy postulują, iż obserwowane widmo w roztworze zawierającym NaOH pochodzi od absorpcji tryplet-tryplet anionowej formy lumichromu (17). Podobne badania w odtlenionych roztworach wodnych o $\text{pH} \approx 6$ przedstawił Sikorski i wsp. dla lumichromu oraz 1-metylolumichromu (79). W tych przypadkach odnotowano obecność co najmniej dwóch form. Pierwsza z nich, której szerokie maksimum absorpcji odnotowano przy ok. 550 nm, zanikała z czasem 20 μs , natomiast drugie indywiduum, którego słaba absorpcja została odnotowana w pobliżu 450 nm zanikała z dużo dłuższym czasem równym 400 μs . Krótkożyjąca forma to najniższy stan trypletowy neutralnej formy lumichromu oraz 1-metylolumichromu, natomiast długo żyjące indywiduum to forma rodnikowa, która zostaje uformowana w ciągu reakcji zapoczątkowanych poprzez oderwanie atomu wodoru z wody przez cząsteczkę lumichromu znajdującą się w stanie wzbudzone. Należy dodać, że w przedziale stężeń lumichromu od 6×10^{-5} M do 1×10^{-5} M autorzy nie odnotowali zjawiska wygaszania stanu trypletowego przez cząsteczki tego samego związku znajdujące się w stanie podstawowym. Wyznaczone wartości wydajności przejścia interkombinacyjnego świadczą, iż zarówno lumichrom jak i 1-metylolumichrom wydajnie obsadzają stany trypletowe, odpowiednie wartości to 0.69 oraz 0.50. Podstawienie grupą metylową w pozycji „1” nie zmienia natomiast znacząco czasu życia stanu trypletowego – dla Lchr i 1MeLchr w roztworze wodnym o $\text{pH} \approx 6$ wynoszą odpowiednio 17 μs oraz 18 μs (79). Inne badania przeprowadzone przy wykorzystaniu laserowej fotolizy błyskowej przez Sikorskiego i wsp. dla lumichromu osadzonego na celulozie pokazują, iż w układzie obecne są, podobnie jak powyżej, dwa indywidua. Jedno z nich, krótko żyjące, posiada czas życia rzędu mikrosekund, jest wrażliwe na obecność tlenu i odpowiada za najniższy stan trypletowy lumichromu. Obecność drugiej, długo żyjącej formy, odnotowano w zakresie 500-600 nm, która zanika z czasem życia równym 0.24 ms (80).



Rysunek 13. Widmo czasowo-rozdzielcze rozproszeniowo-odbiciowe laserowej flash-fotolizy lumichromu osadzonego na celulozie w temperaturze pokojowej dla uprzednio odtlenionej próbki, czasy opóźnienia (w sekundach) zostały pokazane na widmie, $\lambda_{\text{exc}} = 355 \text{ nm}$, na podstawie (80).

2.3. Tlen singletowy i jego właściwości

Cząsteczka tlenu jest wszechobecna i bierze udział w wielu procesach chemicznych i fizycznych. Podobnie jak woda, tlen jest niezbędny do podtrzymywania życia na Ziemi. Pomimo swojej wielkiej pozytywnej roli, tlen ma także swoją „drugą twarz”, w której można wyróżnić szereg negatywnych znaczeń, takich jak niszczenie struktur komórkowych - w konsekwencji tlen przyczynia się do starzenia organizmów oraz rozwoju chorób nowotworowych. Jednak okazuje się, iż nie bez znaczenia pozostaje obecność światła, która przyczynia się do zmian właściwości cząsteczki tlenu i inicjuje szereg procesów zachodzących przy jego udziale. W licznych opracowaniach, zwłaszcza medycznych, używa się określenia „reaktywne formy tlenu”, które powstają na skutek oddziaływania cząsteczki tlenu z promieniowaniem elektromagnetycznym, wzbudzonymi elektronowo cząsteczkami związków organicznych lub rodnikami. Tego typu indywidualia są zaliczane do wysokoenergetycznych, a nadmiar energii jest powodem ich znacznej reaktywności. Do wspomnianych form zalicza się między innymi tlen singletowy. Tlen już w stanie podstawowym jest molekułą bardzo reaktywną, która wchodzi w interakcje z wieloma substancjami. Dostarczenie dodatkowej porcji energii i utworzenie reaktywnego tlenu singletowego powoduje znaczny wzrost w reaktywności tlenu. Oprócz tlenu singletowego, do reaktywnych form tlenu zalicza się również inne reaktywne, utleniające indywidualia, takie jak: nadtlenek wodoru (H_2O_2), rodnik hydroksylowy ($\cdot OH$), rodnik ponadtlenkowy ($\cdot O_2$), rodnik wodoronadtlenkowy ($\cdot HO_2$), ozon (O_3), monotlenek azotu ($NO\cdot$), rodnik alkoksyłowy ($\cdot RO$), rodnik nadtlenkowy ($\cdot ROO$) i inne. Reaktywne formy tlenu mają wielki wpływ na niszczenie materiałów, takich jak polimery, a także na wytwarzanie tak zwanego „stresu oksydacyjnego” w organizmach żywych, który z kolei może przyczyniać się do destrukcji lub obumierania komórek.

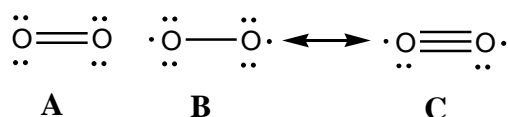
Cząsteczka tlenu jest uznawana za wyjątkową, która przejawia się nie tylko w znacznej reaktywności oraz pełnieniu funkcji niezbędnych dla utrzymania życia na ziemi, ale również wyjątkowość wynika z faktu konfiguracji elektronowej tlenu w stanie podstawowym, który jest trypletem oznaczanym poprzez 3O_2 . Przechodząc do stanu wzbudzonego, tlen trypletowy zmienia konfigurację na singlet, który jest oznaczany jako 1O_2 . Taki układ poziomów energetycznych czyni cząsteczkę tlenu odmienną od zdecydowanej większości związków organicznych, dla których podstawowym stanem elektronowym jest stan singletowy S_0 , natomiast najniższym wzbudzonym stanem energetycznym jest stan trypletowy T_1 .

Cząsteczka tlenu w stanie podstawowym jest birodnikiem, konfiguracja elektronowa z uwzględnieniem orbitali molekularnych została przedstawiona na **Rysunku 14** (81-83).

$$(\sigma_{1s})^2 < (\sigma_{1s}^*)^2 < (\sigma_{2s})^2 < (\sigma_{2s}^*)^2 < (\sigma_{2pz})^2 < (\pi_{2py})^2 = (\pi_{2px})^2 < (\pi_{2px}^*)^1 = (\pi_{2py}^*)^1$$

Rysunek 14. Konfiguracja elektronowa i obsadzenie orbitali molekularnych cząsteczki tlenu w stanie podstawowym

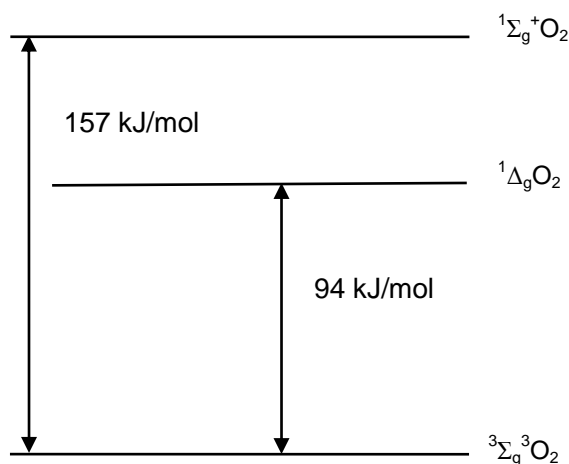
Przy uwzględnieniu reguły oktetu elektronowego Lewisa, wzór strukturalny cząsteczki tlenu powinno prezentować się zgodnie z wzorem **A** (**Rysunek 15**). Niestety, taka struktura nie wyjaśnia paramagnetycznych właściwości tlenu znajdującego się w stanie podstawowym, oraz pozwala domniemywać, iż stanem podstawowym tej cząsteczki jest stan singletowy. Najbardziej prawdopodobne struktury elektronowe stanu podstawowego, zgodne z wynikami eksperymentalnymi i teorią orbitali molekularnych zostały przedstawione na **Rysunku 15** – wzorami **B** oraz **C**.



Rysunek 15. Struktury elektronowe tlenu w stanie podstawowym

W stanie wzbudzonym cząsteczki tlenu (singletowym) można wyróżnić dwa, niskoenergetyczne odrębne stany, odpowiednio o energii 94 i 157 kJ/mol. Na **Rysunku 16** przedstawiono diagram energetyczny cząsteczki tlenu. Stan podstawowy cząsteczki tlenu to $^3\Sigma_g^- \text{O}_2$, natomiast dwa pierwsze wzbudzone stany singletowe to odpowiednio $^1\Delta_g \text{O}_2$ i $^1\Sigma_g^+ \text{O}_2$. Ze względu na zmianę spinu elektronowego, nie istnieje możliwość bezpośredniego wzbudzenia i przekształcenia tlenu z jego stanu trypletowego na singletowy. Proces ten może odbyć się wyłącznie na drodze przeniesienia energii (sensybilizacji) przez cząsteczkę sensybilizatora, która znajduje się w swoim stanie trypletowym, na cząsteczkę tlenu (w stanie podstawowym – trypletowym). Możliwy jest również mechanizm przeniesienia energii ze stanu singletowego sensybilizatora na cząsteczkę tlenu, jednak tutaj czynnikiem limitującym jest długość czasu życia stanu singletowego potencjalnego sensybilizatora. Bezpośrednie przejście ze stanu trypletowego cząsteczki tlenu do jej wzbudzonego stanu singletowego jest wzbronione spinowo. Dodatkowo, bezpośrednie przejście ze stanu wzbudzonego singletowego do stanu podstawowego (trypletowego) jest również wzbronione, dlatego cząsteczka tlenu singletowego jest indywidualum stosunkowo długo żyjącym - czas życia jest

uzależniony od rodzaju zastosowanego rozpuszczalnika, jednak mieści się w przedziale od 10^{-6} s (w wodzie) do 10^{-3} s (w tetrachlorometanie). Pomędzy wzbudzonymi stanami singletowymi cząsteczki tlenu możliwy jest szybki proces konwersji wewnętrznej, dlatego określenie ‘tlen singletowy’ zwykle używa się w stosunku do pierwszego wzbudzonego stanu oznaczonego na **Rysunku 16** jako $^1\Delta_g\text{O}_2$, jednakże możliwe są również reakcje z drugiego spośród stanów wzbudzonych ($^1\Sigma_g^+\text{O}_2$) (81,82).



Rysunek 16. Diagram stanów energetycznych cząsteczki tlenu: $^3\Sigma_g^3\text{O}_2$ (stan podstawowy), $^1\Delta_g\text{O}_2$ (wzbudzony stan singletowy tlenu o energii 94 kJ/mol) oraz $^1\Sigma_g^+\text{O}_2$ (wzbudzony stan singletowy tlenu o energii 157 kJ/mol)

Oczywiście, nie każda cząsteczka może pełnić rolę sensybilizatora tlenu singletowego. Ze względu na potencjalnie różne zastosowania, sensybilizatorom tlenu singletowego można postawić określone wymagania. Dla przykładu, jeśli fotosensybilizator ma być stosowany w aplikacjach medycznych związanych na przykład z diagnozowaniem lub leczeniem nowotworów w terapii fotodynamicznej (*ang. Photodynamic Diagnosis – PDD* oraz *Photodynamic Therapy – PDT*) powinien charakteryzować się brakiem toksyczności wobec organizmu pacjenta, możliwością łatwej eliminacji z ustroju i tkanek po zakończonym procesie terapeutycznym oraz trwałością, która nie będzie powodowała rozkładu prowadzącego do toksycznych produktów ubocznych. Jednak, niezależnie od potencjalnych zastosowań, dobry sensybilizator tlenu singletowego powinien charakteryzować się szeregiem parameterów, głównie spektralnych i fotofizycznych, do których możemy zaliczyć między innymi:

- wysoką wartość wydajności kwantowej tworzenia tlenu singletowego, wysoką stałą wygaszania stanu trypletowego przez tlen i jednocześnie niską wartością stałej wygaszania stanu trypletowego przez inne substancje obecne w roztworze,
- wysoką wydajność kwantową przejścia interkombinacyjnego,
- wysoką wartość molowego współczynnika absorpcji przy długości fali promieniowania wzbudzającego oraz odpowiednią charakterystykę spektralną, która umożliwi selektywne wzbudzenie sensybilizatora, jednocześnie ograniczając wzbudzenie innych cząsteczek obecnych w roztworze,
- energię stanu trypletowego wynoszącą co najmniej 95 kJ/mol – w przypadku niższej energii stanu trypletowego sensybilizatora nie ma możliwości przeniesienia energii na cząsteczkę tlenu,
- fotostabilność w stosowanych rozpuszczalnikach, roztworach oraz wobec używanego promieniowania elektromagnetycznego,
- czas życia stanu trypletowego wynoszący co najmniej 1 μ s,
- dobrą rozpuszczalnością w roztworze, w którym tlen singletowy wykazuje długi czas życia (na przykład halogenowane rozpuszczalniki),
- ograniczenie agregacji cząsteczek sensybilizatora, która generalnie obniża zdolność do generowania tlenu singletowego.

Do dobrze znanych i opisanych sensybilizatorów tlenu singletowego należą między innymi: perinaftenon, akrydyna, naftalen, róż bengalski, ryboflawina i inne (84).

Oddziaływanie tlenu w stanie podstawowym z wzbudzoną cząsteczką sensybilizatora w jej stanie singletowym $^*R(S_1)$ może przebiegać na drodze przenoszenia energii (ET, *ang. energy transfer*) lub przenoszenia elektronu, które w efekcie tworzy między innymi pochodne nadtlenkowe.

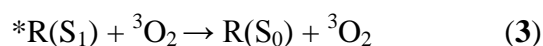
Generalnie, o wyborze jednej z dróg w dużej mierze decyduje wielkość przerwy energetycznej (ΔE_{ST}) pomiędzy wzbudzonym stanem singletowym cząsteczki organicznego sensybilizatora oraz energii jego stanu trypletowego (T_1). Przenoszenie energii jest procesem egzotermicznym, a jedną z możliwości utworzenia tlenu singletowego została przedstawiona równaniem (1):



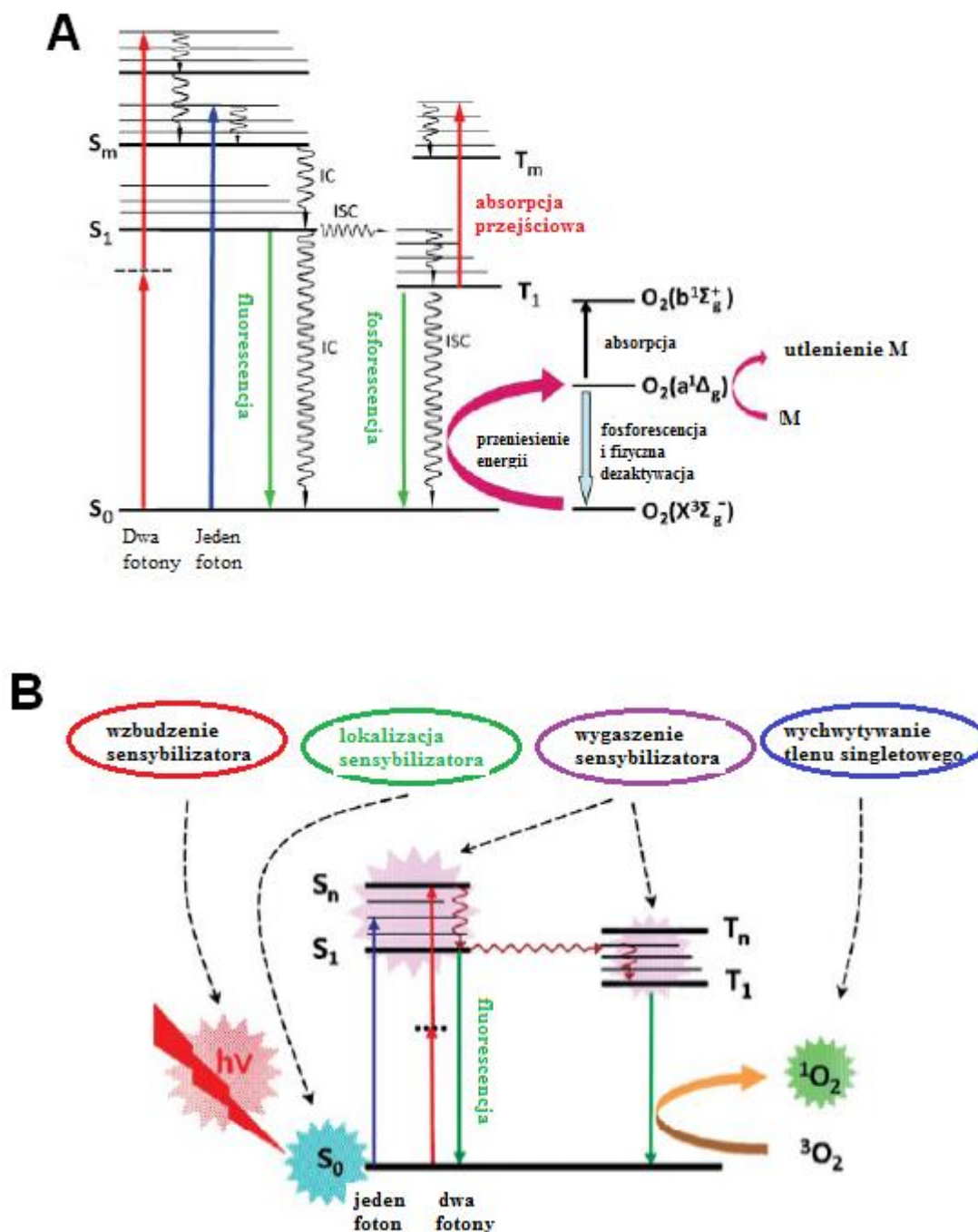
Z powyższego wynika, iż tlen singletowy może być generowany na drodze oddziaływania sensybilizatora w jego wzbudzonym stanie singletowym z cząsteczką tlenu w jej stanie

podstawowym. Jak wspomniano wcześniej, aby cząsteczka sensybilizatora w swoim wzbudzonym stanie singletowym mogła efektywnie oddziaływać z tlenem, jej czas życia stanu S_1 powinien wynosić ns lub więcej.

W przypadku, gdy przerwa energetyczna w sensybilizatorze jest niższa od różnicy energii tryplet-singlet cząsteczki tlenu, proces opisany równaniem (1) nie jest dozwolony energetycznie. W takim przypadku cząsteczka tlenu może stanowić medium uczestniczące w tworzeniu stanu trypletowego cząsteczki sensybilizatora (2) lub może wpływać na proces dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego sensybilizatora $*R(S_1)$ do stanu podstawowego $R(S_0)$. Obydwa omówione procesy mogą zachodzić poprzez utworzenie ekscypleksu. Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w większości ulegają procesom opisanym za pomocą równań (2) i (3) ze względu na niedostateczną różnicę energii pomiędzy stanami S_1 a T_1 .



Wygaszanie stanu trypletowego (T_1) cząsteczki sensybilizatora należy do najbardziej efektywnych metod wytwarzania tlenu singletowego w laboratorium oraz odgrywa istotne znaczenie w wielu aplikacyjnych zastosowaniach tlenu. Jednym z kluczowych parametrów sensybilizatora tlenu singletowego, którego wartość musi być stosunkowo wysoka jest tak zwana *efektywność generowania tlenu singletowego* (ozn. S_Δ), definiowana jako stosunek liczby moli powstającego tlenu singletowego do liczby moli wzbudzonego stanu trypletowego cząsteczki sensybilizatora wygaszanego przez tlen. Odnotowano, iż między innymi dla naftalenu w cykloheksanie oraz fulerenów C_{60} rozpuszczonych w benzenie $S_\Delta \sim 1.0$. Trypletowy stan typu π, π^* na przykład dla wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych wykazuje zdecydowanie wyższą efektywność tworzenia tlenu singletowego, podwyższając tym samym wartość S_Δ powyżej 0.8. Z kolei stan trypletowy typu n, π^* (występujący np. w benzofenonie) skutkuje obniżeniem S_Δ – oczywistym staje się fakt, iż tego typu cząsteczka będzie gorszym sensybilizatorem tworzenia tlenu singletowego. Dodatkowo, odnotowano, iż S_Δ maleje wraz ze wzrostem polarności rozpuszczalnika, stąd wartości $S_\Delta \sim 1$ odnotowane dla pochodnych naftalenu i fulerenów w rozpuszczalnikach niepolarnych takich jak benzen czy cykloheksan.



Rysunek 17. (A) Uproszczony diagram Jabłońskiego przedstawiający jedno- i dwu-fotonową absorpcję sensybilizatora, która inicjuje fotosensybilizowaną produkcję tlenu singletowego ze stanów trypletowych sensybilizatora. IC oraz ISC oznaczają odpowiednio konwersję wewnętrzną oraz przejście interkombinacyjne. (B) Diagram ilustrujący podejście, w którym kontrola może zostać osiągnięta w sensybilizowanym wytwarzaniu tlenu singletowego z wzbudzonych stanów singletowych oraz trypletowych sensybilizatora; na podstawie (85).

Mechanizm przedstawiający wytwarzanie tlenu singletowego, zapoczątkowany absorpcją jedno- lub dwufotonową sensybilizatora, który poprzez szereg procesów fotofizycznych (między innymi przejście interkombinacyjne) obsadza stan trypletowy (T_1), z którego możliwy jest transfer energii na tlen w stanie podstawowym został przedstawiony na **Rysunku 17A**. Z kolei schematyczne wytwarzanie tlenu singletowego, które może odbywać się w układach biologicznych, w których cząsteczki sensybilizatora gromadzą się selektywnie w określonych komórkach i tkankach, został przedstawiony na **Rysunku 17B**. Uwzględniono również możliwość wytwarzania tlenu singletowego poprzez wygaszanie stanów singletowych sensybilizatora.

Wydajność tworzenia tlenu singletowego (ozn. Φ_Δ) rozumie się jako stosunek liczby moli utworzonego tlenu singletowego do liczby moli zaabsorbowanych fotonów (83,86). Wyliczenie Φ_Δ jest uzależnione od wielu parametrów eksperymentalnych, takich jak stężenie tlenu w stanie podstawowym (3O_2), wartości wydajności kwantowej tworzenia stanu trypletowego przez sensybilizator (Φ_{ISC}) oraz od oddziaływań pomiędzy sensybilizatorem a cząsteczkami tlenu. Ponadto S_Δ jest rozumiana jako oddziaływanie charakterystyczne dla układu sensybilizator – rozpuszczalnik, a powiązana z frakcją stanu trypletowego, którego obecność skutkuje powstaniem tlenu singletowego. Uwzględniając powyższe parametry można wyrazić wydajność kwantową formowania tlenu singletowego jako (4):

$$\Phi_\Delta = \Phi_{ISC} S_\Delta \frac{k_q [O_2]}{\tau_T^{-1} + k_q [O_2]} \quad (4)$$

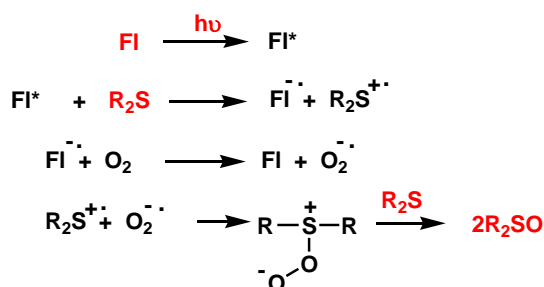
Wyrażenie po prawej stronie równania 4 ($\frac{k_q [O_2]}{\tau_T^{-1} + k_q [O_2]}$) umożliwia wyliczenie frakcji cząsteczek stanu trypletowego sensybilizatora, która jest wygaszana przez tlen.

Wygaszanie stanu trypletowego cząsteczki fotosensybilizatora przez tlen odbywa się na drodze utworzenia ekscypleksu, poprzez reakcje chemiczną lub transfer energii, dlatego tlen 3O_2 uznaje się za jeden z najważniejszych wygaszaczy stanów trypletowych cząsteczek organicznych. Chcąc badać stany trypletowe różnych pochodnych organicznych należy uprzednio przeprowadzić odtlenienie próbki, aby wyeliminować zachodzące wygaszanie i relaksację cząsteczki sensybilizatora do podstawowego stanu singletowego (S_0). W większości przypadków, wygaszanie stanów trypletowych przez cząsteczki tlenu ma

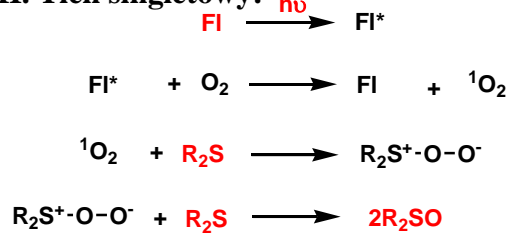
charakter fizyczny, jakkolwiek zdarza się, iż wygaszacz może zapoczątkować serię procesów, których skutkiem będzie utworzenie nowych produktów.

Dane dostępne dla różnych pochodnych alloksazyny dowodzą, iż większość jej pochodnych charakteryzuje wysoka wartość wydajności kwantowych przejścia interkombinacyjnego (na przykład dla lumichromu w acetonitrylu: 0.71, natomiast dla alloksazyny w tym samym rozpuszczalniku: 0.41). Dotychczasowe wyniki badań izo- i alloksazyn wskazują, że należą one do grupy stosunkowo wydajnych fotosensybilizatorów tlenu singletowego (20,36,51,62). Wyznaczone wartości wydajności kwantowej formowania tlenu singletowego dla różnych pochodnych izo- i alloksazyn mieszczą się w stosunkowo szerokim zakresie, mianowicie w przypadku alloksazyny w acetonitrylu odnotowano $\Phi_{\Delta} = 0.36$, natomiast dla lumiflawiny $\Phi_{\Delta} = 0.85$. Alloksazyny wykazują dobrą stabilność fotochemiczną. Niedawno wykazano, że pochodne ryboflawiny stanowią wydajne katalizatory fotoutleniania sulfidów do sulfoksydów, jakkolwiek takie badania przeprowadzono tylko dla niewielkiej liczby pochodnych ryboflawiny (34,35). Dla wyjaśnienia tego procesu proponuje się dwa odmienne mechanizmy: fotoutlenianie zachodzące przy udziale tlenu singletowego oraz przeniesienie elektronu (ET) poprzez stan trypletowy cząsteczki tlenu. Sulfoksydy odgrywają bardzo ważną rolę jako produkty pośrednie w syntezach organicznych i aktywnych biologicznie związków znajdujących zastosowania farmaceutyczne. Fotosensybilizowane utlenianie sulfidów jest jedną z najbardziej obiecujących dróg dla otrzymywania sulfoksydów. W dodatku, flawiny i ich pochodne mogą być używane jako fotosensybilizatory w tym procesie utleniania, włączając w to zwłaszcza terta-O-acetyloryboflawinę. Dwa odmienne procesy, proponowane mechanizmy fotoutleniania sulfidów do sulfoksydów zostały przedstawione na **Rysunku 18** (34,35). Wykazano, iż w procesie naświetlania ryboflawina łatwo ulega fotodegradacji, a jednym z głównych produktów tego procesu jest lumichrom. Lumichrom w przeciwieństwie do ryboflawiny wykazuje bardzo dużą trwałość fotochemiczną, uczestniczy efektywnie w fotosensybilizowanym utlenianiu pochodnych fenolu.

I. Przeniesienie elektronu:



II. Tlen singletowy:



Rysunek 18. Proponowany mechanizm fotoutleniania sulfidów do sulfoksydów.

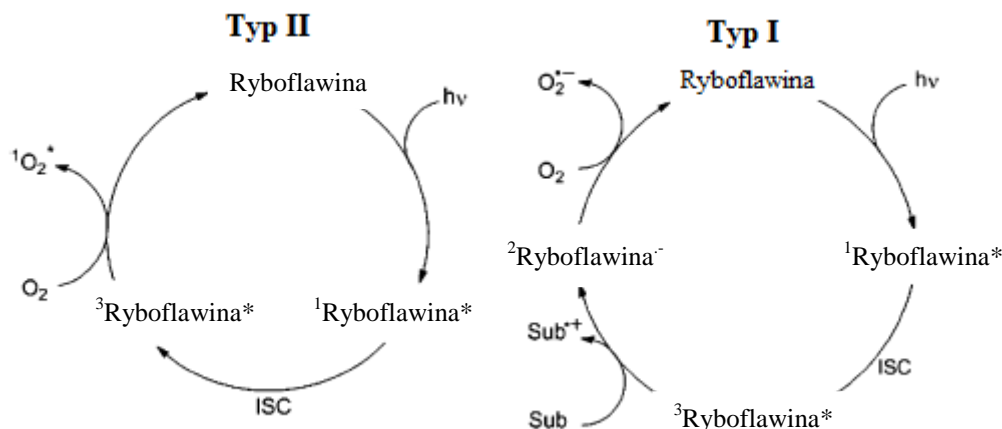
Badania reaktywnych form tlenu, do których zalicza się cząsteczka tlenu singletowego, stanowi bardzo ważną gałąź badawczą zarówno dla fotochemików, ale również dla biologów i fizjologów (83,86-91). Poszukiwanie nowych, wydajnych sensybilizatorów tlenu singletowego wydaje się niezbędne, mając na uwadze pozytywną oraz negatywną rolę tlenu singletowego dla człowieka. Do pierwszej grupy można zaliczyć udział tlenu singletowego w niszczeniu komórek nowotworowych i wykorzystanie tej reaktywnej formy tlenu w leczeniu z zastosowaniem PDT (Photodynamic Therapy) oraz PDD (Photodynamic Diagnosis) (92). Ponadto zachodzące pod wpływem tlenu singletowego fotoutlenianie wykorzystane jest do celu uzdatniania wód oraz sterylizacji krwi i przyrządów chirurgicznych (84). Natomiast do negatywnych skutków działania tlenu singletowego można zaliczyć między innymi fotodestrukcję organizmów żywych, degradację polimerów oraz fotoutlenianie produktów spożywczych.

2.4. Znaczenie flawin dla organizmów żywych oraz w gospodarce człowieka

Flawiny stanowią ważną grupę związków z interesującą aktywnością biologiczną, które biorą udział w procesach utleniania i redukcji zachodzących w organizmach żywych oraz współdziałają w prawidłowym funkcjonowaniu układu nerwowego oraz innych ważnych organów u człowieka takich jak błony śluzowe, drogi oddechowe i inne. Ich niedobór w organizmie może skutkować zaburzeniami i uszkodzeniami gałek ocznych, rogówki oka oraz ogólnymi problemami z widzeniem, wypadaniem włosów, kłopotami z koncentracją, bezsennością oraz innymi zaburzeniami ze strony układu pokarmowego i oddechowego. Zidentyfikowano między innymi, iż chromoforem koenzymu F_{420} , który występuje u bakterii produkujących metan jest 8-hydroksy-5-deazaflawina, który dodatkowo stanowi koenzym biorący udział w procesach utleniania-redukcji (93). 5-Deazaflawiny należą do klasy tak zwanych „żółtych chromoforów” (10) i są dobrze znane jako receptory światła niebieskiego (11). Wykazano również, iż te związki działają przeciwnowotworowo (12,14,15,94-96). Interesującym wydaje się również fakt, iż nukleozydy alloksazyn mogą stanowić interesujące sondy fluorescencyjne ze względu na formowanie podobnych wiązań wodorowych do tych, które są obecne w cząsteczkach kwasu DNA, szczególnie jako analogi tyminy (97). Lumichrom jest aktywnym inhibitorem reduktazy flawinowej obecnej w komórkach bakterii *Escherichia coli* (19). Dodatkowo lumichrom bierze udział w procesach degradacji niektórych rodzajów polimerów (98).

Jak wspomniano wcześniej, ryboflawina oraz jej pochodne są bardzo wydajnymi sensybilizatorami tlenu singletowego (20,61). Ich obecność w komórkach organizmów żywych może przyczyniać się do powstawania uszkodzeń w tkankach organizmów oraz destrukcji niektórych produktów żywnościowych na skutek zachodzących procesów utleniania. Fenolowe i N-heterocykliczne aminokwasy oraz zbudowane z nich peptydy i białka dezaktywują wzbudzone stany trypletowe ryboflawiny na drodze procesów kontrolowanych przez dyfuzję. Te procesy skutecznie konkurują z dezaktywacją dokonywaną przez cząsteczki tlenu. W ten sposób następuje degradacja peptydów i białek na drodze tak zwanego mechanizmu utleniania Typu I, który może zachodzić na przykład poprzez transfer elektronu lub przeniesienie atomu wodoru. Niewystarczające stężenie tlenu wynikające z ograniczonej rozpuszczalności tlenu w wodzie powoduje, iż aromatyczne aminokwasy takie jak tryptofan i tyrozyna konkurują z tlenem jako wygaszacze stanów trypletowych ryboflawiny w neutralnych lub kwasowych wodnych roztworach (1). Warto dodać, iż niektóre

siarkowe aminokwasy są zdolne również do wygaszania wzbudzonych stanów singletowych ryboflawiny (99). W tym utlenianiu kluczową rolę odgrywa powstanie reaktywnych form rodnikowych tlenu i opiera się głównie na właściwościach chemicznych układu. Konkurencyjny mechanizm utleniania Typu II odbywa się na drodze utworzenia reaktywnego tlenu singletowego, który może tworzyć się wskutek dezaktywacji wzbudzonych stanów trypletowych ryboflawiny przez tlen. Utlenianie zachodzące według mechanizmu typu II jest faworyzowane szczególnie w środowisku tlenowym oraz w układach zawierających lipidy. Ten typ wygaszania określany jest mianem fizycznego. Zostało stwierdzone, iż ryboflawina w stanie trypletowym jest silnym utleniaczem dla wielu biomolekuł. Z kolei transfer energii ze stanu trypletowego ryboflawiny może następować w dozwolonym spinowo procesie do cząsteczek tlenu w stanie podstawowym z utworzeniem reaktywnego tlenu singletowego. Udowodniono, iż proces przeniesienia energii jest kontrolowany przez dyfuzję, wyznaczona wartość stałej szybkości tego procesu w wodzie w temperaturze 25⁰C wynosi $9.8 \times 10^8 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$. W tych warunkach, wzbudzona ryboflawina ze stanu trypletowego przechodzi do swojego podstawowego stanu singletowego, natomiast tlen singletowy powoduje utworzenie z nienasyconych reszt kwasów tłuszczowych hydronadtlenków jako pierwotnych produktów zachodzącego fotoutleniania lub utlenione formy peptydów i białek. W warunkach ograniczonej dostępności tlenu w układach lipidowych następuje przekazanie atomów wodoru z polinienasyconych reszt kwasów tłuszczowych do stanów trypletowych ryboflawiny, które w efekcie prowadzą do dezaktywacji tych stanów. Należy podkreślić, iż w wielu układach dochodzi do konkurencji pomiędzy mechanizmem utleniania typu I i II, jednak dominacja danego mechanizmu w dużej mierze zależy od środowiska w którym przebiega fotoutlenianie, stężenia tlenu, rodzaju molekuł biorących udział w fotoutlenieniu jak również zdolności do ich agregacji, oddziaływań z rozpuszczalnikiem (100-103). Schematycznie, mechanizm utleniania zachodzący według mechanizmów Typu I i II został przedstawiony na **Rysunku 19**. Flawiny, wliczając w to ryboflawinę, FAD oraz FMN mogą generować tlen singletowy w tkankach organizmów żywych również pod wpływem promieniowania z zakresu UVA. Problem wydaje się szczególnie istotny w kontekście generowania reaktywnego tlenu singletowego we fragmentach organizmu szczególnie narażonych na kontakt z promieniowaniem UVA (oczy, skóra) (104). Udowodniono, iż tlen singletowy należy do bardzo istotnych czynników, które przyczyniają się do powstawania nowotworów skóry (105-107).



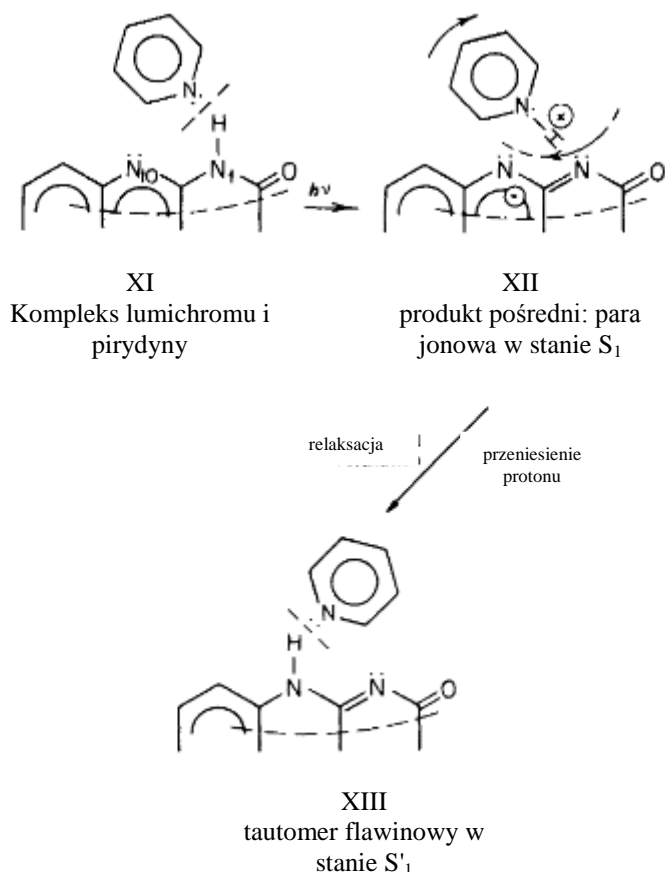
Rysunek 19. Mechanizmy utleniania zachodzące według Typu I i II z udziałem ryboflawiny, na podstawie (1).

Poprzez zastosowanie promieniowania wzbudzającego 355 nm oraz mierząc charakterystyczną fosforescencję tlenu singletowego przy 1270 nm zostały wyznaczone wartości wydajności generowania tlenu singletowego przez ryboflawinę (0.54 ± 0.07), FMN (0.51 ± 0.07) oraz FAD (0.07 ± 0.02) (100). Okazuje się, iż w natlenionych roztworach ryboflawiny oraz FMN tlen singletowy jest generowany z większą wydajnością w porównaniu do powszechnie znanych sensybilizatorów tlenu singletowego (np. Photofrin) używanych w terapii fotodynamicznej diagnozowania i leczenia nowotworów (PDD, PDT). Jednocześnie zauważono, iż dla wspomnianych pochodnych o strukturze flawin wraz z obniżeniem stężenia tlenu obniżała się wartość wydajności generowania tlenu singletowego otrzymywanego pod wpływem promieniowania z zakresu UVA (100). Zastosowanie w badaniach układów biologicznych detekcji tlenu singletowego opartej na charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego (1270 nm) jest korzystniejszym rozwiązaniem w porównaniu do używania wygaszaczy tlenu singletowego (np. β -karotenu) głównie ze względu na brak konieczności dodawania nowych substancji (nie zawsze w układach biologicznych istnieje taka możliwość) oraz ze względu na stosunkowo krótki czas życia tlenu singletowego w układach biologicznych (μs) wygaszcz powinien zostać zaaplikowany dokładnie w miejscu, w którym generowany jest tlen singletowy (100).

2.5. Reakcja podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym dla pochodnych flawin

Generalna idea reakcji podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym opiera się na utworzeniu kompleksu w stanie podstawowym pomiędzy cząsteczką alloksazyny oraz molekułą zdolną do tworzenia wiązań wodorowych (na przykład kwasy karboksylowe, pirydyna), który jest oparty na wiązaniach wodorowych. Następnie, pod wpływem wzbudzenia, wewnątrz uformowanego kompleksu następuje migracja atomu wodoru z pozycji N(1) na pozycję N(10). Powoduje to zmianę konfiguracji elektronowej przy atomie N(10) w cząsteczce alloksazyny i uformowanie struktury izoalloksazynowej. Jedną z najczęściej badanych cząsteczek należących do alloksazyn w reakcji podwójnego przeniesienia protonu jest lumichrom (7,8-dimetyloalloksazyna). Jednakże, zajście reakcji jest możliwe również dla innych alloksazyn, które są niepodstawione grupami alkilowymi przy atomie N(1). Pierwotny mechanizm zaproponowany przez Koziola, Koziolową, Songa zakładał utworzenie cyklicznego kompleksu pomiędzy atomami N(1) i N(10) cząsteczki lumichromu (37,108,109). Określono wówczas, iż siłą napędzającą proces tautomeryzacji alloksazynowo - izoalloksazynowej jest jednocześnie wzrastająca zasadowość atomu azotu N(10) oraz wzrastająca kwasowość ugrupowania N(1)-H, która następuje po procesie wzbudzenia promieniowaniem elektromagnetycznym. Również w tym przypadku stwierdzono, iż pomiędzy lumichromem a kwasem octowym forumuje się ośmioczłonowy, cykliczny kompleks o stechiometrii 1:1, skupiony wokół atomów azotu N(1) i N(10) cząsteczki lumichromu. Inne podejście do wyjaśnienia mechanizmu reakcji podwójnego przeniesienia protonu w cząsteczce lumichromu pod wpływem obecności pirydyny zaproponował Kasha (31). Cząsteczka pirydyny jest tutaj określana mianem „aktywnego transportera” protonu z pozycji N(1) lumichromu na atom azotu N(10). Proponowany przebieg reakcji przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym dla lumichromu w obecności pirydyny został przedstawiony na **Rysunku 20**. W poszczególnych etapach proponowanego mechanizmu można wyróżnić pewne charakterystyczne formy strukturalne, mianowicie, w początkowym etapie (XI, **Rysunek 20**) następuje utworzenie wiązania wodorowego w stanie podstawowym pomiędzy pirydyną a ugrupowaniem N(1)-H lumichromu. Dalej, pod wpływem wzbudzenia tworzy się produkt pośredni w postaci pary jonowej (XII, **Rysunek 20**) we wzbudzonym stanie singletowym S_1 lumichromu. W kolejnym etapie, pirydyna przyczynia się do relaksacyjnej reorientacji, która skutkuje powstaniem stanu S'_1 , w którym tworzy się wiązanie wodorowe pomiędzy atomem N(10) lumichromu i kształtuje się

izoalloksazynowy układ wiązań. Autorzy potwierdzają słuszność proponowanego mechanizmu przez odwołanie się do badań niskotemperaturowych, w których procesy przeniesienia protonu są blokowane (31). Ponadto wyznaczony czas narastania w temperaturze 293 K jest dłuższy niż 50 ps, co wskazuje na mechanizm relaksacji rozpuszczalnikowej (31).



Rysunek 20. Proponowany mechanizm reakcji przeniesienia protonu dla lumichromu w obecności pirydyny zaproponowany przez Kash'a, XI oznacza kompleks pirydyny z atomem azotu N(1) lumichromu w stanie podstawowym, XII: produkt pośredni w postaci pary jonowej we wzbudzonym stanie singletowym S_1 oraz XIII: utworzenie flawinowego tautomeru z wiązaniem wodór-azot przy N(10) w zrelaksowanym stanie S'_1 ; na podstawie (31).

Fototautomeryzację lumichromu do 7,8-dimetyloizoalloksazyny stwierdzono w różnych układach, w których znajdowały się cząsteczki zdolne do tworzenia wiązań wodorowych z lumichromem, a wewnątrz tych kompleksów było możliwe przeniesienie atomu wodoru z N(1) na N(10) pod wpływem wzbudzenia promieniowaniem. Podobne zjawisko następowało w obecności innych substancji (lub ich mieszaniny), oprócz wspomnianego kwasu octowego, to między innymi: metanol (38), etanol (26,37), pirydyna (32), kwas trifluorooctowy oraz mieszanina dichlorometanu z heksafluoropropanolem (110), mieszanina wody i pirydyny oraz wody i acetonu (32), a także mieszanina dioksanu z pirydyną (109). Należy podkreślić, iż nie

zaobserwowano możliwej tautomeryzacji lumichromu oraz jego niepodstawionych przy N(1) grupą alkilową pochodnych w czystej wodzie (79).

Szczegółowe badania zostały przeprowadzone dla reakcji podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym dla cząsteczki lumichromu w obecności kwasu octowego, w sytuacji gdy układ znajdował się w różnych rozpuszczalnikach, wliczając w to: 1,2-dichloroetan, acetonitryl oraz czysty kwas octowy (111). Przy wykorzystaniu technik absorpcyjno-emisyjnych stwierdzono, iż w stanie podstawowym formuje się kompleks lumichrom:kwas octowy oparty na wiązaniach wodorowych, którego stechiometria wynosi 1 : 1. Dodatkowo, został określony wpływ oddziaływań kształtujących się pomiędzy lumichromem a zastosowanym rozpuszczalnikiem na stałą równowagi tworzenia kompleksu. Okazało się, iż w przypadku 1,2-dichloroetanu stała równowagi była o rząd wielkości wyższa w porównaniu gdy do badań zastosowano acetonitryl (111). Zmiana rozpuszczalnika wpływa również znacząco na mechanizm reakcji. W przypadku zastosowania niepolarnego 1,2-dichloroetanu bardziej preferowane jest utworzenie cyklicznych kompleksów w stanie podstawowym, natomiast w przypadku rozpuszczalników polarnych takich jak acetonitryl, w stanie podstawowym początkowo tworzy się układ lumichrom:kwas octowy z pojedynczym wiązaniem wodorowym przy atomie N(10), natomiast utworzenie pełnego kompleksu następuje w stanie wzbudzonym. Zwiększanie stężenia kwasu octowego w roztworze lumichromu w acetonitrylu oraz 1,2-dichloroetanie powodował niewielki wzrost absorbancji, który wynika z formowania się wiązań wodorowych w stanie podstawowym pomiędzy lumichromem oraz kwasem octowym. Prawidłowość tą stwierdzono również dla innych alloksazyn. Ze względu na fakt, iż w cząsteczce lumichromu obecne są zarówno ugrupowania protonodonorowe jak i protonoakceptorowe, dodatek kwasu octowego może skutkować utworzeniem kompleksów lumichrom:kwas octowy opartych na wiązaniach wodorowych, jednak wykazano, iż obserwowane zmiany w widmach absorpcji pod wpływem dodatku kwasu octowego pochodzą od uformowanych kompleksów lumichrom:kwas octowy, w których zaangażowany jest atom azotu N(10). Bardziej wymowne zmiany, które świadczą o zachodzącym procesie tautomeryzacji pomiędzy formą alloksazynową a izoalloksazynową dla lumichromu i innych alloksazyn niepodstawionych w pozycji N(1) obserwuje się w widmach emisji. Generalnie, w widmach emisji lumichromu i wielu innych alloksazyn obserwuje się obecność jednego pasma, którego maksimum usytuowane jest pomiędzy 420 nm a 440 nm w zależności od badanej pochodnej oraz zastosowanego rozpuszczalnika. Jednakże, w obecności kwasu octowego wykształca się nowe, długofalowe pasmo emisji, którego maksimum zlokalizowane jest zwykle przy ok. 520 nm i które w dużym stopniu

odzwierciedla emisję formy izoalloksazynowej. Jednocześnie, w miarę wzrastającego stężenia kwasu octowego, intensywność emisji formy alloksazynowej obniża się na korzyść wzrastającej intensywności emisji formy izoalloksazynowej. W widmach emisji obserwuje się obecność jednego, dobrze zdefiniowanego punktu izoemisyjnego. W przypadku zastosowania pochodnych alloksazynowych z zablokowaną pozycją N(1) przez grupę alkilową, obserwuje się w tych samych warunkach eksperymentalnych, obecność wyłącznie emisji o charakterze alloksazynowym (111).

Badania czasowo - rozdzielcze dla lumichromu w acetonitrylu i dichlorometanie w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego dowodzą, iż zmiana rozpuszczalnika istotnie wpływa na dynamikę zachodzących procesów. Zarejestrowane zaniki fluorescencji dla lumichromu w acetonitrylu i 1,2-dichloroetanie opisuje zadowalająco funkcja mono-wykładnicza. Odpowiednie czasy zaniku fluorescencji wynoszą 0.64 ns oraz 0.61 ns. W acetonitrylu, w miarę wzrastającego stężenia kwasu octowego zanik fluorescencji obserwowany przy $\lambda_{em} = 425$ nm opisywany jest funkcją monowykładniczą z czasami życia zmieniającymi się od 0.64 ns (0 M kwasu octowego) do 0.37 ns (0.7 M kwasu octowego). Z kolei zanik fluorescencji obserwowany przy $\lambda_{em} = 580$ nm jest opisywany poprzez sumę monowykładniczego zaniku oraz monowykładniczego narastania. Wartości czasu zaniku formy alloksazynowej ($\lambda_{em} = 425$ nm) oraz czasu narastania obserwowanego przy $\lambda_{em} = 580$ nm są praktycznie jednakowe, dla przykładu przy stężeniu kwasu octowego 0.7 M τ_F formy alloksazynowej oraz czas narastania przy $\lambda_{em} = 580$ nm wynoszą odpowiednio po 0.37 ns oraz 0.35 ns. Stosunkowo długi czas narastania świadczy, iż proces przeniesienia protonu jest stosunkowo wolny a forma alloksazynowa stanowi prekursor formy izoalloksazynowej. Nieco bardziej skomplikowanie wygląda dynamika procesów obserwowanych w 1,2-dichloroetanie, mianowicie dla stężenia kwasu octowego od 0 M do 0.04 M stwierdzono monowykładniczy zanik zarówno dla formy alloksazynowej jak i izoalloksazynowej. Prawdopodobnie, w tym przypadku brak obecnego czasu narastania formy izoalloksazynowej wynika z możliwej zbyt krótkiej wartości, która nie mogła zostać zmierzona przy stosowanym układzie pomiarowym. Przy wyższych stężeniach kwasu octowego jest obserwowany również czas narastania formy izoalloksazynowej, którego wartość jest zbliżona do zaniku formy alloksazynowej, dla przykładu przy $C_{AA} = 0.7M$, zarówno czas zaniku formy alloksazynowej jak i narastania formy izoalloksazynowej mają taką samą wartość równą 0.45 ns. Dodatkowo, interesujące rezultaty otrzymano przy obserwacji zaniku fluorescencji przy $\lambda_{em} = 425$ nm, mianowicie przy wyższych stężeniach kwasu octowego zaobserwowano obecność drugiego komponentu z czasem życia ok. 3-4 ns i

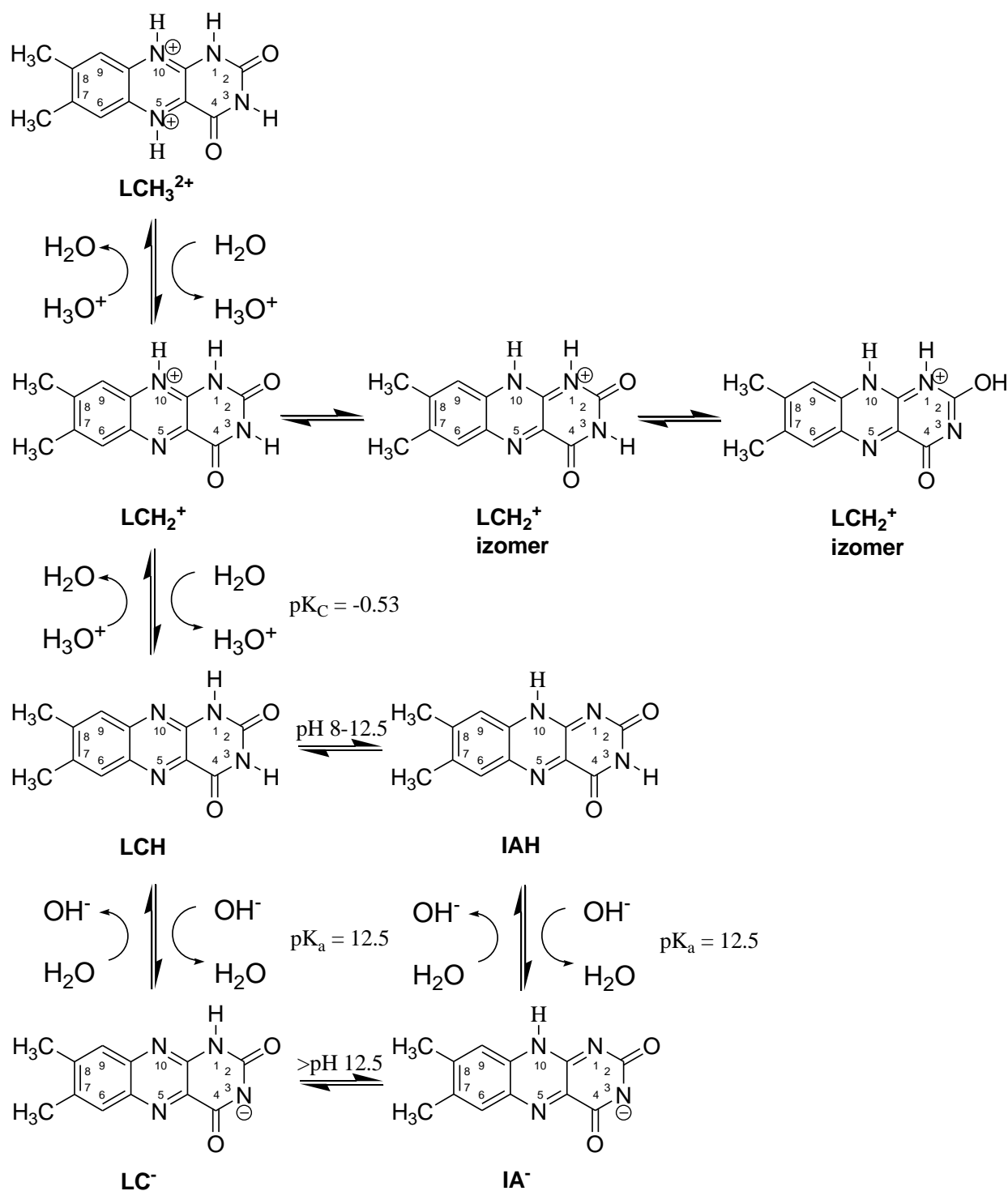
udziałem 1-2%. Wspomniana wartość czasu zaniku jest zbliżona do zaniku formy izoalloksazynowej. Prawdopodobnie jest to rezultat powstałej równowagi pomiędzy obydwoma wzbudzonymi formami lub nakładania się pasm formy izoalloksazynowej z alloksazynową (111).

2.6. Równowagi kwasowo-zasadowe flawin

Poczynając od kwasowego, a kończąc na zasadowym pH, pochodne flawin tworzą różne formy strukturalne, do których można zaliczyć między innymi: kationy, formy neutralne, monoaniony oraz dianiony. Ze względu na obecność w cząsteczkach izo- i alloksazyn kilku potencjalnych miejsc protonacji oraz deprotonacji, struktury tych form są odmienne. Pomędzy nimi ustalają się równowagi tak w stanie podstawowym, jak i wzbudzonym. Ze względu na obecność pochodnych flawin w układach biologicznych, w których panują różne warunki pH, wydaje się koniecznym znajomość równowag reakcji protonacji / deprotonacji oraz sposobów na określenie możliwych form strukturalnych w danych warunkach pH.

Jedno z pierwszych doniesień dotyczących wartości pK_a alloksazyn zostały zawarte w pracy Koziołowej (22). Zdefiniowano wartości pK_a oraz pK_a^* dla formowania monianonów alloksazynowych oraz dla dianionu w silnie alkalicznych warunkach pH. W dalszej kolejności, badania właściwości emisyjnych i absorpcyjnych dla lumichromu w roztworach wodnych w przedziale pH od -1.08 do 14.6 dowiodły obecności różnych form strukturalnych lumichromu w zależności od pH. Pierwszą obserwowaną był kation, który przechodził w formę neutralną przy $pK_a \approx -0.53$. Z kolei przejście z formy neutralnej do anionowej odbywało się przy $pK_a \approx 12.5$ (112). Dodatkowo, stwierdzono, iż przy $pH > 7$ następowała częściowa tautomeryzacja lumichromu do 7,8-dimetyloizoalloksazyny poprzez proces wewnątrzcząsteczkowego przeniesienia protonu pomiędzy atomami N(1) i N(10), w którym uczestniczyło około 40% lumichromu. W znacznie wyższych pH (~ 12.5) wykazano, iż forma neutralna lumichromu (zarówno część alloksazynowa, jak i powstała po tautomeryzacji izoalloksazynowa) ulegają jonizacji do monoanionu alloksazynowego, w którym ładunek ujemny gromadzi się na N(3) oraz do dianionu o strukturze izoalloksazynowej z ujemnymi ładunkami przy N(1) oraz N(3). Z kolei przy pH powyżej 14 forma monoanionowa lumichromu całkowicie przekształca się w dianion o strukturze izoalloksazynowej (112). Obecność różnych form strukturalnych lumichromu przekłada się również na zmianę przebiegu widm absorpcji w zależności od pH. Dla formy kationowej lumichromu stwierdzono maksimum absorpcji przy 395 nm oraz słabe pasmo przy około 480 nm, które autorzy przypisują obecności formy kationowej: LCH_3^{2+} (**Rysunek 21**) (112,113). Porównując dane dotyczące równowag kwasowo-zasadowych dla dyskutowanych w tej pracy pochodnych 5-dezaalloksazyny (*podrozdział 4.7*) oraz przedstawionych w pracy (114) dla 9-metylo-5-dezaalloksazyny oraz 10-etylo-5-dezaizoalloksazyny, dla których w wyniku braku atomu azotu w pozycji 5 pierścienia alloksazynowego nie obserwuje się podobnych efektów,

można postulować słuszność przedstawionego twierdzenia dotyczącego obecności pasma absorpcji przy ok. 480 nm w widmie formy kationowej lumichromu. W warunkach pH, w których dominuje udział formy neutralnej lumichromu (LCH, **Rysunek 21**) odnotowano obecność dwóch pasm w długofalowej części widma absorpcji, których maksima są zlokalizowane przy około 400 nm i 355 nm. W miarę podwyższania pH, w warunkach zasadowych, obserwuje się wzrost absorbancji pasma przy około 445 nm, który został zinterpretowany jako efekt utworzenia 7,8-dimetyloizoalloksazyny (IAH, **Rysunek 21**). Ciekawe porównanie zostało zastosowane dla widm absorpcji lumichromu dla $\text{pH} > 14$ z widmem absorpcji lumiflawiny. Odnotowano zbliżony kształt pomiędzy widmami, stąd przypisanie formy dianionu izoalloksazynowego dla tych warunków pH (112). W stanie wzbudzonym stwierdzono, iż w silnie kwasowych warunkach pH forma neutralna lumichromu przekształca się w kation wskutek przyłączenia protonu pochodzącego z jonu H_3O^+ , jednakże autorzy nie zaobserwowali żadnej fotoindukowanej tautomerizacji lumichromu w tych warunkach pH (np. do formy izoalloksazynowej). Wykazano, iż fluorescencja kationu lumichromu jest silnie wygaszana wskutek wewnątrzcząsteczkowego diabatycznego przeniesienia ładunku i relaksacji stanu wzbudzonego przez energię potencjalną związaną z frakcją cząsteczek znajdujących się w stanie podstawowym. Zidentyfikowana została również fluorescencja pochodząca od monoanionu lumichromu N(3) oraz dianionu o strukturze izoalloksazynowej (112). Na podstawie pomiarów stacjonarnych oraz czasowo-rozdzielczych ustalone zostały przez Tyagi zależności strukturalne dla cząsteczki lumichromu, które przedstawiono na **Rysunku 21**. Inne doniesienia literaturowe wskazują, iż najbardziej prawdopodobnym miejscem protonowania cząsteczki lumichromu w stanie podstawowym jest atom azotu N(10), natomiast równowaga pomiędzy formą protonowaną a neutralną ustala się przy $\text{pK}_a = -0.38$ (112,115). W bardziej zasadowych warunkach pH stwierdzono równowagę pomiędzy formą neutralną a monoanionami, przy czym postuluje się, iż monoaniony o strukturze alloksazynowej z ładunkami ujemnymi przy N(1) oraz N(3) powstają w tym samym momencie ($\text{pK}_a = 8.28$) (32,112,116). Z kolei forma dianionowa została zidentyfikowana przy $\text{pK}_a = 12.9$ jako równowaga pomiędzy monoanionem N(3) a dianionem (22). Odnotowano znaczne różnice zarówno w widmach absorpcji jak i emisji pomiędzy poszczególnymi formami lumichromu, dla przykładu widma absorpcji formy anionowej są zbliżone do absorpcji anionów izoalloksazynowych, natomiast absorpcja kationu lumichromu jest zbliżona do absorpcji kationów izoalloksazynowych (115).



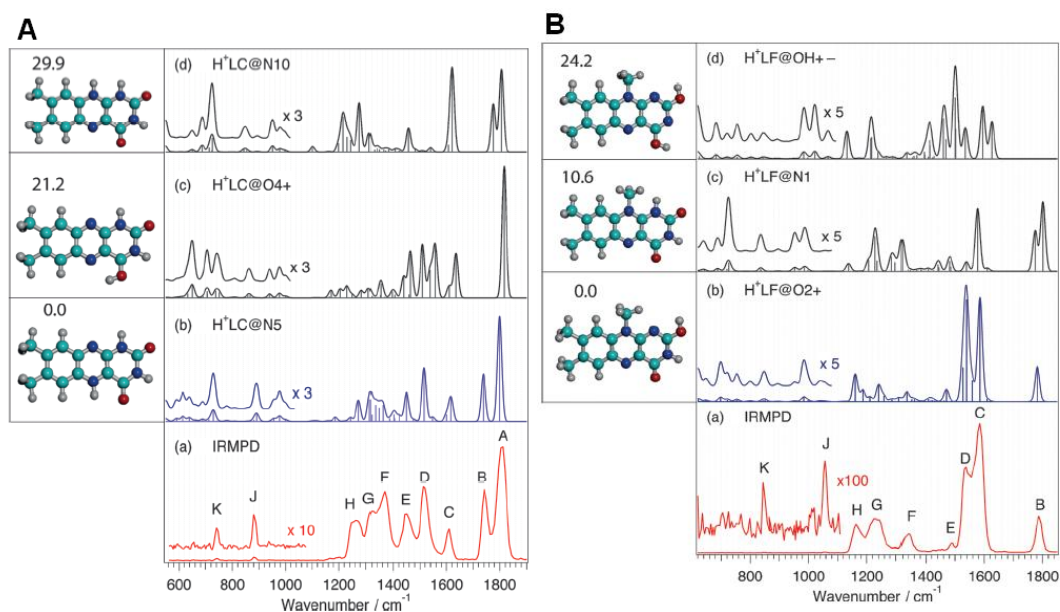
Rysunek 21. Zależności strukturalne lumichromu w różnych warunkach pH, na podstawie (112).

W innej pracy, równowagi kwasowo – zasadowe dla lumichromu oraz jego metylowych pochodnych: 1-metylo-, 3-metylo- oraz 1,3-dimetylo- były badane przy wykorzystaniu technik spektroskopowych (z uwzględnieniem synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej, jak również spektroskopii stacjonarnej oraz czasowo-rozdzielczej), a także metodami teoretycznymi DFT (PBE0/6-31G(d)) (28).

Badania teoretyczne przeprowadzone dla lumiflawiny pokazały, iż w stanie podstawowym najbardziej preferowanym miejscem protonowania cząsteczki jest atom azotu N(1), natomiast we wzbudzonym stanie singletowym oraz trypletowym protonownie atom azotu N(5) powoduje największą stabilizację (74,113,117). Okazuje się, że protonowanie pozycji N(5) odgrywa istotną rolę podczas wielu reakcji fotochemicznych, w których bierze udział lumiflawina i które są inicjowane niebieskim światłem. Obliczenia energii wzbudzeń dla protonowanych form lumiflawiny przy N(1) oraz N(5), a także dla formy anionowej, w której ładunek ujemny gromadzi się na N(3) wykonane metodami DFT/MRCI pozostają w dużej zgodności z widmami absorpcji poszczególnych form strukturalnych lumiflawiny.

Zauważono, że widmo absorpcji anionowej formy lumiflawiny jest bardzo zbliżone do widma neutralnej formy tej cząsteczki, natomiast wyraźne różnice zostały odnotowane dla widma absorpcji formy kationowej N(1) w porównaniu do formy neutralnej. Do głównych aspektów różnicujących zalicza się wyraźne niebieskie przesunięcie pierwszego pasma oraz czerwone przesunięcie drugiego pasma w długofalowej części widma absorpcji (74).

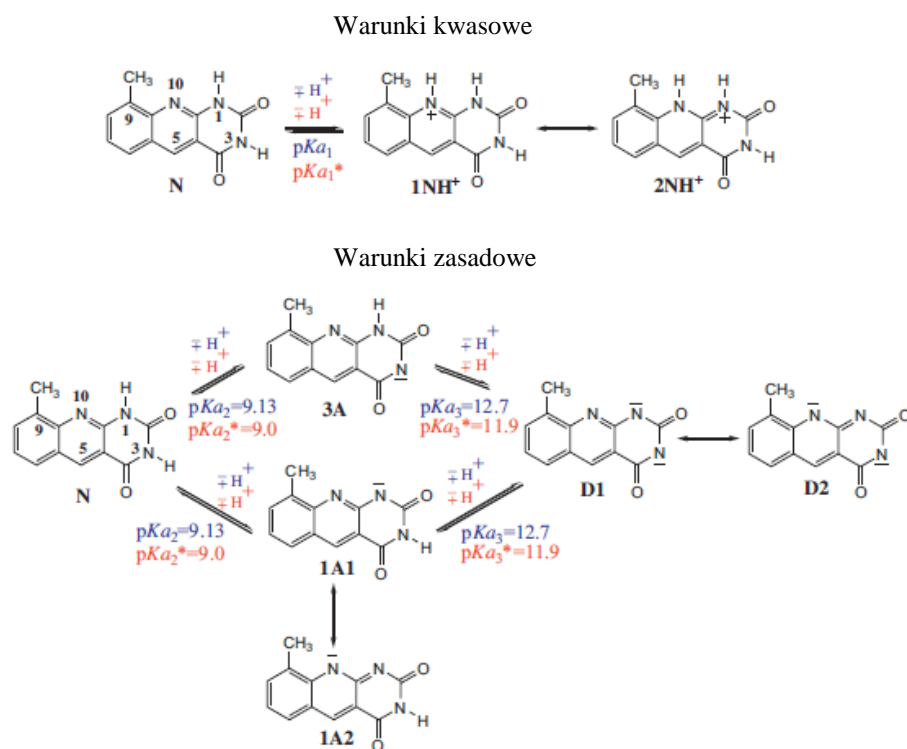
Problem najbardziej prawdopodobnego miejsca protonacji w cząsteczce lumichromu, lumiflawiny oraz bardziej złożonych flawin, jak na przykład ryboflawiny, został poddany dodatkowym badaniom przy wykorzystaniu spektroskopii w zakresie podczerwieni (IRMPD – *ang. multiple-photon dissociation IR spectroscopy*) w połączeniu z obliczeniami kwantowo-chemicznymi metodami DFT (118). Rezultaty obliczeń teoretycznych przyrównane do danych eksperymentalnych dla wyizolowanych form protonowanych lumichromu oraz lumiflawiny zostały przedstawione na **Rysunku 22**. Uzyskano zadowalającą zgodność pomiędzy obliczonymi na drodze teoretycznej możliwymi strukturami protonowanego lumichromu oraz lumiflawiny z uzyskanym widmem IR. Okazuje się, iż w przypadku lumichromu najbardziej stabilną jest sytuacja, gdy sprotonowaniu ulega atom azotu N(5), natomiast w przypadku lumiflawiny najbardziej faworyzowane jest protonowanie karbonylowego atomu tlenu przy atomie węgla C(2) oraz utworzenie tautomeru z N(1) (118).



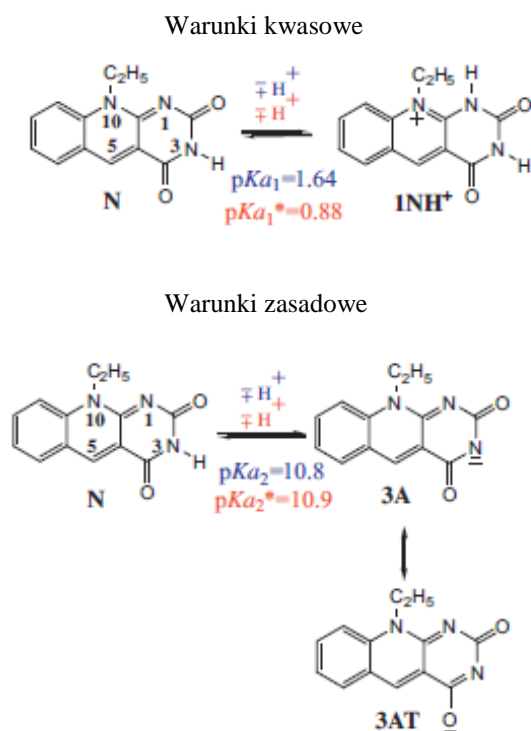
Rysunek 22. (A) Widmo IRMPD protonowanego lumichromu (a) porównane z liniowymi widmami IR wyznaczonymi na podstawie obliczeń B3LYP/cc-pVDZ dla trzech najbardziej stabilnych izomerów: $H^+LC@N5$ (b), $H^+LC@O4^+$ (c), and $H^+LC@N10$ (d); (B) Widmo IRMPD protonowanej lumiflawiny (a) porównane z liniowymi widmami IR najbardziej stabilnych izomerów uzyskanych na podstawie obliczeń B3LYP/cc-pVDZ: $H^+LF@O2^+$ (b), $H^+LF@N1$ (c), and $H^+LF@OH^{+-}$ (d); na podstawie (118).

Równowagi protonacji - deprotonacji ustalające się w roztworach wodnych dla 9-metylo-5-deazaalloksazyny oraz 10-etylo-5-deazaizoalloksazyny zostały zdefiniowane w stanach podstawowym i wzbudzonym przy użyciu absorpcji, emisji – zarówno stacjonarnej jak i czasowo rozdzielczej oraz przy zastosowaniu specjalnej odmiany spektroskopii luminescencyjnej, mianowicie synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej (114). W przypadku 9-metylo-5-deazaalloksazyny, w kwasowych i obojętnych warunkach pH, dominuje forma neutralna (pH 1.2 – 9), dla której czas życia fluorescencji wynosi 30.8 ns. W zasadowych warunkach pH zostało zidentyfikowanych kilka form anionowych, w mniej alkalicznych roztworach (pH 8 – 12) dominują formy monoanionowe: o strukturze alloksazynowej z ładunkiem ujemnym na atomie azotu N(3) oraz drugi – z ładunkiem ujemnym na atomie N(1), który może tautomeryzować już w stanie podstawowym do formy izoalloksazynowej. W przypadku monoanionu alloksazynowego N(3) czas życia fluorescencji wynosi 16 ns, natomiast dla monoanionu o strukturze izoalloksazynowej 7.8 ns. W bardzo alkalicznych roztworach (pH > 12) zidentyfikowano obecność jednej formy, mianowicie dianionu o strukturze izoalloksazynowej, dla którego czas życia fluorescencji wynosi 9.2 ns. Wyznaczone wartości pK_a oraz pK_a^* są zbliżone do siebie i wynoszą odpowiednio 9.13 oraz 9.0 dla przejścia od formy neutralnej do monoanionów oraz 12.7 i 11 dla przejścia z form

monoanionowych do dianionu (114). Ze względu na brak wyraźnej absorpcji oraz fluorescencji formy kationowej 9-metylo-5-dezaalloksazyny w stosowanych warunkach pH nie zostały wyznaczone wartości pK_a oraz pK_a^* dla przejścia od formy kationowej do neutralnej. Równowagi pomiędzy różnymi formami strukturalnymi w zależności od pH dla 9-metylo-5-dezaalloksazyny zostały przedstawione na **Rysunku 23**. Nieco inaczej przedstawiają się równowagi protonacji / deprotonacji dla 10-etylo-5-dezaizoalloksazyny, jako pochodnej o strukturze 5-dezaflawiny. W tym przypadku forma kationowa została zidentyfikowana przy $pH < 2$, a ładunek dodatni gromadził się na atomie azotu N(10) ze względu na sprotonowanie atomu azotu N(1) i zmianę konfiguracji elektronowej na alloksazynową w stanie podstawowym. Przy wyższych wartościach pH znaleziono obecność formy neutralnej 10-etylo-5-dezaizoalloksazyny, która w przedziale pH 11 – 13 ulegała deprotonacji przy N(3) przechodząc w monoanion 10-etylo-5-dezaizoalloksazyny. Wyznaczono wartości pK_a oraz pK_a^* odpowiednio dla przejścia z formy kationowej do neutralnej: 1.84 oraz 0.88. W przypadku przejścia z formy neutralnej do monoanionu odpowiednie wartości wynoszą 10.8 oraz 10.9 (114). Postulowane formy strukturalne 10-etylo-5-dezaizoalloksazyny wraz z równowagami ustalającymi się pomiędzy nimi przedstawiono na **Rysunku 24**.



Rysunek 23. Równowagi protonacji / deprotonacji dla 9-metylo-5-dezaalloksazyny w różnych warunkach pH, na podstawie (114).

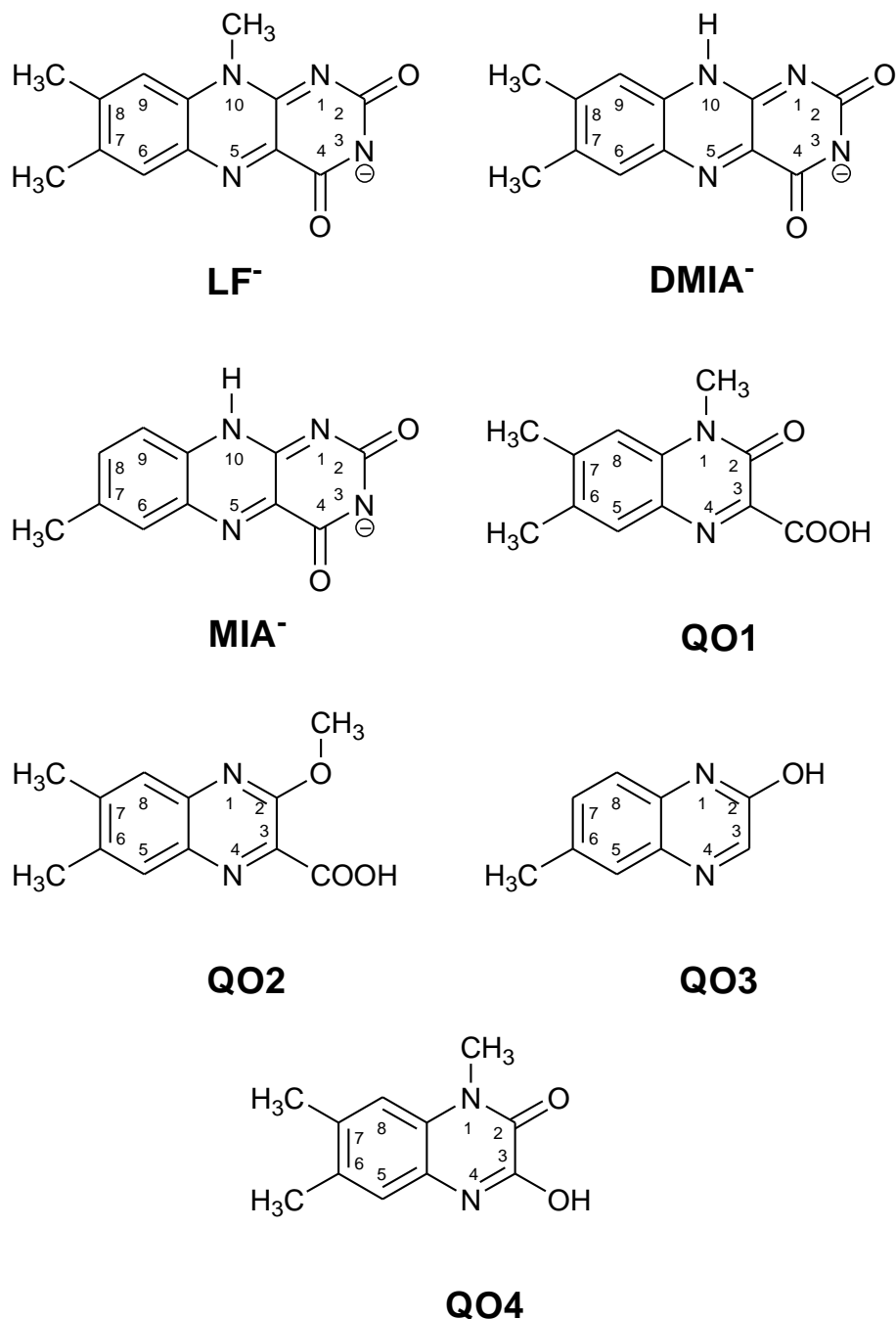


Rysunek 24. Równowagi protonacji / deprotonacji dla 10-etylo-5-deazaizalloksazyny w różnych warunkach pH, na podstawie (114).

Wśród związków ze strukturą izoalloksazynową badania równowag kwasowo-zasadowych w roztworach wodnych zostały przeprowadzone między innymi dla ryboflawiny (119) oraz lumiflawiny (57). Na podstawie badań absorpcyjnych stwierdzono, iż ryboflawina w roztworach o $\text{pH} < 0.4$ występuje w formie kationowej. Natomiast w przedziale $\text{pH} 0.4 - 9.75$ dominuje forma neutralna, natomiast powyżej $\text{pH} = 9.75$ zaczynają powstawać formy anionowe zbliżone strukturalnie do przedstawionych na **Rysunku 24** dla 10-etylo-5-deazaizalloksazyny (119).

Wykorzystanie reakcji protonacji / deprotonacji pochodnych flawin znalazło także szereg zastosowań praktycznych, głównie w badaniu układów biologicznych. Do przykładowych można zaliczyć badania form strukturalnych lumichromu powstałych w efekcie oddziaływania tej cząsteczki z białkami albuminy surowicy ludzkiej oraz β -cyklodekstryną. W roztworach wodnych o różnym pH odnotowano, iż w obecności białek albuminy surowicy ludzkiej następuje wzrost absorbancji przy około 450 nm. Zidentyfikowano, iż w tych warunkach możliwe jest utworzenie kompleksu z lumichromem o stechiometrii 1:1, w którym głównie uczestniczy monoanion lumichromu oraz białka albuminy surowicy ludzkiej. Jednak podobnych zmian nie obserwuje się w przypadku dodania β -cyklodekstryny – tutaj postulowana jest obecność formy neutralnej lumichromu, która ulega skompleksowaniu z β -

cyklodekstryną. Powstający kompleks również posiada stechiometrię 1:1. Zmierzone zaniki fluorescencji dla kompleksów lumichromu z β -cyklodekstryną w zadowalającym stopniu opisuje funkcja monoeksponencjalna natomiast w przypadku kompleksu z białkami albuminy surowicy ludzkiej uwidacznia się bieksponencjalny zanik fluorescencji z czasami życia odpowiednio 0.83 ns oraz 0.14 ns (120).



Rysunek 25. Struktury produktów hydrolizy lumiflawiny w obecności wodorotlenku sodu: LF⁻ (anion lumiflawiny), DMIA⁻ (anion 7,8-dimetyloizalloksazyny), MIA⁻ (anion 7-metyloizalloksazyny), QO1 (kwas 1,2-dihydro-2-keto-1,6,7-trimetylochinosalino-3-karboxyowy), QO2 (kwas 2-metoksy-6,7-dimetylochinosalino-3-karboxyowy), QO3 (6-metylo-chinoksalin-2-ol), QO4 (3-hydroksy-1,6,7-trimetylo-1H-chinoksalin-2-on); na podstawie (121).

W innych badaniach przeprowadzonych dla lumiflawiny w roztworach wodorotlenku sodu o różnym stężeniu udowodniono, iż ta cząsteczka nie jest trwała w alkalicznych warunkach pH. Pod wpływem wodorotlenku sodu o stężeniach odpowiednio: 1M, 2M oraz 4M ulega z różną szybkością hydrolizie, dając produkty, które zostały przedstawione na **Rysunku 25**. Proponowane struktury produktów hydrolizy lumiflawiny zostały zaproponowane na podstawie pomiarów absorpcyjnych, fluorescencyjnych oraz spektrometrii masowej. Szybkość hydrolizy wzrastała wraz ze wzrostem stężenia NaOH (121).

2.7. Efekty solwatochromowe dla flawin

Cząsteczki izo- i alloksazyn są interesującymi układami modelowymi również w badaniach efektów solwatochromowych oraz w określaniu zdolności do formowania wiązań wodorowych zarówno pomiędzy sobą, co ma miejsce głównie w ciele stałym jak również pomiędzy cząsteczkami rozpuszczalnika a alloksazyną. W cząsteczkach alloksazyn są obecne zarówno ugrupowania protonodonorowe jak i protonoakceptorowe.

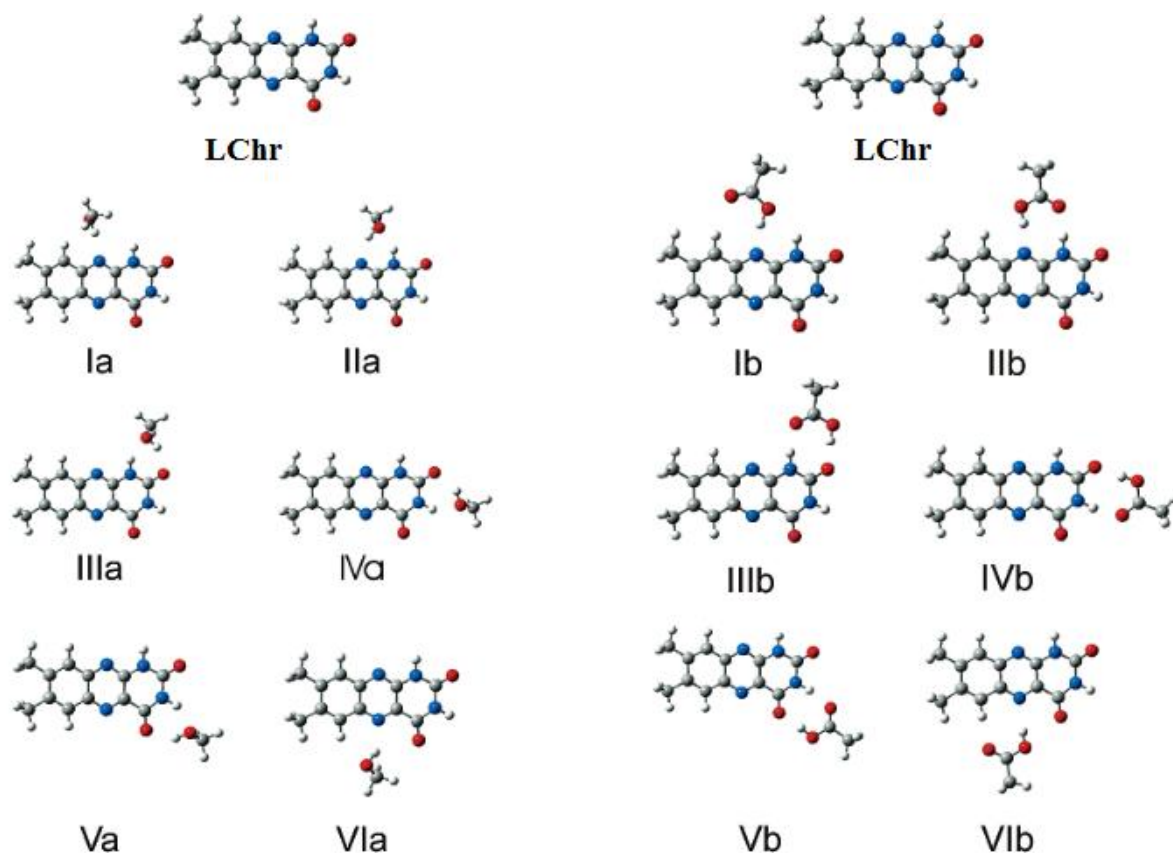
Badania przeprowadzone dla lumichromu oraz jego metylowych pochodnych, wliczając w to 1-metylolumichrom, 3-metylolumichrom oraz 1,3-dimetylolumichrom w 1,2-dichloroetanie przy zastosowaniu miareczkowania DMSO (jako substancji będącej akceptorem wiązania wodorowego) wskazują, że jednym z ważnych ugrupowań w cząsteczce lumichromu, który odpowiada za utworzenie wiązań wodorowych jest grupa N(1)-H. Z kolei zastosowanie 1,1,1,3,3,3-heksafluoroizopropanolu (donor atomu wodoru) pozwoliło stwierdzić, iż obserwowane zmiany w widmach absorpcji lumichromu w miarę wzrastającego stężenia 1,1,1,3,3,3-heksafluoroizopropanolu pochodzą od utworzenia wiązania wodorowego w pozycji N(10) cząsteczki lumichromu. W tym przypadku możliwe jest również utworzenie wiązań wodorowych z karbonyłowymi atomami tlenu obecnymi przy atomach C(2) oraz C(4), jednakże w tym przypadku nie zaobserwowano żadnych zmian w widmach absorpcji. Dodatkowo, pozycja N(5) w cząsteczce lumichromu może działać jako akceptor wiązania wodorowego, jednak ze względu na stosunkowo niską zasadowość w tym rejonie wydaje się mało prawdopodobna możliwość utworzenia wiązania wodorowego w tym miejscu (111).

W przypadku lumichromu stwierdzono, że położenie dwóch długofalowych pasm w widmach absorpcji jest uzależnione od rodzaju zastosowanego rozpuszczalnika. Wraz ze wzrastającą polarnością rozpuszczalnika zaobserwowano długofalowe przesunięcia obydwu pasm absorpcji połączone z hipochromowym efektem dla pierwszego pasma oraz efektem hiperchromowym dla drugiego pasma (36).

Z kolei analiza różnych parametrów spektralnych, takich jak maksima emisji oraz przesunięcia Stokesa w szerokiej skali rozpuszczalników o różnej polarności jak również zdolnościach protycznie – aprotycznych została przeprowadzona przy wykorzystaniu różnych skal polarności rozpuszczalników (19) oraz przy zastosowaniu skali polarności Δf opartej na równaniu Lipperta – Matagi. Wykazano praktycznie zupełny brak regularnego solwatochromizmu, stąd postuluje się występowanie oddziaływań specyficznych na linii lumichrom – rozpuszczalnik. Bardziej szczegółowa analiza przeprowadzona przy

wykorzystaniu skali $E_T(30)$ wskazała bardzo dobrą korelację z maksimami fluorescencji oraz wartościami przesunięcia Stokesa, co świadczy, iż solwatochromizm lumichromu w stanie wzbudzonym jest modyfikowany przez zdolności donorowe do tworzenia wiązań wodorowych przez rozpuszczalnik (kwasowość rozpuszczalnika), natomiast zasadowość rozpuszczalnika odgrywa jest mniej istotna (19). Dalsza analiza solwatochromowa przeprowadzona w oparciu o równanie Kamleta – Tafta potwierdza hipotezy postawione przy dyskusji efektów solwatochromowych opartych o skalę $E_T(30)$. Ponadto autorzy dowodzą, iż w stanie podstawowym mogą tworzyć się kompleksy oparte na wiązaniach wodorowych pomiędzy lumichromem a rozpuszczalnikami protycznymi, w których są zaangażowane zarówno strony donorowe jak i akceptorowe cząsteczki lumichromu, jednak w stanie wzbudzonym następuje faworyzowanie fluorescencji wyłącznie z tych układów, w których dominuje kwasowość rozpuszczalnika w tworzeniu wiązań wodorowych (19). Występowanie wiązań wodorowych pomiędzy cząsteczką lumichromu a rozpuszczalnikami tak w stanie podstawowym, jak i wzbudzonym jest częstym problemem poruszonym w literaturze przedmiotu (19,21,36,44,122). W ten sposób udowodniono, iż w przypadku roztworów lumichromu w rozpuszczalnikach protycznych obserwuje się czerowo-przesunięcia zarówno maksimów absorpcji jak i emisji, fluorescencja staje się bardziej uprzywilejowanym kanałem dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego w porównaniu do lumichromu rozpuszczonego w rozpuszczalnikach aprotycznych. Na **Rysunku 26** przedstawiono możliwe struktury kompleksów, które mogą utworzyć się pomiędzy lumichromem a metanolem lub kwasem octowym, angażując różne rejony cząsteczki lumichromu, tak protonowo-donorowe jak i protonowo-akceptorowe. Wykorzystując obliczenia teoretyczne stwierdzono, iż najsilniejsze wiązanie wodorowe tworzy się w przypadkach: IIIa (12.7 kcal/mol) oraz IIIb (17.3 kcal/mol), natomiast najsłabsze w przypadku kompleksów: Ia (7.8 kcal/mol) i IVb (10.9 kcal/mol), oznaczenia są zgodne z danymi przedstawionymi na **Rysunku 26** (122). Autorzy podkreślają, iż w rzeczywistych roztworach sytuacja powstawania wiązań wodorowych może nie być tak prosta jak przedstawiona na **Rysunku 26** ze względu na możliwość tworzenia kompleksów o innej stechiometrii niż 1:1 lub powstania agregatów, które znacznie komplikują obraz tworzenia wiązań wodorowych. Zgodnie z informacjami podanymi przez Koziolową i Szafrana zmiany w widmach absorpcji lumichromu w miarę dodawania kwasu octowego są spowodowane oddziaływaniem tej cząsteczki z atomem azotu N(10) lumichromu. Zgodnie z danymi przedstawionymi na **Rysunku 26**, w tej sytuacji najbardziej postulowane jest powstanie kompleksu o geometrii IIb (22,110,122). Obliczenia

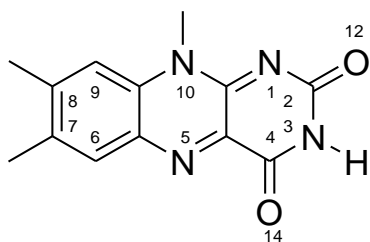
teoretyczne metodami DFT potwierdzają możliwość utworzenia kompleksu o takiej strukturze.



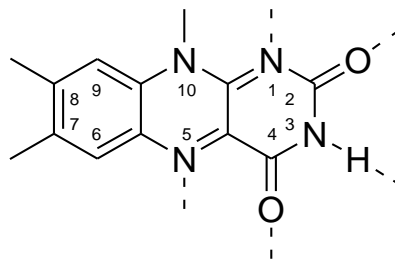
Rysunek 26. Możliwe struktury kompleksów lumichromu z metanolem (po lewej stronie) oraz z kwasem octowym (po prawej stronie); na podstawie (122).

Układami modelowymi do badania możliwości tworzenia wiązań wodorowych dla struktur izoalloksazynowych stały się pochodne ryboflawiny. Przy wykorzystaniu metod absorpcyjno – emisyjnych początkowo badaną pochodną rozpuszczono w tetrachlorometanie. W tych warunkach zostały zarejestrowane zarówno widma absorpcji jak i emisji, aby ukazać ich przebieg w sytuacji, gdy nie są tworzone wiązania wodorowe. Następnie dwa niezależne roztwory poddano miareczkowaniu kwasami: trichlorooctowym oraz trifluorooctowym. W miarę wzrostu stężenia zarówno kwasu trichlorooctowego jak i trifluorooctowego zaobserwowano, iż pierwsze maksimum absorpcji przesuwa się ku dłuższym falom wraz z niewielkim podwyższeniem absorbancji natomiast dalszy wzrost stężenia kwasu trichlorooctowego powoduje czerwone przesunięcie i maksimum absorpcji lokuje się w miejscu gdzie nie było efektu tworzenia wiązania wodorowego. Z kolei drugie, bardziej długofalowe pasmo absorpcji pochodnej ryboflawiny, przesuwa się wyraźnie w stronę długofalową niezależnie od zastosowanego kwasu. Rejestracja widm fluorescencji pochodnej

ryboflawiny w obecności zarówno kwasu trifluorooctowego jak i trichlorooctowego ukazała zjawisko wygaszania fluorescencji w miarę wzrostu stężenia kwasów.



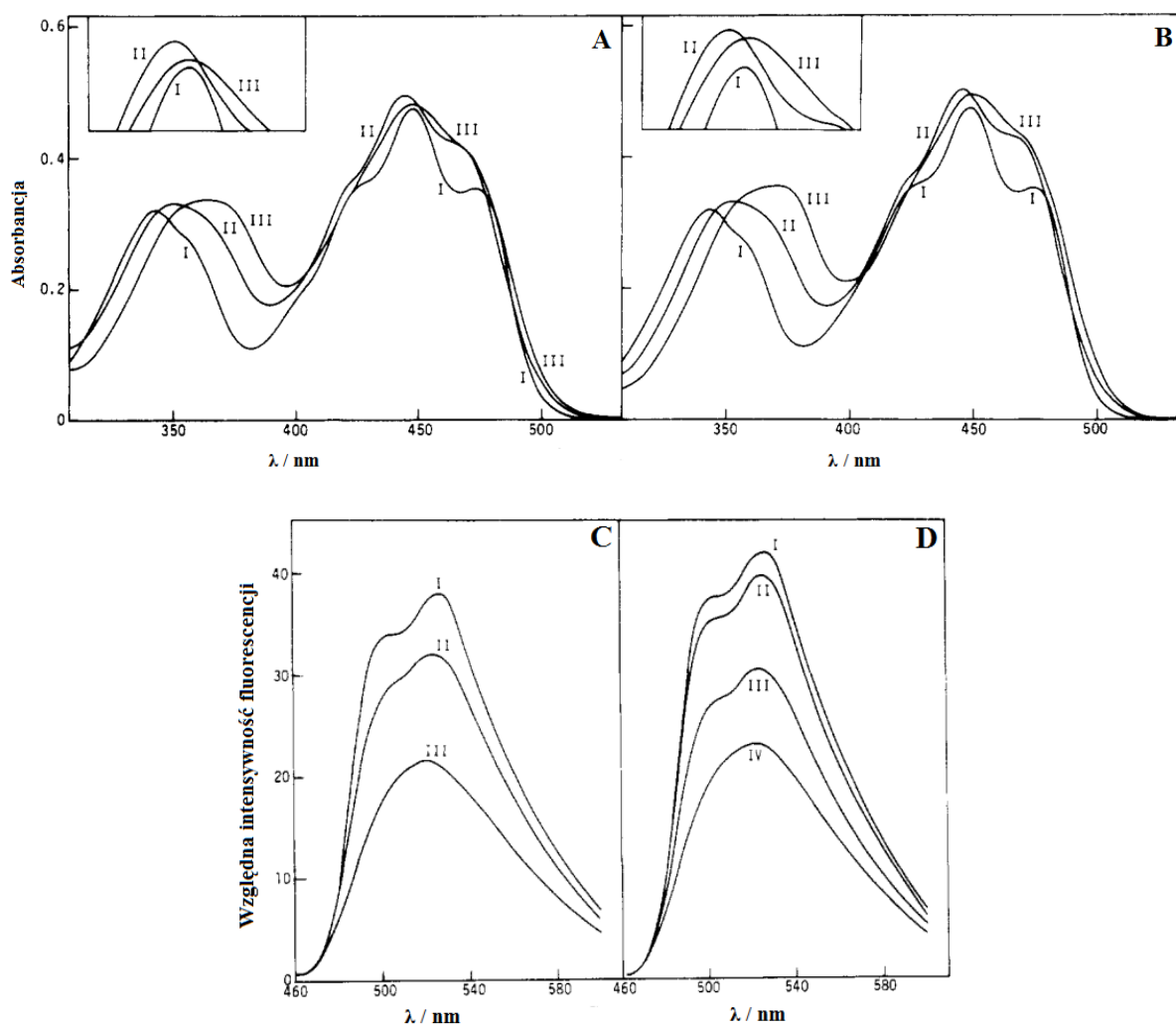
A. bez wiązań wodorowych



B. N(1), O(12), N(3)H, O(14), N(5) - wiązania wodorowe

Rysunek 27. (A) Struktura izoalloksazynowa bez uformowanych wiązań wodorowych, (B) schemat formowania wiązań wodorowych na heteroatomach izoalloksazyny, na podstawie (123).

Wyznaczone zostały stałe wygaszania fluorescencji przez kwas trichlorooctowy oraz trifluorooctowy z wartościami odpowiednio: 450 M^{-1} oraz 230 M^{-1} . Na podstawie obliczeń teoretycznych stwierdzono, iż dla układu izoalloksazynowego wiązania wodorowe z cząsteczkami wykorzystywanych kwasów tworzą się w sekwencji: brak wiązania wodorowego \rightarrow N(1)-wiązanie wodorowe \rightarrow N(1),O(12)-wiązanie wodorowe \rightarrow N(1),O(12),O(14)-wiązanie wodorowe \rightarrow N(1),O(12),N(3)H,O(14)-wiązanie wodorowe \rightarrow N(1),O(12),N(3)H,O(14),N(5)-wiązanie wodorowe (123,124). Odpowiednie oznaczenia heteroatomów biorących udział w wiązaniach wodorowych izoalloksazyny zostały pokazane na **Rysunku 27**. Przebieg widm absorpcji oraz emisji zarejestrowanych dla badanej pochodnej ryboflawiny w tetrachlorometanie w miarę wzrastającego stężenia kwasów trifluorooctowego oraz trichlorooctowego został przedstawiony na **Rysunku 28**.



Rysunek 28. Widma absorpcji pochodnej ryboflawiny w tetrachlorometanie w obecności kwasu trichlorooctowego (**A**) oraz kwasu trifluorooctowego (**B**), stężenia kwasów wynoszą odpowiednio: 0 M (I), 10^{-3} M (II), 10^{-2} M (III). Widma emisji zarejestrowane dla pochodnej ryboflawiny w tetrachlorometanie w funkcji wzrastającego stężenia kwasu trichlorooctowego, stężenia wynoszą odpowiednio: 0 M (I), 0.0005 M (II), 0.002 M (III) (**C**) oraz kwasu trifluorooctowego, stężenia wynoszą odpowiednio: 0 (I), 0.0001 M (II), 0.001 M (III), 0.004 M (IV) (**D**), na podstawie (123).

2.8. Synchroniczna spektroskopia fluorescencyjna (SSF) jako technika badawcza stosowana w badaniach luminescencyjnych

Synchroniczna spektroskopia fluorescencyjna jest metodą komplementarną w stosunku do klasycznych pomiarów emisyjnych polegających na rejestracji widm fluorescencji oraz wzbudzenia emisji. Została wprowadzona przez Lloyd w 1971 roku (125). W czasie rejestracji widm fluorescencji następuje skanowanie monochromatora toru emisji przy określonej długości fali promieniowania wzbudzającego próbkę (λ_{exc}). Natomiast widmo wzbudzenia powstaje na drodze skanowania monochromatora toru wzbudzenia przy ustalonej długości fali emisji (λ_{em}). Widma synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej (SSF) stanowią swego rodzaju połączenie widm emisji oraz wzbudzenia, powstają, bowiem na drodze jednoczesnego (synchronicznego) skanowania monochromatora toru emisji i wzbudzenia z zadaniem przesunięciem pomiędzy obszarem wzbudzenia i emisji, tzw. offsetem ($\Delta\lambda$). Ważnym aspektem podczas rejestracji widm SSF jest dobór wartości $\Delta\lambda$. Generalnie przyjmuje się, że im mniejsza wartość przesunięcia Stokes'a, tym $\Delta\lambda$ powinno być mniejsze. Intensywność widma SSF (ozn. I_s) jest proporcjonalna między innymi do stężenia analizowanej próbki (c), którą można wyrazić następującą zależnością (125,126):

$$I_s = KcbEx(\lambda_{exc})Em(\lambda_{exc} + \Delta\lambda) \quad (4)$$

Gdzie: c – stężenie analizowanej próbki; Ex – intensywność widma wzbudzenia przy ustalonej λ_{exc} ; Em – intensywność widma emisji przy $\lambda_{exc} + \Delta\lambda$; b – długość drogi optycznej
 K – stała opisująca parametry instrumentalne, takie jak geometria układu

Ze względu na zwiększoną czułość oraz lepszą selektywność widm SSF w porównaniu do konwencjonalnych widm emisji, wykorzystując tą technikę luminescencyjną można uzyskać dobrze rozdzielone pasma w badanym zakresie UV/Vis oraz znaleźć dodatkowe informacje dotyczące fluorescencji różnych składników obecnych w badanym układzie, które nie zawsze są możliwe do wykrycia na drodze zastosowania klasycznych widm fluorescencji lub widm wzbudzenia, np. ze względu na zbyt blisko położone pasma fluorescencji dwóch różnych składników, które w efekcie powodują złożenie widma fluorescencji, obserwowane w postaci pojedynczego pasma. Stosując synchroniczną spektroskopię fluorescencyjną istnieje większe prawdopodobieństwo identyfikacji kilku różnych indywidualów emitujących promieniowanie, bądź określenia równowagi, która ustala się pomiędzy nimi. Stąd wyłaniają się trzy

najważniejsze punkty charakteryzujące widma synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej: (i) zwężenie widm SSF w porównaniu do klasycznych widm fluorescencji, (ii) uproszczenie widm emisji polegające na możliwości selektywnego podwyższania intensywności pasm przy zastosowaniu odpowiedniego $\Delta\lambda$, natomiast w klasycznych pomiarach spektrofluorymetrycznych przy zadanej λ_{exc} następuje wzrost intensywności wszystkich pasm w widmach emisji; (iii) możliwość bardzo dużego zawężenia obszaru pomiarowego widma, co może być bardzo przydatne z analitycznego punktu widzenia, gdy jest prowadzona analiza wyłącznie wybranych składników mieszaniny (127-130).

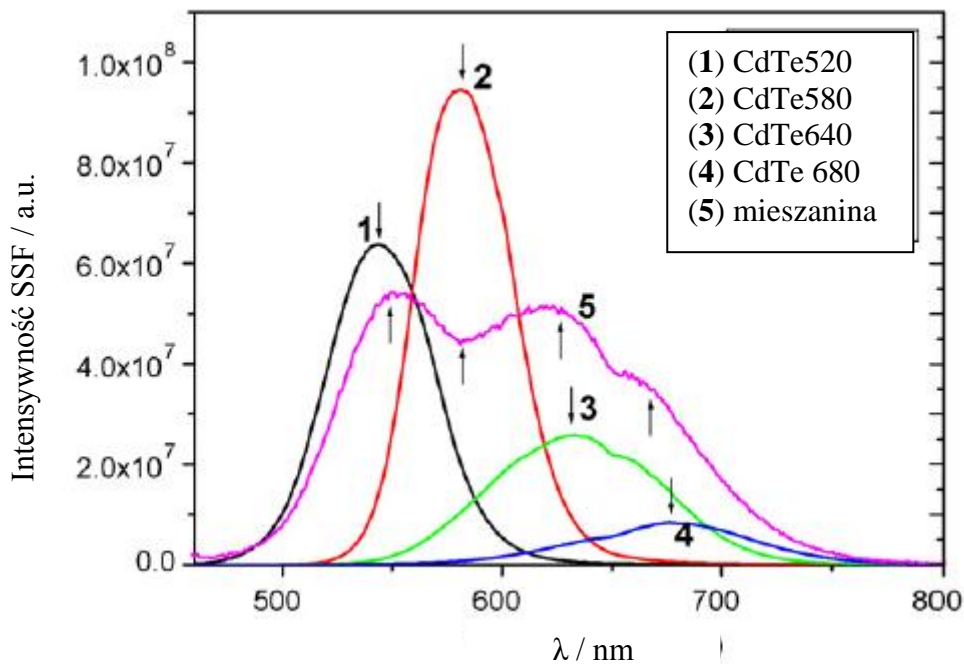
Synchroniczna spektroskopia fluorescencyjna to technika spektroskopowa, która znalazła liczne zastosowania zarówno praktyczne jak i w badaniach o charakterze podstawowym. Do pierwszej grupy zastosowań można zaliczyć użycie w badaniach żywności, np. oleje, piwa (131,132) jak również przy analizie produktów ropopochodnych i naftowych (133-136). W tym obszarze SSF zastosowano w celu analizy ilościowej nisko-temperaturowych frakcji aromatycznych smoły pochodzącej z węgla kamiennego (137). Użyteczność synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej została również pokazana dla opisu związków znajdujących się w próbkach, dla których nie jest znana fluorescencja pozostałych składników w niej zawartych, na przykładzie kwasu gentyzynowego oraz salicylowego (138). Widma SSF znalazły również zastosowanie w badaniach podstawowych prowadzonych w naszej grupie badawczej. Przy użyciu tej techniki udało się, między innymi, określić równowagi reakcji protonacji / deprotonacji oraz zdefiniować różne formy strukturalne obecne w roztworach w zależności od pH dla wybranych czwartorzędowych soli hydroksystilbazoliowych, lumichromu i jego wybranych monometylowych pochodnych, 9-metylo-5-deazaizoaloksazyny oraz 10-etylo-5-deazaizoaloksazyny jak również określić emisję ze stanów singletowych S_2 oraz S_1 dla porfirazyn siarkowych z rozbudowanymi podstawnikami peryferyjnymi (28,114,139-141).

Ciekawą formą zastosowań stała się analiza wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w roztworach i różnych układach złożonych bez zastosowania procedur ich wcześniejszego rozdzielania (np. chromatograficznych). Przy zastosowaniu SSF udało się jednocześnie oznaczyć w roztworze wodnym obecność benzo[a]pirenu, terylenu oraz chryzenu (127,142). Zastosowanie techniki SSF w połączeniu z różnymi trybami skanowania synchronicznego (*ang. nonlinear variable-angle* oraz *matrix-isopotential*) okazało się również pomocne w czasie analizy zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych obecnych w różnych gatunkach herbaty, wliczając tu oznaczenie: benzo[a]pirenu, benzo[k]fluorantenu oraz antracenu (143). Jest to istotnie ważne zadanie ze względu na

kancerogenność wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, stąd konsument herbaty może być narażony na negatywne skutki oddziaływania tej grupy związków na organizm człowieka. Zastosowanie techniki SSF w tym przypadku wyeliminowało konieczność przeprowadzania oczyszczania lub stosowania metod chromatograficznych do wydzielenia interesujących składników. Z kolei użycie klasycznych pomiarów fluorescencyjnych prawdopodobnie nie pozwoliłoby na rzetelną analizę ze względu na znaczną liczbę fluoryzujących składników obecnych w matrycy. Rezultaty badań z zastosowaniem techniki SSF doskonale potwierdziły się w oznaczeniach z zastosowaniem chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią masową (143).

Technika synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej w połączeniu z wielowymiarową analizą statystyczną znalazła także zastosowanie w badaniach hodowli komórek zwierzęcych do określania bioprocessów zachodzących w rzeczywistym czasie (144). Również w przypadku takich układów zostały wypunktowane zalety stosowania widm SSF nad klasyczną fluorescencją, do których zaliczono możliwość uzyskania pełnej informacji na temat kilku fluoryzujących składników obecnych w układzie w czasie rejestracji jednego widma z dobrą rozdzielczością oraz możliwość uzyskania danych w relatywnie krótkim czasie pomiarowym, a także bez konieczności ich wcześniejszej izolacji z próbki (144).

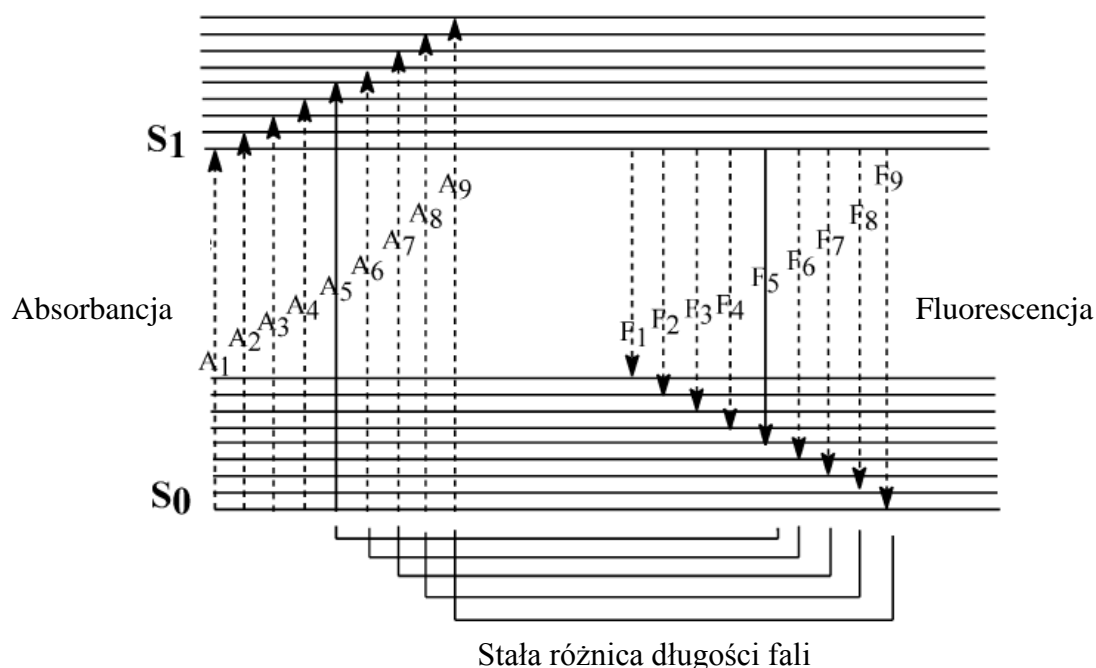
Widma SSF zostały również użyte do jednoczesnego oznaczania składników mieszaniny nieorganicznych półprzewodnikowych o różnych wielkościach i kształcie nanokryształów bez wcześniejszego wydzielenia z układu (145). Zauważono, że maksimum pasma w widmie synchronicznym jest uzależnione od wielkości i rozmiarów nanokryształów. Na **Rysunku 29** przedstawiono widma SSF dla czterech nanokryształów o różnym rozmiarze i kształcie. Na podstawie widma zarejestrowanego przy $\Delta\lambda = 200$ nm stwierdzono, iż wraz ze wzrostem wielkości nanocząstek, maksimum pasma SSF przesuwa się w kierunku długofalowym. Ponadto rejestracja widma SSF mieszaniny tych składników umożliwiła ich identyfikację w układzie, co zostało przedstawione również na **Rysunku 29**.



Rysunek 29. Widma SSF nanokryształów o różnym kształcie i wielkości (1-4) oraz ich mieszaniny (5) zarejestrowane przy $\Delta\lambda = 200$ nm; na podstawie (145).

Ciekawy sposób wyjaśnienia powstawania widm synchronicznych został zawarty w pracy (127). Autorzy odwołują się do prostego układu, w którym cząsteczka absorbująca promieniowanie jednocześnie ulega fluorescencji. Zmiana długości fali promieniowania wzbudzającego powoduje jedynie zmianę intensywności fluorescencji, nie powoduje natomiast zmiany kształtu i położenia pasma fluorescencji. Na przykładzie uproszczonego diagramu Jabłońskiego (**Rysunek 30**), bez uwzględniania innych dróg dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego poza fluorescencją, zostało pokazane, iż w sytuacji wzbudzenia cząsteczki w całym zakresie pasma absorpcji (poczynając od A_1 i kończąc na A_9), fluorescencja może zachodzić w obszarze długości fali od F_1 do F_9 . Sytuację oznaczoną na diagramie Jabłońskiego poprzez A_5 i F_5 opisano odpowiednio jako maksimum absorpcji oraz maksimum fluorescencji. Wybierając A_5 jako długość fali wzbudzenia otrzymuje się klasyczne widmo fluorescencji w zakresie długości fali od F_1 do F_9 , natomiast w sytuacji rejestracji widma wzbudzenia emisji wybiera się jako λ_{em} F_5 otrzymuje się widmo wzbudzenia w zakresie długości fali od A_1 do A_9 . W przypadku widm SSF pasmo jest obserwowane wówczas, gdy wybrany przedział długości fali ($\Delta\lambda$) dopasowuje się pomiędzy przedziałem jednego pasma absorpcji i jednego pasma emisji. W przypadku wybrania $\Delta\lambda$ jako przedziału $A_5 \sim F_5$ nie będzie widać żadnej fluorescencji do momentu, gdy monochromator toru wzbudzenia będzie na A_5 a fluorescencja na F_5 . Dopiero w dalszym ciągu, gdy cząsteczka

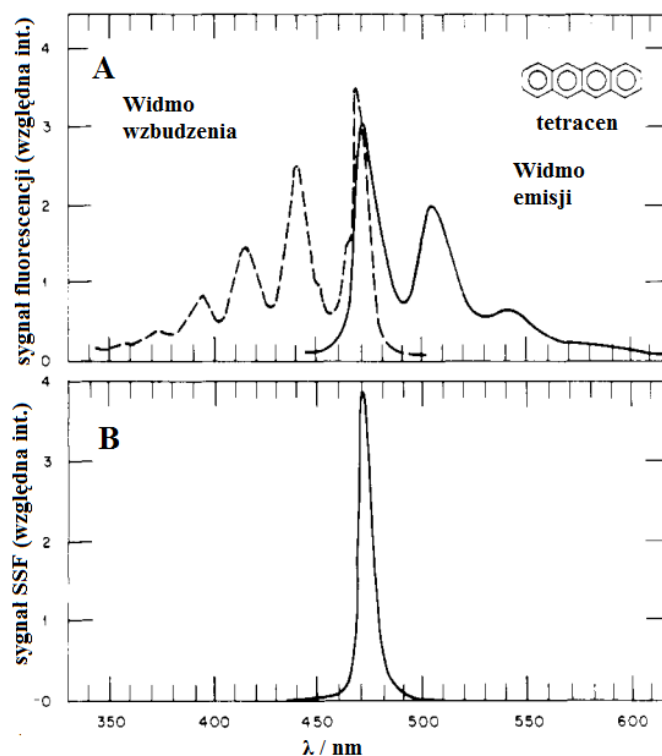
będzie wzbudzana przy $A_6 \dots A_9$ odpowiednie fluorescencje będą obserwowane przy $F_6 \dots F_9$ (127).



Rysunek 30. Uproszczony diagram Jabłońskiego przedstawiający idee powstawania widm synchronicznych, na podstawie (127).

W pomiarach eksperymentalnych, jedną z historycznie najlepiej ukazanych sytuacji zastosowań widm synchronicznych w porównaniu z widmami wzbudzenia oraz emisji, pokazano na przykładzie tetracenu w etanolu (129). Widmo emisji tetracenu w etanolu, zarejestrowane przy $\lambda_{\text{exc}} = 442$ nm, zawiera trzy wyraźnie odrębne pasma emisji z maksimumami przy 473 nm, 507 nm oraz 546 nm. Z kolei widmo wzbudzenia emisji tej cząsteczki w etanolu zarejestrowane przy $\lambda_{\text{em}} = 507$ nm odpowiada pasmom absorpcji z maksimumami przy 470 nm, 442 nm, 416 nm oraz 397 nm. Odnotowano niewielką wartość przesunięcia Stokesa, mianowicie 3 nm. Zarejestrowane widmo synchroniczne z $\Delta\lambda = 3$ nm zawiera jedno, wąskie pasmo z maksimum przy 473 nm (129). Taka niezwykła właściwość widma synchronicznego tetracenu w porównaniu do zarejestrowanego widma emisji została wyjaśniona poprzez ograniczający charakter iloczynu z dwóch prawie symetrycznych funkcji: $E_M(\lambda)$ oraz $E_X(\lambda')$, gdzie pierwsza z funkcji jest ograniczona w krótkofalowym zakresie, natomiast druga jest ograniczona w długofalowym zakresie, stąd pasmo w widmie synchronicznym, które jest efektem iloczynu tych dwóch funkcji, musi mieć ograniczoną szerokość spektralną (129). Porównanie widma emisji, wzbudzenia emisji oraz synchronicznego zostało przedstawione na **Rysunku 31**.

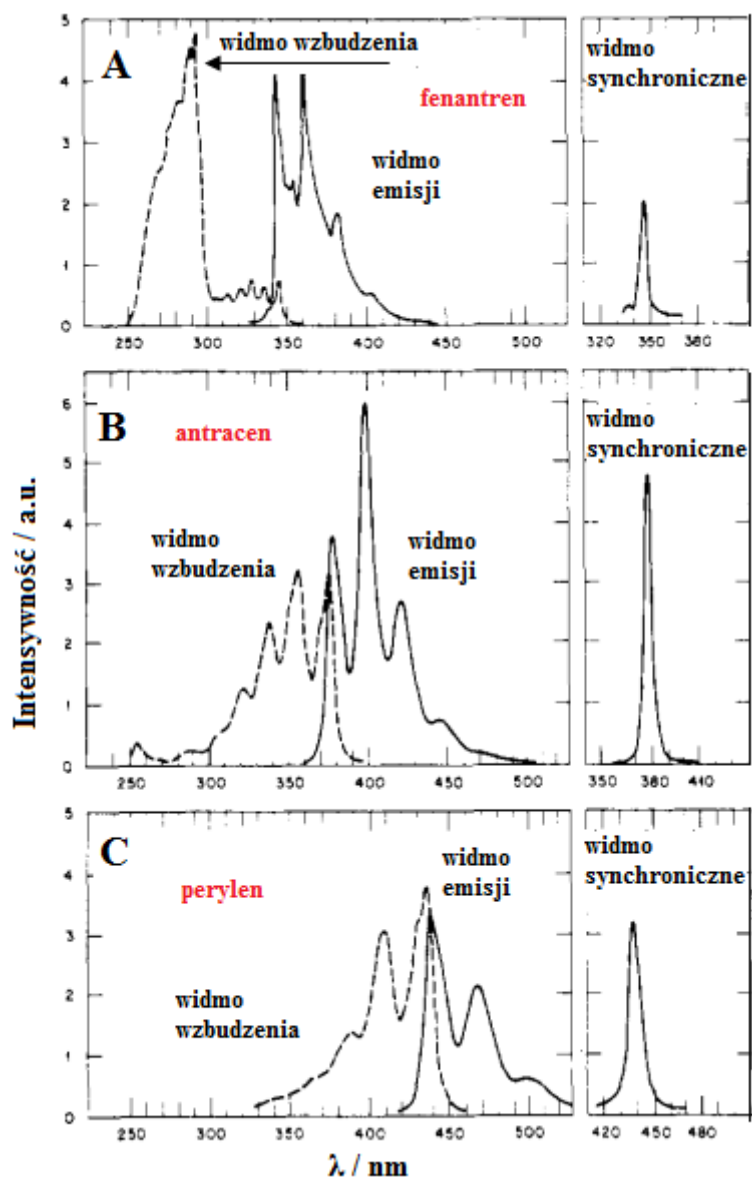
Ukazanie synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej jako relatywnie prostej techniki badawczej, która pozwala na analizę kilku związków fluoryzujących w jednym pomiarze została pokazana w pracy (146) na przykładzie bezpośredniego oznaczenia obecności antracenu i 2-metyloantracenu w płynie węglowym.



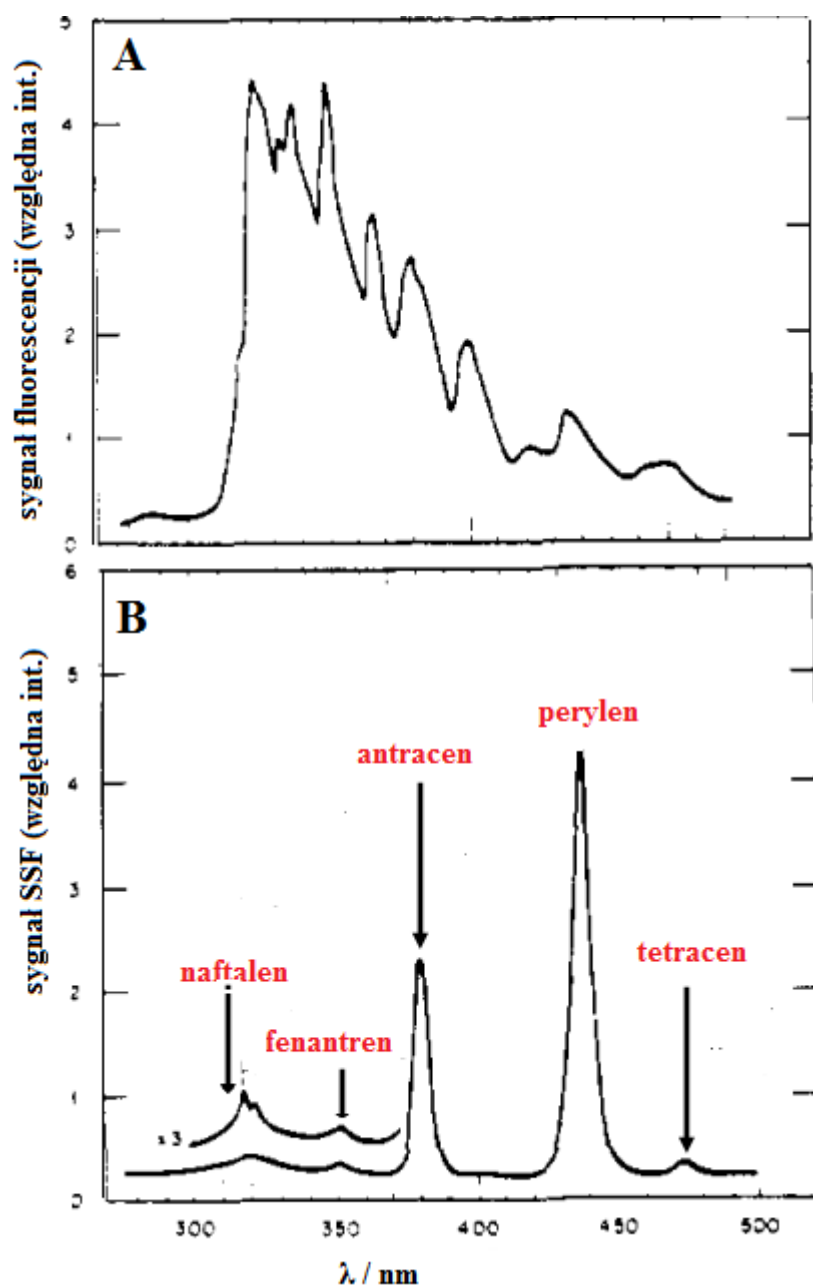
Rysunek 31. Widmo emisji ($\lambda_{\text{exc}} = 442 \text{ nm}$) oraz widmo wzbudzenia emisji ($\lambda_{\text{em}} = 507 \text{ nm}$) tetracenu w etanolu (A) porównane z widmem SSF ($\Delta\lambda = 3 \text{ nm}$) tej cząsteczki (B); na podstawie (129).

Jednym z literaturowych przykładów analizy mieszaniny wieloskładnikowej fluoryzujących komponentów został zawarty w pracy (129). Początkowa analiza polegała na zarejestrowaniu widm wzbudzenia emisji, fluorescencji oraz synchronicznych czystych składników, między innymi: fenantrenu, antracenu i perylenu (**Rysunek 32**). W widmach fluorescencji, w szerokim zakresie, stwierdzono obecność licznych pasm wibracyjnych, natomiast widma synchroniczne zarejestrowane z $\Delta\lambda = 3 \text{ nm}$ wskazały obecność jednego pasma, którego maksimum było zlokalizowane odpowiednio dla: fenantrenu (374 nm), antracenu (381 nm) oraz perylenu (440 nm). W dalszej kolejności (**Rysunek 33**) zarejestrowano widmo fluorescencji przy $\lambda_{\text{exc}} = 258 \text{ nm}$ dla mieszaniny składającej się z pięciu badanych związków rozpuszczonych w etanolu. Chociaż w widmie tym można odnaleźć szereg sygnałów, jednak analiza prowadząca do przypisania ich poszczególnym składnikom mieszaniny jest dość skomplikowana i raczej obarczona możliwością popełnienia błędu. Dopiero zastosowanie widma synchronicznego tej mieszaniny i porównanie odpowiednich pasm pojawiających się

w tym widmie z danymi uzyskanymi dla czystych składników (**Rysunek 32**) pozwoliło jednoznacznie ustalić skład mieszaniny fluoryzującej (129).



Rysunek 32. Widma: wzbudzenia emisji, fluorescencji oraz synchroniczne (A) fenantrenu; (B) antracenu; (C) perylenu w etanolu; na podstawie (129).



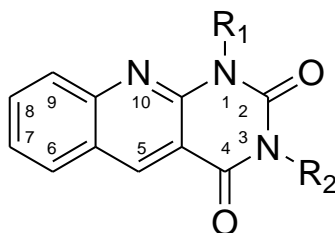
Rysunek 33. (A) Konwencjonalne widmo fluorescencji mieszanki naftalenu, fenantrenu, antracenu, perylenu i tetracenu w etanolu; (B) Widmo synchroniczne mieszanki tych składników w etanolu; na podstawie (129).

3: Część eksperymentalna

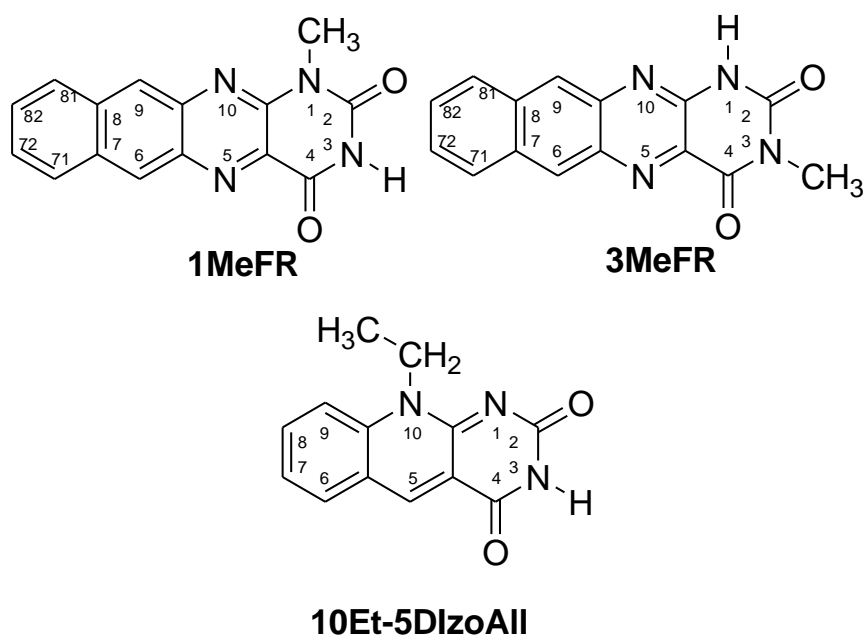
3.1. Wykaz badanych związków

W **Tabeli 5** oraz na **Rysunku 34** przedstawiono spis związków należących do pochodnych flawin i 5-deazaflawin, które były badane w ramach realizacji celów pracy doktorskiej. **Tabela 5** zawiera spis metylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny, z których zdecydowana większość była wykorzystana do obliczeń i modelowania teoretycznego. Połączenie badań eksperymentalnych i teoretycznych obejmowało następujące cząsteczki: (i) 5-deazaalloksazyna (5DAll), (ii) 8-metylo-5-deazaalloksazyna (8Me-5DAll), (iii) 9-metylo-5-deazaalloksazyna (9Me-5DAll), (iv) 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyna (13Me-5DAll), (v) 1,3,8-trimetylo-5-deazaalloksazyna (138Me-5DAll), (vi) 1,3,9-trimetylo-5-deazaalloksazyna (139Me-5DAll). Na **Rysunku 34** przedstawiono strukturę 10-etylo-5-deazaalloksazyny (10Et-5DAll), która stanowiła układ modelowy jako pochodna o strukturze deazaalloksazynowej zarówno w badaniach teoretycznych jak i eksperymentalnych. Podobnie, dwie kolejne cząsteczki: 1MeFR (1-metylonafto[2,3-*g*]pterydino-2,4(1*H*,3*H*)-dion) oraz 3MeFR (3-metylonafto[2,3-*g*]pterydino-2,4(1*H*,3*H*)-dion) stanowiły układy modelowe pozwalające ocenić wpływ dodatkowego, czwartego pierścienia aromatycznego na właściwości spektralne i fotofizyczne w porównaniu do klasycznych, trójpierścieniowych alloksazyn. W **Tabeli 6** przedstawiono spis pochodnych alloksazyny, w stosunku do których porównywano obliczenia teoretyczne i rezultaty eksperymentalne uzyskane dla analogicznych pochodnych 5-deazaalloksazyny. Ponadto, w niektórych punktach pracy wykorzystywano w badaniach eksperymentalnych lumichrom (LChr) oraz lumiflawinę (LFl), których struktury zostały przedstawione na **Rysunku 3**.

Tabela 5. Spis badanych pochodnych 5-deazaalloksazyny

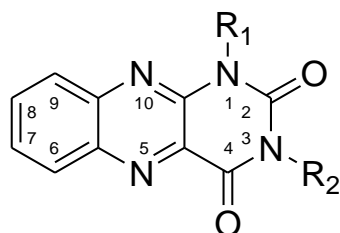


1.	R ₁ =H; R ₂ =H	5DAI1		
Monometylowe pochodne 5DAI1			Trimetylowe pochodne 5DAI1	
2.	N ₁ =-CH ₃	1Me-5DAI1	30.	N ₁ =-CH ₃ , N ₃ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ 135Me-5DAI1
3.	N ₃ =-CH ₃	3Me-5DAI1	31.	N ₁ =-CH ₃ , N ₃ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ 136Me-5DAI1
4.	C ₅ =-CH ₃	5Me-5DAI1	32.	N ₁ =-CH ₃ , N ₃ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃ 137Me-5DAI1
5.	C ₆ =-CH ₃	6Me-5DAI1	33.	N ₁ =-CH ₃ , N ₃ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃ 138Me-5DAI1
6.	C ₇ =-CH ₃	7Me-5DAI1	34.	N ₁ =-CH ₃ , N ₃ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃ 139Me-5DAI1
7.	C ₈ =-CH ₃	8Me-5DAI1	35.	N ₁ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ 156Me-5DAI1
8.	C ₉ =-CH ₃	9Me-5DAI1	36.	N ₁ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃ 157Me-5DAI1
Dimetylowe pochodne 5DAI1			37.	N ₁ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃ 158Me-5DAI1
9.	N ₁ =-CH ₃ , N ₃ =-CH ₃	13Me-5DAI1	38.	N ₁ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃ 159Me-5DAI1
10.	N ₁ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃	15Me-5DAI1	39.	N ₁ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃ 167Me-5DAI1
11.	N ₁ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃	16Me-5DAI1	40.	N ₁ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃ 168Me-5DAI1
12.	N ₁ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃	17Me-5DAI1	41.	N ₁ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃ 169Me-5DAI1
13.	N ₁ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃	18Me-5DAI1	42.	N ₃ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ 356Me-5DAI1
14.	N ₁ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃	19Me-5DAI1	43.	N ₃ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃ 357Me-5DAI1
15.	N ₃ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃	35Me-5DAI1	44.	N ₃ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃ 358Me-5DAI1
16.	N ₃ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃	36Me-5DAI1	45.	N ₃ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃ 359Me-5DAI1
17.	N ₃ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃	37Me-5DAI1	46.	C ₅ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃ 567Me-5DAI1
18.	N ₃ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃	38Me-5DAI1	47.	C ₅ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃ 568Me-5DAI1
19.	N ₃ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃	39Me-5DAI1	48.	C ₅ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃ 569Me-5DAI1
20.	C ₅ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃	56Me-5DAI1	49.	C ₆ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃ 678Me-5DAI1
21.	C ₅ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃	57Me-5DAI1	50.	C ₆ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃ 679Me-5DAI1
22.	C ₅ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃	58Me-5DAI1	51.	C ₇ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃ 789Me-5DAI1
23.	C ₅ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃	59Me-5DAI1	Tetrametylowe pochodne 5DAI1	
24.	C ₆ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃	67Me-5DAI1	52.	N ₁ =-CH ₃ , N ₃ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ 1356Me-5DAI1
25.	C ₆ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃	68Me-5DAI1	53.	N ₁ =-CH ₃ , N ₃ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃ 1357Me-5DAI1
26.	C ₆ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃	69Me-5DAI1	54.	N ₁ =-CH ₃ , N ₃ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃ 1358Me-5DAI1
27.	C ₇ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃	78Me-5DAI1	55.	N ₁ =-CH ₃ , N ₃ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃ 1359Me-5DAI1
28.	C ₇ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃	79Me-5DAI1	56.	N ₁ =-CH ₃ , N ₃ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃ 1367Me-5DAI1
29.	C ₈ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃	89Me-5DAI1	57.	N ₁ =-CH ₃ , N ₃ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃ 1368Me-5DAI1
			58.	N ₁ =-CH ₃ , N ₃ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃ 1369Me-5DAI1
			59.	N ₁ =-CH ₃ , N ₃ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃ 1378Me-5DAI1
			60.	N ₁ =-CH ₃ , N ₃ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃ 1389Me-5DAI1
			61.	N ₃ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃ 3567Me-5DAI1
			62.	N ₃ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃ 3568Me-5DAI1
			63.	N ₃ =-CH ₃ , C ₅ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃ 3569Me-5DAI1
			64.	C ₅ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃ 5678Me-5DAI1
			65.	C ₅ =-CH ₃ , C ₆ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃ 5679Me-5DAI1
			66.	C ₆ =-CH ₃ , C ₇ =-CH ₃ , C ₈ =-CH ₃ , C ₉ =-CH ₃ 6789Me-5DAI1



Rysunek 34. Struktury innych pochodnych badanych w pracy doktorskiej: 1MeFR: 1-metylnafto[2,3-g]pterydino-2,4(1*H*,3*H*)-dion, 3MeFR: 3-metylnafto[2,3-g]pterydino-2,4(1*H*,3*H*)-dion, 10Et-5DIzoAll: 10-etylo-5-deazaizalloksazyna.

Tabela 6. Spis pochodnych alloksazyny, których właściwości zostały porównane z danymi dla pochodnych 5-deazaalloksazyny



1.	R ₁ =H; R ₂ =H	All
Monometylowe alloksazyny		
2.	C ₆ -CH ₃	6MeAll
3.	C ₇ -CH ₃	7MeAll
4.	C ₈ -CH ₃	8MeAll
5.	C ₉ -CH ₃	9MeAll
Dimetylowe alloksazyny		
6.	C ₆ -CH ₃ , C ₇ -CH ₃	67MeAll
7.	C ₆ -CH ₃ , C ₈ -CH ₃	68MeAll
8.	C ₆ -CH ₃ , C ₉ -CH ₃	69MeAll
9.	C ₇ -CH ₃ , C ₈ -CH ₃	78MeAll
10.	C ₇ -CH ₃ , C ₉ -CH ₃	79MeAll
11.	C ₈ -CH ₃ , C ₉ -CH ₃	89MeAll
Trimetylowe alloksazyny		
12.	N ₁ -CH ₃ , N ₃ -CH ₃ , C ₆ -CH ₃	136MeAll
13.	N ₁ -CH ₃ , N ₃ -CH ₃ , C ₇ -CH ₃	137MeAll
14.	N ₁ -CH ₃ , N ₃ -CH ₃ , C ₈ -CH ₃	138MeAll
15.	N ₁ -CH ₃ , N ₃ -CH ₃ , C ₉ -CH ₃	139MeAll

3.2. Wykaz stosowanych substancji i odczynników

Badane pochodne 5-deazaalloksazyny, wliczając w to następujące substancje: 5-deazaalloksazyna (5DAI), 8-metylo-5-deazaalloksazyna (8Me-5DAI), 9-metylo-5-deazaalloksazyna (9Me-5DAI), 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyna (13Me-5DAI), 1,3,8-trimetylo-5-deazaalloksazyna (138Me-5DAI), 1,3,9-trimetylo-5-deazaalloksazyna (139Me-5DAI), 10-etylo-5-deazaalloksazyna (10Et-5DAI) zostały zsyntezowane przez Panią dr Dorotę Pukałę. Metoda syntezy oraz charakterystyka tych związków, wliczając w to między innymi widma NMR oraz masowe zostały zawarte w pracach: (147-149). Badane pochodne alloksazyny o strukturze czteropierścieniowej, mianowicie: 1-metylonafto[2,3-g]pterydino-2,4(1*H*,3*H*)-dion (1MeFR) oraz 3-metylonafto[2,3-g]pterydino-2,4(1*H*,3*H*)-dion (3MeFR) zostały zsyntezowane przez grupę prof. R. Cibulki (Instytut Technologii Chemicznej w Pradze, Wydział Chemii Organicznej). Metoda syntezy oraz charakterystyka tych związków została zawarta w przygotowywanej do publikacji pracy¹. Ponadto w badaniach wykorzystywano pochodne izo- i alloksazyn dostępne w Sigma-Aldrich, mianowicie: lumichrom (LChr) oraz lumiflawinę (LFl). Jako standard do wyznaczania wydajności generowania tlenu singletowego był używany perinaftenon (Per), również z firmy Sigma-Aldrich. W badaniach reakcji podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym wykorzystywano stężony kwas octowy. Podczas badania równowag kwasowo-zasadowych ustalających się dla pochodnych 5-deazaalloksazyny używano wodnych roztworów wodorotlenku sodu oraz kwasu chlorowodorowego (solnego), które zostały przygotowane ze stężonego kwasu solnego oraz wodorotlenku sodu (odczynniki także pochodziły z Sigma Aldrich). W celu wyznaczenia wartości wydajności przejścia interkombinacyjnego dla 5-deazaalloksazyny użyto roztwór indygoksantyny w wodzie (sposób otrzymania tego związku został opisany w pracy (150)).

W trakcie badań eksperymentalnych wykorzystywano między innymi szereg rozpuszczalników organicznych, niektóre z nich wymagały dodatkowego osuszenia z zastosowaniem zeolitowych sit molekularnych. W trakcie opracowania i prezentowania danych w tabelach i na rysunkach oraz w treści pracy stosowano wielokrotnie skrót

¹ M. Bruszyńska, M. Insińska-Rak, A. Golczak, M. Gierszewski, D. Pukała, T. Pędziński, P. Ménová, R. Cibulka, M. Sikorski. Spectral and photophysical properties of four-ring alloxazine derivatives. W przygotowaniu

stosowanych rozpuszczalników. W badaniach spektralnych i fotofizycznych zastosowano następujące rozpuszczalniki: 1,4-Diox (1,4-dioksan), CHCl_3 (chloroform), DCM (dichlorometan), AcOEt (octan etylu), DMSO (dimetylosulfotlenek), Acet (aceton), ACN (acetonitryl), PrCN (propionitryl), MeOH (metanol), EtOH (etanol), 2-PrOH (propan-2-ol), 1-PrOH (propan-1-ol), 1-BuOH (butan-1-ol), 2-BuOH (butan-2-ol), 1-PeOH (pentan-1-ol), 1-HeOH (heksan-1-ol).

Do większości badań spektralnych i fotofizycznych użyto kuwet kwarcowych o długości drogi optycznej równej 1cm.

3.3. Metody eksperymentalne stosowane w badaniach oraz używana aparatura

3.3.1. Pomiary stacjonarne absorpcyjno – emisyjne w zakresie UV/Vis oraz NIR

Wszystkie roztwory używane do badań przygotowywano w tym samym dniu, kiedy były przeprowadzane pomiary widm stacjonarnych (absorpcji, emisji, wzbudzenia emisji, synchroniczne) lub czasowo-rozdzielcze.

Widma absorpcji prezentowane w pracy zarówno w rozpuszczalnikach organicznych jak i roztworach wodnych w zakresie UV/Vis zostały zarejestrowane przy użyciu spektrofotometru JASCO V-650 oraz przy wykorzystaniu spektrofluorymetru Horiba Jobin Yvon Spex Fluorolog 3-221 z wykorzystaniem przystawki, która umożliwia pomiary widm absorpcji. Pomiary widm absorpcji przy wykorzystaniu przystawki absorpcyjnej spektrofluorymetru Horiba Jobin Yvon Spex Fluorolog 3-221 były szczególnie istotne w czasie badań procesów generowania tlenu singletowego przez pochodne 5-deazaalloksazyny, w czasie których używano roztworów o jednakowej absorbancji dla standardu (perinaftenonu) oraz badanej substancji – umożliwiało to zachowanie jednakowej optyki w torze wzbudzenia przy rejestracji widm charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego w zakresie NIR.

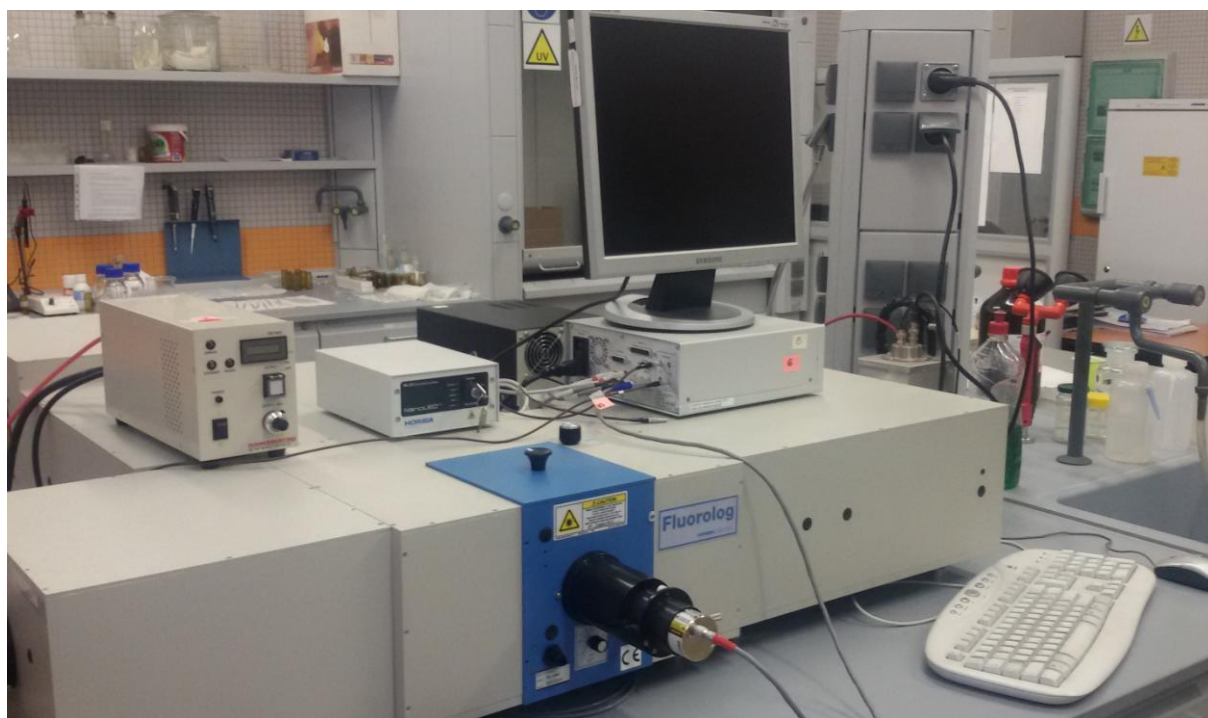
Ponadto, przy wykorzystaniu spektrofluorymetru Horiba Jobin Yvon Spex Fluorolog 3-221 zarejestrowano widma emisji oraz wzbudzenia emisji, synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej oraz widma całkowitej fluorescencji wykorzystywane do omawiania właściwości spektralnych i fotofizycznych badanych związków.

Fotografia używanego spektrofluorymetru Horiba Jobin Yvon Spex Fluorolog 3-221 została przedstawiona na **Rysunku 35**. Do najważniejszych elementów składowych spektrofluorymetru można zaliczyć:

- Źródła światła: lampa ksenonowa (wykorzystywana w pomiarach widm stacjonarnych) oraz diody typu NanoLED oraz SpectraLED (używane do pomiarów czasowo – rozdzielczych);
- monochromator toru wzbudzenia – powoduje filtrowanie wiązki światła emitowanej przez lampę ksenonową oraz wydzielenie światła o jednej, określonej długości fali;
- moduł z komorą próbek – standardowy moduł próbki to T-box, który umożliwia dwa sposoby zbierania promieniowania emitowanego przez próbkę: standardowy – pod kątem prostym oraz opcjonalny – czołowy;

- monochromator toru emisji – promieniowanie próbki poddawane jest filtrowaniu i kierowane do detektora;
- detektor promieniowania emitowanego w zakresie UV/Vis to R928P bardzo czuły w modzie zliczania fotonów (180-850 nm), liniowy zakres zliczeń 2×10^6 zliczeń/s; <1000 zliczeń ciemnych na sekundę. W zakresie NIR do detekcji był używany detektor H10330B-75 NIR-PMT, który umożliwia detekcję promieniowania w zakresie od 950 nm do 1700 nm.

Komponenty spektrofluorymetru (monochromatory, komora próbek) są podłączone do kontrolera (jednostki sterującej: „SpectrAcq”), która pośredniczy w transferze danych do i z komputera. Używane oprogramowanie do rejestracji i analizy widm stacjonarnych to FluorEssence™ połączony z programem Origin 8.



Rysunek 35. Fotografia stosowanego spektrofluorymetru Horiba Jobin Yvon Spex Fluorolog 3-221

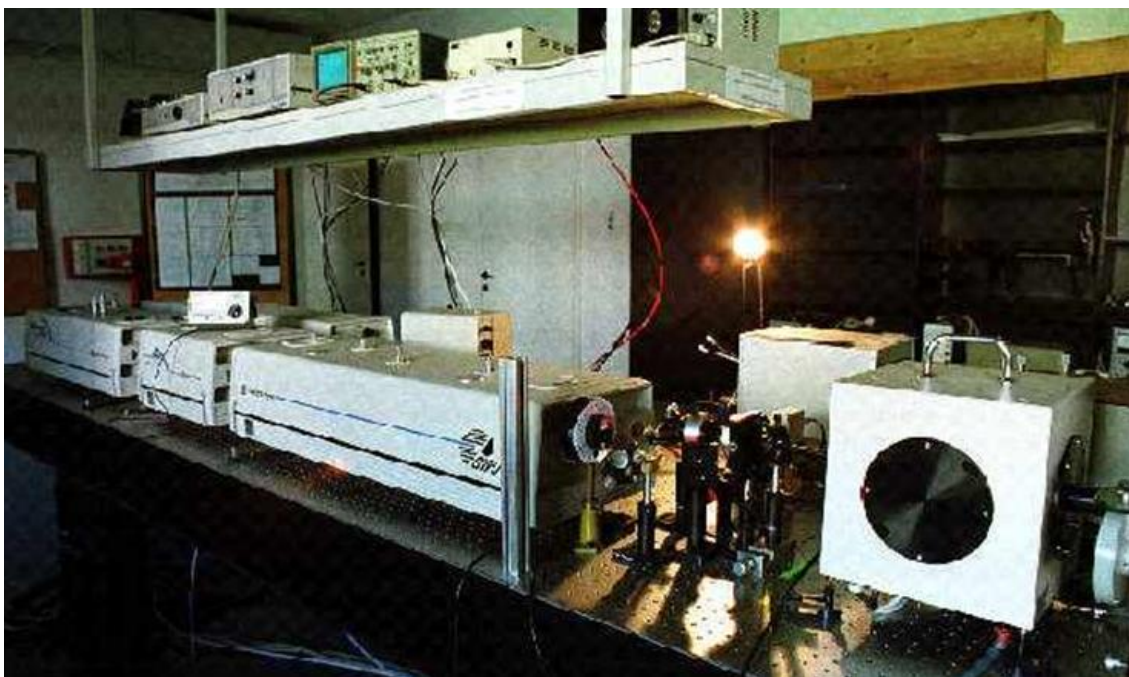
3.3.2. Pomiary emisyjne czasowo-rozdzielcze w zakresie UV/Vis oraz NIR

Pikosekundowy spektrometr emisyjny²

Pikosekundowy spektrometr emisyjny wykorzystano do pomiarów czasu życia stanu fluorescencji dla próbek znajdujących się w różnych warunkach pH. Pozwala mierzyć widma

² Opracowano na podstawie strony internetowej Centrum Badawczego Ultraszybkiej Spektroskopii Laserowej UAM: www.cbustl.amu.edu.pl.

emisji czasowo-rozdzielcze oraz czasy zaniku fluorescencji w przedziale od 10^{-5} do 10^{-12} s. Źródłem wzbudzenia w omawianym spektrometrze jest piko/femtosekundowy laser tytanowo-szafirowy, przestrajalny w zakresie od 720-1000 nm (wiązka podstawowa), 360-500 nm (druga harmoniczna), 240-330 nm (trzecia harmoniczna). Szerokości czasowe impulsów są równe 60 fs lub 1,5 ps. Detektorem jest układ do zliczania pojedynczych fotonów (TCSPC).



Rysunek 36. Fotografia pikosekundowego spektrometru emisyjnego. Na podstawie: www.cbusl.amu.edu.pl

Czasowo rozdzielczy spektrofluorymetr z detekcją opartą o metodę skorelowanego czasowo zliczania pojedynczych fotonów (TCSPC – IBH System 5000)

Wykorzystywany do pomiarów zaników fluorescencji w zakresie UV/Vis głównie dla próbek pochodnych 5-deazaalloksazyny znajdujących się w różnych rozpuszczalnikach organicznych metodą TCSPC. Źródłem wzbudzenia była dioda typu NanoLED ($\lambda_{exc} = 374$ nm). Układ skonfigurowany na pomiary czasów życia fluorescencji krótszych niż 400 ps. Analiza zmierzonych zaników fluorescencji została przeprowadzona przy użyciu oprogramowania IBH Consultants (wersja 4).

Spektrofluorymetr Pico-Quant (Berlin, Germany) FluoTime 300

Wykorzystywany do pomiarów zaników fluorescencji w zakresie UV/Vis głównie dla próbek pochodnych alloksazyny (1MeFR oraz 3MeFR) znajdujących się w różnych rozpuszczalnikach organicznych metodą TCSPC. Źródłem wzbudzenia była pulsowa pikosekundowa dioda laserowa LED ($\lambda_{\text{exc}} = 377 \text{ nm}$). Układ skonfigurowany na pomiary czasów życia fluorescencji krótszych niż 400 ps. Analiza zmierzonych zaników fluorescencji została przeprowadzona przy użyciu oprogramowania FluoFit Fluorescence Decay Data Analysis (wersja 4.55).

Spektrofluorymetr Horiba Jobin Yvon Spex Fluorolog 3-221

Wykorzystywany do pomiarów zaników fluorescencji w zakresie UV/Vis głównie w czasie badania procesów podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym dla pochodnych 5DAll oraz pochodnych alloksazyny (1MeFR i 3MeFR) metodą TCSPC. Ponadto używany do pomiarów zaników fosforescencji w zakresie NIR przy $\lambda = 1270 \text{ nm}$, które posłużyły do wyznaczenia czasów życia tlenu singletowego w rozpuszczalnikach organicznych i wodzie deuterowanej generowanego przez pochodne 5DAll. Źródłem wzbudzenia była dioda typu NanoLED ($\lambda_{\text{exc}} = 368 \text{ nm}$) – do pomiarów w zakresie UV/Vis oraz dioda typu SpectraLED ($\lambda_{\text{exc}} = 371 \text{ nm}$ oraz 394 nm). Zaniki były mierzone przy wykorzystaniu TCSPC Triple Illuminator, który jest dodatkiem do Fluorolog 3-22. Opracowanie zaników fluorescencji w zakresie UV/Vis oraz zaników fosforescencji w zakresie NIR zostało przeprowadzone przy wykorzystaniu oprogramowania IBH Consultants (wersja 4).

3.3.3. Nanosekundowy układ do badania absorpcji przejściowej

Nanosekundowy spektrometr absorpcji przejściowej, pozwala na pomiar absorpcji indywidualów żyjących od kilkunastu nanosekund do kilkuset mikrosekund. Źródłem wzbudzenia jest laser Nd:YAG z drugą (532 nm), trzecią (355 nm) i czwartą (266 nm) harmoniczną. Źródłem światła białego (sondującego) jest impulsowa lampa ksenonowa (czas impulsu ok. 450 μs). Zaniki absorpcji przejściowej były mierzone z krokiem pomiarowym co 10 nm. Próbki przed przeprowadzeniem eksperymentów laserowej flash-fotolizy były odtleniane przez około 20 minut przy wykorzystaniu argonu o wysokiej czystości. Eksperymenty przeprowadzono w kuwetach kwarcowych $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$. Szczegółowy opis stosowanej aparatury został zawarty w pracach (151,152).

3.3.4. pH-metr *Hanna Instruments*

pH-metr został wykorzystany do miareczkowania pochodnych: 5DA11 oraz 13Me-5DA11 w czasie badań równowag protonacji / deprotonacji tych związków. W pierwszym etapie badań pH-metr był kalibrowany przy użyciu roztworów buforowych (pH = 7, pH = 4). Używany pH-metr działa na zasadzie pomiaru różnicy napięcia pomiędzy dwiema elektrodami – szklaną, zanurzoną w badanym roztworze oraz wzorcową, zanurzoną w roztworze o znanej wartości pH. Zmierzona różnica wartości napięcia pomiędzy elektrodami jest proporcjonalna do różnicy pH pomiędzy obydwoma roztworami.

3.4. Opis stosowanych procedur pomiarowych

3.4.1. Widma absorpcji oraz molowy współczynnik absorpcji

W poszczególnych rozdziałach pracy doktorskiej przedstawiono szereg widm absorpcji zarejestrowanych dla badanych pochodnych w rozpuszczalnikach organicznych oraz w roztworach wodnych o różnym pH. W większości przypadków został wyznaczony molowy współczynnik absorpcji (ϵ) w oparciu o prawo Lamberta – Beera (5):

$$A = \epsilon cl \quad (5)$$

Gdzie: A- absorbancja, ϵ – molowy współczynnik absorpcji [$\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$], c – stężenie molowe badanej próbki [$\text{mol}^1\text{dm}^{-3}$], l – długość drogi optycznej (zwykle 1 cm)

3.4.2. Widma: emisji, wzbudzenia emisji, synchroniczne oraz całkowitej fluorescencji

Widma fluorescencji, widma wzbudzenia emisji, synchroniczne i całkowitej fluorescencji zaprezentowane w różnych rozdziałach pracy zostały zarejestrowane przy wykorzystaniu Spektrofluorymetru Horiba Jobin Yvon Spex Fluorolog 3-22 oraz kuwet kwarcowych o długości drogi optycznej równej 1 cm \times 1 cm. Pomiaru emisyjne w stosowanym układzie mogą być prowadzone przy użyciu dwóch odmiennych geometrii:

- RA (right angle) – polega na obserwacji fluorescencji pod kątem prostym do kierunku padającego światła;
- FF (front face) – pomiar fluorescencji dokonywany jest z powierzchni próbki, na którą pada promieniowanie wzbudzające.

Prezentowane w pracy dane związane z pomiarami emisyjnymi w większości zostały zarejestrowane przy użyciu geometrii RA. Szczegółowe dane dotyczące wyboru długości fali promieniowania wzbudzającego (λ_{exc}) do rejestracji widm emisji, długości fali emisji (λ_{em}) do pomiarów widm wzbudzenia emisji oraz $\Delta\lambda$ do rejestracji widm synchronicznych zostały zawarte w podpisach pod rysunkami przedstawiającymi dane widma i wyjaśnione w treści pracy. Do pomiarów widm fluorescencji, wzbudzenia emisji oraz synchronicznych w większości przypadków dobierano szczeliny wzbudzenia i emisji o wielkości 1 nm oraz czas integracji sygnału 0.1 – 0.3 s. Z kolei widma całkowitej fluorescencji prezentowane w rozdziale „Wykorzystanie widm synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej (SSF) oraz

widm całkowitej fluorescencji w badaniach pochodnych flawin” jak również w rozdziale „Badania równowag kwasowo - zasadowych ustalających się w różnych warunkach pH dla wybranych pochodnych 5-deazaalloksazyny” zostały zarejestrowane w większości przypadków w przedziale emisji od 350 nm do 650 nm oraz w przedziale wzbudzenia od 290 nm do 500 nm. W pomiarach widm całkowitej fluorescencji, podobnie jak w przypadku innych pomiarów emisyjnych, dobierano szczeliny wzbudzenia i emisji o wielkości 1 nm oraz czas integracji sygnału: 0.3 s. Kroki pomiarowe zastosowane w pomiarach widm całkowitej fluorescencji, odpowiednio: 5 nm (dla zakresu wzbudzenia) oraz 2 nm (dla zakresu emisji).

3.4.3. Wydajności kwantowe fluorescencji, stałe: radiacyjnej i sumy nieradiacyjnych dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego

Prezentowane w pracy wartości wydajności kwantowych fluorescencji zostały wyznaczone dwoma niezależnymi metodami. Pierwsza z nich, oparta o metodę wyznaczenia gradientu nachylenia funkcji zależności absorpcji od pola powierzchni pod widmem emisji, opierała się na instrukcji: „A guide to Recording Fluorescence Quantum Yields”³ zaproponowanej przez Horbia Jobin Yvon i przebiegała zgodnie z poniższymi punktami:

1. Rejestracja widm absorpcji: (i) dla stosowanego standardu wydajności kwantowej fluorescencji, (ii) dla badanej próbki; zanotowanie wartości absorpcji przy długości fali stosowanego promieniowania wzbudzającego. Badana próbka oraz standard znajdowały się zwykle w tym samym rozpuszczalniku.
2. Rejestracja widm fluorescencji dla tych samych roztworów standardu i badanych próbek w kuwetach z długością drogi optycznej równej 1cm, które były stosowane w punkcie (1) oraz wyliczenie pola powierzchni pod widmem fluorescencji.
3. Powtórzenie kroku (1) i (2) dla pięciu roztworów (każdy kolejny roztwór po rozcieńczeniu odpowiednią porcją rozpuszczalnika, tak aby wartości absorpcji przy długości fali promieniowania wzbudzającego kolejno miały wartości równe około: 0.1; 0.08; 0.06; 0.04; 0.02;
4. Stworzenie wykresu pola powierzchni pod widmami fluorescencji poszczególnych rozcieńczanych roztworów od wartości absorpcji przy długości fali promieniowania wzbudzającego. Jako punkt początkowy wybrano (0,0). Należy skonstruować osobne wykresy dla standardu oraz badanej próbki.

³ Instrukcja dostarczona przez „Horiba Jobin Yvon”, pochodzi ze strony: www.jyhoriba.co.uk

Wydajność kwantowa fluorescencji, z wykorzystaniem metody opisanej powyżej, została wyliczona w oparciu o poniższe równanie:

$$\Phi_F = \Phi_F^{ST} \left[\frac{\text{Grad}_X}{\text{Grad}_{ST}} \right] \left(\frac{\eta_X^2}{\eta_{ST}^2} \right) \quad (6)$$

W (6) poszczególne symbole oznaczają kolejno: Φ_F : wydajność kwantowa fluorescencji dla badanej pochodnej; Φ_F^{ST} : wydajność kwantowa fluorescencji dla stosowanego standardu; Grad_X : wartość współczynnika kierunkowego prostej $y = ax + b$ z wykresu zależności pola powierzchni pod widmem fluorescencji od absorbancji dla badanego związku, Grad_{ST} : wartość współczynnika kierunkowego prostej $y = ax + b$ z wykresu zależności pola powierzchni pod widmem fluorescencji od absorbancji dla standardu, η_X : współczynnik załamania światła dla roztworu badanej pochodnej; η_{ST} : współczynnik załamania światła dla stosowanego standardu.

Drugim podejściem zastosowanym do wyznaczenia wartości wydajności kwantowych fluorescencji była metoda jednopunktowa oparta na poniższej zależności:

$$\Phi_F = \Phi_F^{ST} \left[\frac{\text{Area}_X}{\text{Area}_{ST}} \right] \left[\frac{(1 - 10^{-A_{ST}})}{(1 - 10^{-A_X})} \right] \left(\frac{\eta_X^2}{\eta_{ST}^2} \right) \quad (7)$$

W (7) poszczególne symbole oznaczają kolejno: Φ_F : wydajność kwantowa fluorescencji dla badanej pochodnej; Φ_F^{ST} : wydajność kwantowa fluorescencji dla stosowanego standardu; Area_X : pole powierzchni pod widmem fluorescencji dla badanej pochodnej; Area_{ST} : pole powierzchni pod widmem fluorescencji dla standardu; A_{ST} : absorbancja dla standardu przy stosowanej długości fali promieniowania wzbudzającego; A_X : absorbancja dla badanej pochodnej przy długości fali promieniowania wzbudzającego, η_X : współczynnik załamania światła dla roztworu badanej pochodnej; η_{ST} : współczynnik załamania światła dla stosowanego standardu.

Jako standardy do wyznaczania wydajności kwantowych fluorescencji były używane roztwory: lumichromu w acetonitrylu ($\Phi_F = 0.028$) oraz lumiflawiny w acetonitrylu ($\Phi_F = 0.16$) (36).

Stałe: radiacyjnej i sumy nieradiacyjnych dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego zostały wyliczone w oparciu o następujące zależności:

$$k_r = \Phi_F / \tau_F \quad (8)$$

$$\sum k_{nr} = (1 - \Phi_F) / \tau_F \quad (9)$$

W powyższych równaniach odpowiednie symbole oznaczają: k_r – stała radiacyjna dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego, $\sum k_{nr}$ – suma stałych nieradiacyjnych dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego, Φ_F – wydajność kwantowa fluorescencji, τ_F – czas życia fluorescencji.

3.4.4. Wydajności kwantowe fotosensybilizowanego generowania tlenu singletowego

Wartości wydajności generowania tlenu singletowego (Φ_Δ) przez pochodne 5-deazaalloksazyny zostały wyznaczone w oparciu o pomiary stacjonarne oraz czasowo-rozdzielcze. Stosowanym standardem był perinaftenon, dla którego $\Phi_\Delta = 0.95 \pm 0.05$ (niezależnie od stosowanego rozpuszczalnika). Poniżej omówiono trzy niezależne sposoby, w oparciu o które wyznaczono wartości Φ_Δ dla badanych pochodnych

a) metoda jednopunktowa - z pomiarów stacjonarnych

Sporządzono roztwory badanej substancji (pochodnej 5-deazaalloksazyny) oraz standardu (perinaftenonu) w tym samym rozpuszczalniku, dla których absorbancje przy długości fali promieniowania wzbudzającego były bardzo zbliżone do siebie (± 0.005). Następnie, zarejestrowano widma emisji tlenu singletowego dla badanej pochodnej i standardu, z których obliczano pole powierzchni pod widmem zarówno dla badanej pochodnej jak i standardu. W celu wyznaczenia bardzo dokładnych wartości wydajności generowania tlenu singletowego przez pochodne 5DAII uwzględniono poprawkę na niewielką różnicę absorbancji przy długości fali promieniowania wzbudzającego pomiędzy roztworem badanej pochodnej 5DAII oraz perinaftenonem. Obliczenia przeprowadzono zgodnie z poniższym równaniem (10). Formalnie w równaniu uwzględniono również współczynnik załamania światła dla rozpuszczalnika stosowanego dla badanej pochodnej i standardu, jednak ze względu na fakt, iż praktycznie w każdym przypadku użyto tego samego rozpuszczalnika dla badanej pochodnej i standardu, zwykle ten parametr pomijano w obliczeniach.

$$\Phi_X = \Phi_{ST} \left[\frac{(\text{Area} \frac{T1}{R1})_X}{(\text{Area} \frac{T1}{R1})_{ST}} \right] \left[\frac{(1 - 10^{-A_{ST}})}{(1 - 10^{-A_X})} \right] \left(\frac{\eta_X^2}{\eta_{ST}^2} \right) \quad (10)$$

W (10) poszczególne symbole oznaczają kolejno: Φ_X : wydajność generowania tlenu singletowego dla badanej pochodnej; Φ_{ST} : wydajność generowania tlenu singletowego dla stosowanego standardu; $(\text{Area} \frac{T1}{R1})_X$: pole powierzchni pod widmem charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego dla badanej pochodnej; $(\text{Area} \frac{T1}{R1})_{ST}$: pole powierzchni pod widmem charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego dla standardu; A_{ST} : absorbancja dla standardu przy stosowanej długości fali promieniowania wzbudzającego; A_X : absorbancja dla badanej pochodnej przy długości fali promieniowania wzbudzającego, η_X : współczynnik załamania światła dla roztworu badanej pochodnej; η_{ST} : współczynnik załamania światła dla stosowanego standardu.

b) metoda gradientowa - w oparciu o pomiary stacjonarne

Kolejnym sposobem, który zastosowano do wyznaczenia wydajności generowania tlenu singletowego przez pochodne 5-deazaalloksazyny była metoda gradientowa. Opiera się ona na pomiarze dokładnych wartości absorbancji przy długości fali promieniowania wzbudzającego oraz widm charakterystycznej emisji tlenu singletowego dla roztworów badanej pochodnej oraz stosowanego standardu w miarę rozcieńczania (obniżania stężenia sensybilizatora tlenu singletowego). Następnie, z uzyskanych danych, sporządzono wykres zintegrowanej intensywności emisji tlenu singletowego od wartości absorbancji przy długości fali promieniowania wzbudzającego. Uzyskane wykresy wykorzystuje się do wyznaczenia wartości wydajności generowania tlenu singletowego przez badaną pochodną korzystając ze wzoru (11)

$$\Phi_X = \Phi_{ST} \left[\frac{\text{Grad}_X}{\text{Grad}_{ST}} \right] \left(\frac{\eta_X^2}{\eta_{ST}^2} \right) \quad (11)$$

W (11) poszczególne symbole oznaczają kolejno; Φ_X : wydajność generowania tlenu singletowego dla badanej pochodnej; Φ_{ST} : wydajność generowania tlenu singletowego dla

stosowanego standardu; Grad_x : wartość współczynnika kierunkowego prostej $y = ax + b$ z wykresu zależności zintegrowanej intensywności emisji tlenu singletowego od absorbancji dla badanego związku, Grad_{ST} : wartość współczynnika kierunkowego prostej $y = ax + b$ z wykresu zależności zintegrowanej intensywności emisji tlenu singletowego od absorbancji dla standardu, η_x : współczynnik załamania światła dla roztworu badanej pochodnej; η_{ST} : współczynnik załamania światła dla stosowanego standardu. Podobnie jak w przypadku zastosowania metody jednopunktowej do wyznaczenia wydajności generowania tlenu singletowego przez badane pochodne, również w tym przypadku w obliczeniach pomijano wartość współczynnika załamania światła dla roztworu badanej pochodnej i standardu, ze względu na zastosowanie tego samego rozpuszczalnika w obydwu przypadkach.

c) metoda jednopunktowa - w opraciu o pomiary czasowo-rozdzielcze

Uzupełnieniem dwóch omówionych sposobów wyznaczenia wydajności generowania tlenu singletowego przez pochodne 5-deazaalloksazyny z pomiarów widm stacjonarnych stanowią wyniki uzyskane z pomiarów zaników fosforescencji zmierzonych przy $\lambda_{exc} = 371$ nm oraz $\lambda_{em} = 1270$ nm. Podobnie jak w przypadku metody jednopunktowej w badaniach stacjonarnych, również w tym przypadku sporządzono roztwory badanej substancji (pochodnej 5-deazaalloksazyny) oraz standardu (perinaftenonu) w tym samym rozpuszczalniku, dla których absorbancja przy długości fali promieniowania wzbudzającego były bardzo zbliżone do siebie (± 0.005). Następnie, zarejestrowano zaniki fosforescencji przy $\lambda_{exc} = 371$ nm oraz $\lambda_{em} = 1270$ nm zarówno dla badanej pochodnej jak i standardu. Uzyskane zaniki w każdym przypadku w zadowalający sposób opisywała funkcja monowykładnicza, natomiast uzyskane wartości czasów życia były charakterystyczne dla tlenu singletowego w danym rozpuszczalniku. W celu wyznaczenia bardzo dokładnych wartości wydajności generowania tlenu singletowego przez pochodne 5DAI uwzględniono poprawkę na niewielką różnicę absorbancji przy długości fali promieniowania wzbudzającego pomiędzy roztworem badanej pochodnej 5DAI oraz perinaftenonem. Do wyliczenia użyto również amplitud składowych otrzymanych w wyniku analizy zaniku fosforescencji zarówno dla badanej pochodnej jak i standardu. Obliczenia przeprowadzono zgodnie z poniższym równaniem (12). Formalnie, również w tym wariancie wyliczenia wartości Φ_x dla badanych pochodnych pomijano współczynniki załamania światła (stosowano ten sam rozpuszczalnik dla badanej substancji jak i standardu).

$$\Phi_X = \Phi_{ST} \left[\frac{A_X}{A_{ST}} \right] \left[\frac{(1 - 10^{-A_{ST}})}{(1 - 10^{-A_X})} \right] \left(\frac{\eta_X^2}{\eta_{ST}^2} \right) \quad (12)$$

W (12) poszczególne symbole oznaczają kolejno: Φ_X : wydajność generowania tlenu singletowego dla badanej pochodnej; Φ_{ST} : wydajność generowania tlenu singletowego dla stosowanego standardu; A_X : amplitudę składową uzyskaną w wyniku dopasowania zaniku fosforescencji do funkcji monoeksponencjalnej dla badanej pochodnej; A_{ST} : amplitudę składową uzyskaną w wyniku dopasowania zaniku fosforescencji do funkcji monoeksponencjalnej dla stosowanego standardu; A_{ST} : absorbancja dla standardu przy stosowanej długości fali promieniowania wzbudzającego; A_X : absorbancja dla badanej pochodnej przy długości fali promieniowania wzbudzającego, η_X : współczynnik załamania światła dla roztworu badanej pochodnej; η_{ST} : współczynnik załamania światła dla stosowanego standardu.

3.4.5. Równowagi kwasowo-zasadowe 5-deazaalloksazyny oraz 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny

Na początku zostały przygotowane roztwory 5-deazaalloksazyny oraz 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny w roztworze kwasu solnego o stężeniach odpowiednio 3M oraz 2.5M. Następnie, poprzez miareczkowanie małymi porcjami zarówno 2M NaOH jak i 4M NaOH osiągnięto następujące wartości pH: (dla 5DAI: 4.8, 9.1, 11.6, 12.6, 13.6, natomiast dla 13Me-5DAI: -0.07, 4.8, 7.2, 11). Dokładne wartości pH zostały zmierzone przy wykorzystaniu pH-metru Hanna Instruments. Dla każdego punktu pH zostały zarejestrowane: widma absorpcji, emisji, synchroniczne, wzbudzenia emisji oraz całkowitej fluorescencji, jak również przeprowadzono pomiary czasowo-rozdzielcze zaników fluorescencji i wyliczono wartości wydajności kwantowych fluorescencji. Ze względu na niebezpieczeństwo hydrolizy i rozkładu związków, wszystkie roztwory przygotowano i badano w tym samym dniu.

3.5. Opis stosowanych procedur teoretycznych

Dane dotyczące teoretycznych struktur elektronowych w stanach singletowych: podstawowym oraz wzbudzonych, przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet wraz z określeniem charakteru tych przejść zostały przedstawione w rozdziale „Stany singletowe i trypletowe badanych pochodnych - ujęcie teoretyczne”. Modelowaniu teoretycznemu zostały poddana 5-deazaalloksazyna oraz jej liczne metylowe pochodne, 10-etylo-5-deazaizoalloksazyna oraz monometylowe, czteropierścieniowe pochodne alloksazyny: 1MeFR oraz 3MeFR. Spora część danych teoretycznych została przyrównana do rezultatów eksperymentalnych oraz do danych literaturowych dostępnych dla analogicznych izo- i alloksazyn. Obliczenia kwantowo-chemiczne zostały przeprowadzone z wykorzystaniem metod DFT (*ang. Density Functional Theory*) (153) oraz w przypadku 5DA11 zastosowano metody *ab-initio*. Zastosowanie w większości metod DFT wiąże się między innymi z literaturowo znanym zastosowaniem tych metod do obliczeń analogicznych dla odpowiednich izo- i alloksazyn, co daje możliwość wzajemnego porównania rezultatów (23,24,27,154). Obliczenia związane ze stanami singletowymi pochodnych 5DA11 oraz 1MeFR i 3MeFR zostały przeprowadzone z wykorzystaniem funkcjonału B3LYP (155,156) wraz z bazami atomowymi: typu split-valence 6-31G(d) (157) oraz korelacyjne – spójną bazą atomową o jakości podwójnie zeta: aug-cc-pVDZ (158). Dodatkowo, w przypadku 5DA11 zastosowano oprócz funkcjonału B3LYP do uzyskania informacji o strukturach elektronowych w stanach singletowych oraz przewidywanych energii przejść singlet \rightarrow singlet również funkcjonałów: cam-B3LYP (159) oraz PBE0 (160,161), obydwie w sprzężeniu z bazą atomową aug-cc-pVDZ. Funkcjonał B3LYP jest szeroko używany w obliczeniach przejść elektronowych (162) realizowanych przy wykorzystaniu oprogramowania Gaussian 03. Zastosowane do obliczenia energii przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DA11 w metody *ab-initio* wykorzystwały między innymi drugorzędowe podejście zaburzeń Møllera Plesseta (MP2) dla stanu podstawowego oraz konfiguracyjną metodę interakcji, CIS (163) oraz CIS(D) (164) jak również metodę EOM-CCSD (165), dla stanów wzbudzonych. Ponadto, w podrozdziale „Charakterystyka spektroskopowa i fotofizyczna 5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych” zostały przedstawione rezultaty modelowania teoretycznego dla kompleksów formowanych pomiędzy 5DA11 a metanolem w stanie podstawowym oraz wzbudzonym stanie singletowym. Obliczenia teoretyczne dla tej części zostały wykonane przy użyciu funkcjonału B3LYP sprzężonego z bazą atomową 6-31G(d). Struktury kompleksów pomiędzy 5DA11 a

metanolem są zbliżone do wcześniej zaproponowanych dla kompleksów formowanych pomiędzy cząsteczką lumichromu a metanolem / kwasem octowym (122). Do wyliczenia energii wiązań wodorowych 5DA11 – MeOH w stanie podstawowym i wzbudzonym singletowym wykorzystano model zaproponowany przez Krystkowiak dla 4H-1-benzopiran-4-tionu (BPT) (166).

Dla serii metylowych pochodnych 5DA11 przeprowadzono obliczenia energii przejść singlet \rightarrow singlet wychodząc z zoptymalizowanej struktury stanu podstawowego w odniesieniu do fazy gazowej z wykorzystaniem funkcjonału B3LYP sprzężonego z różnymi bazami atomowymi: 6-31G, 6-311G, 6-31G*, 6-31G**, 6-31+G(d), cc-pVTZ, cc-pVDZ, aug-cc-pVDZ, w celu sprawdzenia wpływu zastosowanej bazy atomowej na zgodność pomiędzy rezultatami teoretycznymi i eksperymentalnymi. Podobne podejście zostało zaproponowane przez Neiss dla struktur podobnych do flawin, włączając w to uracyl, izolumazynę oraz lumiflawinę (78). W przypadku kilku pochodnych 5DA11 oraz 1MeFR i 3MeFR jako uzupełnienie do rezultatów obliczeń teoretycznych dla fazy gazowej zastosowano model rozpuszczalnikowy PCM (*ang. the polarizable continuum model*). Ponadto dla 8Me-5DA11, 9Me-5DA11 oraz 10Et-5DIzoAll wyznaczono rozkład gęstości elektronowej w stanie podstawowym i wzbudzonym singletowym przy wykorzystaniu analizę populacyjną NBO (167-169).

Oprócz obliczeń teoretycznych związanych ze stanami singletowymi badanych pochodnych, przeprowadzono również obliczenia dla stanów trypletowych. Energie przejść tryplet \rightarrow tryplet oraz ich intensywności zostały wyliczone w oparciu o zoptymalizowaną geometrię stanu T_1 danej cząsteczki przy wykorzystaniu metody nieograniczonej UB3LYP.

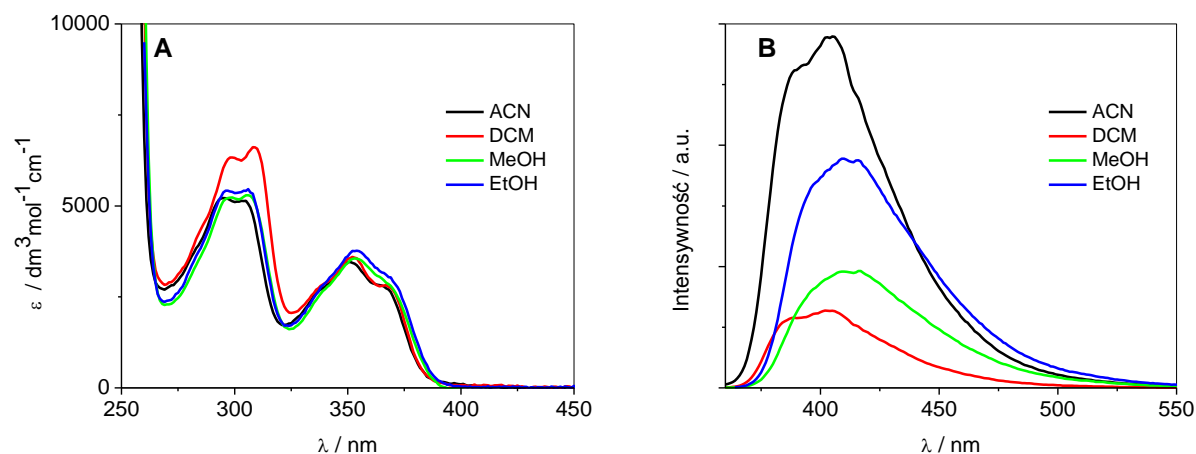
4. Omówienie wyników badań własnych

4.1. Stany singletowe badanych pochodnych: ujęcie eksperymentalne

4.1.1. Spektroskopia i fotofizyka 5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych

5-Deazaalloksazyna (5DAI) posiada najprostszą strukturę spośród badanych pochodnych 5-deazaflawin. Widma absorpcji i emisji dla tej cząsteczki w wybranych rozpuszczalnikach organicznych o różnej polarności zostały przedstawione na **Rysunku 37** natomiast parametry absorpcyjne, emisyjne oraz dane fotofizyczne dla 5DAI w porównaniu do danych literaturowych dostępnych dla alloksazyny (All) zostały zebrane w **Tabeli 7**. W widmach absorpcji, w długofalowej części widma, można wyróżnić dwa pasma absorpcji, których maksima są zależne od zastosowanego rozpuszczalnika. Należy podkreślić, iż obecność wspomnianych dwóch pasm absorpcyjnych notuje się niezależnie od charakteru zastosowanego rozpuszczalnika, tj. jego polarności oraz właściwości protyčno - aprotycznych. Zgodnie z informacjami przedstawionymi w *podrozdziale 4.3.1*, za obecność dwóch dobrze rozdzielonych pasm w widmach absorpcji 5DAI odpowiadają dwa niezależne przejścia o charakterze π, π^* . Biorąc pod uwagę rozpuszczalniki: 1,2-dichloroetan, acetonitryl, metanol i etanol odpowiednie maksima absorpcji są zlokalizowane pomiędzy 351 nm - 354 nm (λ_1) oraz 296 nm - 311 nm (λ_2). Porównując przedstawione dane można stwierdzić, iż zmiana charakteru rozpuszczalnika wpływa w bardziej istotny sposób na położenie λ_2 , a raczej w nieznaczny sposób modyfikuje usytuowanie maksimów absorpcji 5DAI dla λ_1 . Porównanie parametrów absorpcyjnych dla 5DAI oraz All wskazuje, iż w przypadku struktury alloksazynowej notowane są batochromowe przesunięcia zarówno λ_1 jak i λ_2 w tym samym rozpuszczalniku. Dla przykładu, w etanolu odnotowano położenie λ_1 i λ_2 dla 5DAI przy: 354 nm i 306 nm, natomiast dla All odpowiednio przy: 376 nm i 321 nm (**Tabela 7**). W widmach fluorescencji 5DAI (**Rysunek 37**) odnotowano obecność jednego pasma niezależnie od zastosowanej długości fali promieniowania wzbudzającego oraz charakteru zastosowanego rozpuszczalnika. Długofalowe przesunięcia maksimów fluorescencji dla 5DAI odnotowano w przypadku zastosowania alkoholi w porównaniu do innych rozpuszczalników (aprotycznych), dla przykładu λ_F dla 5DAI w etanolu i acetonitrylu odnotowano przy 411 nm i 405 nm. Podobnie, porównanie maksimów fluorescencji 5-deazaalloksazyny i alloksazyny w tych samych rozpuszczalnikach wskazuje, iż dla

alloksazyny notowane są przesunięcia ku dłuższym falom, dla przykładu, w acetonitrylu λ_F są notowane dla 5DAll i All odpowiednio przy: 405 nm i 432 nm. Wyznaczone wartości wydajności kwantowych fluorescencji (Φ_F) dla 5-deazaalloksazyny w różnych rozpuszczalnikach organicznych świadczą, iż fluorescencja jest ważnym kanałem dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego. Porównanie odpowiednich wartości Φ_F dla All i 5DAll wskazują, iż fluorescencja jest zdecydowanie bardziej uprzywilejowana dla 5DAll w porównaniu do All praktycznie we wszystkich stosowanych rozpuszczalnikach (**Tabela 7**). Dla przykładu, w acetonitrylu odpowiednie wartości Φ_F dla 5DAll: 0.18 oraz dla All: 0.01. Na wartość Φ_F dla 5DAll wpływa również rodzaj zastosowanego rozpuszczalnika. Zmiana rozpuszczalnika z 1,2-dichloroetanu na metanol powoduje zmianę wartości Φ_F z 0.01 na 0.24. Interesujące zmiany przynosi również porównanie wartości czasów życia fluorescencji (τ_F) dla 5DAll oraz All. Zdecydowanie dłuższe wartości τ_F zostały odnotowane dla 5DAll w stosunku do All niezależnie od zastosowanego rozpuszczalnika, dla przykładu w acetonitrylu 5DAll i All wykazują τ_F odpowiednio o wartościach: 3.6 ns oraz 0.35 ns. Porównanie wartości czasów życia fluorescencji dla 5DAll w różnych rozpuszczalnikach wskazuje, iż w alkoholach jest on dłuższy w porównaniu do innych rozpuszczalników (aprotycznych): 5.1 ns (w metanolu) oraz 2.5 ns (w 1,2-dichloroetanu). Jedną z przyczyn, dla których obserwuje się wydłużenie wartości czasów życia fluorescencji oraz zwiększenie wartości wydajności kwantowych fluorescencji dla 5-deazaalloksazyny w porównaniu do alloksazyny w tych samym rozpuszczalniku, jest zmiana charakteru najniższych energetycznie przejść elektronowych singlet \rightarrow singlet. Z obliczeń teoretycznych wynika, iż dla All przejście $S_0 \rightarrow S_1$ ma charakter n, π^* i położone jest przy 27300 cm^{-1} . Natomiast przejście $S_0 \rightarrow S_2$, położone przy 28400 cm^{-1} , zostało zidentyfikowane jako przejście typu π, π^* (50). Inwersja stanów π, π^* i n, π^* w cząsteczce alloksazyny skutkuje obniżeniem wartości wydajności kwantowych fluorescencji oraz skróceniem czasów życia stanu wzbudzonego. W przypadku 5-deazaalloksazyny odnotowano, iż przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ ma charakter π, π^* , a różnica energetyczna $|E_{n, \pi^*} - E_{\pi, \pi^*}|$ pozwala wnioskować, iż przejście $S_0 \rightarrow S_1$ ma "czysty" charakter π, π^* . Szczegółową dyskusję na temat danych teoretycznych dla przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DAll zawarto w *podrozdziale 4.3.1*. Zmiany w wartościach wydajności kwantowych fluorescencji oraz czasów życia fluorescencji dla 5DAll i All przekładają się również na wartości stałych: radiacyjnej (k_r) i sumy nieradiacyjnych (Σk_r) dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego. Zarówno w przypadku 5DAll, jak i All dominującymi w procesach dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego są procesy nieradiacyjne, jednakże różnice w wartościach k_r oraz Σk_r są mniejsze dla 5-deazaalloksazyny.



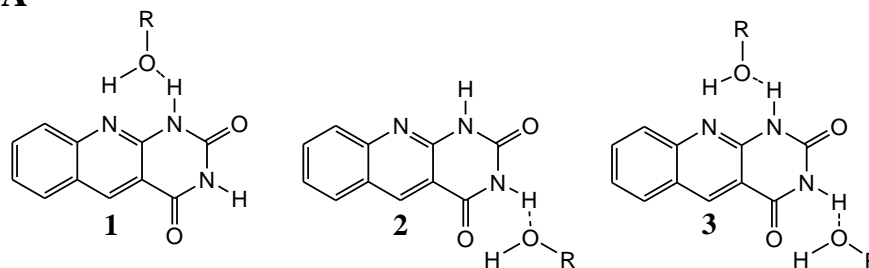
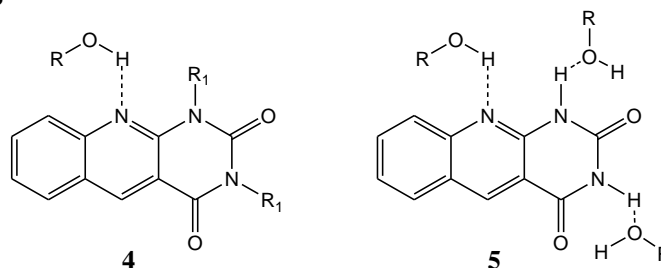
Rysunek 37. **A** - widma absorpcji 5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, **B** - widma emisji 5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$), na podstawie (148).

Tabela 7. Dane spektralne i fotofizyczne dla 5DAII w wybranych rozpuszczalnikach organicznych. Dla porównania podano również dane literaturowe dostępne dla All

Rozp.	Związek	λ_1/nm^a	λ_2/nm^a	λ_F/nm	Φ_F	τ_F /ns	k_r / 10^8s^{-1}	Σk_{nr} / 10^8s^{-1}
DCE	5DAII	353	311	405	0.01	2.5	0.04	3.9
	All ^b	374	322	434	0.02	0.19	1.2	51
ACN	5DAII	351	296	405	0.18	3.6	0.50	2.3
	All ^b	372	320	432	0.01	0.35	0.26	28
EtOH	5DAII	354	306	411	0.21	4.5	0.46	1.7
	All ^b	376	321	445	-	0.86	-	-
MeOH	5DAII	353	307	416	0.24	5.1	0.47	1.5

^a λ_1 , λ_2 : maksima absorpcji w długofalowej części widma, λ_F : maksimum fluorescencji, Φ_F : wydajność kwantowa fluorescencji, τ_F : czas życia fluorescencji, k_r : stała radiacyjna i Σk_{nr} : suma stałych nieradiacyjnych
^b na podstawie (50).

Ze szczegółowych analiz solwatochromowych przeprowadzonych między innymi przy wykorzystaniu czteroparametrowej skali zaproponowanej przez Catalána wynika, iż w stanie podstawowym pomiędzy cząsteczką 5-deazaalloksazyny a rozpuszczalnikiem protycznym (alkoholem) mogą tworzyć się wiązania wodorowe, w których najbardziej uprzywilejowane będzie zaangażowanie grupy N(1)-H oraz N(3)-H cząsteczki 5DAII oraz atomu tlenu z grupy hydroksylowej zastosowanego alkoholu. Odpowiednie struktury najbardziej prawdopodobnych kompleksów pomiędzy cząsteczką 5DAII a alkoholami zostały przedstawione na **Rysunku 38**.

A E_{gs} (5-DAll): -463204.1 kcal/mol E_{gs} (MeOH): -72611.9 kcal/mol E_{gs} (5-DAll : MeOH)₁: -535828.5 kcal/mol E_{gs} (5-DAll : MeOH)₂: -535828.2 kcal/mol E_{ex} (5-DAll): 86.2 kcal/mol E_{ex} (5-DAll : MeOH)₁: 84.9 kcal/mol E_{ex} (5-DAll : MeOH)₂: 84.8 kcal/mol**Stan podstawowy (kompleks 1):** E_{gsHB} : 12.5 kcal/mol**Stan wzbudzony (kompleks 1):** E_{excHB} = 13.9 kcal/mol**Stan podstawowy (kompleks 2):** E_{gsHB} : 12.3 kcal/mol**Stan wzbudzony (kompleks 2):** E_{excHB} = 13.6 kcal/mol**B** E_{gs} (5-DAll): -463204.05 kcal/mol E_{gs} (MeOH): -72611.90 kcal/mol E_{gs} (5-DAll : MeOH): -535827.39 kcal/mol E_{ex} (5-DAll) = 86.23 kcal/mol E_{ex} (5-DAll : MeOH) = 84.63 kcal/mol**Stan podstawowy:** E_{gsHB} : 11.3 kcal/mol**Stan wzbudzony:** E_{excHB} = 13.04 kcal/mol5DAll: R₁ = H; 13Me-5DAll: R₁ = CH₃

Rysunek 38. **A** – proponowana struktura kompleksów 5DAll z alkoholami w stanie podstawowym; **B** – proponowana struktura kompleksów 5DAll i 13Me-5DAll z alkoholami w stanie wzbudzonym.

Wykorzystując obliczenia teoretyczne [B3LYP/6-31G(d)] zostały wyznaczone energie wiązań wodorowych w kompleksach (1) i (2) w stanie podstawowym, dla których stechiometria wynosiła 1:1. Odpowiednie wartości wynoszą: 12.5 kcal · mol⁻¹ oraz 12.3 kcal · mol⁻¹. Energia wiązań wodorowych w stanie podstawowym (E_{gsHB}) w poszczególnych kompleksach została wyznaczona jako różnica pomiędzy sumą całkowitej energii 5DAll i MeOH w stanie

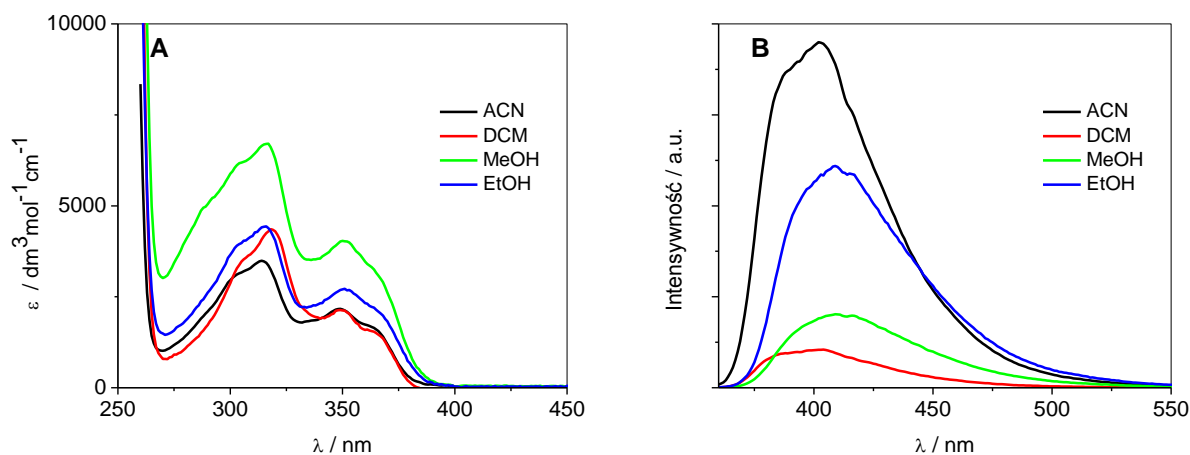
podstawowym, odpowiednio oznaczonymi jako E_{gs} (5DAll) oraz E_{gs} (MeOH) i całkowitą energią danego kompleksu 5DAll z MeOH, oznaczoną jako E_{gs} (5DAll : MeOH). Stąd, energię wiązania wodorowego w stanie S_0 można wyrazić następującym wyrażeniem: $E_{gsHB} = \{E_{gs}$ (5DAll) + E_{gs} (MeOH) $\} - E_{gs}$ (5DAll : MeOH). Całkowita energia w pojedynczych układach w każdym przypadku została podana na **Rysunku 38**. Wykorzystując podobny sposób obliczeń teoretycznych, wyznaczono energię wiązań wodorowych w kompleksach (1) i (2) w stanie wzbudzonym (E_{exHB}). Pod wpływem przejścia elektronowego $S_0 \rightarrow S_1$ energia wiązań wodorowych wzrasta w porównaniu do wyznaczonych wartości dla stanu podstawowego i wynosi odpowiednio: $E_{exHB} = 13.9 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ (1) i $E_{exHB} = 13.6 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ (2). Dodatkowo, zostały wyliczone energie wiązań wodorowych w stanie S_1 według wyrażenia: $E_{exHB} = \{[E_{gs} + E_{ex}]$ (5-DAll) + E_{gs} (MeOH) $\} - [E_{gs} + E_{ex}]$ (5-DAll : MeOH), oznaczenia są zgodne z przytoczonymi wyżej informacjami, natomiast odpowiednie dane liczbowe, które posłużyły do wyliczenia energii wiązań wodorowych zostały podane na **Rysunku 38**. W stanie S_1 , zgodnie z wynikami analiz solwatochromowych, najbardziej prawdopodobnym kompleksem o stechiometrii 1:1 jest struktura oznaczona jako (4), do której powstania przyczynił się atom azotu N(10) cząsteczki 5DAll. Wyznaczona E_{exHB} wynosi ok. $13 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ i w porównaniu do energii tego samego wiązania w stanie podstawowym zanotowany został wzrost o około $2.7 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$. Przedstawione energie wiązań wodorowych wyznaczone na drodze teoretycznej zostały zawarte w pracy (148).

4.1.2. Spektroskopia i fotofizyka 8-metylo-5-dezaalloksazyny i 9-metylo-5-dezaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych

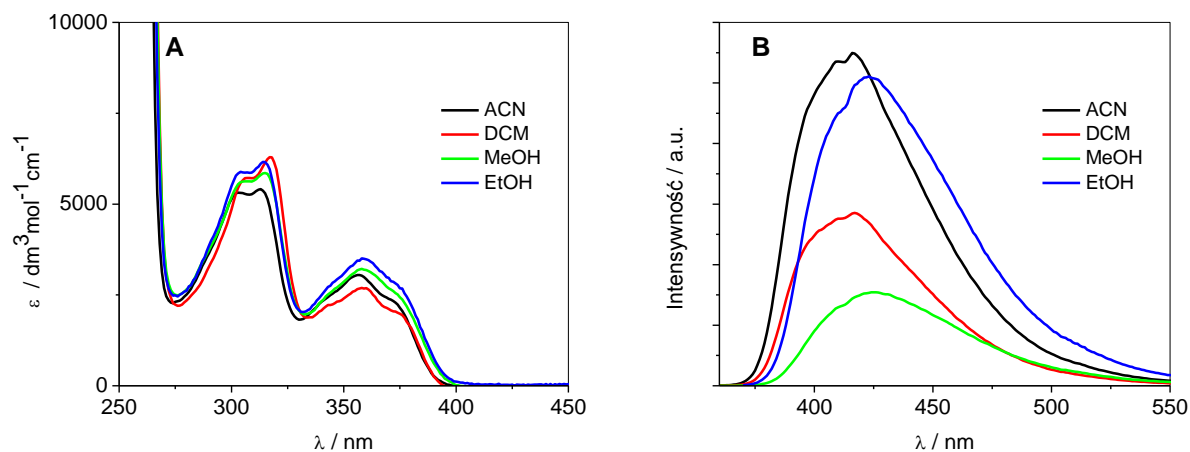
Widma absorpcji i emisji 8Me-5DAll w różnych rozpuszczalnikach organicznych zostały przedstawione na **Rysunku 39**, natomiast dane spektralne dla 9Me-5DAll zostały zawarte na **Rysunku 40**. **Tabele 8** oraz **9** podsumowują dane spektralne i fotofizyczne dla obydwu monometylowych pochodnych 5DAll, wliczając w to: maksima długofalowych pasm absorpcji (λ_1 i λ_2), maksimum fluorescencji w danym rozpuszczalniku (λ_F), wydajność kwantową fluorescencji (Φ_F), czas życia fluorescencji (τ_F), przesunięcie Stokesa ($\Delta\nu$), stałą radiacyjną (k_r) i sumę stałych nieradiacyjnych (Σk_{nr}) dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego. Obydwa monometylowe pochodne 5DAll wykazują w długofalowej części widma absorpcji dwa rozdzielone pasma niezależnie od zastosowanego rozpuszczalnika. Powstanie każdego z tych pasm, zgodnie z wynikami obliczeń teoretycznych jest związane z dwoma niezależnymi przejściami, każde typu $\pi \rightarrow \pi^*$. Zgodnie z danymi literaturowymi (108),

wyżej energetyczne pasma położone w zakresie UV pochodzą od sumy co najmniej dwóch przejść elektronowych, każdego o charakterze $\pi \rightarrow \pi^*$. Dokładne usytuowanie maksimum absorpcji jest uzależnione od pozycji grupy metylowej w pierścieniu 5DA11 oraz zastosowanego rozpuszczalnika. Maksimum pasma o wyższej energii (λ_2) znajduje się pomiędzy 313 nm a 320 nm, przy czym zmiana polarności rozpuszczalnika lub usytuowania grupy metylowej nie wpływa znacząco na zmianę położenia tego pasma. Bardziej wyraźne zmiany zostały odnotowane dla najbardziej długofalowego pasma (λ_1), które można odnaleźć pomiędzy 349 nm a 362 nm. W tym przypadku zmiana usytuowania grupy metylowej z "8" na "9" skutkuje wyraźnym przesunięciem w stronę długofalową, niezależnie od zastosowanego rozpuszczalnika (**Tabela 8 i 9**). Obydwie badane monometylowe pochodne 5DA11 wykazują typowe dla alloksazyn i 5-dezaalloksazyn widma fluorescencji, które składają się z pojedynczego pasma o Gaussianowskim kształcie, niekiedy można odnotować ich strukturę pojawiającą się po krótkofalowej stronie, szczególnie w aprotycznych rozpuszczalnikach, takich jak dichlorometan. Użycie różnych długości fal promieniowania wzbudzającego nie powodowało istotnych zmian w widmach fluorescencji, poza modyfikacją intensywności. Widma wzbudzenia emisji dobrze odzwierciedlały długofalowe pasma w widmach absorpcji. Dokładne usytuowanie maksimum fluorescencji jest uzależnione od usytuowania grupy metylowej w pierścieniu 5DA11 oraz zastosowanego rozpuszczalnika. Maksima fluorescencji dla obydwu cząsteczek można odnaleźć w przedziale od 401 nm do 425 nm. Podobnie jak przy diskutowanych wyżej parametrach absorpcyjnych, również w przypadku λ_F można odnotować batochromowe przesunięcia dla 9Me-5DA11 w porównaniu do 8Me-5DA11. Z kolei porównując daną monometylową pochodną 5DA11 w różnych rozpuszczalnikach (protycznych, aprotycznych) można stwierdzić, iż długofalowe przesunięcia maksimum fluorescencji występują dla rozpuszczalników protycznych, dla przykładu, λ_F 8Me-5DA11 w DCM: 403 nm, natomiast w MeOH: 410 nm (**Tabela 8 oraz 9**). Jest to zgodne z prawidłowościami znanymi dla alloksazyn, mianowicie przesunięcia maksimum fluorescencji w alkoholach są spowodowane wytworzeniem wiązań wodorowych pomiędzy cząsteczkami alloksazyny (tutaj pochodnej 5-dezaalloksazyny) a alkoholem, które w stanie wzbudzonym skutkują obniżeniem energii fluorescencji w porównaniu do sytuacji gdy pochodna 5DA11 znajduje się w układzie aprotycznym. Wyznaczone wartości wydajności kwantowych fluorescencji wskazują, iż fluorescencja jest ważnym kanałem dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego; porównanie wartości Φ_F dla 8Me-5DA11 i 9Me-5DA11 w tym samym rozpuszczalniku wskazuje, iż obecność grupy metylowej w pozycji "8" powoduje obniżenie wartości Φ_F prawie dwukrotnie w porównaniu do sytuacji gdy grupa

metylowa znajduje się w pozycji "9" (Tabela 8 oraz 9). Ponadto, można odnotować interesujący wpływ rodzaju zastosowanego rozpuszczalnika na wartości Φ_F , mianowicie zarówno dla 8Me-5DAII jak i 9Me-5DAII zdecydowanie wyższe wartości odnotowano w rozpuszczalnikach protocznych w porównaniu z rozpuszczalnikami aprotocznymi, dla przykładu 9Me-5DAII w DCM (0.25), natomiast w MeOH (0.31).



Rysunek 39. **A** - widma absorpcji 8Me-5DAII w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, **B** - widma emisji 8Me-5DAII w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$), na podstawie (149).



Rysunek 40. **A** - widma absorpcji 9Me-5DAII w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, **B** - widma emisji 9Me-5DAII w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$), na podstawie (149).

Tabela 8. Dane spektralne i fotofizyczne dla monometylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny: 8Me-5DAll i 9Me-5DAll w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, na podstawie (149).

Rozp.	Związek	λ_1/nm	λ_2/nm	λ_F/nm	$\Delta\nu$ / cm^{-1}	Φ_F	τ_F /ns	k_r / 10^8s^{-1}	Σk_{nr} / 10^8s^{-1}
1,4-Diox	8Me-5DAll	351	314	404	3737	0.12	3.2	0.38	2.8
	9Me-5DAll	356	313	416	4051	0.22	6.2	0.36	1.3
CHCl ₃	8Me-5DAll	349	320	407	4083	0.13	2.9	0.45	3.0
	9Me-5DAll	358	319	417	3854	0.29	8.6	0.34	0.82
DCM	8Me-5DAll	349	319	403	3839	0.11	2.9	0.38	3.0
	9Me-5DAll	358	317	417	3952	0.25	8.4	0.29	0.89
AcOEt	8Me-5DAll	351	313	401	3552	0.09	2.9	0.31	3.1
	9Me-5DAll	356	314	416	4051	0.17	5.4	0.32	1.6
DMSO	8Me-5DAll	355	315	409	3719	0.16	2.8	0.56	2.9
	9Me-5DAll	362	316	419	3834	0.22	7.1	0.31	1.1
Acet	8Me-5DAll	352	-	404	3656	0.12	3.1	0.39	2.8
	9Me-5DAll	358	-	416	3894	0.23	6.0	0.38	1.3
ACN	8Me-5DAll	349	315	402	3777	0.14	3.6	0.39	2.4
	9Me-5DAll	356	314	416	3952	0.25	8.1	0.31	0.93

^a λ_1 , λ_2 : maksima absorpcji w długofalowej części widma, λ_F : maksimum fluorescencji, Φ_F : wydajność kwantowa fluorescencji, τ_F : czas życia fluorescencji, $\Delta\nu$: przesunięcie Stokesa, k_r : stała radiacyjna i Σk_{nr} : suma stałych nieradiacyjnych

Zmierzone zaniki fluorescencji zarówno dla 8Me-5DAll jak i 9Me-5DAll w zadowalający sposób są opisywane poprzez funkcję monoeksponencjalną, natomiast wyznaczone czasy życia fluorescencji (τ_F) są zdecydowanie dłuższe niż dla analogicznych pochodnych o strukturze alloksazynowej (50). Porównanie wartości τ_F przedstawionych w **Tabeli 8** oraz **9** wskazuje, że najkrótsze τ_F odnotowano dla 8Me-5DAll w rozpuszczalnikach aprotycznych, a najdłuższe τ_F dla 9Me-5DAll w rozpuszczalnikach protycznych. Ponadto, usytuowanie grupy metylowej w pierścieniu 5DAll wpływa istotnie na wartości τ_F zwłaszcza w różnych alkoholach. W przypadku 9Me-5DAll obserwuje się prawie trzykrotnie dłuższe czasy życia fluorescencji w porównaniu do 8Me-5DAll, dla przykładu w MeOH, τ_F dla 8Me-5DAll: 4.25 ns, natomiast dla 9Me-5DAll: 11.04 ns (**Tabela 8** oraz **9**). Wyliczone wartości stałej radiacyjnej oraz sumy nieradiacyjnych dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego wskazują na dominację procesów nieradiacyjnych zarówno dla 8Me-5DAll jak i 9Me-5DAll.

Tabela 9. Dane spektralne i fotofizyczne dla monometylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny: 8Me-5DAI i 9Me-5DAI w alkoholach, na podstawie (149).

Rozp.	Związek	λ_1/nm	λ_2/nm	λ_F/nm	$\Delta\nu$ / cm^{-1}	Φ_F	τ_F/ns	k_r / 10^8s^{-1}	Σk_{nr} / 10^8s^{-1}
1-HeOH	8Me-5DAI	353	317	410	3938	0.18	4.2	0.43	1.9
	9Me-5DAI	361	317	423	4060	0.30	11.2	0.27	0.63
1-PeOH	8Me-5DAI	353	318	409	3878	0.17	4.2	0.41	2.0
	9Me-5DAI	362	317	422	3927	0.32	11.2	0.29	0.61
2-BuOH	8Me-5DAI	354	313	411	3917	0.19	4.2	0.48	1.9
	9Me-5DAI	362	320	423	3983	0.38	12.1	0.31	0.51
1-BuOH	8Me-5DAI	353	317	410	4018	0.18	4.2	0.43	2.0
	9Me-5DAI	361	317	425	4171	0.41	13.7	0.30	0.43
1-PrOH	8Me-5DAI	353	318	408	3818	0.17	4.2	0.40	2.0
	9Me-5DAI	360	317	423	4137	0.31	11.3	0.27	0.61
2-PrOH	8Me-5DAI	352	317	409	3959	0.19	4.0	0.47	2.0
	9Me-5DAI	359	316	421	4024	0.36	10.3	0.35	0.62
EtOH	8Me-5DAI	352	316	409	3959	0.16	4.3	0.38	2.0
	9Me-5DAI	358	314	423	4137	0.31	11.0	0.28	0.63
MeOH	8Me-5DAI	351	316	410	4099	0.16	4.5	0.35	1.8
	9Me-5DAI	358	315	425	4380	0.31	12.6	0.25	0.55

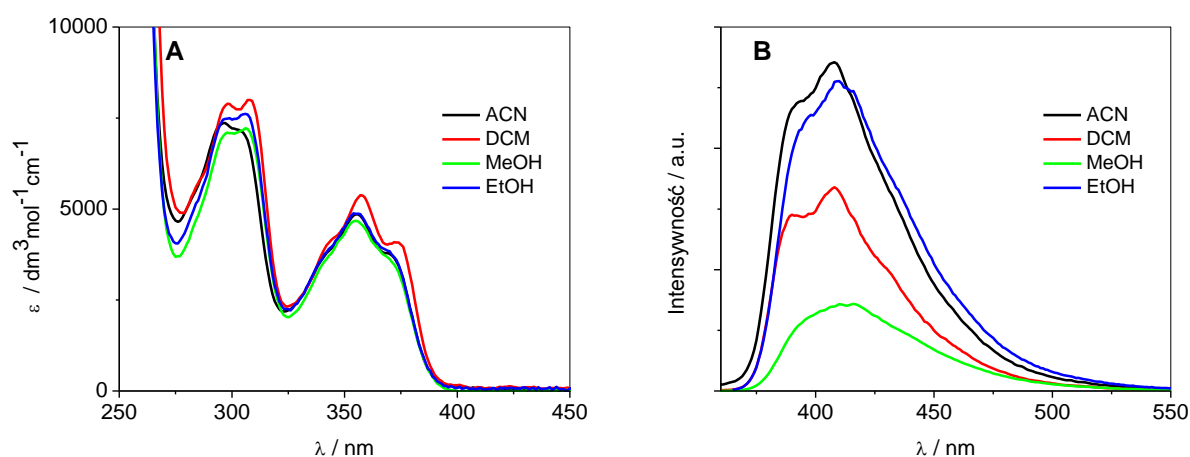
^a λ_1 , λ_2 : maksima absorpcji w długofalowej części widma, λ_F : maksimum fluorescencji, Φ_F : wydajność kwantowa fluorescencji, τ_F : czas życia fluorescencji, $\Delta\nu$: przesunięcie Stokesa, k_r : stała radiacyjna i Σk_{nr} : suma stałych nieradiacyjnych

4.1.3. Spektroskopia i fotofizyka 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych

Przedstawicielem dimetylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny, której właściwości zostaną opisane w obecnym podrozdziale, jest 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyna (13Me-5DAI). Ze względu na obecność dwóch grup metyloowych przy atomach azotu N(1) i N(3), cząsteczka ta stanowi ważny układ modelowy w badaniach reakcji podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym w obecności molekuł zdolnych do tworzenia wiązań wodorowych, takich jak kwas octowy lub pirydyna oraz w przypadku możliwości tworzenia wiązań wodorowych, w których są zaangażowane wspomniane atomy azotu. Widma absorpcji i emisji w wybranych rozpuszczalnikach organicznych dla 13Me-5DAI zostały przedstawione na **Rysunku 41**, natomiast charakterystyka spektralna i fotofizyczna została zawarta w **Tabeli 10**. W widmach absorpcji, niezależnie od rodzaju zastosowanego rozpuszczalnika, można wyróżnić w długofalowej części widma dwa dobrze rozseparowane

pasma absorpcji, dla których maksima są nieznacznie modyfikowane przez charakter rozpuszczalnika. Podobnie jak w przypadku 5-deazaalloksazyny oraz jej monometylowych pochodnych (8Me-5DAI, 9Me-5DAI), których właściwości spektralne i fotofizyczne zostały opisane w poprzednich podrozdziałach, za obecność dwóch pasm w widmach absorpcji 13Me-5DAI odpowiadają dwa niezależne przejścia o charakterze π, π^* . Biorąc pod uwagę rozpuszczalniki: dichlorometan, acetonitryl, metanol i etanol odpowiednie maksima absorpcji są zlokalizowane pomiędzy 355 nm - 357 nm (λ_1) oraz 298 nm - 308 nm (λ_2). Zmiana polarności rozpuszczalnika powoduje praktycznie nieznaczną modyfikację w położeniu maksimum absorpcji λ_1 , niewiele większe zmiany są notowane w położeniu pasma λ_2 . Porównanie parametrów absorpcyjnych dla 5DAI oraz 13Me5DAI wskazuje, iż w przypadku podstawienia grupami metylowymi przy atomach azotu N(1) i N(3) obserwuje się raczej nieznaczne zmiany w przebiegu widm absorpcji w tym samym rozpuszczalniku. Przesunięcia ku dłuższym falom, zarówno w przypadku λ_1 jak i λ_2 , zostały zaobserwowane dla 13Me-5DAI w porównaniu do 5DAI w tym samym rozpuszczalniku. Dla przykładu, w acetonitrylu odnotowano położenie λ_1 i λ_2 dla 5DAI przy: 351 nm i 296 nm natomiast dla 13Me-5DAI odpowiednio przy: 355 nm i 298 nm (**Tabela 7** oraz **10**). W widmach fluorescencji 13Me-5DAI (**Rysunek 41**), podobnie jak w przypadku 5DAI oraz jej monometylowych pochodnych, odnotowano obecność jednego pasma niezależnie od zastosowanej długości fali promieniowania wzbudzającego oraz rozpuszczalnika. Zmiana rozpuszczalnika powoduje nieznaczne zmiany w usytuowaniu λ_F . W zastosowanych rozpuszczalnikach maksima fluorescencji są notowane pomiędzy 408 nm a 416 nm (**Tabela 10**), przy czym najbardziej długofalowe przesunięcie zostało zanotowane w przypadku zastosowania metanolu. Podobnie, porównanie maksimów fluorescencji 5-deazaalloksazyny i 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny w tych samych rozpuszczalnikach wskazuje, iż zastąpienie atomów wodoru (5DAI) przez grupy metylowe (13Me-5DAI) przy atomach azotu N(1) i N(3) nie powoduje istotnych zmian w położeniu maksimów fluorescencji w tych samych rozpuszczalnikach, dla przykładu, w acetonitrylu λ_F są notowane dla 5DAI i 13Me-5DAI odpowiednio przy: 405 nm i 408 nm, natomiast w metanolu dla obydwu cząsteczek odnotowano tą samą wartość λ_F (416 nm). Z wyznaczonych wartości wydajności kwantowych fluorescencji (Φ_F) dla 13Me-5DAI w różnych rozpuszczalnikach organicznych wynika, iż fluorescencja jest ważnym kanałem dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego. Spośród zastosowanych rozpuszczalników, najniższą wartość Φ_F odnotowano w dichlorometanie (0.03), natomiast najwyższą w etanolu (0.14). Przyrównanie z danymi dotyczącymi wydajności kwantowej fluorescencji 5DAI w tych samych

rozpuszczalnikach organicznych wskazuje, że 5DAII charakteryzują wyższe wartości Φ_F w porównaniu z 13Me-5DAII. Dla przykładu, w etanolu odpowiednio wartości Φ_F wynoszą 0.21 (5DAII) oraz 0.14 (13Me-5DAII). Dla 13Me-5DAII zostały zmierzone czasy życia fluorescencji (τ_F) w różnych rozpuszczalnikach organicznych. Porównanie wartości czasów życia fluorescencji dla 13Me-5DAII w różnych rozpuszczalnikach wskazuje na podobną zależność jaką odnotowano dla 5DAII, mianowicie w alkoholach czas życia fluorescencji jest dłuższy w porównaniu do innych rozpuszczalników (aprotycznych): 3.4 ns (w metanolu) oraz 2.0 ns (w dichlorometanie). Z przedstawionych danych w **Tabeli 10** wynika, iż w dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego dominują procesy nieradiacyjne. Najwyższą wartość stałej radiacyjnej dla 13Me-5DAII odnotowano w przypadku zastosowania acetonitrylu, natomiast najniższą dla dichlorometanu. Nieco odmienna tendencja jest obserwowana dla sumy stałych nieradiacyjnych. W tym przypadku procesy nieradiacyjne dominują w dichlorometanie natomiast najniższa wartość Σk_r dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego dla 13Me-5DAII została odnotowana w metanolu.



Rysunek 41. A - widma absorpcji 1,3-dimetylo-5-dezaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, B - widma emisji 1,3-dimetylo-5-dezaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{\text{exc}} = 350$ nm), na podstawie (148).

Tabela 10. Dane spektralne i fotofizyczne dla 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, na podstawie (148).

Rozp.	λ_1/nm^a	λ_2/nm^a	λ_F/nm	Φ_F	τ_F /ns	k_r / 10^8s^{-1}	Σk_{nr} / 10^8s^{-1}
DCM	357	308	408	0.03	2.0	0.15	4.8
ACN	355	298	408	0.13	2.4	0.54	3.6
EtOH	356	306	409	0.14	3.2	0.44	2.7
MeOH	355	307	416	0.12	3.4	0.35	2.6

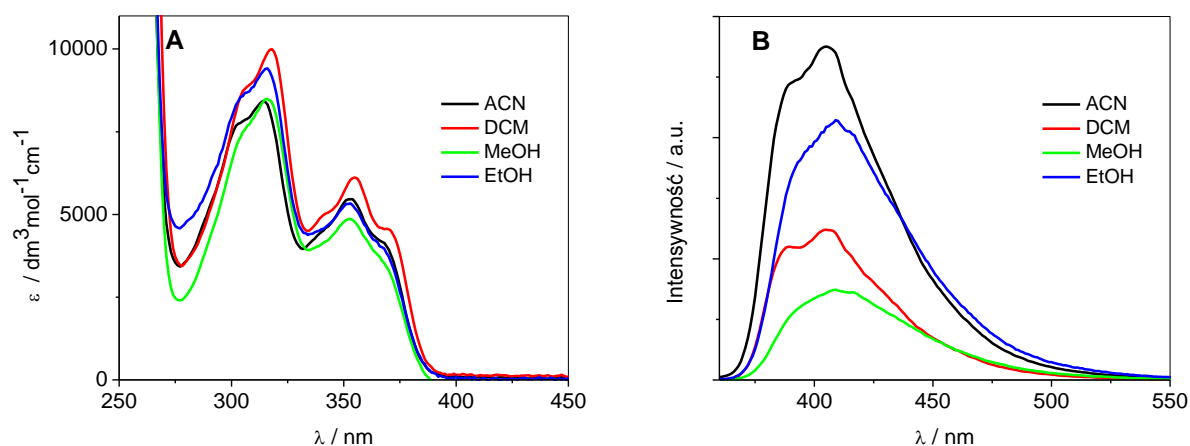
^a λ_1, λ_2 : maksima absorpcji w długofalowej części widma, λ_F : maksimum fluorescencji, Φ_F : wydajność kwantowa fluorescencji, τ_F : czas życia fluorescencji, k_r : stała radiacyjna i Σk_{nr} : suma stałych nieradiacyjnych

4.1.4. Spektroskopia i fotofizyka 1,3,8-trimetylo-5-deazaalloksazyny oraz 1,3,9-trimetylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych

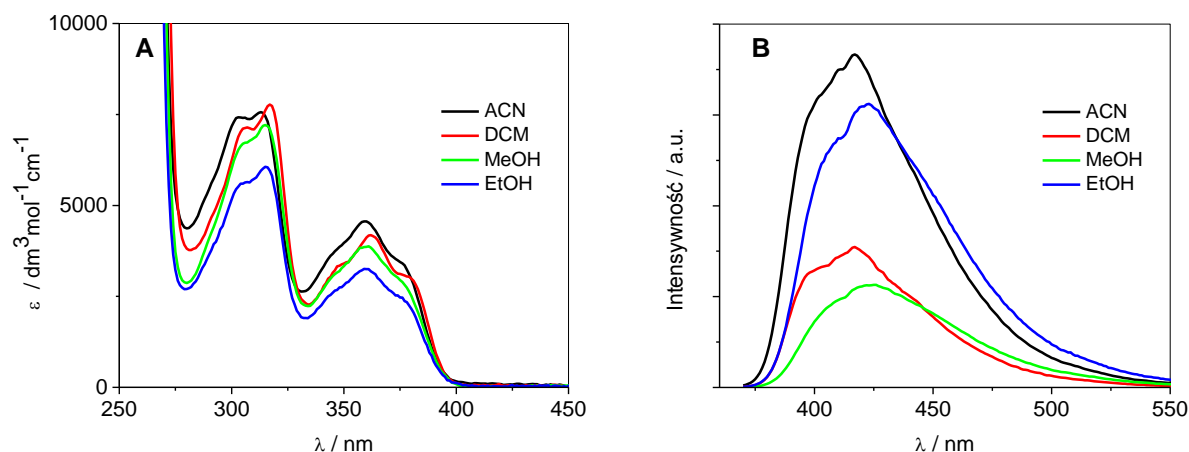
Spośród trimetylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny, charakterystyka spektralna i fotofizyczna została przeprowadzona dla dwóch cząsteczek, mianowicie: 1,3,8-trimetylo-5-deazaalloksazyny (138Me-5DAll) oraz 1,3,9-trimetylo-5-deazaalloksazyny (139Me-5DAll). Wybrane dane fotofizyczne zostały porównane z literaturowymi informacjami dostępnymi dla analogicznych alloksazyn, mianowicie: 1,3,8-trimetyloalloksazyny (138MeAll) oraz 1,3,9-trimetyloalloksazyny (139MeAll). Widma absorpcji i emisji dla 138Me-5DAll oraz 139Me-5DAll w wybranych rozpuszczalnikach organicznych o różnej polarności zostały przedstawione na **Rysunkach 42** oraz **43**, natomiast parametry absorpcyjne, emisyjne oraz dane fotofizyczne dla badanych trimetylowych pochodnych 5DAll zostały zawarte w **Tabeli 11**.

W widmach absorpcji 138Me-5DAll oraz 139Me-5DAll, w ich długofalowej części, można wyróżnić dwa charakterystyczne pasma absorpcji, których maksima są zależne od zastosowanego rozpuszczalnika oraz usytuowania grup metylowych w pierścieniu 5-deazaalloksazynowym. Podobnie jak we wcześniej omawianych cząsteczkach, obliczenia teoretyczne energii przejść singlet \rightarrow singlet wskazują, iż za dwa rozdzielone pasma absorpcji odpowiadają dwa niezależne przejścia elektronowe o charakterze π, π^* . Biorąc pod uwagę rozpuszczalniki: chloroform, dichlorometan, acetonitryl, 2-propanol, etanol i metanol, zgodnie z danymi przedstawionymi na **Rysunkach 42** oraz **43** oraz w **Tabeli 11**, odpowiednie maksima absorpcji są zlokalizowane przy około 360 nm (λ_1) oraz przy około 315 nm (λ_2). Zmiana charakteru rozpuszczalnika wpływa jedynie nieznacznie na przesunięcia maksimów absorpcji obydwu długofalowych pasm absorpcji zarówno dla 138Me-5DAll oraz 139Me-5DAll. Dla przykładu, dla 138Me-5DAll w dichlorometanie zanotowano położenie λ_1

oraz λ_2 odpowiednio przy: 355 nm oraz 318 nm, natomiast jednocześnie dla tej samej cząsteczki w metanolu położenie λ_1 oraz λ_2 występuje przy 352 nm oraz 316 nm. Analogiczne zależności można znaleźć dla 139Me-5DAll. Jednakże, położenie maksimum absorpcji (λ_1) jest modulowane przez usytuowanie grupy metylowej w pierścieniu 5-deazaalloksazynowym (w pozycji "8" lub "9"). Generalnie obserwuje się przesunięcia ku dłuższym falom dla pochodnej 139Me-5DAll w porównaniu do 138Me-5DAll w tym samym rozpuszczalniku, dla przykładu położenie λ_1 w etanolu dla 138Me-5DAll odnotowano przy 353 nm, natomiast dla 139Me-5DAll przy 359 nm (**Tabela 11**). Jednakże zmiana położenia grupy metylowej pomiędzy pozycje "8" a "9" praktycznie nie wpływa na usytuowanie maksimum absorpcji λ_2 w tym samym rozpuszczalniku. Porównanie parametrów absorpcyjnych dla 138Me-5DAll oraz 139Me-5DAll z danymi dostępnymi literaturowo dla 138Me-All oraz 139Me-All niesie podobne informacje do wcześniej diskutowanych np. dla 5-deazaalloksazyny i alloksazyny, mianowicie w przypadku pochodnych trimetylo- podstawionych alloksazyn notowane są przesunięcia ku dłuższym falom zarówno λ_1 jak i λ_2 w tym samym rozpuszczalniku w porównaniu do analogicznych trimetylo- podstawionych 5-deazaalloksazyn. Dla przykładu, w metanolu odnotowano położenie λ_1 i λ_2 dla 138Me-5DAll przy: 352 nm i 316 nm natomiast dla 138MeAll odpowiednio przy: 386 nm i 343 nm (**Tabela 11**). Widma fluorescencji trimetylowych pochodnych 5DAll wykazują typowy kształt do wcześniej obserwowanych dla 5-deazaalloksazyny i jej prostszych pochodnych. Odnotowano obecność jednego pasma niezależnie od zastosowanej długości fali promieniowania wzbudzającego oraz charakteru zastosowanego rozpuszczalnika. Maksima fluorescencji (λ_F) dla 138Me-5DAll pojawiają się przy około 408 nm, natomiast dla 139Me-5DAll przy około 420 nm. Zastosowany rozpuszczalnik nieznacznie modyfikuje położenie λ_F zarówno dla 138Me-5DAll jak i 139Me-5DAll, jednak znacznie bardziej widoczną zmianę przynosi zmiana usytuowania grupy metylowej z pozycji "8" na "9". Nieznaczne przesunięcia ku dłuższym falom odnotowano przy zastosowaniu jako rozpuszczalnika alkoholi w porównaniu do innych, aprotycznych rozpuszczalników, w szczególności dla 139Me-5DAll. Dla przykładu w chloroformie odnotowano λ_F dla 139Me-5DAll przy 417 nm, natomiast w 2-propanolu przy 421 nm. Podobnie do przeprowadzonych wcześniej porównań położenia maksimów fluorescencji dla alloksazyn i 5-deazaalloksazyn, maksima fluorescencji trimetylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny i analogicznych trimetylowych alloksazyn w tych samych rozpuszczalnikach wskazują, iż dla alloksazyny notowane są przesunięcia ku dłuższym falom, i tak, w acetonitrylu λ_F są notowane dla 139Me-5DAll i 139MeAll odpowiednio przy: 417 nm i 451 nm.



Rysunek 42. A - widma absorpcji 1,3,8-trimetylo-5-dezaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, B - widma emisji 1,3,8-trimetylo-5-dezaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$), na podstawie (147).



Rysunek 43. A - widma absorpcji 1,3,9-trimetylo-5-dezaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, B - widma emisji 1,3,9-trimetylo-5-dezaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$), na podstawie (147).

Generalnie, wyliczone wartości wydajności kwantowych fluorescencji (Φ_F) dla trimetylowych pochodnych 5DAII w różnych rozpuszczalnikach organicznych są raczej wysokie, w zależności od pochodnej i zastosowanego rozpuszczalnika mieszczą się w zakresie od 0.02 do 0.27. Wyższe wartości wydajności kwantowej fluorescencji odnotowano w alkoholach w porównaniu do innych rozpuszczalników (aprotycznych). 138Me-5DAII wykazuje niższe wartości Φ_F w porównaniu do wyznaczonych dla 139Me-5DAII w tych samych warunkach, dla przykładu w metanolu odnotowano Φ_F dla 138Me-5DAII: 0.14 oraz 139Me-5DAII: 0.28. Porównanie odpowiednich wartości Φ_F dla trimetyloalloksazyn i analogicznych trimetylowych 5-dezaalloksazyn wskazują na podobne prawidłowości, które

zanotowano dla wcześniej opisanych prostszych pochodnych 5-deazaalloksazyny, mianowicie, fluorescencja jest zdecydowanie bardziej uprzywilejowana dla trimetylowych pochodnych 5DAll w porównaniu do analogicznych trimetylowych pochodnych alloksazyny praktycznie we wszystkich stosowanych rozpuszczalnikach (**Tabela 11**).

Tabela 11. Dane spektralne i fotofizyczne dla trimetylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny: 138Me-5DAll i 139Me-5DAll w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, dla porównania w dichlorometanie, acetonitrylu i metanolu podano odpowiednie dane dla 1,3,8-trimetyloalloksazyny oraz 1,3,9-trimetyloalloksazyny

Rozp.	Związek	λ_1/nm^a	λ_2/nm^a	λ_F/nm	Φ_F	τ_F /ns	k_r / 10^8s^{-1}	Σk_{nr} / 10^8s^{-1}
CHCl ₃	138Me-5DAll	355	318	406	0.11	2.2	0.50	4.0
	139Me-5DAll	362	318	417	0.17	3.9	0.43	2.1
CH ₂ Cl ₂	138Me-5DAll	355	318	405	0.02	2.0	0.09	4.9
	138MeAll^b	381	344	434	0.02	0.4	0.55	26
	139Me-5DAll	362	317	417	0.04	3.9	0.10	2.5
	139MeAll^b	388	341	452	0.02	0.6	0.30	16
ACN	138Me-5DAll	353	314	405	0.14	2.5	0.57	3.5
	138MeAll^b	377	336	433	0.02	0.4	0.50	23
	139Me-5DAll	359	313	417	0.21	4.5	0.47	1.8
	139MeAll^b	384	336	451	0.02	0.8	0.29	13
2-PrOH	138Me-5DAll	353	317	408	0.15	3.0	0.51	2.9
	139Me-5DAll	360	316	421	0.27	6.9	0.39	1.1
EtOH	138Me-5DAll	353	316	409	0.15	3.0	0.49	2.8
	139Me-5DAll	359	315	423	0.26	7.3	0.36	1.0
MeOH	138Me-5DAll	352	316	409	0.14	2.8	0.50	3.1
	138MeAll^b	386	343	441	0.03	0.7	0.44	15
	139Me-5DAll	361	315	425	0.28	7.9	0.35	0.91
	139MeAll^b	380	339	465	0.03	1.3	0.20	7.5

^a λ_1 , λ_2 : maksima absorpcji w długofalowej części widma, λ_F : maksimum fluorescencji, Φ_F : wydajność kwantowa fluorescencji, τ_F : czas życia fluorescencji, k_r : stała radiacyjna i Σk_{nr} : suma stałych nieradiacyjnych ^b na podstawie (170).

Dla przykładu, w acetonitrylu odpowiednie wartości Φ_F dla 138Me-5DAll: 0.14 oraz dla 138MeAll: 0.02. Zmierzone zaniki fluorescencji dla 138Me-5DAll oraz 139Me-5DAll dobrze opisuje funkcja monoeksponencjalna. Czasy życia fluorescencji (τ_F) są krótsze dla 138Me-5DAll w porównaniu do 139Me-5DAll w tym samym rozpuszczalniku. Jednakże, dla obydwu trimetylowych pochodnych 5DAll odnotowane czasy życia są dłuższe niż dla analogicznych trimetylowych pochodnych alloksazyny, więc w dichlorometanie 139Me-5DAll i 139MeAll

wykazują τ_F odpowiednio: 3.87 ns oraz 0.61 ns. Porównanie wartości czasów życia fluorescencji dla 138Me-5DAll i 139Me-5DAll w różnych rozpuszczalnikach wskazuje, iż w alkoholach czasy życia fluorescencji są dłuższe w porównaniu do innych rozpuszczalników (aprotycznych): 7.90 ns (w metanolu) oraz 3.92 ns (w chloroformie) dla 139Me-5DAll. Wyliczone stałe szybkości radiacyjnej i nieradiacyjnej dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego wskazują, iż w dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego obydwu trimetylowych pochodnych 5DAll dominują procesy nieradiacyjne. Wartości sumy stałych szybkości nieradiacyjnych dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego są zdecydowanie wyższe dla rozpuszczalników aprotycznych w porównaniu do protycznych.

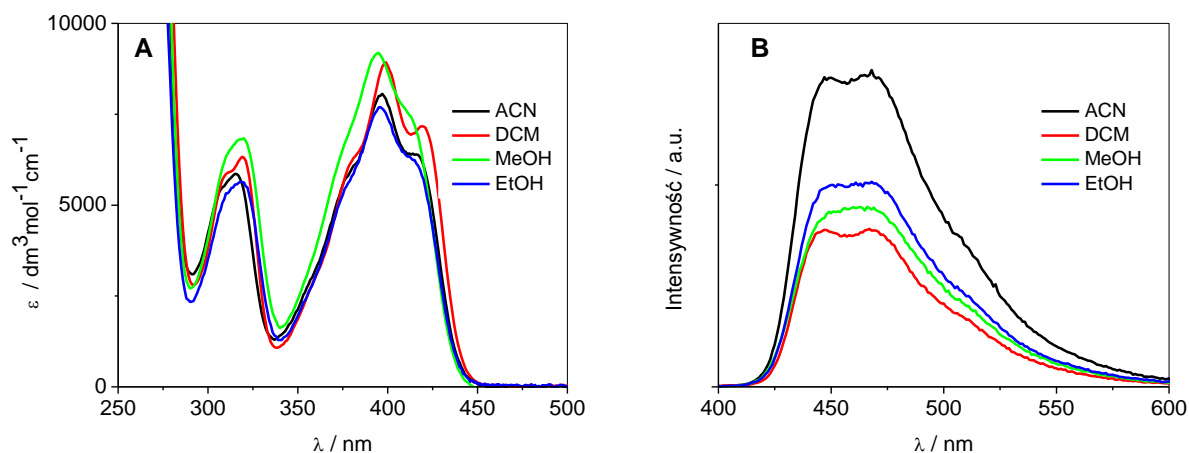
4.1.5. Spektroskopia i fotofizyka 10-etylo-5-deazaizoalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych

Cząsteczka 10-etylo-5-deazaizoalloksazyny (10Et-5DIzoAll) stanowi modelową strukturę 5-deazaizoalloksazyny (5-deazaflawin), której charakterystyka spektralna i fotofizyczna została opisana w obecnym podrozdziale, głównie w celu ukazania różnic pomiędzy 5-deazaalloksazynami a 5-deazaizoalloksazynami. Ze względu na swoją deazaizoalloksazynową strukturę, cząsteczka ta stanowi doskonały układ modelowy w badaniach reakcji podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym dla pochodnych 5-deazaalloksazyny.

Widma absorpcji i emisji w wybranych rozpuszczalnikach organicznych dla 10Et-5DIzoAll zostały przedstawione na **Rysunku 44** natomiast charakterystyka spektralna i fotofizyczna w różnych rozpuszczalnikach organicznych została zawarta w **Tabeli 12**. W porównaniu do pochodnych o strukturze 5-deazaalloksazyny, cząsteczka 10Et-5DIzoAll wymaga mniejszej energii do przeprowadzenia procesu wzbudzenia, innymi słowy w widmach absorpcji, niezależnie od rodzaju zastosowanego rozpuszczalnika, notuje się przesunięcia odpowiednich maksimów absorpcji w kierunku dłuższych fal w porównaniu do pochodnych 5DAll. Podobnie do pochodnych 5-deazaalloksazyny, w widmach absorpcji 10Et-5DIzoAll można wyróżnić w długofalowej części widma dwa dobrze rozdzielone pasma absorpcji, których maksima są zlokalizowane w przedziałach od 395 nm do 401 nm (λ_1) oraz od 316 nm do 323 nm (λ_2) w zależności od zastosowanego rozpuszczalnika, jednakże zmiana charakteru i polarności rozpuszczalnika powoduje raczej nieznaczne zmiany w widmach absorpcji. Kolejną cechą wspólną, zgodnie z wynikami obliczeń teoretycznych (szczegółowa dyskusja została zawarta w *podrozdziale 4.3.6*), dla struktury deazaalloksazynowej i deazaizoalloksazynowej jest fakt, że za obecność dwóch pasm w długofalowej części widma absorpcji 10Et-5DIzoAll odpowiadają dwa niezależne przejścia o charakterze π, π^* . Widma

fluorescencji 10Et-5DIzoAll (**Rysunek 44**) zostały zarejestrowane przy $\lambda_{exc} = 370$ nm, podobnie jak w przypadku 5DAll oraz jej monometylowych pochodnych, odnotowano obecność jednego pasma niezależnie od zastosowanej długości fali promieniowania wzbudzającego oraz rozpuszczalnika. Maksima fluorescencji dla 10Et-5DIzoAll (λ_F) zostały odnotowane w przedziale od 466 nm do 473 nm. W porównaniu do wszystkich badanych pochodnych 5-deazaalloksazyny, maksima fluorescencji dla 10Et-5DIzoAll są notowane przy dłuższych falach, niezależnie od zastosowanego rozpuszczalnika. Zmiana polarności rozpuszczalnika powoduje raczej nieznaczne przesunięcia maksimów fluorescencji, dla przykładu λ_F dla 10Et-5DIzoAll zostały odnotowane przy 466 nm (w metanolu) oraz 468 nm (w dichlorometanie). Wartości wydajności kwantowych fluorescencji (Φ_F) dla 10Et-5DIzoAll w różnych rozpuszczalnikach organicznych pozwalają wnioskować, iż fluorescencja jest ważnym kanałem dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego, jednakże w porównaniu do związków o strukturze 5-deazaalloksazynowej w tych samych rozpuszczalnikach odnotowano generalnie niższe wartości Φ_F . Spośród zastosowanych rozpuszczalników, najniższą wartość Φ_F odnotowano w DMSO (0.02), natomiast najwyższą w ACN (0.16). W porównaniu do 5-deazaalloksazyny oraz jej monometylowych pochodnych: 8Me-5DAll oraz 9Me-5DAll odpowiednie wartości Φ_F w ACN wynosiły: 0.18 (**Tabela 7**) oraz 0.14 i 0.25 (**Tabela 8**). Ciekawe wydaje się porównanie wartości Φ_F dla 10Et-5DIzoAll w alkoholach o różnej polarności - w tym przypadku wartości oscylują pomiędzy 0.06 oraz 0.09. Podobnie jak dla różnych pochodnych 5DAll, zmierzone zaniki fluorescencji w zadowalający sposób opisuje funkcja monoeksponencjalna. Wyznaczone czasy życia fluorescencji (τ_F) dla 10Et-5DIzoAll w różnych rozpuszczalnikach organicznych zostały zawarte w **Tabeli 12**. Porównanie wartości czasów życia fluorescencji dla 10Et-5DIzoAll w różnych rozpuszczalnikach wskazuje, iż zmiana polarności i charakteru rozpuszczalnika wpływa raczej nieznacznie na wartość czasu życia fluorescencji, dla 10Et-5DIzoAll najdłuższy τ_F został odnotowany w 1,4-Diox (4.71 ns), natomiast najkrótszy w DMSO (2.09 ns). Wartości τ_F dla 10Et-5DIzoAll w alkoholach o różnej polarności są praktycznie jednakowe, odpowiednio oscylując pomiędzy 3.51 ns a 3.58 ns. W porównaniu do pochodnych 5DAll w tym samym rozpuszczalniku obserwuje się skrócenie wartości τ_F dla 10Et-5DIzoAll (przykładowo, w MeOH 8Me-5DAll: 4.58 ns, 9Me-5DAll: 12.6 ns, 10Et-5DIzoAll: 3.58 ns). Z danych zawartych w **Tabeli 12** wynika, iż w dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego 10Et-5DIzoAll dominują procesy nieradiacyjne. Jest to kolejna cecha wspólna z pochodnymi o strukturze 5-deazaalloksazynowej. Najwyższą wartość stałej radiacyjnej dla 10Et-5DIzoAll odnotowano w przypadku zastosowania acetonitrylu, natomiast najniższą dla DMSO. W przypadku sumy

stałych nieradiacyjnych dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego obserwuje się nieco inne zależności. Procesy nieradiacyjne dominują w DMSO, natomiast najniższa wartość Σk_r została odnotowana w 1,4-Diox.



Rysunek 44. A - widma absorpcji 10-etylo-5-deazaizoaloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, B - widma emisji 10-etylo-5-deazaizoaloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{exc} = 370$ nm), na podstawie (149).

Tabela 12. Dane spektralne i fotofizyczne dla 10-etylo-5-deazaizoaloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, na podstawie (149).

Rozpuszczalnik	λ_1 /nm	λ_2 /nm	λ_F /nm	$\Delta\nu$ / cm^{-1}	Φ_F	τ_F /ns	k_r / 10^8s^{-1}	Σk_{nr} / 10^8s^{-1}
1,4-Diox	399	317	473	3920	0.12	4.7	0.25	1.9
CHCl_3	399	319	468	3700	0.09	3.3	0.27	2.7
CH_2Cl_2	398	320	468	3600	0.11	3.4	0.32	2.6
AcOEt	401	316	470	3720	0.07	4.6	0.15	2.0
DMSO	397	323	469	3740	0.02	2.1	0.10	4.7
ACN	397	317	467	3650	0.16	4.1	0.40	2.1
1-HeOH	398	320	471	3890	0.07	3.6	0.20	2.6
1-PeOH	397	319	466	3730	0.06	3.5	0.17	2.6
2-BuOH	397	319	466	3730	0.09	3.5	0.26	2.6
1-BuOH	397	319	470	3790	0.09	3.5	0.26	2.6
1-PrOH	397	323	466	3670	0.08	3.5	0.23	2.6
2-PrOH	398	320	468	3700	0.07	3.5	0.20	2.6
EtOH	396	318	468	3900	0.08	3.5	0.23	2.6
MeOH	395	320	466	3790	0.09	3.6	0.25	2.5

^a λ_1 , λ_2 : maksima absorpcji w długofalowej części widma, λ_F : maksimum fluorescencji, Φ_F : wydajność kwantowa fluorescencji, τ_F : czas życia fluorescencji, $\Delta\nu$: przesunięcie Stokesa, k_r : stała radiacyjna i Σk_{nr} : suma stałych nieradiacyjnych

4.1.6. Spektroskopia i fotofizyka pochodnych alloksazyny: 1MeFR i 3MeFR w wybranych rozpuszczalnikach organicznych

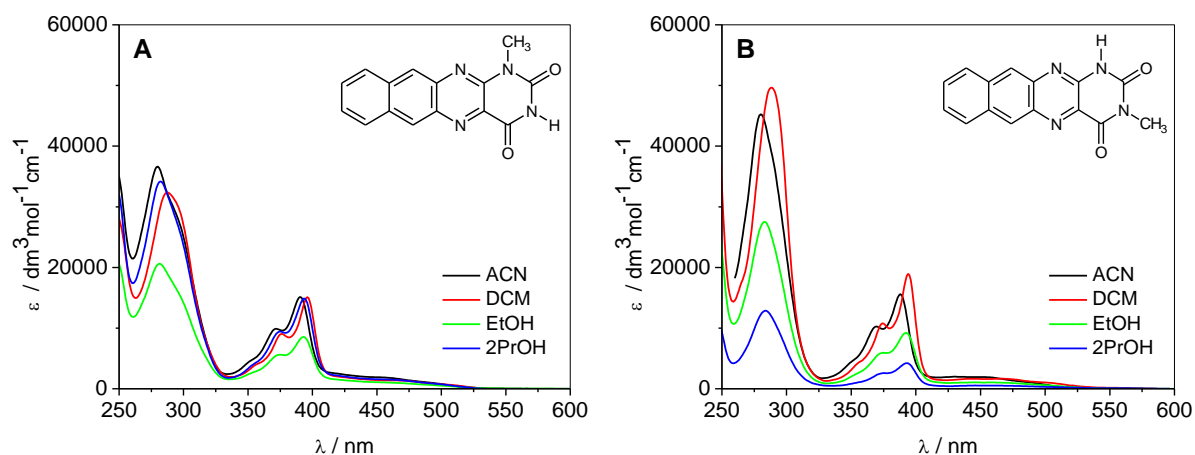
W tym podrozdziale zostanie przedstawiona charakterystyka spektroskopowa i fotofizyczna dwóch pochodnych alloksazyny o budowie czteropierścieniowej, mianowicie: 1-metylnafto[2,3-g]pterydino-2,4(1*H*,3*H*)-dion (1MeFR) oraz 3-metylnafto[2,3-g]pterydino-2,4(1*H*,3*H*)-dion (3MeFR). Badania te stanowią uzupełnienie pracy przeprowadzonej wcześniej dla dwóch innych, zbliżonych strukturalnie pochodnych, mianowicie: nafto[2,3-g]pterydino-2,4(1*H*,3*H*)-dion (FR) oraz 1,3-dimetylnafto[2,3-g]pterydino-2,4(1*H*,3*H*)-dion (13MeFR), które stanowią przedmiot przygotowywanej publikacji⁴. Zarówno badane obecnie związki, jak i analizowane poprzednio: FR i 13MeFR są czerwonymi związkami stosunkowo słabo rozpuszczalnymi w rozpuszczalnikach polarnych i w wodzie. W stosunku do "klasycznych" alloksazyn, które składają się z trzech skondensowanych pierścieni aromatycznych, w tym przypadku układ aromatyczny jest powiększony o dodatkowy pierścień, stąd podstawowy układ aromatyczny dla tych cząsteczek to tetracen. Wszystkie cztery cząsteczki mają bardzo podobną budowę, podstawowa różnica to obecność (lub brak) grupy metylowej przy atomach N(1) i N(3). Cząsteczka o symbolu FR nie posiada grup metylowych przy N(1) i N(3), natomiast cząsteczka o symbolu 13MeFR posiada grupy metylowe zarówno przy N(1) jak i N(3). Kolejne dwie cząsteczki, oznaczone symbolami 1MeFR oraz 3MeFR posiadają grupy metylowe odpowiednio przy atomie azotu N(1) oraz przy N(3). Wydaje się ważnym poznanie i uzupełnienie charakterystyki czteropierścieniowych alloksazyn również o dane dla tych dwóch pochodnych, głównie by móc sprawdzić wpływ obecności grupy metylowej (lub jej braku) przy ważnych dla cząsteczek alloksazyn atomach azotu, jak również w dalszym kontekście badania reakcji podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym.

Widma absorpcji związków: 1MeFR oraz 3MeFR w wybranych rozpuszczalnikach organicznych zostały przedstawione na **Rysunku 45**, natomiast podsumowanie parametrów absorpcyjnych w **Tabeli 13**. W widmach absorpcji obydwu związków można wyróżnić intensywne pasmo absorpcji pochodzące od przejść do wyższych stanów singletowych, natomiast w długofalowej części widma obecne jest szerokie pasmo zlokalizowane pomiędzy 350 nm a 400 nm oraz dodatkowo w zakresie widzialnym pojawia się ramię absorpcji, które jest obecne w widmach obydwu pochodnych niezależnie od zastosowanego rozpuszczalnika.

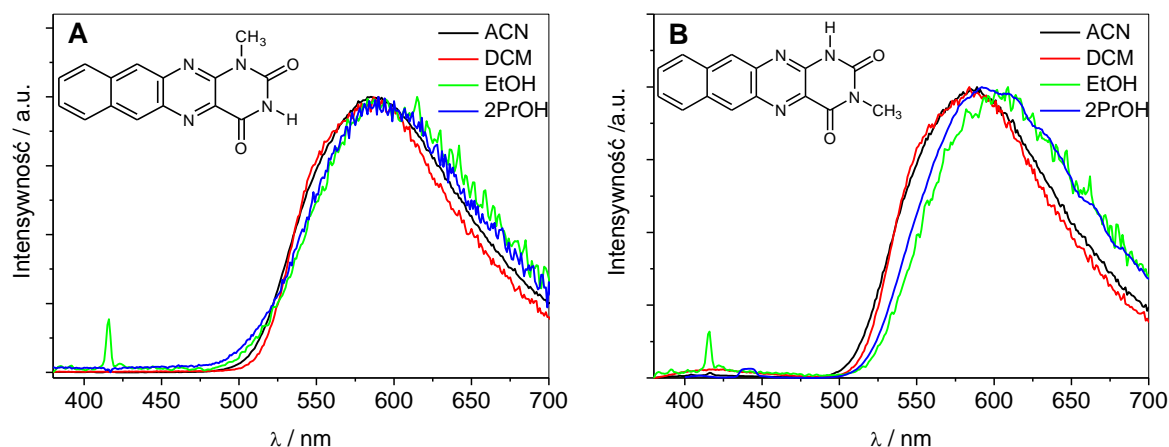
⁴ M. Bruszyńska, M. Insińska-Rak, A. Golczak, M. Gierszewski, D. Prukała, T. Pędziński, P. Ménová, R. Cibulka, M. Sikorski. Spectral and photophysical properties of four-ring alloxazine derivatives. W przygotowaniu

Dokładne położenie pasm absorpcji jest uzależnione od rodzaju pochodnej i użytego rozpuszczalnika. Kształt pasm obecnych w zakresie spektralnym 350 - 400 nm, oznaczonych w **Tabeli 13** poprzez λ_3 i λ_2 pochodzi prawdopodobnie od struktury wibronowej charakterystycznej dla rozbudowanego układu aromatycznego. W porównaniu do klasycznych trójpierścieniowych alloksazyn, pasma absorpcji 1MeFR i 3MeFR są batochromowo przesunięte w każdym ze stosowanych rozpuszczalników. Zgodnie z danymi literaturowymi, najprostsza, trójpierścieniowa alloksazyna posiada dwa pasma absorpcji w długofalowej części widma, których maksima znajdują się przy około 320 nm oraz 375 nm (dokładne położenie jest uzależnione od rodzaju rozpuszczalnika, generalnie obserwuje się batochromowe przesunięcia przy zastosowaniu alkoholi w porównaniu do rozpuszczalników niepolarnych) Zgodnie z wynikami obliczeń teoretycznych, przewidywana energia przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ znajduje się przy 27300 cm^{-1} i ze względu na niską siłę oscylatora ma charakter n, π^* . Natomiast wyliczona energia przewidywanego przejścia $S_0 \rightarrow S_2$ znajduje się przy 28400 cm^{-1} i ma charakter π, π^* (50). Analiza właściwości absorpcyjnych dla 1MeFR i 3MeFR w różnych rozpuszczalnikach wskazuje, że w alkoholach są obecne batochromowe przesunięcia odpowiednich pasm absorpcji w porównaniu do pozostałych rozpuszczalników (zwłaszcza niepolarnych). Wyjątek odnotowano dla najbardziej długofalowego pasma absorpcji (λ_1) cząsteczki 3MeFR - w tym przypadku są obecne batochromowe przesunięcia dla rozpuszczalników polarnych aprotycznych oraz niepolarnych aprotycznych w porównaniu do alkoholi. Kolejnym aspektem jest wpływ podstawienia grupą metylową w pozycji N(1) oraz N(3) na właściwości absorpcyjne. Biorąc pod uwagę dwa rozpuszczalniki o różnej polarności i właściwościach protyczno-aprotycznych, mianowicie metanol i dichlorometan, dla związku 1MeFR maksima absorpcji ($\lambda_3, \lambda_2, \lambda_1$) w MeOH są usytuowane przy 375 nm, 392 nm oraz 450 nm. W tym samym czasie dla 3MeFR w MeOH analogiczne maksima absorpcji odnotowano przy 373 nm, 392 nm oraz 442 nm. Podobne zależności można zauważyć analizując położenia maksimów absorpcji dla 1MeFR oraz 3MeFR w innych alkoholach. W przypadku dichlorometanu, dla 1MeFR odnotowano, w długofalowej części widma absorpcji, maksima przy 376 nm, 396 nm, 444 nm natomiast dla 3MeFR 374 nm, 394 nm, 444 nm. Również w tym przypadku, zmiana podstawienia grupą metylową przy atomie azotu N(1) i N(3) oraz użycie niepolarnego, aprotycznego rozpuszczalnika nie powoduje istotnych zmian w parametrach absorpcyjnych. Badane pochodne alloksazyny wykazują również interesujące właściwości emisyjne, które są jednak odmienne od obserwowanych dla typowych trójpierścieniowych analogicznych alloksazyn. Najważniejszą cechą jest silne batochromowe przesunięcie pasm emisji zarówno dla 1MeFR jak i 3MeFR. Dla przykładu, maksimum

widma fluorescencji zarejestrowanego dla 1MeFR w ACN znajduje się przy 585 nm, natomiast dla najprostszej alloksazyny (All) znajduje się przy 432 nm (50). Widma emisji związków 1MeFR oraz 3MeFR zostały przedstawione na **Rysunku 46** natomiast parametry emisyjne uwzględniające inne rozpuszczalniki zostały przytoczone w **Tabeli 13**.



Rysunek 45. Widma absorpcji związków: 1MeFR (A) i 3MeFR (B) w wybranych rozpuszczalnikach organicznych



Rysunek 46. Widma emisji związków: 1MeFR (A) i 3MeFR (B) w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$).

Generalnie, dla 1MeFR oraz 3MeFR, w widmach emisji można wyróżnić jedno pasmo niezależnie od zastosowanej długości fali promieniowania wzbudzającego, którego maksimum można odnaleźć w przedziale od około 570 nm do około 615 nm. Dokładne usytuowanie maksimum emisji jest uzależnione od badanej pochodnej oraz zastosowanego rozpuszczalnika. W przypadku analizy fluorescencji związków 1MeFR oraz 3MeFR uwidacznia się batochromowe przesunięcia emisji przy zastosowaniu alkoholi jako rozpuszczalników w porównaniu do pozostałych układów, takich jak acetonitryl lub

dichlorometan. Dla przykładu, maksimum emisji związku 1MeFR w dichlorometanie znajduje się przy 589 nm, natomiast w metanolu przy 607 nm. W tym aspekcie badane alloksazyny o budowie czteropierścieniowej wykazują analogiczne zachowanie do typowych trójpierścieniowych alloksazyn. Porównanie maksimum emisji w obrębie stosowanych alkoholi dla 1MeFR oraz 3MeFR wskazuje, iż przesunięcie w kierunku dłuższych fal notowane jest dla związku 3MeFR. Wyznaczone wartości wydajności kwantowych fluorescencji (Φ_F) dla związków 1MeFR oraz 3MeFR są wyraźnie wyższe w stosunku do znanych literaturowo klasycznych trójpierścieniowych alloksazyn (36,51,79,171). Ponadto rodzaj rozpuszczalnika wpływa istotnie na wartość Φ_F dla obydwu związków. Wyznaczona wartości Φ_F dla 1MeFR w metanolu i acetonitrylu wynoszą odpowiednio: 0.01 oraz 0.11 (**Tabela 13**). Podobną tendencję obserwuje się również dla związku 3MeFR. Generalnie zastosowanie protycznego, polarnego rozpuszczalnika (alkoholu) powoduje znaczne obniżenie wartości wydajności kwantowych fluorescencji zarówno dla 1MeFR jak również 3MeFR. W miarę obniżania polarności używanych alkoholi, wartości Φ_F zwiększają się, dla przykładu związek 3MeFR w MeOH: 0.01, natomiast w butan-1-olu: 0.03 (**Tabela 13**). Dodatkowo, porównanie wartości wydajności kwantowych fluorescencji dla 1MeFR i 3MeFR w tych samych rozpuszczalnikach wskazuje, iż są one do siebie bardzo zbliżone; tym samym zmiana podstawienia grupą metylową przy N(1) i N(3) nie wpływa wyraźnie na zmianę we fluorescencji cząsteczek. Dla przykładu, wyznaczone w dichlorometanie wartości Φ_F wynoszą dla 1MeFR oraz 3MeFR odpowiednio 0.17 oraz 0.18 (**Tabela 13**). Zarejestrowane zaniki fluorescencji dla obydwu cząsteczek w zadowalającym stopniu opisuje funkcja monoeksponencjalna. Czasy życia (τ_F) wyznaczone dla 1MeFR oraz 3MeFR są stosunkowo długie, głównie w rozpuszczalnikach aprotycznych, natomiast krótsze wartości odnotowano w alkoholach. Dla przykładu, wartości τ_F dla 1MeFR w DCM oraz MeOH wynoszą odpowiednio 26 ns oraz 2.9 ns. Wśród alkoholi najdłuższy czas życia został odnotowany dla 3MeFR w pentan-1-olu (7.3 ns) oraz dla 1MeFR w 2-propanolu (6.7 ns). Jednocześnie, najkrótszy czas życia wśród alkoholi odnotowano dla metanolu; odpowiednio 1MeFR (2.9 ns) oraz dla 3MeFR (3.9 ns). Porównanie wartości czasów życia fluorescencji dla 1MeFR i 3MeFR w tych samych rozpuszczalnikach wskazuje, iż zmiana usytuowania grupy metylowej przy atomach N(1) oraz N(3) nie wpływa znacznie na wartość τ_F , dla przykładu w DMSO czas życia fluorescencji 1MeFR wynosi 19.1 ns natomiast dla 3MeFR 19.3 ns. Jakkolwiek w kilku przypadkach odnotowano nieco bardziej znaczące zmiany, w szczególności przy zastosowaniu chloroformu (1MeFR: 25.3 ns oraz 3MeFR: 31.7 ns), dichlorometanu (1MeFR:

26 ns oraz 3MeFR: 33.7 ns) acetonu (1MeFR: 30.3 ns oraz 3MeFR: 20.5 ns), octanu etylu (1MeFR: 25.5 ns oraz 3MeFR: 33.3 ns).

Tabela 13. Dane spektralne i fotofizyczne dla 1MeFR i 3MeFR w wybranych rozpuszczalnikach organicznych

Związek	Rozp.	λ_3 /nm	λ_2 /nm	λ_1 /nm	λ_F /nm	Φ_F	τ_F /ns	k_r / $10^8 s^{-1}$	Σk_{nr} / $10^8 s^{-1}$
1MeFR	DMSO	373	390	449	584	0.10	19.1	0.05	0.47
	Chloroform	378	398	472	595	0.15	25.3	0.06	0.34
	DCM	376	396	444	589	0.17	26	0.06	0.32
	HMPA	376	390	455	577	0.02	3.8	0.06	2.6
	PrCN	371	390	460	578	0.19	27.7	0.07	0.29
	ACN	372	391	452	585	0.11	21.5	0.05	0.41
	Acet	370	389	450	579	0.19	30.3	0.06	0.27
	DMF	373	388	448	575	0.12	25.7	0.05	0.34
	AcOEt	370	389	450	573	0.18	25.5	0.07	0.32
	MeOH	375	392	450	607	0.01	2.9	0.03	3.4
	EtOH	375	393	460	593	0.02	4.9	0.05	2.0
	1-PrOH	375	394	465	590	0.03	5.4	0.05	1.8
	2-PrOH	375	394	464	590	0.02	6.7	0.03	1.5
	1-BuOH	376	395	466	589	0.03	5.7	0.05	1.7
1-PeOH	376	395	460	595	0.03	5.9	0.06	1.7	
3MeFR	DMSO	375	391	452	594	0.11	19.3	0.06	0.46
	Chloroform	375	396	467	590	0.18	31.7	0.06	0.26
	DCM	374	394	444	587	0.18	33.7	0.05	0.24
	HMPA	372	392	452	583	0.03	4.2	0.06	2.3
	PrCN	373	393	457	585	0.21	28.1	0.07	0.28
	ACN	370	389	448	588	0.13	24.5	0.05	0.36
	Acet	370	388	452	575	0.21	20.5	0.10	0.39
	DMF	374	390	460	583	0.14	25.4	0.06	0.34
	AcOEt	370	388	448	571	0.21	33.3	0.06	0.24
	MeOH	373	392	442	614	0.01	3.9	0.03	2.5
	EtOH	375	392	444	603	0.02	5.9	0.04	1.7
	1-PrOH	377	394	467	602	0.03	6.1	0.04	1.6
	2-PrOH	376	393	446	593	0.03	5.9	0.05	1.6
	1-BuOH	376	394	445	606	0.03	6.9	0.05	1.4
1-PeOH	376	394	438	597	0.03	7.3	0.03	1.3	

^a λ_1 , λ_2 : maksima absorpcji w długofalowej części widma, λ_F : maksimum fluorescencji, Φ_F : wydajność kwantowa fluorescencji, τ_F : czas życia fluorescencji, $\Delta\nu$: przesunięcie Stokesa, k_r : stała radiacyjna i Σk_{nr} : suma stałych nieradiacyjnych

Zasady dotyczące stosunkowo krótszych czasów życia oraz niższych wartości wydajności kwantowych fluorescencji w rozpuszczalnikach protycznych, w szczególności w alkoholach, przekładają się wartości stałych radiacyjnej i nieradiacyjnej dezaktywacji wzbudzonych stanów singletowych. Generalnie, w alkoholach stałe radiacyjnej dezaktywacji stanu singletowego są nieco niższe w porównaniu do pozostałych używanych rozpuszczalników. Z drugiej strony, suma stałych nieradiacyjnych dezaktywacji jest wyraźnie wyższa w alkoholach w porównaniu do pozostałych rozpuszczalników. Podsumowując, wzbudzony stan singletowy 1MeFR oraz 3MeFR w alkoholach w sposób uprzywilejowany dezaktywuje się na drodze nieradiacyjnej w porównaniu do drogi radiacyjnej. Prawidłowość ta dotyczy obydwu badanych pochodnych. Porównanie wartości (k_r oraz Σk_r) w pozostałych rozpuszczalnikach wskazuje, iż procesy radiacyjne stają się nieco bardziej uprzywilejowanym kanałem dezaktywacji w porównaniu do procesów nieradiacyjnych.

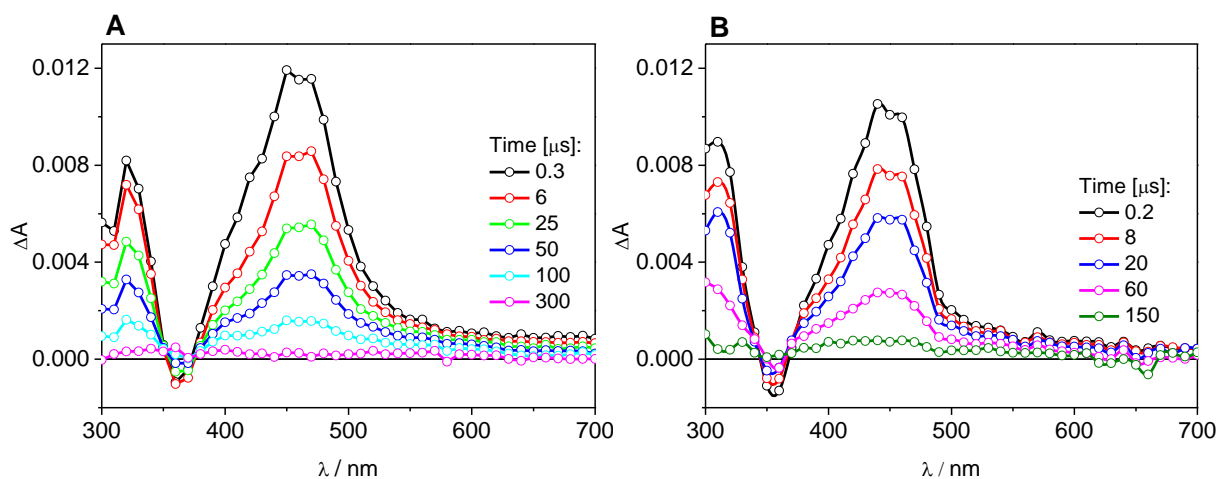
4.2. Stany trypletowe badanych pochodnych: ujęcie eksperymentalne

W celu charakterystyki eksperymentalnej stanów trypletowych wybranych pochodnych 5-deazaalloksazyny oraz alloksazyny: 1MeFR i 3MeFR, która w kolejnym rozdziale zostanie porównana z rezultatami obliczeń teoretycznych, wykorzystano nanosekundową spektroskopię absorpcji przejściowej oraz wybrane pochodne rozpuszczone w rozpuszczalnikach organicznych oraz w wodzie. Dla 5DA11 w wodzie została wyznaczona wartość wydajności przejścia interkombinacyjnego (Φ_{ISC}) na drodze przeniesienia energii w układzie donor - akceptor. Informacje o obsadzeniu stanów trypletowych oraz ich charakterystyka fotofizyczna jest niezbędna między innymi w dyskusji związanej z procesami generowania tlenu singletowego oraz możliwości zachodzenia reakcji fotoutleniania przy udziale tych pochodnych. Wydaje się, że te argumenty są dostatecznie silne by uzasadnić konieczność podjęcia badań stanów trypletowych wybranych, modelowych pochodnych. Z przedstawionych informacji w *rozdziale 2.2* można stwierdzić, iż w literaturze istnieje wiele doniesień dotyczących stanów trypletowych flawin oraz ich różnych pochodnych, włączając w to izo- i alloksazyny, jednak dla 5-deazaflawin oraz ich pochodnych wiedza dotycząca stanów trypletowych jest uboższa. W pierwszej kolejności zostaną przedstawione dane dotyczące 5-deazaalloksazyny w acetonitrylu i wodzie (pH \sim 6), następnie zostanie zaprezentowany sposób wyznaczenia wartości Φ_{ISC} dla 5DA11 w wodzie. W dalszej kolejności omówiono charakterystykę stanów trypletowych dwóch monometylowych pochodnych 5DA11: 8-metylo-5-deazaalloksazyny i 9-metylo-5-deazaalloksazyny oraz 10-etylo-5-deazaalloksazyny w acetonitrylu. W ostatniej części przedstawiono wyniki badań eksperymentalnych absorpcji przejściowej dla 3MeFR w acetonitrylu jako przedstawiciela pochodnych alloksazyny o budowie czteropierścieniowej.

4.2.1. Widma absorpcji przejściowej 5-deazaalloksazyny w acetonitrylu i wodzie

Pod wpływem wzbudzenia laserowego 355 nm, 5DA11 zarówno w wodzie, jak i acetonitrylu wytwarza formy przejściowe, które zanikają w mikrosekundowej skali czasowej. Widma absorpcji przejściowej 5DA11 w wodzie przy pH \sim 6 oraz w acetonitrylu zostały zawarte na **Rysunku 47**. Zgodnie z przedstawionymi danymi eksperymentalnymi, w obydwu rozpuszczalnikach obserwuje się powstanie ujemnej zmiany absorbancji przy około 360 nm ze względu na dużą absorpcję stanu podstawowego przy tej długości fali. Niezależnie od zastosowanego rozpuszczalnika, kształt widm i usytuowanie maksimów pasm jest podobne,

mianowicie w zakresie spektralnym od 300 nm do 700 nm obserwuje się obecność dwóch pasm, których maksima przypadają na około 320 nm i 450 nm. Należy dodać, iż wybór wody o pH ~ 6 sprawia, iż w układzie istnieje forma neutralna 5DAII. W tych warunkach pH nie zachodzą procesy tautomerizacji z 5-deazaalloksazyny na 5-deazaizoalloksazynę oraz nie pojawiają się formy jonowe, zgodnie z dyskusją przedstawioną w *podrozdziale 4.7.1*.



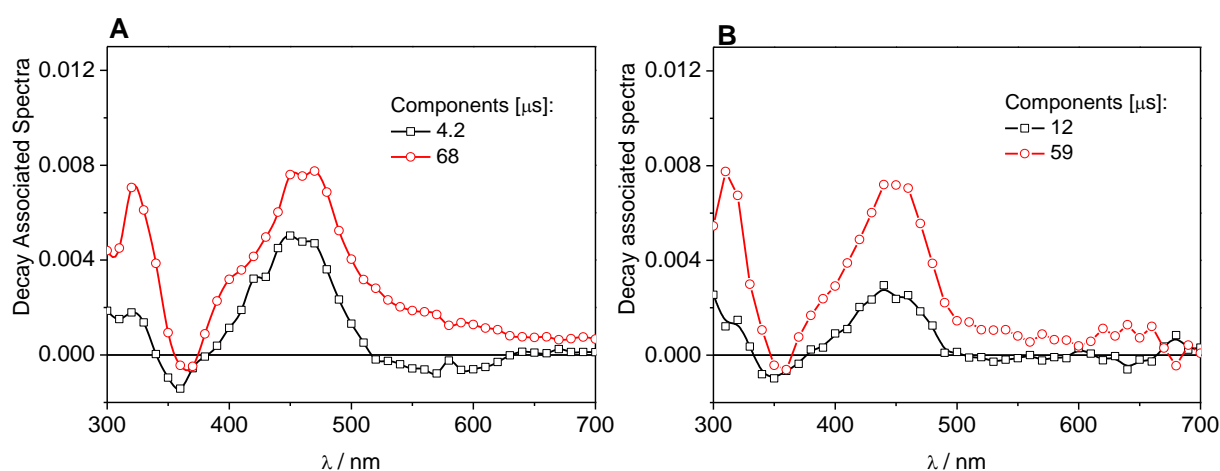
Rysunek 47. Widma absorpcji przejściowej 5-deazaalloksazyny: **A** - w wodzie (pH ~ 6); **B** - w acetonitrylu; $\lambda_{\text{exc}} = 355$ nm, $l = 1$ cm, 0.5 mJ / puls, roztwory saturowane argonem.

Analiza globalna zaników przejściowych przeprowadzona dla 5DAII w wodzie i acetonitrylu wskazuje, iż w obydwu przypadkach mamy do czynienia z dwoma formami, które zanikają w czasach odpowiednio: 4.2 μs oraz 68 μs (w wodzie) oraz 12 μs i 59 μs (w acetonitrylu),

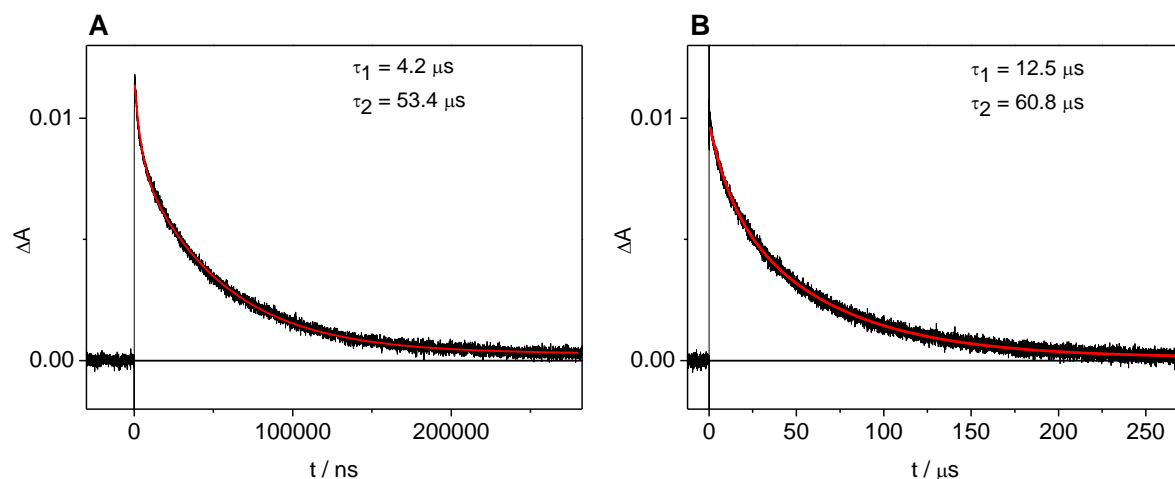
Rysunek 48. Potwierdzeniem wyników analizy globalnej są kinetyki zaników absorpcji przejściowej przedstawione na **Rysunku 49** przy $\lambda = 460$ nm, które zostały opisane poprzez funkcję bieksponencjalną, a odpowiednie czasy zaniku wynoszą: 4.2 μs oraz 53.4 μs (w wodzie) oraz 12.5 μs i 60.8 μs (w acetonitrylu). W obydwu przypadkach krótszy czas życia można przypisać dla stanu trypletowego 5DAII odpowiednio w wodzie (4.2 μs) i acetonitrylu (12 μs), natomiast dłuższą składową (68 μs w wodzie oraz 59 μs) można przypisać obecności w układzie długożyjącemu anionorodnikowi. Podobne rezultaty analizy zaników absorpcji przejściowej zostały odnotowane między innymi dla wybranych monometylowych alloksazyn, lumichromu (20,172) oraz 1,3,7-trimetyloalloksazyny (170,173). Dla przykładu, zastosowanie analizy globalnej zaników absorpcji przejściowej 1,3,7-trimetyloalloksazyny pozwoliło na stworzenie następującego schematu kinetycznego:



w którym A oznacza wzbudzony stan trypletowy, B oznacza długożyjący anionorodnik, natomiast C stan podstawowy cząsteczki w danym rozpuszczalniku, natomiast stałe k_1 i k_2 to pozorne stałe szybkości zaniku odpowiednio formy A oraz B . Zgodnie z doniesieniami literaturowymi dla 1,3,7-trimetyloalloksazyny zastosowanie przytoczonego modelu kinetycznego umożliwiło opis zarejestrowanych zaników absorpcji przejściowej i przypisanie wartości $7.7 \mu\text{s}$ jako czasu życia dla stanu trypletowego, natomiast drugą wartość: $43.3 \mu\text{s}$ dla długożyjącego anionorodnika (170). Powstanie długożyjącego anionorodnika wiąże się z procesem samowygaszania stanu trypletowego pochodnej All (lub 5DAI1) przez tą samą cząsteczkę, która znajduje się w stanie podstawowym (173).



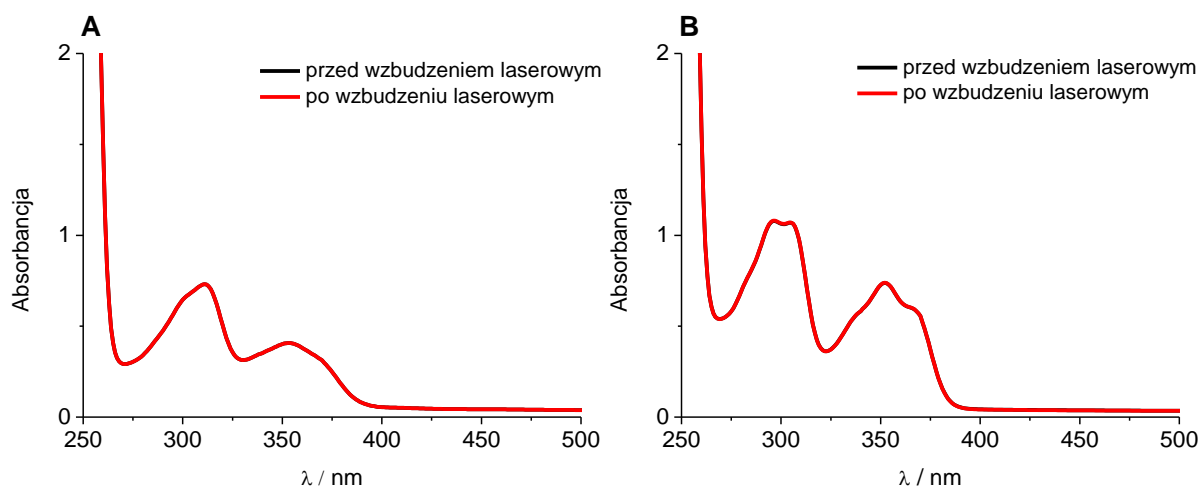
Rysunek 48. Analiza globalna zaników absorpcji przejściowej 5DAI1 **A** - woda (pH ~ 6), **B** - acetonitryl



Rysunek 49. Kinetyki zaniku 5-deazaalloksazyny przy $\lambda = 460 \text{ nm}$: **A** - w roztworze wodnym, **B** - w acetonitrylu

W celu weryfikacji stabilności cząsteczki 5DAI1 zarówno w wodzie jak i w acetonitrylu w czasie wykonywania eksperymentu laserowej fotolizy błyskowej wykonano pomiary widm

absorpcji przed jak i po zakończeniu eksperymentów. Widma zostały przedstawione na **Rysunku 50**. Wysoka zgodność pomiędzy widmami absorpcji zarejestrowanymi przed i po laserowej fotolizie błyskowej świadczą o stabilności układu i braku nowych fotoproduktów.



Rysunek 50. Stacjonarne widma absorpcji zarejestrowane w: **A** - wodzie; **B** - acetonitrylu dla 5DAll przed i po wykonaniu laserowej fotolizy błyskowej

4.2.2. Wyznaczenie wartości wydajności przejścia interkombinacyjnego dla 5-deazaalloksazyny w wodzie

Na **Rysunku 51** przedstawiono widmo absorpcji przejściowej dla układu 5-deazaalloksazyna oraz indykasantyny (IND) w wodzie przy pH ~ 6 . Wykazano, iż IND w drodze bezpośredniej nanosekundowej laserowej flash-fotolizy (przy zastosowaniu $\lambda_{\text{exc}} = 355$ nm oraz 532 nm) wykazuje ekstremalnie niską wartość wydajności przejścia interkombinacyjnego singlet \rightarrow tryplet. Przy zastosowaniu eksperymentu z przeniesieniem energii, w którym IND pełnił rolę akceptora, został wyznaczony molowy współczynnik absorpcji stanu trypletowego (ϵ_T), który w maksimum absorpcji ($\lambda = 530$ nm) wynosił $28000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Odnotowano również, iż stan trypletowy IND zanika z funkcją monoeksponencjalną z czasem życia $\tau = 67 \mu\text{s}$ (150). Szczegóły dotyczące charakterystyki stanu trypletowego IND oraz sposobu wyznaczenia molowego współczynnika absorpcji stanu trypletowego tego związku znajdują się w pracy (150).

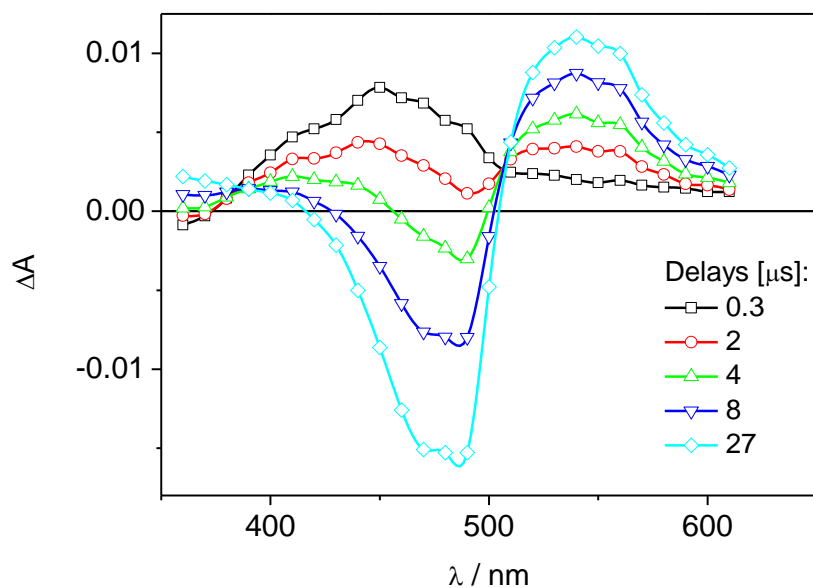
Używając metody przeniesienia energii, w której funkcję donora pełniła cząsteczka 5DAll, natomiast akceptorem była IND wyznaczono wartość molowego współczynnika absorpcji stanu trypletowego 5DAll w maksimum absorpcji stanu trypletowego w wodzie ($\lambda = 460$ nm), który wynosił $12900 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Jest to typowa wartość również notowana dla lumichromu oraz innych alloksazyn (20). Następnie, korzystając z metody porównawczej, opisaną równaniem

(14), względem benzofenonu w acetonitrylu wyznaczono wartość wydajności przejścia interkombinacyjnego (Φ_{ISC}) dla 5DAII w wodzie.

$$\Phi_{ISC} = \Phi_{ISC}^R \times \frac{\varepsilon^R}{\varepsilon} \times \frac{\Delta A}{\Delta A^R} \quad (14)$$

W (14) Φ_{ISC} : wydajność przejścia interkombinacyjnego dla 5DAII w wodzie, Φ_{ISC}^R : wydajność przejścia interkombinacyjnego dla standardu - benzofenonu w acetonitrylu ($\Phi_{ISC}^R = 1$), ε^R : molowy współczynnik absorpcji stanu trypletowego dla standardu - benzofenonu w acetonitrylu przy $\lambda = 520$ nm ($\varepsilon^R = 6500$ dm³ mol⁻¹ cm⁻¹), ε : molowy współczynnik absorpcji stanu trypletowego dla 5DAII ($\varepsilon = 12900$ dm³ mol⁻¹ cm⁻¹), ΔA : absorbancja 5DAII przy $\lambda = 460$ nm ($\Delta A = 0.0101$), ΔA^R : absorbancja dla standardu - benzofenonu w ACN przy $\lambda = 520$ nm ($\Delta A^R = 0.0120$), dane dotyczące Φ_{ISC}^R oraz ε^R dla benzofenonu w ACN zaczerpnięto z pracy (174).

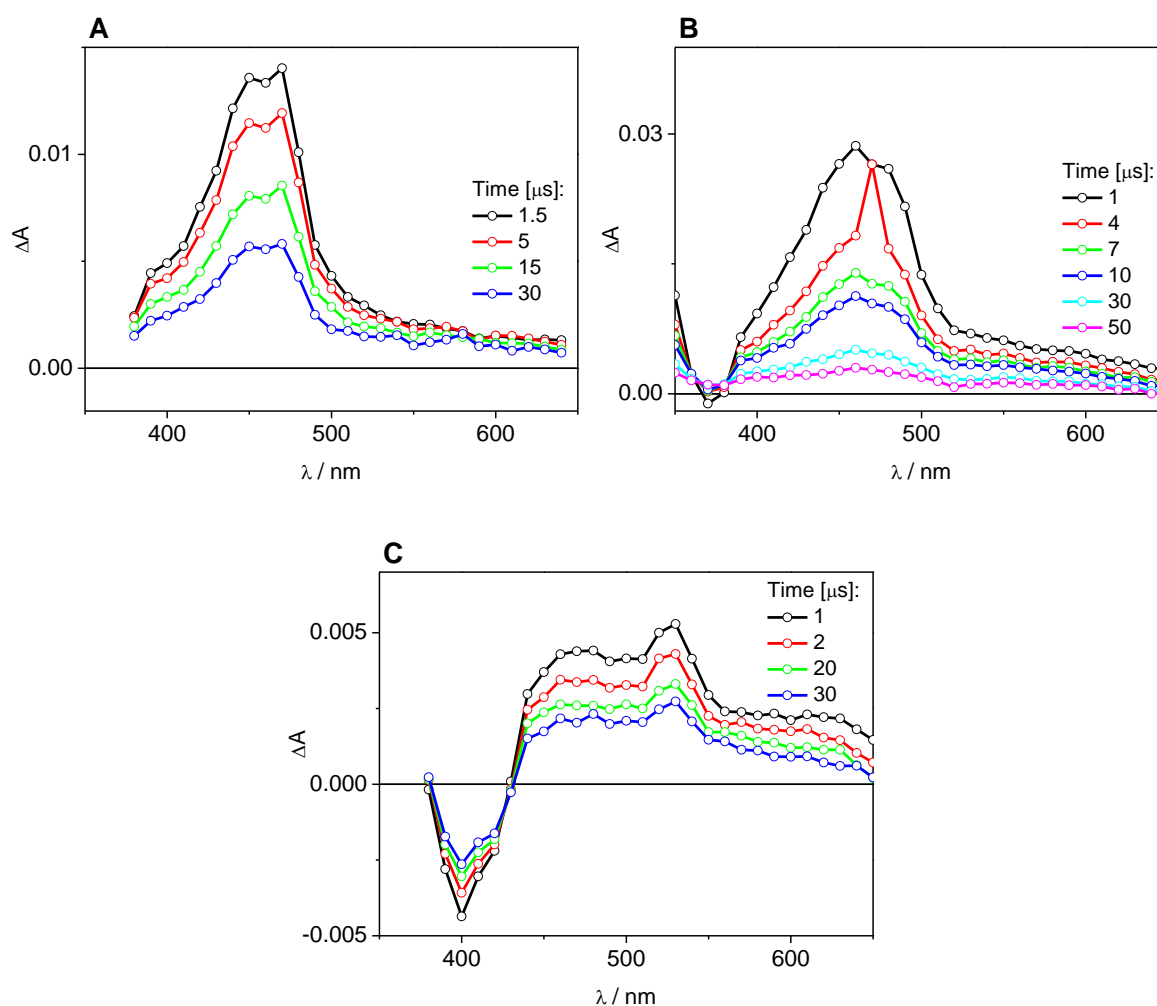
Na podstawie wzoru (14) wyznaczono $\Phi_{ISC} = 0.43$ dla 5DAII w wodzie.



Rysunek 51. Widma absorpcji przejściowej mieszaniny 5DAII oraz IND w wodzie (pH ~ 6); $\lambda_{exc} = 355$ nm, $l = 1$ cm, 0.5 mJ / puls, roztwór saturowany argonem.

4.2.3. Widma absorpcji przejściowej monometylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny: 8-metylo-5-deazaalloksazyny, 9-metylo-5-deazaalloksazyny oraz 10-etylo-5-deazaizoalloksazyny

Rysunek 52 przedstawia widma absorpcji przejściowej dwóch monometylowych pochodnych 5DAll, mianowicie: 8Me-5DAll i 9Me-5DAll oraz pochodnej o strukturze 5-deazaizoalloksazynowej: 10Et-5DIzoAll.

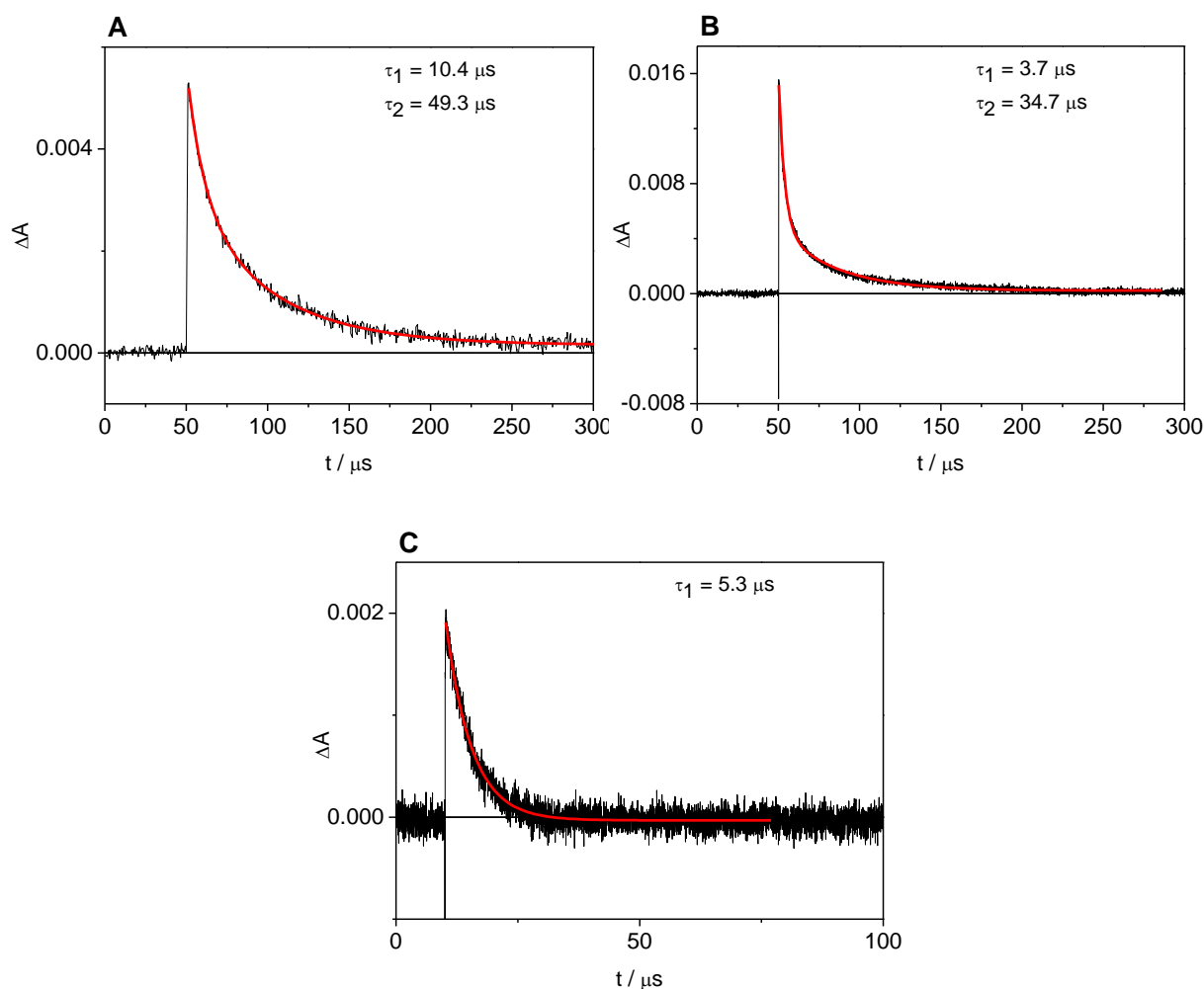


Rysunek 52. Eksperymentalne widma absorpcji przejściowej monometylowych pochodnych 5DAll: **A:** 8Me-5DAll, **B:** 9Me-5DAll, and **C:** 10Et-5DIzoAll w acetonitrylu; $\lambda_{\text{exc}} = 355$ nm, $l = 1$ cm, 0.5 mJ / puls, roztwory saturowane argonem, na podstawie (149).

Widma absorpcji przejściowej dla wspomnianych trzech cząsteczek zostały zarejestrowane w acetonitrylu, roztwory przed pomiarami zostały odtlenione. W widmach absorpcji przejściowej, dla 9Me-5DAll oraz 10Et-5DIzoAll zaobserwowano występowanie ujemnej absorbancji (ang. bleaching) powstającej przy około 370 nm (9Me-5DAll) oraz około 400 nm (10Et-5DIzoAll) ze względu na zmniejszenie absorpcji przejściowej spowodowanej wzrostem

absorpcji stanu podstawowego. 5-Deazaalloksazyny wykazują zbliżone widma do analogicznych alloksazyn, jednak maksima w widmach pochodnych 5DAI są przesunięte ku dłuższym falom o około 100 nm. Analiza kinetyk zaników absorpcji przejściowej wykazała bardzo interesujące zależności, mianowicie w przypadku 8Me-5DAI oraz 9Me-5DAI zanik kinetyki absorpcji przejściowej w acetonitrylu opisuje funkcja bieksponecjalna, obydwie obecne w układzie formy zanikają z czasem życia rzędu μs - odpowiednie wartości wynoszą: 10.4 μs oraz 49.3 μs dla 8Me-5DAI, 3.7 μs oraz 34.7 μs dla 9Me-5DAI. Zgodnie z modelem kinetycznym zaproponowanym w poprzednim podrozdziale dla 5DAI w wodzie i acetonitrylu, można przypuszczać, iż krótsze składowe czasowe dla 8Me-5DAI oraz 9Me-5DAI są związane z czasem życia stanu trypletowego tych cząsteczek, natomiast dłuższe składowe czasowe, z obecnością długożyjących anionorodników, które powstają wskutek wygaszania stanów trypletowych 8Me-5DAI oraz 9Me-5DAI przez te same cząsteczki znajdujące się w stanie podstawowym. Nieco inaczej zachowuje się 10Et-5DIzoAI - analiza kinetyki zaniku absorpcji przejściowej w acetonitrylu przy $\lambda = 530$ nm (oraz przy innych długościach fali) wykazała obecność jednej formy przejściowej, która zanikała w czasie 5.3 μs . W tym wypadku jest to czas życia stanu trypletowego 10Et-5DIzoAI w acetonitrylu. Analiza kinetyk zaniku absorpcji przejściowej została dla 8Me-5DAI, 9Me-5DAI oraz 10Et-5DIzoAI w acetonitrylu została przedstawiona na **Rysunku 53**.

Wyznaczone czasy zaników absorpcji przejściowej świadczą, iż obserwowana absorpcja pochodzi od przejść tryplet \rightarrow tryplet. W widmie 8Me-5DAI notuje się dwa wyraźnie wykształcone pasma z maksimami przy około 450 nm (22200 cm^{-1}), 470 nm (21280 cm^{-1}) oraz mniejsze przy około 530 nm (18867 cm^{-1}). W przypadku 9Me-5DAI odpowiednie maksima zostały znalezione przy około: 310 nm (32258 cm^{-1}), 460 nm (21700 cm^{-1}) oraz 480 nm (20800 cm^{-1}). Z kolei dla 10Et-5DIzoAI dodanie sygnały w widmach absorpcji przejściowej zostały znalezione przy około 480 nm (20800 cm^{-1}) oraz 530 nm (18867 cm^{-1}).

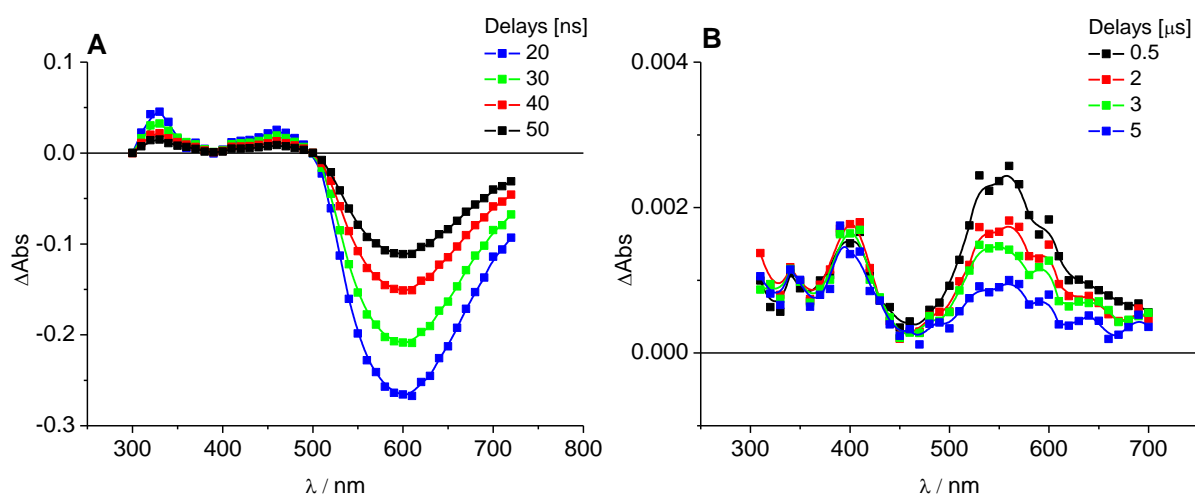


Rysunek 53. Kinytyki zaniku absorpcji przejściowej 8Me-5DAII (**A**), 9Me-5DAII (**B**) oraz 10Et-5DIzoAll (**C**) w acetonitrylu przy $\lambda = 460$ nm (**A i B**) oraz $\lambda = 530$ nm (**C**), na podstawie (149).

4.2.4. Widma absorpcji przejściowej pochodnych alloksazyny: 1MeFR i 3MeFR

Badania absorpcji przejściowej dla monometylowych, czteropierścieniowych pochodnych alloksazyny zostały przeprowadzone przy wykorzystaniu związku 3MeFR, jednak podobne zachowanie zostało odnotowane dla 1MeFR (dane nie zostały przedstawione). **Rysunek 54** przedstawia eksperymentalne widmo absorpcji przejściowej dla związku 3MeFR zarejestrowane w acetonitrylu (roztwór został odtleniony przy wykorzystaniu argonu). Widma zostały zarejestrowane przy wykorzystaniu różnych czasów opóźnienia - w pierwszym fragmencie (**A**) zastosowano: 20 ns, 30 ns, 40 ns oraz 50 ns, natomiast w drugim fragmencie (**B**): 0.5 μ s, 2 μ s, 3 μ s oraz 5 μ s. Maksima w widmie absorpcji przejściowej (**Rysunek 54A**) są zlokalizowane odpowiednio przy około 30300 cm^{-1} oraz przy około 21740 cm^{-1} . Silny ujemny sygnał, który jest obecny przy około 16670 cm^{-1} jest związany prawdopodobnie z wymuszoną fluorescencją, która zachodzi ze stanu S_1 cząsteczki 3MeFR. Przeprowadzone

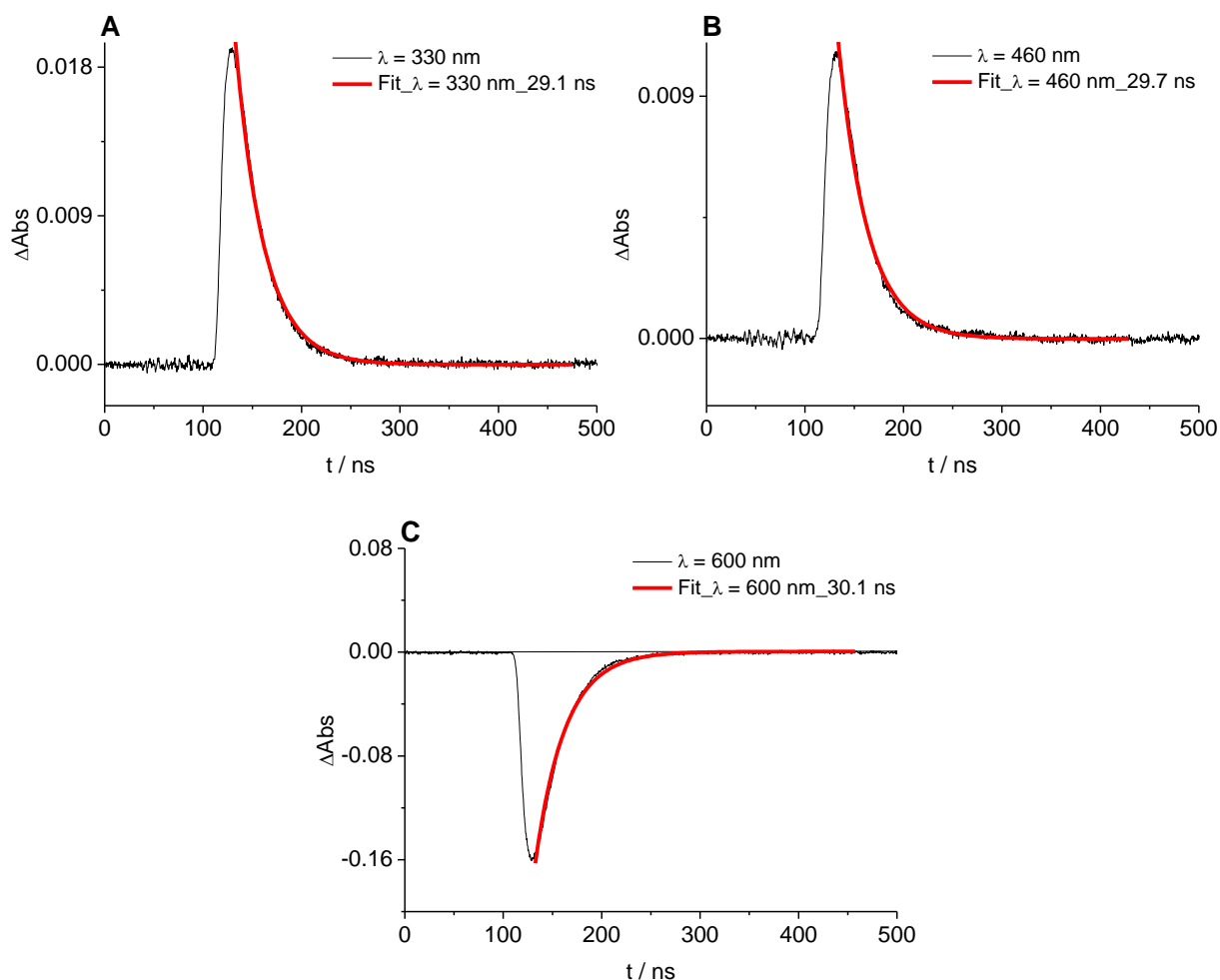
obliczenia teoretyczne zaprezentowane w *podrozdziale 4.3.9* wskazują, iż teoretycznie możliwych jest więcej przejść (szczególnie w zakresie bliskiej podczerwieni), jednak ze względu na możliwości aparaturowe nie ma można ich zarejestrować. Analiza kinetyk zaników absorpcji przejściowej przy $\lambda = 330$ nm, 460 nm oraz 600 nm wskazuje na obecność jednej formy, której czas życia mieści się w przedziale nanosekundowym; odpowiednie wartości przy wymienionych długościach fali wynoszą: 29.1 ns, 29.7 ns oraz 30.1 ns (**Rysunek 55**). Uwzględniając wyznaczony czas życia fluorescencji dla związku 3MeFR w acetonitrylu (**Tabela 13**) $\tau_F = 24.5$ ns można wnioskować, iż zarejestrowane widma absorpcji przejściowej na **Rysunku 54A** powstają jako efekt absorpcji ze stanu singletowego S_1 do wyższych stanów singletowych. Widma absorpcji przejściowej zarejestrowane w mikrosekundowej skali czasowej (**Rysunek 54B**) wskazują na bardzo nieznaczne zmiany absorbancji ($\Delta Abs = 0.003$), maksima zostały zlokalizowane przy około 25000 cm^{-1} oraz 18200 cm^{-1} . Przeprowadzone analizy kinetyk zaników absorpcji przejściowej przy $\lambda = 550$ nm w roztworze odtlenionym oraz natlenionym (**Rysunek 56**) pozwoliły w każdym przypadku zidentyfikować jeden składnik, który zanikał odpowiednio w czasie $4.9\ \mu\text{s}$ oraz $2.3\ \mu\text{s}$.



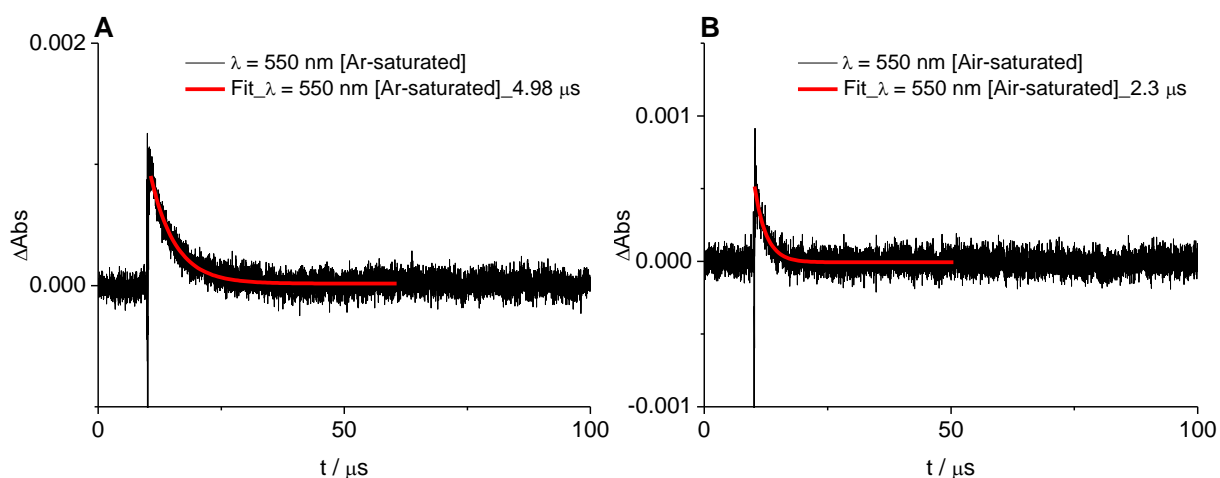
Rysunek 54. Eksperymentalne widma absorpcji przejściowej związku 3MeFR w acetonitrylu zarejestrowane po różnych czasach opóźnienia: 20 ns, 30 ns, 40 ns and 50 ns (**A**) and 0.5 μs , 2 μs , 3 μs and 5 μs (**B**); $\lambda_{\text{exc}} = 355$ nm, $l = 1$ cm, 0.5 mJ / puls, roztwory saturowane argonem.

Prawdopodobnie jest to efekt jonizacji, a zarejestrowane widmo pochodzi od formy jonowej lub rodnikowej 3MeFR. W stosowanych warunkach pomiarowych prawdopodobnie nie udało się zarejestrować absorpcji przejściowej tryplet \rightarrow tryplet. Uzyskany czas życia zaniku absorpcji przejściowej w odtlenionym roztworze 3MeFR w acetonitrylu ($4.9\ \mu\text{s}$) jedynie nieznacznie skraca się pod wpływem natlenienia roztworu. Dodatkowo, pośrednim dowodem na brak obsadzenia trypletu zarówno dla 1MeFR jak i 3MeFR, są badania procesów

generowania tlenu singletowego z wykorzystaniem charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego przy 1270 nm. W wypadku tych dwóch związków nie wykazano, by generowały one tlen singletowy w mierzalnych ilościach.



Rysunek 55. Kinetyki zaniku absorpcji przejściowej zmierzone dla związku 3MeFR w acetonitrylu odtlenionym argonem (A – $\lambda = 330$ nm, B - $\lambda = 460$ nm, C - $\lambda = 600$ nm)



Rysunek 56. Kinetyki zaniku absorpcji przejściowej zmierzone dla 3MeFR w acetonitrylu (A: $\lambda = 550$ nm saturowany argonem, B: $\lambda = 550$ nm saturowany powietrzem)

4.3. Stany singletowe i trypletowe badanych pochodnych - ujęcie teoretyczne

4.3.1. *Energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 5-deazaalloksazyny z wykorzystaniem metod DFT oraz ab-initio w różnych bazach atomowych.*

5-Dezaalloksazyna, jako najprostsza spośród badanych pochodnych 5-deazaflawin, stała się dobrym układem modelowym również w obliczeniach i modelowaniu teoretycznych struktur tak w stanie podstawowym, jak i we wzbudzonym singletowym S_1 . Ze względu na brak podstawienia grupami alkilowymi w pierścieniu heterocyklicznym, wiele czynności związanych na przykład z optymalizacją stanu podstawowego lub wzbudzonego S_1 była mniej czasochłonna w porównaniu do alkilowych pochodnych 5DA11, dodatkowo okazało się, iż większość informacji (takich jak wyliczone energie przejść singlet \rightarrow singlet z określonym charakterem tych przejść) uzyskanych dla 5DA11 przekłada się również na jej alkilowe pochodne, co zostało pokazane w kolejnych podrozdziałach. Jest to cenna i ważna różnica, która odróżnia pochodne 5DA11 od analogicznych alloksazyn, dla których różne usytuowanie grup metylowych w pierścieniu heterocyklicznym istotnie modyfikowało charakter przejść singlet \rightarrow singlet i zmieniało charakterystykę spektralną i fotofizyczną tych pochodnych. Zarówno dla 5DA11 jak i innych dyskutowanych dla niej pochodnych, wiele rezultatów teoretycznych odnosi się do fazy gazowej, natomiast ze względu na brak eksperymentalnych widm absorpcji 5DA11 i jej pochodnych w stanie gazowym, rezultaty teoretyczne są często porównywane z danymi eksperymentalnymi dla rozpuszczalników słabo oddziałujących z pochodnymi 5DA11 (jak na przykład dichlorometan), które pozwalają wyeliminować oddziaływania specyficzne z badanymi pochodnymi. To podejście wydaje się w pełni uzasadnione, ponieważ oddaje w dużym stopniu warunki panujące w fazie gazowej i było wielokrotnie stosowane dla analogicznych alloksazyn (18,21,23,25,36,78). W pierwszym etapie zastosowano funkcjonał B3LYP sprzężony z różnymi bazami atomowymi, wliczając w to: 6-31G, 6-311G, 6-31G*, 6-31G**, 6-31+G(d), cc-pVTZ, cc-pVDZ, aug-cc-pVDZ i w odniesieniu do fazy gazowej przeprowadzono obliczenia przewidywanych energii przejść singlet \rightarrow singlet wraz z określeniem typu przejścia, wyrażonym poprzez podaną siłę oscylatora, f . Dane z tych obliczeń dla piętnastu pierwszych przejść zostały zaprezentowane w

Tabeli 14.

Tabela 14. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DA11 (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem funkcjonału B3LYP w różnych bazach atomowych: 6-31G, 6-311G, 6-31G*, 6-31G**, 6-31+G(d), cc-pVTZ, cc-pVDZ, aug-cc-pVDZ (w fazie gazowej) oraz 6-31+G(d) z zastosowaniem modelu rozpuszczalnikowego PCM w dichlorometanie, wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_i$	6-31G		6-311G		6-31G*		6-31G**		6-31+G(d) Faza gazowa ^a		6-31+G(d) PCM_DCM ^a		cc-pVTZ		cc-pVDZ		aug-cc-pVDZ ^a	
	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f
$\rightarrow S_1$	30.2	0.046	29.8	0.048	29.8	0.049	29.7	0.050	29.4	0.049	29.1	0.041	29.5	0.049	29.5	0.052	28.9	0.047
$\rightarrow S_2$	32.1 [†]	0	32.1 [†]	0.001	32.1 [†]	0	32.2 [†]	0	32.7 [†]	0	33.2	0.123	32.4 [†]	0	32.0 [†]	0	32.0 [†]	0
$\rightarrow S_3$	34.5	0.092	34.4	0.094	34.1	0.097	34.2	0.095	33.6	0.111	33.3 [†]	0	33.9	0.107	33.9	0.092	33.2	0.115
$\rightarrow S_4$	36.9 [†]	0	36.9 [†]	0	37.5 [†]	0	37.6 [†]	0	37.8 [†]	0	37.9 [†]	0	37.4 [†]	0	37.4 [†]	0	37.1 [†]	0
$\rightarrow S_5$	40.9 [†]	0	40.9 [†]	0	40.8	0.029	41.1	0.049	40.8	0.284	40.9	0.576	41.1	0.113	40.6	0.045	40.4	0.178
$\rightarrow S_6$	41.1	0.022	40.9	0.034	40.9 [†]	0	41.1 [†]	0	41.5	0.388	41.5	0.114	41.4 [†]	0	40.8 [†]	0	40.9 [†]	0
$\rightarrow S_7$	41.8 [†]	0	41.8 [†]	0	42.0	0.536	42.1	0.526	41.6 [†]	0	42.3 [†]	0	41.9	0.481	41.8	0.523	41.1	0.457
$\rightarrow S_8$	42.2	0.588	41.9	0.589	42.3 [†]	0	42.4 [†]	0	42.7 [†]	0	43.1	0.193	42.5 [†]	0	42.1 [†]	0	42.1 [†]	0
$\rightarrow S_9$	43.6	0.159	43.4	0.168	43.2	0.169	43.3	0.173	42.8	0.195	43.2 [†]	0	43.1	0.194	42.9	0.176	42.2	0.191
$\rightarrow S_{10}$	46.4	0.547	46.1	0.528	45.9	0.536	46.1	0.524	45.1	0.408	44.9	0.424	45.7	0.465	45.7	0.497	44.7	0.384
$\rightarrow S_{11}$	46.6 [†]	0	46.6 [†]	0	46.9 [†]	0	47.1 [†]	0	46.4	0.148	46.1	0.078	47.1 [†]	0	46.7 [†]	0	45.9	0.197
$\rightarrow S_{12}$	47.7	0.053	47.5	0.081	47.5	0.075	47.6	0.077	47.3 [†]	0	47.9 [†]	0	47.2	0.156	47.3	0.152	46.3 [†]	0
$\rightarrow S_{13}$	48.5 [†]	0	48.6 [†]	0	48.7 [†]	0	48.9 [†]	0	48.1	0.082	48.0	0.094	48.7	0.092	48.7	0.091	46.6 [†]	0
$\rightarrow S_{14}$	49.7	0.091	49.3	0.087	49.0	0.096	49.1	0.095	48.1 [†]	0	48.7 [†]	0	49.3 [†]	0	48.7 [†]	0	47.4	0.072
$\rightarrow S_{15}$	50.6	0.027	50.4	0.002	50.4 [†]	0	50.7	0.003	49.1 [†]	0	48.9	0.228	50.3	0.156	50.2	0.003	48.2 [†]	0.001

[†] przejścia n, π^* , pozostałe π, π^* , ^a na podstawie (148).

Przy wykorzystaniu modelu rozpuszczalnikowego PCM w odniesieniu do dichlorometanu, wyznaczono energie przejść singlet \rightarrow singlet na poziomie B3LYP/6-31+G(d). Dla każdego poziomu teorii, przed wykonaniem obliczeń energii przejść singlet \rightarrow singlet dokonano optymalizacji geometrii stanu podstawowego.

Porównując zawarte w **Tabeli 14** informacje dla obliczeń w odniesieniu do fazy gazowej 5DAll, można stwierdzić, iż niezależnie od zastosowanej bazy atomowej obserwuje się zmianę charakteru przejść w następującej kolejności: (i) π, π^* , (ii) n, π^* , (iii) π, π^* , (iv) n, π^* . Przyporównanie do danych eksperymentalnych dla 5DAll w DCM wskazuje, iż najlepszą zgodność z rezultatami teoretycznymi uzyskano przy zastosowaniu bazy aug-cc-pVDZ, natomiast najmniej zadowalającą odnotowano dla baz: 6-311G oraz 6-31G*. Porównano maksima długofalowych pasm absorpcji 5DAll w DCM z energiami przejść $S_0 \rightarrow S_1$ oraz $S_0 \rightarrow S_3$ każde o charakterze π, π^* . W przypadku bazy aug-cc-pVDZ sprzężonej z funkcjonałem B3LYP różnice pomiędzy przewidywaną energią przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ a λ_1 w widmie absorpcji 5DAll w DCM wynosi 500 cm^{-1} , natomiast dla energii przejścia $S_0 \rightarrow S_3$ i λ_2 w tym samym eksperymentalnym widmie absorpcji różnica wynosi 700 cm^{-1} . W przypadku zastosowania bazy 6-31G* odpowiednie różnice wynoszą 1400 cm^{-1} oraz 1600 cm^{-1} . Porównanie wyników uzyskanych w obydwu bazach atomowych z eksperymentalnym widmem absorpcji 5DAll w DCM zostało przedstawione na **Rysunku 57**. Ponadto, wyniki uzyskane w bazie 6-31+G(d) są względnie również zadowalające, odpowiednie różnice pomiędzy danymi eksperymentalnymi i teoretycznymi wynoszą 1000 cm^{-1} oraz 1100 cm^{-1} . Jeśli porównywać różnice pomiędzy energiami przejść $S_0 \rightarrow S_1$ oraz $S_0 \rightarrow S_2$ można stwierdzić, iż największą wartość $|E_{n, \pi^*} - E_{\pi, \pi^*}|$ odnotowano dla bazy 6-31+G(d): 3300 cm^{-1} natomiast najmniejszą przy zastosowaniu 6-31G: 1900 cm^{-1} . Jakkolwiek, niezależnie od zastosowanej bazy atomowej sprzężonej z funkcjonałem B3LYP różnice $|E_{n, \pi^*} - E_{\pi, \pi^*}|$ są na tyle duże, iż można stwierdzić, że przejście $S_0 \rightarrow S_1$ ma czysty charakter π, π^* i nie jest sprzężone z kolejnym o charakterze n, π^* .

Zastosowanie modelu rozpuszczalnikowego PCM w odniesieniu do dichlorometanu, przy zastosowaniu B3LYP/6-31+G(d) pozwoliło na wyznaczenie energii przejść singlet \rightarrow singlet 5DAll z lepszą dokładnością w porównaniu do fazy gazowej (**Tabela 14**). Co ciekawe, okazuje się, że zastosowanie tego podejścia zmieniło nieco charakter czterech najniższych energetycznie przejść singlet \rightarrow singlet, mianowicie w następującej kolejności: (i) π, π^* , (ii) π, π^* , (iii) n, π^* , (iv) n, π^* . Jednakże, różnica pomiędzy energią przejścia $S_0 \rightarrow S_2$ oraz $S_0 \rightarrow S_3$ wynosi zaledwie 100 cm^{-1} , stąd można uznać, iż te stany są praktycznie izoenergetyczne. Podobnie jak w przypadku analogicznych obliczeń odniesionych do fazy gazowej, w tym

przypadku również obserwuje się znaczną różnicę pomiędzy energią przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ oraz $S_0 \rightarrow S_2$ (4100 cm^{-1}).

Oprócz zastosowania funkcjonału B3LYP skorelowanego z różnymi bazami atomowymi, do obliczeń zastosowano funkcjonał cam-B3LYP skorelowany z bazami atomowymi: 6-31+G(d) oraz aug-cc-pVDZ dla wyliczenia energii pięciu najniższych energetycznie przejść singlet \rightarrow singlet (**Tabela 15**). Obliczenia z zastosowaniem tego funkcjonału są obarczone większą niedokładnością w stosunku do danych eksperymentalnych oraz obliczeń w analogicznych bazach, jednak zarówno dla cam-B3LYP/6-31+G(d) oraz cam-B3LYP/aug-cc-pVDZ odnotowano, iż przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ oraz $S_0 \rightarrow S_2$ mają charakter π, π^* , natomiast $S_0 \rightarrow S_3$ i $S_0 \rightarrow S_4$ charakter n, π^* . Porównanie obliczeń przewidywanych energii przejść singlet \rightarrow singlet przy wykorzystaniu dwóch metod, mianowicie B3LYP/6-31+G(d) oraz cam-B3LYP/6-31+G(d) zestawiono z eksperymentalnym widmem absorpcji 5DAll w DCM na **Rysunku 58**. Przewidywane energie przejść $S_0 \rightarrow S_1$ oraz $S_0 \rightarrow S_2$ z wykorzystaniem cam-B3LYP sprzężonych z bazami: aug-cc-pVDZ oraz 6-31+G(d) różnią się między sobą około 500 cm^{-1} , przy czym dla bazy aug-cc-pVDZ odnotowano przesunięcia ku niższej energii w porównaniu z 6-31+G(d). Uwzględniając eksperymentalne widmo 5DAll w DCM oraz wyznaczone energie przejść singlet \rightarrow singlet za pomocą metody cam-B3LYP/aug-cc-pVDZ, różnica pomiędzy λ_1 w widmie absorpcji 5DAll w DCM a energią przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ to 4100 cm^{-1} natomiast kolejna różnica dla λ_2 i energii przejścia $S_0 \rightarrow S_2$ wynosi 3800 cm^{-1} . Podobnie jak w przypadku zastosowania funkcjonału B3LYP do obliczenia przewidywanych energii przejść singlet \rightarrow singlet 5DAll, różnice pomiędzy przewidywaną energią przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ oraz $S_0 \rightarrow S_2$ jest znaczna i pozwala wnioskować, iż najniższe energetycznie przejście ma charakter "czysty" i nie jest sprzężony z kolejnym stanem o wyższej energii; przy zastosowaniu metody cam-B3LYP/aug-cc-pVDZ różnica $|E_{\pi, \pi^*} - E_{n, \pi^*}|$ wynosi 3800 cm^{-1} (bardzo zbliżony rezultat otrzymuje się dla metody cam-B3LYP/6-31+G(d)).

Zastosowanie metody PBE0/aug-cc-pVDZ (**Tabela 15**) również nie wpływa na polepszenie korelacji z danymi eksperymentalnymi. Charakter przejść singlet \rightarrow singlet jest identyczny do uzyskanego w przypadku zastosowania metody B3LYP/aug-cc-pVDZ, to znaczy: (i) π, π^* , (ii) n, π^* , (iii) π, π^* , (iv) n, π^* , natomiast różnice pomiędzy eksperymentalnym widmem absorpcji 5DAll oraz przewidywanymi energiami przejść o charakterze π, π^* , tj. $S_0 \rightarrow S_1$ oraz $S_0 \rightarrow S_3$ wynoszą odpowiednio 1600 cm^{-1} oraz 1700 cm^{-1} .

Inne interesujące rezultaty, zamieszczone w **Tabeli 15**, przedstawiają wyliczone energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DAll w odniesieniu do fazy gazowej, przeprowadzone

metodami *ab-initio*, wliczając w to: CIS(D)/aug-cc-pVDZ, CIS(D)/aug-cc-pVTZ, EOM-CCSD/aug-cc-pVDZ oraz EOM-CCSD/aug-cc-pVTZ.

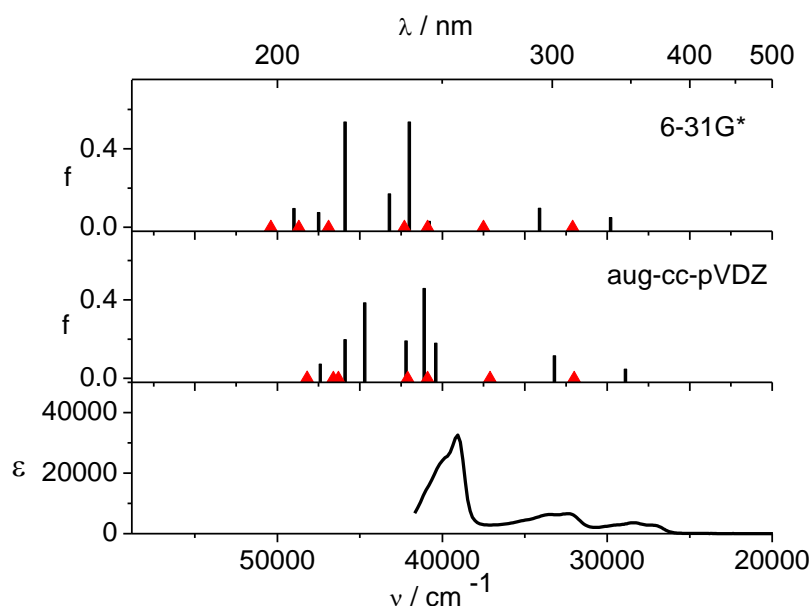
Tabela 15. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DA11 (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone na następujących poziomach teorii: cam-B3LYP/6-31+G(d) i aug-cc-pVDZ; PBE0/aug-cc-pVDZ; CIS(D)/aug-cc-pVDZ i aug-cc-pVTZ; EOM-CCSD/aug-cc-pVDZ i aug-cc-pVTZ, z odpowiadającymi siłami oscylatora, f , na podstawie (148).

	cam-B3LYP		PBE0	CIS(D)		EOM-CCSD	
	6-31+G(d)	aug-cc-pVDZ	aug-cc-pVDZ	aug-cc-pVDZ	aug-cc-pVTZ	aug-cc-pVDZ	aug-cc-pVTZ
	$E \times 10^{-3}$ / $\text{cm}^{-1}(f)$	$E \times 10^{-3}$ / $\text{cm}^{-1}(f)$	$E \times 10^{-3}$ / $\text{cm}^{-1}(f)$	$E \times 10^{-3}$ / $\text{cm}^{-1}(f)$	$E \times 10^{-3}$ / $\text{cm}^{-1}(f)$	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}
$\rightarrow S_1$	33.0 ^b (0.079)	32.5 ^b (0.079)	30.0 ^b (0.054)	30.8 ^b (0.119)	31.3 ^b (0.119)	31.4 (A')	32.1 (A')
$\rightarrow S_2$	36.7 ^b (0.113)	36.3 ^b (0.116)	33.3 ^a (0)	36.3 ^a (0)	36.7 ^a (0.001)	37.5 (A')	37.9 (A')
$\rightarrow S_3$	37.4 ^a (0)	37.0 ^a (0)	34.2 ^b (0.119)	37.6 ^b (0.126)	38.0 ^b (0.127)	38.0 (A'')	38.5 (A'')
$\rightarrow S_4$	41.9 ^a (0.001)	41.5 ^a (0)	38.4 ^a (0)	43.0 ^a (0.001)	43.6 ^b (1.848)	42.4 (A'')	42.8 (A'')
$\rightarrow S_5$	44.5 ^b (1.055)	44.2 ^b (1.019)	41.9 ^b (0.463)	48.2 ^b (1.856)	49.6 ^a (0)	43.9 (A')	44.7 (A')

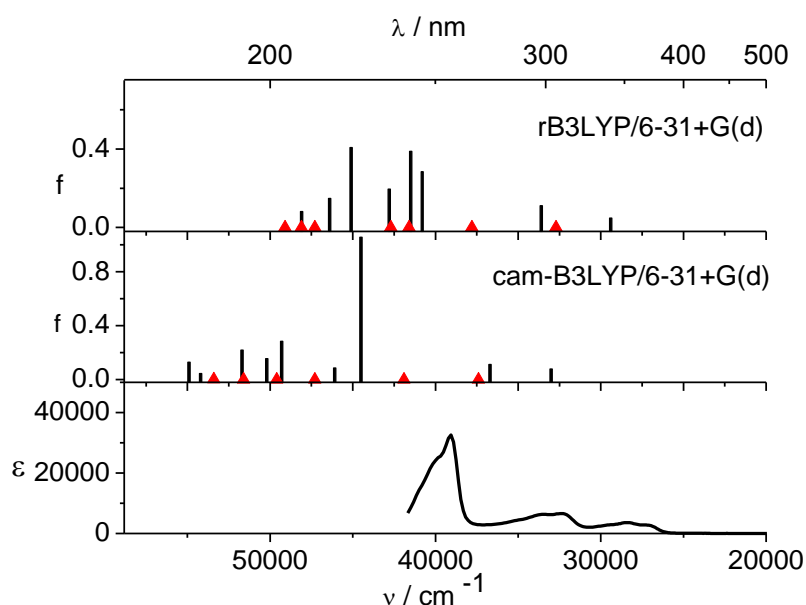
^a (lub A') przejścia n, π^* , ^b (lub A'') π, π^* .

Przy zastosowaniu każdego z wymienionych podejść, podobnie jak w przypadku metod DFT, charakter przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ pozostaje niezmienny, o charakterze π, π^* . Dla przejścia $S_0 \rightarrow S_2$ notuje się charakter n, π^* (przy zastosowaniu metody CIS(D)) oraz π, π^* (dla EOM-CCSD). Różnice energetyczne pomiędzy energiami przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ oraz $S_0 \rightarrow S_2$ wynoszą dla metody CIS(D) 5500 cm^{-1} oraz 5400 cm^{-1} (odpowiednio dla baz atomowych aug-cc-pVDZ oraz aug-cc-pVTZ), natomiast dla metody EOM-CCSD: 6100 cm^{-1} oraz 5800 cm^{-1} (dla baz atomowych aug-cc-pVDZ oraz aug-cc-pVTZ). Porównanie energii przejść $S_0 \rightarrow S_1$ dla każdego z czterech przedstawionych podejść *ab-initio* z λ_1 w eksperymentalnym widmie absorpcji 5DA11 w DCM pokazuje następujące różnice: CIS(D)/aug-cc-pVDZ (2400 cm^{-1}), CIS(D)/aug-cc-pVTZ

(2900 cm^{-1}), EOM-CCSD/aug-cc-pVDZ (3000 cm^{-1}) oraz EOM-CCSD/aug-cc-pVTZ (3700 cm^{-1}).



Rysunek 57. Widmo absorpcji 5DA11 w DCM (dolny panel), przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DA11 [B3LYP/aug-cc-pVDZ] w odniesieniu do fazy gazowej (środkowy panel) oraz przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DA11 [B3LYP/6-31G*] w odniesieniu do fazy gazowej (górny panel). Przejścia o charakterze π,π^* zostały oznaczone czarnymi liniami, natomiast o charakterze n,π^* czerwonymi trójkątami, ϵ w $\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, na podstawie (148).



Rysunek 58. Widmo absorpcji 5DA11 w DCM (dolny panel), przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DA11 [cam-B3LYP/6-31+G(d)] w odniesieniu do fazy gazowej (środkowy panel) oraz przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DA11 [B3LYP/6-31+G(d)] w odniesieniu do fazy gazowej (górny panel). Przejścia o charakterze π,π^* zostały oznaczone czarnymi liniami, natomiast o charakterze n,π^* czerwonymi trójkątami, ϵ w $\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, na podstawie (148).

Przedstawione różne podejścia do wyliczenia przewidywanych energii przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DAll, wliczając w to zarówno metody DFT jak i *ab-initio* pokazują, iż najlepiej absorpcyjne dane eksperymentalne odzwierciedla metoda B3LYP/aug-cc-pVDZ, w ogólności zastosowanie funkcjonału B3LYP sprzężonego z różnymi bazami atomowymi pozwala na najlepsze odniesienie do danych eksperymentalnych. Jak wspomniano na wstępie, 5DAll stanowi najprostszą spośród badanych pochodnych, dlatego modele obliczeniowe, które najlepiej sprawdziły się dla tej struktury, zostaną również wykorzystane dla bardziej złożonych, alkilowych pochodnych 5DAll.

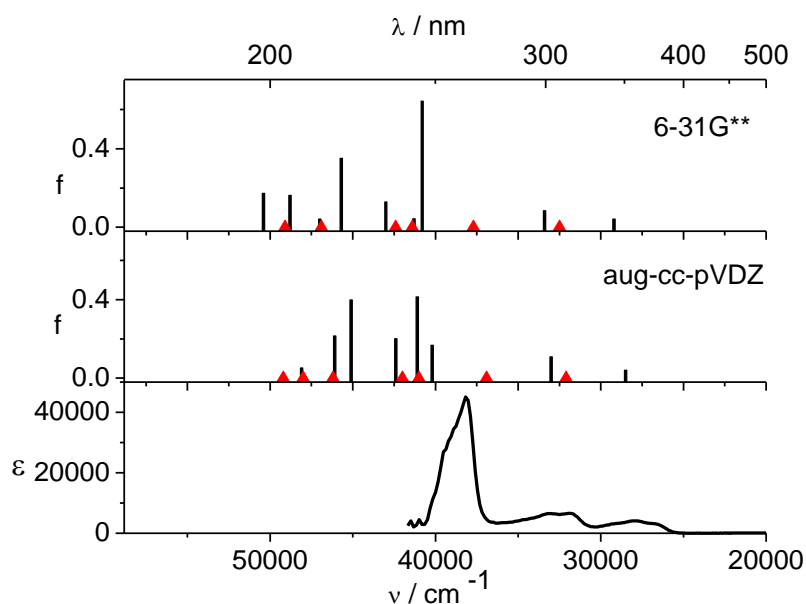
4.3.2. *Energie przejść singlet \rightarrow singlet dla monometylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny z wykorzystaniem metod DFT w różnych bazach atomowych*

Wykorzystując funkcjonał B3LYP skorelowany z różnymi bazami atomowymi, poczynając od relatywnie prostej 6-31G, a kończąc na bardziej złożonej, mianowicie: aug-cc-pVDZ, zostały wyznaczone przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 9-metylo-5-deazaalloksazyny (9Me-5DAll), które wraz z odpowiadającymi im siłami oscylatora (f) przedstawiono w **Tabeli 16**. Niezależnie od zastosowanej do obliczeń bazy atomowej, w każdym przypadku, przejście $S_0 \rightarrow S_1$ ma charakter π, π^* , natomiast przejście $S_0 \rightarrow S_2$ ma charakter n, π^* . Przerwa energetyczna $|E_{n, \pi^*} - E_{\pi, \pi^*}|$ jest relatywnie duża, a jej wielkość jest uzależniona od rodzaju zastosowanej do obliczeń bazy atomowej. Największą wartość (4200 cm^{-1}) odnotowano w przypadku zastosowania bazy atomowej: 6-31+G(d) natomiast najmniejszą (2400 cm^{-1}) dla bazy 6-31G. Użycie najbardziej złożonej bazy: aug-cc-pVDZ, daje wartość $|E_{n, \pi^*} - E_{\pi, \pi^*}| = 3600 \text{ cm}^{-1}$. Uzyskane wartości różnicy energetycznych pomiędzy stanami S_1 i S_2 potwierdzają, iż dla 9Me-5DAll przejście $S_0 \rightarrow S_1$ ma "czysty" charakter π, π^* i nie jest sprzężone z blisko usytuowanym stanem o charakterze n, π^* . W przypadku przejść elektronowych o wyższej energii, niezależnie od zastosowanej bazy, odnotowano charakter π, π^* dla przejść $S_0 \rightarrow S_3$ oraz charakter n, π^* dla przejść $S_0 \rightarrow S_4$. Również niezależnie od zastosowanej do obliczeń bazy atomowej, orbitalami dominującymi w przejściu $S_0 \rightarrow S_1$ okazały się orbitale HOMO oraz LUMO z około 70% wkładem w najniżej położone przejście singlet \rightarrow singlet. Zgodnie z danymi eksperymentalnymi prezentowanymi w *podrozdziale 4.1.2.*, w widmach absorpcji monometylo- podstawionych pochodnych 5DAll, w tym również dla 9Me-5DAll, w długofalowej części widma została odnotowana obecność dwóch pasm, których usytuowanie jest uzależnione od zastosowanego rozpuszczalnika. W tym momencie powstaje pytanie - która z zastosowanych baz atomowych skorelowanych z funkcjonałem

B3LYP wykazuje najlepszą zgodność z danymi eksperymentalnymi? Aby rozwiązać ten problem, dane teoretyczne zostały przyrównane do eksperymentalnego widma w DCM ze względu na brak możliwości zarejestrowania widma absorpcji w fazie gazowej dla omawianej pochodnej, podobnie jak to miało miejsce dla 5DA11. W DCM 9Me-5DA11 absorbuje światło przy $\lambda_1 = 358 \text{ nm}$ [27932 cm^{-1}] oraz przy $\lambda_2 = 317 \text{ nm}$ [31545 cm^{-1}]. Dwa, dobrze rozdzielone pasma w długofalowej części widma absorpcji 9Me-5DA11 w DCM (oraz w innych rozpuszczalnikach) są związane z dwoma niezależnymi przejściami elektronowymi o charakterze π, π^* . Porównując usytuowanie λ_1 9Me-5DA11 w DCM oraz wyznaczoną energię przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ z użyciem różnych baz atomowych (**Tabela 16**), największą różnicę pomiędzy danymi eksperymentalnymi oraz teoretycznymi zanotowano w przypadku zastosowania baz atomowych: 6-31G* oraz 6-31G** (1300 cm^{-1}). Z kolei najlepszą zgodność obserwuje się dla najbardziej złożonej bazy atomowej: aug-cc-pVDZ - w tym przypadku obliczona różnica pomiędzy λ_1 z eksperymentalnego widma absorpcji 9Me-5DA11 w DCM oraz wyznaczonej teoretycznie energii $S_0 \rightarrow S_1$ wynosi 600 cm^{-1} . Warto również zwrócić uwagę na wyznaczone energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 9Me-5DA11 przy użyciu metody B3LYP/6-31+G(d). W tym przypadku różnica pomiędzy energią przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ a λ_1 z widma absorpcji wynosi jedynie 700 cm^{-1} . Zbliżone korelacje pomiędzy danymi eksperymentalnymi i teoretycznymi występują w przypadku porównania położenia maksimum absorpcji λ_2 9Me-5DA11 w DCM z wyliczoną energią przejścia $S_0 \rightarrow S_3$, który ma charakter π, π^* . Największe rozbieżności w tym przypadku odnotowano również przy zastosowaniu baz atomowych: 6-31G* oraz 6-31G** (odpowiednio 2000 cm^{-1} i 1900 cm^{-1}), natomiast najmniejsze w przypadku zastosowania baz: 6-31+G(d) oraz aug-cc-pVDZ (odpowiednio 1400 cm^{-1} oraz 1500 cm^{-1}). Warto podkreślić, iż najlepszą korelację pomiędzy danymi eksperymentalnymi i teoretycznymi uzyskano w przypadku zastosowania do obliczeń bazy aug-cc-pVDZ, jednak czas potrzebny do optymalizacji geometrii stanu podstawowego oraz wyliczenia przejść singlet \rightarrow singlet jest znacznie dłuższy w porównaniu do prostszej bazy atomowej, mianowicie 6-31+G(d), natomiast rezultaty w tym przypadku są bardzo zbliżone do tych, które uzyskano dla bazy aug-cc-pVDZ. Największą różnicę pomiędzy wyliczonymi energiami przejść singlet \rightarrow singlet a danymi eksperymentalnymi odnotowano w przypadku baz 6-31G* oraz 6-31G**.

Na **Rysunku 59** przedstawiono widmo absorpcji 9Me-5DA11 w DCM wraz z porównaniem wyliczonych energii przejść singlet \rightarrow singlet w bazach: 6-31G** i aug-cc-pVDZ. Dodatkowo, z wykorzystaniem modelu rozpuszczalnikowego PCM, oraz wykorzystując poziom teorii: B3LYP/6-31+G(d) wyznaczono przewidywane energie przejść singlet \rightarrow

singlet 9Me-5DAII w metanolu. W porównaniu do analogicznego sposobu przeprowadzenia obliczeń dla fazy gazowej, obserwuje się zmianę charakteru najniższych położonych przejść singlet \rightarrow singlet, notowaną w kolejności: (i) π,π^* , (ii) π,π^* , (iii) n,π^* , (iv) n,π^* . Wyznaczone energie przejść $S_0 \rightarrow S_1$ oraz $S_0 \rightarrow S_2$ w zadowalający sposób odzwierciedlają eksperymentalne widmo 9Me-5DAII w MeOH, różnice pomiędzy przewidywaną energią danego przejścia singlet \rightarrow singlet oraz maksimami długofalowych pasm absorpcji wynoszą odpowiednio 300 cm^{-1} oraz 900 cm^{-1} .



Rysunek 59. Widmo absorpcji 9Me-5DAII w DCM (dolny panel), przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 9Me-5DAII [B3LYP/aug-cc-pVDZ] w odniesieniu do fazy gazowej (środkowy panel) oraz przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 9Me-5DAII [B3LYP/6-31G**] w odniesieniu do fazy gazowej (górny panel). Przejścia o charakterze π,π^* zostały oznaczone czarnymi liniami, natomiast o charakterze n,π^* czerwonymi trójkątami, ϵ w $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$, na podstawie (149).

Tabela 16. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 9Me-5DAII (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem funkcjonału B3LYP w różnych bazach atomowych: 6-31G, 6-311G, 6-31G*, 6-31G**, 6-31+G(d), cc-pVTZ, cc-pVDZ, aug-cc-pVDZ (w fazie gazowej) oraz 6-31+G(d) z zastosowaniem modelu rozpuszczalnikowego PCM w metanolu, wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_i$	6-31G		6-311G		6-31G*		6-31G**		6-31+G(d) Faza gazowa ^a		6-31+G(d) PCM_metanol ^a		cc-pVTZ		cc-pVDZ		aug-cc-pVDZ	
	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f
$\rightarrow S_1$	29.0	0.036	28.9	0.037	29.2	0.042	29.2	0.042	28.6	0.039	28.2	0.034	28.8	0.040	28.9	0.044	28.5	0.040
$\rightarrow S_2$	31.4 [†]	0.001	31.5 [†]	0	32.5 [†]	0	32.5 [†]	0	32.8 [†]	0	32.6	0.102	32.5 [†]	0	32.2 [†]	0	32.1 [†]	0
$\rightarrow S_3$	33.3	0.085	33.2	0.090	33.5	0.088	33.4	0.084	32.9	0.096	33.5 [†]	0	33.1	0.095	33.2	0.082	33.0	0.109
$\rightarrow S_4$	36.1 [†]	0	36.2 [†]	0	37.7 [†]	0	37.7 [†]	0	37.7 [†]	0	38.1 [†]	0	37.5 [†]	0	37.5 [†]	0	36.9 [†]	0
$\rightarrow S_5$	40.0 [†]	0	40.0 [†]	0	40.8	0.626	40.8	0.643	40.1	0.751	39.8	0.782	40.6	0.693	40.5	0.570	40.2	0.168
$\rightarrow S_6$	40.5	0.002	40.4	0.043	41.3	0.057	41.3	0.044	41.1	0.009	41.3	0.022	41.3	0.015	40.9	0.105	41.0 [†]	0
$\rightarrow S_7$	40.6	0.690	40.5	0.651	41.4 [†]	0	41.4 [†]	0	41.8 [†]	0	42.5 [†]	0	41.5 [†]	0	41.0 [†]	0	41.1	0.413
$\rightarrow S_8$	41.1 [†]	0	41.2 [†]	0	42.4 [†]	0	42.4 [†]	0	42.6 [†]	0	43.3	0.109	42.4 [†]	0	42.1 [†]	0	42.0 [†]	0
$\rightarrow S_9$	42.9	0.111	42.7	0.119	43.0	0.129	43.0	0.129	42.7	0.134	43.5 [†]	0	42.9	0.138	42.6	0.129	42.4	0.200
$\rightarrow S_{10}$	45.3	0.300	45.2	0.327	45.8	0.354	45.7	0.351	45.1	0.134	44.7	0.208	45.5	0.345	45.5	0.376	45.1	0.398
$\rightarrow S_{11}$	45.6 [†]	0	45.7 [†]	0	46.9 [†]	0	46.9 [†]	0	45.9	0.078	45.4	0.143	46.7	0.051	46.6 [†]	0	46.1	0.214
$\rightarrow S_{12}$	46.4	0.119	46.3	0.101	47.0	0.042	47.0	0.041	46.7 [†]	0.001	47.1 [†]	0.001	47.0 [†]	0	46.8	0.046	46.2 [†]	0
$\rightarrow S_{13}$	47.5 [†]	0	47.6 [†]	0	48.8	0.161	48.8	0.162	47.1 [†]	0	47.9	0.200	48.4	0.162	48.4	0.153	48.0 [†]	0
$\rightarrow S_{14}$	48.6	0.174	48.5	0.174	49.1 [†]	0	49.1 [†]	0	-	-	48.1 [†]	0	49.5 [†]	0	48.8 [†]	0	48.1	0.052
$\rightarrow S_{15}$	49.6	0.012	49.5	0.017	50.4	0.167	50.4	0.172	-	-	48.4	0.179	49.6	0.166	50.0	0.121	49.2 [†]	0

[†] przejścia n, π^* , pozostałe π, π^* , ^a na podstawie: (149).

Wykorzystując zoptymalizowane geometrie podstawowych stanów singletowych oraz porównując dane dostępne w literaturze dla analogicznych alloksazyn, zostały wyliczone przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet [rB3LYP/6-31+G(d)] dla serii monometylowych pochodnych 5DA11. Wzory oraz symbole odpowiednich pochodnych zostały przedstawione w **Tabeli 5**, natomiast wyznaczone energie przejść zostały zebrane w **Tabeli 17**. Ze względu na stosunkowo dobrą zgodność pomiędzy danymi eksperymentalnymi i teoretycznymi pokazanymi na przykładzie 9Me-5DA11 jako monometylo- podstawionej pochodnej 5DA11 oraz mając na względzie relatywnie krótki czas potrzebny na wykonanie obliczeń, do wyznaczenia energii przejść singlet \rightarrow singlet monometylo- podstawionych pochodnych 5DA11 zastosowano bazę atomową 6-31+G(d) skorelowaną z funkcjonalem B3LYP.

Uzyskane dane pozwoliły na określenie wpływu położenia grupy metylowej w pierścieniu 5DA11 na przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet oraz charakter tych przejść, szczególnie istotny dla najniżej energetycznie usytuowanych przejść absorpcyjnych. Wykres pokazujący energię czterech przejść singlet \rightarrow singlet oraz ich charakter dla wybranych monometylowych pochodnych 5DA11, został przedstawiony na **Rysunku 60**. Dane dotyczące przejść $S_0 \rightarrow S_1$ dla 5DA11, 8Me-5DA11 oraz 9Me-5DA11 pochodzą z uprzednio publikowanych prac (148,149). Wspólną cechą dla analizowanych pochodnych jest fakt, iż niezależnie od usytuowania grupy metylowej w pierścieniu 5-deazaalloksazynowym, przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ ma charakter π, π^* , natomiast najbardziej zaangażowanymi w to przejście orbitalami są HOMO i LUMO. Usytuowanie grupy metylowej wpływa nieznacznie na energię przejścia $S_0 \rightarrow S_1$. Przesunięcie ku wyższej energii odnotowano między innymi dla 1Me-5DA11, 3Me-5DA11 oraz 5Me-5DA11 z jednoczesnym przesunięciem ku niższej energii dla: 6Me-5DA11, 7Me-5DA11, 8Me-5DA11 oraz 9Me-5DA11. Istotnym wydaje się również fakt dotyczący charakteru przejścia $S_0 \rightarrow S_2$ oraz informacja na temat przerwy energetycznej pomiędzy stanem S_1 i S_2 dla serii monometylowych pochodnych 5DA11. Dla większości spośród nich odnotowano, iż przejście $S_0 \rightarrow S_2$ ma charakter n, π^* , z wyjątkiem 3Me-5DA11 i 9Me-5DA11, jakkolwiek dla tych cząsteczek w pobliżu znajduje się kolejne przejście elektronowe: $S_0 \rightarrow S_3$ o wyższej energii i charakterze n, π^* . Przerwa energetyczna (ΔE) pomiędzy stanem S_1 i S_2 jest relatywnie wysoka i waha się, w zależności od pochodnej, w przedziale od około 3000 cm^{-1} (1Me-5DA11, 8Me-5DA11) do około 4000 cm^{-1} (7Me-5DA11). Interesujące wydaje się porównanie z danymi teoretycznymi wyznaczonymi dla analogicznych monometylowych pochodnych alloksazyny.

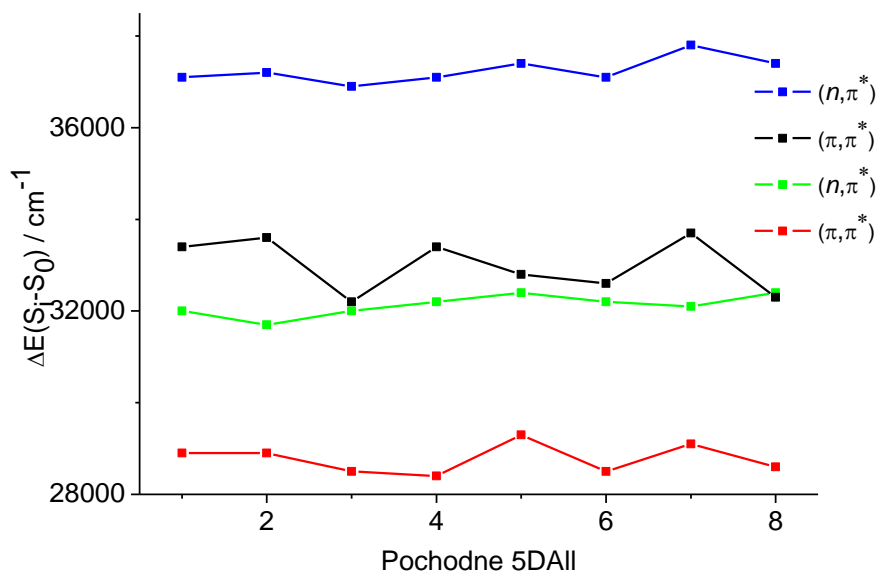
Tabela 17. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 1Me-5DAll; 3Me-5DAll; 5Me-5DAll; 6Me-5DAll; 7Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_i$	1Me-5DAll		3Me-5DAll		5Me-5DAll		6Me-5DAll		7Me-5DAll	
	$E \times$	f	$E \times$	f	$E \times$	f	$E \times$	f	$E \times$	f
	10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}	
	$/ \text{cm}^{-1}$		$/ \text{cm}^{-1}$	$/ \text{cm}^{-1}$		$/ \text{cm}^{-1}$		$/ \text{cm}^{-1}$	$/ \text{cm}^{-1}$	
$\rightarrow S_1$	29.1	0.060	29.3	0.051	29.2	0.049	28.6	0.036	28.6	0.050
$\rightarrow S_2$	32.1 [†]	0	32.4 [†]	0	32.2 [†]	0	32.4	0.139	32.6 [†]	0
$\rightarrow S_3$	33.4	0.100	33.5	0.125	33.7	0.088	32.4 [†]	0	33.5	0.098
$\rightarrow S_4$	37.1 [†]	0	37.6 [†]	0	37.8 [†]	0	37.4 [†]	0	37.7 [†]	0
$\rightarrow S_5$	39.7	0.336	38.5	0.013	40.8	0.519	40.2	0.549	40.5	0.592
$\rightarrow S_6$	40.7	0.051	41.1 [†]	0	41.1	0.254	40.8	0.011	41.2	0.173
$\rightarrow S_7$	41.0 [†]	0	41.3	0.688	41.3 [†]	0	41.3 [†]	0	41.5 [†]	0
$\rightarrow S_8$	41.9 [†]	0	42.3	0.217	42.2 [†]	0	42.5	0.141	42.5	0.135
$\rightarrow S_9$	42.1	0.359	42.6 [†]	0	42.8	0.124	42.5 [†]	0	42.7 [†]	0
$\rightarrow S_{10}$	44.3	0.520	44.8	0.402	45.1	0.432	44.6	0.559	43.9	0.469
$\rightarrow S_{11}$	45.9	0.192	46.2	0.167	45.6	0.013	46.1	0.065	45.7	0.166
$\rightarrow S_{12}$	46.6 [†]	0	47.1 [†]	0	46.6	0.209	47.2 [†]	0	47.2 [†]	0
$\rightarrow S_{13}$	47.6	0.002	47.8 [†]	0	46.9 [†]	0	47.3 [†]	0	47.3 [†]	0
$\rightarrow S_{14}$	47.7	0.106	47.9	0.070	47.0 [†]	0	48.0	0.147	47.6	0.062
$\rightarrow S_{15}$	48.6 [†]	0	48.2	0.013	48.2	0.117	48.8 [†]	0	48.6 [†]	0

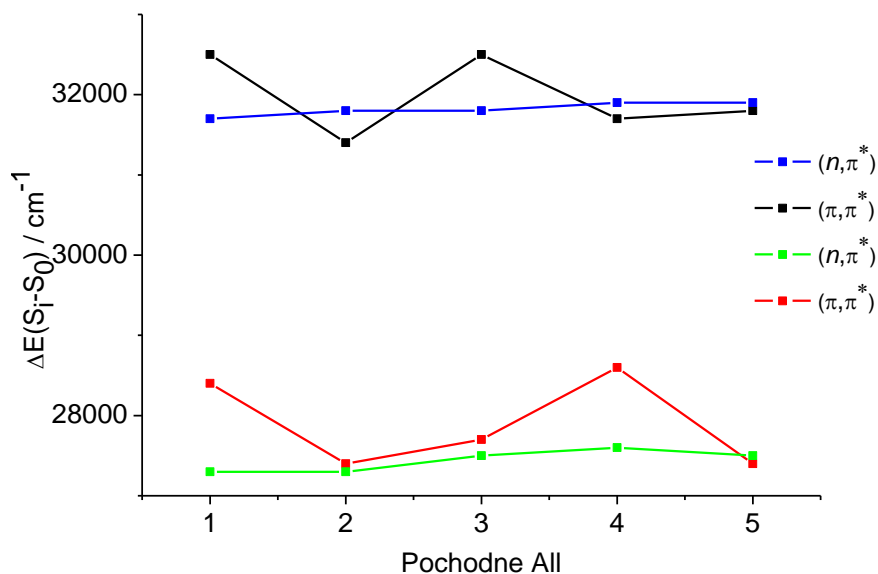
[†] przejścia n,π^* , pozostałe π,π^* .

Na **Rysunku 61** przedstawiono wykres zawierający przewidywane energie czterech, najniższych położonych przejść singlet \rightarrow singlet oraz ich charakter na podstawie danych literaturowych dla wybranych monometylo- podstawionych pochodnych alloksazyny. Dla tych cząsteczek obserwuje się odmienne trendy dotyczące charakteru najniższych usytuowanych przejść singlet \rightarrow singlet oraz przerw energetycznych dzielących stany S_1 i S_2 . W przypadku alloksazyny (All), 6-metyloalloksazyny (6MeAll), 7-metyloalloksazyny (7MeAll) oraz 8-metyloalloksazyny (8MeAll) odnotowano, iż przejście energetyczne $S_0 \rightarrow S_1$ charakteryzuje niska siła oscylatora (f) stąd ma ono charakter n,π^* . Jedynie dla 9-metyloalloksazyny odnotowano, iż najniższe energetycznie przejście singlet \rightarrow singlet ma charakter π,π^* . Porównanie przerwy energetycznej pomiędzy stanami S_1 i S_2 dla tych cząsteczek wskazuje na interesujące zależności, które są zdecydowanie odmiennie od notowanych dla analogicznych pochodnych 5DAll. Przerwa energetyczna pomiędzy stanami S_1 i S_2 wynosi odpowiednio: 1100 cm^{-1} (All), 100 cm^{-1} (6MeAll), 200 cm^{-1} (7MeAll), 1000 cm^{-1} (8MeAll) oraz 100 cm^{-1}

(9MeAll). Wyraźne rozdzielnie dwóch najniższych położonych stanów singletowych obserwuje się dla All i 8MeAll. W przypadku pozostałych cząsteczek można mówić praktycznie o izoenergetyczności stanów S_1 i S_2 . W przypadku tak niewielkiej różnicy energetycznej może następować omawiana wcześniej inwersja stanów w zależności od polarności rozpuszczalnika, w którym znajdzie się dana cząsteczka.



Rysunek 60. Przewidywane energie przejść singlet → singlet dla 5DAI i jej monometylowych pochodnych wyznaczone na poziomie teorii [B3LYP/6-31+G(d)]. Numery związków: (1) 5DAI, (2) 1Me-5DAI, (3) 3Me-5DAI, (4) 5Me-5DAI, (5) 6Me-5DAI, (6) 7Me-5DAI, (7) 8Me-5DAI, (8) 9Me-5DAI.



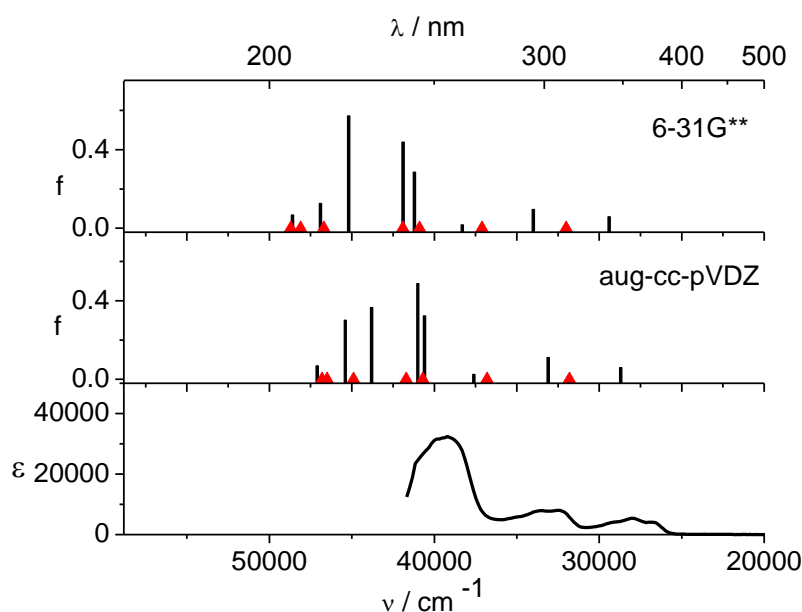
Rysunek 61. Przewidywane energie przejść singlet → singlet dla All i jej wybranych monometylowych pochodnych wyznaczone na poziomie teorii [B3LYP/6-31+G(d)]. Numery związków: (1) All, (2) 6MeAll, (3) 7MeAll, (4) 8MeAll, (5) 9MeAll; na podstawie (50).

4.3.3. *Energie przejść singlet → singlet dla dimetylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny z wykorzystaniem metod DFT w różnych bazach atomowych*

1,3-Dimetylo-5-dezaalloksazyna (13Me-5DAll) jako dimetylowa pochodna 5DAll, stała się przedmiotem badań spektralnych i fotofizycznych z zastosowaniem różnych rozpuszczalników organicznych, które zostały opisane w pracy (148). Obliczenia przewidywanych energii przejść singlet → singlet dla 13Me-5DAll z wykorzystaniem metody B3LYP/6-31+G(d) zostały zawarte również w publikacji (148). W związku z zastosowaniem tej cząsteczki jako struktury modelowej w badaniach reakcji podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym oraz dyskusji równowag protonacji / deprotonacji pochodnych 5DAll, dotychczasowe opublikowane rezultaty teoretyczne dla 13Me-5DAll zostały uzupełnione o dodatkowe dane, dla których funkcjonal B3LYP został powiązany z innymi bazami atomowymi. Rezultaty obliczeń energii przejść singlet → singlet dla 13Me-5DAll w odniesieniu do fazy gazowej zostały zawarte w **Tabeli 18**.

Niezależnie od zastosowanej do obliczeń bazy atomowej, przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ w każdym przypadku ma charakter π, π^* , natomiast orbitale dominujące w tym przejściu to HOMO i LUMO. Jednocześnie, dla przejścia $S_0 \rightarrow S_2$ odnotowano w każdym przypadku charakter n, π^* . W eksperymentalnym widmie absorpcji 13Me-5DAll w DCM (oraz w innych rozpuszczalnikach) są obecne dwa, dobrze rozdzielone pasma absorpcji w długofalowej części widma za które odpowiadają dwa niezależne przejścia elektronowe o charakterze π, π^* . Podobnie jak w przypadku dyskutowanej wcześniej 9Me-5DAll, także w tym przypadku porównano uzyskane dane eksperymentalne z wynikami teoretycznymi obliczonymi w różnych bazach atomowych, aby zweryfikować, który sposób modelowania teoretycznego najdokładniej odzwierciedla dane eksperymentalne. W widmie absorpcji 13Me-5DAll w DCM odnotowuje się, w długofalowej części widma, obecność dwóch pasm z maksimami odpowiednio przy $\lambda_1 = 357 \text{ nm}$ [28010 cm^{-1}] oraz $\lambda_2 = 308 \text{ nm}$ [32470 cm^{-1}]. Podobnie jak w przypadku 9Me-5DAll, również w przypadku 13Me-5DAll najmniejsza różnica pomiędzy λ_1 w widmie absorpcji 13Me-5DAll w DCM oraz wyznaczoną energią przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ występuje dla bazy aug-cc-pVDZ. Jednocześnie największą różnicę stwierdzono przy zastosowaniu baz atomowych: 6-31G* oraz 6-31G**. W pierwszym przypadku, przy najmniejszej różnicy pomiędzy danymi λ_1 a energią przejścia $S_0 \rightarrow S_1$, wyliczona wartość wynosi 700 cm^{-1} . Z kolei dla baz 6-31G* oraz 6-31G** wyliczone różnice wynoszą po 1400 cm^{-1} . Równie interesujące rezultaty obliczeń teoretycznych uzyskano przy zastosowaniu bazy 6-31+G(d). Otrzymane rezultaty są bardzo podobne do wyznaczonych przy

zastosowaniu bazy aug-cc-pVDZ. Różnica pomiędzy λ_1 w widmie absorpcji 13Me-5DA11 w DCM oraz energią przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ na poziomie teorii B3LYP/6-31+G(d) wynosi 900 cm^{-1} . W przypadku λ_2 13Me-5DA11 w DCM różnice pomiędzy usytuowaniem w widmie eksperymentalnym oraz energią przejścia $S_0 \rightarrow S_3$ wynoszą odpowiednio dla: aug-cc-pVDZ: 600 cm^{-1} , 6-31G* i 6-31G**: 1500 cm^{-1} oraz 6-31+G(d): 900 cm^{-1} . Podsumowując, podobnie jak w przypadku 9Me-5DA11, również dla przedstawiciela dimetylo- podstawionych pochodnych 5DA11, najbardziej akceptowalne rezultaty obliczeń teoretycznych w porównaniu z danymi eksperymentalnymi uzyskuje się w przypadku zastosowania bazy aug-cc-pVDZ. Równie dobre wyniki pozwala uzyskać baza 6-31+G(d). W przypadku cząsteczki z dwiema grupami metylowymi w pierścieniu 5-deazaalloksazynowym optymalizacja struktury w stanie podstawowym oraz wyliczenie energii przejść singlet \rightarrow singlet jest dość czasochłonne dla bazy aug-cc-pVDZ w porównaniu do 6-31+G(d). Najmniejszą zgodność z danymi eksperymentalnymi wykazują relatywnie najprostsze bazy: 6-31G* oraz 6-31G**. Zestawienie eksperymentalnego widma 13Me-5DA11 w DCM wraz z uzyskanymi rezultatami obliczeń teoretycznych w bazach aug-cc-pVDZ oraz 6-31G** pokazano na **Rysunku 62**.



Rysunek 62. Widmo absorpcji 13Me-5DA11 w DCM (dolny panel), przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 13Me-5DA11 [B3LYP/aug-cc-pVDZ] w odniesieniu do fazy gazowej (środkowy panel) oraz przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 13Me-5DA11 [B3LYP/6-31G**] w odniesieniu do fazy gazowej (górny panel). Przejścia o charakterze π, π^* zostały oznaczone czarnymi liniami, natomiast o charakterze n, π^* czerwonymi trójkątami, ϵ w $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$, na podstawie (148).

Tabela 18. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 13Me-5DA11 (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem funkcjonu B3LYP w różnych bazach atomowych: 6-31G, 6-311G, 6-31G*, 6-31G**, 6-31+G(d), cc-pVTZ, cc-pVDZ, aug-cc-pVDZ (w fazie gazowej), wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_i$	6-31G		6-311G		6-31G*		6-31G**		6-31+G(d) ^a		cc-pVTZ		cc-pVDZ		aug-cc-pVDZ	
	E × 10 ⁻³ / cm ⁻¹	f	E × 10 ⁻³ / cm ⁻¹	f	E × 10 ⁻³ / cm ⁻¹	f	E × 10 ⁻³ / cm ⁻¹	f	E × 10 ⁻³ / cm ⁻¹	f	E × 10 ⁻³ / cm ⁻¹	f	E × 10 ⁻³ / cm ⁻¹	f	E × 10 ⁻³ / cm ⁻¹	f
$\rightarrow S_1$	29.2	0.056	29.0	0.057	29.4	0.058	29.4	0.059	28.9	0.059	29.2	0.058	29.1	0.060	28.7	0.059
$\rightarrow S_2$	30.9 [†]	0	30.9 [†]	0	32.0 [†]	0	32.0 [†]	0	32.0 [†]	0	32.0 [†]	0	31.7 [†]	0	31.8 [†]	0
$\rightarrow S_3$	33.9	0.099	33.7	0.101	34.0	0.099	34.0	0.096	33.4	0.111	33.7	0.106	33.7	0.092	33.1	0.111
$\rightarrow S_4$	35.5 [†]	0	35.6 [†]	0	37.2 [†]	0	37.1 [†]	0	37.1 [†]	0	37.0 [†]	0	36.9 [†]	0	36.8 [†]	0
$\rightarrow S_5$	37.7	0.017	37.5	0.018	38.4	0.018	38.3	0.017	37.9	0.031	38.2	0.019	37.8	0.013	37.6	0.025
$\rightarrow S_6$	39.4 [†]	0	39.4 [†]	0	40.9 [†]	0	40.9 [†]	0	40.7	0.348	41.0 [†]	0	40.5 [†]	0	40.6	0.323
$\rightarrow S_7$	40.6 [†]	0	40.5	0.329	41.2	0.286	41.2	0.286	40.8 [†]	0.001	41.2	0.293	40.9	0.307	40.7 [†]	0
$\rightarrow S_8$	40.7	0.313	40.7 [†]	0	42.0 [†]	0	41.9 [†]	0.001	41.4	0.461	41.7	0.491	41.5	0.431	41.0	0.487
$\rightarrow S_9$	41.8	0.369	41.6	0.380	42.1	0.445	41.9	0.439	41.9 [†]	0	41.9 [†]	0	41.6 [†]	0	41.7 [†]	0
$\rightarrow S_{10}$	45.0	0.652	44.7	0.617	45.2	0.575	45.2	0.571	44.2	0.440	44.8	0.473	44.9	0.527	43.8	0.364
$\rightarrow S_{11}$	45.4 [†]	0	45.4 [†]	0	46.7 [†]	0	46.7 [†]	0	45.7	0.229	46.5	0.225	46.3 [†]	0	44.9 [†]	0
$\rightarrow S_{12}$	46.3	0.085	46.1	0.120	46.9	0.118	46.9	0.126	46.7 [†]	0	46.8 [†]	0	46.6	0.202	45.4	0.301
$\rightarrow S_{13}$	47.0 [†]	0	47.1 [†]	0	48.2 [†]	0	48.1 [†]	0.001	47.1 [†]	0.002	48.0	0.046	47.6	0.009	46.5 [†]	0
$\rightarrow S_{14}$	47.4 [†]	0	47.2 [†]	0	48.6 [†]	0	48.6	0.068	47.5	0.073	48.4	0.028	48.1	0.068	46.8 [†]	0
$\rightarrow S_{15}$	48.5	0.066	48.2	0.067	48.7 [†]	0	48.7 [†]	0	47.9	0.013	48.9 [†]	0	48.4 [†]	0	47.1	0.068

[†] przejścia n, π^* , pozostałe π, π^* , ^a na podstawie (148).

Korzystając z poziomu teorii B3LYP/6-31+G(d), po przeprowadzeniu optymalizacji struktury stanu podstawowego, wyznaczono energie przejść singlet \rightarrow singlet dla serii dimetylo- podstawionych pochodnych 5DAI z różnymi możliwościami usytuowania grup metylowych w pierścieniu 5-deazaalloksazynowym. Struktury odpowiednich związków oraz stosowane skróty zostały zamieszczone w **Tabeli 5**. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla serii dimetylo- podstawionych pochodnych 5DAI zostały zebrane w **Tabelach 19-22**. Na podstawie wyliczonych energii przejść singlet \rightarrow singlet został stworzony wykres przedstawiający energie czterech przejść singlet \rightarrow singlet o najniższej energii wraz z uwzględnieniem ich charakteru (**Rysunek 63**). Z przedstawionych danych wynika, iż niezależnie od usytuowania i kombinacji grup metylowych w pierścieniu 5DAI, przejście $S_0 \rightarrow S_1$ ma charakter π, π^* . Usytuowanie grup metylowych wpływa jednak na lokalizację przewidywanej energii przejścia $S_0 \rightarrow S_1$. Najbardziej wyraźne przesunięcie ku niższej energii zostało odnotowane dla 58Me-5DAI, 38Me-5DAI oraz 18Me-5DAI, natomiast ku wyższej energii dla 67Me-5DAI i 69Me-5DAI. Ustalenie jednoznacznej reguły dotyczącej charakteru przejścia elektronowego $S_0 \rightarrow S_2$ jest nieco bardziej złożone. Generalnie, dla większości dimetylowych pochodnych 5DAI ze względu na słabą siłę oscylatora przyjmuje się, że to przejście ma charakter n, π^* , jednak jest kilka wyjątków (36Me-5DAI, 38Me-5DAI, 67Me-5DAI, 78Me-5DAI i 89Me-5DAI). W tych przypadkach różnica pomiędzy przejściem $S_0 \rightarrow S_2$ a $S_0 \rightarrow S_3$ jest jednak nieznaczna i w zależności od pochodnej waha się w przedziale $100-200 \text{ cm}^{-1}$ z wyjątkiem dwóch cząsteczek, mianowicie 68Me-5DAI oraz 69Me-5DAI - tutaj przerwy energetyczne to odpowiednio 900 cm^{-1} oraz 600 cm^{-1} . Przerwa energetyczna pomiędzy stanami S_1 (o charakterze π, π^*) i S_2 , które dla większości cząsteczek ma charakter n, π^* jest na tyle duża, że można uznać przejście $S_0 \rightarrow S_1$ za "czyste", niesprężone z żadnym innym. Największą przerwę energetyczną pomiędzy stanami S_1 i S_2 odnotowano w przypadku 79Me-5DAI (4900 cm^{-1}) natomiast najmniejszą dla 15Me-5DAI (2800 cm^{-1}). Dostępne literaturowo dane dla analogicznych dimetylo- podstawionych alloksazyn przedstawiają odmienne trendy w charakterze przejść elektronowych $S_0 \rightarrow S_1$ oraz $S_0 \rightarrow S_2$ jak również w wielkości przerwy energetycznej pomiędzy stanami S_1 i S_2 . Wykres przedstawiający przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla wybranych dimetylowych pochodnych All, analogicznych do prezentowanych pochodnych 5DAI, przedstawiono na **Rysunku 64**. Dla większości opisanych literaturowo dimetylowych alloksazyn stwierdzono, iż przejście $S_0 \rightarrow S_1$ ma charakter π, π^* jednak w przypadku 6,8-dimetyloalloksazyny (68MeAll) okazuje się, iż przewidywane energie przejść $S_0 \rightarrow S_1$ (o charakterze n, π^*) oraz $S_0 \rightarrow S_2$ (o charakterze π, π^*) są praktycznie izoenergetyczne a energia wynosi 27600 cm^{-1} . Inna ciekawa sytuacja

została zanotowana dla 7,8-dimetyloalloksazyny - lumichromu (78MeAll), gdzie przerwa energetyczna pomiędzy przewidywanymi energiami przejść $S_0 \rightarrow S_1$ oraz $S_0 \rightarrow S_2$ wynosi 200 cm^{-1} . W dodatku, przejście $S_0 \rightarrow S_1$ ze względu na słabą siłę oscylatora ma charakter n, π^* natomiast przejście $S_0 \rightarrow S_2$ ma charakter π, π^* . W przypadku pozostałych dimetylowych alloksazyn (**Rysunek 64**) odnotowano, iż przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ ma charakter π, π^* , jednak różnice energetyczne pomiędzy stanami S_1 i S_2 są wyraźnie mniejsze w porównaniu do analogicznych 5-dezaalloksazyn. Największą różnicę energii odnotowano dla 69MeAll (1200 cm^{-1}) natomiast najmniejszą dla 89MeAll (300 cm^{-1}).

Tabela 19. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 15Me-5DAI; 16Me-5DAI; 17Me-5DAI; 18Me-5DAI; 19Me-5DAI (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_i$	15Me-5DAI		16Me-5DAI		17Me-5DAI		18Me-5DAI		19Me-5DAI	
	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f
$\rightarrow S_1$	28.9	0.055	28.5	0.041	28.4	0.057	29.3	0.055	28.5	0.045
$\rightarrow S_2$	31.7 [†]	0	32.0 [†]	0	32.2 [†]	0	32.4 [†]	0	32.2 [†]	0
$\rightarrow S_3$	33.6	0.082	32.2	0.136	33.4	0.088	32.8	0.138	32.6	0.097
$\rightarrow S_4$	37.2 [†]	0	36.9 [†]	0	37.1 [†]	0	37.4 [†]	0	37.1 [†]	0
$\rightarrow S_5$	39.7	0.479	39.2	0.359	39.3	0.446	39.7	0.457	39.1	0.531
$\rightarrow S_6$	40.8	0.023	40.3	0.014	40.7	0.011	40.1	0.062	40.4	0.024
$\rightarrow S_7$	40.8 [†]	0	41.1 [†]	0	41.2 [†]	0	41.1 [†]	0	41.0 [†]	0
$\rightarrow S_8$	41.7 [†]	0	41.9 [†]	0	42.0	0.373	42.0 [†]	0	41.9 [†]	0
$\rightarrow S_9$	42.1	0.307	42.0	0.294	42.1 [†]	0	42.1	0.367	42.1	0.269
$\rightarrow S_{10}$	44.5	0.518	43.9	0.617	43.2	0.535	43.8	0.494	44.0	0.415
$\rightarrow S_{11}$	45.4	0.060	45.8	0.057	45.3	0.211	45.8	0.147	45.7	0.067
$\rightarrow S_{12}$	45.9	0.193	46.7 [†]	0	46.7 [†]	0	46.4 [†]	0	46.3	0.005
$\rightarrow S_{13}$	46.3 [†]	0	46.8 [†]	0	46.8 [†]	0	47.4	0.003	46.5 [†]	0
$\rightarrow S_{14}$	46.5	0.004	47.5	0.159	47.6	0.090	47.5	0.144	47.6	0.168
$\rightarrow S_{15}$	48.0 [†]	0	48.7 [†]	0	48.4	0.002	48.8 [†]	0	48.2 [†]	0

[†] przejścia n,π^* , pozostałe π,π^* .

Tabela 20. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 35Me5-DAll; 36Me-5DAll; 37Me-5DAll; 38Me-5DAll; 39Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_i$	35Me-5DAll		36Me-5DAll		37Me-5DAll		38Me-5DAll		39Me-5DAll	
	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f
$\rightarrow S_1$	29.1	0.051	28.6	0.039	28.6	0.054	29.5	0.047	28.5	0.042
$\rightarrow S_2$	32.1 [†]	0	32.3	0.153	32.6 [†]	0	32.8	0.167	32.6 [†]	0
$\rightarrow S_3$	33.7	0.099	32.4 [†]	0.001	33.5	0.111	32.8 [†]	0.001	32.8	0.110
$\rightarrow S_4$	37.8 [†]	0	37.4 [†]	0	37.6 [†]	0	37.8 [†]	0	37.6 [†]	0
$\rightarrow S_5$	38.9	0.016	38.4	0.017	38.7	0.028	38.8	0.019	38.7	0.048
$\rightarrow S_6$	40.9	0.806	40.4	0.559	40.9	0.812	40.8	0.509	40.2	0.738
$\rightarrow S_7$	41.1 [†]	0	41.1 [†]	0	41.2 [†]	0	41.3 [†]	0	41.3 [†]	0
$\rightarrow S_8$	42.2 [†]	0	42.3	0.193	42.1	0.169	41.8	0.558	42.0	0.180
$\rightarrow S_9$	42.4	0.135	42.7 [†]	0	42.9 [†]	0	42.5 [†]	0	42.4 [†]	0
$\rightarrow S_{10}$	44.9	0.418	44.4	0.597	43.7	0.404	44.5	0.342	44.8	0.318
$\rightarrow S_{11}$	45.4	0.012	45.9	0.053	45.6	0.191	46.1	0.151	45.6	0.062
$\rightarrow S_{12}$	46.4	0.197	46.9 [†]	0.001	46.9 [†]	0.001	47.0 [†]	0	46.4 [†]	0.001
$\rightarrow S_{13}$	46.5 [†]	0	47.3 [†]	0	47.4 [†]	0	47.4	0.098	47.0 [†]	0
$\rightarrow S_{14}$	47.0 [†]	0	47.8	0.108	47.5	0.058	47.7 [†]	0	47.7	0.125
$\rightarrow S_{15}$	47.8	0.067	48.5	0.025	48.2	0.117	48.1	0.008	47.9	0.002

[†] przejścia n,π^* , pozostałe π,π^* .

Tabela 21. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 56Me-5DAI1; 57Me-5DAI1; 58Me-5DAI1; 59Me-5DAI1 (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

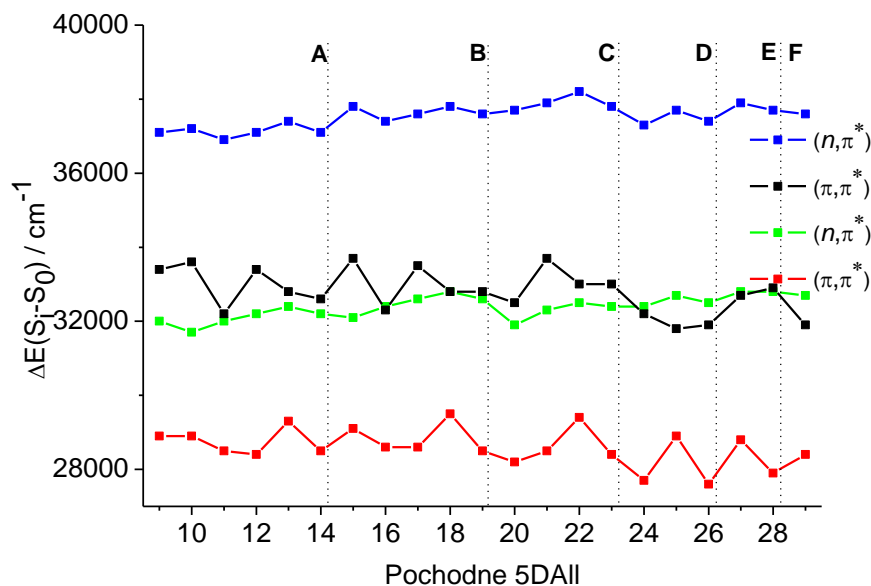
$S_0 \rightarrow S_i$	56Me-5DAI1		57Me-5DAI1		58Me-5DAI1		59Me-5DAI1	
	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f
$\rightarrow S_1$	28.2	0.040	28.5	0.050	29.4	0.044	28.4	0.046
$\rightarrow S_2$	31.9 [†]	0.001	32.3 [†]	0	32.5 [†]	0	32.4 [†]	0
$\rightarrow S_3$	32.5	0.100	33.7	0.073	33.0	0.124	33.0	0.070
$\rightarrow S_4$	37.7 [†]	0	37.9 [†]	0	38.2 [†]	0	37.8 [†]	0
$\rightarrow S_5$	39.7	0.675	40.4	0.828	40.7	0.703	39.8	0.805
$\rightarrow S_6$	40.7 [†]	0.001	41.2	0.034	40.8	0.209	40.9	0.011
$\rightarrow S_7$	41.3 [†]	0	41.6 [†]	0	41.4 [†]	0	41.3 [†]	0
$\rightarrow S_8$	42.1 [†]	0	42.4 [†]	0	42.3 [†]	0	42.2 [†]	0
$\rightarrow S_9$	42.4	0.069	42.6	0.100	42.6	0.148	42.7	0.093
$\rightarrow S_{10}$	44.1	0.417	44.1	0.480	44.8	0.375	44.6	0.160
$\rightarrow S_{11}$	44.8	0.047	45.1	0.042	45.5	0.042	45.4	0.179
$\rightarrow S_{12}$	45.8 [†]	0	46.1 [†]	0	46.2	0.185	45.7 [†]	0
$\rightarrow S_{13}$	46.0	0.183	46.3	0.172	46.8 [†]	0.001	46.2	0.223
$\rightarrow S_{14}$	46.9 [†]	0.001	47.2 [†]	0	46.9 [†]	0	46.7 [†]	0
$\rightarrow S_{15}$	47.6	0.159	47.4	0.127	48.1	0.108	47.5	0.002

[†] przejścia n, π^* , pozostałe π, π^* .

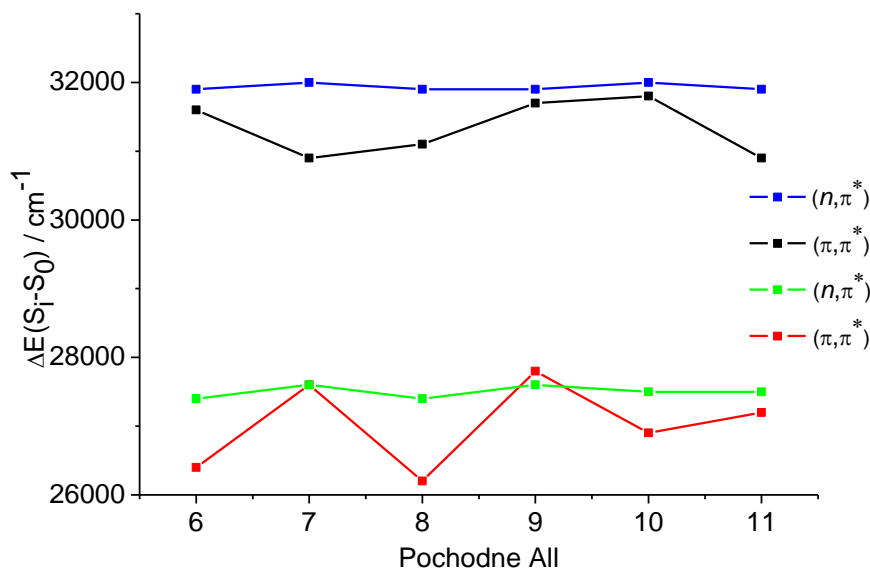
Tabela 22. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 67Me-5DAII; 68Me-5DAII; 69Me-5DAII; 78Me-5DAII; 79Me-5DAII i 89Me-5DAII (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_i$	67Me-5DAII		68Me-5DAII		69Me-5DAII		78Me-5DAII		79Me-5DAII		89Me-5DAII	
	$E \times$	f	$E \times$	f	$E \times$	f	$E \times$	f	$E \times$	f	$E \times$	f
	10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}	
	/ cm^{-1}		/ cm^{-1}		/ cm^{-1}		/ cm^{-1}		/ cm^{-1}		/ cm^{-1}	
$\rightarrow S_1$	27.7	0.038	28.9	0.030	27.6	0.038	28.8	0.048	27.9	0.042	28.4	0.029
$\rightarrow S_2$	32.2	0.135	31.8	0.175	31.9	0.111	32.7	0.154	32.8 [†]	0	31.9	0.150
$\rightarrow S_3$	32.4 [†]	0	32.7 [†]	0	32.5 [†]	0	32.8 [†]	0	32.9	0.086	32.7 [†]	0
$\rightarrow S_4$	37.3 [†]	0	37.7 [†]	0	37.4 [†]	0	37.9 [†]	0	37.7 [†]	0	37.6 [†]	0
$\rightarrow S_5$	39.7	0.596	39.9	0.573	38.9	0.637	40.5	0.602	39.6	0.864	39.6	0.781
$\rightarrow S_6$	40.8	0.009	40.6	0.087	40.8	0.016	40.9	0.226	40.9	0.010	40.6	0.069
$\rightarrow S_7$	41.4 [†]	0	41.6 [†]	0	41.5 [†]	0	41.7 [†]	0	41.6 [†]	0	41.5 [†]	0
$\rightarrow S_8$	42.3	0.089	42.4	0.156	42.4 [†]	0	42.4	0.173	42.4	0.104	42.4	0.134
$\rightarrow S_9$	42.9 [†]	0	42.5 [†]	0	42.5	0.106	42.8 [†]	0	42.6 [†]	0	42.5 [†]	0
$\rightarrow S_{10}$	43.4	0.611	43.9	0.524	44.3	0.296	43.5	0.429	43.8	0.294	44.2	0.252
$\rightarrow S_{11}$	45.3	0.086	46.2	0.047	45.5	0.167	45.6	0.141	45.2	0.088	45.6	0.068
$\rightarrow S_{12}$	45.9 [†]	0	46.9 [†]	0	45.7 [†]	0	46.9 [†]	0	45.8 [†]	0	46.1 [†]	0
$\rightarrow S_{13}$	47.5 [†]	0	47.0 [†]	0	46.9 [†]	0	47.3	0.058	47.1 [†]	0	46.9 [†]	0
$\rightarrow S_{14}$	47.6	0.123	47.7	0.194	47.6	0.208	47.3 [†]	0	47.5	0.128	47.1	0.204
$\rightarrow S_{15}$	47.9 [†]	0	48.9 [†]	0	47.7 [†]	0	48.2 [†]	0	47.7 [†]	0	47.8 [†]	0.001

[†] przejścia n,π^* , pozostałe π,π^* .



Rysunek 63. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla dimetylo- podstawionych pochodnych 5DAI wyznaczone na poziomie teorii [B3LYP/6-31+G(d)]. Numery związków: **(9)** 13Me-5DAI, **(10)** 15Me-5DAI, **(11)** 16Me-5DAI, **(12)** 17Me-5DAI, **(13)** 18Me-5DAI, **(14)** 19Me-5DAI, **(15)** 35Me-5DAI, **(16)** 36Me-5DAI, **(17)** 37Me-5DAI, **(18)** 38Me-5DAI, **(19)** 39Me-5DAI, **(20)** 56Me-5DAI, **(21)** 57Me-5DAI, **(22)** 58Me-5DAI, **(23)** 59Me-5DAI, **(24)** 67Me-5DAI, **(25)** 68Me-5DAI, **(26)** 69Me-5DAI, **(27)** 78Me-5DAI, **(28)** 79Me-5DAI, **(29)** 89Me-5DAI; **A** – 1XMe-5DAI, **B** – 3XMe-5DAI, **C** – 5XMe-5DAI, **D** – 6XMe-5DAI, **E** – 7XMe-5DAI, **F** – 89Me-5DAI



Rysunek 64. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla dimetylo- podstawionych pochodnych All wyznaczone na poziomie teorii [B3LYP/6-31+G(d)]. Numery związków: **(6)** 67MeAll, **(7)** 68MeAll, **(8)** 69MeAll, **(9)** 78MeAll, **(10)** 79MeAll, **(11)** 89MeAll; na podstawie (51).

4.3.4. Energie przejść singlet \rightarrow singlet dla trimetylowych pochodnych 5-dezaalloksazyny z wykorzystaniem metod DFT w różnych bazach atomowych

Tabela 23. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 139Me-5DAII (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem funkcjonału B3LYP w różnych bazach atomowych: 6-31G, 6-311G, 6-31G*, 6-31G**, 6-31+G(d), cc-pVTZ, cc-pVDZ, aug-cc-pVDZ (w fazie gazowej), wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

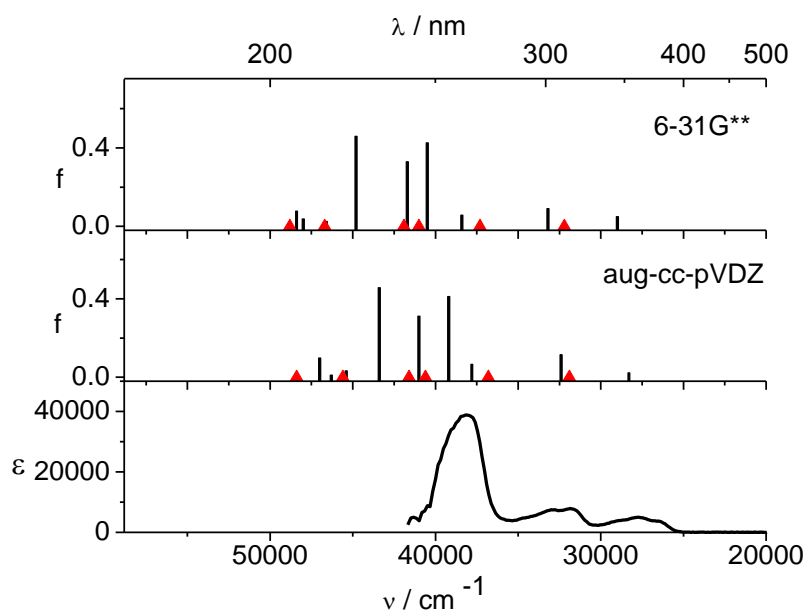
$S_0 \rightarrow S_i$	6-31G		6-311G		6-31G*		6-31G**		6-31+G(d) ^a		cc-pVTZ		cc-pVDZ		aug-cc-pVDZ	
	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f
$\rightarrow S_1$	28.8	0.046	28.7	0.047	29.0	0.049	29.0	0.050	28.5	0.049	28.7	0.048	28.7	0.051	28.3	0.022
$\rightarrow S_2$	31.1 [†]	0.001	31.1 [†]	0	32.2 [†]	0	32.2 [†]	0	32.2 [†]	0	32.1 [†]	0	32.0 [†]	0	31.9 [†]	0
$\rightarrow S_3$	33.1	0.094	33.0	0.099	33.2	0.090	33.2	0.090	32.6	0.106	33.0	0.101	32.9	0.088	32.4	0.114
$\rightarrow S_4$	35.7 [†]	0	35.7 [†]	0	37.3 [†]	0	37.3 [†]	0	37.1 [†]	0	37.1 [†]	0	37.1 [†]	0	36.8 [†]	0
$\rightarrow S_5$	37.8	0.039	37.7	0.040	38.5	0.060	38.4	0.057	38.0	0.098	38.3	0.071	37.9	0.046	37.8	0.065
$\rightarrow S_6$	39.6 [†]	0	39.6 [†]	0	40.5	0.424	40.5	0.426	39.9	0.443	40.4	0.439	40.1	0.446	39.2	0.411
$\rightarrow S_7$	40.0	0.430	39.9	0.436	41.1 [†]	0	41.0 [†]	0	41.0 [†]	0	41.1 [†]	0	40.7 [†]	0	40.6 [†]	0
$\rightarrow S_8$	40.6 [†]	0	40.7 [†]	0	41.8	0.332	41.7	0.330	41.2	0.376	41.5	0.369	41.3	0.321	41.0	0.311
$\rightarrow S_9$	41.6	0.292	41.5	0.307	41.9 [†]	0	41.9 [†]	0	41.8 [†]	0	41.9 [†]	0	41.6 [†]	0	41.6 [†]	0
$\rightarrow S_{10}$	44.4	0.523	44.3	0.521	44.8	0.459	44.8	0.459	43.9	0.384	44.6	0.410	44.4	0.463	43.4	0.456
$\rightarrow S_{11}$	45.4 [†]	0	45.4 [†]	0	46.6	0.025	46.6	0.025	45.5	0.065	46.2	0.050	46.2	0.042	45.4	0.032
$\rightarrow S_{12}$	45.8	0.024	45.8	0.022	46.7 [†]	0	46.7 [†]	0	45.8 [†]	0.005	46.7 [†]	0	46.3 [†]	0	45.6 [†]	0
$\rightarrow S_{13}$	47.2 [†]	0	47.3 [†]	0	48.0	0.038	48.0	0.038	46.6 [†]	0	47.8	0.090	47.4	0.022	46.3	0.011
$\rightarrow S_{14}$	47.4 [†]	0	47.4 [†]	0	48.4	0.077	48.4	0.077	47.3	0.114	48.3	0.040	47.9	0.092	47.0	0.099
$\rightarrow S_{15}$	48.2	0.108	48.0	0.108	48.8 [†]	0	48.8 [†]	0	47.7 [†]	0	49.1 [†]	0	48.6 [†]	0	48.4 [†]	0

[†] przejścia n,π^* , poostałe π,π^* , ^a na podstawie (147).

Spośród trimetylo- podstawionych pochodnych 5DAI, do szczegółowego modelowania teoretycznego została wybrana 1,3,9-trimetylo-5-dezaalloksazyna (139Me-5DAI), ponieważ właściwości spektralne i fotofizyczne tej pochodnej stały się przedmiotem publikacji (147), w której również zostały zawarte między innymi informacje na temat energii przejść singlet \rightarrow singlet wyznaczone przy zastosowaniu metody B3LYP/6-31+G(d). Zaprezentowane w **Tabeli 23** energie przejść singlet \rightarrow singlet 139Me-5DAI stanowią uzupełnienie opublikowanych wcześniej danych w pracy (147), o obliczenia wykorzystujące funkcjonal B3LYP sprzężony z innymi bazami atomowym.

Pierwszym istotnym spostrzeżeniem z przedstawionych danych teoretycznych jest fakt, iż niezależnie od zastosowanej do obliczeń bazy atomowej, przejścia elektronowe: $S_0 \rightarrow S_1$ oraz $S_0 \rightarrow S_2$ mają zawsze taki sam charakter, odpowiednio π, π^* oraz n, π^* . Dodatkowo, podobnie jak w przypadku omawianych poprzednio monometylowych i dimetylowych pochodnych 5DAI, tutaj również obserwuje się stosunkowo dużą przerwę energetyczną pomiędzy stanami S_1 i S_2 stąd przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ można uznać za "czysty" stan, niesprężony z żadnym innym. Największą różnicę pomiędzy tymi stanami odnotowano przy zastosowaniu do obliczeń bazy 6-31+G(d): 3700 cm^{-1} natomiast najmniejszą dla bazy 6-31G (2300 cm^{-1}). Podobnie jak we wcześniejszych dyskusjach dla 9Me-5DAI oraz 13Me-5DAI, dane teoretyczne odniesione zostały do eksperymentalnego widma absorpcji 139Me-5DAI w DCM. We wspomnianym widmie absorpcji odnotowuje się, w długofalowej części, obecność dwóch dobrze rozdzielonych pasm, których maksima są zlokalizowane przy $\lambda_1 = 362 \text{ nm}$ [27624 cm^{-1}] oraz $\lambda_2 = 317 \text{ nm}$ [31545 cm^{-1}]. Porównanie przytoczonych danych eksperymentalnych z wyznaczonymi na drodze obliczeń energiami przejść singlet \rightarrow singlet prowadzi do bardzo podobnych wniosków jak w przypadku 9Me-5DAI oraz 13Me-5DAI. Najlepsze odzwierciedlenie danych eksperymentalnych przynosi zastosowanie bazy aug-cc-pVDZ, natomiast najmniej dokładnie odzwierciedlenie stwierdzono dla 6-31G* i 6-31G**. Różnice pomiędzy λ_1 z widma absorpcji w DCM oraz wyliczoną energią przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ wynoszą odpowiednio dla bazy aug-cc-pVDZ: 700 cm^{-1} oraz dla baz 6-31G* oraz 6-31G**: 1400 cm^{-1} . Podobnie jak dla przedstawiciela monometylowych oraz dimetylowych pochodnych 5DAI, równie interesujące rezultaty przynosi zastosowanie w obliczeniach bazy 6-31+G(d). W tym przypadku różnica pomiędzy danymi eksperymentalnymi i teoretycznymi wynosi 900 cm^{-1} (dla λ_1 w widmie absorpcji 139Me-5DAI w DCM oraz energii przejścia $S_0 \rightarrow S_1$). Porównanie energii przejścia $S_0 \rightarrow S_3$ z λ_2 w widmie absorpcji 139Me-5DAI w DCM wskazuje, iż różnice przy zastosowaniu różnych baz atomowych wynoszą odpowiednio: dla aug-cc-pVDZ (900 cm^{-1}), 6-31G* oraz 6-31G** (1700 cm^{-1}) oraz dla 6-31+G(d): 1100 cm^{-1} .

Zestawienie eksperymentalnego widma absorpcji 139Me-5DA11 w DCM wraz z danymi teoretycznymi wyznaczonymi w bazach aug-cc-pVDZ oraz 6-31G** zostało przedstawione na **Rysunku 65**.



Rysunek 65. Widmo absorpcji 139Me-5DA11 w DCM (dolny panel), przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 139Me-5DA11 [B3LYP/aug-cc-pVDZ] w odniesieniu do fazy gazowej (środkowy panel) oraz przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 139Me-5DA11 [B3LYP/6-31G**] w odniesieniu do fazy gazowej (górny panel). Przejścia o charakterze π,π^* zostały oznaczone czarnymi liniami, natomiast o charakterze n,π^* czerwonymi trójkątami, ϵ w $\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, na podstawie (147).

Tabela 24. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla $^{135}\text{Me-5DAI}$; $^{136}\text{Me-5DAI}$; $^{137}\text{Me-5DAI}$; $^{138}\text{Me-5DAI}$; $^{139}\text{Me-5DAI}$ (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_i$	$^{135}\text{Me-5DAI}$		$^{136}\text{Me-5DAI}$		$^{137}\text{Me-5DAI}$		$^{138}\text{Me-5DAI}$		$^{139}\text{Me-5DAI}$	
	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f
$\rightarrow S_1$	28.8	0.054	28.4	0.044	28.4	0.060	29.3	0.059	28.5	0.049
$\rightarrow S_2$	31.6 [†]	0	31.9 [†]	0	32.1 [†]	0	32.3 [†]	0	32.2 [†]	0
$\rightarrow S_3$	33.5	0.091	32.1	0.147	33.4	0.098	32.7	0.149	32.6	0.106
$\rightarrow S_4$	37.2 [†]	0	36.9 [†]	0	37.2 [†]	0	37.4 [†]	0	37.1 [†]	0
$\rightarrow S_5$	38.3	0.055	37.8	0.041	37.9	0.064	38.2	0.063	38.0	0.098
$\rightarrow S_6$	40.4	0.509	39.9	0.323	40.4	0.415	40.2	0.129	39.9	0.443
$\rightarrow S_7$	40.7 [†]	0	40.9 [†]	0	41.0 [†]	0	41.0 [†]	0	41.0 [†]	0
$\rightarrow S_8$	41.4	0.323	41.3	0.402	41.2	0.481	41.1	0.793	41.2	0.376
$\rightarrow S_9$	41.5 [†]	0	41.9 [†]	0	42.2 [†]	0	41.9 [†]	0	41.8 [†]	0
$\rightarrow S_{10}$	44.4	0.412	43.9	0.577	43.2	0.430	43.8	0.432	43.9	0.384
$\rightarrow S_{11}$	45.2	0.138	45.6	0.059	45.2	0.247	45.6	0.169	45.5	0.065
$\rightarrow S_{12}$	45.8	0.168	46.4 [†]	0	46.2 [†]	0	46.5 [†]	0	45.8 [†]	0
$\rightarrow S_{13}$	45.9 [†]	0.001	46.8 [†]	0	46.9 [†]	0	46.9 [†]	0	46.6 [†]	0
$\rightarrow S_{14}$	46.4 [†]	0	47.3	0.107	47.4	0.074	47.2	0.116	47.3	0.114
$\rightarrow S_{15}$	47.7 [†]	0	48.2	0.021	47.9 [†]	0.001	47.8	0.012	47.7 [†]	0

[†] przejścia n,π^* , pozostałe π,π^* .

Tabela 25. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 156Me-5DAll; 157Me-5DAll; 158Me-5DAll; 159Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_i$	156Me-5DAll		157Me-5DAll		158Me-5DAll		159Me-5DAll	
	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f
$\rightarrow S_1$	28.1	0.041	28.3	0.053	29.2	0.050	28.4	0.049
$\rightarrow S_2$	31.5 [†]	0	31.9 [†]	0	32.1 [†]	0	31.9 [†]	0
$\rightarrow S_3$	32.3	0.102	33.6	0.068	32.9	0.115	32.9	0.073
$\rightarrow S_4$	37.1 [†]	0	37.3 [†]	0	37.5 [†]	0	37.2 [†]	0
$\rightarrow S_5$	38.8	0.484	39.4	0.556	39.7	0.657	39.1	0.601
$\rightarrow S_6$	40.2	0.011	40.7	0.009	40.1	0.030	40.4	0.018
$\rightarrow S_7$	40.7 [†]	0.001	41.1 [†]	0	40.7 [†]	0	40.6 [†]	0
$\rightarrow S_8$	41.5	0.048	41.9 [†]	0	41.9 [†]	0	41.9 [†]	0
$\rightarrow S_9$	41.9	0.190	42.0	0.357	42.2	0.280	42.2	0.237
$\rightarrow S_{10}$	43.4	0.449	43.4	0.512	43.9	0.496	44.1	0.408
$\rightarrow S_{11}$	44.5	0.055	44.9	0.112	45.4	0.086	44.9 [†]	0.001
$\rightarrow S_{12}$	45.3	0.192	45.5 [†]	0	45.8	0.168	45.5	0.007
$\rightarrow S_{13}$	45.5	0.012	45.9	0.150	46.2 [†]	0	45.9	0.214
$\rightarrow S_{14}$	46.4	0.005	46.6 [†]	0	46.3	0.004	46.2 [†]	0
$\rightarrow S_{15}$	47.8 [†]	0	47.6 [†]	0.001	48.2 [†]	0	47.3 [†]	0

[†] przejścia n, π^* , pozostałe π, π^* .

Tabela 26. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 167Me-5DAll; 168Me-5DAll; 169Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_i$	167Me-5DAll		168Me-5DAll		169Me-5DAll	
	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f
$\rightarrow S_1$	27.6	0.043	28.8	0.035	27.7	0.039
$\rightarrow S_2$	31.9	0.133	31.7	0.171	31.6	0.119
$\rightarrow S_3$	32.0 [†]	0	32.3 [†]	0	32.1 [†]	0
$\rightarrow S_4$	36.8 [†]	0	37.2 [†]	0	36.9 [†]	0
$\rightarrow S_5$	38.7	0.372	39.0	0.412	38.4	0.479
$\rightarrow S_6$	40.4	0.011	39.9	0.065	40.1	0.031
$\rightarrow S_7$	41.2 [†]	0	41.2 [†]	0	41.1 [†]	0
$\rightarrow S_8$	41.8	0.344	42.0 [†]	0.001	41.9 [†]	0
$\rightarrow S_9$	42.2 [†]	0	42.0	0.301	42.0	0.230
$\rightarrow S_{10}$	42.9	0.622	43.3	0.584	43.5	0.417
$\rightarrow S_{11}$	45.1	0.070	45.9	0.051	45.5	0.002
$\rightarrow S_{12}$	45.6 [†]	0	46.5 [†]	0	45.6	0.058
$\rightarrow S_{13}$	47.0 [†]	0	46.5 [†]	0	46.6 [†]	0
$\rightarrow S_{14}$	47.2	0.153	47.4	0.200	47.3	0.217
$\rightarrow S_{15}$	47.8	0.005	48.5 [†]	0.001	47.7 [†]	0

[†] przejścia n, π^* , pozostałe π, π^* .

Tabela 27. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 356Me-5DAII; 357Me-5DAII; 358Me-5DAII; 359Me-5DAII (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

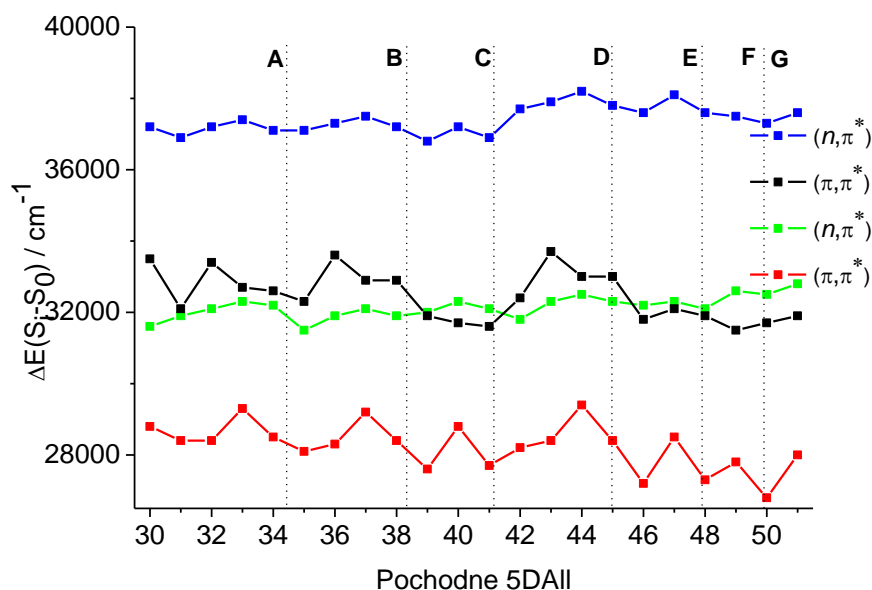
$S_0 \rightarrow S_i$	356Me-5DAII		357Me-5DAII		358Me-5DAII		359Me-5DAII	
	$E \times$	f	$E \times$	f	$E \times$	f	$E \times$	f
	10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}	
	/ cm^{-1}		/ cm^{-1}		/ cm^{-1}		/ cm^{-1}	
$\rightarrow S_1$	28.2	0.041	28.4	0.053	29.4	0.047	28.4	0.049
$\rightarrow S_2$	31.8 [†]	0	32.3 [†]	0	32.5 [†]	0	32.3 [†]	0
$\rightarrow S_3$	32.4	0.116	33.7	0.084	33.0	0.134	33.0	0.079
$\rightarrow S_4$	37.7 [†]	0	37.9 [†]	0	38.2 [†]	0	37.8 [†]	0
$\rightarrow S_5$	38.8	0.030	38.9	0.034	39.2	0.027	38.9	0.075
$\rightarrow S_6$	39.8	0.682	40.6	0.900	40.7	0.789	39.9	0.773
$\rightarrow S_7$	41.1 [†]	0	41.3 [†]	0	41.4 [†]	0	41.3 [†]	0
$\rightarrow S_8$	41.9	0.113	42.1	0.121	41.7	0.308	42.0	0.120
$\rightarrow S_9$	42.1 [†]	0.001	42.5 [†]	0	42.2 [†]	0	42.1 [†]	0
$\rightarrow S_{10}$	43.9	0.403	43.9	0.421	44.7	0.349	44.5	0.154
$\rightarrow S_{11}$	44.6	0.037	44.9	0.071	45.5	0.066	45.1	0.199
$\rightarrow S_{12}$	45.4	0.004	45.5 [†]	0	46.0	0.169	45.4	0.002
$\rightarrow S_{13}$	45.9	0.152	46.2	0.155	46.4	0.001	46.1	0.166
$\rightarrow S_{14}$	47.1	0.021	47.1	0.100	46.9 [†]	0	46.8 [†]	0
$\rightarrow S_{15}$	47.4	0.135	47.3 [†]	0	47.7	0.057	47.1 [†]	0

[†] przejścia n,π^* , pozostałe π,π^* .

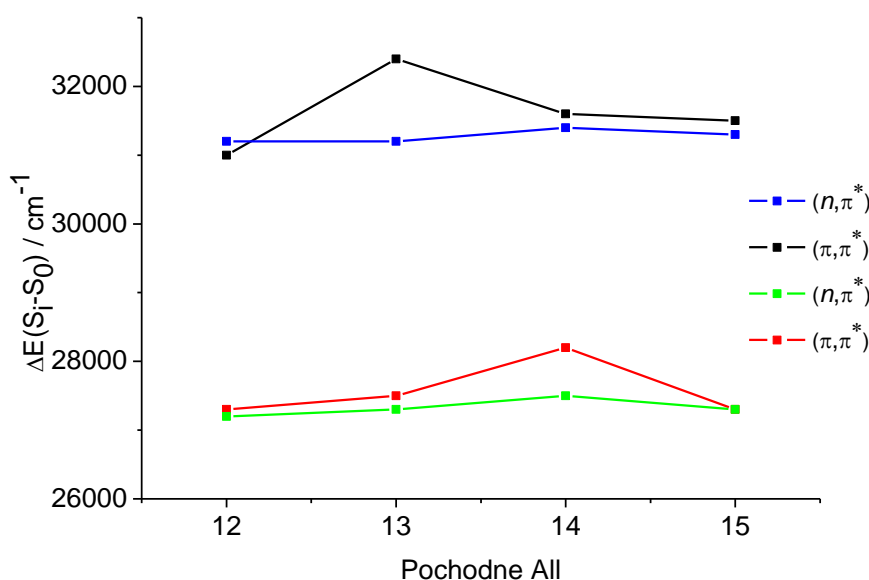
Tabela 28. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 567Me-5DAII; 568Me-5DAII; 569Me-5DAII; 678Me-5DAII; 679Me-5DAII i 789Me-5DAII (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_i$	567Me-5DAII		568Me-5DAII		569Me-5DAII		678Me-5DAII		679Me-5DAII		789Me-5DAII	
	$E \times$	f	$E \times$	f	$E \times$	f	$E \times$	f	$E \times$	f	$E \times$	f
	10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}	
	/ cm^{-1}		/ cm^{-1}		/ cm^{-1}		/ cm^{-1}		/ cm^{-1}		/ cm^{-1}	
$\rightarrow S_1$	27.2	0.041	28.5	0.035	27.3	0.043	27.8	0.032	26.8	0.038	28.0	0.031
$\rightarrow S_2$	31.8	0.042	32.1	0.129	31.9	0.065	31.5	0.175	31.7	0.110	31.9	0.146
$\rightarrow S_3$	32.2 [†]	0.001	32.3 [†]	0.001	32.1 [†]	0.001	32.6 [†]	0	32.5 [†]	0	32.8 [†]	0
$\rightarrow S_4$	37.6 [†]	0	38.1 [†]	0	37.6 [†]	0	37.5 [†]	0	37.3 [†]	0	37.6 [†]	0
$\rightarrow S_5$	39.2	0.727	39.4	0.732	38.5	0.689	39.6	0.646	38.7	0.711	39.8	0.878
$\rightarrow S_6$	40.6 [†]	0	40.5	0.071	40.6	0.010	40.6	0.021	40.8	0.010	40.6	0.091
$\rightarrow S_7$	41.3 [†]	0	41.3 [†]	0	41.2 [†]	0	41.7 [†]	0	41.6 [†]	0	41.8 [†]	0
$\rightarrow S_8$	42.1	0.043	42.1	0.036	41.9	0.016	42.2	0.086	42.2	0.070	42.5	0.127
$\rightarrow S_9$	42.3	0.012	42.5	0.059	42.4	0.032	42.7	0.598	42.6 [†]	0	42.7 [†]	0
$\rightarrow S_{10}$	42.9	0.432	43.7	0.359	43.7	0.146	42.8 [†]	0	43.2	0.319	43.2	0.221
$\rightarrow S_{11}$	44.2	0.039	44.9	0.025	44.4	0.076	45.3	0.071	44.5 [†]	0.001	45.1	0.099
$\rightarrow S_{12}$	44.4	0.011	45.5	0.008	44.6	0.132	45.4 [†]	0	44.7	0.155	45.2 [†]	0
$\rightarrow S_{13}$	45.4	0.191	45.7	0.223	45.6	0.242	47.2	0.146	46.7	0.002	46.9	0.121
$\rightarrow S_{14}$	46.9	0.138	46.8	0.007	46.6	0.014	47.4 [†]	0	47.2	0.240	47.1 [†]	0
$\rightarrow S_{15}$	47.1	0.012	47.5	0.136	46.8 [†]	0	47.6 [†]	0	47.3 [†]	0	47.3 [†]	0

[†] przejścia n,π^* , pozostałe π,π^* .



Rysunek 66. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla trimetylo- podstawionych pochodnych 5DAI wyznaczone na poziomie teorii [B3LYP/6-31+G(d)]. Numery związków: (30) 135Me-5DAI, (31) 136Me-5DAI, (32) 137Me-5DAI, (33) 138Me-5DAI, (34) 139Me-5DAI, (35) 156Me-5DAI, (36) 157Me-5DAI, (37) 158Me-5DAI, (38) 159Me-5DAI, (39) 167Me-5DAI, (40) 168-Me-5DAI, (41) 169Me-5DAI, (42) 356Me-5DAI, (43) 357Me-5DAI, (44) 358Me-5DAI, (45) 359Me-5DAI, (46) 567Me-5DAI, (47) 568Me-5DAI, (48) 569Me-5DAI, (49) 678Me-5DAI, (50) 679Me-5DAI, (51) 789Me-5DAI; A – 13XMe-5DAI, B – 15XMe-5DAI, C – 16XMe-5DAI, D – 35XMe-5DAI, E – 56XMe-5DAI, F – 67XMe-5DAI, G – 789Me-5DAI



Rysunek 67. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla trimetylo- podstawionych pochodnych All wyznaczone na poziomie teorii [B3LYP/6-31+G(d)]. Numery związków: (12) 136MeAll, (13) 137MeAll, (14) 138MeAll, (15) 139MeAll; na podstawie (170).

Wykorzystując poziom teorii rB3LYP/6-31+G(d) zostały wyliczone energie przejść singlet \rightarrow singlet dla serii trimetylo- podstawionych pochodnych 5DAI. Wzory i symbole pochodnych,

dla których zostały wyznaczone energie przejść singlet \rightarrow singlet, zostały przedstawione w **Tabeli 5**, natomiast wyliczone energie zebrane w **Tabelach 24-28**. Uzyskane dane pozwoliły na stworzenie wykresu oddającego charakter czterech przejść singlet \rightarrow singlet o najniższej energii dla badanych trimetylo- podstawionych pochodnych 5DAI. Wybór poziomu obliczeń jest związany w wcześniejszą dyskusją przeprowadzoną dla 139Me-5DAI. Ze względu na obecność trzech grup metylowych w pierścieniu 5DAI użycie bazy aug-cc-pVDZ byłoby znacznie bardziej czasochłonne. Z przedstawionych obliczeń dla trimetylo- pochodnych 5DAI wyraźnie wynika, iż niezależnie od usytuowania grupy metylowej w pierścieniu 5DAI, przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ ze względu na siłę oscylatora ma zawsze charakter π, π^* . Kombinacja grup metylowych w pierścieniu 5-deazaalloksazynowym wpływa na położenie energii przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ w teoretycznym widmie absorpcji. Przesunięcie ku wyższej energii zostało odnotowane głównie dla pochodnych, które zawierały jedną z grup metylowych w pozycji 8, wliczając tutaj między innymi: 138Me-5DAI, 158Me-5DAI, 168Me-5DAI oraz 358Me-5DAI. Z kolei, przesunięcia ku niższej energii zostały odnotowane głównie dla pochodnych, w których jedna z grup metylowych znajdowała się w pozycji 6 (167Me-5DAI, 169Me-5DAI, 567Me-5DAI, 569Me-5DAI, 679Me-5DAI). Podobnie jak do wcześniej omawianych pochodnych 5DAI, również tutaj obserwuje się względnie dużą przerwę energetyczną pomiędzy stanami S_1 i S_2 , stąd przejście $S_0 \rightarrow S_1$ można uznać za "czysty" stan. Największa przerwa pomiędzy stanami S_1 i S_2 została odnotowana dla 679Me-5DAI (4900 cm^{-1}) natomiast najmniejsza dla 135Me-5DAI (2800 cm^{-1}). Nieco trudniejsze jest ustalenie charakteru przejścia $S_0 \rightarrow S_2$. Dla większości spośród badanych trimetylowych pochodnych 5DAI odnotowano charakter n, π^* , jednakże dla sporej grupy to przejście elektronowe, ze względu na wyższą siłę oscylatora, ma charakter π, π^* (167Me-5DAI, 168Me-5DAI, 169Me-5DAI, 567Me-5DAI, 568Me-5DAI, 569Me-5DAI, 678Me-5DAI, 679Me-5DAI oraz 789Me-5DAI). W literaturze, dostępne są dane teoretyczne dla kilku trimetylo- podstawionych alloksazyn, wliczając w to: 1,3,6-trimetyloalloksazynę (136MeAll); 1,3,7-trimetyloalloksazynę (137MeAll); 1,3,8-trimetyloalloksazynę (138MeAll) oraz 1,3,9-trimetyloalloksazynę (139MeAll). Na podstawie danych literaturowych został skonstruowany wykres przedstawiający energię czterech najniższych energetycznie przejść oraz ich charakter (**Rysunek 67**). Analizując charakter oraz energię przejść $S_0 \rightarrow S_1$ oraz $S_0 \rightarrow S_2$ można podsumować, iż dla wszystkich czterech trimetylo- podstawionych alloksazyn obserwuje się praktycznie izoenergetyczność tych przejść, największą różnicę (700 cm^{-1}) odnotowano dla 138MeAll.

4.3.5. *Energie przejść singlet \rightarrow singlet dla tetrametylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny z wykorzystaniem metod DFT w różnych bazach atomowych*

Ze względu na brak w literaturze danych eksperymentalnych (widm absorpcji) dla przedstawicieli tetrametylo- podstawionych 5-deazaalloksazyn i wynikający stąd brak możliwości porównania z danymi eksperymentalnymi nie zostały przeprowadzone obliczenia teoretyczne z wykorzystaniem różnych baz atomowych dla przedstawiciela z tej grupy pochodnych. Dodatkowo, uwzględniając poprzednio przeprowadzoną szczegółową dyskusję dla wybranych związków spośród monometylo-, dimetylo- oraz trimetylo- podstawionych pochodnych 5DA11 z wykorzystaniem różnych baz atomowych można przypuszczać, iż w przypadku przedstawiciela z grupy tetrametylo- pochodnych 5DA11 wnioski byłyby bardzo podobne. Jednakże, podobnie jak w przypadku prostszych pochodnych 5DA11, dla szeregu tetrametylo- pochodnych 5DA11 wyznaczono przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet. Odpowiednie wartości zostały zebrane w **Tabelach 29-31**, natomiast wzory i symbole badanych cząsteczek są zgodne z informacjami przedstawionymi w **Tabeli 5**. Obliczenia zostały wykonane na poziomie teorii B3LYP/6-31+G(d). Z uzyskanych energii przejść singlet \rightarrow singlet został skonstruowany wykres przedstawiony na **Rysunku 68**, który zawiera informacje o energii oraz charakterze czterech przejść singlet \rightarrow singlet dla serii tetrametylo- pochodnych 5DA11 o najniższej energii. W pierwszej kolejności z uzyskanych danych wynika, że niezależnie od usytuowania grup metylowych w pierścieniu 5DA11, przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ ma zawsze charakter π, π^* . Usytuowanie grup metylowych wpływa jednak na położenie przewidywanych przejść $S_0 \rightarrow S_1$ w cząsteczkach tetrametylo- pochodnych 5DA11. Przesunięcia ku wyższej energii odnotowano szczególnie dla związków zawierających grupę metylową w pozycji 8 (1358Me-5DA11, 1368Me-5DA11, 1378Me-5DA11, 1389Me-5DA11 oraz 3568Me-5DA11). Z kolei przesunięcie energii przejść $S_0 \rightarrow S_1$ ku niższej energii odnotowano dla związków zawierających grupę metylową w pozycji 6 (1367Me-5DA11, 1369Me-5DA11, 3567Me-5DA11, 5679Me-5DA11). Nieco bardziej złożone wydaje się ustalenie charakteru przejścia $S_0 \rightarrow S_2$. Dla pochodnych: 1368Me-5DA11, 1369Me-5DA11, 1389Me-5DA11, 3567Me-5DA11, 3568Me-5DA11, 3569Me-5DA11, 5678Me-5DA11, 5679Me-5DA11, 6789Me-5DA11 ze względu na siłę oscylatora (f) przypisano charakter π, π^* . Dla pozostałych spośród badanych cząsteczek stwierdzono charakter n, π^* . W przypadku tetrametylo- pochodnych 5DA11, podobnie jak w przypadku innych 5-deazaalloksazyn diskutowanych wcześniej, tutaj również notuje się relatywnie dużą przerwę energetyczną pomiędzy stanem S_1 i S_2 , która sprawia, że przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ można uznać za

czyste, niesprężone z innym. Największą różnicę uzyskano dla 5679Me-5DAII (5000 cm^{-1}) natomiast najmniejszą dla 1358Me-5DAII (2800 cm^{-1}).

Tabela 29. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 1356Me-5DAII; 1357Me-5DAII; 1358Me-5DAII; 1359Me-5DAII (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_i$	1356Me-5DAII		1357Me-5DAII		1358Me-5DAII		1359Me-5DAII	
	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f
$\rightarrow S_1$	28.3	0.044	28.3	0.055	29.1	0.053	28.4	0.052
$\rightarrow S_2$	31.2 [†]	0	31.7 [†]	0	31.9 [†]	0	31.7 [†]	0
$\rightarrow S_3$	32.7	0.114	33.7	0.077	32.9	0.123	32.9	0.081
$\rightarrow S_4$	37.2 [†]	0	37.3 [†]	0	37.6 [†]	0	37.2 [†]	0
$\rightarrow S_5$	38.1	0.093	38.3	0.106	38.6	0.117	38.2	0.160
$\rightarrow S_6$	39.6	0.418	40.1	0.542	40.0	0.299	39.8	0.473
$\rightarrow S_7$	40.7 [†]	0	41.0 [†]	0	40.7 [†]	0	40.6 [†]	0
$\rightarrow S_8$	41.4 [†]	0	41.2	0.366	40.9	0.608	41.2	0.299
$\rightarrow S_9$	41.5	0.315	41.7 [†]	0	41.7 [†]	0	41.6 [†]	0
$\rightarrow S_{10}$	43.8	0.452	43.4	0.422	43.9	0.448	44.2	0.392
$\rightarrow S_{11}$	44.6	0.093	44.7	0.170	45.2	0.125	44.8 [†]	0.001
$\rightarrow S_{12}$	45.1 [†]	0	45.1 [†]	0	45.6	0.127	45.0	0.006
$\rightarrow S_{13}$	45.5	0.177	45.8	0.124	45.8	0.004	45.7	0.179
$\rightarrow S_{14}$	46.6 [†]	0	46.7 [†]	0	46.3 [†]	0	46.3 [†]	0
$\rightarrow S_{15}$	47.2 [†]	0	47.0 [†]	0.001	47.6 [†]	0.001	46.8 [†]	0

[†] przejścia n, π^* , pozostałe π, π^* .

Tabela 30. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 1367Me-5DAII; 1368Me-5DAII; 1369Me-5DAII; 1378Me-5DAII i 1389Me-5DAII (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

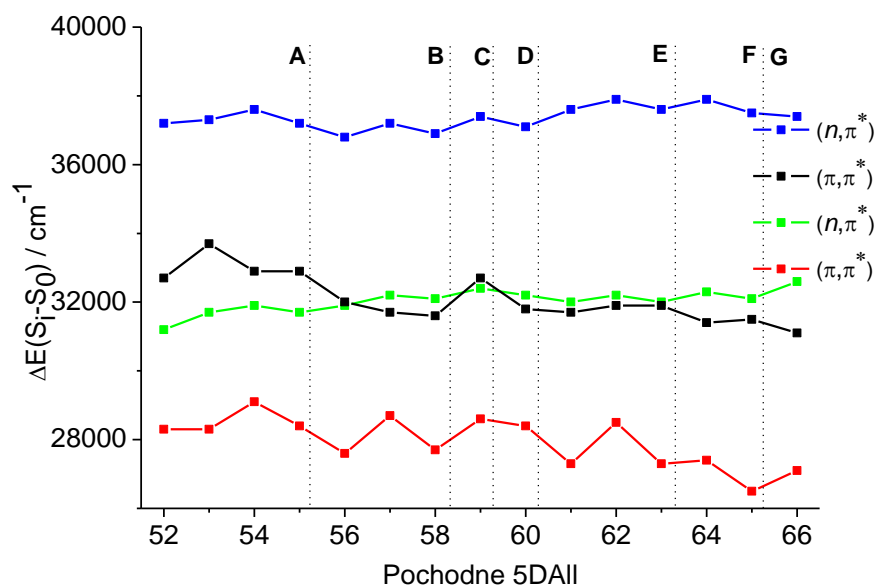
$S_0 \rightarrow S_i$	1367Me-5DAII		1368Me-5DAII		1369Me-5DAII		1378Me-5DAII		1389Me-5DAII	
	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f
$\rightarrow S_1$	27.6	0.045	28.7	0.038	27.7	0.041	28.6	0.062	28.4	0.038
$\rightarrow S_2$	31.9 [†]	0	31.7	0.183	31.6	0.130	32.4 [†]	0	31.8	0.162
$\rightarrow S_3$	32.0	0.145	32.2 [†]	0	32.1 [†]	0	32.7	0.152	32.2 [†]	0
$\rightarrow S_4$	36.8 [†]	0	37.2 [†]	0	36.9 [†]	0	37.4 [†]	0	37.1 [†]	0
$\rightarrow S_5$	37.6	0.060	38.0	0.085	37.7	0.162	38.2	0.079	38.1	0.130
$\rightarrow S_6$	39.8	0.347	39.6	0.206	39.3	0.319	40.3	0.115	39.6	0.331
$\rightarrow S_7$	40.9 [†]	0	40.9	0.587	41.0 [†]	0	40.9	0.835	40.9	0.547
$\rightarrow S_8$	41.2	0.430	41.1 [†]	0	41.2	0.356	41.2 [†]	0	41.0 [†]	0
$\rightarrow S_9$	42.3 [†]	0	41.9 [†]	0	41.9 [†]	0	42.2 [†]	0	41.9 [†]	0
$\rightarrow S_{10}$	42.9	0.577	43.3	0.550	43.5	0.398	42.9	0.457	43.4	0.337
$\rightarrow S_{11}$	44.8	0.067	45.6	0.052	45.1 [†]	0	44.9	0.177	45.2	0.061
$\rightarrow S_{12}$	45.2	0.002	46.0 [†]	0	45.3	0.047	45.9 [†]	0	45.3	0.058
$\rightarrow S_{13}$	46.9	0.117	46.6 [†]	0	46.7 [†]	0	46.9 [†]	0	46.6 [†]	0
$\rightarrow S_{14}$	47.1 [†]	0	47.1	0.144	47.0	0.149	47.0	0.115	46.7	0.158
$\rightarrow S_{15}$	47.2	0.004	48.0	0.002	47.2 [†]	0	47.4 [†]	0	47.4 [†]	0

[†] przejścia n, π^* , pozostałe π, π^* .

Tabela 31. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 3567Me-5DA11; 3568Me-5DA11; 3569Me-5DA11; 5678Me-5DA11; 5679Me-5DA11 i 6789Me-5DA11 (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_i$	3567Me-5DA11		3568Me-5DA11		3569Me-5DA11		5678Me-5DA11		5679Me-5DA11		6789Me-5DA11	
	$E \times 10^{-3}$	f	$E \times 10^{-3}$	f	$E \times 10^{-3}$	f	$E \times 10^{-3}$	f	$E \times 10^{-3}$	f	$E \times 10^{-3}$	f
	/ cm^{-1}		/ cm^{-1}		/ cm^{-1}		/ cm^{-1}		/ cm^{-1}		/ cm^{-1}	
$\rightarrow S_1$	27.3	0.042	28.5	0.036	27.3	0.044	27.4	0.037	26.5	0.042	27.1	0.031
$\rightarrow S_2$	31.7	0.034	31.9	0.145	31.9	0.067	31.4	0.131	31.5	0.073	31.1	0.150
$\rightarrow S_3$	32.0 [†]	0.001	32.2 [†]	0	32.0 [†]	0	32.3 [†]	0	32.1 [†]	0	32.6 [†]	0
$\rightarrow S_4$	37.6 [†]	0	37.9 [†]	0	37.6 [†]	0	37.9 [†]	0	37.5 [†]	0	37.4 [†]	0
$\rightarrow S_5$	38.6	0.096	39.1	0.099	38.5	0.587	39.1	0.787	38.1	0.754	38.8	0.738
$\rightarrow S_6$	39.4	0.692	39.5	0.660	39.1	0.150	40.3	0.020	40.4	0.007	40.6	0.082
$\rightarrow S_7$	41.1 [†]	0	41.3	0.007	41.2	0.002	41.5	0.002	41.4	0.002	41.9 [†]	0
$\rightarrow S_8$	41.6	0.077	41.5	0.209	41.6	0.089	42.0	0.089	41.9	0.031	42.4	0.046
$\rightarrow S_9$	42.4 [†]	0.001	42.1 [†]	0	41.9 [†]	0.001	42.3	0.162	42.3 [†]	0	42.5	0.349
$\rightarrow S_{10}$	42.9	0.406	43.6	0.333	43.7	0.119	42.6	0.200	42.8	0.197	42.7	0.005
$\rightarrow S_{11}$	43.9	0.032	44.7	0.036	44.1	0.020	43.8	0.016	43.2	0.020	43.8	0.002
$\rightarrow S_{12}$	44.1	0.017	45.1 [†]	0	44.3	0.219	44.2	0.021	43.7	0.101	44.7	0.097
$\rightarrow S_{13}$	45.3	0.154	45.5	0.187	45.5	0.168	45.1	0.225	44.9	0.291	46.4 [†]	0
$\rightarrow S_{14}$	46.7	0.111	46.9	0.015	46.5	0.002	46.6 [†]	0	45.8	0.005	47.1	0.276
$\rightarrow S_{15}$	46.9	0.039	47.3	0.121	46.7	0.037	46.9	0.132	46.7	0.103	47.4 [†]	0

[†] przejścia n,π^* , pozostałe π,π^* .



Rysunek 68. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla tetrametylo- podstawionych pochodnych 5DAI1 wyznaczone na poziomie teorii [B3LYP/6-31+G(d)]. Numery związków: (52) 1356Me-5DAI1, (53) 1357Me-5DAI1, (54) 1358Me-5DAI1, (55) 1359Me-5DAI1, (56) 1367Me-5DAI1, (57) 1368Me-5DAI1, (58) 1369Me-5DAI1, (59) 1378Me-5DAI1, (60) 1389Me-5DAI1, (61) 3567Me-5DAI1, (62) 3568Me-5DAI1, (63) 3569Me-5DAI1, (64) 5678Me-5DAI1, (65) 5679Me-5DAI1, (66) 6789Me-5DAI1, A – 135XMe-5DAI1, B – 136XMe-5DAI1, C – 1378Me-5DAI1, D – 1389Me-5DAI1, E – 356XMe-5DAI1, F – 567XMe-5DAI1, G – 6789Me-5DAI1

4.3.6. Energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 10-etylo-5-deazaizoalloksazyny z wykorzystaniem metod DFT w różnych bazach atomowych

Podobną procedurę dotyczącą obliczeń przewidywanych energii przejść singlet \rightarrow singlet, jaką zastosowano dla różnych metylowych pochodnych 5DAI1, użyto również dla modelowej pochodnej o strukturze 5-deazaizoalloksazyny, mianowicie 10-etylo-5-deazaizoalloksazyny (10Et-5DIzoAll). Uzyskane rezultaty obliczeń energii przejść singlet \rightarrow singlet w różnych bazach atomowych sprzężonych z funkcjonałem B3LYP zostały zawarte w **Tabeli 32**. Większość rezultatów modelowania teoretycznego odnosi się do fazy gazowej, jednak dodatkowo został zastosowany również model rozpuszczalnikowy PCM w odniesieniu do metanolu na poziomie teorii B3LYP/6-31+G(d). Obliczenia dla 10Et-5DIzoAll z wykorzystaniem poziomu teorii B3LYP/6-31+G(d) stały się przedmiotem publikacji (149), natomiast obecnie prezentowane dane stanowią ich uzupełnienie.

Niezależnie od zastosowanej bazy oraz odniesienia wyznaczonych energii, każde przejście $S_0 \rightarrow S_1$ ma charakter π, π^* , natomiast dla obliczeń przeprowadzonych w odniesieniu do fazy gazowej, przejściu $S_0 \rightarrow S_2$ przypisuje się charakter n, π^* , wyjątek stanowią dane uzyskane w

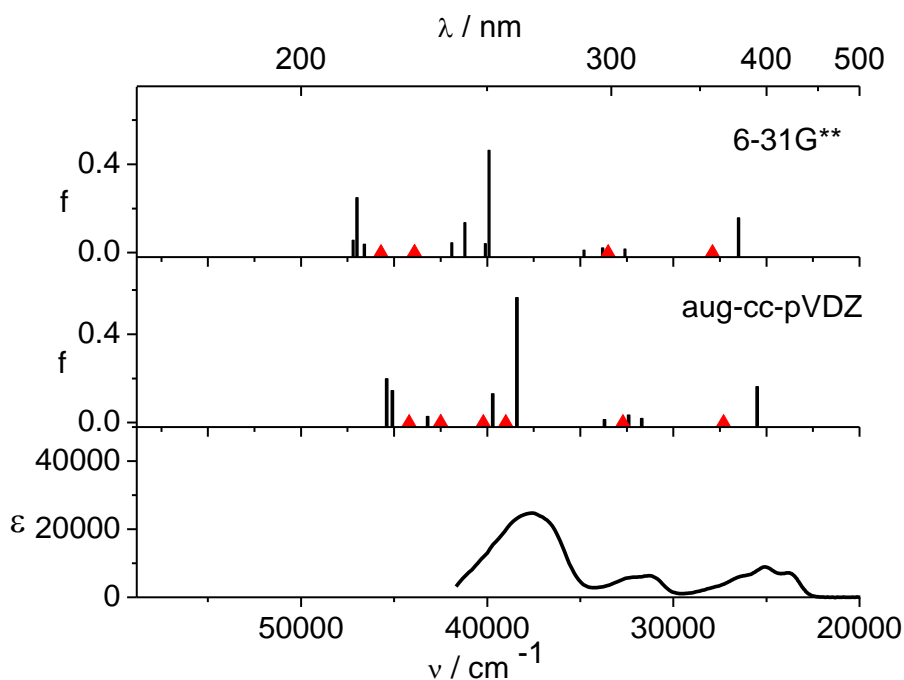
modelu rozpuszczalnikowym PCM dla metanolu. Przerwa energetyczna $|E_{n,\pi^*} - E_{\pi,\pi^*}|$, podobnie jak w przypadku różnych pochodnych 5DAll jest na tyle duża niezależnie od zastosowanej do obliczeń bazy, że można uznać przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ za niesprężone z żadnym innym o wyższej energii. Największą wartość $|E_{n,\pi^*} - E_{\pi,\pi^*}|$ odnotowano w przypadku bazy atomowej 6-31+G(d): 2100 cm^{-1} natomiast najmniejszą dla 6-31G: 1300 cm^{-1} (**Tabela 32**).

Odnosząc uzyskane rezultaty obliczeń teoretycznych dla fazy gazowej do eksperymentalnego widma 10Et-5DIzoAll w DCM notuje się bardzo podobne zależności, jakie były obserwowane dla pochodnych 5DAll, mianowicie najlepsze odzwierciedlenie danych eksperymentalnych przynosi zastosowanie bazy aug-cc-pVDZ, dla której różnica pomiędzy λ_1 widma absorpcji 10Et-5DIzoAll w DCM oraz energią przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ to zaledwie 400 cm^{-1} , podczas gdy zastosowanie prostszych baz (6-31G* oraz 6-31G**) powoduje powstanie różnicy 1400 cm^{-1} . Porównanie eksperymentalnego widma absorpcji 10Et-5DIzoAll w DCM z rezultatami obliczeń na poziomach: B3LYP/6-31G** oraz B3LYP/aug-cc-pVDZ zostało przedstawione na **Rysunku 69**. Warto dodać, iż obliczenia energii przejść singlet \rightarrow singlet dla 10Et-5DIzoAll na poziomie teorii B3LYP/6-31+G(d) nie są na tyle zadowalające jak to miało miejsce w przypadku wcześniej dyskutowanych pochodnych 5DAll. W tym przypadku różnica pomiędzy λ_1 w widmie absorpcji w DCM oraz energią przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ wynosi 1100 cm^{-1} . Zastosowanie tego samego poziomu teorii dla obliczenia energii przejść singlet \rightarrow singlet 10Et-5DIzoAll w modelu rozpuszczalnikowym PCM w odniesieniu do metanolu również nie daje zbyt satysfakcjonujących rezultatów. Różnica pomiędzy λ_1 w widmie absorpcji 10Et-5DIzoAll w MeOH oraz energią przejścia singlet \rightarrow singlet w modelu PCM wynosi 1200 cm^{-1} .

Tabela 32. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 10Et-5DIzoAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem funkcjonału B3LYP w różnych bazach atomowych: 6-31G, 6-311G, 6-31G*, 6-31G**, 6-31+G(d), cc-pVTZ, cc-pVDZ, aug-cc-pVDZ (w fazie gazowej) oraz 6-31+G(d) z zastosowaniem modelu rozpuszczalnikowego PCM w metanolu, wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_1$	6-31G		6-311G		6-31G*		6-31G**		6-31+G(d) Faza gazowa ^a		6-31+G(d) PCM_metanol ^a		cc-pVTZ		cc-pVDZ		aug-cc-pVDZ	
	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f	E \times 10^{-3} /cm ⁻¹	f
$\rightarrow S_1$	25.9	0.162	25.9	0.167	26.5	0.157	26.5	0.158	26.2	0.170	26.5	0.112	26.5	0.159	26.2	0.154	25.5	0.162
$\rightarrow S_2$	27.2 [†]	0	27.4 [†]	0.001	27.9 [†]	0	27.9 [†]	0	28.3 [†]	0.001	28.5	0.124	28.5 [†]	0.001	27.6 [†]	0	27.3 [†]	0
$\rightarrow S_3$	30.7	0.028	30.8	0.027	32.6	0.016	32.6	0.016	32.6	0.023	32.3 [†]	0	32.6	0.009	32.4	0.016	31.7	0.019
$\rightarrow S_4$	32.3 [†]	0	32.5 [†]	0	33.5	0.034	33.5 [†]	0.001	33.2	0.040	33.0 [†]	0	33.5	0.050	33.3	0.033	32.4	0.034
$\rightarrow S_5$	33.4	0.042	33.4	0.045	33.8	0.018	33.8	0.021	33.8 [†]	0.001	34.1	0.234	34.1 [†]	0.001	33.6	0.014	32.7 [†]	0
$\rightarrow S_6$	34.2	0.026	34.2	0.022	34.8	0.011	34.8	0.011	34.7	0.013	34.9	0.123	35.1	0.010	34.4	0.010	33.7	0.013
$\rightarrow S_7$	39.2	0.019	39.4	0.159	39.9	0.458	39.9	0.463	39.2	0.563	39.8 [†]	0	39.7	0.495	39.6	0.458	38.4	0.565
$\rightarrow S_8$	39.6	0.568	39.5	0.442	40.1	0.048	40.1	0.040	40.1	0.010	40.4	0.023	40.4 [†]	0.006	39.7	0.014	39.0 [†]	0
$\rightarrow S_9$	40.9	0.052	40.8	0.079	41.6	0.133	41.2	0.135	40.5	0.164	41.1	0.112	40.9	0.202	40.9	0.209	39.7	0.130
$\rightarrow S_{10}$	41.8	0.043	41.4	0.037	41.9	0.044	41.9	0.044	41.1	0.011	41.9	0.099	41.5 [†]	0.001	41.3 [†]	0.001	40.2 [†]	0
$\rightarrow S_{11}$	41.9 [†]	0	41.9 [†]	0.001	43.9 [†]	0	43.9 [†]	0.001	43.5 [†]	0.002	43.9 [†]	0	43.7 [†]	0.001	43.7 [†]	0.001	42.5 [†]	0.002
$\rightarrow S_{12}$	44.7 [†]	0	44.9 [†]	0	45.8 [†]	0	45.7 [†]	0.001	44.8 [†]	0.004	45.1	0.023	45.9 [†]	0	45.3 [†]	0	43.2	0.027
$\rightarrow S_{13}$	46.0	0.042	46.0	0.053	46.6	0.034	46.6	0.038	45.6 [†]	0.002	46.0 [†]	0	46.7	0.327	46.2	0.029	44.2 [†]	0
$\rightarrow S_{14}$	46.9	0.068	46.7	0.056	47.1	0.275	47.0	0.248	46.1	0.365	46.3 [†]	0	46.9	0.037	46.4	0.072	45.1	0.145
$\rightarrow S_{15}$	47.0	0.128	46.8	0.160	47.2	0.037	47.2	0.056	46.4	0.054	46.5	0.176	47.0	0.027	46.7	0.304	45.4	0.198

[†] przejścia n,π^* , pozostałe π,π^* , ^a na podstawie (149).



Rysunek 69. Widmo absorpcji 10Et-5DIzoAll w DCM (dolny panel), przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 10Et-5DIzoAll [B3LYP/aug-cc-pVDZ] w odniesieniu do fazy gazowej (środkowy panel) oraz przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 10Et-5DIzoAll [B3LYP/6-31G**] w odniesieniu do fazy gazowej (górny panel). Przejścia o charakterze π,π^* zostały oznaczone czarnymi liniami, natomiast o charakterze n,π^* czerwonymi trójkątami, ϵ w $\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, na podstawie (149).

4.3.7. Energie przejść singlet \rightarrow singlet dla pochodnych alloksazyny: 1MeFR oraz 3MeFR z wykorzystaniem metod TD-DFT w różnych bazach atomowych

Wykorzystując metody DFT wyznaczono energie przejść singlet \rightarrow singlet dla dwóch pochodnych alloksazyny o budowie czteropierścieniowej: 1MeFR oraz 3MeFR na dwóch poziomach teoretycznych: B3LYP/6-31G(d) oraz B3LYP/aug-cc-pVDZ w odniesieniu do fazy gazowej - wyniki zebrano w **Tabeli 33**, natomiast porównanie wyznaczonych energii przejść singlet \rightarrow singlet na poziomie B3LYP/aug-cc-pVDZ z eksperymentalnymi widmami związków 1MeFR oraz 3MeFR w DCM przedstawiono na **Rysunku 70**. Zoptymalizowane geometrie stanów podstawowych obydwu cząsteczek wskazują, że w tym stanie elektronowym są płaskie z wyjątkiem grup metylowych przyłączonych odpowiednio do atomu N(1) oraz N(3).

Zgodnie z analizą parametrów absorpcyjnych przedstawionych w *podrozdziale 4.1.6.*, widma absorpcji związków 1MeFR oraz 3MeFR mają zbliżony kształt oraz położenie maksimów. Wyznaczone energie przejść singlet \rightarrow singlet dobrze odzwierciedlają dane eksperymentalne, lepszą zgodność uzyskuje się w przypadku zastosowania poziomu B3LYP/aug-cc-pVDZ w

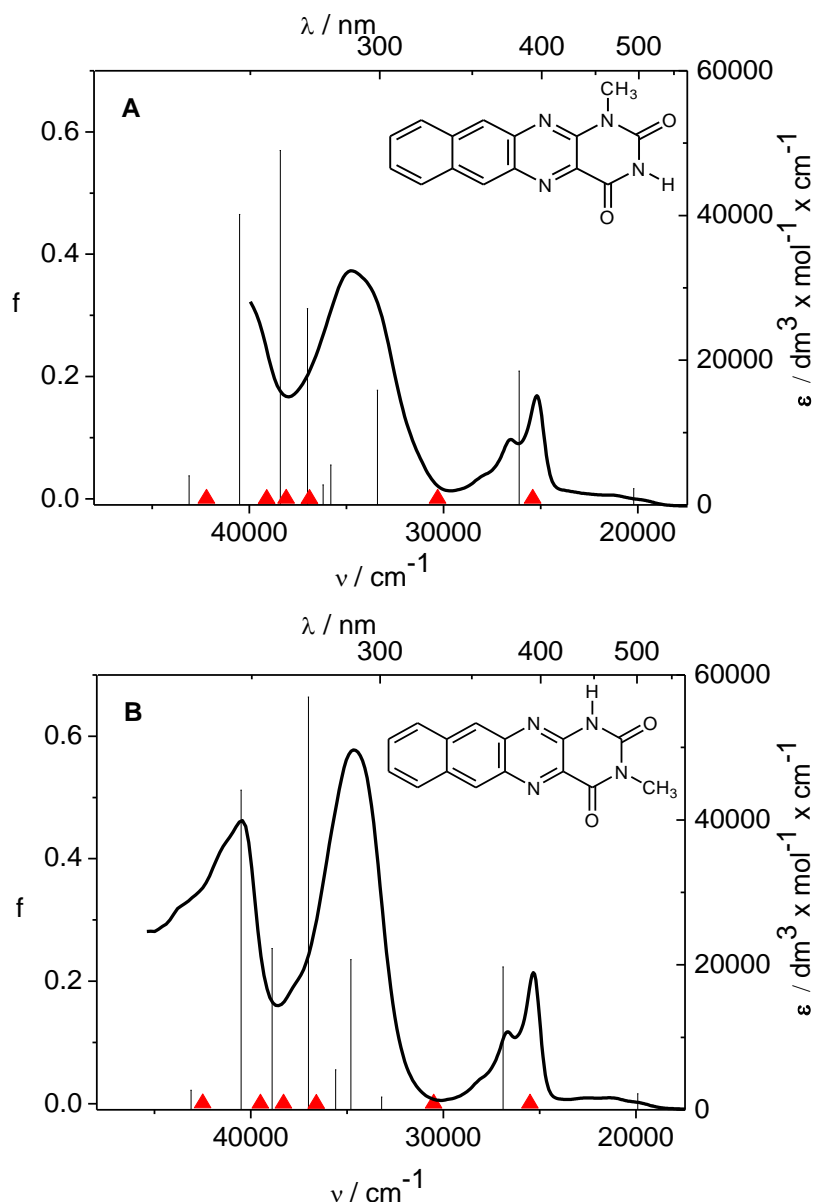
porównaniu do B3LYP/6-31G(d). Niezależnie od badanej pochodnej - tym samym usytuowania grupy metylowej przy N(1) lub N(3) oraz zastosowanego poziomu obliczeń, charakter najniższych przejść singlet \rightarrow singlet jest praktycznie zawsze identyczny, mianowicie przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ oraz $S_0 \rightarrow S_3$ mają charakter π, π^* natomiast przejścia $S_0 \rightarrow S_2$ oraz $S_0 \rightarrow S_4$ dla obydwu cząsteczek ze względu na niską siłę oscylatora mają charakter n, π^* . Przerwa energetyczna pomiędzy dwoma najniższymi stanami singletowymi o charakterze odpowiednio π, π^* oraz n, π^* wykorzystując poziom obliczeń B3LYP/6-31G(d) wynosi odpowiednio dla 1MeFR oraz 3MeFR: 4300 cm^{-1} oraz 4500 cm^{-1} . Zastosowanie bardziej złożonego poziomu obliczeń, mianowicie B3LYP/aug-cc-pVDZ pozwoliło na uzyskanie większej przerwy energetycznej pomiędzy dwoma najniższymi stanami singletowymi, odpowiednio dla 1MeFR oraz 3MeFR: 5200 cm^{-1} oraz 5600 cm^{-1} (**Tabela 33**). Stosunkowo duża przerwa energetyczna pomiędzy dwoma najniższymi stanami singletowymi oraz charakter przejścia $S_0 \rightarrow S_1$, który w obydwu cząsteczkach ze względu na stosunkowo wysoką siłę oscylatora ma charakter π, π^* może być jednym z powodów, dla których badane allokazyny wykazują stosunkowo wysokie wartości wydajności kwantowych fluorescencji oraz długie czasy życia fluorescencji, szczególnie w rozpuszczalnikach aprotycznych. Szczegółowa dyskusja na temat wpływu rozpuszczalnika na wartości wydajności kwantowych fluorescencji oraz czasy życia fluorescencji została przeprowadzona w *podrozdziale 4.1.6*. Kolejnym istotnym aspektem jest wpływ zastosowanego poziomu obliczeń na korelację z uzyskanymi danymi eksperymentalnymi. Dane teoretyczne są przyrównane do eksperymentalnych widm w DCM (**Rysunek 70**). W **Tabeli 33** podano w nawiasach odpowiednie wartości (w cm^{-1}) maksimów absorpcji dla 1MeFR oraz 3MeFR w DCM. Porównując najbardziej długofalowe pasmo w widmie absorpcji z wyznaczoną energią przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ można wnioskować, iż lepszą korelację danych teoretycznych i eksperymentalnych obserwuje się przy zastosowaniu bazy atomowej 6-31G(d). W przypadku 1MeFR zastosowanie bazy 6-31G(d) oraz aug-cc-pVDZ daje różnice pomiędzy pasmem absorpcji a danymi teoretycznymi odpowiednio: 900 cm^{-1} oraz 1900 cm^{-1} . W przypadku 3MeFR zastosowanie bazy atomowej 6-31G(d) oraz aug-cc-pVDZ daje większe różnice pomiędzy danymi eksperymentalnymi i teoretycznymi, jednak wciąż na korzyść prostszej bazy atomowej; różnice wynoszą odpowiednio: 1100 cm^{-1} oraz 2400 cm^{-1} . Jednak porównanie kolejnego pasma w widmie absorpcji położonego odpowiednio przy 25300 cm^{-1} (dla 1MeFR w DCM) oraz 25400 cm^{-1} (dla 3MeFR w DCM) z odpowiadającą mu wyliczoną energią przejścia można stwierdzić, iż w tym przypadku lepszą zgodność uzyskuje się w przypadku zastosowania bazy aug-cc-pVDZ. Odpowiednio, dla 1MeFR różnice pomiędzy

danymi eksperymentalnymi i teoretycznymi wynoszą: dla bazy 6-31G(d): 2400 cm^{-1} natomiast dla bazy aug-cc-pVDZ: 800 cm^{-1} . W przypadku 3MeFR różnice są większe i wynoszą odpowiednio: w przypadku bazy 6-31G(d): 2700 cm^{-1} i aug-cc-pVDZ: 1500 cm^{-1} . Podsumowując, zastosowanie stosunkowo prostej bazy atomowej, mianowicie 6-31G(d) w celu wyliczenia energii przejść singlet \rightarrow singlet zarówno dla 1MeFR jak i 3MeFR pozwala na uzyskanie zadowalających rezultatów, które korelują się z danymi eksperymentalnymi oraz pozwalają na interpretację obecności odpowiednich pasm w widmach absorpcji i wyznaczonych parametrów fotofizycznych. Zastosowanie większej bazy atomowej, mianowicie aug-cc-pVDZ pozwala na uzyskanie równie interesujących rezultatów, jednak znacznie wydłuża czas potrzebny do przeprowadzenia obliczeń.

Tabela 33. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet wyznaczone metodami teoretycznym: rB3LYP/6-31G(d) oraz B3LYP/aug-cc-pVDZ ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego w fazie gazowej dla 1MeFR i 3MeFR z odpowiednimi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_i$	1MeFR				3MeFR			
	B3LYP/6-31G(d)		B3LYP/aug-cc-pVDZ		B3LYP/6-31G(d)		B3LYP/aug-cc-pVDZ	
	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f
$\rightarrow S_1$	21.2 (22.5)	0.018	20.2 (22.5)	0.017	21.2 (22.5)	0.019	19.9 (22.5)	0.017
$\rightarrow S_2$	25.5 [†]	0.001	25.4 [†]	0	25.7 [†]	0.001	25.5 [†]	0
$\rightarrow S_3$	27.7 (25.3)	0.213	26.1 (25.3)	0.209	28.1 (25.4)	0.216	26.9 (25.4)	0.223
$\rightarrow S_4$	30.2 [†]	0	30.3 [†]	0	30.1 [†]	0	30.5 [†]	0
$\rightarrow S_5$	34.2	0.199	33.4	0.177	33.9	0.013	33.2	0.011
$\rightarrow S_6$	36.2	0.077	35.8	0.055	35.1	0.275	34.8	0.235
$\rightarrow S_7$	36.6	0.015	36.2	0.023	36.2	0.066	35.6	0.055
$\rightarrow S_8$	37.2 [†]	0	36.9 [†]	0	36.9 [†]	0	36.6 [†]	0
$\rightarrow S_9$	37.3	0.385	37.0	0.311	37.4	0.629	37.0	0.664
$\rightarrow S_{10}$	38.6 [†]	0	38.1 [†]	0	39.0 [†]	0	38.3 [†]	0
$\rightarrow S_{11}$	38.9	0.546	38.4	0.570	39.4	0.296	38.9	0.253
$\rightarrow S_{12}$	39.6 [†]	0	39.1 [†]	0	40.2 [†]	0	39.5 [†]	0
$\rightarrow S_{13}$	41.0	0.503	40.5	0.465	41.6	0.503	40.5	0.512
$\rightarrow S_{14}$	43.2 [†]	0.001	42.2 [†]	0	43.5 [†]	0.001	42.5 [†]	0
$\rightarrow S_{15}$	43.8	0.034	43.1	0.038	43.9	0.024	43.1	0.022

[†] przejścia n, π^* , pozostałe π, π^* , w nawiasach podano dane absorpcyjne dla każdego związku w DCM



Rysunek 70. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet (B3LYP/aug-cc-pVDZ); porównane do eksperymentalnych widm absorpcji w dichlorometanie dla związków 1MeFR (A) oraz 3MeFR (B); liniami pionowymi oznaczono przejścia elektronowe $\pi \rightarrow \pi^*$ natomiast trójkątami przejścia elektronowe typu $n \rightarrow \pi^*$.

W uzupełnieniu przedstawionych powyżej obliczeń dla 1MeFR i 3MeFR w odniesieniu do fazy gazowej, przeprowadzono także obliczenia z wykorzystaniem modelu rozpuszczalnikowego PCM uwzględniającego wpływ rozpuszczalnika na wyznaczone wartości energii przejść singlet \rightarrow singlet dla obydwu cząsteczek. Zastosowano poziom obliczeń: B3LYP/6-31G(d) z uwzględnieniem następujących rozpuszczalników: metanol, woda, acetonitryl. Dane przedstawiono w **Tabelach 34 i 35** oraz na **Rysunku 71**. Cechą wspólną wyliczonych energii przejść singlet \rightarrow singlet dla obydwu cząsteczek zarówno przy zastosowaniu fazy gazowej i uwzględnieniu wpływu rozpuszczalnika w modelu PCM jest

fakt, iż charakter czterech najniższych przejść singlet \rightarrow singlet jest we wszystkich przypadkach identyczny, mianowicie dla przejść $S_0 \rightarrow S_1$ oraz $S_0 \rightarrow S_3$ przypisuje się charakter π, π^* , natomiast przejściom $S_0 \rightarrow S_2$ oraz $S_0 \rightarrow S_4$ charakter n, π^* . Porównując wyznaczone energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 1MeFR oraz 3MeFR uwzględniające różne rozpuszczalniki w modelu PCM można stwierdzić, iż zmiana charakteru a tym samym polarności rozpuszczalnika nie wpływa znacząco na wyznaczone energie, dla przykładu w metanolu, wodzie i acetonitrylu energie przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ dla 3MeFR wynoszą odpowiednio: 20300 cm^{-1} , 20200 cm^{-1} oraz 20400 cm^{-1} (**Tabela 35**). Energia przejścia w fazie gazowej dla 3MeFR przy zastosowaniu tego samego poziomu teorii wynosi: 21200 cm^{-1} (**Tabela 33**). Wyznaczone przerwy energetyczne pomiędzy dwoma najniższymi przejściami singlet \rightarrow singlet o charakterze π, π^* oraz n, π^* wynoszą odpowiednio dla 1MeFR w metanolu, wodzie i acetonitrylu: 5300 cm^{-1} , 5700 cm^{-1} , 5700 cm^{-1} . Przytoczona wcześniej wartość przerwy energetycznej w fazie gazowej dla 1MeFR przy poziomie teorii rB3LYP/6-31G(d) wynosiła 4300 cm^{-1} . Podobnie, dla 3MeFR większe przerwy energetyczne odnotowano w przypadku zastosowania modelu PCM uwzględniającego wpływ rozpuszczalnika w porównaniu do fazy gazowej. Dla izolowanej cząsteczki w fazie gazowej odnotowano 4500 cm^{-1} , natomiast w metanolu, wodzie i acetonitrylu odpowiednio: 6000 cm^{-1} , 6100 cm^{-1} oraz 6000 cm^{-1} . Uwzględniając dane dla fazy gazowej oraz w modelu rozpuszczalnikowym PCM można stwierdzić, iż dla obydwu cząsteczek, uwzględniając wpływ polarnego środowiska, odnotowuje się przesunięcia ku niższej energii. Dla przykładu, odpowiednie wartości dla 1MeFR energii przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ w fazie gazowej i w ACN wynoszą: 21200 cm^{-1} oraz 20400 cm^{-1} . Dane teoretyczne wyznaczone w modelu PCM korelują z parametrami absorpcyjnymi - dla polarnego środowiska notowano również batochromowe przesunięcia odpowiednich pasm absorpcji (*podrozdział 4.1.6.*).

Tabela 34. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet wyznaczone metodami teoretycznym: B3LYP/6-31G(d) ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego przy uwzględnieniu modelu rozpuszczalnikowego PCM (rozpuszczalniki: metanol, woda, acetonitryl) dla 1MeFR z odpowiednimi siłami oscylatora, f .

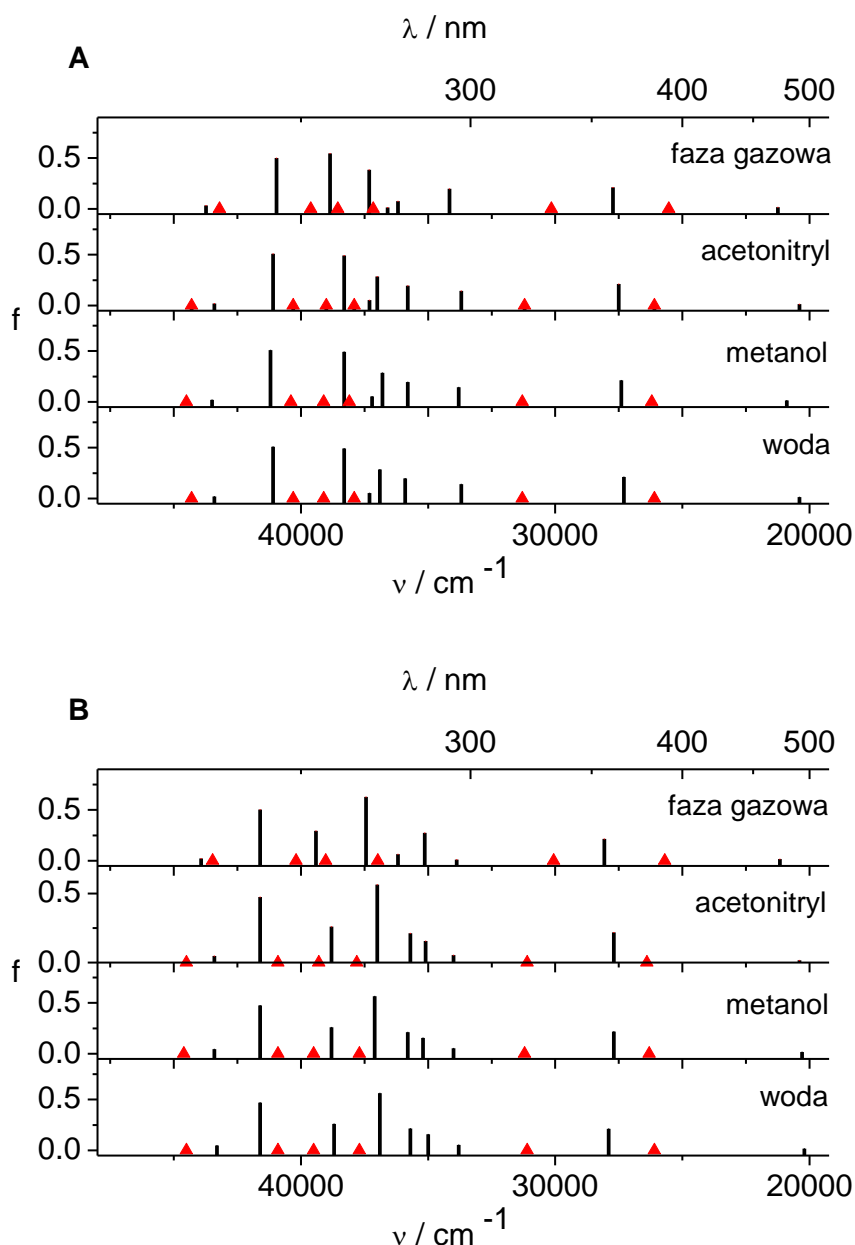
$S_0 \rightarrow S_i$	Metanol		Woda		Acetonitryl	
	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f
$\rightarrow S_1$	20.9 (22.2)	0.016	20.4	0.016	20.4 (22.1)	0.016
$\rightarrow S_2$	26.2 [†]	0	26.1 [†]	0	26.1 [†]	0
$\rightarrow S_3$	27.4 (25.5)	0.213	27.3	0.213	27.5 (25.6)	0.213
$\rightarrow S_4$	31.3 [†]	0	31.3 [†]	0	31.2 [†]	0
$\rightarrow S_5$	33.8	0.145	33.7	0.143	33.7	0.145
$\rightarrow S_6$	35.8	0.195	35.9	0.198	35.8	0.196
$\rightarrow S_7$	36.8	0.287	36.9	0.285	37.0	0.287
$\rightarrow S_8$	37.2	0.055	37.3	0.056	37.3	0.056
$\rightarrow S_9$	38.1 [†]	0	37.9 [†]	0	37.9 [†]	0
$\rightarrow S_{10}$	38.3	0.494	38.3	0.493	38.3	0.494
$\rightarrow S_{11}$	39.1 [†]	0	39.1 [†]	0	39.0 [†]	0
$\rightarrow S_{12}$	40.4 [†]	0	40.3 [†]	0	40.3 [†]	0
$\rightarrow S_{13}$	41.2	0.510	41.1	0.510	41.1	0.510
$\rightarrow S_{14}$	43.5	0.021	43.4	0.021	43.4	0.021
$\rightarrow S_{15}$	44.5 [†]	0	44.3 [†]	0.001	44.3 [†]	0

[†] przejścia n, π^* , pozostałe π, π^* , w nawiasach podano dane absorpcyjne dla 1MeFR w odpowiednich rozpuszczalnikach

Tabela 35. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet wyznaczone metodami teoretycznym: B3LYP/6-31G(d) ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego przy uwzględnieniu modelu rozpuszczalnikowego PCM (rozpuszczalniki: metanol, woda, acetonitryl) dla 3MeFR z odpowiednimi siłami oscylatora, f .

$S_0 \rightarrow S_i$	Metanol		Woda		Acetonitryl	
	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f	$E \times 10^{-3} / \text{cm}^{-1}$	f
$\rightarrow S_1$	20.3 (22.6)	0.017	20.2	0.018	20.4 (22.3)	0.017
$\rightarrow S_2$	26.3 [†]	0	26.1 [†]	0	26.4 [†]	0
$\rightarrow S_3$	27.7 (25.5)	0.219	27.9	0.213	27.7 (25.7)	0.219
$\rightarrow S_4$	31.2 [†]	0	31.1 [†]	0	31.1 [†]	0
$\rightarrow S_5$	34.0	0.055	33.8	0.056	34.0	0.055
$\rightarrow S_6$	35.2	0.157	35.0	0.158	35.1	0.157
$\rightarrow S_7$	35.8	0.213	35.7	0.215	35.7	0.213
$\rightarrow S_8$	37.1	0.565	36.9	0.563	37.0	0.565
$\rightarrow S_9$	37.7 [†]	0	37.7 [†]	0	37.8 [†]	0
$\rightarrow S_{10}$	38.8	0.260	38.7	0.260	38.8	0.260
$\rightarrow S_{11}$	39.5 [†]	0	39.5 [†]	0	39.3 [†]	0
$\rightarrow S_{12}$	40.9 [†]	0	40.9 [†]	0	40.9 [†]	0
$\rightarrow S_{13}$	41.6	0.475	41.6	0.471	41.6	0.475
$\rightarrow S_{14}$	43.4	0.047	43.3	0.048	43.4	0.047
$\rightarrow S_{15}$	44.6 [†]	0.001	44.5 [†]	0.001	44.5 [†]	0.001

[†] przejścia n, π^* , pozostałe π, π^* , w nawiasach podano dane absorpcyjne dla 3MeFR w odpowiednich rozpuszczalnikach

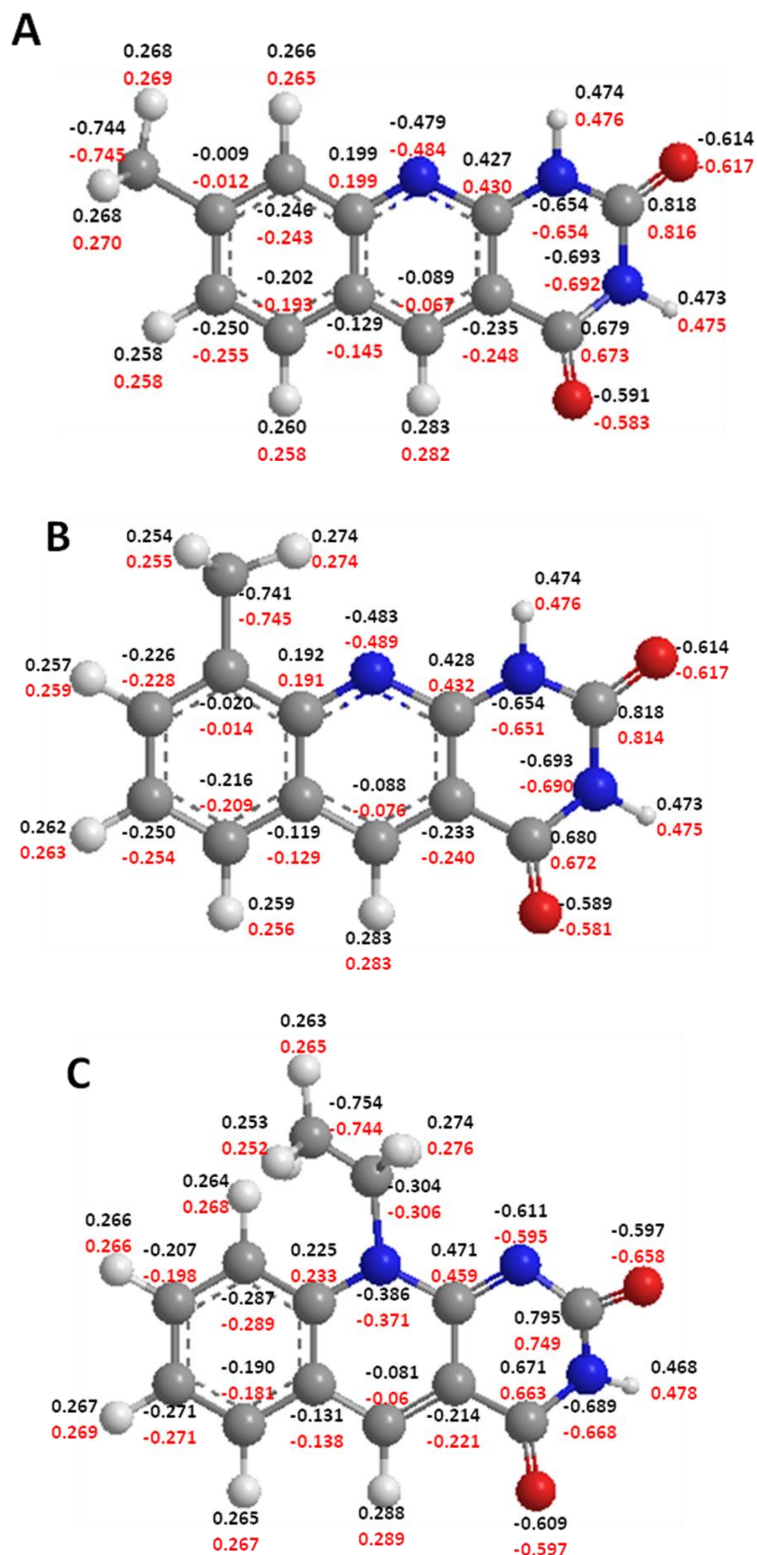


Rysunek 71. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet wyznaczone na poziomie teorii B3LYP/6-31G(d) dla związku 1MeFR (A) oraz 3MeFR (B) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego przy uwzględnieniu fazy gazowej oraz modelu rozpuszczalnikowego PCM dla rozpuszczalników: acetonitryl, metanol i woda, z odpowiadającymi im siłami oscylatora, f . Lokalizacja przejść o charakterze n,π^* została oznaczona za pomocą trójkątów, natomiast pionowymi liniami oznaczono przejścia o charakterze π,π^* .

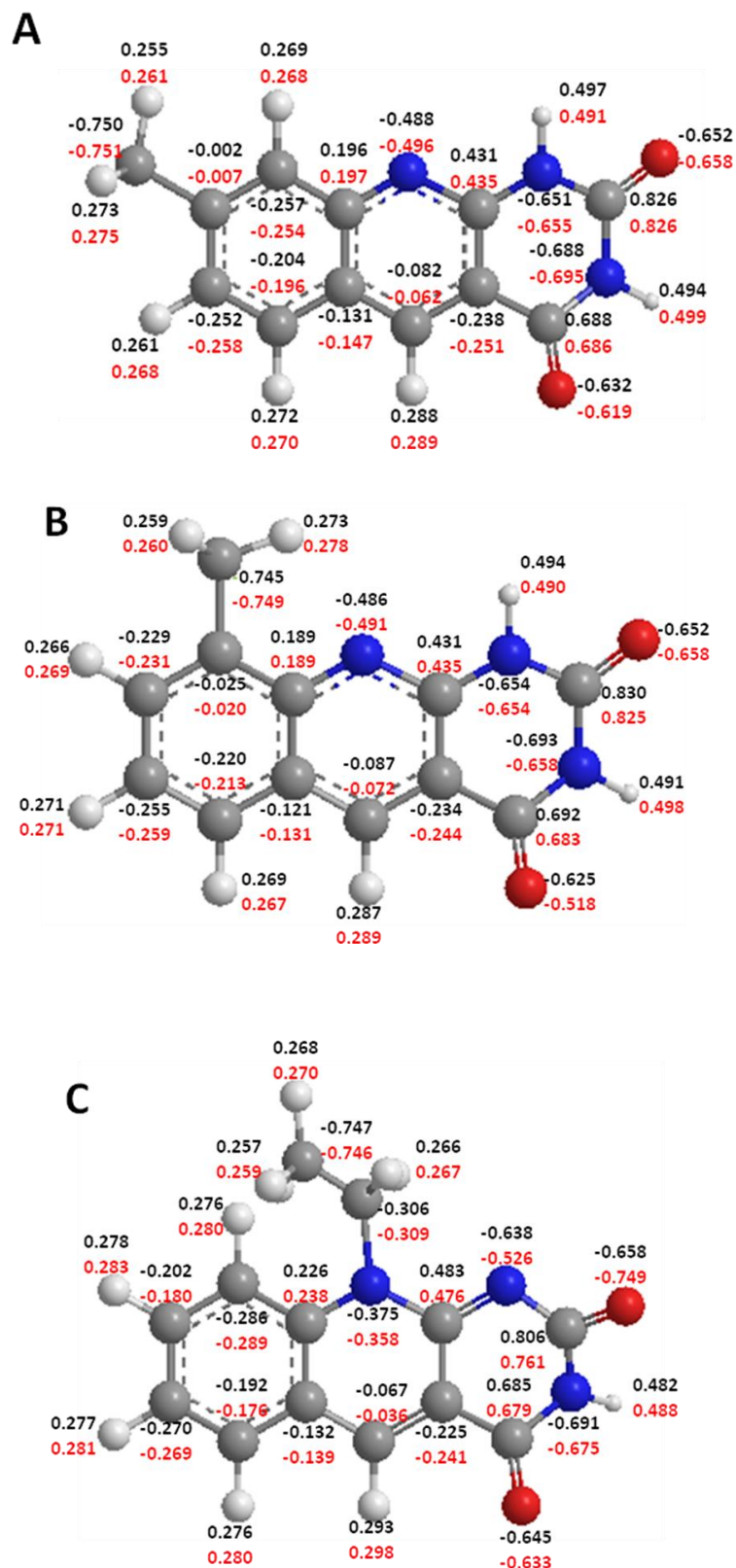
4.3.8. Rozkład gęstości atomowych, długości wiązań oraz momenty dipolowe dla wybranych pochodnych 5-dezaalloksazyny w podstawowym stanie singletowym, wzbudzonego stanie singletowym oraz trypletowym

Na **Rysunku 72** przedstawiono rozkład ładunków atomowych dla neutralnych form 8Me-5DAI, 9Me-5DAI oraz 10Et-5DIzoAI w stanie podstawowym (S_0) oraz w pierwszym

wzbudzonym stanie singletowym (S_1) wyznaczone w odniesieniu do fazy gazowej za pomocą analizy populacyjnej NBO. Miejsca z cząstkowym ładunkiem ujemnym to atomy azotu N(1), N(3) oraz N(10) jak również atomy tlenu znajdujące się w grupach karbonylowych przy atomach węgla C(2) oraz C(4). Wielkość cząstkowego ładunku ujemnego dla 8Me-5DAll i 9Me-5DAll jest uzależniona od heteroatomu i zmienia się w następującej kolejności, począwszy od niższego do wyższego: N(10), O(4), O(2), N(1) oraz N(3). Z kolei atomy posiadające najwyższy ładunek cząstkowy dodatni to karbonylowe atomy węgla C(2) oraz C(4) dla obydwu cząsteczek. Ponadto, wielkość ładunku dodatniego na dwóch atomach wodoru w grupach N(1)-H oraz N(3)-H są praktycznie identyczne. Interesującym wydaje się fakt, iż pomimo stosunkowo wysokiego cząstkowego ładunku ujemnego na karbonylowych atomach tlenu w stanie podstawowym, atomy te nie są zaangażowane w tworzenie wiązań wodorowych, co zostało pokazane w opisie efektów solwatochromowych tych cząsteczek (149). Wśród heteroatomów 8Me-5DAll oraz 9Me-5DAll, największe zmiany w rozkładzie ładunków atomowych pomiędzy stanem S_0 a S_1 następują na atomie karbonylowym atomie tlenu przy C(4). Analiza populacyjna NBO wskazuje, iż ładunek ujemny na tym atomie jest niższy w stanie S_1 w porównaniu do S_0 . Ujemny ładunek na karbonylowym atomie tlenu przy C(2) zarówno dla 8Me-5DAll jak i 9Me-5DAll jest wyższy w stanie S_1 w porównaniu do stanu S_0 . Największy wzrost ładunku ujemnego pod wpływem wzbudzenia następuje na atomie N(10) obydwu monometylowych pochodnych 5DAll. Ponadto, pod wpływem wzbudzenia w niewielkim stopniu zmienia się ładunek cząstkowy na atomach wodoru w grupach N(1)-H oraz N(3)-H, jednakże notowany jest niewielki wzrost w polarności wiązań w stanie wzbudzonym. Bardziej wyraźne zmiany w rozkładzie ładunków atomowych pomiędzy stanem podstawowym i wzbudzonym są obserwowane dla 10Et-5DIzoAll. Wszystkie atomy azotu mają niższy cząstkowy ładunek w stanie wzbudzonym. Atom azotu N(1) w stanie podstawowym ma największy ujemny ładunek cząstkowy spośród wszystkich heteroatomów tej cząsteczki. Dlatego, wydaje się zasadnym uznać, iż ten atom ma największy udział w tworzeniu wiązań wodorowych w stanie podstawowym (np. z cząsteczkami alkoholi) (147). Na **Rysunku 73** przedstawiono rozkład ładunków atomowych dla neutralnych form 8Me-5DAll, 9Me-5DAll oraz 10Et-5DIzoAll w stanie S_0 oraz S_1 w odniesieniu do zastosowanego modelu PCM przy uwzględnieniu metanolu. Porównując dane przedstawione na **Rysunkach 72** oraz **73** można stwierdzić, iż wiele prawidłowości, które stwierdzono dla fazy gazowej tych cząsteczek przenosi się również do metanolu w modelu PCM.

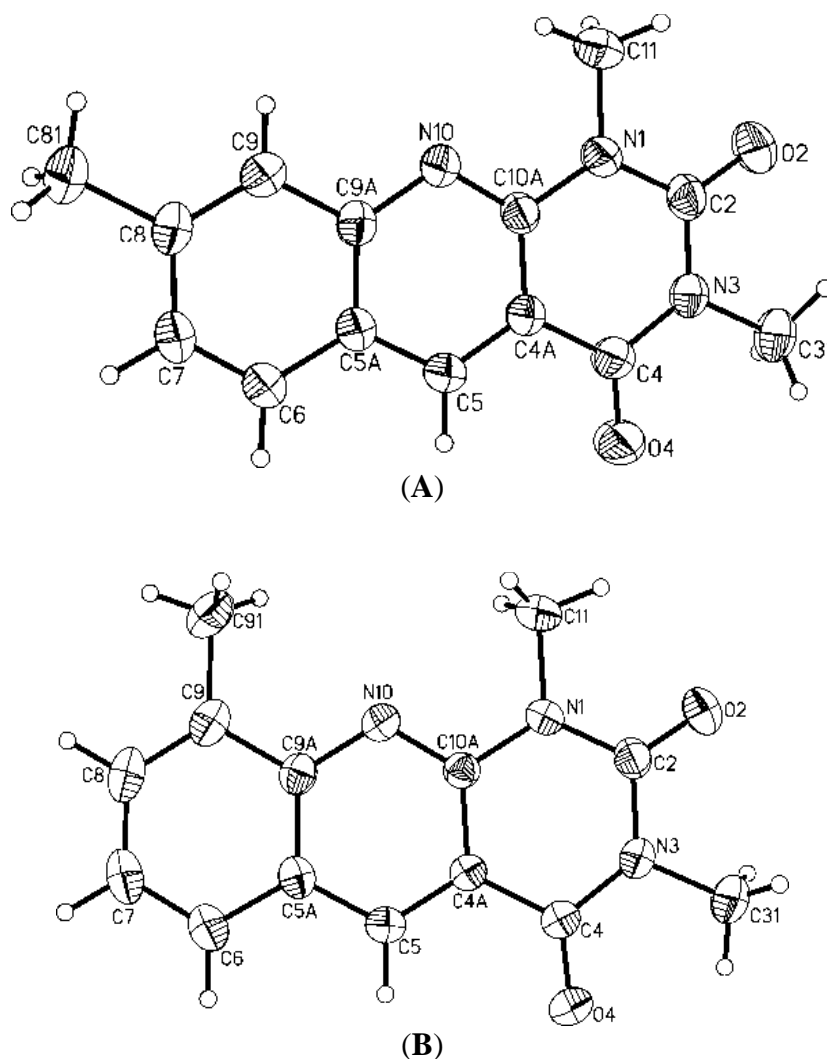


Rysunek 72. Ładunki atomowe neutralnych form: 8Me-5DAII (A), 9Me-5DAII (B) i 10Et-5DIzoAll (C) w stanie podstawowym (S_0) oraz w pierwszym wzbudzonym stanie singletowym (S_1) w fazie gazowej, wyznaczone przy wykorzystaniu analizy NBO, S_0 – czarny, S_1 – czerwony, na podstawie (147).



Rysunek 73. Ładunki atomowe neutralnych form: 8Me-5DAI1 (A), 9Me-5DAI1 (B) i 10Et-5DIzoAI1 (C) w stanie podstawowym (S_0) oraz w pierwszym wzbudzonym stanie singletowym (S_1) wyznaczone w oparciu o model rozpuszczalnikowy PCM z uwzględnieniem metanolu jako rozpuszczalnika, przy wykorzystaniu analizy NBO, S_0 – czarny, S_1 – czerwony, na podstawie (147).

Ponadto, w **Tabeli 36** przedstawiono długości wiązań (wyrażone w Å) oraz momenty dipolowe wybranych trimetylo- podstawionych pochodnych 5DAII: 138Me-5DAII oraz 139Me-5DAII dla stanów: podstawowego singletowego (S_0), pierwszego wzbudzonego stanu singletowego (S_1) oraz najniższego stanu trypletowego (T_1). Ponadto, w **Tabeli 37**, dla wybranych atomów wchodzących w skład tych cząsteczek heterocyklicznych określony został rozkład ładunków atomowych w stanie podstawowym S_0 oraz wzbudzonym singletowym S_1 w odniesieniu do fazy gazowej za pomocą analizy populacyjnej NBO, w analogiczny sposób jaki został przedstawiony dla monometylo- podstawionych pochodnych 5DAII i opublikowany w pracy (149). Numeracja stosowana w **Tabeli 36** oraz **37** jest zgodna z symbolami przedstawionymi na **Rysunku 74**, który przedstawia rezultaty opisu struktury krystalograficznej 138Me-5DAII oraz 139Me-5DAII w anizotropowo-elipsoidalnej reprezentacji. Informacje na temat struktury krystalograficznej tych pochodnych zostały zawarte w pracy (147).



Rysunek 74. Anizotropowo - elipsoidalna prezentacja 138Me-5DAII oraz 139Me-5DAII, oznaczenia atomów są zgodne z informacjami podanymi w **Tabeli 36**, na podstawie (147).

Tabela 36. Długości wiązań (w Å) oraz momenty dipolowe w stanach S_0 , S_1 i T_1 dla 138Me-5DAII and 139Me-5DAII, na podstawie (147).

Wiązanie	138Me-5DAII			139Me-5DAII		
	S_0 ($\mu = 4.2$ D)	S_1 ($\mu = 4.1$ D)	T_1 ($\mu = 5.9$ D)	S_0 ($\mu = 3.5$ D)	S_1 ($\mu = 3.3$ D)	T_1 ($\mu = 5.8$ D)
N10 – C10A	1.32	1.34	1.37	1.32	1.34	1.37
C10A – C4A	1.43	1.43	1.39	1.44	1.43	1.39
C4A – C5	1.38	1.41	1.43	1.38	1.41	1.43
N1 – C10A	1.39	1.37	1.38	1.39	1.37	1.38
N1 – C11	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47
N1 – C2	1.39	1.44	1.40	1.39	1.43	1.40
C2 – O2	1.22	1.23	1.23	1.22	1.24	1.23
N3 – C2	1.40	1.36	1.39	1.40	1.36	1.39
N3 – C31	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47	1.47
N3 – C4	1.40	1.44	1.41	1.40	1.44	1.42
C4 – O4	1.23	1.24	1.23	1.23	1.24	1.23
C4 – C4A	1.47	1.43	1.45	1.47	1.44	1.45

Analizowane cząsteczki są płaskie w każdym ze wspomnianych stanów elektronowych. Geometrie nie zmieniają się znacząco pod wpływem wzbudzenia, obserwuje się raczej nieznaczne zmiany w długości wiązań oraz rozkładzie ładunków na poszczególnych atomach w stanach S_1 oraz T_1 w porównaniu do stanu S_0 . Cząsteczki wykazują różne momenty dipolowe w poszczególnych stanach elektronowych, odpowiednio dla 138Me-5DAII: S_0 (4.2 D), S_1 (4.1 D), T_1 (5.9 D). W przypadku 139Me-5DAII wyznaczono następujące wartości momentów dipolowych: S_0 (3.5 D), S_1 (3.3 D), T_1 (5.8 D). Porównanie długości wiązań w tych stanach elektronowych wskazuje na kilka interesujących zależności, mianowicie zarówno dla 138Me-5DAII, jak i 139Me-5DAII wydłuża się wiązanie N10-C10A poczynając od stanu S_0 poprzez S_1 i najdłuższy w T_1 . Z kolei jedynie nieznacznie zmieniają się długości wiązań zarówno dla 138Me-5DAII, jak i 139Me-5DAII we wszystkich trzech stanach elektronowych wokół innych ważnych heteroatomów, włączając w to wiązania: N1-C10A, N1-C11, N3-C4. Rozkład ładunków atomowych neutralnych form 138Me-5DAII oraz 139Me-5DAII wskazuje, iż atomy obdarzone cząstkowym ładunkiem ujemnym to N(1), N(3) oraz N(10) oraz atomy tlenu O(2) oraz O(4) zarówno w stanie S_0 jak i S_1 . Dla obydwu związków największy cząstkowy ładunek dodatni gromadzi się na karbonylowych atomach tlenu C(2) i C(4), jednakże atom C(2) posiada większy ładunek dodatni w porównaniu z C(4), ponadto te ładunki nie ulegają istotnym zmianą w pierwszym wzbudzonym stanie singletowym. Kilka interesujących zmian w wielkości cząstkowego ładunku atomowego

zostało znalezionych na atomach azotu pomiędzy stanem podstawowym i wzbudzonym. Trend zmian ładunku atomowego jest dla obydwu cząsteczek taki sam, mianowicie w stanie podstawowym $N(3) > N(10) \approx N(1)$, natomiast w stanie wzbudzonym $N(3) \approx N(10) > N(1)$. Wśród atomów azotu, największą zmianę w ładunku atomowym pod wpływem wzbudzenia notuje się dla $N(10)$ zarówno w przypadku 138Me-5DAIi jak i 139Me-5DAIi.

Tabela 37. Ładunki atomowe neutralnych form 138Me-5DAIi i 139Me-5DAIi w stanie podstawowym (S_0), w pierwszym wzbudzonym stanie singletowym (S_1) w fazie gazowej wyznaczone za pomocą analizy populacyjnej NBO, na podstawie (147).

Atom	138Me-5DAIi		139Me-5DAIi		Atom	138Me-5DAIi		139Me-5DAIi	
	S_0	S_1	S_0	S_1		S_0	S_1	S_0	S_1
C2	0.85	0.85	0.85	0.85	C91	-	-	-0.74	-0.74
C4	0.69	0.68	0.70	0.69	C9A	0.20	0.20	0.19	0.19
C4A	-0.23	-0.25	-0.23	-0.24	C10A	0.45	0.46	0.44	0.44
C5	-0.08	-0.06	-0.09	-0.07	C11	-0.52	-0.52	-0.52	-0.52
C5A	-0.13	-0.15	-0.12	-0.13	C31	-0.52	-0.52	-0.52	-0.52
C6	-0.20	-0.20	-0.22	-0.21	N10	-0.49	-0.50	-0.49	-0.50
C7	-0.25	-0.26	-0.25	-0.26	N1	-0.48	-0.48	-0.48	-0.48
C8	-0.01	-0.01	-0.23	-0.23	N3	-0.51	-0.51	-0.51	-0.51
C9	-0.25	-0.24	-0.02	-0.02	O2	-0.63	-0.63	-0.63	-0.63
C81	-0.74	-0.75	-	-	O4	-0.61	-0.60	-0.61	-0.60

4.3.9. Energie przejść singlet \rightarrow tryplet oraz tryplet \rightarrow tryplet dla wybranych pochodnych 5-deazaalloksazyny oraz pochodnych alloksazyny: 1MeFR i 3MeFR z wykorzystaniem metod DFT

W **Tabeli 38** przedstawiono przewidywane energie przejść singlet \rightarrow tryplet wyznaczone za pomocą metody B3LYP/6-31+G(d), natomiast w **Tabeli 39** zostały zawarte energie przejść tryplet \rightarrow tryplet wyznaczone na poziomie teorii uB3LYP /6-31+G(d) dla 5DAIi, 8Me-5DAIi, 9Me-5DAIi, 13Me-5DAIi, 138Me-5DAIi, 139Me-5DAIi oraz 10Et-5DIzoAll. Wybrane przejścia tryplet \rightarrow tryplet zostały przedstawione na **Rysunku 75**. Wszystkie prezentowane obecnie obliczenia zostały odniesione do fazy gazowej. W przypadku każdej cząsteczki najniższy wzbudzony stan trypletowy miał charakter π, π^* . Obliczone teoretycznie energie przejść tryplet \rightarrow tryplet zawsze pozwalają uzyskać większą liczbę przejść w porównaniu z danymi eksperymentalnymi, które są zwykle ograniczone aparaturowo. Wyznaczone dane w zadowalający sposób odzwierciedlają uzyskane widma absorpcji przejściowej tryplet \rightarrow

tryplet, dla przykładu, porównanie prezentowanego na **Rysunku 52** widma absorpcji przejściowej 8Me-5DAI1 w ACN z rezultatami teoretycznymi (**Tabela 39**) pozwoliły zidentyfikować teoretyczne energie przejść przy około 19800 cm⁻¹, 23300 cm⁻¹, 25800 cm⁻¹ oraz 30800 cm⁻¹ jako odzwierciedlające obserwowane maksima w widmie absorpcji przejściowej tej cząsteczki. W każdym przypadku rezultaty teoretyczne są niebiesko-przesunięte w porównaniu do eksperymentalnych widm absorpcji przejściowej, głównie ze względu na wykonywanie obliczeń w odniesieniu do fazy gazowej, natomiast z drugiej strony, prezentacji widm absorpcji przejściowej w rozpuszczalnikach organicznych (lub wodzie). Również dla przedstawicieli badanych alloksazyn: 1MeFR i 3MeFR wyliczono energie przejść tryplet → tryplet, które zostały zawarte w **Tabeli 40** oraz na **Rysunku 76**.

Tabela 38. Przewidywane energie [B3LYP/6-31+G(d)] przejść S₀→T_i dla 5DAI1, 8Me-5DAI1, 9Me-5DAI1, 13Me-5DAI1, 138Me-5DAI1, 139Me-5DAI1 i 10Et-5DIzoAll z odpowiednimi siłami oscylatora, *f*.

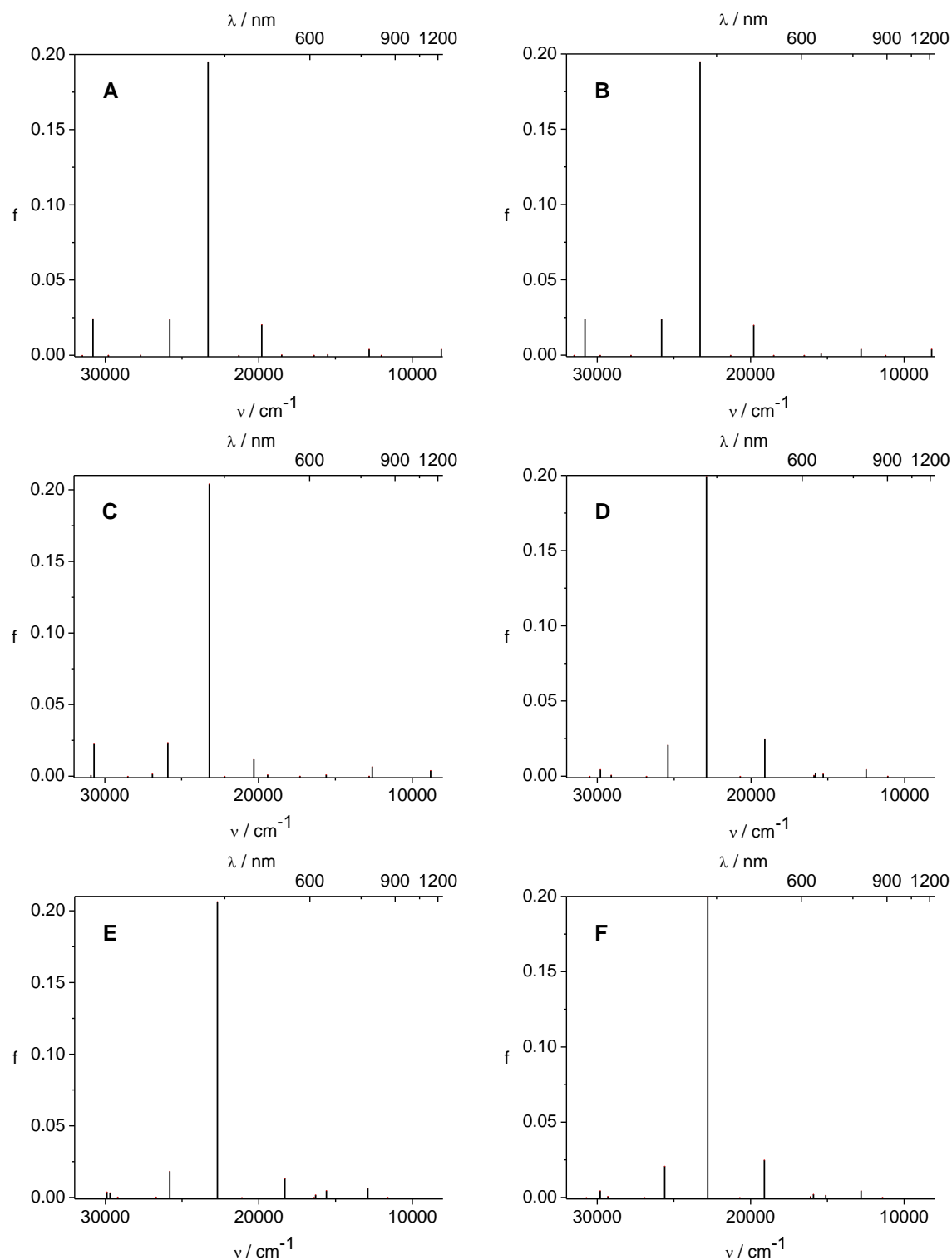
	5DAI1	8Me-5DAI1 ^a	9Me-5DAI1 ^a	13Me-5DAI1	138Me-5DAI1 ^b	139Me-5DAI1 ^b	10Et-5DIzoAll ^a
S ₀ →T _i	E × 10 ⁻³ <i>f</i> / cm ⁻¹	E × 10 ⁻³ <i>f</i> / cm ⁻¹	E × 10 ⁻³ <i>f</i> / cm ⁻¹	E × 10 ⁻³ <i>f</i> / cm ⁻¹	E × 10 ⁻³ <i>f</i> / cm ⁻¹	E × 10 ⁻³ <i>f</i> / cm ⁻¹	E × 10 ⁻³ <i>f</i> / cm ⁻¹
→T ₁	21.0 0	21.8 0	20.8 0	21.2 0	21.9 0	20.9 0	19.5 0
→T ₂	25.3 0	25.5 0	25.9 0	25.2 0	25.1 0	25.4 0	23.8 0
→T ₃	30.5 0	30.8 0	30.1 0	30.4 0	30.2 0	30.0 0	26.9 0
→T ₄	30.8 0	30.9 0	30.6 0	30.9 0	30.7 0	30.2 0	29.2 0
→T ₅	33.1 0	33.7 0	33.2 0	33.3 0	33.2 0	32.9 0	30.3 0
→T ₆	35.0 0	35.1 0	34.9 0	35.3 0	- -	- -	31.6 0
→T ₇	35.8 0	35.7 0	36.1 0	36.2 0	- -	- -	32.1 0

^a na podstawie: (149), ^b na podstawie: (147).

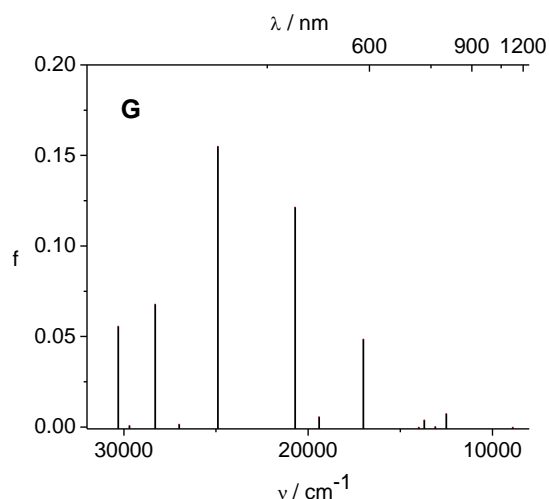
Tabela 39. Przewidywane energie przejść [uB3LYP /6-31+G(d)] $T_1 \rightarrow T_i$ dla 5DAII, 8Me-5DAII, 9Me-5DAII, 13Me-5DAII, 138Me-5DAII, 139Me-5DAII i 10Et-5DIzoAll z odpowiadającymi im siłami oscylatora, f .

$T_1 \rightarrow T_i$	5DAII		8Me-5DAII ^a		9Me-5DAII ^a		13Me-5DAII		138Me-5DAII ^b		139Me-5DAII ^b		10Et-5DIzoAll ^a	
	E ×	f	E ×	f	E ×	f	E ×	f	E ×	f	E ×	f	E ×	f
	10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}		10^{-3}	
	/ cm ⁻¹		/ cm ⁻¹		/ cm ⁻¹		/ cm ⁻¹		/ cm ⁻¹		/ cm ⁻¹		/ cm ⁻¹	
→T ₂	8.1	0.004	8.2	0.004	8.8	0.004	7.3	0.006	6.9	0.004	7.3	0.007	5.8	0.007
→T ₃	12.0	0	11.2	0	12.6	0.007	11.1	0	11.6	0	11.4	0	8.9	0
→T ₄	12.8	0.004	12.8	0.004	12.8	0	12.5	0.004	12.9	0.007	12.8	0.005	12.5	0.007
→T ₅	15.5	0	15.4	0.001	15.6	0.001	15.3	0.002	15.6	0.005	15.1	0.002	13.1	0
→T ₆	16.4	0	16.5	0	17.3	0	15.8	0.002	16.3	0.002	15.9	0.002	13.7	0.004
→T ₇	18.5	0	18.5	0	19.4	0.001	15.9	0.001	16.4	0	16.1	0.001	14.0	0
→T ₈	19.8	0.020	19.8	0.020	20.3	0.012	19.1	0.025	18.3	0.013	19.1	0.025	17.0	0.049
→T ₉	21.3	0	21.3	0	22.2	0	20.7	0	21.1	0	20.7	0	19.4	0.006
→T ₁₀	23.3	0.195	23.3	0.195	23.2	0.204	22.9	0.199	22.7	0.206	22.8	0.199	20.7	0.122
→T ₁₁	25.8	0.024	25.8	0.024	25.9	0.024	25.4	0.021	25.8	0.018	25.6	0.021	24.9	0.155
→T ₁₂	27.7	0	27.8	0	26.9	0.002	26.8	0	26.7	0	26.9	0	27.0	0.002
→T ₁₃	29.8	0	29.8	0	28.5	0	29.1	0.001	29.2	0	29.3	0	28.3	0.068
→T ₁₄	30.8	0.024	30.8	0.024	30.7	0.023	29.8	0.005	29.7	0.003	29.8	0.005	29.7	0.001
→T ₁₅	31.5	0	31.5	0	30.9	0.001	30.5	0	29.9	0	30.7	0	30.3	0.056
→T ₁₆	32.7	0.267	-	-	-	-	31.7	0.278	31.4	0.313	31.9	0.278	-	-

^a na podstawie: (149), ^b na podstawie: (147).



Rysunek 75. Przewidywane energie przejść $T_1 \rightarrow T_i$ (UB3LYP/6-31G(d)) dla związków 5DA11 (**A**), 8Me-5DA11 (**B**), 9Me-5DA11 (**C**), 13Me-5DA11 (**D**), 138Me-5DA11 (**E**), 139Me-5DA11 (**F**), 10Et-5DIzoAll (**G**); f – siła oscylatora.

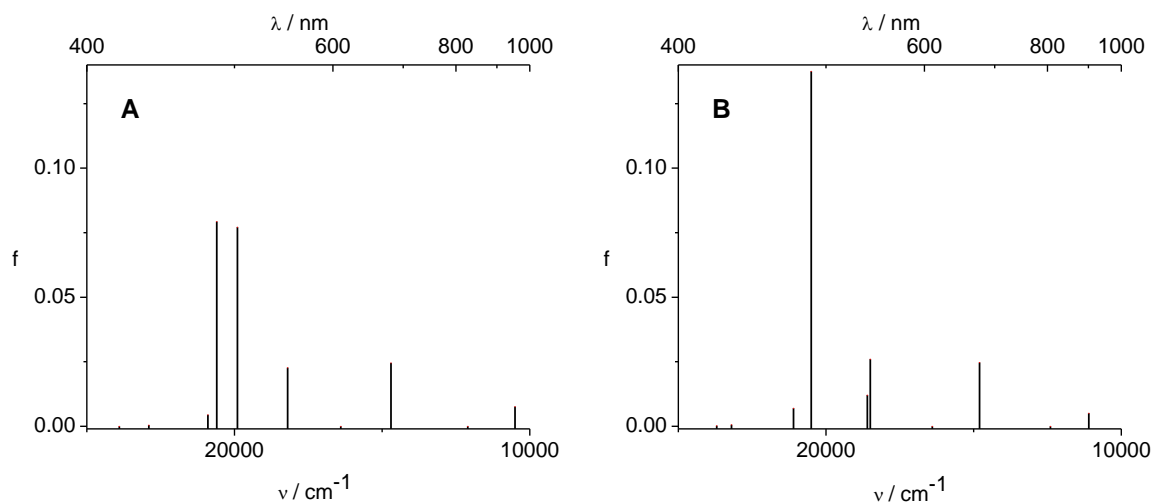


Rysunek 75 (ciąg dalszy). Przewidywane energie przejść $T_1 \rightarrow T_i$ (UB3LYP/6-31G(d)) dla związków 5DAII (A), 8Me-5DAII (B), 9Me-5DAII (C), 13Me-5DAII (D), 138Me-5DAII (E), 139Me-5DAII (F), 10Et-5DIzoAll (G); f – siła oscylatora.

Tabela 40. Przewidywane energie przejść [uB3LYP/6-31+G(d)] $T_1 \rightarrow T_i$ dla 1MeFR i 3MeFR z odpowiadającymi im siłami oscylatora, f .

$T_1 \rightarrow T_i$	1MeFR		3MeFR	
	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f	$E \times 10^{-3}$ / cm^{-1}	f
$\rightarrow T_2$	10.5	0.008	11.1	0.005
$\rightarrow T_3$	12.1	0	12.4	0
$\rightarrow T_4$	14.7	0.025	14.8	0.025
$\rightarrow T_5$	16.4	0	16.4	0
$\rightarrow T_6$	18.2	0.023	18.5	0.026
$\rightarrow T_7$	19.9	0.077	18.6	0.012
$\rightarrow T_8$	20.6	0.079	20.5	0.138
$\rightarrow T_9$	20.9	0.005	21.1	0.007
$\rightarrow T_{10}$	22.9	0	23.2	0
$\rightarrow T_{11}$	23.9	0	23.7	0
$\rightarrow T_{12}$	25.0	0.007	25.1	0.015
$\rightarrow T_{13}$	25.7	0	26.1	0
$\rightarrow T_{14}$	26.8	0.351	27.3	0.318
$\rightarrow T_{15}$	28.2	0	28.2	0

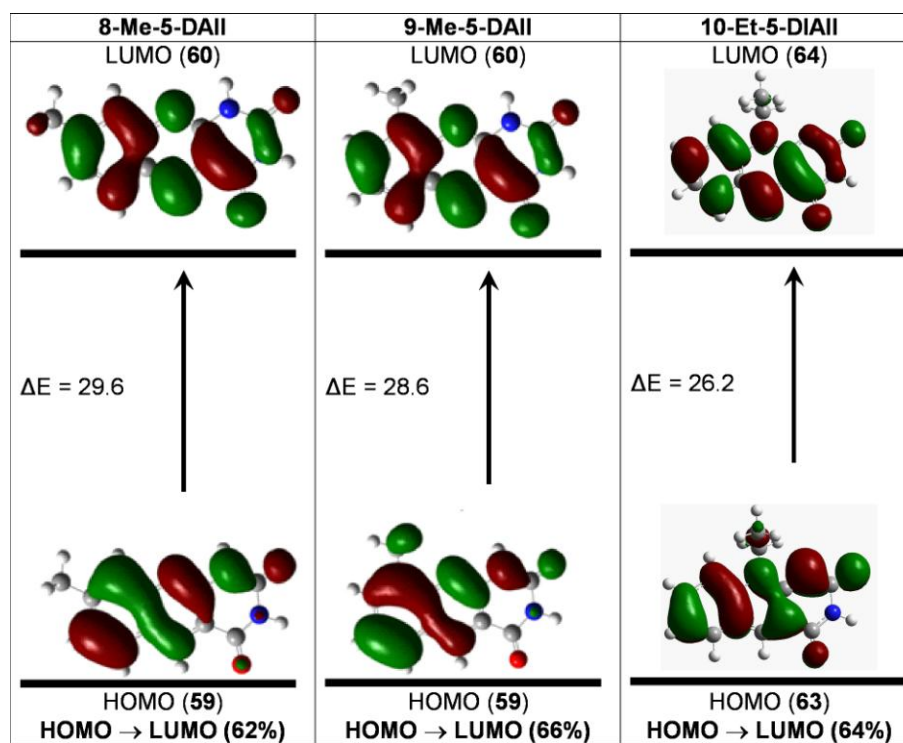
1MeFR: $T_1 = -947.1116126$ hartree, $S^2 = 2.023295$; **3MeFR:** $T_1 = -947.1128455$ hartree, $S^2 = 2.023627$.



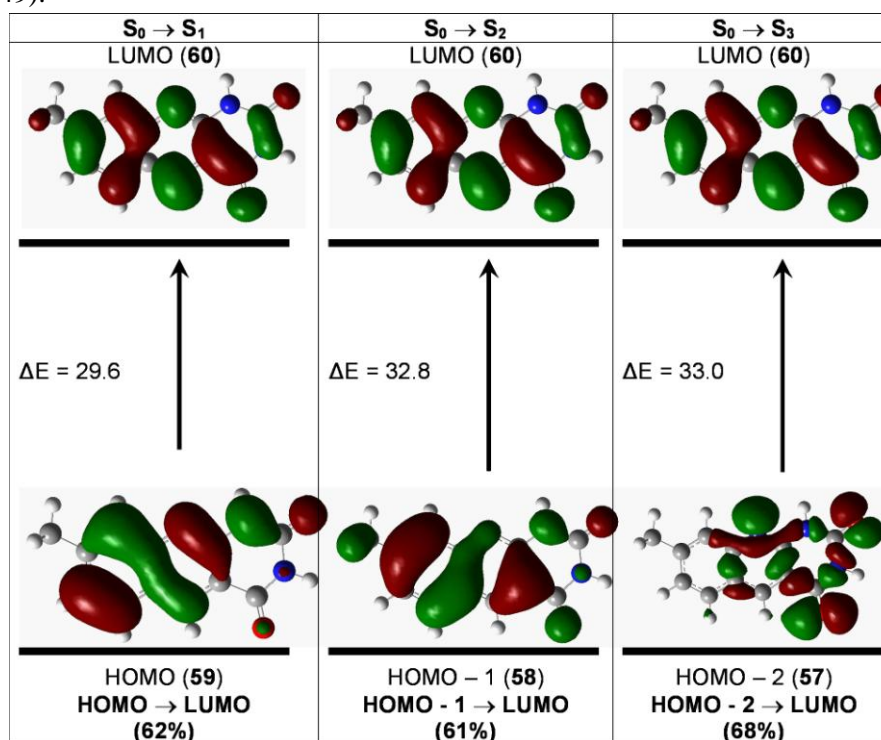
Rysunek 76. Przewidywane energie przejść $T_1 \rightarrow T_1$ (UB3LYP/6-31G(d)) dla związków 1MeFR (**A**) oraz 3MeFR (**B**); f – siła oscylatora.

4.3.10. Orbitale zaangażowane w najniżej energetycznie położonych przejściach singlet \rightarrow singlet dla pochodnych 5-deazaalloksazyny oraz alloksazyn: 1MeFR i 3MeFR

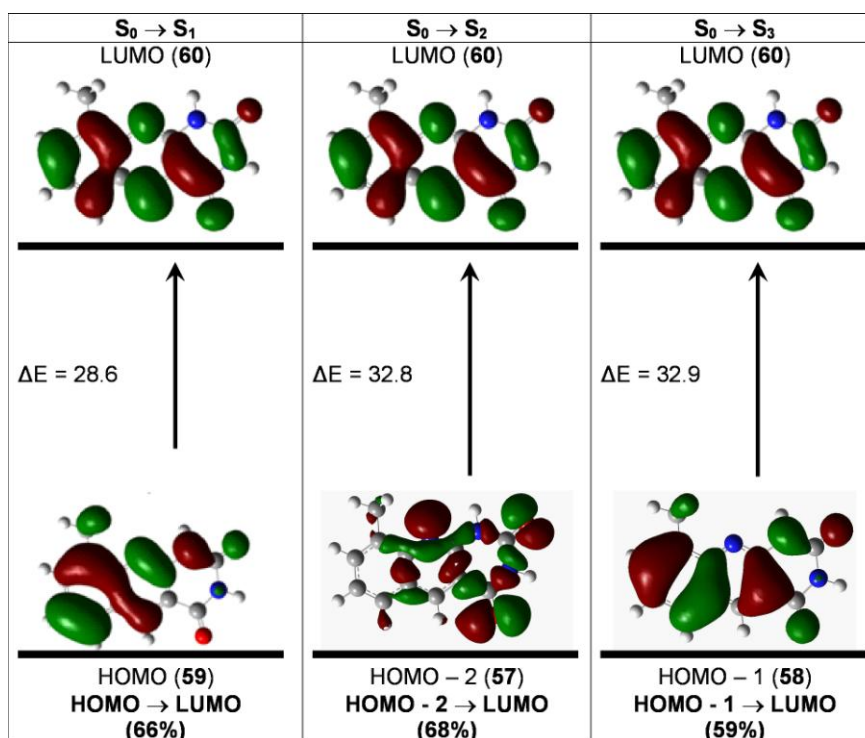
Rysunek 77 przedstawia kształty najwyższych obsadzonych orbitali molekularnych (HOMO) oraz najniższych nieobsadzonych orbitali molekularnych (LUMO) 8Me-5DA11, 9Me-5DA11 oraz 10Et-5DIzoAll, które są w największym stopniu zaangażowane w przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$. Stopień zaangażowania został podany w % i wynosi odpowiednio dla 8Me-5DA11 (62%), 9Me-5DA11 (66%) oraz 10Et-5DIzoAll (64%). Z kolei na **Rysunkach 78** oraz **79** przedstawiono kształty orbitali najbardziej zaangażowanych w przejścia $S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$ oraz $S_0 \rightarrow S_3$ odpowiednio dla 8Me-5DA11 oraz 9Me-5DA11. Jak wspomniano wcześniej, niezależnie od usytuowania grupy metylowej, w przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ najbardziej zaangażowane są orbitale HOMO i LUMO. Nieco inaczej przedstawia się sytuacja z przejściami elektronowymi o wyższej energii, mianowicie dla przejścia $S_0 \rightarrow S_2$ najbardziej zaangażowane są orbitale HOMO-1 oraz LUMO (8Me-5DA11) oraz HOMO-2 i LUMO (9Me-5DA11). W przypadku przejścia $S_0 \rightarrow S_3$ następuje odwrócenie, mianowicie dla 8Me-5DA11 odbywa się ono w sposób dominujący pomiędzy orbitalami HOMO-2 oraz LUMO, natomiast dla 9Me-5DA11 pomiędzy HOMO-1 i LUMO. Warto zauważyć, iż nieco inny obraz został opisany dla pochodnych 8-metyloalloksazyny i 9-metyloalloksazyny (170). W tych przypadkach, w przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ najbardziej zaangażowanymi orbitalami były HOMO-2 oraz LUMO. Również bardziej złożone pochodne 5DA11, mianowicie 138Me-5DA11 oraz 139Me-5DA11 w największym stopniu angażują w przejście $S_0 \rightarrow S_1$ orbitale HOMO oraz LUMO, w obydwu przypadkach stopień zaangażowania to 66% (**Rysunek 80**).



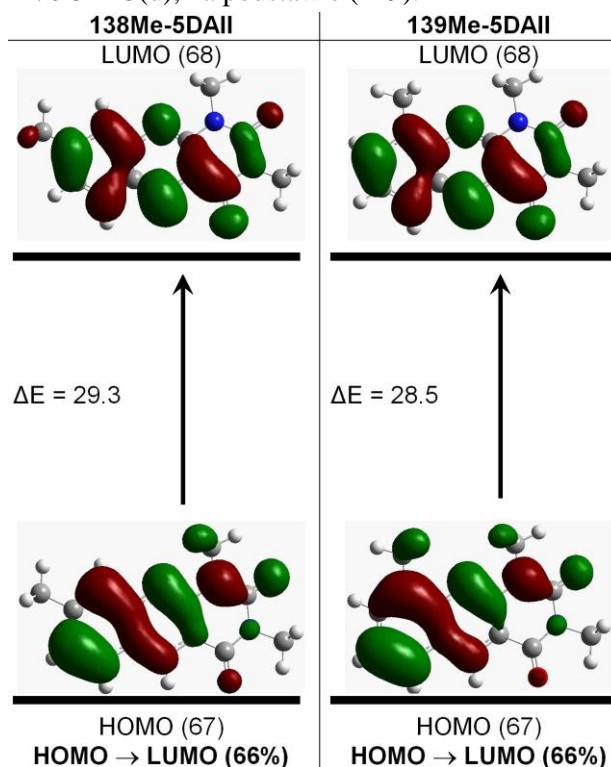
Rysunek 77. Kształt najwyższych obsadzonych orbitali molekularnych (HOMO) oraz najniższych nieobsadzonych orbitali molekularnych (LUMO) dla 8Me-5DAII, 9Me-5DAII oraz 10Et-5DIzoAll, głównie zaangażowanych w najniższe energetycznie przejścia singlet → singlet. Stopień zaangażowania orbitali HOMO → LUMO podano (w %), na rysunku, B3LYP/6-31+G(d), na podstawie (149).



Rysunek 78. Kształty orbitali dla 8Me-5DAII, głównie zaangażowanych w przejścia $S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$ i $S_0 \rightarrow S_3$. Procent zaangażowania danych orbitali w przejścia $S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$ i $S_0 \rightarrow S_3$ został podany na rysunku, B3LYP/6-31+G(d), na podstawie (149).

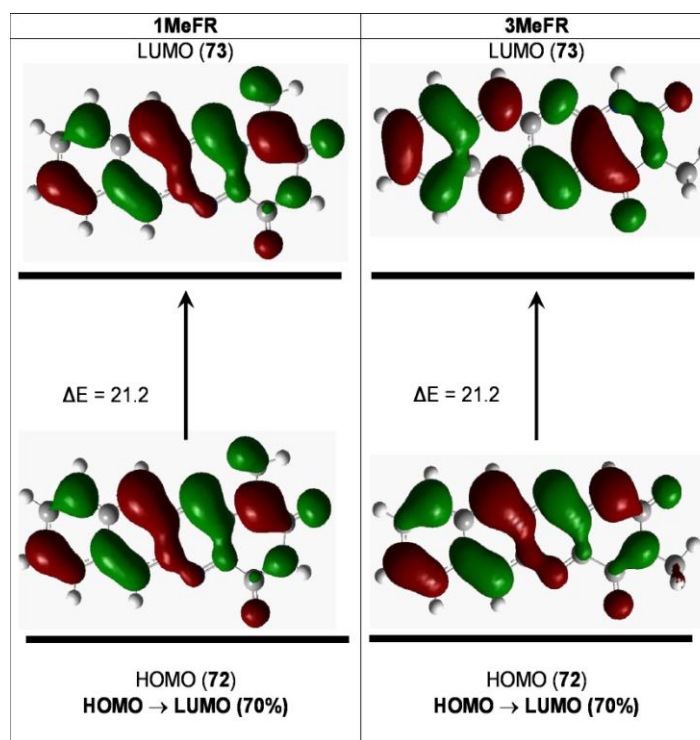


Rysunek 79. Kształty orbitali dla 9Me-5DAII, głównie zaangażowanych w przejścia $S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$ i $S_0 \rightarrow S_3$. Procent zaangażowania danych orbitali w przejścia $S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$ i $S_0 \rightarrow S_3$ został podany na rysunku, B3LYP/6-31+G(d), na podstawie (149).

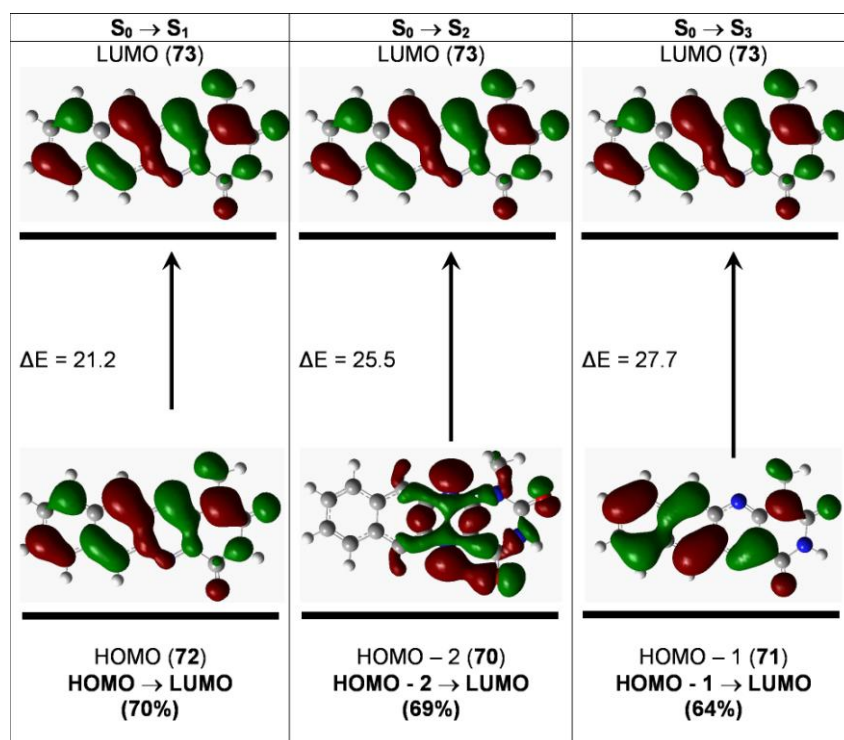


Rysunek 80. Kształt najwyższych obsadzonych orbitali molekularnych (HOMO) oraz najniższych nieobsadzonych orbitali molekularnych (LUMO) dla 138Me-5DAII oraz 139Me-5DAII, głównie zaangażowanych w najniższe energetycznie przejścia singlet \rightarrow singlet. Stopień zaangażowania orbitali HOMO \rightarrow LUMO podano (w %) na rysunku, B3LYP/6-31+G(d), na podstawie (147).

Na **Rysunku 81** przedstawiono kształty orbitali, które mają dominujący udział w przejściach $S_0 \rightarrow S_1$ dla czteropierścieniowych, monometylowych alloksazyn (1MeFR oraz 3MeFR). Najwyżej obsadzony orbital molekularny (HOMO) i najniższy nieobsadzony orbital molekularny (LUMO) to orbitale, które w ok. 70% są zaangażowane w przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ o charakterze π, π^* zarówno dla 1MeFR jak i 3MeFR. Warto dodać, że ta tendencja jest jednakowa dla przejść wyliczonych w odniesieniu do fazy gazowej, jak i modelu rozpuszczalnikowego PCM uwzględniającego wpływ acetonitrylu, metanolu i wody na przejścia absorpcyjne. Z kolei przejścia singlet \rightarrow singlet o wyższej energii (na przykładzie 1MeFR, **Rysunek 82**) angażują inne orbitale, mianowicie dla przejścia $S_0 \rightarrow S_2$ HOMO-2 i LUMO oraz dla przejścia $S_0 \rightarrow S_3$ HOMO-1 i LUMO.



Rysunek 81. Kształt najwyższych obsadzonych orbitali molekularnych (HOMO) oraz najniższych nieobsadzonych orbitali molekularnych (LUMO) dla 1MeFR oraz 3MeFR, głównie zaangażowanych w najniższe energetycznie przejścia singlet \rightarrow singlet. Stopień zaangażowania orbitali HOMO \rightarrow LUMO podano (w %) na rysunku, B3LYP/6-31G(d).



Rysunek 82. Kształty orbitali dla 1MeFR, głównie zaangażowanych w przejścia $S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$ i $S_0 \rightarrow S_3$. Procent zaangażowania danych orbitali w przejścia $S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$ i $S_0 \rightarrow S_3$ został podany na rysunku, B3LYP/6-31G(d).

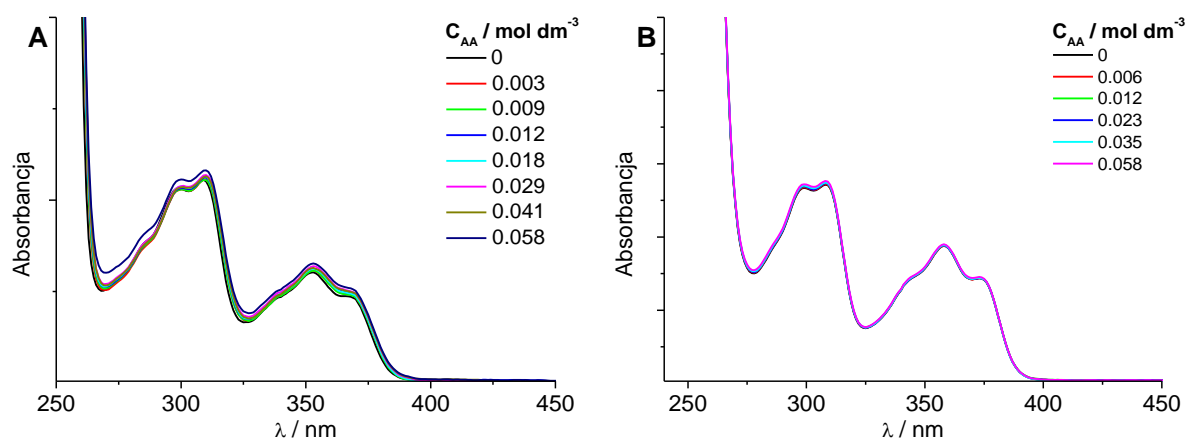
4.4. Reakcja podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym dla pochodnych 5-deazaalloksazyny oraz alloksazyn: 1MeFR i 3MeFR

Zgodnie z informacjami przytoczonymi w części literaturowej, reakcja podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym w obecności związków zdolnych do tworzenia wiązań wodorowych, takich jak kwas octowy lub pirydyna, jest jedną z najważniejszych reakcji fotochemicznych dla związków o strukturze alloksazynowej. Wydaje się uzasadnionym odpowiedź na pytanie, w jaki sposób zachowują się w tych warunkach badane obecnie pochodne 5DAI1 oraz AI1: 1MeFR i 3MeFR. W związku tym przeprowadzono eksperymenty z zastosowaniem: 5DAI1 i 13Me-5DAI1 oraz 1MeFR i 3MeFR w DCM, w czasie których, przy wykorzystaniu spektroskopii absorpcyjno-emisyjnej, tak stacjonarnej jak i czasowo rozdzielczej podjęta została próba odpowiedzi na postawione pytanie. Wybór cząsteczek podyktowany jest faktem, iż zgodnie z doniesieniami literaturowymi (33,111,122) reakcja podwójnego przeniesienia protonu może odbywać się wyłącznie dla cząsteczek, które nie posiadają podstawników przy atomach N(1) oraz N(10). W tym kontekście, potencjalnie omawiana reakcja fotochemiczna może zachodzić dla 5DAI1 oraz 3MeFR, a nie powinny jej ulegać: 13Me-5DAI1 oraz 1MeFR. W poniższych podrozdziałach przedstawiono dyskusję związaną z problemem reakcji podwójnego przeniesienia protonu dla pochodnych 5DAI1, a następnie dla 1MeFR i 3MeFR.

4.4.1. Widma absorpcji, emisji oraz synchroniczne dla 5-deazaalloksazyny oraz 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny w dichlorometanie w obecności kwasu octowego

Na **Rysunku 83** przedstawiono widma absorpcji 5DAI1 oraz 13Me-5DAI1 w DCM w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego (C_{AA}). Na podkreślenie zasługuje fakt, iż dla obydwu cząsteczek zarejestrowane widma absorpcji w DCM mają ten sam kształt i usytuowanie maksimów absorpcji dla dwóch rozdzielonych pasm absorpcji w długofalowej części widma. Ponadto nie obserwuje się powstania dodatkowych pasm absorpcji (zwłaszcza dla 5DAI1) w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego. Maksima długofalowych pasm absorpcji są zlokalizowane odpowiednio przy: 310 nm i 353 nm (5DAI1) oraz 308 nm i 358 nm (13Me-5DAI1). W widmach absorpcji 5DAI1, w miarę wzrastającego stężenia kwasu octowego notuje się niewielki wzrost absorbancji (podobny efekt nie jest obserwowany dla 13Me-5DAI1). Zgodnie z doniesieniami literaturowymi, może być to spowodowane tworzeniem się wiązań wodorowych w stanie podstawowym pomiędzy cząsteczką 5DAI1 a kwasem octowym, w

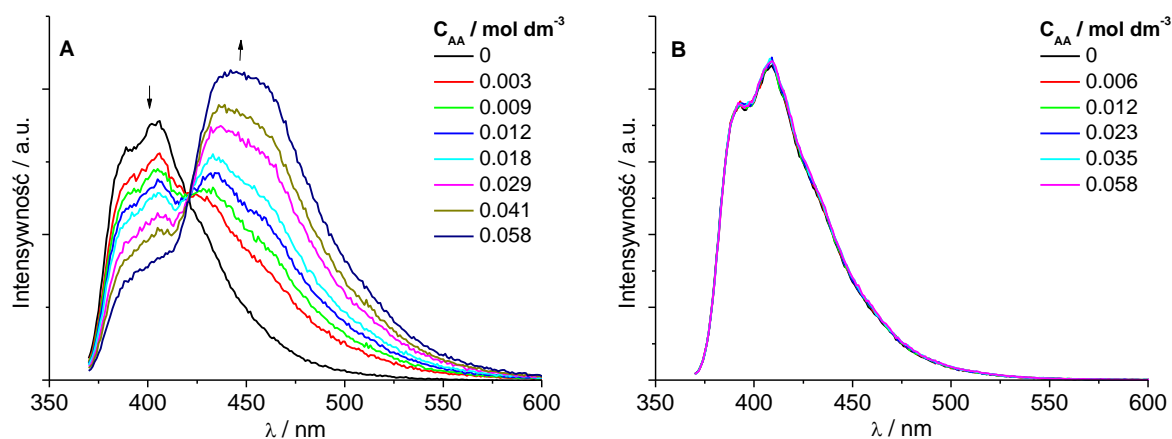
tworzenie których są zaangażowane: atom azotu N(10) oraz ugrupowanie N(1)-H, jak również ugrupowanie N(3)-H z karbonylowymi atomami tlenu znajdującymi się przy atomach węgla C(2) oraz C(4) (148). Przeprowadzone obliczenia wskazują, iż geometria kompleksów 5DAll : kwas octowy wynosi 1:1 (148). W ten sposób można również wyjaśnić brak omawianych zmian w widmach absorpcji 13Me-5DAll, gdzie z powodu zablokowania atomów azotu N(1) oraz N(3) przez grupy metylowe, wspomniane zjawisko tworzenia wiązań wodorowych pomiędzy 13Me-5DAll a kwasem octowym nie może występować.



Rysunek 83. Widma absorpcji **A:** 5DAll oraz **B:** 13Me-5DAll w DCM w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego (C_{AA}), na podstawie (148).

Bardziej istotne zmiany są notowane w widmach emisji 5DAll w DCM, w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego. Widma emisji 5DAll oraz 13Me-5DAll w DCM w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego ($\lambda_{exc} = 360$ nm) zostały przedstawione na **Rysunku 84**. Widmo emisji 5DAll w DCM posiada maksimum przy 402 nm, którego intensywność stopniowo maleje w czasie wzrastającego stężenia kwasu octowego. W tym samym momencie, w miarę wzrastającego stężenia kwasu octowego powstaje nowe pasmo emisji, którego maksimum jest zlokalizowane przy 442 nm i którego intensywność stopniowo rośnie. Porównując widma emisji 10Et-5DIzoAll, przedstawione w *podrozdziale 4.1.5.*, można wnioskować, iż nowo powstające, długofalowe pasmo emisji jest związane z uformowaniem tautomerycznej formy izoalloksazynowej, jako efekt przeniesienia protonu z atomu azotu N(1) na N(10) w procesie, który jest katalizowany przez kwas octowy oraz powstaniem struktury izoalloksazynowej. Jednocześnie, z przedstawionych na **Rysunku 84** widm emisji 13Me-5DAll zarejestrowanych w tych samych warunkach eksperymentalnych, jakie zastosowano dla 5DAll można przypuszczać, iż reakcja podwójnego przeniesienia protonu w tym przypadku nie zachodzi - nie obserwuje się żadnych zmian (zarówno w

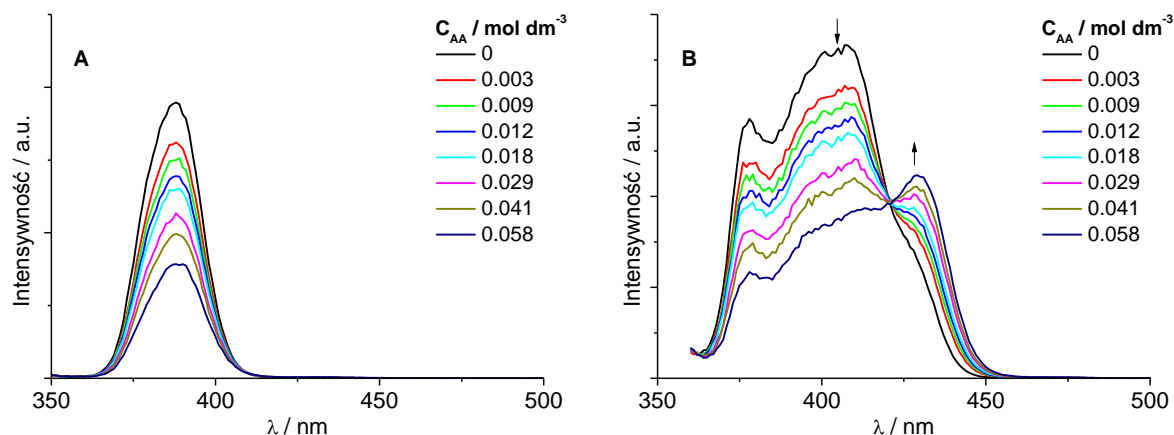
przebiegu, jak i intensywności) w widmach emisji w miarę wzrastającego stężenia kwasu octowego. Jest to również pośredni dowód, iż głównym miejscem pochodnych 5DA11 zaangażowania w proces przeniesienia protonu jest ugrupowanie N(1)-H. Ze względu na podstawienie N(1) w 13Me-5DA11 przez grupę metylową, nie obserwuje się zachodzenia tej reakcji. Należy podkreślić, iż model przedstawionej reakcji dla pochodnych 5DA11 nie odbiega od znanego dla alloksazyn (33).



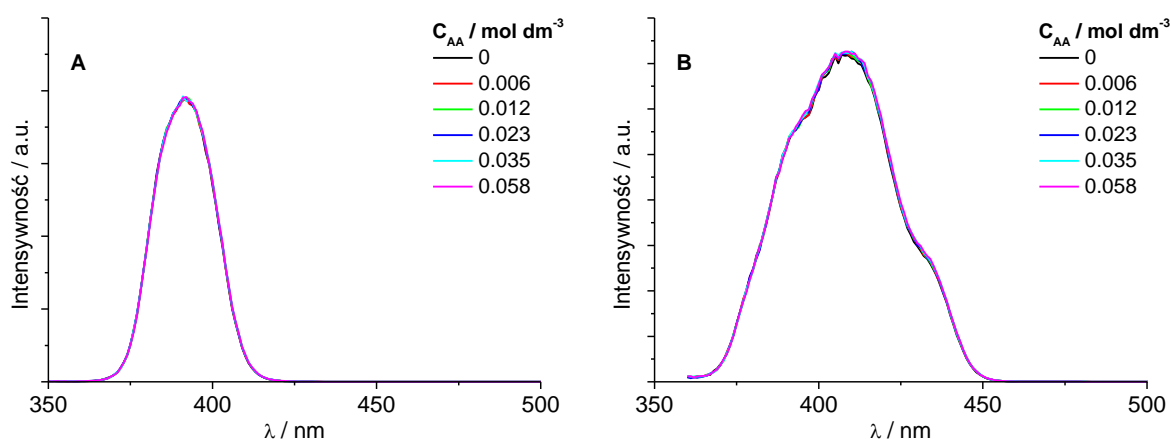
Rysunek 84. Widma emisji **A:** 5DA11 oraz **B:** 13Me-5DA11 w DCM w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego (C_{AA}), $\lambda_{exc} = 360$ nm, na podstawie (148).

Ciekawe informacje wypływają również z przedstawionych na **Rysunku 85** widm synchronicznych zarejestrowanych dla 5DA11 w DCM w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego przy zastosowaniu $\Delta\lambda = 20$ nm oraz 60 nm. Dla $\Delta\lambda = 20$ nm obserwuje się obecność jednego pasma, którego intensywność maleje w miarę wzrostu stężenia kwasu octowego, którego maksimum jest zlokalizowane przy około 388 nm. Z kolei zastosowanie $\Delta\lambda = 60$ nm skutkuje wyodrębnieniem dwóch pasm - krótkofalowego z wyodrębnioną strukturą i maksimum przy około 407 nm, którego intensywność maleje w miarę wzrostu stężenia kwasu octowego oraz długofalowego, którego maksimum jest położone przy około 429 nm, tutaj obserwuje się wzrost intensywności w miarę wzrostu stężenia kwasu octowego. Przyczyny różnic w przebiegu widma synchronicznych w zależności od zastosowanego $\Delta\lambda$ można upatrywać się w różnych wartościach przesunięcia Stokesa pomiędzy maksimum długofalowego pasma absorpcji a maksimum emisji odpowiednio formy 5-dezaalloksazynowej oraz 5-deazaizoalloksazynowej. W pierwszym przypadku przesunięcia Stokesa jest mniejsze niż w drugim, stąd aby zobaczyć pasmo pochodzące od formy izoalloksazynowej należy zastosować pomiar z większą wartością $\Delta\lambda$. Przedstawione widma synchroniczne dla 13Me-5DA11 w DCM w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego

nie przedstawiają żadnych różnic, niezależnie od zastosowanego $\Delta\lambda$ (**Rysunek 86**), podobnie jak to miało miejsce w widmach emisji tej cząsteczki rejestrowanych w tych samych warunkach eksperymentalnych.



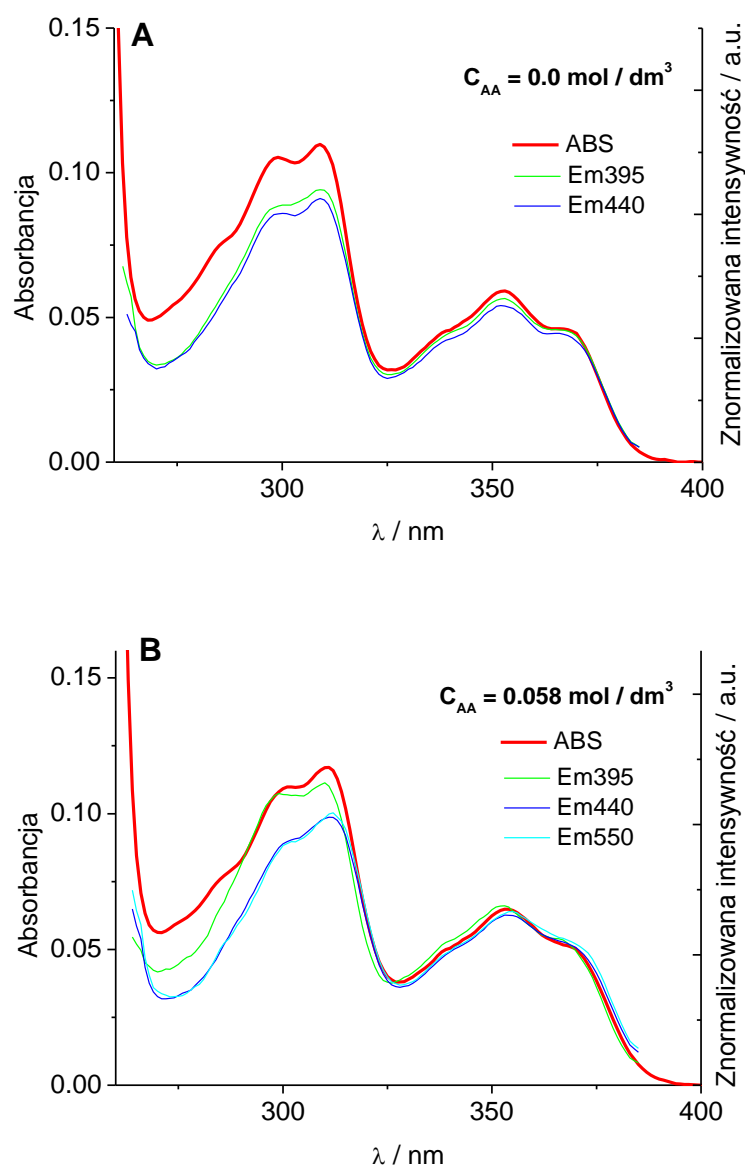
Rysunek 85. Widma synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej dla 5DAII w DCM **A:** $\Delta\lambda = 20$ nm oraz **B:** $\Delta\lambda = 60$ nm w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego (C_{AA}), na podstawie (148).



Rysunek 86. Widma synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej dla 13Me-5DAII w DCM **A:** $\Delta\lambda = 20$ nm oraz **B:** $\Delta\lambda = 60$ nm w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego (C_{AA}), na podstawie (148).

Na **Rysunku 87** przedstawiono porównanie widm absorpcji: z widmami wzbudzenia obserwowanymi przy $\lambda_{em} = 395$ nm oraz 440 nm dla 5DAII w DCM w nieobecności kwasu octowego oraz widm wzbudzenia przy $\lambda_{em} = 395$ nm, 440 nm oraz 550 nm przy maksymalnym stężeniu kwasu octowego w stosowanych eksperymentach (0.058 M). W obydwu przypadkach widma wzbudzenia dobrze odzwierciedlają widma absorpcji szczególnie w zakresie od 325 nm do 390 nm, niezależnie od zastosowanej λ_{em} . Jest to kolejny dowód, iż izoalloksazynowa forma tworzy się dopiero w stanie wzbudzonym i nie jest

obecna w stanie podstawowym. Ponadto z przedstawionych danych na **Rysunku 87** stwierdza się brak pełnej zgodności pomiędzy widmem absorpcji a widmami wzbudzenia (zarejestrowanymi przy każdej λ_{em}) w obydwu przypadkach poniżej 320 nm. Zgodnie z przeprowadzonym eksperymentem dotyczącym wyznaczenia względnej wydajności kwantowej fluorescencji i opisanym w pracy (148), jest to związane z zależnością wydajności kwantowej fluorescencji od λ_{exc} . Przy zastosowaniu jako $\lambda_{exc} > 325$ nm wydajność kwantowa fluorescencji utrzymuje się na stałym poziomie, natomiast w sytuacji gdy $\lambda_{exc} < 325$ nm względna wydajność kwantowa fluorescencji ulega obniżeniu.



Rysunek 87. Widma wzbudzenia 5-deazaalloksazyny w dichlorometanie **A** - w nieobecności kwasu octowego, $\lambda_{em} = 395$ nm i 440 nm; **B** - w obecności kwasu octowego ($C_{AA} = 0.058 \text{ mol / dm}^3$) $\lambda_{em} = 395$ nm, 440 nm i 550 nm, na podstawie (148).

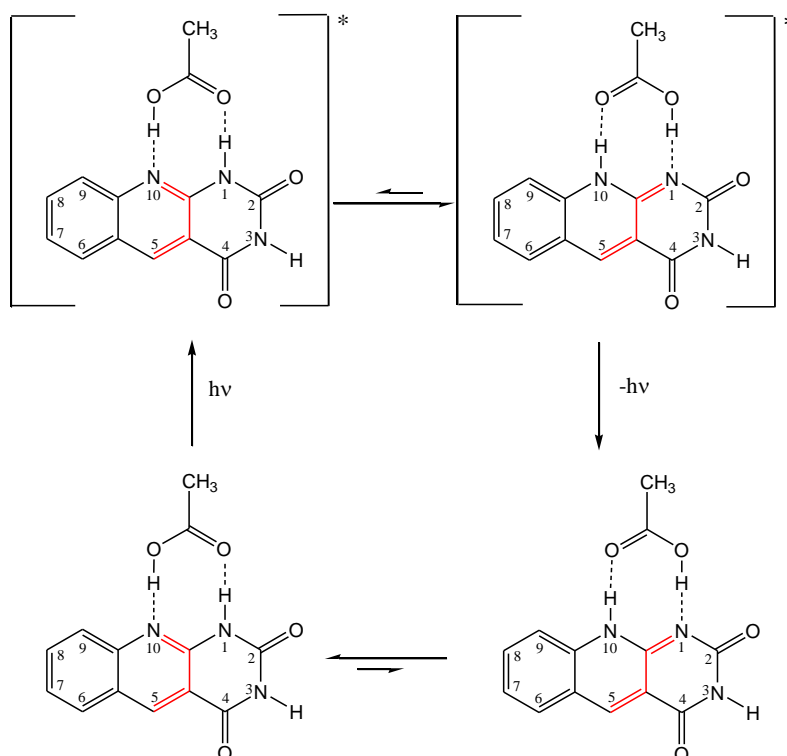
4.4.2. Czasy zaniku fluorescencji dla 5-dezaalloksazyny w dichlorometanie w obecności kwasu octowego

W Tabeli 41 zebrano rezultaty pomiarów czasowo-rozdzielczych i wyznaczone z nich wartości czasów życia fluorescencji (τ_F) zmierzone dla form izo- i alloksazynowej 5DAI w DCM przy różnych stężeniach kwasu octowego ($\lambda_{exc} = 360$ nm oraz $\lambda_{em} = 405$ nm, 440 nm i 500 nm). Zaniki zarejestrowane przy $\lambda_{em} = 405$ nm w zadowalającym stopniu opisuje funkcja monoeksponencjalna z czasem życia około 2.8 ns. Ta wartość jest bezpośrednio związana z emisją formy alloksazynowej 5DAI. Z kolei zaniki zarejestrowane przy $\lambda_{em} = 440$ nm oraz 500 nm zostały opisane przez funkcję bieksponencjalną, w której zaobserwowano udziały zaników zarówno formy alloksazynowej jak i izoalloksazynowej. Dla τ_1 (Tabela 41) krótszy czas wyznaczony przy tych długościach fali, zmieniający się od 2.1 ns do 3 ns (w zależności od stężenia kwasu octowego) można przypisać dla formy alloksazynowej. Udział tego składnika zmniejsza się w miarę wzrostu stężenia kwasu octowego. Odmienny trend został zanotowany dla τ_2 - w tym przypadku czas zmienia się od 3.5 ns do 4 ns (w zależności od stężenia kwasu octowego), a procentowy udział tego składnika wzrasta w miarę wzrostu stężenia kwasu octowego. Stąd zarejestrowana wartość jest charakterystyczna dla formy izoalloksazynowej obecnej w roztworze. Wyniki pomiarów czasowo-rozdzielczych bardzo dobrze korelują się z wcześniej przedstawionymi rezultatami pomiarów stacjonarnych.

Tabela 41. Czasy życia fluorescencji (τ_F) zmierzone dla form izo- i alloksazynowej 5DAI w DCM przy różnych stężeniach kwasu octowego ($\lambda_{exc} = 360$ nm oraz $\lambda_{em} = 405$ nm, 440 nm i 500 nm), na podstawie (148).

C_{AA} (mol / dm^3)	405 nm		440 nm			500 nm		
	τ_F / ns		τ_1 / ns	τ_2 / ns		τ_1 / ns	τ_2 / ns	
	forma All (%)	χ^2	forma All (%)	forma IzoAll (%)	χ^2	forma All (%)	forma IzoAll (%)	χ^2
0	2.8 (100)	1.05	-	-	-	-	-	-
0.012	2.8 (100)	1.07	2.5 (42)	3.6 (58)	1.02	2.6 (27)	3.9 (73)	1.08
0.023	2.8 (100)	1.06	2.5 (37)	3.7 (63)	1.08	3.0 (17)	4.0 (83)	1.07
0.041	2.7 (100)	1.09	2.1 (20)	3.5 (80)	1.01	3.0 (6)	3.8 (94)	1.05

Uwzględniając przedstawione powyżej dane pochodzące z pomiarów stacjonarnych oraz czasowo-rozdzielczych, postulowany mechanizm reakcji podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym dla 5DAI w DCM w obecności kwasu octowego został przedstawiony na Rysunku 88.

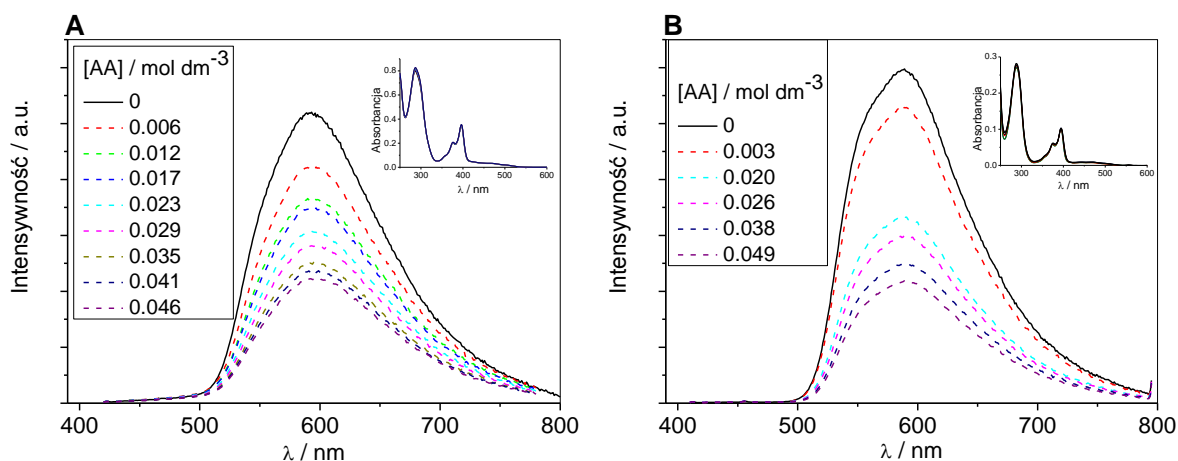


Rysunek 88. Mechanizm reakcji podwójnego przeniesienia protonu dla 5DA11 w DCM w obecności kwasu octowego prowadzący do powstania struktury 5-deazaizoalloksazynowej

4.4.3. Widma absorpcji, emisji oraz czasy zaniku fluorescencji dla 1MeFR i 3MeFR w DCM w obecności kwasu octowego

Badania procesów potencjalnej tautomeryzacji alloksazynowo - izoalloksazynowej zostały przeprowadzone również dla obydwu badanych alloksazyn o budowie czteropierścieniowej. Badania eksperymentalne przeprowadzono w dichlorometanie w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego. Zgodnie z informacjami przytoczonymi w części literaturowej dla klasycznych trójpierścieniowych alloksazyn oraz omówionymi w poprzednim podrozdziale 5-deazaalloksazynami, dla cząsteczek, które są niepodstawione grupami alkilowymi w pozycji N(1), w obecności związków zdolnych do tworzenia wiązań wodorowych takich jak kwas octowy lub pirydyna, zachodzi w stanie wzbudzonym proces tautomeryzacji, który objawia się wykształceniem nowego pasma w widmie emisji, którego intensywność wzrasta wraz ze wzrostem stężenia kwasu octowego wraz z jednoczesnym obniżaniem intensywności emisji pochodzącej od formy alloksazynowej. Pochodne alloksazyny, które są podstawione grupami alkilowymi przy atomie N(1) nie ulegają omawianemu procesowi tautomeryzacji. Badane alloksazyny: 1MeFR i 3MeFR wykazują jednak odmienne zachowanie w porównaniu do typowego modelu, który jest znany dla innych alloksazyn. Widma absorpcji i emisji związków 1MeFR oraz 3MeFR w DCM w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego

zostały przedstawione na **Rysunku 89**. W przedstawionych widmach absorpcji obydwu związków nie obserwuje się żadnych zmian pod wpływem wzrastającego stężenia kwasu octowego. W związku z tym, prawdopodobnie czteropierścieniowe, monometylowe alloksazyny nie tworzą kompleksów z kwasem octowym podobnych do tych, które tworzył lumichrom z kwasami karboksylowymi (122). Analiza widm emisji związków 1MeFR i 3MeFR w dichlorometanie w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego wskazuje, iż w miarę wzrastającego stężenia kwasu octowego następuje obniżenie intensywności emisji, jednak nie pojawia się żadne dodatkowe pasmo emisji w długofalowej części widma. Jest to dość zaskakujące zachowanie, zwłaszcza dla związku 1MeFR, który posiada zablokowany przez grupę metylową atom azotu N(1). Widma absorpcji i wzbudzenia zarejestrowane przy $\lambda_{em} = 620$ nm dla każdego stężenia kwasu octowego pokrywają się ze sobą w całym zakresie spektralnym.



Rysunek 89. Widma emisji związków 1MeFR (**A**) oraz 3MeFR (**B**) w dichlorometanie wraz ze wzrastającym stężeniem kwasu octowego ($\lambda_{exc} = 375$ nm), wstawka: widma absorpcji związków 1MeFR (**A**) i 3MeFR (**B**) wraz ze wzrastającym stężeniem kwasu octowego

Rezultaty pomiarów czasowo-rozdzielczych dla związków 1MeFR oraz 3MeFR w dichlorometanie w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego zawarto w **Tabeli 42**. Zaniki fluorescencji zostały zmierzone przy $\lambda_{exc} = 368$ nm oraz $\lambda_{em} = 590$ nm, opisuje zadowalająco funkcja monowkładnicza dla każdego stężenia kwasu octowego. Wyznaczone czasy życia fluorescencji (τ_F) dla związku 1MeFR zmieniają się od 25.9 ns (0 M C_{AA}) do 10.7 ns (0.046 M C_{AA}). Podobnie, dla 3MeFR w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego obserwuje się zmianę τ_F od 33.7 ns (0 M C_{AA}) do 14.2 ns (0.049 M C_{AA}). Skracający się czas życia fluorescencji związków 1MeFR i 3MeFR w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego koreluje z obniżeniem intensywności fluorescencji.

Tabela 42. Czas życia fluorescencji, τ_F , dla związków 1MeFR i 3MeFR w dichlorometanie wraz ze wzrastającym stężeniem kwasu octowego [AA]; zarejestrowane przy $\lambda_{exc} = 368$ nm; $\lambda_{em} = 590$ nm.

Związek	[AA] / mol \times dm ⁻³	τ_F / ns	χ^2
1MeFR	0.000	25.9	1.14
	0.006	20.6	1.07
	0.012	17.1	1.11
	0.017	15.8	1.21
	0.023	14.9	1.19
	0.029	13.6	1.16
	0.035	12.4	1.08
	0.041	11.4	1.10
	0.046	10.7	1.12
3MeFR	0.000	33.7	1.27
	0.003	32.2	1.12
	0.020	20.1	1.21
	0.026	18.6	1.17
	0.038	15.6	1.11
	0.049	14.2	1.09

Wykorzystując równania Sterna-Volmera oraz badania stacjonarne i czasowo-rozdzielcze dla 1MeFR i 3MeFR w dichlorometanie w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego wykreślone zostały proste przedstawiające wygaszanie fluorescencji 1MeFR i 3MeFR w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego. Odpowiednie wykresy zostały przedstawione na **Rysunku 90**. Zgodnie z poniższymi równaniami (**15** i **16**) zostały wyliczone: stała szybkości procesu wygaszania (k_q) oraz stała Sterna-Volmera (K_{SV}).

$$\frac{I_0}{I} = 1 + k_q \tau_F^0 [AA] \quad (15)$$

$$\frac{\tau_F^0}{\tau_F} = 1 + k_q \tau_F^0 [AA] \quad (16)$$

gdzie:

I_0 - intensywność fluorescencji w nieobecności wygaszacza (kwas octowy),

I - intensywność fluorescencji w obecności wygaszacza (kwas octowy),

k_q - stała szybkości procesu wygaszania

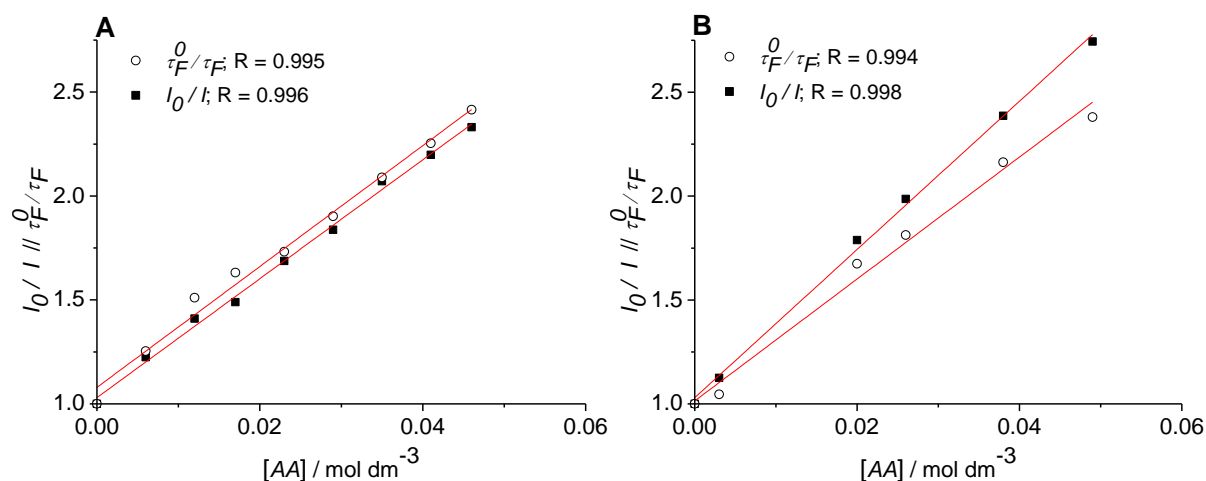
τ_F^0 - czas życia fluorescencji w nieobecności wygaszacza (kwas octowy),

τ_F - czas życia fluorescencji w obecności wygaszacza (kwas octowy),

$[AA]$ - stężenie wygaszacza - kwasu octowego (w mol/dm³)

równanie pozwalające wyznaczyć stałą Sterna - Volmera (K_{SV}):

$$k_q \tau_F^0 = K_{SV} \quad (17)$$



Rysunek 90. Wygaszanie fluorescencji na podstawie eksperymentów stacjonarnych i czasowo-rozdzielczych, opracowane z zależności Sterna-Volmera dla związku 1MeFR (A) i 3MeFR (B) w dichlorometanie w obecności kwasu octowego; współczynniki korelacji podano na Rysunkach.

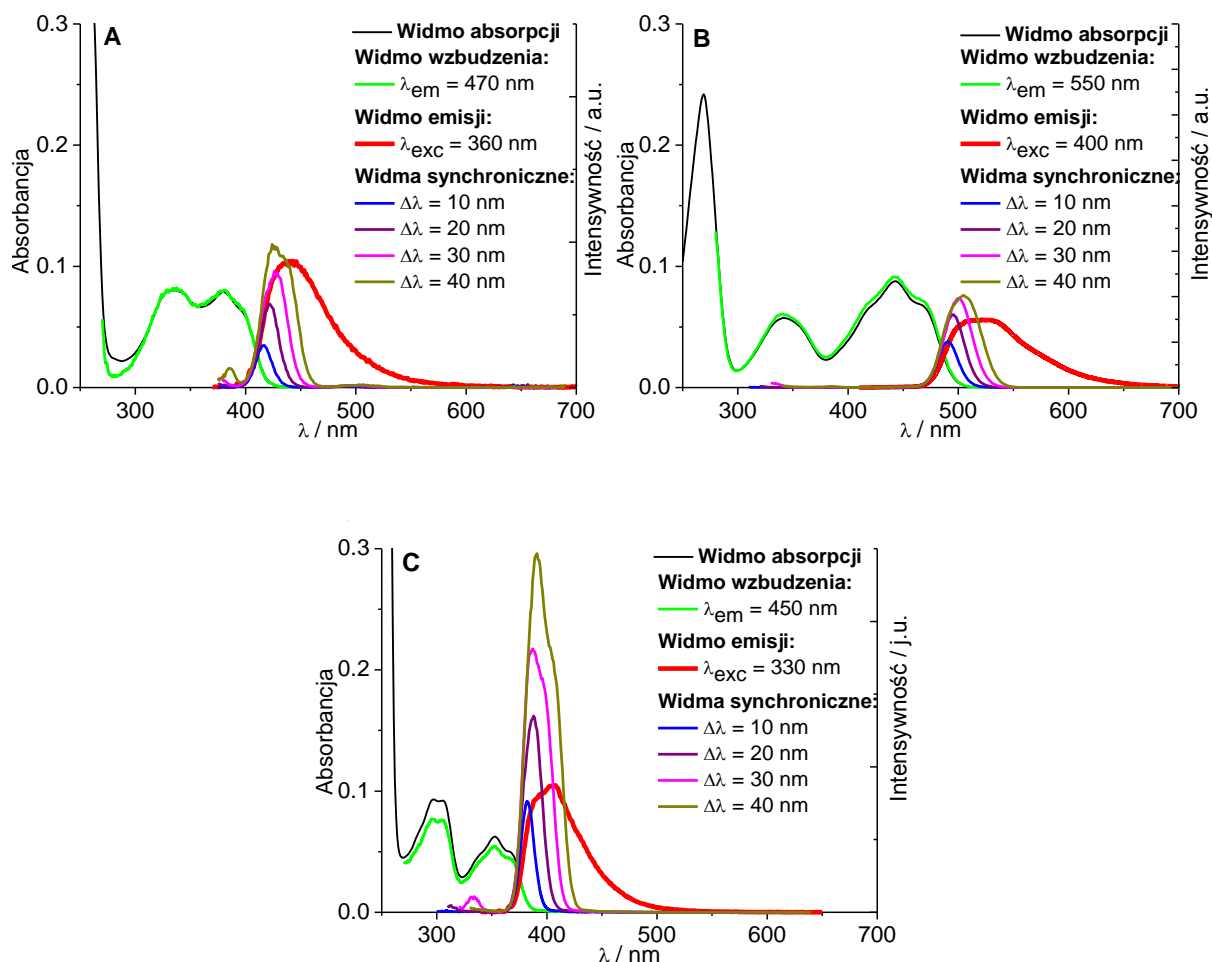
Uzyskane wartości stałej Sterna - Volmera dla związku 1MeFR z pomiarów stacjonarnych wynosi: $K_{SV1} = (28.6 \pm 0.6) \text{ mol}^{-1}$ i z danych czasowo - rozdzielczych: $K_{SV2} = (29.1 \pm 1.1) \text{ mol}^{-1}$. Podobnie, wyznaczono wartości stałej Sterna - Volmera dla związku 3MeFR z pomiarów stacjonarnych i czasowo - rozdzielczych wynoszą odpowiednio: $(35.7 \pm 0.8) \text{ mol}^{-1}$ i $(29.3 \pm 1.5) \text{ mol}^{-1}$. Wartości stałych szybkości procesu wygaszania dla związku 3MeFR wynoszą odpowiednio: z pomiarów stacjonarnych ($k_{q1} = 1.06 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$) oraz z danych czasowo rozdzielczych ($k_{q2} = 8.7 \times 10^8 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Dla związku 1MeFR wyznaczone wartości stałych szybkości procesów wygaszania są identyczne, zarówno z pomiarów stacjonarnych, jak i czasowo - rozdzielczych, i wynoszą: $1.1 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ($k_{q1} = k_{q2}$). Wyznaczone wartości stałych szybkości procesów wygaszania fluorescencji związków 1MeFR i 3MeFR w dichlorometanie w obecności wzrastającego stężenia kwasu octowego oraz stałe Sterna - Volmera z pomiarów stacjonarnych i czasowo - rozdzielczych pozostają w dobrej wzajemnej korelacji. Rząd wielkości stałych szybkości procesów wygaszania wskazuje, iż proces jest kontrolowany przez dyfuzję.

4.5. Widma synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej (SSF) oraz całkowitej fluorescencji flawin

Zalety wykorzystania widm synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej (SSF), które omówiono w części literaturowej, do których zalicza się zwiększoną czułość i selektywność w porównaniu do klasycznych widm fluorescencji oraz widm wzbudzenia, zostały zobrazowane w badaniach mieszanin składających się z wybranych pochodnych flawin i 5-deazaflawin. W pierwszym etapie przedstawiono widma czystych składników (lumichrom, lumiflawina oraz 5-deazaalloksazyna), następnie z wykorzystaniem tych cząsteczek sporządzono mieszaniny: 5-deazaalloksazyny z lumichromem (dwuskładnikowa) oraz w końcowym etapie, poprzez dodatek lumiflawiny, otrzymano mieszaninę trójskładnikową. Uzupełnieniem widm absorpcji, emisji, wzbudzenia oraz w szczególności synchronicznych stały się widma całkowitej fluorescencji.

4.5.1. Lumichrom, lumiflawina, 5-deazaalloksazyna

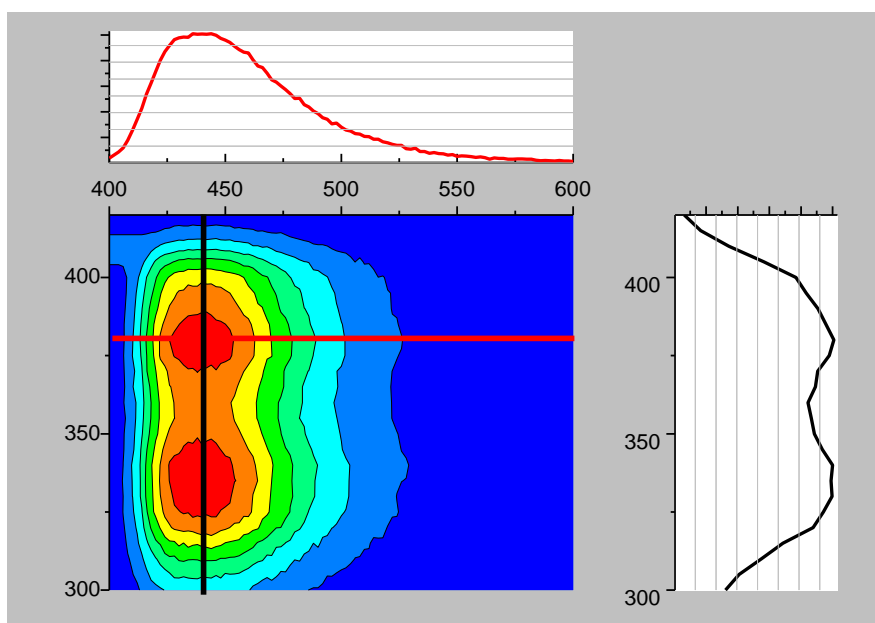
Rysunek 91A zawiera zestawienia widm: absorpcji, wzbudzenia ($\lambda_{em} = 470 \text{ nm}$), emisji ($\lambda_{exc} = 360 \text{ nm}$) oraz synchroniczne ($\Delta\lambda = 10 \text{ nm}, 20 \text{ nm}, 30 \text{ nm}$ i 40 nm) dla LChr w ACN. Na **Rysunku 91B** zawarto dane dla LFI w ACN, odpowiednio: widmo absorpcji, wzbudzenia ($\lambda_{em} = 550 \text{ nm}$), emisji ($\lambda_{exc} = 400 \text{ nm}$) oraz synchroniczne ($\Delta\lambda = 10 \text{ nm}, 20 \text{ nm}, 30 \text{ nm}$ i 40 nm), natomiast na **Rysunku 91C** przedstawiono: widmo absorpcji, wzbudzenia ($\lambda_{em} = 450 \text{ nm}$), emisji ($\lambda_{exc} = 330 \text{ nm}$) oraz synchroniczne ($\Delta\lambda = 10 \text{ nm}, 20 \text{ nm}, 30 \text{ nm}$ i 40 nm) dla 5DAII w ACN. Widma wzbudzenia porównane z widmami absorpcji wskazują na dobrą zgodność praktycznie w całym zakresie spektralnym. W widmach emisji, cechą wspólną wszystkich trzech związków jest obecność jednego pasma, których maksima są zlokalizowane odpowiednio przy 443 nm (LChr), 521 nm (LFI) oraz 406 nm (5DAII). Kolejnym faktem, który potwierdza, iż w każdym przypadku mamy do czynienia z prostym układem, w którym indywiduum absorbujące promieniowanie jest jednocześnie tym samym, które fluoryzuje, są zarejestrowane widma SSF (**Rysunek 91**) zarejestrowane przy różnych wartościach $\Delta\lambda$. Niezależnie od zastosowanego $\Delta\lambda$, w każdym przypadku obserwuje się jedno pasmo. Do dalszych celów analitycznych zostały wybrane widma SSF LChr, LFI i 5DAII zarejestrowane przy $\Delta\lambda = 20 \text{ nm}$.



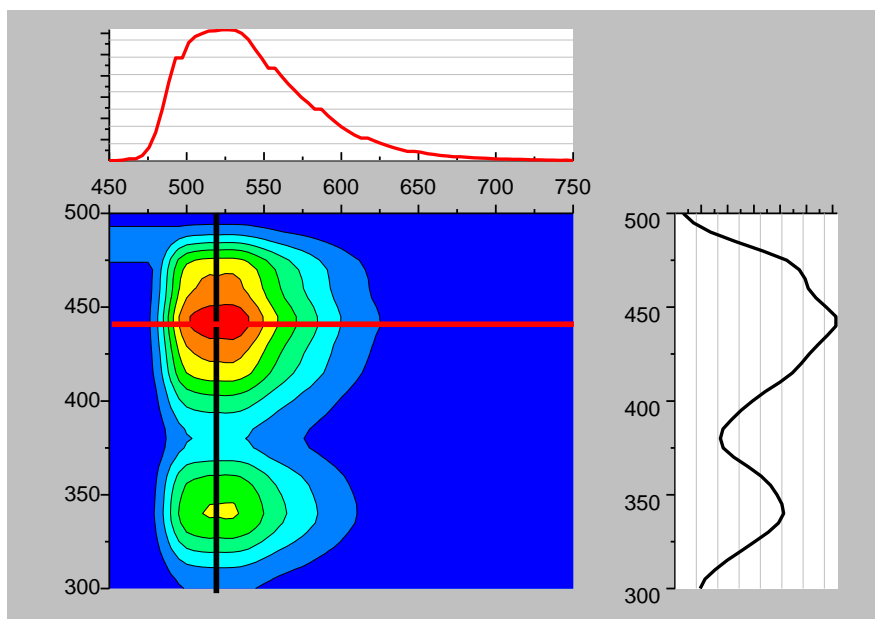
Rysunek 91. Widmo absorpcji, emisji [$\lambda_{\text{exc}} = 360$ nm (A), 400 nm (B), 330 nm (C)], wzbudzenia [$\lambda_{\text{em}} = 470$ nm (A), 550 nm (B), 450 nm (C)] oraz synchroniczne ($\Delta\lambda = 10$ nm, 20 nm, 30 nm oraz 40 nm) dla lumichromu (A), lumiflawiny (B) oraz 5-deazaalloksazyny (C) w acetonitrylu

Rysunki: 92, 93 i 94 przedstawiają widma całkowitej fluorescencji zarejestrowane odpowiednio dla LChr, LFl i 5DA11 w ACN. Całkowita fluorescencja dla LChr w ACN jest skoncentrowana pomiędzy 410 nm a 525 nm w skali emisji z maksimum zlokalizowanym przy około 440 nm. Kształty wyznaczonych widm: emisji ($\lambda_{\text{exc}} = 380$ nm) oraz wzbudzenia ($\lambda_{\text{em}} = 440$ nm) z widma całkowitej fluorescencji są praktycznie jednakowe w porównaniu do danych przedstawionych na **Rysunku 91A**. Z kolei dla LFl w ACN stwierdzono, iż fluorescencja tej cząsteczki zlokalizowana jest pomiędzy 460 nm a 625 nm z maksimum położonym przy około 525 nm. Wyznaczono, z widma całkowitej fluorescencji, odpowiednio punktowe widma: emisji ($\lambda_{\text{exc}} = 380$ nm) oraz wzbudzenia ($\lambda_{\text{em}} = 440$ nm), które odpowiadają kształtem danym przedstawionym dla lumiflawiny na **Rysunku 91B**. Podobne rezultaty otrzymano dla 5DA11 w ACN, mianowicie wyznaczone punktowo z widma całkowitej

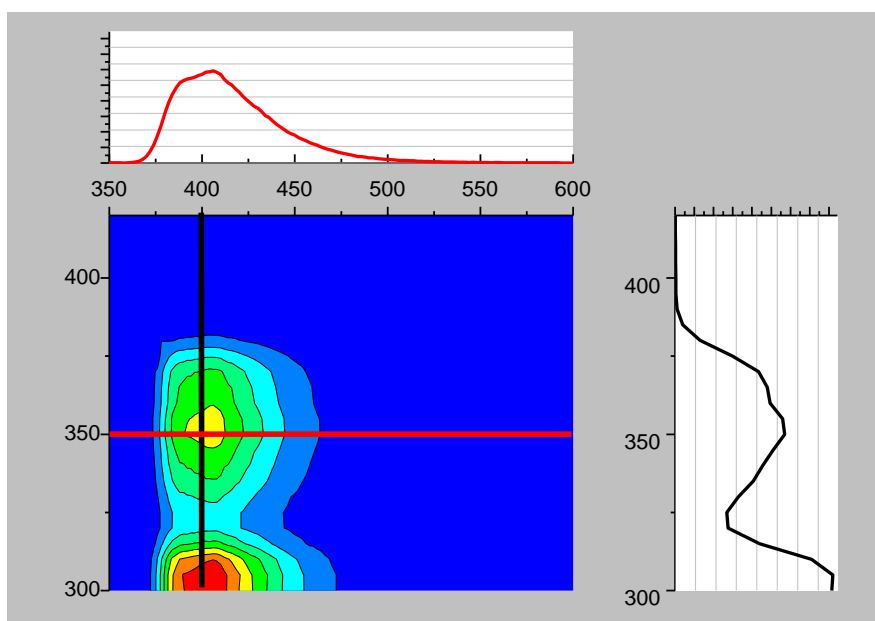
fluorescencji, widma emisji ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$) oraz wzbudzenia ($\lambda_{\text{em}} = 400 \text{ nm}$) odpowiadają kształtem oraz usytuowaniem maksimum danym dla 5DAll z **Rysunku 91C**. W tym przypadku całkowita fluorescencja koncentruje się pomiędzy 375 nm a 475 nm z maksimum zlokalizowanym przy około 410 nm. Bez wątpienia, zaletą prezentowanych widm całkowitej fluorescencji jest możliwość utworzenia z nich swego rodzaju "odcisku palca" dla każdej fluoryzującej cząsteczki obecnej, na przykład w układach biologicznych, głównie ze względu na mnogość informacji związanych z charakterem intensywności emisji względem zastosowanej długości fali wzbudzenia oraz określeniu charakterystycznych obszarów fluorescencji dla danej cząsteczki.



Rysunek 92. Widmo całkowitej fluorescencji lumichromu w acetonitrylu. Na górnym panelu przedstawiono widmo emisji wyznaczone przy $\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$ natomiast na bocznym panelu widmo wzbudzenia przy $\lambda_{\text{em}} = 440 \text{ nm}$



Rysunek 93. Widmo całkowitej fluorescencji lumiflawiny w acetonitrylu. Na górnym panelu przedstawiono widmo emisji wyznaczone przy $\lambda_{\text{exc}} = 440 \text{ nm}$ natomiast na bocznym panelu widmo wzbudzenia przy $\lambda_{\text{em}} = 520 \text{ nm}$

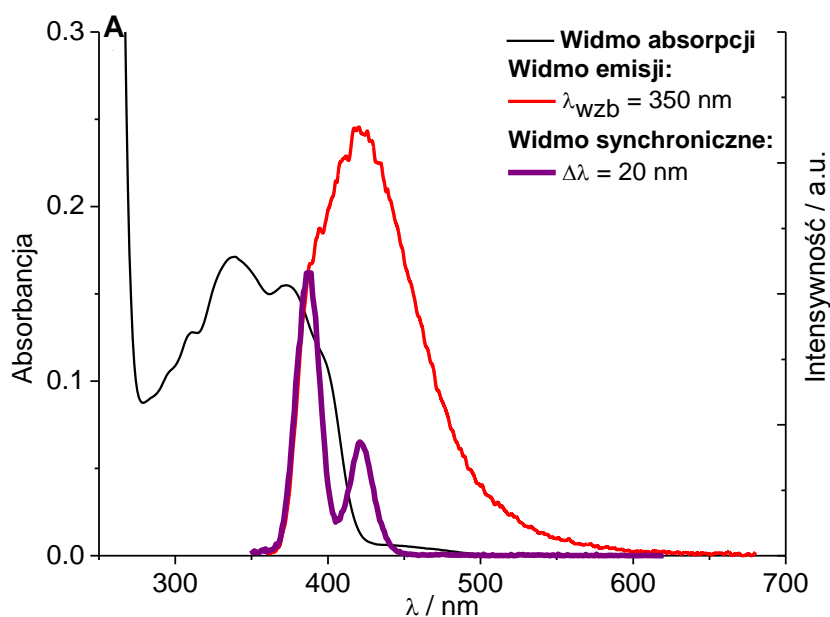


Rysunek 94. Widmo całkowitej fluorescencji 5-deazaalloksazyny w acetonitrylu. Na górnym panelu przedstawiono widmo emisji wyznaczone przy $\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$ natomiast na bocznym panelu widmo wzbudzenia przy $\lambda_{\text{em}} = 400 \text{ nm}$

4.5.2. Mieszanina dwuskładnikowa: 5-deazaalloksazyna i lumichrom

W kolejnym etapie została sporządzona mieszanina dwuskładnikowa składająca się z cząsteczek, które wykazują absorpcję oraz fluorescencję w stosunkowo zbliżonym obszarze, mianowicie zastosowano lumichrom oraz 5-deazaalloksazynę. Na **Rysunku 95**

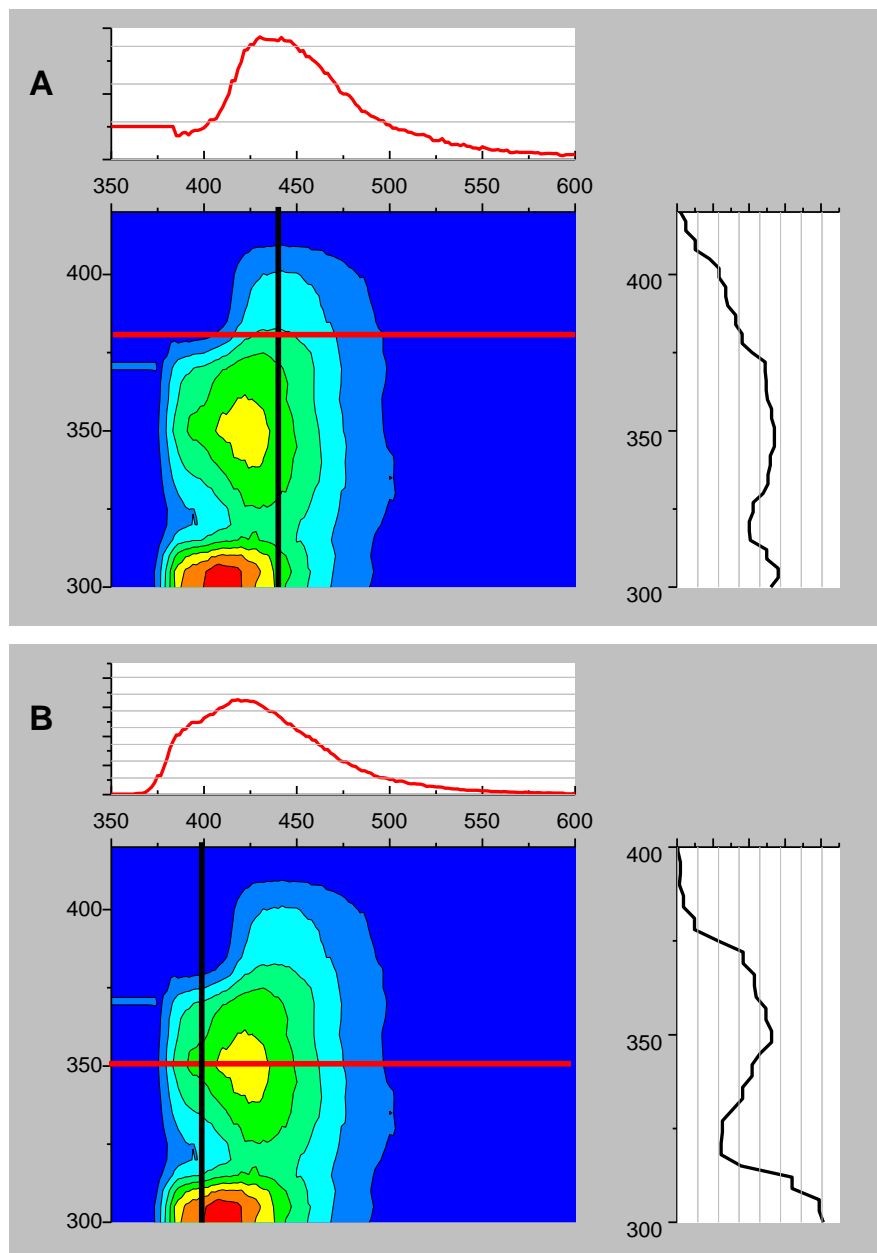
przedstawiono widmo absorpcji, emisji ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$) i synchroniczne $\Delta\lambda = 20 \text{ nm}$ dla sporządzonej mieszaniny dwuskładnikowej LChr i 5DA11. W tym przypadku, widmo absorpcji stanowi złożenie absorpcji obydwu substancji. W widmie emisji sporządzonej mieszaniny dwuskładnikowej ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$) obserwuje się powstanie jednego, szerokiego pasma, którego maksimum zlokalizowane jest przy 420 nm. W tym przypadku, pod szerokim pasmem emisji ukryte są fluorescencje dwóch różnych cząsteczek, jednakże pomimo zastosowania różnych długości fali promieniowania wzbudzającego rejestracja tradycyjnych widm emisji nie pozwala na jednoznaczną identyfikację dwóch niezależnych cząsteczek, ze względu na fakt, iż emitują one promieniowanie w bardzo podobnym zakresie (LChr - 443 nm, **Rysunek 91A**; 5DA11 - 406 nm, **Rysunek 91C**). W tym momencie niezbędnym okazuje się zastosowanie synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej, bowiem w widmie SSF (**Rysunek 95**) obserwuje się obecność dwóch pasm, których maksima zlokalizowane są przy 387 nm oraz 421 nm. Ze względu na położenie i szerokość spektralną widm, do celów analitycznych zastosowano $\Delta\lambda = 20 \text{ nm}$. Porównując te dane z informacjami przedstawionymi na **Rysunku 91A** oraz **91C** można jednoznacznie stwierdzić, iż pasmo krótkofalowe pochodzi od 5DA11, natomiast długofalowe od LChr.



Rysunek 95. Widmo absorpcji, emisji ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$) oraz synchroniczne ($\Delta\lambda = 20 \text{ nm}$) dla mieszaniny: lumichrom i 5-deazaalloksazyna (A).

Szereg bardzo interesujących informacji niesie ze sobą również rejestracja widma całkowitej fluorescencji (**Rysunek 96**). W tym przypadku całkowita fluorescencja jest skoncentrowana pomiędzy 375 nm a 500 nm z maksimum przy około 425 nm. Rejestracja punktowych widm emisji ($\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$ (A) oraz 350 nm (B) oddaje dokładnie ten sam kształt oraz usytuowanie

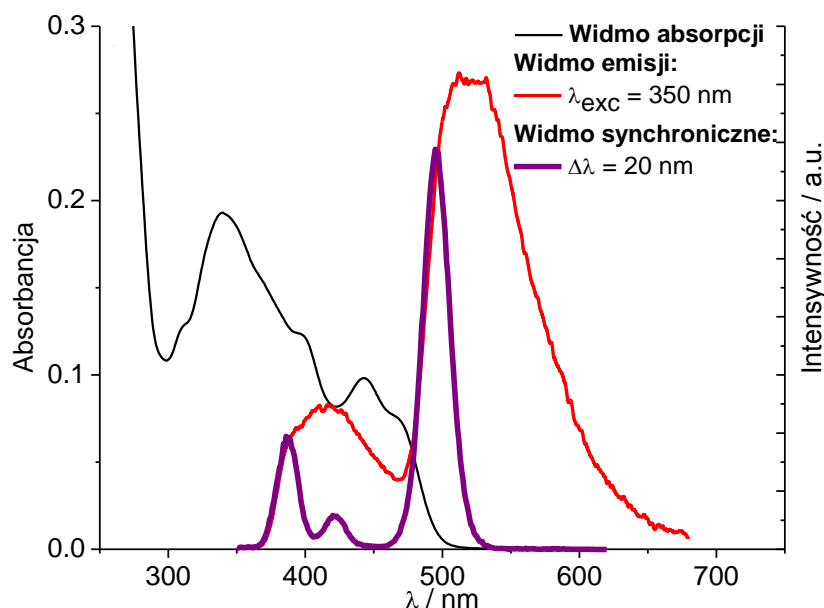
maksimum emisji w porównaniu do danych przedstawionych na **Rysunku 95**. Ciekawym wydaje się spojrzenie na wyznaczone widma wzbudzenia $\lambda_{em} = 440$ nm (**A**) oraz 400 nm (**B**). W obydwu przypadkach, kształt widm wzbudzenia oraz usytuowanie maksimum jest trudne do jednoznacznej interpretacji od którego ze składników one pochodzą.



Rysunek 96. Widmo całkowitej fluorescencji mieszaniny 5-dezaalloksazyny i lumichromu w acetonitrylu. Na górnych panelach przedstawiono widma emisji wyznaczone przy $\lambda_{exc} = 380$ nm (**A**) oraz 350 nm (**B**) natomiast na bocznych panelach widma wzbudzenia wyznaczone przy $\lambda_{em} = 440$ nm (**A**) oraz 400 nm (**B**)

4.5.3. Mieszanina trójskładnikowa: lumichrom, 5-dezaalloksazyna i lumiflawina

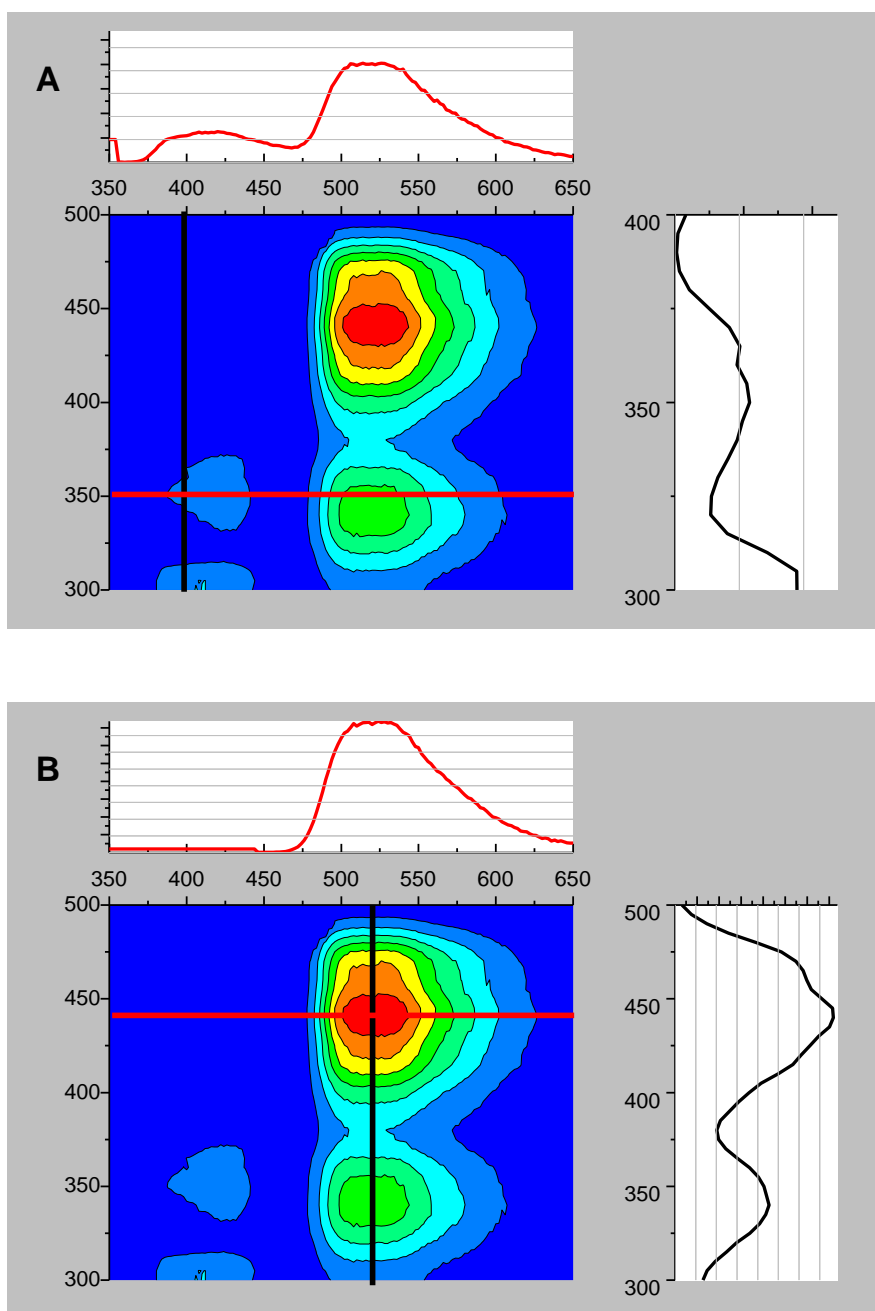
W ostatnim etapie została sporządzona mieszanina trójskładnikowa, która powstała poprzez uzupełnienie uprzednio badanej mieszaniny dwuskładnikowej o dodatkowy związek - lumiflawinę. Lumiflawina, jako przedstawiciel izoalloksazyn wykazuje wyraźnie batochromowo przesuniętą absorpcję oraz emisję w stosunku do lumichromu oraz 5-dezaalloksazyny. Na **Rysunku 97** przedstawiono widma: absorpcji, emisji ($\lambda_{exc} = 350$ nm) oraz synchroniczne ($\Delta\lambda = 20$ nm) badanej mieszaniny trójskładnikowej w ACN.



Rysunek 97. Widmo absorpcji, emisji ($\lambda_{exc} = 350$ nm) oraz synchroniczne ($\Delta\lambda = 20$ nm) dla mieszaniny: lumichrom, 5-dezaalloksazyna i lumiflawina w acetonitrylu

W widmie absorpcji można wyróżnić intensywne pasmo z maksimum przy około 350 nm, które odpowiada za złożenie absorpcji LChr i 5DAll oraz absorpcji LFl do wyższych stanów singletowych. Dodatkowo, odnotowuje się pasmo przy około 450 nm, które było nieobecne w mieszaninie dwuskładnikowej, a które odpowiada za długofalową absorpcję LFl. W widmie emisji obecne są dwa pasma, których maksima są zlokalizowane odpowiednio przy 420 nm oraz 521 nm. Pasma emisji z maksimum przy około 420 nm odpowiada za złożenie fluorescencji 5All oraz LChr, natomiast długofalowe pasmo odpowiada emisji LFl. Uwzględniając przedstawione dane z widm absorpcji i emisji mieszaniny nie można jednoznacznie określić jej składu. Jednoznaczny i dokładny obraz dotyczący składu mieszaniny przynosi synchroniczna spektroskopia fluorescencyjna. Stosując $\Delta\lambda = 20$ nm obserwujemy obecność trzech maksimów, odpowiednio przy 495 nm (LFl), 420 nm (LChr) oraz 386 nm (5DAll). Przytoczone wartości maksimów obecnych w widmach synchronicznych są zgodne z danymi przedstawionymi na **Rysunku 91** dla odpowiednich

czystych składników niebędących w mieszaninie. Interesujące informacje przynosi również analiza widm całkowitej fluorescencji (**Rysunek 98**).



Rysunek 98. Widmo całkowitej fluorescencji mieszaniny 5-deazaalloksazyny, lumichromu i lumiflawiny w acetonitrylu. Na górnych panelach przedstawiono widma emisji wyznaczone przy $\lambda_{\text{exc}} = 350$ nm (**A**) oraz 440 nm (**B**) natomiast na bocznych panelach widma wzbudzenia wyznaczone przy $\lambda_{\text{em}} = 400$ nm (**A**) oraz 520 nm (**B**)

W przypadku omawianej mieszaniny trójskładnikowej, w widmie całkowitej fluorescencji można wyróżnić dwa obszary fluorescencji, które są skoncentrowane pomiędzy 375 nm a 450 nm oraz 480 nm a 625 nm. Z widma całkowitej fluorescencji wyznaczono punktowo widma emisji ($\lambda_{\text{exc}} = 350$ nm (**A**) oraz 440 nm (**B**) oraz widma wzbudzenia $\lambda_{\text{em}} = 400$ nm (**A**)

oraz 520 nm (**B**). Widmo emisji wyznaczone przy $\lambda_{\text{exc}} = 350$ nm odzwierciedla dane przedstawione na **Rysunku 97**, natomiast wykreślone przy $\lambda_{\text{exc}} = 440$ nm wskazuje na obecność jednej formy z maksimum fluorescencji przy około 520 nm. W tym momencie zastosowanie bardziej długofalowego promieniowania wzbudzającego powoduje, iż otrzymujemy widmo fluorescencji wyłącznie pochodzące od LFI. Podobne zależności można wywnioskować analizując wyznaczone punktowo widma wzbudzenia. Widmo wzbudzenia wyznaczone przy $\lambda_{\text{em}} = 520$ nm odzwierciedla praktycznie dokładnie dane przedstawione dla lumiflawiny w acetonitrylu na **Rysunku 91B**, natomiast zastosowanie $\lambda_{\text{em}} = 400$ nm obrazuje, iż skład mieszaniny w tym punkcie jest złożony, kształt widma nie odzwierciedla żadnego z czystych składników, które tworzą mieszaninę.

Spektroskopia absorpcyjno-emisyjna stanowi bardzo użyteczną technikę badawczą, która pozwala między innymi na badanie struktur elektronowych cząsteczek w różnych stanach elektronowych jak również równowag reakcji ustalających się pomiędzy różnymi formami, jednak nie w każdym przypadku jest narzędziem, które w pełni określa skład mieszaniny lub definiuje zachodzące w układzie procesy, zwłaszcza gdy dane składniki wykazują fluorescencję w bardzo zbliżonych obszarach spektralnych. Użytecznym uzupełnieniem jest synchroniczna spektroskopia fluorescencyjna oraz widma całkowitej fluorescencji. Ze względu na podwyższoną czułość i selektywność w stosunku do tradycyjnych widm emisji, widma SSF pozwalają na charakterystykę układów, w których obecne są różne formy emitujące promieniowanie, a które nie w każdej sytuacji mogą być jednoznacznie zidentyfikowane za pomocą klasycznych pomiarów absorpcyjno-emisyjnych.

4.6. Procesy fotosensybilizowanego tworzenia tlenu singletowego przez 5-deazaalloksazyny

Z przeprowadzonych wcześniej badań wynika, iż pochodne flawin, wliczając izo- i alloksazyny są interesującymi i wydajnymi sensybilizatorami tlenu singletowego. Ponadto udowodniono, iż 5-deazaryboflawina jest dobrym sensybilizatorem tlenu singletowego, chociaż wydajność generowania tlenu singletowego (Φ_{Δ}) przez tą cząsteczkę w porównaniu do ryboflawiny jest niższa - odpowiednie wartości wynoszą: 0.33 (5-deazaryboflawina) (62) oraz 0.51 (ryboflawina) (61), dla metanolu. Jednakże w wielu przypadkach okazuje się, że pochodne izo- i alloksazynowe są jeszcze lepszymi sensybilizatorami tlenu singletowego w porównaniu do ryboflawiny. Dla lumichromu i lumiflawiny w metanolu oznaczono wartości Φ_{Δ} , odpowiednio: 0.85 oraz 0.48. Nie bez znaczenia pozostaje rodzaj rozpuszczalnika zastosowanego do badań - zmiana jego charakteru i polarności istotnie wpływa na wartość wydajności generowania tlenu singletowego oraz czas życia tej reaktywnej formy tlenu (τ_{Δ}). Zgodnie z przedstawionymi danymi, wydaje się interesującym sprawdzenie i odpowiedź na pytanie, czy pochodne 5-deazaalloksazyny są również dobrymi sensybilizatorami tlenu singletowego oraz w jaki sposób rozpuszczalnik modyfikuje zdolność do wytwarzania tlenu singletowego przez różne pochodne 5-deazaalloksazyny oraz 10-etylo-5-deazaizoalloksazynę. W badaniach procesów sensybilizowanego generowania tlenu singletowego została zastosowana metoda spektroskopowa oparta na charakterystycznej emisji tlenu singletowego, której maksimum znajduje się przy około 1270 nm. Ten region spektralny jest wysoce specyficzny, ponieważ wiąże się z fosforescencją, w której tlen ze swojego stanu wzbudzonego (singletowego) przechodzi do stanu podstawowego (trypletowego). Zwykle, zgodnie z danymi literaturowymi, te stany są oznaczane odpowiednio przez następujące symbole: $^1\Delta_g$ oraz $^3\Sigma_g^-$. Stąd omawiany proces fosforescencji można opisać następująco: $O_2(^1\Delta_g) \rightarrow O_2(^3\Sigma_g^-)$. W czasie rejestracji widm stacjonarnych stosowanym źródłem wzbudzenia była lampa ksenonowa, natomiast w celu rejestracji zaników fosforescencji przy $\lambda_{em} = 1270$ nm zastosowano diody typu SpectraLED z punktowym źródłem wzbudzenia ($\lambda_{exc} = 371$ nm lub 394 nm). W badaniach wykorzystywano roztwory znajdujące się w równowadze z powietrzem, w których wartość stężenia tlenu było typowe dla danego rozpuszczalnika. Zgodnie z danymi przedstawionymi w *podrozdziale 4.6.1.*, intensywność emisji tlenu singletowego wzrasta wraz ze zwiększeniem stężenia sensybilizatora. Dodatkowo, zmierzone zaniki fosforescencji przy $\lambda_{em} = 1270$ nm mogą być opisane w zadowalającym stopniu przy

użyciu funkcji monoeksponencjalnej, natomiast uzyskane wartości czasów życia są charakterystyczne dla tlenu singletowego w danym rozpuszczalniku zastosowanym do badań. W związku z przytoczonymi argumentami, można postulować, iż obserwowana emisja przy $\lambda_{em} = 1270$ nm rzeczywiście pochodzi od tlenu singletowego, natomiast pochodne 5DAII działają jako sensybilizatory tlenu singletowego.

Z przytoczonych danych we wstępie literaturowym dotyczących generowania tlenu singletowego w roztworach wynika, iż formowanie tlenu singletowego może odbywać się na drodze wygaszania najniższego wzbudzonego stanu singletowego oraz najniższego wzbudzonego stanu trypletowego sensybilizatora. Biorąc pod uwagę czasy życia fluorescencji (kilka lub kilkanaście ns) oraz wyznaczone z widm absorpcji przejściowej czasy życia stanu trypletowego (kilkanaście lub kilkadziesiąt μ s) można postulować, iż tlen singletowy powstaje na drodze wygaszania stanu trypletowego pochodnych 5DAII. Ze względu na stosunkowo krótki czas życia stanu singletowego prawdopodobieństwo wygaszenia tego stanu przez tlen jest raczej niewielkie.

W *podrozdziale 4.6.1* zawarto wartości wydajności generowania tlenu singletowego dla pochodnych 5-deazaalloksazyny w różnych rozpuszczalnikach organicznych. Zaprezentowane wartości Φ_{Δ} zostały wyznaczone w oparciu o pomiary widm stacjonarnych, natomiast uzupełnieniem są dane pochodzące z pomiarów czasowo-rozdzielczych. W *podrozdziale 4.6.2.* zostały przedstawione informacje dotyczące zdolności generowania tlenu singletowego przez 5DAII oraz 13Me-5DAII w wodzie deuterowanej. Wybór tych cząsteczek jest związany z dyskutowanymi kolejnym rozdziale równowagami kwasowo-zasadowymi ustalającymi się dla tych cząsteczek w różnych warunkach pH. Niestety, ze względu na stosunkowo niskie intensywności obserwowanej emisji oraz brak możliwości uzyskania poprawnych rezultatów badań czasowo-rozdzielczych w stosowanym układzie pomiarowym dla zwykłej wody, w zastępstwie użyto wodę deuterowaną. W *podrozdziale 4.6.3.* zaprezentowano wyniki badań czasowo-rozdzielczych związanych z pomiarami charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego przy $\lambda_{em} = 1270$ nm generowanego przez pochodne 5DAII w wybranych rozpuszczalnikach organicznych.

4.6.1. Wydajności kwantowe fotosensybilizowanego tworzenia tlenu singletowego w rozpuszczalnikach organicznych

W **Tabeli 43** przedstawiono wartości wydajności generowania tlenu singletowego (Φ_{Δ}) przez 5DAII, 8Me-5DAII, 9Me-5DAII, 13Me-5DAII, 138Me-5DAII, 139Me-5DAII oraz 10Et-5DIzoAll w wybranych rozpuszczalnikach organicznych (ACN, MeOH oraz DCM).

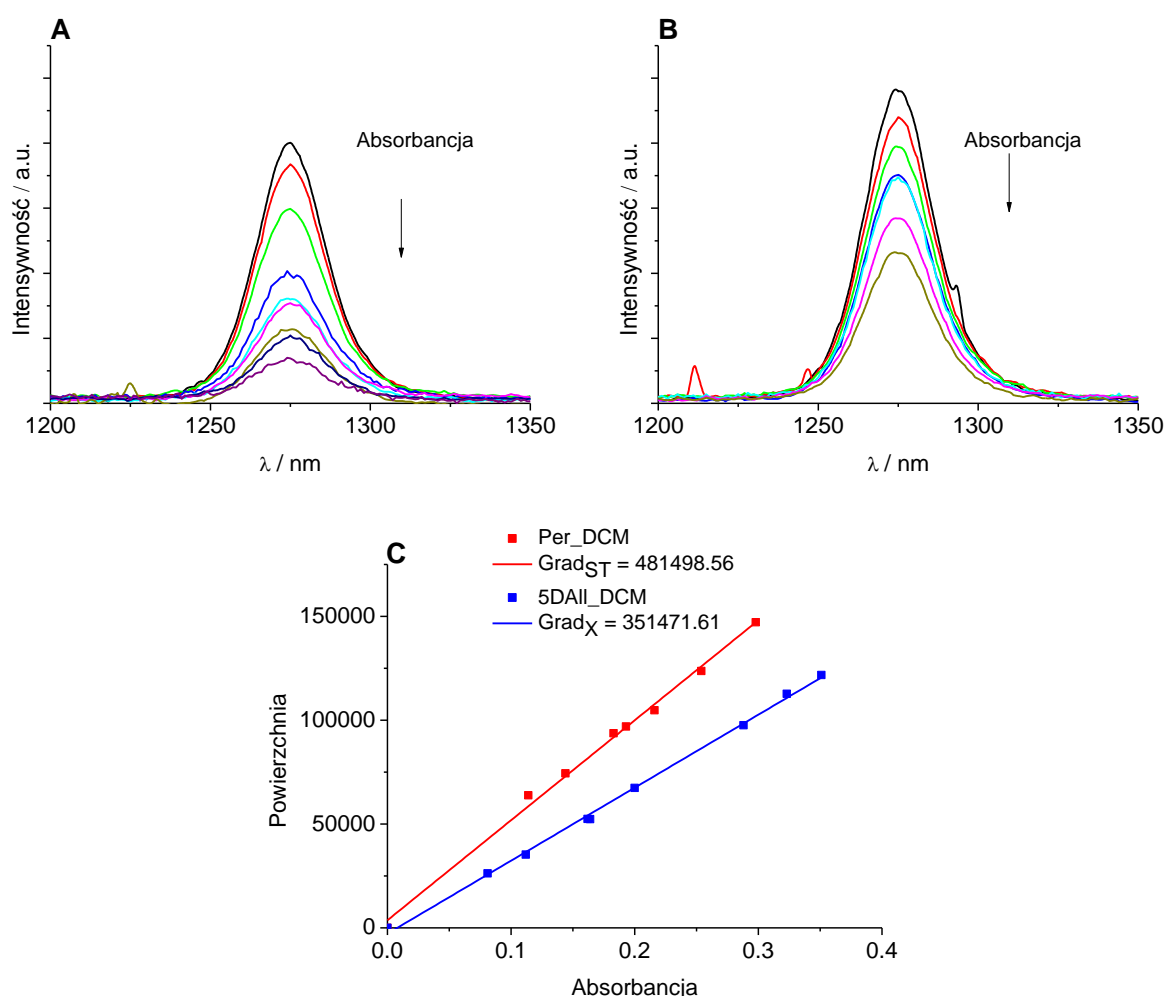
Tabela 43. Wydajności kwantowe fotosensybilizowanego tworzenia tlenu singletowego (Φ_{Δ}) przez 5DAI, 8Me-5DAI, 9Me-5DAI, 13Me-5DAI, 138Me-5DAI, 139Me-5DAI oraz 10Et-5DIzoAI w acetonitrylu, metanolu oraz dichlorometanie. Wartości Φ_{Δ} wyznaczono korzystając z metody jednopunktowej oraz zaników fosforescencji przy $\lambda_{em} = 1270$ nm a także korzystając z metody gradientowej (wybrane przypadki). W każdym przypadku zastosowano jako standard perinaftenon w tym samym rozpuszczalniku

Rozpuszczalnik	Związek	Φ_{Δ} (jednopkt)	Φ_{Δ} (gradient)	Φ_{Δ} (zanik)
ACN	5DAI	0.68	0.74	0.69
	8Me-5DAI	0.64	-	0.62
	9Me-5DAI	0.73	-	0.68
	13Me-5DAI	0.70	-	0.75
	138Me-5DAI	0.78	-	0.83
	139Me-5DAI	0.80	-	0.84
	10Et-5DIzoAI	0.22	0.25	0.29
MeOH	5DAI	0.76	0.81	0.79
	8Me-5DAI	0.63	-	0.72
	9Me-5DAI	0.61	-	0.67
	13Me-5DAI	0.69	-	0.75
	138Me-5DAI	0.71	-	0.75
	139Me-5DAI	0.68	-	0.74
	10Et-5DIzoAI	0.17	-	0.23
DCM	5DAI	0.64	0.69	0.72
	8Me-5DAI	0.83	-	0.79
	9Me-5DAI	0.69	-	0.73
	13Me-5DAI	0.74	-	0.69
	138Me-5DAI	0.72	-	0.77
	139Me-5DAI	0.75	-	0.81
	10Et-5DIzoAI	0.28	0.25	0.31

Odpowiednie wartości Φ_{Δ} zostały wyznaczone na trzy różne sposoby, wliczając w to: metodę jednopunktową, gradientową (z pomiarów stacjonarnych) oraz zaników fosforescencji przy $\lambda_{em} = 1270$ nm (pomiarów czasowo-rozdzielcze). W każdym przypadku stosowano standard: perinaftenon, w tym samym rozpuszczalniku, który został użyty dla danej pochodnej. Jak wspomniano wcześniej, wartość Φ_{Δ} dla perinaftenonu (Per) wynosi 0.95 ± 0.05 niezależnie od zastosowanego rozpuszczalnika (175). Szczegółowy sposób wyznaczania wydajności

generowania tlenu singletowego przez pochodne 5DA11 za pomocą trzech wspomnianych metod został zawarty w *podrozdziale 3.4.4*. Z przedstawionych danych w **Tabeli 43** wynika, iż 5DA11 i jej wszystkie metylowe pochodne są dobrymi sensybilizatorami tlenu singletowego, niezależnie od zastosowanego rozpuszczalnika. Zdecydowanie niższe wartości Φ_{Δ} zostały odnotowane dla 10Et-5DIzoAll, w tych samych rozpuszczalnikach. Należy nadmienić, iż niezależnie od zastosowanego podejścia do wyznaczenia wartości Φ_{Δ} (z widm stacjonarnych metodą jednopunktową lub gradientową oraz z zaników czasowo-rozdzielczych) uzyskane wartości dla tej samej cząsteczki w tym samym rozpuszczalniku są zbliżone i mieszczą się w granicach błęd pomiarowego dla danej metody. Dla przykładu, w przypadku 5DA11 uzyskano następujące wartości wydajności generowania tlenu singletowego: 0.76 (metoda jednopunktowa z widm stacjonarnych), 0.81 (metoda gradientowa z widm stacjonarnych) oraz 0.79 (z zaników czasowo-rozdzielczych). Generalnie, zmiana charakteru i polarności rozpuszczalnika jedynie nieznacznie modyfikuje zdolność do generowania tlenu singletowego przez pochodne 5DA11. Jednakże, porównując wartości Φ_{Δ} w dwóch skrajnie różnych rozpuszczalnikach, mianowicie - DCM i MeOH - można zauważyć nieznaczne podwyższenie wartości Φ_{Δ} wyliczonych dla pochodnych 5DA11 na korzyść DCM w porównaniu z MeOH, z wyjątkiem 5DA11, dla której wszystkie trzy sposoby wyznaczania Φ_{Δ} pokazują lepszą zdolność do generowania tlenu singletowego w MeOH. Z kolei wartości Φ_{Δ} w ACN są zbliżone do danych uzyskanych w DCM. Pewną trudność przynosi określenie trendu dotyczącego wpływu obecności (lub jej braku) grupy metylowej w pierścieniu 5-deazaalloksazynowym na zdolność do generowania tlenu singletowego. Trudność wynika głównie z faktu, iż zastosowane do badań rozpuszczalniki wykazują różną tendencję związaną z obniżaniem lub zwiększaniem wartości Φ_{Δ} dla pochodnych metylowych w porównaniu do niepodstawionej 5DA11. Dla przykładu, w ACN oraz DCM można stwierdzić, iż dodatek grupy metylowej powoduje podwyższenie wartości Φ_{Δ} w porównaniu do niepodstawionej 5DA11 (z wyjątkiem 8Me-5DA11 w ACN, dla której zaobserwowano obniżenie). Z kolei w MeOH można stwierdzić, iż zdolność do generowania tlenu singletowego obniża się dla metylowych pochodnych w porównaniu do niepodstawionej 5DA11. Wydaje się, iż nie ma bezpośredniej korelacji pomiędzy usytuowaniem grupy metylowej w pierścieniu 5-deazaalloksazynowym, a obniżeniem (lub podwyższeniem) zdolności do generowania tlenu singletowego. Jak już wspomniano wcześniej, zdecydowanie gorszym sensybilizatorem tlenu singletowego jest 10Et-5DIzoAll. Wartości Φ_{Δ} w porównaniu do pochodnych 5DA11 są prawie trzykrotnie niższe w każdym ze stosowanych rozpuszczalników. W obecności tej cząsteczki, tlen singletowy był generowany najslabiej w

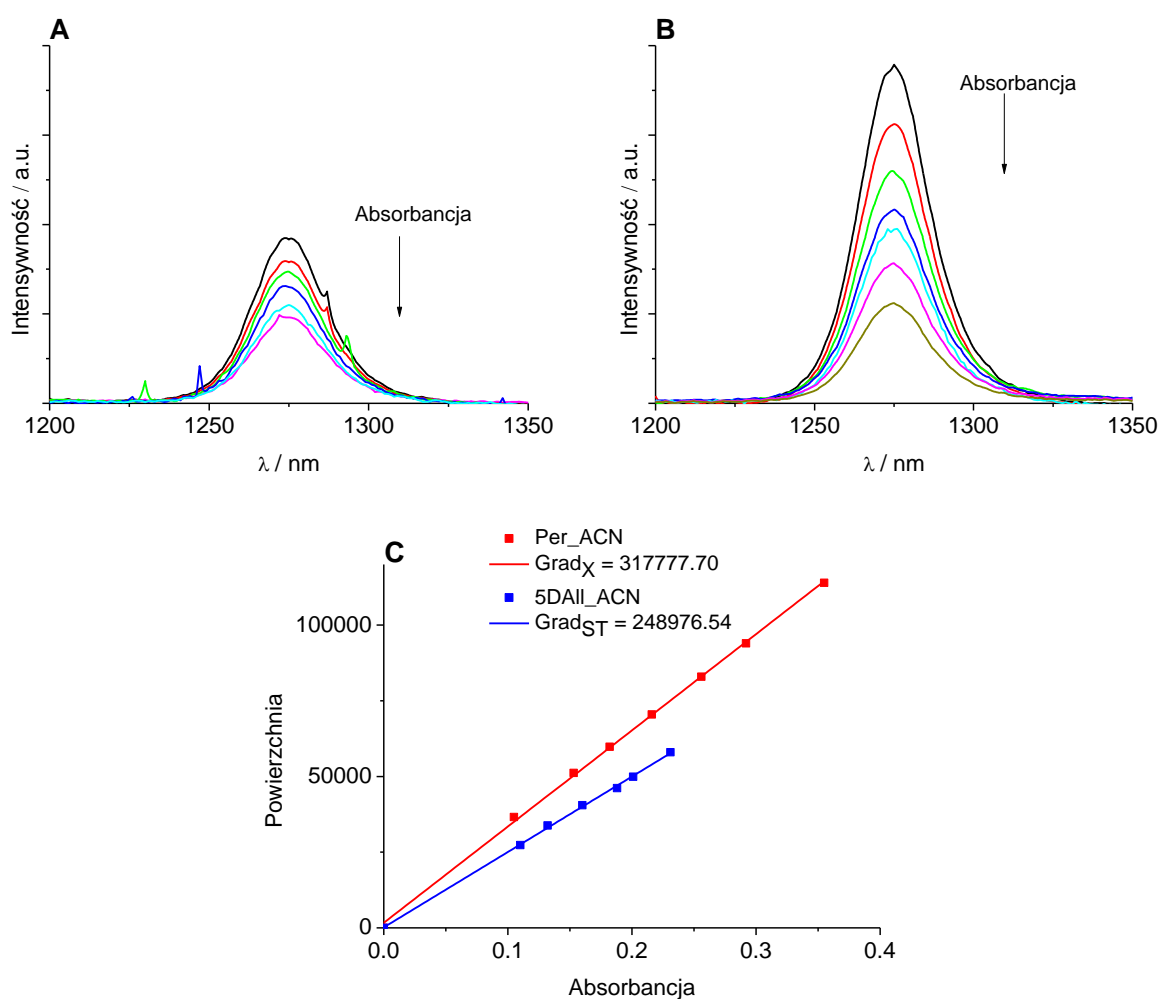
MeOH, natomiast najwyższe wartości odnotowano w DCM (**Tabela 43**). Poniżej zostały przedstawione wybrane dane eksperymentalne, które były wykorzystywane do wyznaczenia wartości wydajności generowania tlenu singletowego przez pochodne 5DAII z wykorzystaniem widm stacjonarnych w podejściu jednopunktowym oraz gradientowym. Na **Rysunku 99** przedstawiono widma charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego ($\lambda_{\max} = 1270 \text{ nm}$) dla 5DAII i Per w DCM ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$) oraz skonstruowany wykres zależności absorbancji przy długości fali promieniowania wzbudzającego od pola powierzchni pod widmem emisji tlenu singletowego dla 5DAII oraz standardu: Per w DCM.



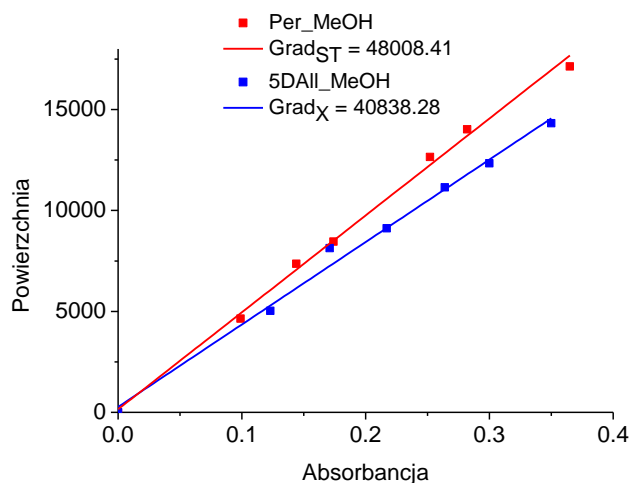
Rysunek 99. Widma charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego ($\lambda_{\max} = 1270 \text{ nm}$) dla 5DAII (**A**) i Per (**B**) w DCM ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$) [metoda gradientowa]; wykres zależności absorbancji od pola powierzchni pod widmem charakterystycznej emisji tlenu singletowego dla (5DAII) w dichlorometanie oraz standardu: Per w DCM (**C**).

Z kolei **Rysunek 100** przedstawia podobne dane dotyczące 5DAII oraz Per w ACN. Z kolei na **Rysunkach 101 i 102** przedstawiono kolejno wykresy zależności absorbancji przy długości fali promieniowania wzbudzającego od pola powierzchni pod widmem

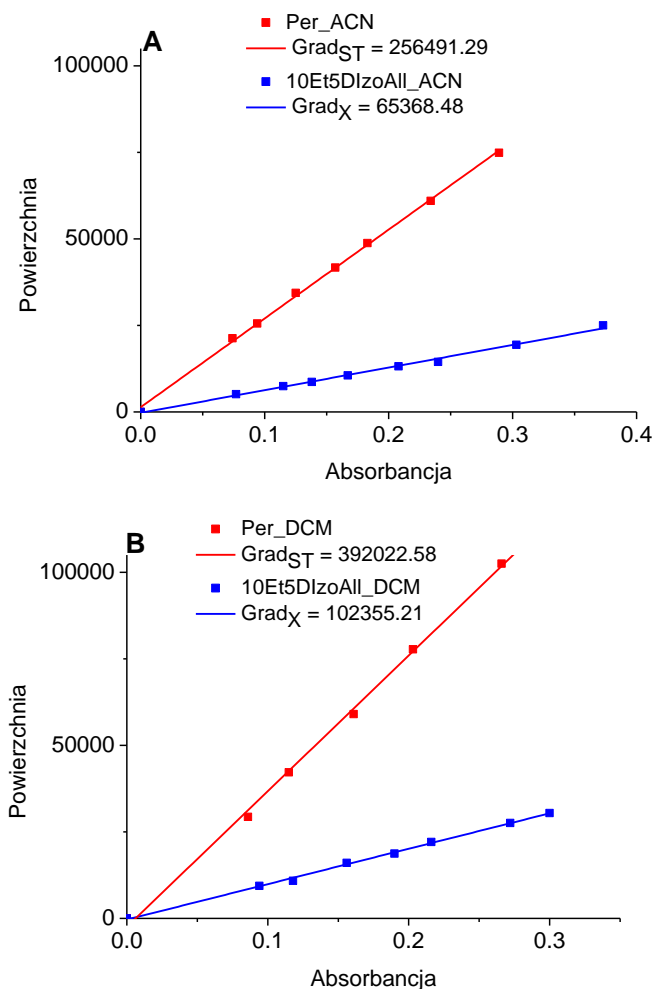
charakterystycznej emisji tlenu singletowego dla 5DAI1 i Per w MeOH, 10Et-5DIzoAll i Per w ACN, 10Et-5DIzoAll i Per w DCM. Warto podkreślić, iż praktycznie w każdym przypadku można zauważyć liniową zależność pomiędzy absorbancją przy długości fali promieniowania wzbudzającego a polem powierzchni pod widmem charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego, która jest pośrednim dowodem między innymi braku wygaszania tlenu singletowego przez cząsteczki pochodnych 5DAI1 znajdujących się w stanie podstawowym. O braku istnienia tego procesu informują również przeprowadzone badania czasowo-rozdzielcze przedstawione w *podrozdziale 4.6.3*.



Rysunek 100. Widma charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego ($\lambda_{\max} = 1270$ nm) dla 5DAI1 (**A**) i Per (**B**) w ACN ($\lambda_{\text{exc}} = 350$ nm) [metoda gradientowa]; wykres zależności absorbancji od pola powierzchni pod widmem charakterystycznej emisji tlenu singletowego dla 5DAI1 w ACN oraz standardu: Per w ACN (**C**).

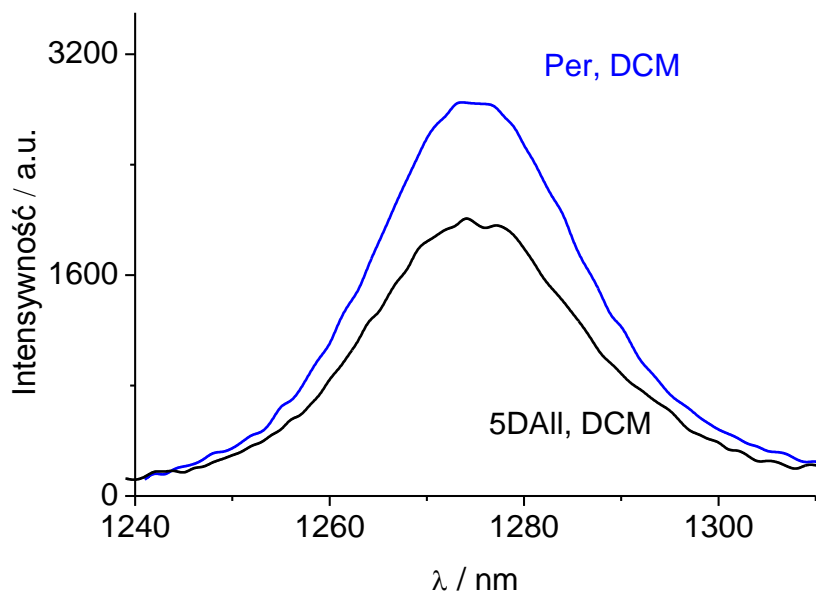


Rysunek 101. Wykres zależności absorpcji od pola powierzchni pod widmem charakterystycznej emisji tlenu singletowego dla 5DAI1 w MeOH oraz standardu: Per w MeOH.

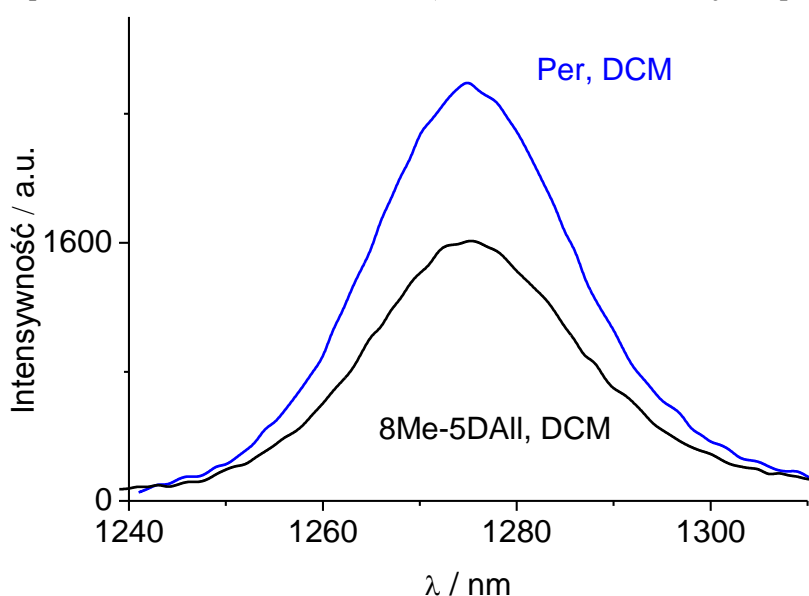


Rysunek 102. Wykres zależności absorpcji od pola powierzchni pod widmem charakterystycznej emisji tlenu singletowego dla 10Et-5DIzoAll w ACN oraz standardu: Per w ACN (A) oraz wykres zależności absorpcji od pola powierzchni pod widmem emisji tlenu singletowego dla 10Et-5DIzoAll w DCM oraz standardu: Per w DCM (B).

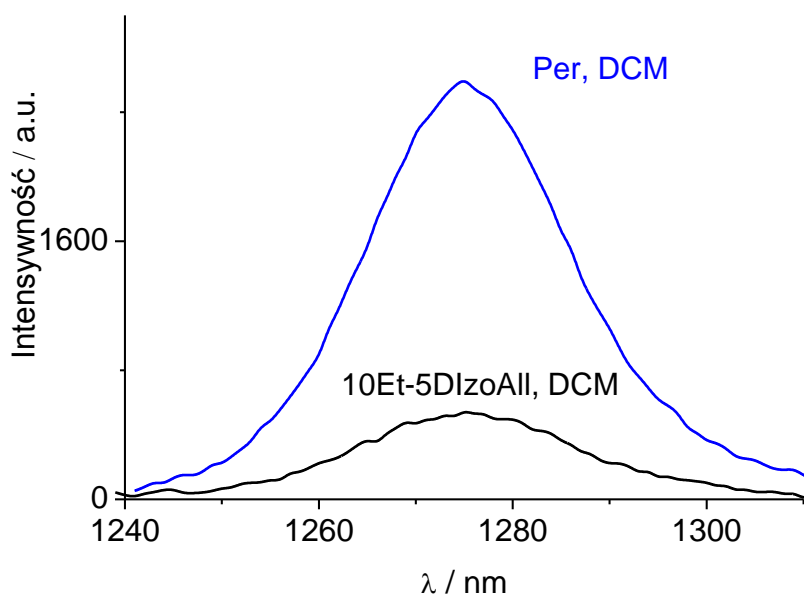
Z kolei na poniższych rysunkach przedstawiono wybrane dane, które umożliwiły wyznaczenie wydajności generowania tlenu singletowego przy użyciu metody jednopunktowej z widm stacjonarnych. W każdym przypadku przygotowane roztwory badanej pochodnej 5DAII i Per posiadały bardzo zbliżoną absorbancję przy długości fali promieniowania wzbudzającego (± 0.005). Kolejno, **Rysunki 103-105** przedstawiają widma charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego dla 5DAII i Per, 8Me-5DAII i Per oraz 10Et-5DIzoAll i Per w dichlorometanie.



Rysunek 103. Widma charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego ($\lambda_{\max} = 1270$ nm) dla 5-deazaalloksazyny i perinaftenonu w dichlorometanie ($\lambda_{\text{exc}} = 350$ nm) [metoda jednopunktowa]



Rysunek 104. Widma charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego ($\lambda_{\max} = 1270$ nm) dla 8-metylo-5-deazaalloksazyny i perinaftenonu w dichlorometanie ($\lambda_{\text{exc}} = 350$ nm) [metoda jednopunktowa]



Rysunek 105. Widma charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego ($\lambda_{\max} = 1270$ nm) dla 10-etylo-5-deazaizalloksazyny i perinaftenonu w dichlorometanie ($\lambda_{\text{exc}} = 370$ nm) [metoda jednopunktowa]

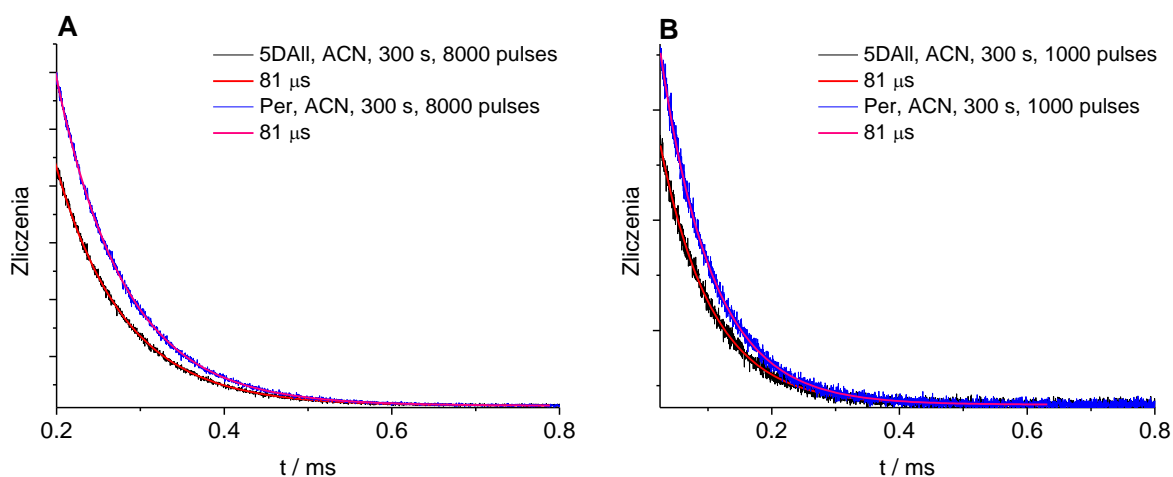
4.6.2. Czasowo-rozdzielcza fosforescencja tlenu singletowego w rozpuszczalnikach organicznych

W **Tabeli 44** przedstawiono czasy zaniku tlenu singletowego zmierzone dla różnych pochodnych 5DAI, wliczając w to: 5DAI, 8Me-5DAI, 9Me-5DAI, 13Me-5DAI, 138Me-5DAI, 139Me-5DAI oraz 10Et-5DIzoAll w wybranych rozpuszczalnikach organicznych (acetonitryl, metanol, dichlorometan). Zaniki zmierzone przy $\lambda_{\text{exc}} = 371$ nm i $\lambda_{\text{em}} = 1270$ nm w zadowalający sposób opisuje funkcja monoeksponencjalna. Wyznaczone czasy życia są typowe dla tlenu singletowego w ACN, MeOH i DCM. W przypadku tlenu singletowego generowanego przez 5DAI i jej metylowe pochodne w ACN wartości mieszają się w zakresie 78-81 μs . Podobną tendencję stwierdzono w przypadku tlenu singletowego generowanego przez 5DAI i jej metylowe pochodne w DCM - tutaj wartości zmieniają się od 87 μs do 89 μs . Z kolei w metanolu wartość czasu życia jest praktycznie niezależna od struktury pochodnej - odnotowano wartości τ_{Δ} 10 μs oraz 11 μs .

Tabela 44. Czasy zaniku tlenu singletowego (τ_{Δ} / μs) zmierzone przy $\lambda_{\text{exc}} = 371$ nm oraz $\lambda_{\text{em}} = 1270$ nm dla 5DAII, 8Me-5DAII, 9Me-5DAII, 13Me-5DAII, 138Me-5DAII, 139Me-5DAII oraz 10Et-5DIzoAll w acetonitrylu, metanolu oraz dichlorometanie

Rozpuszczalnik	5DAII	8Me-5DAII	9Me-5DAII	13Me-5DAII	138Me-5DAII	139Me-5DAII	10Et-5DIzoAll
ACN	81	80	80	81	79	79	78
MeOH	11	10	11	10	10	11	11
DCM	88	89	87	88	87	88	87

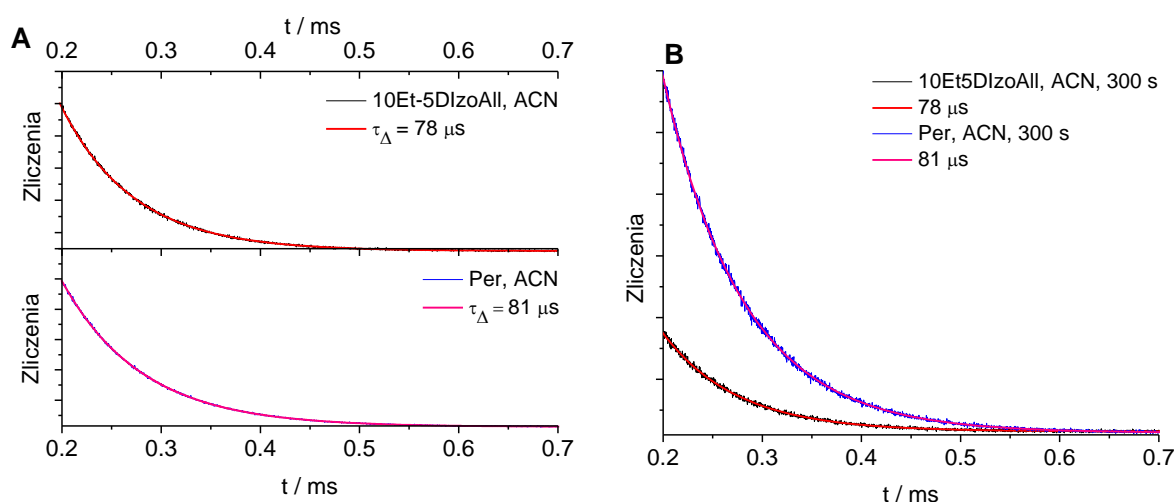
W celu sprawdzenia stabilności badanych pochodnych w trakcie pomiarów czasowo-rozdzielczych, zbadania wpływu ilości skumulowanych impulsów przed pomiarem zaniku fosforescencji tlenu singletowego, przeprowadzono kilka specyficznych, przedstawionych poniżej pomiarów. Na **Rysunku 106** przedstawiono pomiary zaników tlenu singletowego generowanego przez 5DAII w ACN obserwowane przy $\lambda_{\text{exc}} = 371$ nm oraz $\lambda_{\text{em}} = 1270$ nm.



Rysunek 106. Pomiary zaników tlenu singletowego ($\lambda_{\text{exc}} = 371$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 1270$ nm) generowanego przez 5DAII w acetonitrylu, w pomiarach zastosowano standard - Per w acetonitrylu. **A** - liczba skumulowanych impulsów: 8000, czas pomiaru: 300 sekund; **B** - liczba skumulowanych impulsów: 1000, czas pomiaru: 300 sekund.

Jednocześnie w pomiarach zastosowano roztwór perinaftenonu o jednakowej wartości absorbancji przy długości fali promieniowania wzbudzającego w porównaniu do 5DAII. Zanik charakterystycznej emisji tlenu singletowego był prowadzony przez 300 sekund. Zarejestrowane zaniki umożliwiły wyznaczenie czasu życia tlenu singletowego generowanego przez 5DAII oraz Per w ACN - w każdym przypadku wyznaczona wartość $\tau_{\Delta} = 81\mu\text{s}$. Dodatkowo, zarejestrowane zaniki emisji tlenu singletowego posłużyły do wyznaczenia wartości wydajności generowania tlenu singletowego. W obydwu eksperymentach

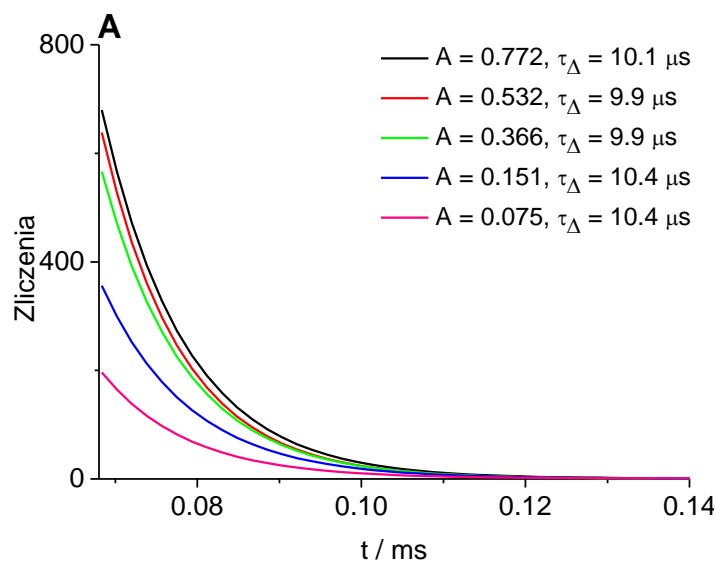
wyznaczona wartość Φ_{Δ} dla 5DAI1 w odniesieniu do Per w ACN wynosi 0.70. Wartość ta bardzo dobrze koreluje z wyznaczoną w pomiarach stacjonarnych. Ponadto, ilość skumulowanych impulsów przed pomiarem zaniku emisji tlenu singletowego nie wpływa na wydajność generowania tlenu singletowego przez 5DAI1 w ACN. W kolejnym eksperymencie, dla 10Et-5DIzoAll w ACN, zbadano wpływ czasu rejestracji zaniku emisji tlenu singletowego oraz ilości zbieranych zliczeń na wartość wydajności generowania tlenu singletowego przez tę cząsteczkę oraz czas życia tlenu singletowego generowanego w obecności 10Et-5DIzoAll w ACN (**Rysunek 107**). Podobnie jak poprzednio, tutaj również zastosowano jako standard Per w ACN. Z przedstawionych danych wynika, iż Φ_{Δ} dla 10Et-5DIzoAll w odniesieniu do Per w ACN wynosi 0.27, niezależnie od ilości zbieranych zliczeń oraz czasu trwania eksperymentu. Wyznaczona wartość koreluje w zadowalającym stopniu z danymi otrzymanymi z pomiarów stacjonarnych. Podobnie, $\tau_{\Delta} = 78 \mu\text{s}$ dla tlenu singletowego generowanego przez 10Et-5DIzoAll w obydwu przypadkach.



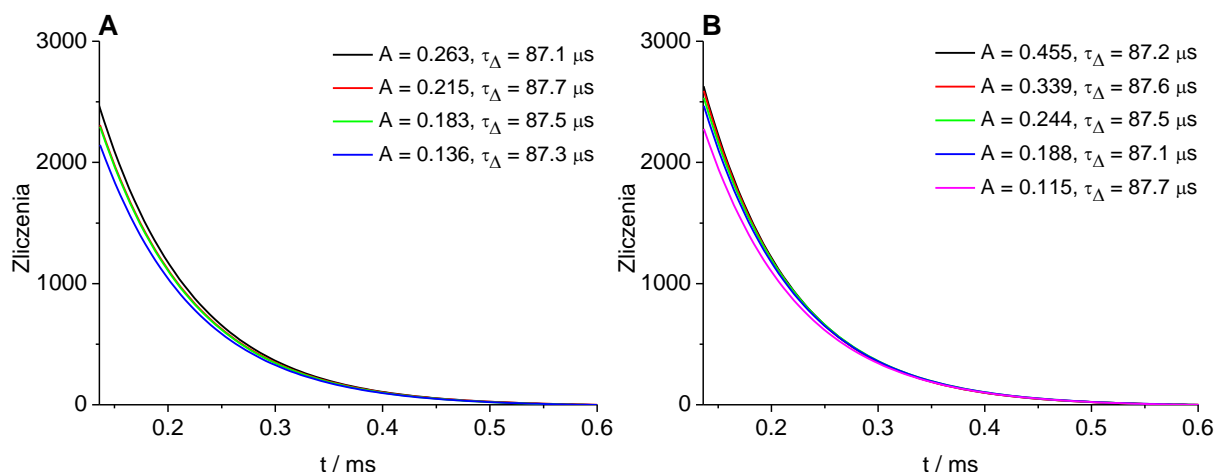
Rysunek 107. Pomiar zaników tlenu singletowego ($\lambda_{\text{exc}} = 371 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 1270 \text{ nm}$) generowanego przez 10Et-5DIzoAll w ACN, w pomiarach zastosowano standard - Per w ACN. **A** - liczba skumulowanych impulsów: 8000, 10 000 zliczeń; **B** - liczba skumulowanych impulsów: 8000, czas pomiaru: 300 sekund.

Rezultaty pomiarów czasowo-rozdzielczych dla 138Me-5DAI1 w metanolu zostały przedstawione na **Rysunku 108**, zarejestrowane przy $\lambda_{\text{exc}} = 371 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 1270 \text{ nm}$. W tym przypadku, stosując kolejne rozcieńczenia roztworu, w zmieniającym się przedziale absorbancji, od 0.772 do 0.075, stwierdzono jedynie nieznaczne zmiany długości czasu życia tlenu singletowego generowanego w obecności tej molekuly - od 9.9 μs do 10.4 μs . W tej sytuacji można twierdzić, iż nie następuje proces wygaszania tlenu singletowego przez stan podstawowy 138Me-5DAI1. Podobne rezultaty przedstawiono dla 5DAI1 i Per w DCM (**Rysunek 109**). W tym przypadku stężenie 5DAI1 zastosowane do kolejnych pomiarów

zaników tlenu singletowego mieściło się w przedziale stosowanym przy konstruowaniu wykresu zależności absorbancji przy długości fali promieniowania wzbudzającego od pola powierzchni pod widmem charakterystycznej emisji tlenu singletowego (**Rysunek 99**). Podobnie jak w omówionym powyżej przypadku, również dla 5DA11 w DCM, w stosowanym zakresie stężeń, nie zaobserwowano znacznych zmian w wartości czasu życia tlenu singletowego generowanego przez tą molekułę w DCM - zanotowano wartości w przedziale od 87.1 μs do 87.7 μs (**Rysunek 109**).



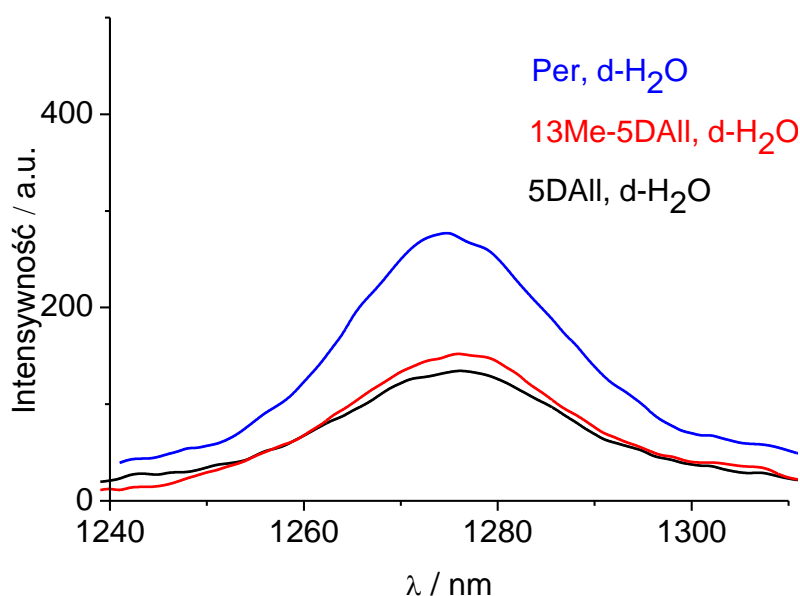
Rysunek 108. Pomiary zaników tlenu singletowego ($\lambda_{\text{exc}} = 371 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 1270 \text{ nm}$) generowanego przez 1,3,8-trimetylo-5-deazaalloksazynę w metanolu zarejestrowane przy różnych stężeniach 138Me-5DA11.



Rysunek 109. Pomiary zaników tlenu singletowego ($\lambda_{\text{exc}} = 371 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 1270 \text{ nm}$) generowanego przez 5-deazaalloksazynę w dichlorometanie zarejestrowane przy różnych stężeniach 5DA11 (**A**) oraz przez perinaftenon w dichlorometanie (**B**).

4.6.3. Wydajności kwantowe fotosensybilizowanego tworzenia oraz czasowo-rozdzielcza fosforescencja tlenu singletowego w wodzie deuterowanej

Uzupełnieniem badań przedstawionych w dwóch poprzednich podrozdziałach dotyczących procesów generowania tlenu singletowego przez pochodne 5DAII w rozpuszczalnikach organicznych są dane z pomiarów stacjonarnych oraz czasowo-rozdzielczych dotyczących tworzenia tlenu singletowego przez 5DAII i 13Me-5DAII w wodzie deuterowanej ($d\text{-H}_2\text{O}$). Na **Rysunku 110** przedstawiono widma charakterystycznej emisji tlenu singletowego dla 5DAII oraz 13Me-5DAII w $d\text{-H}_2\text{O}$ zestawione z widmem emisji tlenu singletowego dla standardu - perinaftenonu w wodzie deuterowanej. We wszystkich przypadkach zastosowano $\lambda_{\text{exc}} = 370 \text{ nm}$ i wykorzystując procedurę metody jednopunktowej wyznaczone zostały wartości Φ_{Δ} dla tych pochodnych w wodzie deuterowanej, które zestawiono w **Tabeli 45**. Z uzyskanych wartości wynika, iż 5DAII ($\Phi_{\Delta} = 0.41$) tworzy tlen singletowy na drodze sensybilizacji nieco mniej wydajnie w porównaniu do 13Me-5DAII ($\Phi_{\Delta} = 0.54$), jednakże porównanie z wartościami Φ_{Δ} wyznaczonymi w rozpuszczalnikach organicznych dla obydwu cząsteczek świadczy, iż proces generowania tlenu singletowego jest mniej wydajny w układzie wodnym w porównaniu do wszystkich poprzednio stosowanych rozpuszczalników organicznych (**Tabela 43** oraz **45**).

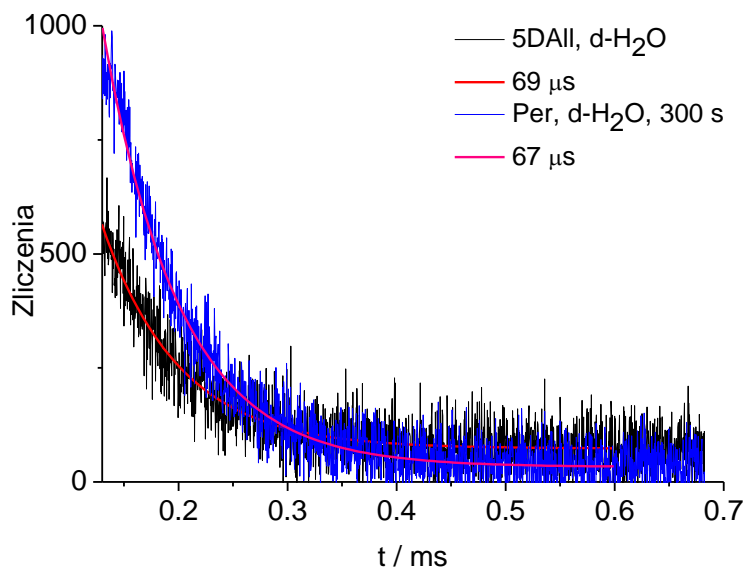


Rysunek 110. Widma charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego ($\lambda_{\text{max}} = 1270 \text{ nm}$) dla 5-deazaalloksazyny, 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny oraz perinaftenonu w wodzie deuterowanej ($\lambda_{\text{exc}} = 370 \text{ nm}$) [metoda jednopunktowa]

Przeprowadzone badania czasowo-rozdzielcze przy zastosowaniu $\lambda_{\text{exc}} = 371 \text{ nm}$ oraz $\lambda_{\text{em}} = 1270 \text{ nm}$ dla 5DAII, 13Me-5DAII oraz Per w d-H₂O w każdym przypadku w zadowalającym stopniu są opisywane funkcją monoeksponencjalną, natomiast wartość uzyskanego czasu życia jest charakterystyczna dla tlenu singletowego w wodzie deuterowanej (5DAII: 69 μs , 13Me-5DAII oraz Per: 68 μs) - **Tabela 45**. Przykładowy zanik tlenu singletowego generowanego w d-H₂O przez 5DAII i Per w wodzie deuterowanej został przedstawiony na **Rysunku 111**.

Tabela 45. Wydajności generowania tlenu singletowego (Φ_{Δ}) oraz czasy zaniku tlenu singletowego ($\tau_{\Delta} / \mu\text{s}$) zmierzone przy $\lambda_{\text{exc}} = 371 \text{ nm}$ oraz $\lambda_{\text{em}} = 1270 \text{ nm}$ dla 5DAII oraz 13Me-5DAII w wodzie deuterowanej

	Φ_{Δ}	$\tau_{\Delta} / \mu\text{s}$
5DAII	0.41	69
13Me-5DAII	0.54	68



Rysunek 111. Pomiary zaników tlenu singletowego ($\lambda_{\text{exc}} = 371 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 1270 \text{ nm}$) generowanego przez 5DAII oraz Per w wodzie deuterowanej.

4.7. Równowagi kwasowo - zasadowe 5-deazaalloksazyn

Okazuje się, iż podobnie jak dla pochodnych alloksazyn, zmiana warunków pH wpływa istotnie na szereg parametrów spektralnych i fotofizycznych 5-deazaalloksazyn. Związane jest to z tworzeniem różnych form strukturalnych, wliczając w to formy kationowe, anionowe i neutralne, pomiędzy którymi tworzą się równowagi protolityczne. Wykorzystując miareczkowania alkacymetryczne i alkalimetryczne, jak również różne metody spektroskopii stacjonarnej i czasowo-rozdzielczej przeprowadzono badania równowag kwasowo-zasadowych dla 5DA11 oraz 13Me-5DA11 w szerokim zakresie pH. Wybór cząsteczek był podyktowany faktem, iż w przypadku 5DA11 wraz ze zmianą warunków pH można otrzymać szereg różnych form strukturalnych, które wykazują odmienną charakterystykę absorpcyjno-emisyjną. Z kolei w przypadku 13Me-5DA11, ze względu na podstawienie atomów azotu N(1) oraz N(3) przez grupy metylowe, nie ma możliwości utworzenia w tych miejscach form anionowych - obraz strukturalny dla tej cząsteczki jest znacznie prostszy w porównaniu do 5DA11. W przypadku 13Me-5DA11 zostały zidentyfikowane dwie możliwe formy: kation oraz forma neutralna. W poniższych podrozdziałach zostały przedstawione dane dotyczące równowag kwasowo-zasadowych ustalających się w różnych warunkach pH dla 5DA11 oraz 13Me-5DA11.

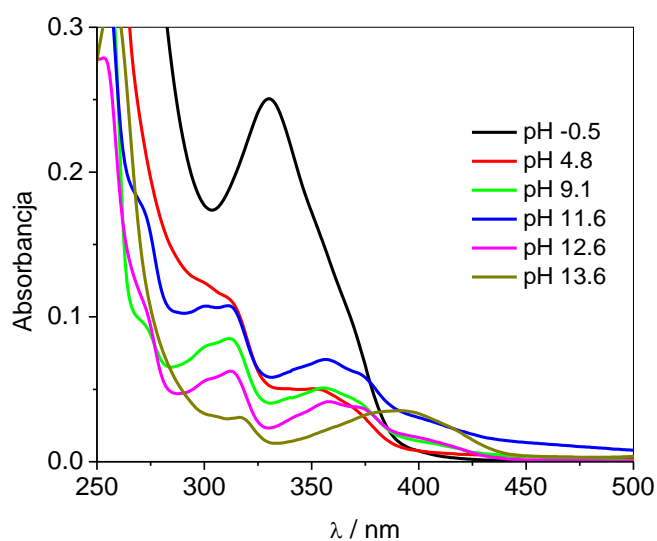
4.7.1. Równowagi kwasowo-zasadowe 5-deazaalloksazyny

Na **Rysunku 112** przedstawiono widma absorpcji 5DA11 w różnych warunkach pH, poczynając od pH = -0.5 i kończąc na pH = 13.6. Należy zaznaczyć, iż zmiana warunków pH drastycznie modyfikuje absorpcję 5DA11. Jednakże, niezależnie od warunków pH w długofalowej części widma można wyodrębnić dwa charakterystyczne pasma absorpcji (wyjątek pH = -0.5), co jest zgodne z badaniami przeprowadzonymi dla różnych 5DA11 i jej różnych pochodnych w rozpuszczalnikach organicznych. W **Tabeli 46** zebrano dokładne położenia maksimum absorpcji 5DA11 w wybranych punktach pH. Przy pH = -0.5 odnotowano obecność jednego pasma w długofalowej części widma, którego maksimum znajduje się przy 330 nm. W tych warunkach za absorpcję jest odpowiedzialny kation 5DA11 o strukturze alloksazynowej (**10NK, Rysunek 117**). Dowodem alloksazynowej struktury tego kationu mogą być badania przeprowadzone dla 10-etylo-5-deazaalloksazyny (114). W ich wyniku stwierdzono, że sprotonowaniu ulega atom azotu N(1) przy niskich wartościach pH, a

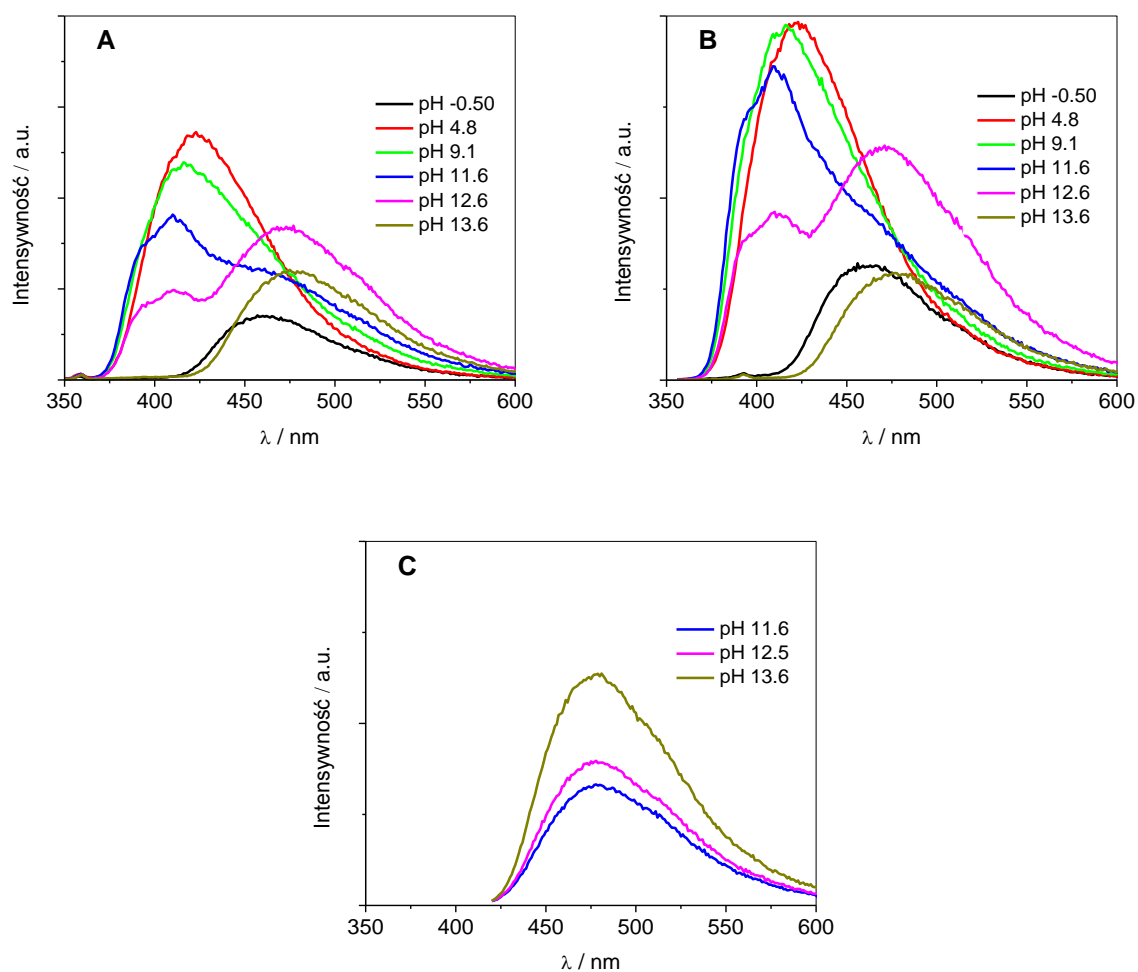
maksimum absorpcji tej formy przypada na około 330 nm. W warunkach pH o mniejszej kwasowości, neutralnych lub zasadowych, odnotowuje się typowe zachowanie w widmach absorpcji, mianowicie w długofalowej części widma są obecne dwa rozdzielone pasma absorpcji, dla których dokładne usytuowanie maksimum jest uzależnione od warunków pH. Przy pH = 4.8 obserwuje się maksima absorpcji przy 308 nm oraz 350 nm, a za absorpcję w tym punkcie pH odpowiada forma neutralna 5DAll (**N**, **Rysunek 117**). Przy przechodzeniu do alkalicznych pH (poczynając od 9.1 i kończąc na 12.6) pojawia się nieznaczne, długofalowe przesunięcie maksimum pasma λ_1 przy jednoczesnym zachowaniu położenia maksimum pasma λ_2 . W tych warunkach pH za absorpcję promieniowania odpowiadają głównie formy monoanionowe, których ładunki ujemne są zgromadzone odpowiednio na N(1) oraz N(3), odpowiednio (**1NA** oraz **3NA**, **Rysunek 117**). Należy zauważyć, iż przy pH = 12.6 zaczyna wyodrębniać się niewielkie pasmo absorpcji przy około 400 nm, pochodzące od monoanionu izoalloksazynowego (**10NA**, **Rysunek 117**), który powstaje w wyniku tautomeryzacji **1NA**. Przechodząc do bardziej alkalicznych warunków pH (pH = 13.6) obserwuje się dramatyczne zmiany w przebiegu widm absorpcji - wyodrębniają się pasma w długofalowej części widma usytuowane przy 317 nm oraz 391 nm - w tych warunkach pH za absorpcję odpowiada obecność dianionu o strukturze izoalloksazynowej (**310ND**, **Rysunek 117**).

Rejestracja widm emisji pozwoliła na stwierdzenie obecności różnych form strukturalnych 5DAll w stanie wzbudzonym. Na **Rysunku 113** przedstawiono widma emisji 5DAll w wybranych punktach pH zarejestrowane przy $\lambda_{exc} = 320$ nm (**A**), 346 nm (**B**) oraz 410 nm (**C**). Podsumowując, można zauważyć istotny wpływ zarówno długości fali promieniowania wzbudzającego oraz warunków pH na otrzymane widma emisji. W przypadku pH = -0.5 niezależnie od zastosowanej długości fali promieniowania wzbudzającego otrzymuje się widmo emisji, którego maksimum zlokalizowane jest przy około 456 nm. Biorąc pod uwagę usytuowanie tego maksimum, przesuniętego ku dłuższym falom w porównaniu z tradycyjną strukturą 5-dezaalloksazynową można wnioskować, iż forma emitująca ma strukturę izoalloksazynową (**1NK**, **Rysunek 117**). Zarejestrowane w tym punkcie pH widma wzbudzenia emisji, niezależnie od zastosowanej λ_{em} (420 nm, 460 nm oraz 530 nm) w zadowalającym stopniu odzwierciedlają długofalowe pasmo absorpcji, co świadczy o istnieniu formy kationowej o strukturze alloksazynowej w stanie podstawowym, z której następuje fluorescencja (**Rysunek 114A**). W mniej kwasowych warunkach (pH = 4.8), niezależnie od zastosowanej λ_{exc} obserwuje się obecność jednego pasma emisji, którego maksimum lokalizuje się przy 423 nm. Biorąc pod uwagę widma wzbudzenia zarejestrowane w tym punkcie pH przy $\lambda_{em} = 420$ nm oraz 460 nm można wnioskować, iż za fluorescencję w

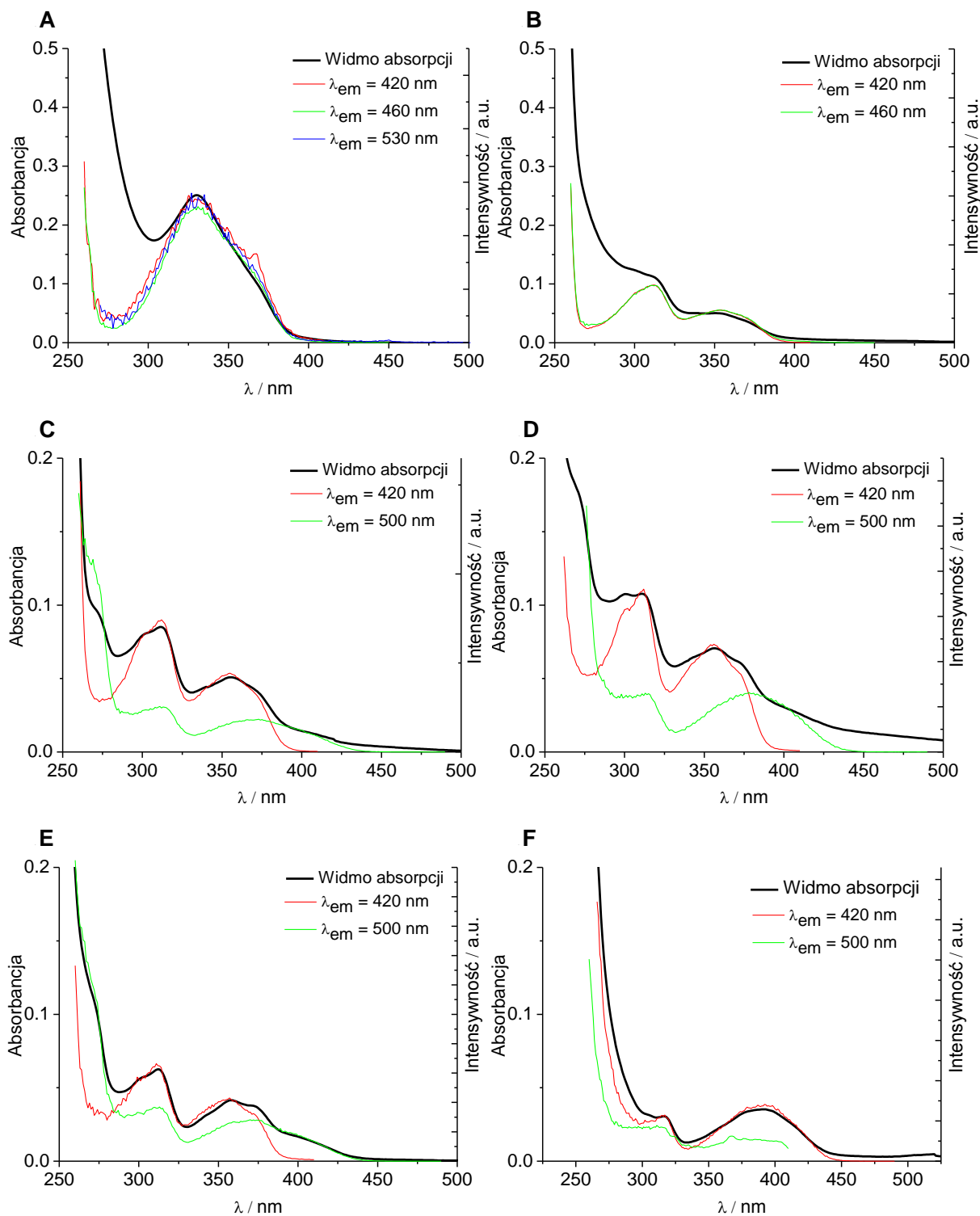
tym punkcie pH odpowiada forma neutralna 5DAII (N, **Rysunek 117**). W bardziej zasadowych warunkach (pH 9.1 - 12.6) następuje inny przebieg widm emisji w porównaniu do omówionego przy pH = 4.8. Przy zastosowaniu jako $\lambda_{exc} = 320$ nm oraz 346 nm dla pH 9.1 obserwuje się obecność pojedynczego pasma emisji z maksimum zlokalizowanym przy około 416 nm. W nieco bardziej zasadowych warunkach pH oprócz pasma krótkofalowego, zaczyna wyodrębniać się nowe, usytuowane długofalowe z maksimum zlokalizowanym przy około 471 nm. W tych warunkach, zgodnie z doniesieniami literaturowymi (114), postulowana jest obecność dwóch form monoanionowych, które powstają poprzez odłączenie protonów z grup N(1)-H oraz N(3)-H. Monoaniony te posiadają strukturę alloksazynową i odpowiadają za obecność krótkofalowego pasma emisji. Z kolei wyodrębnione dodatkowe pasmo długofalowe powstaje na skutek fluorescencji monoanionu o strukturze izoalloksazynowej (**10NA, Rysunek 117**), który powstaje już w stanie podstawowym wskutek wewnątrzcząsteczkowej tautomerizacji zachodzącej po odłączeniu atomu wodoru z grupy N(1)-H. Zastosowanie dodatkowej $\lambda_{exc} = 410$ nm dla pH = 11.6 oraz 12.6 skutkuje powstaniem widma emisji z maksimum przy około 478 nm. Porównanie widm absorpcji z widmami wzbudzenia zarejestrowanymi przy $\lambda_{em} = 420$ nm oraz 500 nm dla pH 9.1 - 12.6 wskazuje na obecność co najmniej dwóch form emitujących promieniowanie o strukturze alloksazynowej i izoalloksazynowej (**Rysunek 113**). W najbardziej alkalicznych warunkach stosowanych w badaniach równowag kwasowo-zasadowych 5DAII (pH = 13.6), niezależnie od zastosowanej λ_{exc} otrzymano widmo emisji z jednym pasmem, którego maksimum jest zlokalizowane przy około 477 nm (**Rysunek 113**). Zgodnie z danymi literaturowymi (114), w tych warunkach można oczekiwać obecności dianionu 5DAII o strukturze izoalloksazynowej (**10NA, Rysunek 117**). Porównanie widma absorpcji przy pH = 13.6 z widmami wzbudzenia $\lambda_{em} = 420$ nm oraz 500 nm wskazuje na szczątkową obecność monoanionów alloksazynowych (widmo wzbudzenia zarejestrowane przy $\lambda_{em} = 420$ nm cechuje bardzo niska intensywność, praktycznie nie odzwierciedla widma absorpcji) natomiast widmo wzbudzenia zarejestrowane przy $\lambda_{em} = 500$ nm odzwierciedla długofalowe pasmo absorpcji, czym potwierdza obecność dianionu izoalloksazynowego w badanym punkcie pH.



Rysunek 112. Widma absorpcji 5-deazaalloksazyny w wybranych warunkach pH



Rysunek 113. Widma emisji 5-deazaalloksazyny w wybranych warunkach pH, $\lambda_{exc} = 320$ nm (**A**), $\lambda_{exc} = 346$ nm (**B**) oraz $\lambda_{exc} = 410$ nm (**B**)



Rysunek 114. Widma absorpcji oraz wzbudzenia [$\lambda_{em} = 420$ nm, 460 nm, 530 nm (A); $\lambda_{em} = 420$ nm, 460 nm (B); $\lambda_{em} = 420$ nm, 500 nm (C-F)] 5-deazaalloksazyny w wybranych warunkach pH: (A) -0.50; (B) 4.8; (C) 9.1; (D) 11.6; (E) 12.5; (F) 13.6.

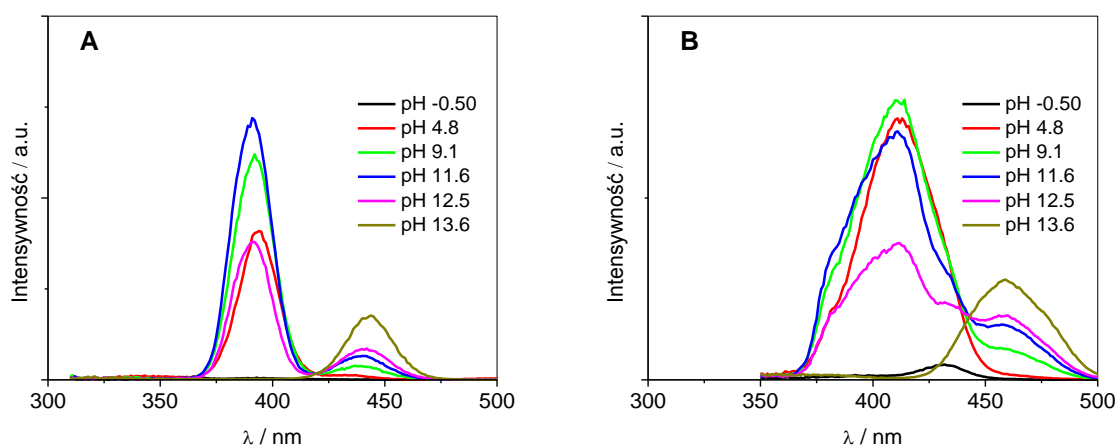
Tabela 46. Charakterystyka absorpcyjno - emisyjna 5DAll w różnych warunkach pH

pH	Absorpcja		Emisja (λ_F / nm)		
	λ_1 / nm	λ_2 / nm	$\lambda_{exc} = 320$ nm	$\lambda_{exc} = 346$ nm	$\lambda_{exc} = 410$ nm
-0.50	330	-	457	456	-
4.8	350	~308	423	423	-
9.1	355	311	416	417	-
11.6	356	311	410 / ~455	409	479
12.5	358	312	411 / 471	410 / 471	478
13.6	391	317	475	477	479

Uzupełnieniem nad dyskusją równowag kwasowo-zasadowych 5DAll ustalających się w różnych warunkach pH z wykorzystaniem metod absorpcyjno - emisyjnych, są badania omówione poniżej z wykorzystaniem widm synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej oraz widma całkowitej fluorescencji w wybranych punktach pH przedstawione odpowiednio na **Rysunkach 115** oraz **116**. Widma synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej zostały zarejestrowane przy $\Delta\lambda = 20$ nm oraz 60 nm. Podobnie jak w przypadku zastosowania tych dwóch technik fluorescencyjnych w badaniach mieszanin flawin (*rozdział 4.5*), również w tym przypadku widma SSF cechują się większą czułością i lepszą rozdzielczością w porównaniu do klasycznych widm emisji, ułatwiając stwierdzenie obecności różnych form emitujących promieniowanie. Z kolei widma całkowitej fluorescencji zarejestrowane w wybranych punktach pH stanowią swego rodzaju "odcisk palca", który niesie dodatkowe informacje o zakresie fluorescencji obecnej w danych warunkach pH.

Analiza widm SSF potwierdza w dużej mierze prowadzoną powyżej dyskusję na temat identyfikacji poszczególnych form 5DAll w różnych warunkach pH. W najbardziej kwasowych warunkach (pH = -0.50) odnotowano przy zastosowaniu $\Delta\lambda = 60$ nm obecność jednego pasma z maksimum przy około 432 nm, za którego obecność jest odpowiedzialna forma kationowa. Ze względu na znaczną różnicę pomiędzy maksimum długofalowego pasma absorpcji a maksimum emisji dla tego punktu pH (duże przesunięcie Stokesa) zastosowanie mniejszego $\Delta\lambda$ (20 nm) uniemożliwia zaobserwowanie pasma, które można by było przypisać obecności kationu. W mniej kwasowych warunkach (pH = 4.8), niezależnie od zastosowanego $\Delta\lambda$, odnaleziono obecność jednego pasma, którego maksimum jest zlokalizowane przy 394 nm ($\Delta\lambda = 20$ nm). Obecność tego pasma jest związana z formą neutralną. Przechodząc do alkalicznych warunków pH, w przedziale od 9.1 do 12.5 odnotowuje się obecność dwóch pasm w widmach synchronicznych ($\Delta\lambda = 20$ nm), dla których maksima zlokalizowane są odpowiednio przy około 391 nm oraz 440 nm.

Uwzględniając wcześniejszą dyskusję dotyczącą możliwych form 5DAII w tym zakresie, krótkofalowe pasmo w SSF można przypisać obecności monoanionów o strukturze alloksazynowej, natomiast długofalowe - monoanionowi o strukturze izoalloksazynowej. Zaletą zastosowania widm SSF nad klasycznymi pomiarami fluorescencyjnymi z wykorzystaniem widm emisji i wzbudzenia jest fakt, iż rejestrując jedno widmo dla każdego punktu pH można jednoznacznie zidentyfikować obecność różnych form strukturalnych obecnych w danych warunkach pH. Obecność dianionu izoalloksazynowego przy pH 13.6 zostaje potwierdzona obecnością jednego pasma z maksimum przy około 444 nm. Podobne prawidłowości dotyczące ilości pasm w widmach SSF można znaleźć przy $\Delta\lambda = 60$ nm, jednakże ze względu na małą wartość przesunięcia Stokesa dla $\text{pH} > -0.5$ rozdzielczość zarejestrowanych widm jest gorsza w porównaniu do $\Delta\lambda = 20$ nm (**Rysunek 115**).

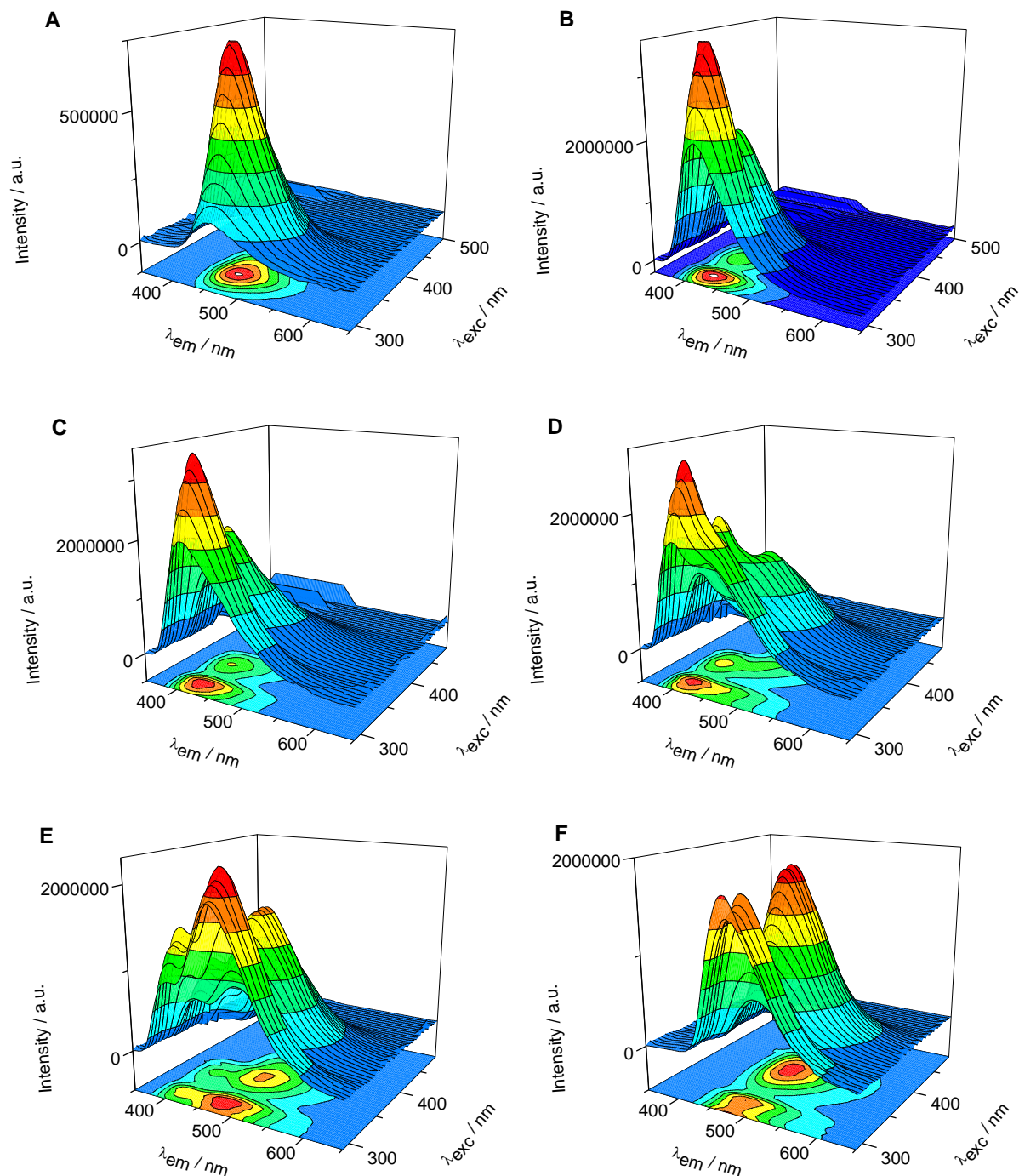


Rysunek 115. Widma synchroniczne 5-deazaalloksazyny w wybranych warunkach pH, $\Delta\lambda = 20$ nm (**A**) oraz $\Delta\lambda = 60$ nm (**B**)

Widmo całkowitej fluorescencji przy $\text{pH} = -0.5$ obejmuje obszar od około 425 nm do około 550 nm z maksimum przypadającym na około 460 nm. Przechodząc poza obszar maksimum fluorescencji, zarówno przy krótszych, jak i dłuższych długościach fali można stwierdzić stopniowe obniżanie się intensywności emisji bez wyodrębnienia dodatkowych obszarów, w których można by było zidentyfikować nowe maksima emisji. Odmienne przedstawia się widmo całkowitej fluorescencji zarejestrowane przy $\text{pH} = 4.8$, w którym dominuje forma neutralna. W tym przypadku emisję można zidentyfikować pomiędzy ok. 380 nm a 550 nm z maksimum przy około 425 nm. Podobnie jak w przypadku bardziej kwasowych warunków pH, tutaj również przechodząc do krótszych (jak również dłuższych) długości fal można zaobserwować stopniowe obniżanie intensywności fluorescencji bez wyodrębnienia dodatkowych obszarów, co stanowi kolejny dowód znacznej dominacji formy neutralnej w

tym punkcie pH. W bardziej zasadowym pH (9.1 oraz 11.6) można zidentyfikować widma całkowitej fluorescencji o bardzo podobnym charakterze, mianowicie, obszar fluorescencji mieści się w zakresie od około 370 nm i około 550 nm z maksimum zlokalizowanym przy około 415 nm. Z drugiej strony, brakuje w tych przypadkach wyraźnie wyodrębnionych obszarów, które można by było przypisać monoanionowi izoalloksazynowemu, co świadczy również o dominacji monoanionów alloksazynowych w tym zakresie pH. Dopiero w bardziej alkalicznych warunkach (pH = 12.5) obserwuje się wyraźne poszerzenie obszaru fluorescencji, która w tym wypadku mieści się w przedziale od około 380 nm do około 600 nm z maksimum przy około 480 nm. Świadczy to o zmianie dominacji na formy izoalloksazynowe. Dla najbardziej alkalicznego pH (13.6) obszar fluorescencji znajduje się pomiędzy około 425 nm a około 600 nm z maksimum przy około 480 nm. Warto podkreślić, iż obszar maksymalnej fluorescencji pojawia się w innym, bardziej długofalowym, zakresie wzbudzenia (ok. 350 nm - 400 nm). Świadczy to również o obecności form izoalloksazynowych już w stanie podstawowym. W przypadku mniej alkalicznych lub kwasowych warunków pH maksima fluorescencji przypadają na bardziej krótkofalowy zakres wzbudzenia (około 300 nm - 350 nm).

Dla wybranych punktów pH, w których znajdowała się cząsteczka 5DAll, zostały wyznaczone wartości wydajności kwantowej fluorescencji (całkowitej) oraz zarejestrowane zaniki fluorescencji w tych punktach pH. Roztwór 5DAll w danym punkcie pH był wzbudzany przy 368 nm (dla pH = -0.50 zastosowano $\lambda_{exc} = 338$ nm) natomiast emisja była obserwowana w jednym punkcie: 420 nm lub 500 nm oraz dla pH w zakresie od 9.1 do 12.5 w obydwu miejscach jednocześnie. W przypadku pH = -0.50 zastosowano $\lambda_{em} = 460$ nm. Dane dotyczące wydajności kwantowych fluorescencji oraz czasów życia zostały zawarte w **Tabeli 47**. W poszczególnych punktach pH można stwierdzić obecność różnych form emitujących promieniowanie, a dane pochodzące z pomiarów czasowo-rozdzielczych generalnie dobrze odzwierciedlają dyskusję przeprowadzoną powyżej, która dotyczyła identyfikacji form 5DAll w różnych warunkach pH oraz stwierdzenia zachodzącej równowagi pomiędzy nimi z otrzymanych rezultatów w pomiarach stacjonarnych.



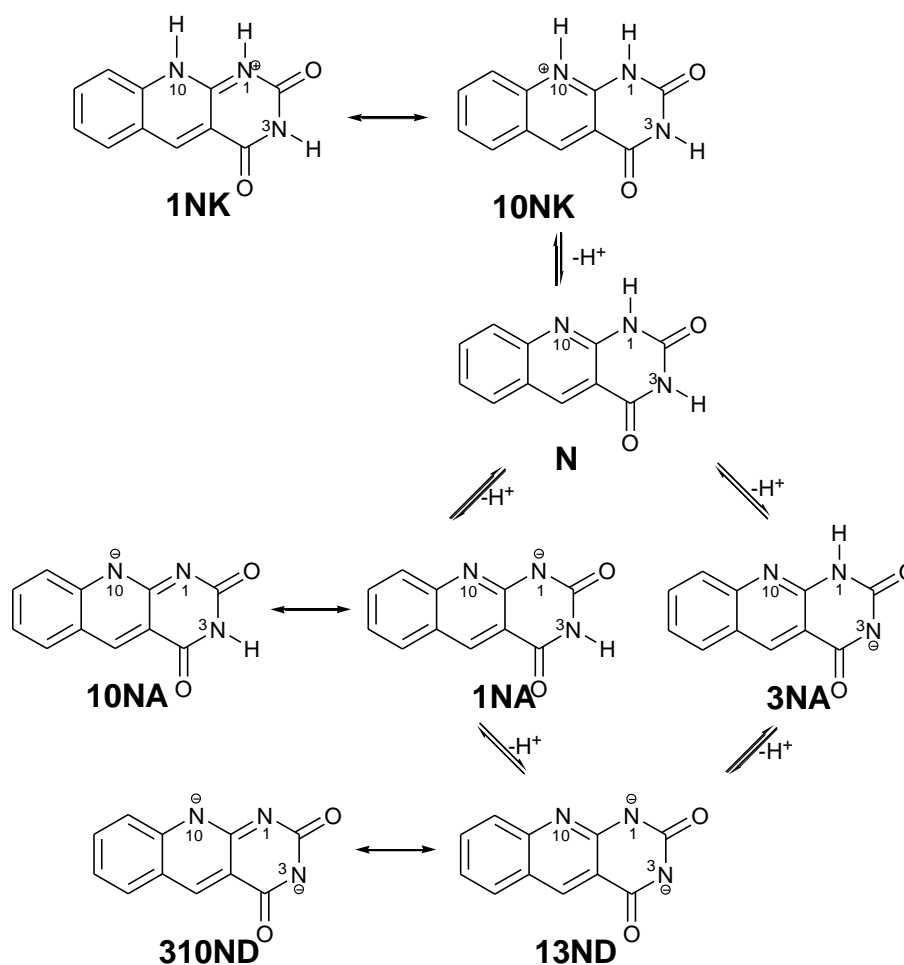
Rysunek 116. Wykres całkowitej fluorescencji dla 5-deazaalloksazyny w różnych warunkach pH: (A) -0.50; (B) 4.8; (C) 9.1; (D) 11.6; (E) 12.5; (F) 13.6.

W przypadku pH = -0.50 stwierdzono przy zastosowaniu $\lambda_{exc} = 338$ nm oraz $\lambda_{em} = 460$ nm obecność jednej formy, której czas zaniku wynosił 1.4 ns. Biorąc pod uwagę powyższą dyskusję oraz dane literaturowe (176), można postulować, iż jest to czas zaniku kationu 5DAll o strukturze izoalloksazynowej. Wydajność kwantowa fluorescencji dla tego punktu pH jest zdecydowanie niższa w porównaniu do kolejnych punktów pH i wynosi 0.02. W

przypadku $\text{pH} = 4.8$, zgodnie z wynikami otrzymanymi z badań stacjonarnych, stwierdzono obecność formy neutralnej 5DAll, która odpowiadała zarówno za absorpcję jak i fluorescencję w tym pH . Wydaje się, iż również pomiary czasowo-rozdzielcze potwierdzają tę tezę, zarejestrowany zanik dobrze opisuje funkcja monoeksponencjalna, a uzyskana wartość τ_F wynosi 9.2 ns. Wyznaczona wartość Φ_F to 0.18, uwzględniając wyznaczone wcześniej wartości Φ_F dla 5DAll w polarnych rozpuszczalnikach organicznych (między innymi acetonitryl oraz etanol) wykazują dobrą korelację (0.18 w ACN oraz 0.21 w EtOH, **Tabela 7**). W zakresie alkalicznym pH (9.1 oraz 11.6) wyliczone wartości Φ_F są praktycznie jednakowe i wynoszą około 0.20, jednakże zarejestrowane zaniki fluorescencji przy $\lambda_{em} = 420$ nm oraz 500 nm nie w każdym przypadku, w zadowalającym stopniu opisuje funkcja monoeksponencjalna. Biorąc pod uwagę $\text{pH} = 9.1$ oraz $\lambda_{em} = 420$ nm stwierdzono obecność dwóch składników z czasami życia oraz procentowym udziałem odpowiednio: 8.9 ns (60%) oraz 3.3 ns (40%). Uwzględniając τ_F formy neutralnej 5DAll obecnej przy $\text{pH} = 4.8$ (9.2 ns) można postulować, iż obecnie notowany dłuższy czas pochodzi udziału formy neutralnej, natomiast składnik wykazujący krótszy czas życia fluorescencji to monoanion alloksazynowy. Z kolei obserwacja zaników fluorescencji przy tym samym pH , lecz z zastosowaniem $\lambda_{em} = 500$ nm pozwala stwierdzić obecność dwóch składników z czasami życia odpowiednio: 11.7 ns (90%) oraz 3.4 ns (10%). Pierwszy z wyznaczonych czasów życia pochodzi prawdopodobnie od monoanionu izoalloksazynowego, natomiast krótszy czas z mniejszym udziałem pochodzi od monoanionu alloksazynowego. Z podobnymi formami strukturalnymi 5DAll mamy do czynienia przy $\text{pH} = 11.6$, jednakże pomiary czasowo - rozdzielcze nie wskazują na obecność formy neutralnej 5DAll. Notowana jest obecność monoanionu alloksazynowego (2.6 ns przy $\lambda_{em} = 420$ nm) oraz monoanionu izoalloksazynowego (9.2 ns przy $\lambda_{em} = 500$ nm). Przejście do najbardziej alkalicznego pH (13.6) powoduje wyznaczenie $\Phi_F = 0.18$, natomiast wyznaczony τ_F przy $\lambda_{em} = 500$ nm wynosi 6.2 ns. Wartość ta pochodzi od dianionu o strukturze izoalloksazynowej. Dodatkowo, niezależnie od zastosowanej długości fali promieniowania wzbudzającego, wyznaczone wartości Φ_F w poszczególnych punktach pH były praktycznie jednakowe. Podsumowaniem omówionych równowag kwasowo-zasadowych wraz z identyfikacją form strukturalnych 5DAll ustalających się w różnych warunkach pH w stanie podstawowym i wzbudzonym została przedstawiona na **Rysunku 117**.

Tabela 47. Wydajności kwantowe (Φ_F) oraz czasy życia fluorescencji (τ) dla 5DAII w różnych warunkach pH zarejestrowane przy $\lambda_{exc} = 368$ nm oraz 338 nm (dla pH = -0.50) oraz $\lambda_{em} = 420$ nm i / lub 500 nm oraz 460 nm (dla pH = -0.50).

pH	Φ_F	Czas życia fluorescencji					χ^2
		λ_{em} / nm	τ_1 / ns	Udział (%)	τ_2 / ns	Udział (%)	
-0.50	0.02	460	1.4	100	-	-	1.5
4.8	0.18	420	9.2	100	-	-	1.4
9.1	0.20	420	8.9	60	3.3	40	1.2
		500	11.7	90	3.4	10	1.3
11.6	0.21	420	3.5	100	-	-	1.0
		500	3.5	10	11.8	90	1.3
12.5	0.21	420	2.6	100	-	-	0.9
		500	9.2	100	-	-	1.2
13.6	0.18	500	6.2	100	-	-	1.2



Rysunek 117. Równowagi kwasowo-zasadowe oraz formy strukturalne 5DAII ustalające się w różnych warunkach pH w stanie podstawowym i wzbudzonym

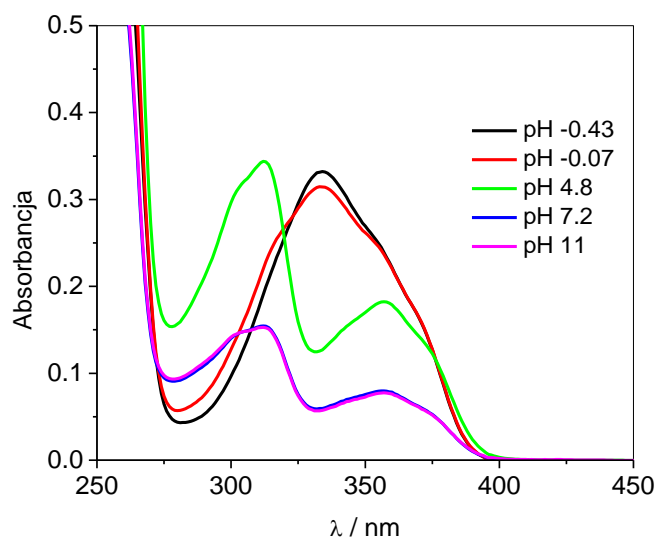
4.7.2. Równowagi kwasowo-zasadowe 1,3-dimetylo-5-dezaalloksazyny

Ze względu na ograniczoną możliwość tworzenia form anionowych dla 13Me-5DAI1 w zasadowych warunkach pH, identyfikacja możliwych form oraz określenia zachodzących równowag pomiędzy nimi wydaje się prostsza, ponieważ ogranicza się wyłącznie do możliwości utworzenia kationu na atomie azotu N(10) oraz występowania cząsteczki w formie neutralnej.

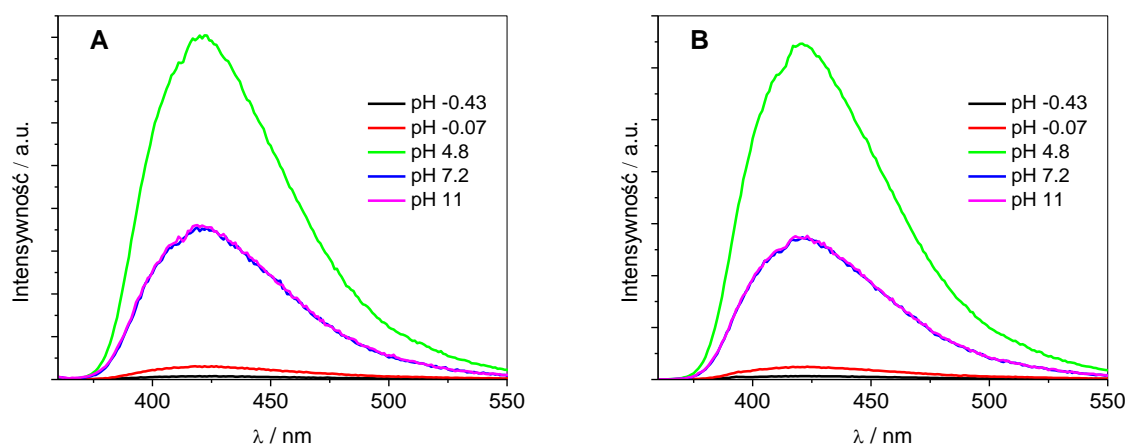
Widma absorpcji 13Me-5DAI1 w wybranych punktach pH przedstawiono na **Rysunku 118**. Zgodnie z przedstawionymi danymi, w zależności od warunków pH można wyodrębnić dwa różne przebiegi widm absorpcji. W przypadku silnie kwasowych wartości pH (-0.43 i -0.07) w długofalowej części widma obserwuje się obecność jednego pasma, którego maksimum jest zlokalizowane przy około 334 nm. Biorąc pod uwagę wcześniejszą dyskusję przeprowadzoną dla 5DAI1 oraz mając na uwadze doniesienia literaturowe (114) na podstawie struktury cząsteczki 13Me-5DAI1 można postulować, iż w tych warunkach tworzy się kation o strukturze alloksazynowej (**10NKA**, **Rysunek 123**), dla którego ładunek dodatni gromadzi się na atomie azotu N(10). Przy przechodzeniu do mniej kwasowych, neutralnych oraz zasadowych warunków pH obserwuje się dokładnie taki sam przebieg widma absorpcji, z wyodrębnionymi dwoma dobrze rozdzielonymi pasmami absorpcji zlokalizowanymi przy około 312 nm oraz 357 nm. W tym przypadku można wnioskować o obecności tej samej formy, niezależnie od warunków pH - mianowicie formy neutralnej 13Me-5DAI1 (**NA**, **Rysunek 123**).

Nieco inaczej przedstawia się sytuacja równowag kwasowo-zasadowych 13Me-5DAI1 w stanie wzbudzonym. Na podstawie przedstawionych widm emisji 13Me-5DAI1 w wybranych warunkach pH (**Rysunek 119**), zarejestrowanych przy $\lambda_{exc} = 320$ nm oraz 346 nm, można stwierdzić, iż niezależnie od zastosowanej długości fali promieniowania wzbudzającego, odnotowuje się pasmo o jednakowym kształcie i przebiegu, którego maksimum jest zlokalizowane przy około 420 nm. W związku z tym, w stanie wzbudzonym można zidentyfikować obecność jednej postaci strukturalnej 13Me-5DAI1, mianowicie formę neutralną. W przypadku dwóch punktów o najniższym pH (-0.43 oraz -0.07), dla których zidentyfikowano obecność kationu w stanie podstawowym, zgodnie z danymi emisyjnymi (**Rysunek 119**) formy kationowej 13Me-5DAI1 nie można zidentyfikować w stanie wzbudzonym. Emitującą formą w tym wypadku jest postać neutralna. Należy podkreślić, iż w najbardziej kwasowych warunkach pH obserwuje się znaczne zredukowanie intensywności fluorescencji (co przekłada się na obniżenie wydajności kwantowych fluorescencji - dyskusja

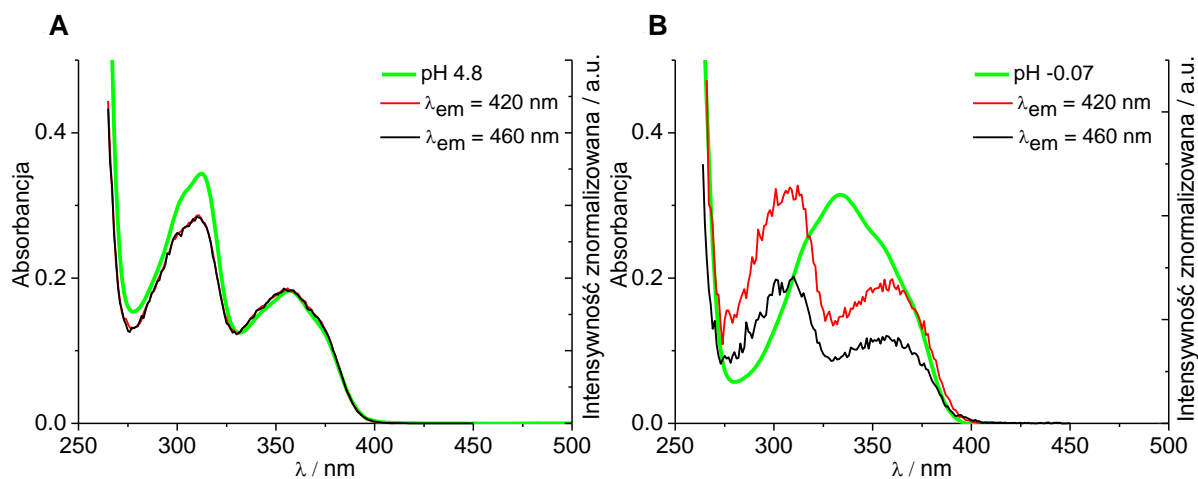
poniżej). Jedną z możliwych dróg wytłumaczenia tego zjawiska jest zachodzenie procesu wygaszania formy kationowej 13Me-5DAII przez te same molekuly znajdujące się w stanie podstawowym. Porównanie widm absorpcji przy pH -0.07 i 4.8 z widmami wzbudzenia zarejestrowanymi przy $\lambda_{em} = 420$ nm oraz 460 nm wskazuje, iż w obydwu przypadkach mamy do czynienia z emisją formy neutralnej - w przypadku pH = 4.8, niezależnie od wybranej λ_{em} , widma wzbudzenia odzwierciedlają widmo absorpcji. Z kolei przy pH = -0.07 widma wzbudzenia zupełnie odbiegają od absorpcji, wskazując na obecność w stanie wzbudzonym formy neutralnej 13Me-5DAII. Uzupełnieniem badań nad równowagami kwasowo-zasadowymi dla 13Me-5DAII, podobnie jak w przypadku 5DAII, są widma synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej oraz widma całkowitej fluorescencji zarejestrowane w wybranych punktach pH (**Rysunek 121 i 122**). Widma SSF, niezależnie od zastosowanego $\Delta\lambda$ (20 nm lub 60 nm) oraz warunków pH, posiadają jedno pasmo, którego maksimum jest zlokalizowane przy około 395 nm ($\Delta\lambda = 20$ nm) oraz przy około 415 nm ($\Delta\lambda = 60$ nm). Wskazuje to na obecność formy neutralnej. Z podobną sytuacją mamy do czynienia dla widm całkowitej fluorescencji zarejestrowanych przy pH 4.8 i -0.07 (**Rysunek 122**). W obydwu przypadkach można stwierdzić, iż fluorescencja znajduje się w obszarze od około 390 nm do około 500 nm z maksimum usytuowanym przy około 420 nm. Wychodząc poza obszar maksimum, w kierunku dłuższych, jak i krótszych fal, nie obserwuje się obecności żadnych dodatkowych obszarów fluorescencji. Jest to kolejny dowód na obecność formy neutralnej w stanie wzbudzonym 13Me-5DAII, niezależnie od warunków pH.



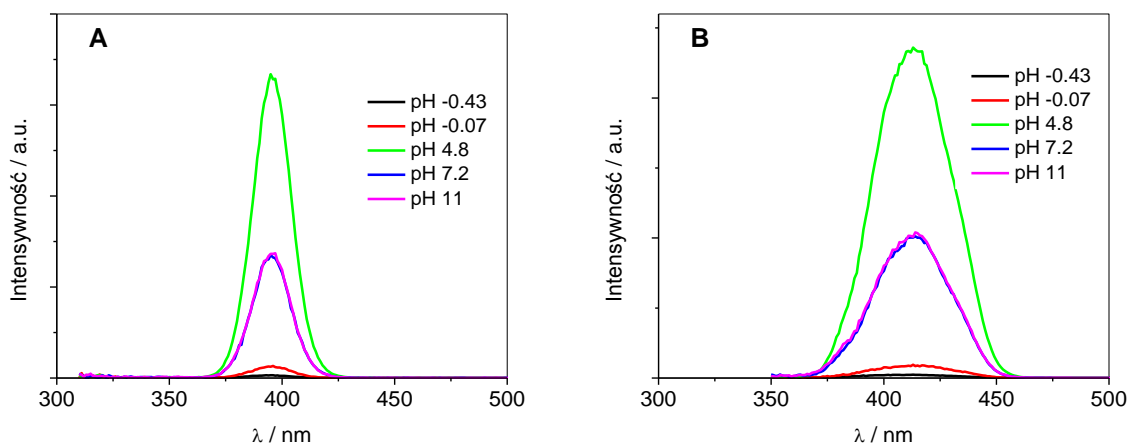
Rysunek 118. Widma absorpcji 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny w wybranych warunkach pH



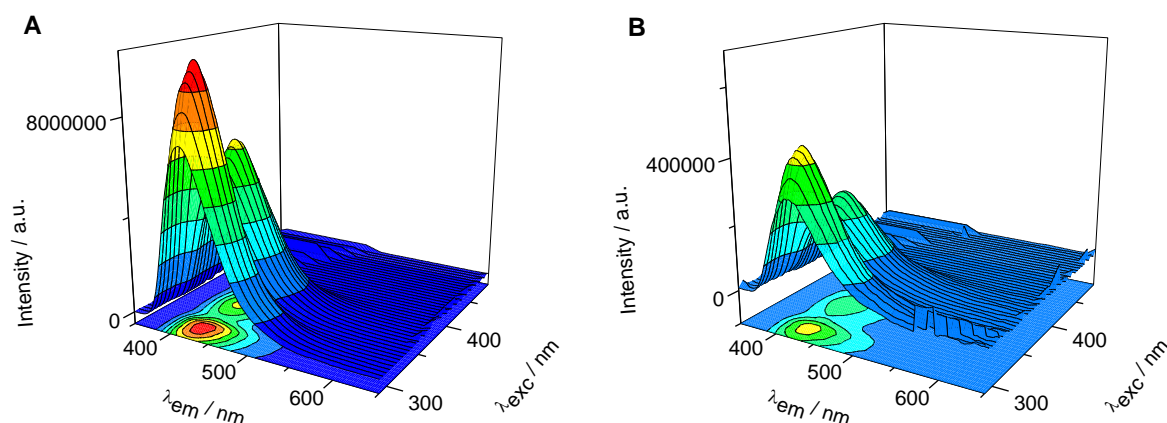
Rysunek 119. Widma emisji 1,3-dimetylo-5-dezaalloksazyny w wybranych warunkach pH, $\lambda_{\text{exc}} = 320 \text{ nm}$ (A) oraz $\lambda_{\text{exc}} = 346 \text{ nm}$ (B)



Rysunek 120. Widma absorpcji oraz wzbudzenia ($\lambda_{\text{em}} = 420 \text{ nm}$ oraz 460 nm) 1,3-dimetylo-5-dezaalloksazyny w wybranych warunkach pH: 4.8 (A) oraz -0.07 (B)



Rysunek 121. Widma synchroniczne 1,3-dimetylo-5-dezaalloksazyny w wybranych warunkach pH, $\Delta\lambda = 20 \text{ nm}$ (A) oraz $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$ (B)



Rysunek 122. Wykres całkowitej fluorescencji dla 1,3-dimetylo-5-dezaalloksazyny w różnych warunkach pH: (A) 4.8; (B) -0.07.

Ponadto, zostały wyznaczone wartości wydajności kwantowej fluorescencji (Φ_F) oraz wyznaczone czasy życia fluorescencji (τ_F) dla 13Me-5DAll w różnych warunkach pH. Dane zostały zebrane w **Tabeli 48**.

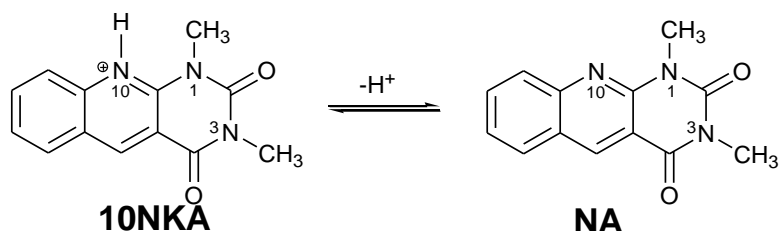
Tabela 48. Wydajności kwantowe (Φ_F) oraz czasy życia fluorescencji (τ_F) dla 13Me-5DAll w różnych warunkach pH zarejestrowane przy $\lambda_{exc} = 368$ nm oraz $\lambda_{em} = 420$ nm oraz 460 nm

pH	Φ_F	$\lambda_{em} = 420$ nm		$\lambda_{em} = 460$ nm	
		τ_F / ns	χ^2	τ_F / ns	χ^2
-0.43	0.002	0.9	1.7	0.7	1.7
-0.07	0.006	1.1	1.1	1.1	1.1
4.8	0.20	5.7	1.2	5.7	1.2
7.2	0.17	5.2	1.1	5.4	1.2
11	0.18	5.2	1.1	5.2	1.0

Wartości wydajności kwantowych fluorescencji można podzielić na dwie grupy - pierwszą z nich, rozpoczynającą się od pH = 4.8, a kończącą na pH = 11, w której Φ_F są typowe dla 13Me-5DAll nieposiadającej żadnego ładunku, tzn. formy neutralnej, gdzie wartości mieszczą się w przedziale od 0.17 do 0.20 (drobne modyfikacje wartości mogą wynikać ze zmiany warunków pH) oraz drugą grupę, w której wartości Φ_F są znacznie niższe (0.002 oraz 0.006) i dotyczą silnie kwasowych warunków pH (odpowiednio pH -0.43 oraz -0.07). W tym wypadku, zgodnie z wcześniejszą dyskusją, mamy również do czynienia z fluorescencją pochodzącą od formy neutralnej, natomiast znaczne obniżenie wydajności kwantowej fluorescencji może być związane z procesami wygaszania zachodzącymi w warunkach

kwasowych. Pośrednim dowodem na istnienie tego zjawiska są wyznaczone czasy życia fluorescencji (τ_F) w różnych punktach pH. W celu rejestracji zaników fluorescencji do wzbudzenia zastosowano $\lambda_{exc} = 368$ nm, natomiast fluorescencja była obserwowana z użyciem $\lambda_{em} = 420$ nm oraz 460 nm. Należy podkreślić, iż w każdym przypadku zanik fluorescencji w zadowalającym stopniu opisywała funkcja monoeksponencjalna (przedstawione w **Tabeli 48** wartości χ^2 mieszczą się w przedziale od 1.1 do 1.7). Niezależnie od zastosowanej λ_{em} w danym punkcie pH stwierdza się praktycznie identyczną wartość czasu życia fluorescencji, przy czym w silnie kwasowych warunkach pH odnotowuje się znaczne skrócenie wartości τ_F w porównaniu do warunków mniej kwasowych, jak również zasadowych, co koreluje się z obniżeniem wydajności kwantowej fluorescencji w warunkach silnie kwasowych. Przy pH = -0.43 oraz -0.07 notuje się wartości $\tau_F \sim 1$ ns, natomiast przy wyższych wartościach pH wartość τ_F wzrasta do około 5 ns, co jest typową wartością dla czasu życia 13Me-5DAII w formie neutralnej w wodzie.

Podsumowanie omówionych równowag kwasowo-zasadowych wraz z identyfikacją form strukturalnych 13Me-5DAII ustalających się w różnych warunkach pH w stanie podstawowym i wzbudzonym została przedstawiona na **Rysunku 123**.



Rysunek 123. Równowagi kwasowo-zasadowe oraz formy strukturalne 13Me-5DAII ustalające się w różnych warunkach pH w stanie podstawowym i wzbudzonym

4.8. Efekty solwatochromowe dla pochodnych 5-deazaalloksazyny z wykorzystaniem różnych skal polarności

W celu określenia i analizy rodzajów oddziaływań, które mogą powstawać pomiędzy cząsteczkami różnych pochodnych 5-deazaalloksazyny oraz stosowanymi rozpuszczalnikami wybrano do rozważań trzy pochodne, mianowicie: 8-metylo-5-deazaalloksazynę, 9-metylo-5-deazaalloksazynę oraz 10-etylo-5-deazaalloksazynę. Wykorzystując widma absorpcji i fluorescencji tych związków, efekty solwatochromowe zostały opisane przy wykorzystaniu różnych rodzajów skal polarności, wliczając między innymi skale jednoparametrowe: Δf , Dimoroth-Reichardt'a E_T^N , kwasowości (SA) oraz zasadowości rozpuszczalników (SB). Uzupełnieniem opisu efektów solwatochromowych przy uwzględnieniu skal jednoparametrowych jest czteroparametrowa skala zaproponowana przez Catalán'a. Krótki opis używanych skal polarności rozpuszczalników oraz wartości stałych przypisywanym dla rozpuszczalników w każdej z wymienionych skal został zamieszczony poniżej.

Skala Δf

W sposób przybliżony pozwala głównie na opis oddziaływań niespecyficznych (np. sił elektrostatycznych lub dyspersyjnych), które powstają pomiędzy cząsteczkami rozpuszczalnika a substancji rozpuszczonej. Oparta jest na teorii pola reakcji Onsager'a, związanej z efektywnym polem elektrycznym w miejscu badanej cząsteczki, oparta na równaniu Lipperta - Matagi (18):

$$\Delta f = \frac{\varepsilon - 1}{2\varepsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \quad (18)$$

gdzie: ε - przenikalność dielektryczna rozpuszczalnika, n - współczynnik załamania światła. Pierwszy człon wyrażenia $[f(\varepsilon)]$ jest funkcją opisującą polarność rozpuszczalnika, natomiast $[f(n^2)]$ to funkcja polaryzowalności rozpuszczalnika.

Skala polarności rozpuszczalników Δf w dużej mierze opisuje oddziaływania niespecyficzne pomiędzy cząsteczkami substancji rozpuszczonej oraz rozpuszczalnikiem. Wynika to głównie z faktu, iż rozpuszczalnik jest tutaj traktowany jako cząsteczka o charakterze dielektrycznym.

Skala Dimoroth-Reichardt'a E_T^N

Unormowana skala polarności rozpuszczalników, łączy w sobie skalę polarności rozpuszczalników $E_T(30)$ opartą na tak zwanym barwniku Dimoroth'a-Reichardt'a (2,6-difenylo-4-(2,4,6-trifenylo-1-pirydynio)-fenolan. Unormowana skala E_T^N wprowadza do rozważań niepolarny rozpuszczalnik, którym jest w tym przypadku TMS (tetrametylosilan), któremu przypisuje się wartość E_T równą 0. Z drugiej strony, jako najbardziej polarnym rozpuszczalnikiem jest woda (dla której przypisuje się wartość $E_T = 1$). Skala Dimoroth-Reichardt'a E_T^N bazuje na następującym równaniu:

$$E_T^N = \frac{E_T(\text{rozp.}) - 30.7}{32.4} \quad (19)$$

Skala SA

Jednparametrowa skala opisana przez Catalán'a, która uwzględnia specyficzne oddziaływania pomiędzy rozpuszczalnikiem a substancją rozpuszczoną (głównie wiązania wodorowe). W tym ujęciu kwasowość rozpuszczalnika jest rozumiana poprzez zdolność do pełnienia przez rozpuszczalnik funkcji donora wodoru w procesie tworzenia wiązania wodorowego (177).

Skala SB

Jednparametrowa skala polarności rozpuszczalników opisana przez Catalán'a. W dużej mierze odnosi się do możliwości formowania oddziaływań specyficznych pomiędzy rozpuszczalnikiem a substancją rozpuszczoną, wliczając w to wiązania wodorowe. Według skali SB donorem pary elektronowej jest rozpuszczalnik, natomiast substancja rozpuszczona jest jej akceptorem. Jako substancje wzorcowe do zdefiniowania zasadowości rozpuszczalników używa się zwykle dwóch pochodnych indoliny, mianowicie: 1-metylo-5-nitroindolinę oraz 5-nitroindolinę (178).

Tabela 49. Parametry rozpuszczalników w różnych skalach polarności rozpuszczalników: Δf , E_T^N , SA (kwasowość rozpuszczalnika), SB (zasadowość rozpuszczalnika), SdP (bipolarność rozpuszczalnika) oraz SP (polaryzowalność rozpuszczalnika)

Rozpuszczalnik	Δf (179)	E_T^N (180)	SA (181)	SB (181)	SdP (181)	SP (181)
MeOH	0.3091	0.762	0.605	0.545	0.904	0.608
EtOH	0.2896	0.654	0.400	0.658	0.783	0.633
1-PrOH	0.2748	0.617	0.367	0.782	0.748	0.658
2-PrOH	0.2769	0.546	0.283	0.830	0.808	0.633
1-BuOH	0.2643	0.586	0.341	0.809	0.655	0.674
2-BuOH	0.258	0.389	0.221	0.888	0.706	0.656
1-PeOH	0.249	0.586	0.319	0.860	0.587	0.687
1-HeOH	0.244	0.559	0.315	0.879	0.552	0.698
ACN	0.3053	0.460	0.044	0.286	0.974	0.645
Acet	0.2851	0.355	0	0.475	0.907	0.651
DMSO	0.2634	0.444	0.072	0.647	1	0.830
DCM	0.2179	0.309	0.040	0.178	0.769	0.761
CHCl ₃	0.1489	0.259	0.047	0.071	0.614	0.783
AcOEt	0.2001	0.228	0	0.542	0.603	0.656
Diox	0.020	0.164	0	0.444	0.312	0.737

Czteroparametrowa skala rozpuszczalników zaproponowana przez Catalán'a

Podejście wieloparametrowe wykorzystuje kombinacje już istniejących skal jednoparametrowych, dzięki czemu pozwala na opis zarówno specyficznych jak i niespecyficznych oddziaływań pomiędzy cząsteczkami rozpuszczalnika a substancji rozpuszczonej. Jedną ze skal wieloparametrowych jest czteroparametrowa skala zaproponowana przez Catalán'a, która została również wykorzystana do opisu efektów solwatochromowych różnych pochodnych 5DA11. W tym przypadku uwzględnia się cztery własności rozpuszczalników: kwasowość (SA), zasadowość (SB) - opisują specyficzne oddziaływania oraz dwa parametry, które odnoszą się do niespecyficznych efektów,

mianowicie polaryzowalność (SP) oraz bipolarność (SdP). Czteroparametrową skalę Catalán'a można przedstawić równaniem (20) (181):

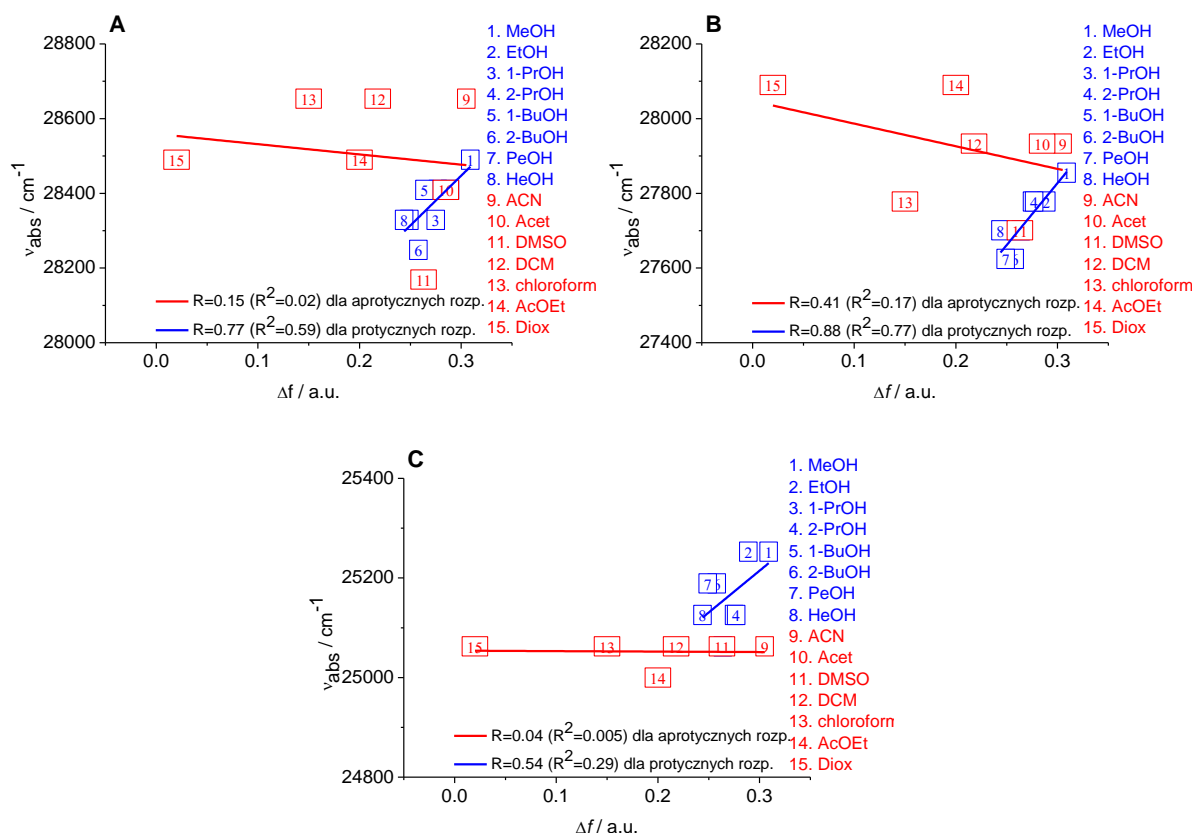
$$A = A_0 + a_{SP}SP + b_{SdP}SdP + c_{SA}SA + d_{SB}SB \quad (20)$$

gdzie: A - wartość danego paramteru fizykochemicznego w serii rozpuszczalników, A_0 - wielkość statystyczna odnosząca się do danej właściwości w fazie gazowej, SP, SdP, SA oraz SB to parametry rozpuszczalnika (opisane powyżej), a_{SP} , b_{SdP} , c_{SA} , i d_{SB} to współczynniki regresji opisujące wrażliwość parametru A_0 na różny mechanizm oddziaływań rozpuszczalnik - substancja rozpuszczona.

4.8.1. Analiza paramertów absorpcyjnych przy wykorzystaniu skali Δf

Na **Rysunku 124** przedstawiono wykresy zależności ν_{abs} [cm^{-1}] od funkcji polarności rozpuszczalnika wyrażonej poprzez Δf dla 8Me-5DAll (**A**), 9Me-5DAll (**B**) oraz 10Et-5DIzoAll (**C**). Spośród przedstawionych danych, najlepszą korelację uzyskano dla 9Me-5DAll przy uwzględnieniu oddziaływań występujących w rozpuszczalnikach protycznych ($R = 0.88$). W miarę zadowalające rezultaty liniowego dopasowania odnotowano również dla 8Me-5DAll w rozpuszczalnikach protycznych ($R = 0.77$). W przypadku 10Et-5DIzoAll korelacja obecna w rozpuszczalnikach protycznych jest zdecydowanie gorsza w porównaniu do wcześniej omówionych przypadków: $R = 0.54$. Zdecydowanie gorsze dopasowania pomiędzy ν_{abs} [cm^{-1}] oraz Δf zostały określone w rozpuszczalnikach aprotycznych we wszystkich trzech badanych pochodnych 5DAll. Obecność znacznych odchyłeń obecnych dla rozpuszczalników aprotycznych świadczy o występowaniu oddziaływań niespecyficznych pomiędzy pochodnymi 5DAll oraz stosowanymi rozpuszczalnikami. W przypadku analizy wyłącznie rozpuszczalników protycznych (alkoholi) można stwierdzić, iż wraz ze wzrostem polarności stosowanego alkoholu maksimum absorpcji nieznacznie przesuwa się w kierunku mniejszych długości fal (wyższej energii). Brak liniowości w tym przypadku może świadczyć o występowaniu oddziaływań specyficznych pomiędzy stosowanymi alkoholami oraz pochodnymi 5DAll, jednakże przy zastosowaniu skali Δf nie ma pełnej możliwości rozstrzygnięcia, które fragmenty cząsteczki pochodnych 5DAll są zaangażowane w tworzenie wiązań wodorowych, innymi słowy powstaje problem czy pochodna 5DAll pełni funkcję akceptorową i/lub donorową w procesie formowania wiązań wodorowych w stanie podstawowym. Stąd powstaje konieczność zastosowania w opisie efektów solwatochromowych bardziej szczegółowych skal polarności rozpuszczalników (dyskusja

poniżej). Z kolei zaobserwowany efekt hipsochromowy w grupie stosowanych alkoholi może świadczyć, iż bardziej polarne cząsteczki alkoholi lepiej stabilizują stan podstawowy.

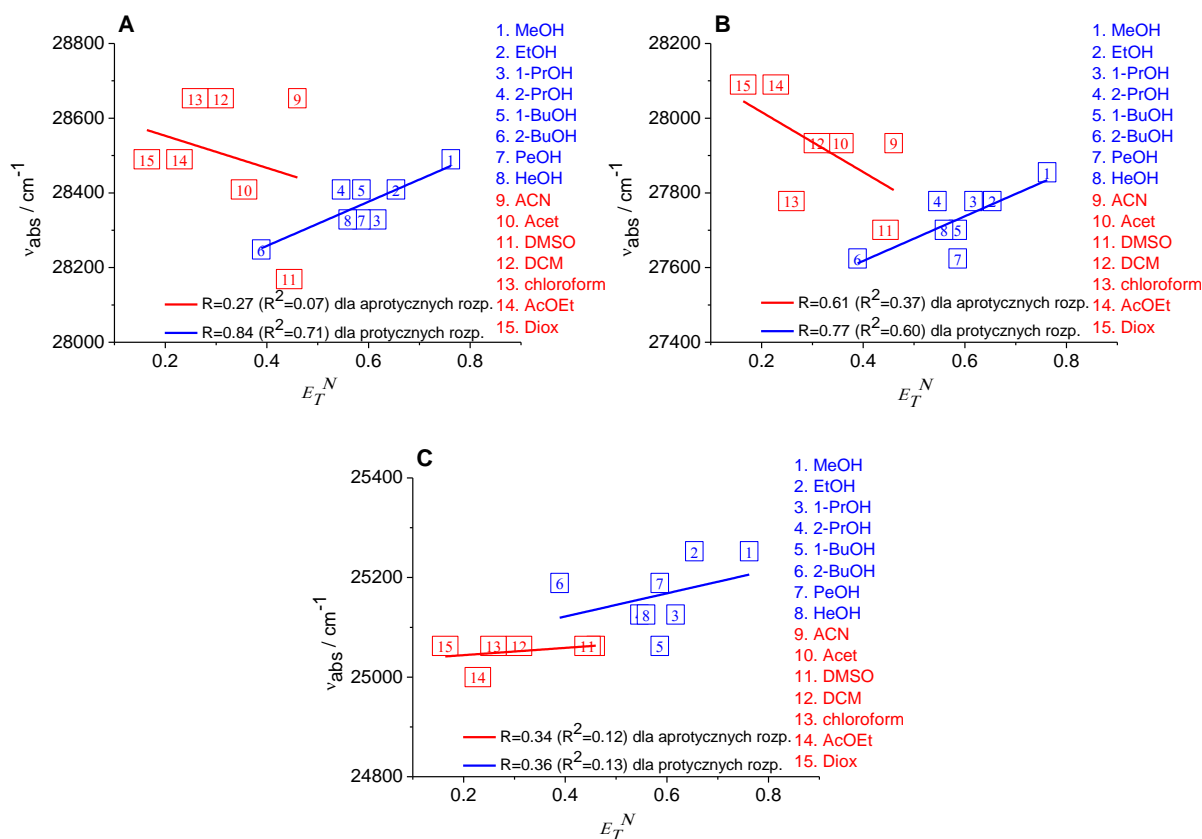


Rysunek 124. Wykres zależności ν_{abs} od Δf (ϵ, n) dla 8Me-5DAI (A), 9Me-5DAI (B) oraz 10Et-5DIzoAll (C). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynnik korelacji i determinacji podano na wykresach, na podstawie (149).

4.8.2. Analiza parametów absorpcyjnych przy wykorzystaniu skali E_T^N

Zgodnie z podanymi wcześniej informacjami, które charakteryzują poszczególne, stosowane w opisie efektów solwatochromowych skale polarności rozpuszczalników, prezentowane obecnie rezultaty dla skali E_T^N odnoszą się głównie do aspektów polarności i kwasowości rozpuszczalników. Z przedstawionych danych na **Rysunku 125** zależności pomiędzy ν_{abs} [cm^{-1}] od E_T^N dla 8Me-5DAI, 9Me-5DAI oraz 10Et-5DIzoAll (C) wraz z przeprowadzonym osobno podziałem na rozpuszczalniki protyczne (alkohole) i aprotyczne wynika, iż najbardziej interesujące rezultaty otrzymano dla 8Me-5DAI w kontekście oddziaływań z rozpuszczalnikami protycznymi ($R = 0.84$). Nieco gorsze rezultaty odnotowano dla 9Me-5DAI ($R = 0.77$). Natomiast najmniej zadowalającą korelację w rozpuszczalnikach protycznych odnotowano dla 10Et-5DIzoAll ($R = 0.36$). W tym przypadku należy

wnioskować, podobnie jak dla danych przedstawionych w poprzednim podrozdziale opisujących zależności Δf od ν_{abs} [cm^{-1}], o występowaniu oddziaływań specyficznych pomiędzy pochodnymi 5DA11 a stosowanymi alkoholami, jednak skala polarności rozpuszczalników E_T^N odpowiada tylko na kwasowość rozpuszczalnika, czyli uwzględnia oddziaływania specyficzne tylko jednego rodzaju, gdy rozpuszczalnik jest donorem wodoru do wiązania wodorowego. Lepsza korelacja danych w przypadku zastosowania skali E_T^N w porównaniu z Δf oznacza, iż takie oddziaływania są rzeczywiście obecne pomiędzy cząsteczką pochodnej 5DA11 a rozpuszczalnikiem. Z drugiej strony zastosowanie skali E_T^N nie pozwala jednoznacznie określić innych możliwych oddziaływań pomiędzy rozpuszczalnikiem a cząsteczkami pochodnych 5DA11. Wśród potencjalnych miejsc akceptorowych cząsteczek badanych pochodnych 5-deazaalloksazyny należy wymienić atom azotu N(10) oraz karbonylowe atomy tlenu znajdujące się przy atomach węgla C(2) oraz C(4). Z przytoczonych wcześniej obliczeń teoretycznych dotyczących energii wiązań wodorowych wynika, iż wiązania wodorowe formujące się pomiędzy cząsteczką 5DA11 oraz karbonyłowymi atomami tlenu w stanie podstawowym posiadają raczej niską energię. Uwzględniając różnice strukturalne pomiędzy 8Me-5DA11, 9Me-5DA11 oraz 10Et-5DIzoAll można przypuszczać, iż najlepsza korelacja liniowa pomiędzy ν_{abs} [cm^{-1}] od E_T^N dla 8Me-5DA11, nieco gorsza dla 9Me-5DA11, a najgorsza dla 10Et-5DIzoAll w rozpuszczalnikach protycznych może wynikać z różnic w gęstościach elektronowych dla poszczególnych atomów tych cząsteczek, zwłaszcza w obrębie atomu azotu N(10), która wpływa na zdolność do tworzenia wiązań wodorowych w stanie podstawowym. Również z uwagi na brak możliwości utworzenia wiązania wodorowego dla N(10) obecnego w cząsteczce 10Et-5DIzoAll z atomami wodoru grupy hydroksylowej alkoholi oraz powstającą zawadą przestrzenną związaną z obecnością grupy metylowej w pozycji "9" w cząsteczce 9Me-5DA11 korelacja liniowa w rozpuszczalnikach protycznych jest mniej akceptowalna niż obserwowana dla 8Me-5DA11. W przypadku rozpuszczalników aprotycznych, dla wszystkich trzech cząsteczek uzyskane dopasowania pomiędzy ν_{abs} [cm^{-1}] od E_T^N są niezadowalające stąd trudno jest wytłumaczyć jednoznacznie wpływ polarności rozpuszczalników na położenie maksimów absorpcji badanych pochodnych 5DA11.

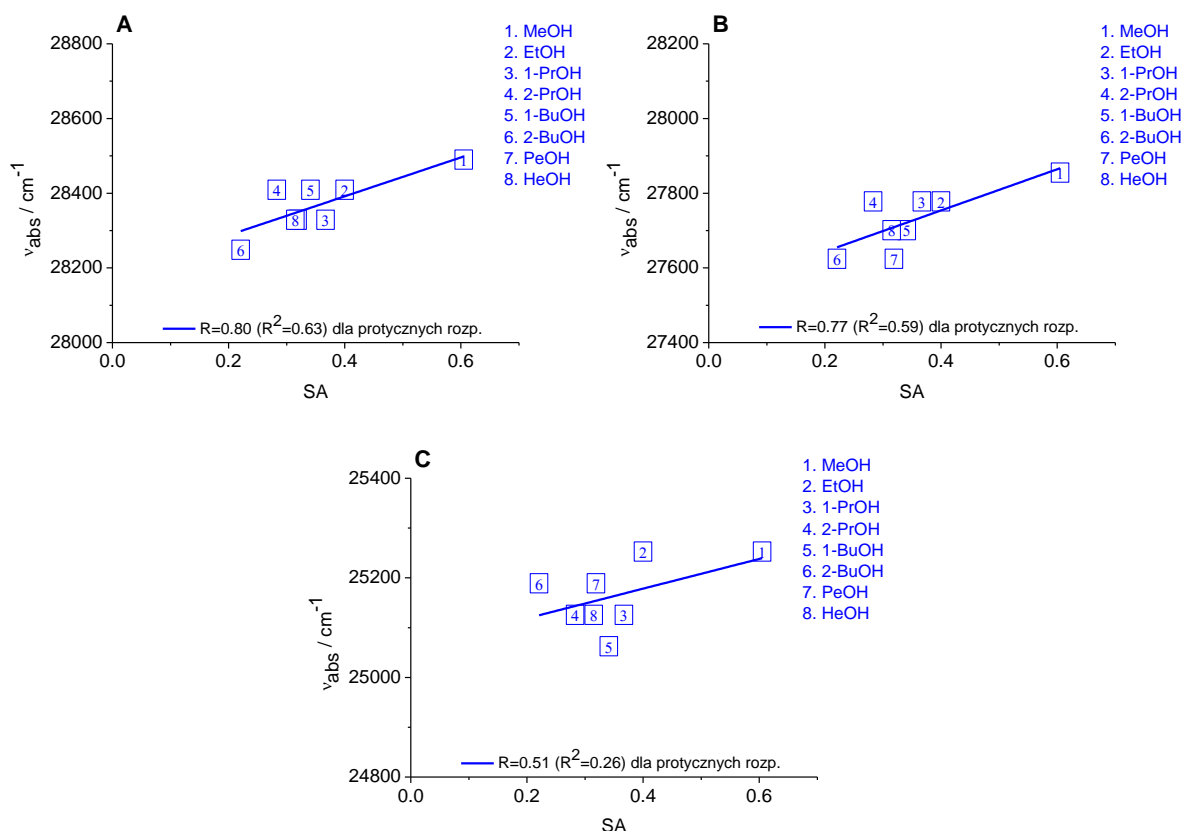


Rysunek 125. Wykres zależności ν_{abs} od E_T^N dla 8Me-5DAI (**A**), 9Me-5DAI (**B**) oraz 10Et-5DIzoAll (**C**). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynnik korelacji i determinacji podano na wykresach.

4.8.3. Analiza parametrów absorpcyjnych przy wykorzystaniu skali SA

Komplementarnym ujęciem rozważań efektów solwatochromowych przy zastosowaniu skali polarności rozpuszczalników E_T^N jest zastosowanie jednoparametrowej skali kwasowości rozpuszczalników - skali SA. Również w tym ujęciu kwasowość rozpuszczalnika może być rozumiana, jako zdolność donorowa rozpuszczalnika do tworzenia wiązań wodorowych (tj. angażowania atomu wodoru np. z grupy hydroksylowej). W celu określenia tych efektów do rozważań wybrano wyłącznie rozpuszczalniki protyczne (alkohole). Rezultaty dopasowań ν_{abs} [cm⁻¹] od SA dla 8Me-5DAI, 9Me-5DAI oraz 10Et-5DIzoAll zostały przedstawione na **Rysunku 126**. Podobnie jak w przypadku rozważań efektów solwatochromowych ν_{abs} [cm⁻¹] od E_T^N również w przypadku skali SA najlepsze dopasowanie, wyrażone poprzez najwyższą wartość współczynnika R, obserwuje się dla 8Me-5DAI (R = 0.80), nieco gorsze dla 9Me-5DAI (R = 0.77) oraz najmniej akceptowalne dla 10Et-5DIzoAll (R = 0.51). W sposób

pośredni potwierdza to przeprowadzone wcześniej hipotezy dotyczące formowania oddziaływań specyficznych (wiązań wodorowych) w stanie podstawowym pomiędzy cząsteczkami alkoholi a pochodnymi 5DAI1. Ponadto, dla wszystkich trzech pochodnych można stwierdzić, iż wraz ze wzrastającą kwasowością rozpuszczalnika następuje efekt hipsochromowy, tzn. maksima absorpcji przesuwają się w kierunku wyższej energii (krótszych fal).

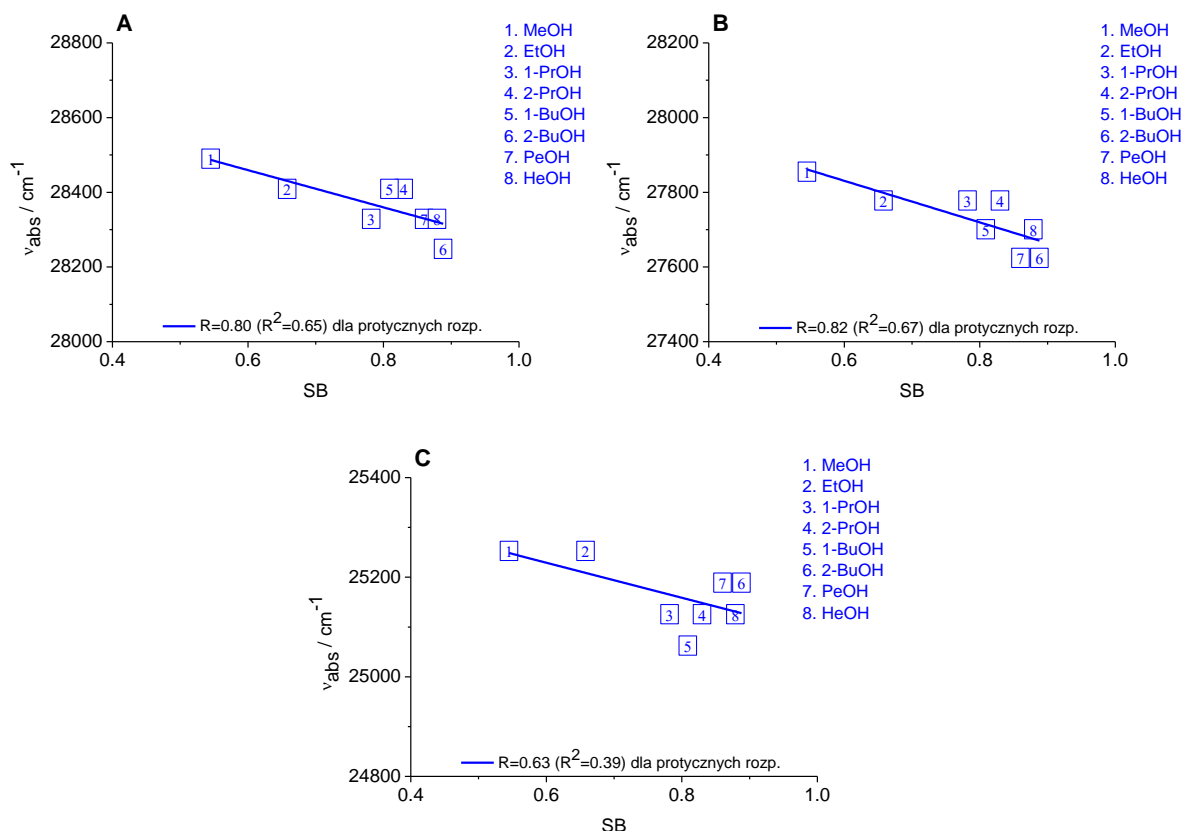


Rysunek 126. Wykres zależności v_{abs} od SA dla 8Me-5DAI1 (A), 9Me-5DAI1 (B) oraz 10Et-5DIzoAll (C). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynniki korelacji i determinacji podano na wykresach.

4.8.4. Analiza parametów absorpcyjnych przy wykorzystaniu skali SB

Innym sposobem opisu oddziaływań specyficznych (w tym wiązań wodorowych), które powstają pomiędzy badanymi pochodnymi 5DAI1 a rozpuszczalnikami protycznymi może być ujęcie skali jednoparametrowej - skali SB, która w dużej mierze koncentruje się na zasadowości rozpuszczalników. Zasadowość rozpuszczalnika protycznego może być rozumiana poprzez zdolność do pełnienia funkcji akceptora wiązania wodorowego przez rozpuszczalnik (lub inaczej, zdolność do oddawania wolnej pary elektronowej np. znajdującej się na atomie tlenu grupy hydroksylowej w alkoholach). W cząsteczkach badanych

pochodnych 5DAII istnieje kilka miejsc, które mogą pełnić funkcję donora atomu wodoru w wiązaniach wodorowych. Tutaj szczególnie należy uwzględnić atomy azotu N(1) oraz N(3) - w przypadku 8Me-5DAII oraz 9Me-5DAII związanych z atomami wodoru, natomiast w przypadku 10Et-5DIzoAll jedynie ugrupowanie N(3)-H może pełnić rolę donora w procesie formowania wiązań wodorowych. Wydaje się, że taki obraz w zadowalający sposób przedstawiają rezultaty dopasowań pomiędzy ν_{abs} od SB, które zostały przedstawione na **Rysunku 127** dla 8Me-5DAII, 9Me-5DAII oraz 10Et-5DIzoAll.



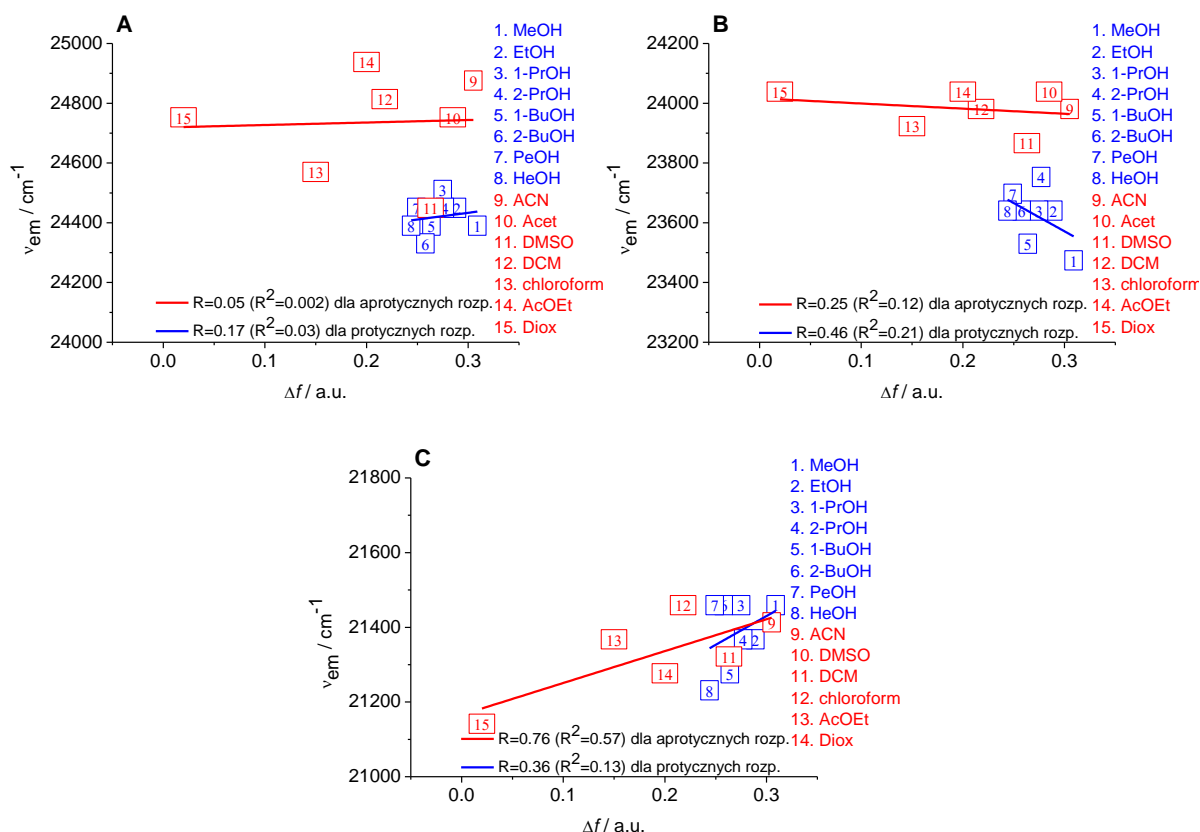
Rysunek 127. Wykres zależności ν_{abs} od SB dla 8Me-5DAII (**A**), 9Me-5DAII (**B**) oraz 10Et-5DIzoAll (**C**). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynniki korelacji i determinacji podano na wykresach.

Najbardziej zadowalające dopasowania wyrażone wysokimi wartościami współczynników R odnotowano dla 8Me-5DAII oraz 9Me-5DAII - odpowiednio $R = 0.80$ oraz $R = 0.82$. Mniej akceptowalną wartość ($R = 0.63$) odnotowano dla 10Et-5DIzoAll. Dodatkowo, generalnie w miarę wzrostu zasadowości rozpuszczalnika odnotowuje się przesunięcia maksimów absorpcji dla wszystkich trzech cząsteczek w kierunku dłuższych fal (ku niższej energii). Należy podkreślić, iż jest to zgodne z wcześniejszym modelem dyskutowanym przy

zależności maksimów absorpcji od SA, w którym stwierdzono, iż w miarę wzrostu kwasowości rozpuszczalnika, maksima absorpcji przesuują się w kierunku krótszych fal.

4.8.5. Analiza parametów emisyjnych przy wykorzystaniu skali Δf

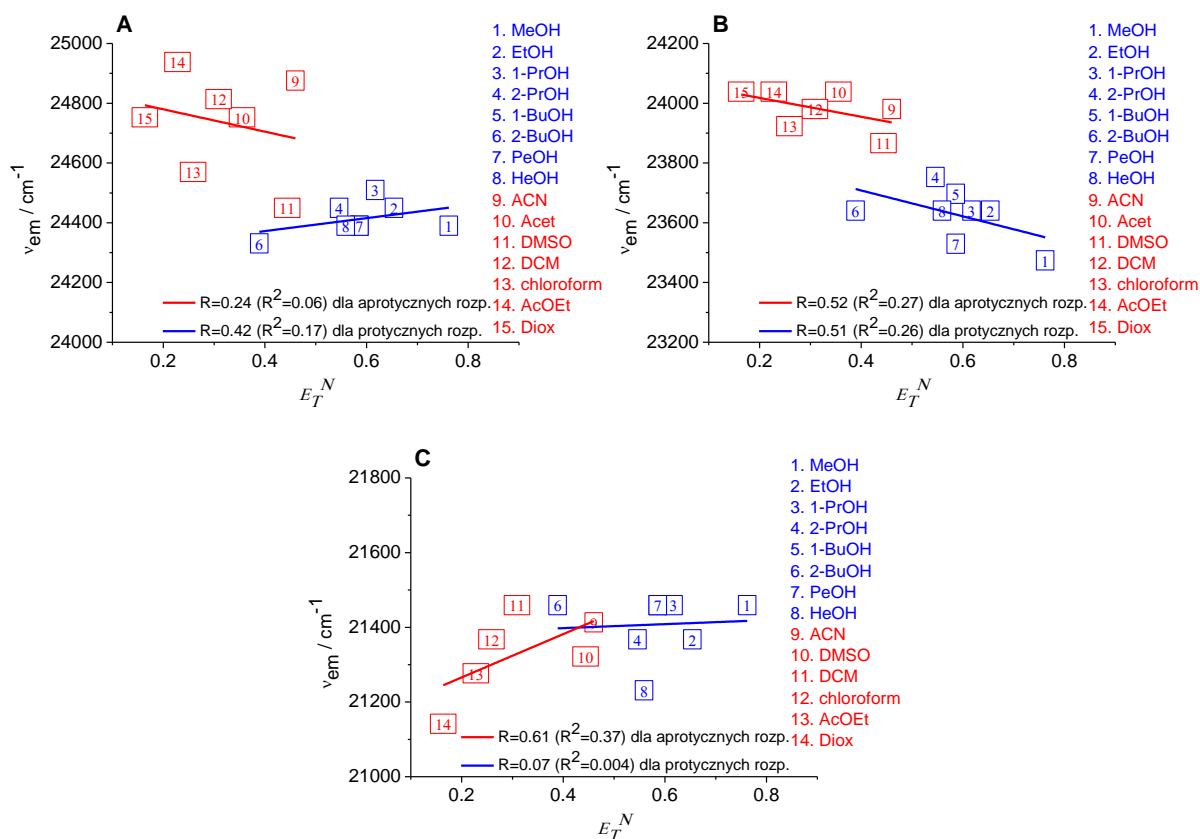
Podobnie jak w przypadku rozważań związanych z określeniem wpływu rozpuszczalnika na stan podstawowy trzech badanych pochodnych 5DA11 oraz rodzajem oddziaływań ustalających się pomiędzy rozpuszczalnikiem a badanymi pochodnymi, na początku rozważań dotyczących oddziaływań, które powstają w stanie wzbudzonym pomiędzy rozpuszczalnikami oraz cząsteczkami pochodnych 5DA11 zastosowano zależność Δf od ν_{em} [cm^{-1}] (**Rysunek 128**). Uwzględniając dane pochodzące z analizy liniowego dopasowania dla rozpuszczalników protycznych (alkoholi) należy stwierdzić, iż dla wszystkich trzech badanych pochodnych 5DA11 obserwuje się raczej niezadowalające korelacje wyrażone poprzez niskie wartości R. Najlepsze dopasowanie zostało znalezione dla 9Me-5DA11 ($R = 0.46$). Dodatkowo, porównanie uzyskanych dopasowań dla ν_{abs} [cm^{-1}] od Δf w tych samych rozpuszczalnikach pokazuje, iż w przypadku parametrów emisyjnych dopasowania są znacznie gorsze. Jednym z powodów tego fakt może być istnienie oddziaływań specyficznych (np. wiązań wodorowych) pomiędzy cząsteczkami pochodnych 5DA11 oraz używanych rozpuszczalników, które formują się w stanie wzbudzonym pochodnej 5DA11. Jednakże, podobnie jak w przypadku parametrów absorpcyjnych, tutaj również nie istnieje możliwość jednoznacznej interpretacji rodzajów oddziaływań formujących się pomiędzy alkoholami a cząsteczkami pochodnych 5DA11. Dlatego, podobnie jak w przypadku analizy parametrów absorpcyjnych oraz charakteru wiązań powstających w stanie podstawowym, tutaj również wydaje się zasadnym zastosowanie bardziej szczegółowych skal polarności rozpuszczalników. Podobnie, uwzględniając rozpuszczalniki aprotyczne oraz ich oddziaływania w stanie wzbudzonym z pochodnymi 5DA11, notuje się raczej niezadowalające dopasowania wyrażone poprzez niskie wartości współczynników R, najlepsze dopasowanie spośród badanych cząsteczek odnotowano dla 10Et-5DIzoAll ($R = 0.76$). W tym przypadku można również wnioskować, iż oddziaływania niespecyficzne odgrywają znaczącą rolę w stanie wzbudzonym na linii pochodna 5DA11 - rozpuszczalnik.



Rysunek 128. Wykres zależności ν_{em} od Δf (ϵ, n) dla 8Me-5DAI (A), 9Me-5DAI (B) oraz 10Et-5DIzoAll (C). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynniki korelacji i determinacji podano na wykresach, na podstawie (149).

4.8.6. Analiza parametów emisyjnych przy wykorzystaniu skali E_T^N

Zdecydowanie mniej zadowalające rezultaty dopasowań pomiędzy ν_{em} [cm^{-1}] od E_T^N dla 8Me-5DAI, 9Me-5DAI oraz 10Et-5DIzoAll (**Rysunek 129**) zostały odnotowane w porównaniu do badań efektów solwatochromowych ustalających się pomiędzy badanymi pochodnymi a cząsteczkami rozpuszczalników w stanie podstawowym. Niezależnie od zastosowanego rozdzielenia na rozpuszczalniki protyczne i aprotyczne, wartości dopasowań współczynnika R są niskie. Świadczyć to może o bardziej złożonym charakterze oddziaływań, które powstają w stanie wzbudzonym pomiędzy cząsteczkami pochodnych 5DAI i rozpuszczalników, stąd wydaje się zasadnym zastosowanie innych, bardziej szczegółowych skal polarności rozpuszczalników do wyjaśnienia rodzajów oddziaływań powstających w stanie wzbudzonym.

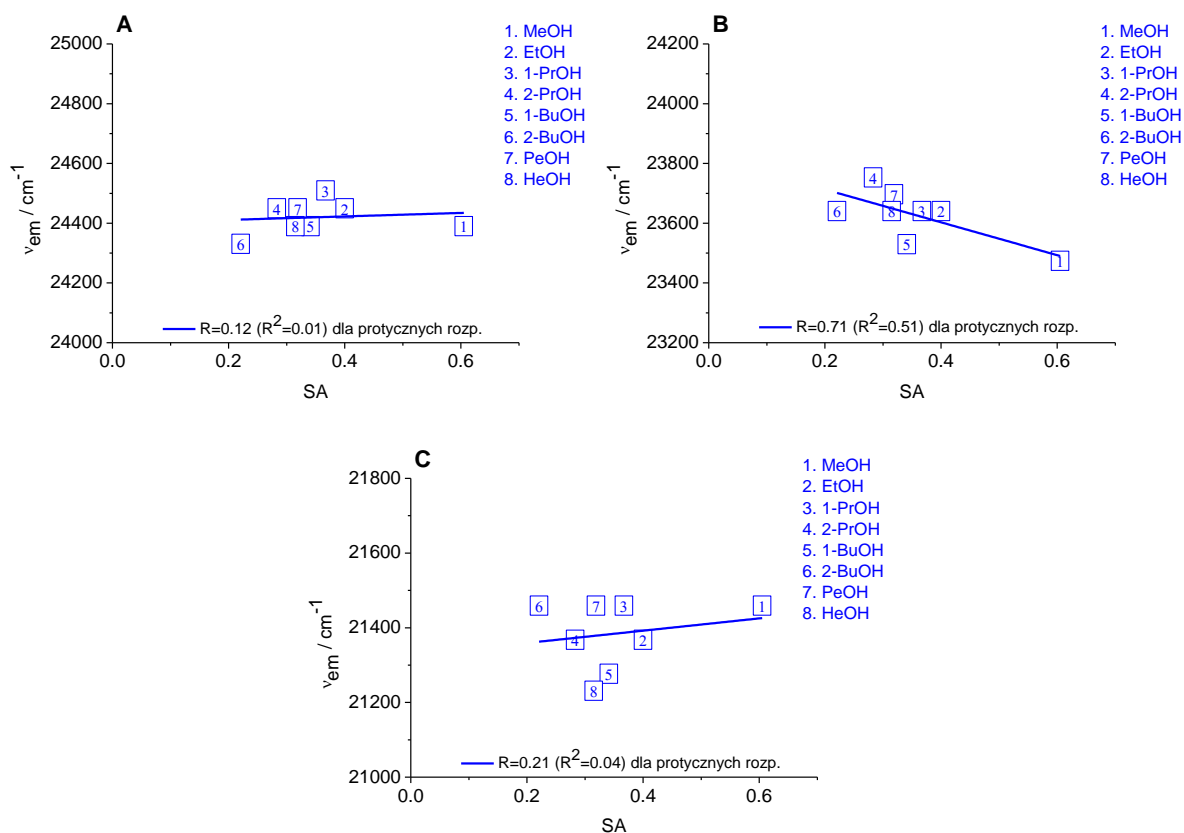


Rysunek 129. Wykres zależności ν_{em} od E_T^N dla 8Me-5DAI (A), 9Me-5DAI (B) oraz 10Et-5DIzoAll (C). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynniki korelacji i determinacji podano na wykresach.

4.8.7. Analiza parametrow emisyjnych przy wykorzystaniu skali SA

Podobnie jak w przypadku dyskusji zależności SA od ν_{abs} [cm^{-1}], uzupełnieniem dyskusji efektów solwatochromowych dla trzech badanych pochodnych 5DAI są zależności ν_{em} [cm^{-1}] od SA (**Rysunek 130**). Uwzględniając dyskusję przeprowadzoną w poprzednim podrozdziale dotyczącą opisu efektów solwatochromowych ν_{em} [cm^{-1}] od E_T^N dla 8Me-5DAI, 9Me-5DAI oraz 10Et-5DIzoAll, w przypadku dopasowań ν_{em} [cm^{-1}] od SA dla stosowanych rozpuszczalników protycznych (alkoholi) obserwuje się mniej zadowalające korelacje wyrażone niskimi wartościami współczynników R w porównaniu do ν_{abs} [cm^{-1}] od SA. Może to świadczyć o bardziej złożonym charakterze oddziaływań pomiędzy cząsteczkami alkoholi a badanymi pochodnymi 5DAI w stanie wzbudzonym oraz zaangażowaniu kilku miejsc akceptorowych wiązania wodorowego w cząsteczkach pochodnych 5DAI. Ponadto, generalnie wraz ze wzrostem wartości SA obserwuje się przesunięcia maksimów emisji ku

niższym energiiom (dłuższym falom) - jest to prawidłowość szczególnie widoczna dla 9Me-5DAI, jednakże dla 10Et-5DIzoAll obserwuje się odwrotną tendencję.

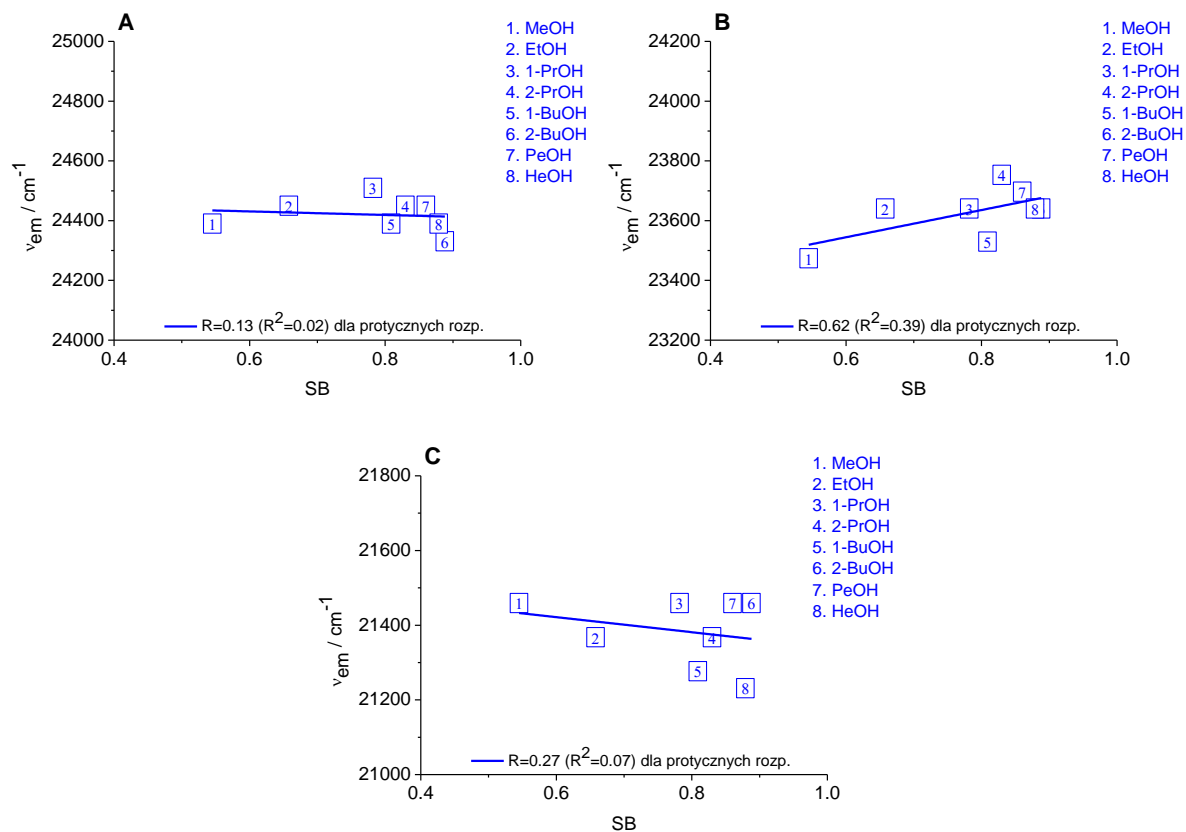


Rysunek 130. Wykres zależności ν_{em} od SA dla 8Me-5DAI (A), 9Me-5DAI (B) oraz 10Et-5DIzoAll (C). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynniki korelacji i determinacji podano na wykresach.

4.8.8. Analiza parametrow emisyjnych przy wykorzystaniu skali SB

Ujęcie jednoparametrowe uwzględniające zasadowość rozpuszczalników (SB) zostało również wykorzystane w celu weryfikacji oddziaływań specyficznych (głównie wiązań wodorowych), które tworzą się pomiędzy cząsteczkami pochodnych 5DAI oraz rozpuszczalnikami protycznymi (alkoholami) w stanie wzbudzone. W tym celu przedstawiono na **Rysunku 131** rezultaty dopasowań pomiędzy ν_{em} od SB dla 8Me-5DAI, 9Me-5DAI oraz 10Et-5DIzoAll. Podobnie jak we wcześniejszych przypadkach innych ujęć jednoparametrowych, także w przypadku skali SB dopasowania są mniej zadowalające dla wszystkich trzech pochodnych w porównaniu do analogicznych rozważań przeprowadzonych w przypadku zależności ν_{abs} od SB. Ponadto, wraz ze wzrostem zasadowości stosowanych alkoholi obserwuje się przesunięcie maksimum emisji w kierunku wyższej energii (krótszych fal). Wspomniany efekt hipsokromowy jest szczególnie widoczny w przypadku 9Me-5DAI.

Niestety, ze względu na niezadowalające dopasowania ν_{em} od SB nie można jednoznacznie wnioskować na temat charakteru oddziaływań niespecyficznych, które kształtują się pomiędzy cząsteczkami pochodnych 5DAII w stanach wzbudzonych oraz stosowanymi alkoholami.



Rysunek 131. Wykres zależności ν_{em} od SB dla 8Me-5DAII (A), 9Me-5DAII (B) oraz 10Et-5DIzoAll (C). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynniki korelacji i determinacji podano na wykresach.

4.8.9. Efekty solwatochromowe przy wykorzystaniu skali multiparametrowej Catalán'a

Jak wspomniano wcześniej, w części poprzedzającej szczegółową dyskusję efektów solwatochromowych dla 8Me-5DAII, 9Me-5DAII oraz 10Et-5DIzoAll w ujęciu różnych jednoparametrowych skal, skala multiparametrowa opisana przez Catalán'a uwzględnia cztery zmienne niezależne charakterystyczne dla danego rozpuszczalnika, do których zaliczamy: kwasowość (SA), zasadowość (SB), polaryzowalność (SP) oraz bipolarność (SdP). Wartości wymienionych zmiennych niezależnych, które są charakterystyczne dla rozpuszczalników zastosowanych w badaniach zebrano w **Tabeli 49**. Do opisu efektów solwatochromowych wykorzystano następujące właściwości związków: ν_{abs} oraz ν_{em} , które należy traktować jako

zmienne zależne. Poprawność przeprowadzonej regresji wieloparametrowej zweryfikowano za pomocą współczynnika korelacji regresji wielokrotnej liniowej R , który może przyjmować wartości pomiędzy 0 a 1. Wartość R bliższa jedności oznacza lepszą prawidłowość przeprowadzonego dopasowania oraz oddaje stopień powiązania ze sobą zmiennych niezależnych oraz zależnej. W każdym przypadku została wyliczona wartość badanej właściwości dla stanu gazowego (oznaczana jako A_0). W niektórych przypadkach, ze względu na duży błąd statystyczny dopasowania, niektóre współczynniki opisujące zmienne niezależne rozpuszczalników zostały wyeliminowane.

Tabela 50. Rezultaty statystycznych dopasowań wartości badanej właściwości (v_{abs} i v_{em}) dla 8Me-5DAI1, 9Me-5DAI1 oraz 10Et-5DIzoAll wyznaczone w oparciu o multiparametrową skalę Catalán'a dla stanu gazowego (A_0) oraz oszacowane współczynniki – a_{SP} , b_{SDP} , c_{SA} , d_{SB} wraz ze współczynnikiem korelacji regresji wielokrotnej liniowej (R), na podstawie (149).

Właściwość	A_0	a_{SP}	b_{SDP}	c_{SA}	d_{SB}	R
8Me-5DAI1						
$v_{\text{abs}} / \text{cm}^{-1}$	29540 ± 240	-940 ± 300	-180 ± 90	60 ± 120	-610 ± 80	0.94
$v_{\text{abs}} / \text{cm}^{-1}$	29580 ± 220	-1000 ± 270	-170 ± 80	-	-590 ± 60	0.95
$v_{\text{em}} / \text{cm}^{-1}$	26050 ± 380	-1590 ± 470	-50 ± 140	-890 ± 180	-280 ± 120	0.92
$v_{\text{em}} / \text{cm}^{-1}$	25990 ± 330	-1570 ± 450	-	-900 ± 170	-270 ± 120	0.93
9Me-5DAI1						
$v_{\text{abs}} / \text{cm}^{-1}$	29600 ± 350	-1810 ± 420	-190 ± 130	-230 ± 90	-530 ± 90	0.89
$v_{\text{abs}} / \text{cm}^{-1}$	29390 ± 330	-1720 ± 440	-	-270 ± 90	-500 ± 90	0.88
$v_{\text{em}} / \text{cm}^{-1}$	24470 ± 200	-540 ± 250	20 ± 70	-940 ± 100	-190 ± 70	0.98
$v_{\text{em}} / \text{cm}^{-1}$	24490 ± 170	-550 ± 230	-	-940 ± 90	-190 ± 60	0.98
10Et-5DIzoAll						
$v_{\text{abs}} / \text{cm}^{-1}$	24770 ± 280	240 ± 350	210 ± 100	420 ± 150	-50 ± 90	0.84
$v_{\text{abs}} / \text{cm}^{-1}$	24920 ± 70	-	230 ± 100	320 ± 90	--	0.82
$v_{\text{em}} / \text{cm}^{-1}$	21320 ± 90	-200 ± 450	245 ± 130	210 ± 190	-70 ± 110	0.71
$v_{\text{em}} / \text{cm}^{-1}$	21120 ± 90	-	270 ± 120	190 ± 120	-	0.68

W Tabeli 50 przedstawiono rezultaty statystycznych dopasowań wartości badanej właściwości (v_{abs} i v_{em}) dla 8Me-5DAI1, 9Me-5DAI1 oraz 10Et-5DIzoAll wyznaczone w

oparciu o multiparametrową skalę Catalán'a dla stanu gazowego (A_0) oraz oszacowane cząstkowe współczynniki regresji – a_{SP} , b_{SDP} , c_{SA} , d_{SB} wraz ze współczynnikiem korelacji regresji wielokrotnej linowej (R). W przypadku 8Me-5DAII otrzymano zadowalające rezultaty multiparametrowej regresji wyrażone wysokimi wartościami współczynnika R do opisu zarówno parametru absorpcyjnego jak i emisyjnego. Uwzględniając wszystkie cztery parametry stosowanych rozpuszczalników otrzymano zadowalające dopasowanie wyrażone poprzez wartość $R = 0.94$ dla maksimum absorpcji. Należy jednak zauważyć, iż cząstkowy współczynnik opisujący kwasowość rozpuszczalników (c_{SA}) obarczony jest dużym błędem, stąd jego wyeliminowanie pozwala na poprawę dopasowania, wyrażone poprzez wartość $R = 0.95$. Wynika stąd, iż położenia maksimum absorpcji 8Me-5DAII w zakresie rozpuszczalników protycznych i aprotycznych zależy przede wszystkim od polaryzowalności, bipolarności oraz zasadowości rozpuszczalników. Wyznaczony parametr A_0 odnoszący się do absorpcji 8Me-5DAII w fazie gazowej wynosi około 29580 cm^{-1} [$\sim 338 \text{ nm}$]. Z kolei analiza innej właściwości 8Me-5DAII, mianowicie maksimum emisji przy uwzględnieniu wszystkich czterech parametrów rozpuszczalników wskazuje na zadowalające dopasowanie pomiędzy zmiennymi niezależnymi a zmienną zależną wyrażone wartością współczynnika $R = 0.92$. Wyeliminowanie bipolarności rozpuszczalników, której cząstkowy współczynnik regresji jest obarczony dużym błędem, pozwala na uzyskanie bardziej zadowalającego dopasowania, wyrażonego poprzez wartość $R = 0.93$. Podsumowując, emisja 8Me-5DAII w serii rozpuszczalników protycznych i aprotycznych jest uzależniona od polaryzowalności, kwasowości oraz zasadowości rozpuszczalników. Wyznaczona wartość parametru A_0 odnosząca się do emisji 8Me-5DAII w fazie gazowej wynosi około 25990 cm^{-1} [$\sim 384 \text{ nm}$].

Mniej akceptowalne dopasowania multiparametrowej regresji zostało znalezione w opisie absorpcji 9Me-5DAII. Uwzględniając wszystkie cztery parametry rozpuszczalników otrzymuje się dopasowanie ze współczynnikiem korelacji $R = 0.89$. Ze względu na fakt, iż cząstkowy współczynnik regresji opisujący bipolarność rozpuszczalników jest obarczony stosunkowo sporym błędem, parametr ten został wyeliminowany, jednak nie przyniosło to polepszenia multiparametrowej regresji ($R = 0.88$). Wyznaczony parametr A_0 opisujący absorpcję 9Me-5DAII w fazie gazowej wynosi około 29600 cm^{-1} [$\sim 338 \text{ nm}$]. Zdecydowanie, najbardziej interesujące rezultaty spośród wszystkich prezentowanych dla czteroparametrowej skali Catalán'a przedstawiają rezultaty emisji 9Me-5DAII. Przy uwzględnieniu wszystkich czterech zmiennych niezależnych rozpuszczalników otrzymano dopasowanie z $R = 0.98$, jednakże cząstkowy współczynnik regresji opisujący bipolarność rozpuszczalnika jest obarczony dużym błędem. Wyeliminowanie z rozważań tego parametru pozostawia wartość

współczynnika korelacji R na tym samym poziomie, modyfikuje jednak nieznacznie wartość parametru A_0 , który odnosi się do emisji 9Me-5DAll w fazie gazowej - wyznaczona wartość to około 24490 cm^{-1} [$\sim 408\text{ nm}$]. Jeśli uwzględnić parametry, które opisują specyficzność oddziaływań pomiędzy 9Me-5DAll a stosowanymi rozpuszczalnikami, należy podkreślić, iż według skali Catalán'a w stanie podstawowym faworyzowana jest zasadowość rozpuszczalników w tworzeniu oddziaływań specyficznych (wiązań wodorowych), natomiast w stanie wzbudzonym większe znaczenie odgrywa kwasowość stosowanych rozpuszczalników.

Podobnie jak w przypadku zastosowania skal jednoparametrowych, najmniej zadowolające rezultaty multiparametrowej regresji zostały znalezione dla 10Et-5DIzoAll, tak w badaniach właściwości absorpcyjnych jak i emisyjnych. W przypadku analizy maksimów absorpcji, uwzględnienie wszystkich czterech parametrów rozpuszczalników skutkuje dobrym dopasowaniem, w wartością $R = 0.84$. Jednakże, cząstkowe współczynniki regresji dla zasadowości oraz polaryzowalności rozpuszczalników są obarczone błędem, ich eliminacja nie powoduje jednak poprawy wartości współczynnika R , wręcz nieznacznie go obniża ($R = 0.82$). Wyznaczona wartość A_0 dotycząca absorpcji w fazie gazowej dla 10Et-5DIzoAll wynosi około 24770 cm^{-1} [$\sim 404\text{ nm}$]. Z podobną sytuacją można spotkać się w czasie określania efektów solwatochromowych przy użyciu multiparametrowej regresji dla maksimów emisji 10Et-5DIzoAll. Uwzględniając wszystkie parametry rozpuszczalników otrzymuje się dopasowanie z współczynnikiem korelacji $R = 0.71$. Eliminacja zasadowości oraz polaryzowalności rozpuszczalników, których cząstkowe współczynniki regresji są obarczone znacznym błędem nieznacznie obniża wartość $R = 0.68$. Wyznaczony w fazie gazowej parametr A_0 , który odpowiada za emisję dla 10Et-5DIzoAll w fazie gazowej wynosi około 21320 cm^{-1} [$\sim 469\text{ nm}$].

Podsumowując, najbardziej szczegółowy obraz dotyczący oddziaływań pomiędzy badanymi pochodnymi 5DAll a stosowanymi rozpuszczalnikami, tak protycznymi jak i aprotycznymi, uwzględniający zarówno oddziaływania specyficzne jak i niespecyficzne, przedstawia czteroparametrowa skala opisana przez Catalán'a. Zgodnie z powyższymi rozważaniami możliwość utworzenia międzycząsteczkowych wiązań wodorowych, w których ugrupowania N(1)-H oraz N(3)-H działają jako donory atomu wodoru są prawdopodobne w stanie podstawowym dla cząsteczek 8Me-5DAll i 9Me-5DAll. Z drugiej strony, ze względu na fakt, iż współczynnik opisujący kwasowość rozpuszczalników dla 8Me-5DAll jest obarczony dużym błędem, wydaje się, iż ta cząsteczka w stanie podstawowym angażuje z dużo mniejszym prawdopodobieństwem atom azotu N(10) oraz karbonyłowe atomy tlenu przy

C(2) oraz C(4) w tworzeniu wiązań wodorowych. Nieco inaczej przedstawia się sytuacja dla 9Me-5DAll, która w stanie podstawowym może działać jako akceptor wiązania wodorowego. Z nieco odmienną sytuacją mamy do czynienia podczas analizy możliwości formowania wiązań wodorowych w stanie wzbudzonym dla poszczególnych pochodnych. Z przedstawionych danych w **Tabeli 50** wynika, iż zarówno 8Me-5DAll jak i 9Me-5DAll mogą działać jako akceptory i donory wiązań wodorowych w stanach podstawowych i wzbudzonych. Warto podkreślić, iż współczynniki opisujące kwasowość rozpuszczalników są wyższe w stanach wzbudzonych w porównaniu do stanu podstawowego, co może pośrednio świadczyć, iż wiązanie wodorowe, które powstaje pomiędzy atomem azotu N(10) a wodorem pochodzącym z grupy hydroksylowej stosowanego alkoholu jest silniejsze w stanie wzbudzonym w porównaniu do stanu podstawowego - jest to szczególna prawidłowość dla 9Me-5DAll. Z kolei wiązania wodorowe formujące się pomiędzy N(1)-H oraz N(3)-H zarówno w przypadku 8Me-5DAll, jak i 9Me-5DAll są znacznie słabsze w stanach wzbudzonych w porównaniu do analogicznych międzycząsteczkowych wiązań wodorowych powstających w stanie podstawowym.

Z danych zawartych w **Tabeli 50** można wnioskować, iż jedną z możliwości tworzenia międzycząsteczkowych wiązań wodorowych pomiędzy cząsteczką 10Et-5DIzoAll oraz rozpuszczalnikami protycznymi w stanie wzbudzonym jest zaangażowanie atom azotu N(1) oraz karbonylowych atomów tlenu, natomiast ze względu na spory błąd współczynnika opisującego zasadowość rozpuszczalnika, wydaje się mniej prawdopodobnym utworzenie wiązań wodorowych przez 10Et-5DIzoAll w stanie wzbudzonym przy zaangażowaniu ugrupowania N(3)-H.

5. Dyskusja końcowa i wnioski

W kolejnych rozdziałach pracy doktorskiej została zawarta dyskusja nad różnymi właściwościami spektralnymi i fotofizycznymi 5-dezaalloksazyny i jej pochodnych znajdujących się w różnych środowiskach (zarówno rozpuszczonych w rozpuszczalnikach organicznych, jak i w wodzie) oraz w różnych stanach elektronowych, tak singletowych, jak i trypletowych. Wiele uzyskanych rezultatów dla pochodnych 5DA11 porównano z danymi literaturowymi odpowiednich izo- i alloksazyn. Ponadto, w badaniach zastosowano dwie pochodne alloksazyny o budowie czteropierścieniowej jako uzupełnienie dotychczasowych badań dla podobnych alloksazyn, mianowicie: niepodstawionej grupami metylowymi przy atomach azotu N(1) oraz N(3), jak również dla innej molekuly posiadającej grupy metylowe przy wymienionych atomach azotu. Jeden z rozdziałów został poświęcony zastosowaniu synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej do badań mieszanin składających się z różnych pochodnych flawin i 5-deazaflawin, w którym pokazano zalety stosowania widm SSF nad konwencjonalnymi pomiarami emisyjnymi. Synchroniczna spektroskopia fluorescencyjna okazała się również pomocna w dyskusji równowag reakcji protonacji / deprotonacji w stanie podstawowym i wzbudzonym dla 5DA11 oraz 13Me-5DA11. Wyniki eksperymentalne zostały również poparte obliczeniami i modelami teoretycznymi, które dotyczyły głównie struktur elektronowych badanych pochodnych w różnych stanach elektronowych, zaangażowaniu różnego typu orbitali w przejścia elektronowe oraz wyznaczenie przewidywanych energii przejść singlet \rightarrow singlet, singlet \rightarrow tryplet oraz tryplet \rightarrow tryplet. Badane pochodne 5DA11 zostały również zdefiniowane jako wydajne sensybilizatory tlenu singletowego zarówno w układach rozpuszczalników organicznych, jak również w wodzie deuterowanej.

W kilku kolejnych punktach zostały zawarte najważniejsze wnioski podsumowujące przeprowadzone badania dla pochodnych 5DA11 i All w porównaniu do klasycznych, trójpierścieniowych alloksazyn.

- Właściwości absorpcyjno - emisyjne pochodnych 5DA11 opisane w różnych rozpuszczalnikach organicznych w porównaniu do analogicznych izo- i alloksazyn wskazują na szereg podobieństw i różnic. Wśród podobieństw, w absorpcji związków należących do tych grup można wyróżnić obecność dwóch, dobrze rozdzielonych pasm absorpcji w długofalowej części widma. We fluorescencji pochodnych 5DA11 oraz analogicznych alloksazyn wyróżnia się obecność jednego pasma, niezależnie od

zastosowanej λ_{exc} . Natomiast do najważniejszych różnic w absorpcji i fluorescencji pochodnych 5DAll i analogicznych All zalicza się przesunięcia w kierunku krótszych fal dla pochodnych 5DAll w porównaniu do analogicznych All. Z drugiej strony, w przypadku opisanych alloksazyn o budowie czteropierścieniowej (1MeFR i 3MeFR) obserwuje się znaczne przesunięcia zarówno maksimów absorpcji jak i fluorescencji w kierunku dłuższych fal ze względu na powiększenie układu aromatycznego w porównaniu do klasycznych, trójpierścieniowych alloksazyn. Dodatkowo zmiana układu aromatycznego w tych cząsteczkach istotnie zmienia przebieg widm absorpcji.

- Wyznaczone parametry fotofizyczne (czasy życia fluorescencji oraz wydajności kwantowe fluorescencji) zarówno dla pochodnych 5DAll jak i alloksazyn: 1MeFR i 3MeFR w rozpuszczalnikach organicznych, są znacznie różne od opisanych w literaturze dla alloksazyn. Dla pochodnych 5DAll, jak również 1MeFR i 3MeFR, odnotowano znaczne wydłużenie czasów życia fluorescencji oraz zwiększenie wydajności kwantowych fluorescencji, w sytuacji, gdy był stosowany ten sam rozpuszczalnik organiczny. Cechą, która łączy badane pochodne 5DAll, 1MeFR i 3MeFR z alloksazynami jest dominacja procesów nieradiacyjnych.
- Zarówno pochodne 5DAll, jak i All obsadzają stany trypletowe w roztworach rozpuszczalników organicznych oraz w wodzie. Czas życia stanu trypletowego mieści się w przedziale μs i jest typową wartością notowaną również dla analogicznych alloksazyn. Dodatkowo, analiza zaników absorpcji przejściowej w wielu przypadkach wykazała obecność drugiego, długożyjącego składnika, którym jest anionorodnik powstały wskutek oddziaływania stanu trypletowego pochodnej 5DAll z tą samą cząsteczką znajdującą się w stanie podstawowym. W przypadku 1MeFR i 3MeFR rejestracja widm absorpcji przejściowej pozwoliła jedynie na obserwację absorpcji przejściowej singlet \rightarrow singlet. Użyte warunki pomiarowe nie pozwoliły w tym przypadku na stwierdzenie obecności absorpcji przejściowej tryplet \rightarrow tryplet.
- Optymalizacja struktury stanu podstawowego, a następnie wyliczenie energii przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DAll oraz jej metylowych pochodnych, głównie przy użyciu różnych metod DFT (oraz uzupełniająco w kilku przypadkach *ab-initio*) wskazały, iż niezależnie od zastosowanej metody obliczeń przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ ma zawsze charakter π, π^* i nie zależy od pozycji ewentualnego usytuowania grup metylowych w pierścieniu 5-deazaalloksazynowym. Uwzględniając rezultaty obliczeń teoretycznych dla pochodnych 5DAll i analogicznych All można przypuszczać, iż podwyższenie wartości wydajności kwantowej fluorescencji oraz wydłużenia czasów życia

fluorescencji pochodnych 5DAI jest związane z faktem, iż w każdym przypadku przejście $S_0 \rightarrow S_1$ ma "czysty" charakter π, π^* . Ponadto stwierdzono, iż niezależnie od struktury pochodnej 5DAI, w każdym przypadku w przejście elektronowe $S_0 \rightarrow S_1$ w dominującym stopniu są zaangażowane orbitale HOMO i LUMO. Dla 5DAI i serii metylowych pochodnych udowodniono, iż zastosowanie poziomu obliczeń: B3LYP/aug-cc-pVDZ przynosi najlepsze odzwierciedlenie danych eksperymentalnych. Dla alloksazyn: 1MeFR i 3MeFR, również stwierdzono charakter π, π^* dla przejścia $S_0 \rightarrow S_1$ oraz znaczną różnicę energetyczną do przejścia $S_0 \rightarrow S_2$.

- 5DAI, 13Me-5DAI, 1MeFR oraz 3MeFR zostały poddane badaniom potencjalnej reakcji podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym w obecności kwasu octowego, typowej reakcji znanej dla alloksazyn, w celu weryfikacji przebiegu mechanizmu tej reakcji w zmodyfikowanych strukturalnie pochodnych AI. Przy zastosowaniu spektroskopii stacjonarnej oraz czasowo rozdzielczej stwierdzono, iż dla pochodnych 5DAI mechanizm reakcji przebiega w sposób typowy, tj. w stanie wzbudzonym następuje tautomeryzacja do struktury izoalloksazynowej, która przebiega wyłącznie dla związków, które nie są podstawione grupami alkilowymi przy atomie N(1). Zupełnie inne zachowanie zostało stwierdzone dla 1MeFR oraz 3MeFR, mianowicie, niezależnie od obecności (lub braku) grupy metylowej przy atomie azotu N(1) nie stwierdzono zajścia typowej tautomeryzacji alloksazynowo \rightarrow izoalloksazynowej, jedynie pod wpływem wzrastającego stężenia kwasu octowego stwierdzono obniżenie intensywności fluorescencji, która przekładała się na zmniejszenie wartości wydajności kwantowej fluorescencji oraz skrócenie czasu życia fluorescencji.
- Obserwując charakterystyczną fosforescencję tlenu singletowego w zakresie NIR (przy $\lambda_{em} = 1270$ nm), z wykorzystaniem technik spektroskopii stacjonarnej oraz czasowo-rozdzielczej, zarówno w rozpuszczalnikach organicznych, jak i w wodzie deuterowanej wykazano, iż pochodne 5DAI są dobrymi sensybilizatorami tlenu singletowego. Wartości Φ_{Δ} okazały się niższe w porównaniu do analogicznych wyników otrzymanych dla odpowiednich alloksazyn. Modelowy związek o strukturze 5-deazaizoalloksazynowej generował tlen singletowy mniej wydajnie w porównaniu do pochodnych ze strukturą 5-deaalloksazynową. Prawidłowość ta jest podobna do opisanej w literaturze w wydajności Φ_{Δ} obserwowanej dla izo- i alloksazyn. W wodzie deuterowanej stwierdzono niższe wartości Φ_{Δ} w porównaniu do układów w rozpuszczalnikach organicznych. Ze względu na stosunkowo krótki czas życia

fluorescencji (kilka lub kilkanaście ns) praktycznie nie ma możliwości wygaszania wzbudzonych stanów singletowych przez tlen. Cały powstający na drodze sensybilizacji tlen singletowy pochodzi z wygaszenia stanów trypletowych pochodnych 5DAI1. Potwierdzić może to również wyznaczona wartość Φ_{ISC} dla 5DAI1 w wodzie (0.43) oraz wydajność generowania tlenu singletowego przez 5DAI1 w wodzie deuterowanej ($\Phi_{\Delta} = 0.41$).

- Badanie równowag reakcji protonacji / deprotonacji przy użyciu metod spektroskopii stacjonarnej i czasowo-rozdzielczej zostało przeprowadzone dla 5DAI1 i 13Me-5DAI1. Zidentyfikowano różne formy strukturalne dominujące w danych warunkach pH zarówno w stanie podstawowym jak i wzbudzonym. W przypadku 5DAI1, poczynając od najbardziej kwasowych warunków pH w stanie podstawowym zidentyfikowano kation alloksazynowy, następnie formę neutralną, monoanion alloksazynowy oraz izoalloksazynowy, by w najbardziej zasadowym pH stwierdzić obecność dianionu izoalloksazynowego. Podobne formy strukturalne zostały zidentyfikowane w stanie wzbudzonym, z jednym wyjątkiem, mianowicie na podstawie pomiarów emisyjnych stwierdzono obecność kationu izoalloksazynowego. Z pomiarów czasowo-rozdzielczych wyznaczono czasy życia fluorescencji, kationu izoalloksazynowego: 1.4 ns, formy neutralnej: 9.2 ns, monoanionu alloksazynowego: 3.3 ns, monoanionu izoalloksazynowego: 11.7 ns, dianionu izoalloksazynowego: 6.2 ns. W przypadku 13Me-5DAI1 w stanie podstawowym zidentyfikowano jedynie obecność kationu alloksazynowego oraz formy neutralnej. W stanie wzbudzonym, niezależnie od pH, stwierdzono obecność wyłącznie formy neutralnej 13Me-5DAI1 zarówno w badaniach stacjonarnych, jak i czasowo-rozdzielczych. Istotną różnicą pomiędzy pochodnymi 5DAI1 i odpowiednimi alloksazynami jest brak obecności formy kationowej przy N(5), która była identyfikowana w silnie kwasowych warunkach dla wybranych pochodnych alloksazyn.
- Efekty solwatochromowe zostały opisane w stanie podstawowym i wzbudzonym dla trzech modelowych cząsteczek: 8Me-5DAI1, 9Me-5DAI1 oraz 10Et-5DIzoAll przy zastosowaniu jednoparametrowych skal polarności rozpuszczalników: Δf , Dimoroth-Reichardt'a E_T^N , kwasowości (SA) i zasadowości rozpuszczalników (SB), w uzupełnieniu została zastosowana czteroparametrowa skala zaproponowana przez Catalán'a. Najpełniejszy obraz, uwzględniający zarówno oddziaływania specyficzne, jak i niespecyficzne, został opisany za pomocą czteroparametrowej skali

zapropionowanej przez Catalán'a. Wykazano, iż nie wszystkie miejsca donorowe i akceptorowe na formowanie wiązań wodorowych w cząsteczkach pochodnych 5DAll są równie uprawnione i wykorzystywane. Jest to obraz zgodny z modelami proponowanymi dla analogicznych izo- i alloksazyn.

6. Literatura

1. Cardoso, D. R., S. H. Libardi, and L. H. Skibsted (2012) Riboflavin as a photosensitizer. Effects on human health and food quality. *Food & Function* 3, 487-502.
2. Nicolaou, A., M. Masoodi, K. Gledhill, A. K. Haylett, A. J. Thody, D. J. Tobin, and L. E. Rhodes (2012) The eicosanoid response to high dose UVR exposure of individuals prone and resistant to sunburn. *Photochemical & Photobiological Sciences* 11, 371-380.
3. Massey, V. (2000) The chemical and biological versatility of riboflavin. *Biochemical Society Transactions* 28, 283-296.
4. Bradley, R. L. (1980) Effect of light on alteration of nutritional-value and flavor of milk - a review. *Journal of Food Protection* 43, 314-320.
5. Koryckadahl, M. and T. Richardson (1978) Photogeneration of superoxide anion in serum of bovine milk and in model systems containing riboflavin and amino-acids. *Journal of Dairy Science* 61, 400-407.
6. Jung, M. Y., S. H. Yoon, H. O. Lee, and D. B. Min (1998) Singlet oxygen and ascorbic acid effects on dimethyl disulfide and off-flavor in skim milk exposed to light. *Journal of Food Science* 63, 408-412.
7. Choe, E. and D. B. Min (2005) Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *Journal of Food Science* 70, R142-R159.
8. Choe, E. and D. B. Min (2006) Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46, 1-22.
9. Kim, Y. D. and C. V. Morr (1996) Dynamic headspace analysis of light activated flavor in milk. *International Dairy Journal* 6, 185-193.
10. Bystrykh, L. V., N. I. Govorukhina, L. Dijkhuizen, and J. A. Duine (1997) Tetrazolium-dye-linked alcohol dehydrogenase of the methylotrophic actinomycete *Amycolatopsis methanolica* is a three-component complex. *European Journal of Biochemistry* 247, 280-287.
11. Schafer, G., M. Engelhard, and V. Muller (1999) Bioenergetics of the archaea. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63, 570-620.
12. Ali, H. I., N. Ashida, and T. Nagamatsu (2008) Antitumor studies. Part 4: Design, synthesis, antitumor activity, and molecular docking study of novel 2-substituted 2-deoxyflavin-5-oxides, 2-deoxoalloxazine-5-oxides, and their 5-deaza analogs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 16, 922-940.

13. Ikeuchi, Y., M. Sumiya, T. Kawamoto, N. Akimoto, Y. Mikata, M. Kishigami, S. Yano, T. Sasaki, and F. Yoneda (2000) Synthesis and antitumor activities of novel 5-deazaflavin-sialic acid conjugate molecules. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 8, 2027-2035.
14. Kanaoka, Y., Y. Ikeuchi, T. Kawamoto, K. Bessho, N. Akimoto, Y. Mikata, M. Nishida, S. Yano, T. Sasaki, and F. Yoneda (1998) Synthesis and evaluation of nitro 5-deazaflavinpyrrolicarboxamide(s) hybrid molecules as novel DNA targeted bioreductive antitumor agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 6, 301-314.
15. Kawamoto, T., Y. Ikeuchi, J. Hiraki, Y. Eikyu, K. Shimizu, M. Tomishima, K. Bessho, F. Yoneda, Y. Mikata, M. Nishida, K. Ikehara, and T. Sasaki (1995) Synthesis and evaluation of nitro 5-deazaflavins as novel bioreductive antitumor agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 5, 2109-2114.
16. Wilson, J. M., G. Henderson, F. Black, A. Sutherland, R. L. Ludwig, K. H. Vousden, and D. J. Robins (2007) Synthesis of 5-deazaflavin derivatives and their activation of p53 in cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 15, 77-86.
17. Encinas, M. V., S. G. Bertolotti, and C. M. Previtali (2002) The interaction of ground and excited states of lumichrome with aliphatic and aromatic amines in methanol. *Helvetica Chimica Acta* 85, 1427-1438.
18. Salzmann, S. and C. M. Marian (2009) The photophysics of alloxazine: a quantum chemical investigation in vacuum and solution. *Photochemical & Photobiological Sciences* 8, 1655-1666.
19. Moyon, N. S. and S. Mitra (2011) Fluorescence solvatochromism in lumichrome and excited-state tautomerization: A combined experimental and DFT study. *Journal of Physical Chemistry A* 115, 2456-2464.
20. Sikorska, E., M. Sikorski, R. P. Steer, F. Wilkinson, and D. R. Worrall (1998) Efficiency of singlet oxygen generation by alloxazines and isoalloxazines. *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions* 94, 2347-2353.
21. Sikorska, E., H. Szymusiak, I. V. Khmelinskii, A. Koziółowa, J. Spanget-Larsen, and M. Sikorski (2003) Spectroscopy and photophysics of alloxazines studied in their ground and first excited singlet states. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* 158, 45-53.
22. Koziółowa, A. (1979) Solvent and methyl substituent effect on phototautomerism and ionization of alloxazines. *Photochemistry and Photobiology* 29, 459-471.
23. Sikorska, E., I. V. Khmelinskii, G. Nowacka, J. Koput, and M. Sikorski (2005) Spectroscopy and photophysics of cyanoalloxazines. Theoretical study. *Journal of Molecular Structure-Theochem* 722, 51-56.
24. Sikorska, E., I. V. Khmelinskii, W. Prukała, S. L. Williams, D. R. Worrall, J. L. Bourdelande, A. Bednarek, J. Koput, and M. Sikorski (2004) Spectroscopy and photophysics of 9-methylalloxazine. Experimental and theoretical study. *Journal of Molecular Structure* 689, 121-126.

25. Sikorska, E., I. V. Khmelinskii, A. Bednarek, S. L. Williams, D. R. Worrall, J. R. Herance, J. L. Bourdelande, G. Nowacka, J. Koput, and M. Sikorski (2004) Spectroscopy and photophysics of 6,8-dimethylalloxazine. Experimental and theoretical study. *Polish Journal of Chemistry* 78, 2163-2173.
26. Sikorska, E., I. V. Khmelinskii, M. Hoffmann, I. F. Machado, L. F. V. Ferreira, K. Dobek, J. Karolczak, A. Krawczyk, M. Insińska-Rak, and M. Sikorski (2005) Ground- and excited-state double proton transfer in lumichrome/acetic acid system: Theoretical and experimental approach. *Journal of Physical Chemistry A* 109, 11707-11714.
27. Sikorska, E., I. V. Khmelinskii, J. Koput, J. L. Bourdelande, and M. Sikorski (2004) Electronic structure of isalloxazines in their ground and excited states. *Journal of Molecular Structure* 697, 137-141.
28. Prukała, D., E. Sikorska, J. Koput, I. V. Khmelinskii, J. Karolczak, M. Gierszewski, and M. Sikorski (2012) Acid-base equilibria of lumichrome and its 1-methyl, 3-methyl, and 1,3-dimethyl derivatives. *Journal of Physical Chemistry A* 116, 7474-7490.
29. Koziółowa, A., N. V. Visser, J. Koziół, and M. M. Szafran (1996) Phototautomerism of 5-deazalumichrome (in the presence of acetic acid). *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* 93, 157-163.
30. Sikorska, E. and A. Koziółowa (1996) Excited state proton transfer of methyl- and cyano-substituted alloxazines in the presence of acetic acid. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* 95, 215-221.
31. Kasha, M. (1986) Proton-transfer spectroscopy - perturbation of the tautomerization potential. *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions II* 82, 2379-2392.
32. Koziółowa, A. (1979) Solvent and methyl substituent effect on phototautomerism and ionization of alloxazines. *Photochemistry and Photobiology* 29, 459-471.
33. Sikorska, E., I. V. Khmelinskii, M. Kubicki, W. Prukała, M. Hoffmann, I. F. Machado, L. F. V. Ferreira, J. Karolczak, D. R. Worrall, A. Krawczyk, M. Insińska-Rak, and M. Sikorski (2006) In search of excited-state proton transfer in the lumichrome dimer in the solid state: Theoretical and experimental approach. *Journal of Physical Chemistry A* 110, 4638-4648.
34. Dad'ova, J., E. Svobodova, M. Sikorski, B. König, and R. Cibulka (2012) Photooxidation of sulfides to sulfoxides mediated by tetra-O-acetylruboflavin and visible light. *ChemCatChem* 4, 620-623.
35. Mojr, V., M. Budesinsky, R. Cibulka, and T. Kraus (2011) Alloxazine-cyclodextrin conjugates for organocatalytic enantioselective sulfoxidations. *Organic & Biomolecular Chemistry* 9, 7318-7326.
36. Sikorska, E., I. V. Khmelinskii, W. Prukała, S. L. Williams, M. Patel, D. R. Worrall, J. L. Bourdelande, J. Koput, and M. Sikorski (2004) Spectroscopy and photophysics of lumiflavins and lumichromes. *Journal of Physical Chemistry A* 108, 1501-1508.

37. Choi, J. D., R. D. Fugate, and P. S. Song (1980) Nanosecond time-resolved fluorescence of phototautomeric lumichrome. *Journal of the American Chemical Society* 102, 5293-5297.
38. Koziółowa, A., A. J. W. G. Visser, and J. Koziół (1988) Phototautomerism of lumichrome in methanol acetic-acid mixtures - A steady-state and time-resolved fluorescence study. *Photochemistry and Photobiology* 48, 7-11.
39. Miskolczy, Z. and L. Biczok (2005) Anion-induced changes in the absorption and fluorescence properties of lumichrome: A new off-the-shelf fluorescent probe. *Chemical Physics Letters* 411, 238-242.
40. Li, H., Z. Q. Jiang, and R. H. Zhang (2010) Fluorescence quenching and the binding interaction of lumichrome with nucleic acids. *Chinese Science Bulletin* 55, 2829-2834.
41. Maity, B., A. Chatterjee, and D. Seth (2013) Effect of nano-confinement on the photophysics of lumichrome. *Chemical Physics Letters* 565, 108-115.
42. Maity, B., A. Chatterjee, and D. Seth (2015) Photophysics of lumichrome in anionic and cationic micellar media. *RSC Advances* 5, 3814-3824.
43. Sikorski, M. (2002) Photophysics of dimethyl-alloxazines and 1-methylalumichrome on cellulose. *Physical Chemistry Chemical Physics* 4, 211-215.
44. Sikorski, M., E. Sikorska, F. Wilkinson, and R. P. Steer (1999) Studies of the photophysics and spectroscopy of alloxazine and related compounds in solution and in the solid state. *Canadian Journal of Chemistry-Revue Canadienne de Chimie* 77, 472-480.
45. Sikorski, M., E. Sikorska, I. V. Khmelinskii, R. Gonzalez-Moreno, J. L. Bourdelande, and A. Siemiarczuk (2002) Photophysics of alloxazines on cellulose. *Photochemical & Photobiological Sciences* 1, 715-720.
46. Mir, M., E. Sikorska, M. Sikorski, and F. Wilkinson (1997) Study of the effect of beta-cyclodextrin on the photophysics of alloxazines in the solid state. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2* 1095-1098.
47. Lilletvedt, M., S. Kristensen, and H. H. Tonnesen (2010) Lumichrome complexation by cyclodextrins: Influence of pharmaceutical excipients. *Pharmazie* 65, 871-876.
48. Sarkar, B., U. Das, S. Bhattacharyya, and S. K. Bose (1995) The quenching of lumichrome fluorescence by beta-cyclodextrin - evidence for inclusion complex. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 68, 1807-1809.
49. Valle, L., F. E. M. Vieyra, and C. D. Borsarelli (2012) Hydrogen-bonding modulation of excited-state properties of flavins in a model of aqueous confined environment. *Photochemical & Photobiological Sciences* 11, 1051-1061.
50. Sikorska, E., I. V. Khmelinskii, J. L. Bourdelande, A. Bednarek, S. L. Williams, M. Patel, D. R. Worrall, J. Koput, and M. Sikorski (2004) Spectroscopy and photophysics of mono methyl-substituted alloxazines. *Chemical Physics* 301, 95-103.

51. Sikorski, M., D. Prukała, M. Insińska-Rak, I. Khmelinskii, D. R. Worrall, S. L. Williams, J. Hernando, J. L. Bourdelande, J. Koput, and E. Sikorska (2008) Spectroscopy and photophysics of dimethyl-substituted alloxazines. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* 200, 148-160.
52. Sikorska, E., I. V. Khmelinskii, J. L. Bourdelande, A. Bednarek, S. L. Williams, M. Patel, D. R. Worrall, J. Koput, and M. Sikorski (2004) Spectroscopy and photophysics of mono methyl-substituted alloxazines. *Chemical Physics* 301, 95-103.
53. Visser, A. J. W. G. and F. Muller (1979) Absorption and fluorescence studies on neutral and cationic isoalloxazines. *Helvetica Chimica Acta* 62, 593-608.
54. Kowalczyk, M., E. Sikorska, I. V. Khmelinskii, J. Komasa, M. Insińska-Rak, and M. Sikorski (2005) Spectroscopy and photophysics of flavin-related compounds: Isoalloxazines. *Journal of Molecular Structure-Theochem* 756, 47-54.
55. Grodowski, M. S., B. Veyret, and K. Weiss (1977) Photochemistry of flavins. 2. Photophysical properties of alloxazines and isoalloxazines. *Photochemistry and Photobiology* 26, 341-352.
56. Craw, M., R. V. Bensasson, J. C. Ronfardharet, M. T. S. E. Melo, and T. G. Truscott (1983) Some photophysical properties of 3-carbethoxypsoralen, 8-methoxypsoralen and 5-methoxypsoralen triplet-states. *Photochemistry and Photobiology* 37, 611-615.
57. Heelis, P. F. (1982) The photophysical and photochemical properties of flavins (isoalloxazines). *Chemical Society Reviews* 11, 15-39.
58. Lu, C. Y., Z. H. Han, G. S. Liu, X. C. Cai, Y. L. Chen, and S. Yao (2001) Photophysical and photochemical processes of riboflavin (vitamin B-2) by means of the transient absorption spectra in aqueous solution. *Science in China Series B-Chemistry* 44, 39-48.
59. Lu, C. Y., W. F. Wang, W. Z. Lin, Z. H. Han, J. X. Pan, S. D. Yao, and N. Y. Lin (1999) Monophotonic ionization of etoposide in aqueous solution by 248 nm laser light: identification of transient intermediates. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology* 49, 61-64.
60. Getoff, N., S. Solar, and D. B. McCormick (1978) Photoejection of electrons from flavins in polar media. *Science* 201, 616-618.
61. Sikorska, E., I. V. Khmelinskii, A. Komasa, J. Koput, L. F. V. Ferreira, J. R. Herance, J. L. Bourdelande, S. L. Williams, D. R. Worrall, M. Insińska-Rak, and M. Sikorski (2005) Spectroscopy and photophysics of flavin related compounds: Riboflavin and iso-(6,7)-riboflavin. *Chemical Physics* 314, 239-247.
62. Insińska-Rak, M., E. Sikorska, J. L. Bourdelande, I. V. Khmelinskii, W. Prukała, K. Dobek, J. Karolczak, I. F. Machado, L. F. V. Ferreira, A. Komasa, D. R. Worrall, and M. Sikorski (2006) Spectroscopy and photophysics of flavin-related compounds: 5-deaza-riboflavin. *Journal of Molecular Structure* 783, 184-190.

63. Ahmad, I., Z. Anwar, K. Iqbal, S. A. Ali, T. Mirza, A. Khurshid, A. Khurshid, and A. Arsalan (2014) Effect of acetate and carbonate buffers on the photolysis of riboflavin in aqueous solution: A kinetic study. *Aaps Pharmscitech* 15, 550-559.
64. Song, P. S. and D. E. Metzler (1967) Photochemical degradation of flavins. 4. Studies of anaerobic photolysis of riboflavin. *Photochemistry and Photobiology* 6, 691-698.
65. Cairns, W. L. and D. E. Metzler (1971) Photochemical degradation of flavins. 6. New photoproduct and its use in studying photolytic mechanism. *Journal of the American Chemical Society* 93, 2772-2776.
66. Ahmad, I., H. D. C. Rapson, P. F. Heelis, and G. O. Phillips (1980) Alkaline-hydrolysis of 7,8-dimethyl-10-(formylmethyl)isoalloxazine - kinetic-study. *Journal of Organic Chemistry* 45, 731-733.
67. Ahmad, I., Q. Fasihullah, and F. H. M. Vaid (2006) Photolysis of formylmethylavin in aqueous and organic solvents. *Photochemical & Photobiological Sciences* 5, 680-685.
68. Ahmad, I., S. Ahmed, M. A. Sheraz, and F. H. M. Vaid (2008) Effect of borate buffer on the photolysis of riboflavin in aqueous solution. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology* 93, 82-87.
69. Ahmad, I., S. Ahmed, M. A. Sheraz, M. Aminuddin, and F. H. M. Vaid (2009) Effect of caffeine complexation on the photolysis of riboflavin in aqueous solution: A kinetic study. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 57, 1363-1370.
70. Saidi, B. and J. J. Warthesen (1995) Effect of heat and homogenization on riboflavin photolysis in milk. *International Dairy Journal* 5, 635-645.
71. Gaylord, A. M., J. J. Warthesen, and D. E. Smith (1986) Influence of milk-fat, milk solids, and light-intensity on the light-stability of vitamin-A and riboflavin in low-fat milk. *Journal of Dairy Science* 69, 2779-2784.
72. Palanuk, S. L., J. J. Warthesen, and D. E. Smith (1988) Effect of agitation, sampling location and protective films on light-induced riboflavin loss in skim milk. *Journal of Food Science* 53, 436-438.
73. Toyosaki, T. and A. Hayashi (1993) Structural-analysis of the products of milk riboflavin photolysis. *Milchwissenschaft-Milk Science International* 48, 607-609.
74. Salzmann, S. and C. M. Marian (2008) Effects of protonation and deprotonation on the excitation energies of lumiflavin. *Chemical Physics Letters* 463, 400-404.
75. Walsh, C., J. Fisher, R. Spencer, D. W. Graham, W. T. Ashton, J. E. Brown, R. D. Brown, and E. F. Rogers (1978) Chemical and enzymatic properties of riboflavin analogs. *Biochemistry* 17, 1942-1951.
76. Salzmann, S., V. Martinez-Junza, B. Zorn, S. E. Braslavsky, M. Mansurova, C. M. Marian, and W. Gartner (2009) Photophysical properties of structurally and electronically modified flavin derivatives determined by spectroscopy and theoretical calculations. *Journal of Physical Chemistry A* 113, 9365-9375.

77. Barra, M., B. VanVeller, and C. Verberne (2011) Absolute rate constants for 5-deazariboflavin triplet excited state in one-electron transfer processes. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* 225, 113-116.
78. Neiss, C., P. Saalfrank, M. Parac, and S. Grimme (2003) Quantum chemical calculation of excited states of flavin-related molecules. *Journal of Physical Chemistry A* 107, 140-147.
79. Sikorski, M., E. Sikorska, A. Koziółowa, R. G. Moreno, J. L. Bourdelande, R. P. Steer, and F. Wilkinson (2001) Photophysical properties of lumichromes in water. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology* 60, 114-119.
80. Sikorski, M., E. Sikorska, I. V. Khmelinskii, R. Gonzalez-Moreno, J. L. Bourdelande, and A. Siemiarczuk (2003) Photophysics of lumichrome on cellulose. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* 156, 267-271.
81. Wilkinson, F., W. P. Helman, and A. B. Ross (1993) Quantum yields for the photosensitized formation of the lowest electronically excited singlet-state of molecular-oxygen in solution. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 22, 113-262.
82. Olea, A. F. and F. Wilkinson (1995) Singlet oxygen production from excited singlet and triplet-states of anthracene-derivatives in acetonitrile. *Journal of Physical Chemistry* 99, 4518-4524.
83. Wilkinson, F., W. P. Helman, and A. B. Ross (1995) Rate constants for the decay and reactions of the lowest electronically excited singlet-state of molecular-oxygen in solution - An expanded and revised compilation. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 24, 663-1021.
84. Derosa, M. C. and R. J. Crutchley (2002) Photosensitized singlet oxygen and its applications. *Coordination Chemistry Reviews* 233, 351-371.
85. Ogilby, P. R. (2010) Singlet oxygen: there is still something new under the sun, and it is better than ever. *Photochemical & Photobiological Sciences* 9, 1543-1560.
86. Wilkinson, F., W. P. Helman, and A. B. Ross (1993) Quantum yields for the photosensitized formation of the lowest electronically excited singlet-state of molecular-oxygen in solution. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 22, 113-262.
87. Redmond, R. W. and J. N. Gamlin (1999) A compilation of singlet oxygen yields from biologically relevant molecules. *Photochemistry and Photobiology* 70, 391-475.
88. Schweitzer, C. and R. Schmidt (2003) Physical mechanisms of generation and deactivation of singlet oxygen. *Chemical Reviews* 103, 1685-1757.
89. Henderson, B. W. and T. J. Dougherty (1992) How does photodynamic therapy work. *Photochemistry and Photobiology* 55, 145-157.
90. Kearns, D. R. (1971) Physical and chemical properties of singlet molecular oxygen. *Chemical Reviews* 71, 395-427.

91. Foote, C. S. (1968) Photosensitized oxygenations and role of singlet oxygen. *Accounts of Chemical Research* 1, 104-110.
92. Juzeniene, A., Q. Peng, and J. Moana (2007) Milestones in the development of photodynamic therapy and fluorescence diagnosis. *Photochemical & Photobiological Sciences* 6, 1234-1245.
93. Reuke, B., S. Korn, W. Eisenreich, and A. Bacher (1992) Biosynthetic Precursors of Deazaflavins. *Journal of Bacteriology* 174, 4042-4049.
94. Hemmerich, P., V. Massey, and H. Fenner (1977) Flavin and 5-deazaflavin - chemical evaluation of modified flavoproteins with respect to mechanisms of redox biocatalysis. *FEBS Letters* 84, 5-21.
95. Ikeuchi, Y., M. Sumiya, T. Kawamoto, N. Akimoto, Y. Mikata, M. Kishigami, S. Yano, T. Sasaki, and F. Yoneda (2000) Synthesis and antitumor activities of novel 5-deazaflavin-sialic acid conjugate molecules. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 8, 2027-2035.
96. Wilson, J. M., G. Henderson, F. Black, A. Sutherland, R. L. Ludwig, K. H. Vousden, and D. J. Robins (2007) Synthesis of 5-deazaflavin derivatives and their activation of p53 in cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 15, 77-86.
97. Rajendar, B., A. Rajendran, Z. Q. Ye, E. Kanai, Y. Sato, S. Nishizawa, M. Sikorski, and N. Teramae (2010) Effect of substituents of alloxazine derivatives on the selectivity and affinity for adenine in AP-site-containing DNA duplexes. *Organic & Biomolecular Chemistry* 8, 4949-4959.
98. Onu, A., M. Palamaru, E. Tutovan, and C. Ciobanu (1998) Photodegradation of a polyamidehydroxyurethane type polymer in aqueous solution. The role of some dyes in the degradation. *Polymer Degradation and Stability* 60, 465-470.
99. Drossler, P., W. Holzer, A. Penzkofer, and P. Hegemann (2003) Fluorescence quenching of riboflavin in aqueous solution by methionin and cystein. *Chemical Physics* 286, 409-420.
100. Baier, J., T. Maisch, M. Maier, E. Engel, M. Landthaler, and W. Baumler (2006) Singlet oxygen generation by UVA light exposure of endogenous photosensitizers. *Biophysical Journal* 91, 1452-1459.
101. Engl, R., R. Kilger, M. Maier, K. Scherer, C. Abels, and W. Baumler (2002) Singlet oxygen generation by 8-methoxypsoralen in deuterium oxide: Relaxation rate constants and dependence of the generation efficacy on the oxygen partial pressure. *Journal of Physical Chemistry B* 106, 5776-5781.
102. Vakrat-Haglili, Y., L. Weiner, V. Brumfeld, A. Brandis, Y. Salomon, B. McIlroy, B. C. Wilson, A. Pawlak, M. Rozanowska, T. Sarna, and A. Scherz (2005) The microenvironment effect on the generation of reactive oxygen species by Pd-bacteriopheophorbide. *Journal of the American Chemical Society* 127, 6487-6497.

103. Tanielian, C., C. Schweitzer, R. Mechin, and C. Wolff (2001) Quantum yield of singlet oxygen production by monomeric and aggregated forms of hematoporphyrin derivative. *Free Radical Biology and Medicine* 30, 208-212.
104. Hanson, K. M. and J. D. Simon (1998) Epidermal trans-urocanic acid and the UV-A-induced photoaging of the skin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95, 10576-10578.
105. Berneburg, M., H. Plettenberg, K. Medve-Konig, A. Pfahlberg, H. Gers-Barlag, O. Gefeller, and J. Krutmann (2004) Induction of the photoaging-associated mitochondrial common deletion in vivo in normal human skin. *Journal of Investigative Dermatology* 122, 1277-1283.
106. Wertz, K., P. B. Hunziker, N. Seifert, G. Riss, M. Neeb, G. Steiner, W. Hunziker, and R. Góralczyk (2005) Beta-carotene interferes with ultraviolet light A-induced gene expression by multiple pathways. *Journal of Investigative Dermatology* 124, 428-434.
107. GretherBeck, S., S. OlaizolaHorn, H. Schmitt, M. Grewe, A. Jahnke, J. P. Johnson, K. Briviba, H. Sies, and J. Krutmann (1996) Activation of transcription factor AP-2 mediates UVA radiation- and singlet oxygen-induced expression of the human intercellular adhesion molecule 1 gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93, 14586-14591.
108. Song, P. S., M. Sun, A. Koziółowa, and J. Koziół (1974) Photoautomerism of lumichromes and alloxazines. *Journal of the American Chemical Society* 96, 4319-4323.
109. Fugate, R. D. and P. S. Song (1976) Lifetime study of phototautomerism of alloxazine and lumichromes. *Photochemistry and Photobiology* 24, 479-481.
110. Szafran, M. M., J. Koziół, and P. F. Heelis (1990) Hydrogen-bonding and phototautomerism of 3-methylalumichrome. *Photochemistry and Photobiology* 52, 353-360.
111. Sikorska, E., A. Koziółowa, M. Sikorski, and A. Siemiarczuk (2003) The solvent effect on the excited-state proton transfer of lumichrome. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* 157, 5-14.
112. Tyagi, A. and A. Penzkofer (2011) Absorption and emission spectroscopic characterization of lumichrome in aqueous solutions. *Photochemistry and Photobiology* 87, 524-533.
113. Dudley, K. H., A. Ehrenberg, P. Hemmerich, and F. Muller (1964) Spektren und Strukturen der am Flavin-redoxsystem beteiligten Partikeln. Studien in der Flavinreihe IX [1]. *Helvetica Chimica Acta* 47, 1354-1383.
114. Prukała, D., M. Gierszewski, T. Pędziński, and M. Sikorski (2014) Influence of pH on spectral and photophysical properties of 9-methyl-5-deazaalloxazine and 10-ethyl-5-deaza-isoalloxazine. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* 275, 12-20.

115. Lasser, N. and J. Feitelson (1977) Protonation and deprotonation equilibria of lumichrome. *Photochemistry and Photobiology* 25, 451-456.
116. Muller, F. and K. H. Dudley (1971) Synthesis and borohydride reduction of some alloxazine derivatives. *Helvetica Chimica Acta* 54, 1487-1492.
117. Kowalczyk, R. M., E. Schleicher, R. Bittl, and S. Weber (2004) The photoinduced triplet of flavins and its protonation states. *Journal of the American Chemical Society* 126, 11393-11399.
118. Langer, J., A. Gunther, S. Seidenbecher, G. Berden, J. Oomens, and O. Dopfer (2014) Probing protonation sites of isolated flavins using IR spectroscopy: From lumichrome to the cofactor flavin mononucleotide. *ChemPhysChem* 15, 2550-2562.
119. Drossler, P., W. Holzer, A. Penzkofer, and P. Hegemann (2002) pH dependence of the absorption and emission behaviour of riboflavin in aqueous solution. *Chemical Physics* 282, 429-439.
120. Marchena, M., M. Gil, C. Martin, J. A. Organero, F. Sanchez, and A. Douhal (2011) Stability and photodynamics of lumichrome structures in water at different pHs and in chemical and biological caging media. *Journal of Physical Chemistry B* 115, 2424-2435.
121. Penzkofer, A., A. Tyagi, and J. Kiermaier (2011) Room temperature hydrolysis of lumiflavin in alkaline aqueous solution. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* 217, 369-375.
122. Sikorska, E., I. V. Khmelinskii, M. Kubicki, W. Prukala, G. Nowacka, A. Siemiarczuk, J. Koput, L. F. V. Ferreira, and M. Sikorski (2005) Hydrogen-bonded complexes of lumichrome. *Journal of Physical Chemistry A* 109, 1785-1794.
123. Yagi, K., N. Ohishi, K. Nishimoto, J. D. Choi, and P. S. Song (1980) Effect of Hydrogen-Bonding on Electronic-Spectra and Reactivity of Flavins. *Biochemistry* 19, 1553-1557.
124. Nishimoto, K., Y. Watanabe, and K. Yagi (1978) Hydrogen-bonding of flavoprotein .1. Effect of hydrogen-bonding on electronic-spectra of flavoprotein. *Biochimica et Biophysica Acta* 526, 34-41.
125. Lloyd, J. B. F. (1971) Synchronized excitation of fluorescence emission spectra. *Nature-Physical Science* 231, 64-&.
126. Patra, D. and C. Barakat (2011) Synchronous fluorescence spectroscopic study of solvatochromic curcumin dye. *Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 79, 1034-1041.
127. Patra, D. and A. K. Mishra (2002) Recent developments in multi-component synchronous fluorescence scan analysis. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* 21, 787-798.

128. Vo-Dinh, T. and R. B. Gammage (1978) Singlet-triplet energy difference as a parameter of selectivity in synchronous phosphorimetry. *Analytical Chemistry* 50, 2054-2058.
129. Vo-Dinh, T. (1978) Multicomponent analysis by synchronous luminescence spectrometry. *Analytical Chemistry* 50, 396-401.
130. Rubio, S., A. Gomezzens, and M. Valcarcel (1986) Analytical applications of synchronous fluorescence spectroscopy. *Talanta* 33, 633-640.
131. Sikorska, E., A. Gliszczynska-Swiglo, I. V. Khmelinskii, and M. Sikorski (2005) Synchronous fluorescence spectroscopy of edible vegetable oils. Quantification of tocopherols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 6988-6994.
132. Sikorska, E., T. Górecki, I. V. Khmelinskii, M. Sikorski, and J. Koziół (2005) Classification of edible oils using synchronous scanning fluorescence spectroscopy. *Food Chemistry* 89, 217-225.
133. Patra, D. and A. K. Mishra (2001) Concentration dependent red shift: qualitative and quantitative investigation of motor oils by synchronous fluorescence scan. *Talanta* 53, 783-790.
134. John, P. and I. Soutar (1976) Identification of crude oils by synchronous excitation spectrofluorimetry. *Analytical Chemistry* 48, 520-524.
135. Shaver, J. M. and L. B. McGown (1995) Fluorescence studies of complex coal liquid samples using the lifetime synchronous spectrum (Liss). *Applied Spectroscopy* 49, 813-818.
136. Patra, D. and A. K. Mishra (2001) Concentration dependent red shift: qualitative and quantitative investigation of motor oils by synchronous fluorescence scan. *Talanta* 53, 783-790.
137. Matuszewska, A. and M. Czaja (2002) Aromatic compounds in molecular phase of Baltic amber - synchronous luminescence analysis. *Talanta* 56, 1049-1059.
138. Pulgarin, J. A. M. and A. A. Molina (1994) Determination of salicylic and gentisic acids in the presence of each other by matrix isopotential synchronous fluorescence spectrometry. *Analyst* 119, 1915-1919.
139. Prukała, D., W. Prukała, M. Gierszewski, J. Karolczak, I. V. Khmelinskii, and M. Sikorski (2014) The effects of pH and hydrogen bonds on photophysical properties of N-(4-bromobenzyl) substituted hydroxystilbazolium hemicyanine and merocyanine. *Dyes and Pigments* 108, 126-139.
140. Prukała, D., W. Prukała, M. Gierszewski, J. Karolczak, I. V. Khmelinskii, and M. Sikorski (2012) Influence of pH on photophysical properties of (E)-1-(4-chlorobenzyl)-4-(4-hydroxystyryl)pyridinium chloride. *Photochemical & Photobiological Sciences* 11, 1454-1464.
141. Lijewski, S., M. Gierszewski, Ł. Sobotta, J. Piskorz, P. Kordas, M. Kucińska, D. Baranowski, Z. Gdaniec, M. Murias, J. Karolczak, M. Sikorski, J. Mielcarek, and T.

- Gośliński (2015) Photophysical properties and photochemistry of a sulfanyl porphyrazine bearing isophthaloxybutyl substituents. *Dyes and Pigments* 113, 702-708.
142. Rodriguez, J. J. S., Z. S. Ferrera, A. A. Perera, and V. G. Diaz (1992) Sensitive simultaneous determination of benzo(a)pyrene, perylene and chrysene by synchronous spectrofluorometry in nonionic micellar media. *Talanta* 39, 1611-1617.
143. Li, X. Y., N. Li, H. D. Luo, L. R. Lin, Z. X. Zou, Y. Z. Jia, and Y. Q. Li (2011) A novel synchronous fluorescence spectroscopic approach for the rapid determination of three polycyclic aromatic hydrocarbons in tea with simple microwave-assisted pretreatment of sample. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 5899-5905.
144. Teixeira, A. P., T. M. Duarte, M. J. T. Carrondo, and P. M. Alves (2011) Synchronous fluorescence spectroscopy as a novel tool to enable PAT applications in bioprocesses. *Biotechnology and Bioengineering* 108, 1852-1861.
145. Patra, D. and T. H. Ghaddar (2009) Application of synchronous fluorescence scan spectroscopy for size dependent simultaneous analysis of CdTe nanocrystals and their mixtures. *Talanta* 77, 1549-1554.
146. Vo-Dinh, T. (1982) Synchronous luminescence spectroscopy - methodology and applicability. *Applied Spectroscopy* 36, 576-581.
147. Prukała, D., M. Gierszewski, M. Kubicki, T. Pędziński, E. Sikorska, and M. Sikorski (2015) Spectroscopy and photophysics of trimethyl-substituted derivatives of 5-deazaalloxazine. Experimental and theoretical approaches. *Journal of Molecular Structure* 1079, 139-146.
148. Prukała, D., I. V. Khmelinskii, J. Koput, M. Gierszewski, T. Pędziński, and M. Sikorski (2014) Photophysics, excited-state double-proton transfer and hydrogen-bonding properties of 5-deazaalloxazines. *Photochemistry and Photobiology* 90, 972-988.
149. Prukała, D., M. Taczowska, M. Gierszewski, T. Pędziński, and M. Sikorski (2014) Spectroscopy and photophysics of monomethyl-substituted derivatives of 5-deazaalloxazine and 10-ethyl-5-deaza-isoalloxazine. *Journal of Fluorescence* 24, 505-521.
150. Wendel, M., D. Szot, K. Starzak, D. Tuwalska, D. Prukała, T. Pędziński, M. Sikorski, S. Wybraniec, and G. Burdziński (2015) Photophysical properties of indicaxanthin in aqueous and alcoholic solutions. *Dyes and Pigments* 113, 634-639.
151. Burdziński, G., A. Maciejewski, G. Buntinx, O. Poizat, and C. Lefumeux (2004) Ultrafast quenching of the excited S-2 state of benzopyranthione by acetonitrile. *Chemical Physics Letters* 384, 332-338.
152. Pędziński, T., A. Markiewicz, and B. Marciniak (2009) Photosensitized oxidation of methionine derivatives. Laser flash photolysis studies. *Research on Chemical Intermediates* 35, 497-506.

153. Gross, E. K. U., J. F. Dobson, and M. Petersilka (1996) Density functional theory of time-dependent phenomena. *Density Functional Theory II* 181, 81-172.
154. Sikorski, M., D. Prukała, M. Insińska-Rak, I. V. Khmelinskii, D. R. Worrall, S. L. Williams, J. Hernando, J. L. Bourdelande, J. Koput, and E. Sikorska (2008) Spectroscopy and photophysics of dimethyl-substituted alloxazines. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* 200, 148-160.
155. Becke, A. D. (1993) Density-functional thermochemistry. 3. The role of exact exchange. *Journal of Chemical Physics* 98, 5648-5652.
156. Lee, C. T., W. T. Yang, and R. G. Parr (1988) Development of the colle-salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron-density. *Physical Review B* 37, 785-789.
157. Ditchfie, R., W. J. Hehre, and J. A. Pople (1971) Self-consistent molecular-orbital methods. 9. Extended Gaussian-type basis for molecular-orbital studies of organic molecules. *Journal of Chemical Physics* 54, 724-&.
158. Dunning, T. H. (1989) Gaussian-basis sets for use in correlated molecular calculations. 1. The Atoms Boron Through Neon and Hydrogen. *Journal of Chemical Physics* 90, 1007-1023.
159. Yanai, T., D. P. Tew, and N. C. Handy (2004) A new hybrid exchange-correlation functional using the Coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP). *Chemical Physics Letters* 393, 51-57.
160. Adamo, C., G. E. Scuseria, and V. Barone (1999) Accurate excitation energies from time-dependent density functional theory: Assessing the PBE0 model. *Journal of Chemical Physics* 111, 2889-2899.
161. Adamo, C. and V. Barone (1999) Toward reliable density functional methods without adjustable parameters: The PBE0 model. *Journal of Chemical Physics* 110, 6158-6170.
162. Bauernschmitt, R. and R. Ahlrichs (1996) Treatment of electronic excitations within the adiabatic approximation of time dependent density functional theory. *Chemical Physics Letters* 256, 454-464.
163. Foresman, J. B., M. Headgordon, J. A. Pople, and M. J. Frisch (1992) Toward A systematic molecular-orbital theory for excited-states. *Journal of Physical Chemistry* 96, 135-149.
164. Headgordon, M., R. J. Rico, M. Oumi, and T. J. Lee (1994) A doubles correction to electronic excited-states from configuration-interaction in the space of single substitutions. *Chemical Physics Letters* 219, 21-29.
165. Stanton, J. F. and R. J. Bartlett (1993) A coupled-cluster based effective hamiltonian method for dynamic electric polarizabilities. *Journal of Chemical Physics* 99, 5178-5183.

166. Krystkowiak, E., J. Koput, and A. Maciejewski (2012) Hydrogen bond effects in the ground and excited singlet states of 4H-1-benzopyrane-4-thione in water-theory and experiment. *Physical Chemistry Chemical Physics* 14, 8842-8851.
167. Reed, A. E., L. A. Curtiss, and F. Weinhold (1988) Intermolecular interactions from a natural bond orbital, donor-acceptor viewpoint. *Chemical Reviews* 88, 899-926.
168. Reed, A. E., R. B. Weinstock, and F. Weinhold (1985) Natural-population analysis. *Journal of Chemical Physics* 83, 735-746.
169. Reed, A. E. and F. Weinhold (1985) Natural localized molecular-orbitals. *Journal of Chemical Physics* 83, 1736-1740.
170. Bruszyńska, M., E. Sikorska, A. Komasa, I. V. Khmelinskii, L. F. V. Ferreira, J. Hernando, J. Karolczak, M. Kubicki, J. L. Bourdelande, and M. Sikorski (2009) Electronic structure and spectral properties of selected trimethyl-alloxazines: Combined experimental and DFT study. *Chemical Physics* 361, 83-93.
171. Sikorska, E., I. V. Khmelinskii, A. Bednarek, S. L. Williams, D. R. Worrall, J. R. Herance, J. L. Bourdelande, G. Nowacka, J. Koput, and M. Sikorski (2004) Spectroscopy and photophysics of 6,8-dimethylalloxazine. Experimental and theoretical study. *Polish Journal of Chemistry* 78, 2163-2173.
172. Sikorska, E., D. R. Worrall, J. L. Bourdelande, and M. Sikorski (2003) Photophysics of lumichrome and its analogs. *Polish Journal of Chemistry* 77, 65-73.
173. Li, H., Z. Q. Jiang, Y. Pan, and S. Q. Yu (2006) Study on electron transfer of fluorescent probe lumichrome and nucleic acid by laser flash photolysis. *Research on Chemical Intermediates* 32, 695-708.
174. Carmichael, I. and G. L. Hug (1986) Triplet-triplet absorption-spectra of organic-molecules in condensed phases. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 15, 1-250.
175. Schmidt, R., C. Tanielian, R. Dunsbach, and C. Wolff (1994) Phenalenone, A universal reference compound for the determination of quantum yields of singlet oxygen O₂(1-Δ-G) sensitization. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* 79, 11-17.
176. Prukala, D., E. Sikorska, J. Koput, I. Khmelinskii, J. Karolczak, M. Gierszewski, and M. Sikorski (2012) Acid-base equilibriums of lumichrome and its 1-methyl, 3-methyl, and 1,3-dimethyl derivatives. *Journal of Physical Chemistry A* 116, 7474-7490.
177. Catalan, J., V. Lopez, and P. Perez (1995) Solvent dipolarity polarizability (Spp) of alcoholic solvents. *Liebigs Annalen* 793-795.
178. Katritzky, A. R., D. C. Fara, H. F. Yang, K. Tamm, T. Tamm, and M. Karelson (2004) Quantitative measures of solvent polarity. *Chemical Reviews* 104, 175-198.
179. Reynolds, L., J. A. Gardecki, S. J. V. Frankland, M. L. Horng, and M. Maroncelli (1996) Dipole solvation in nondipolar solvents: Experimental studies of reorganization energies and solvation dynamics. *Journal of Physical Chemistry* 100, 10337-10354.

180. Reichardt, C. (1994) Solvatochromic dyes as solvent polarity indicators. *Chemical Reviews* 94, 2319-2358.
181. Catalan, J. (2009) Toward a generalized treatment of the solvent effect based on four empirical scales: dipolarity (SdP, a new scale), polarizability (SP), acidity (SA), and basicity (SB) of the medium. *Journal of Physical Chemistry B* 113, 5951-5960.

7. Spis publikacji, rozdziałów monografii oraz wystąpień na konferencjach krajowych i zagranicznych

Artykuły naukowe w czasopismach z tzw. listy filadelfijskiej

1. D. Prukała, W. Prukała, M. Gierszewski, J. Karolczak, I. Khmelinskii, M. Sikorski, Influence of pH on photophysical properties of (E)-1-(4-chlorobenzyl)-4-(4-hydroxystyryl)pyridinium chloride, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2012, 11, 1454-1464.
2. D. Prukała, E. Sikorska, J. Koput, I. Khmelinskii, J. Karolczak, M. Gierszewski, M. Sikorski, Acid – base equilibriums of lumichrome and its 1-methyl, 3-methyl and 1,3-dimethyl derivatives, *The Journal of Physical Chemistry A*, 2012, 116, 7474-7490.
3. D. Prukała, M. Gierszewski, T. Pędziński, M. Sikorski, Influence of pH on spectral and photophysical properties of 9-methyl-5-deazaalloxazine and 10-ethyl-5-deaza-isoalloxazine, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2014, 275, 12-20.
4. D. Prukała, M. Taczowska, M. Gierszewski, T. Pędziński, M. Sikorski, Spectroscopy and photophysics of monomethyl-substituted derivatives of 5-deazaalloxazine and 10-ethyl-5-deaza-isoalloxazine, *Journal of Fluorescence*, 2014, 24, 505-521.
5. D. Prukała, W. Prukała, M. Gierszewski, J. Karolczak, I. Khmelinskii, M. Sikorski, The effects of pH and hydrogen bonds on photophysical properties of N-(4-bromobenzyl) substituted hydroxystilbazolium hemicyanine and merocyanine, *Dyes and Pigments*, 2014, 108, 126-139.
6. D. Prukała, I. Khmelinskii, J. Koput, M. Gierszewski, T. Pędziński, M. Sikorski. Photophysics, excited-state double-proton transfer and hydrogen-bonding properties of 5-deazaalloxazines. *Photochemistry and Photobiology*, 2014, 90, 972-988.
7. D. Prukała, M. Gierszewski, M. Kubicki, T. Pędziński, E. Sikorska, M. Sikorski. Spectroscopy and photophysics of trimethyl- substituted derivatives of 5-deazaalloxazine. Experimental and theoretical approaches. *Journal of Molecular Structure*, 2015, 1079, 139-146.
8. S. Lijewski, M. Gierszewski, Ł. Sobotta, J. Piskorz, P. Kordas, M. Kucińska, D. Baranowski, Z. Gdaniec, M. Murias, J. Karolczak, M. Sikorski, J. Mielcarek, T. Gośliński.

Photophysical properties and photochemistry of a sulfanyl porphyrazine bearing isophthaloxybutyl substituents. *Dyes and Pigments*, 2015, 113, 702-708.

9. M. Kaczmarek, R. Jastrząb, M. Kubicki, M. Gierszewski, M. Sikorski. Supramolecular polymer of Schiff base gadolinium complex: Synthesis, crystal structure and spectroscopic properties. *Inorganica Chimica Acta*, 2015, 430, 108-113.

10. W. Kozanecka, L. Mrówczyńska, T. Pospieszny, B. Jasiewicz, M. Gierszewski. Synthesis, spectroscopy, theoretical and biological studies of new gramine-steroids salts and conjugates, *Steroids*, 2015, 98, 92-99.

Artykuły naukowe w czasopismach nieposiadających współczynnika wpływu IF

1. M. Gierszewski, S. Lijewski, T. Gośliński, J. Mielcarek, M. Sikorski. Właściwości spektralne i aktywność biologiczna wybranych porfirazyn i ftalocyjanin siarkowych z podstawnikami peryferyjnymi. *Dokonania Młodych Naukowców*, 1 (2014) 215-221, ISSN: 2300-4436.

2. M. Gierszewski, S. Lijewski, T. Gośliński, J. Mielcarek, M. Sikorski. Badania spektralne i fotochemiczne porfirazyn siarkowych z ugrupowaniem peryferyjnym. *Dokonania Młodych Naukowców*, 1 (2014) 210-214, ISSN: 2300-4436.

3. M. Gierszewski, D. Prukała, M. Sikorski. Stany trypletowe izo- i alloksazyn. *Dokonania Młodych Naukowców*, 3 (2014) 132-137, ISSN: 2300-4436.

4. M. Gierszewski, D. Prukała, R. Cibulka, M. Sikorski. Właściwości absorpcyjno-emisyjne czteropierścieniowych monometylowych pochodnych alloksazyny. *Dokonania Młodych Naukowców*, 3 (2014) 138-141, ISSN: 2300-4436.

5. M. Gierszewski, D. Prukała, M. Sikorski. Stany singletowe wybranych izo- i alloksazyn. *Dokonania Młodych Naukowców*, 4 (2014) 113-118, ISSN: 2300-4436.

6. M. Gierszewski, D. Prukała, M. Sikorski. Badania procesów sensybilizowanego generowania tlenu singletowego. *Dokonania Młodych Naukowców*, 4 (2014), 119-120, ISSN: 2300-4436.

Rozdziały w książkach lub monografiach naukowych

1. M. Gierszewski, D. Prukała, W. Prukała, T. Pędziński, M. Sikorski. Nowe trendy w badaniach fotochemicznych, *Nowe trendy w naukach przyrodniczych - tom II*, wyd. CreativeTime, Kraków 2012, ISBN: 978-83-63058-17-3, pp. 174-182.

2. M. Gierszewski, D. Prukała, M. Sikorski, Tleni jego niezwykle właściwości, in: M. Kuczera (Ed.) Nowe trendy w naukach przyrodniczych - tom V, wyd. CreativeTime, Kraków 2012, ISBN: 978-83-63058-25-8, pp. 166-175.
3. M. Gierszewski, D. Prukała, T. Pędziński, M. Sikorski, Solwatochromowe właściwości 8-metylo-5-deazaalloksazyny w stanie podstawowym i wzbudzonym, in: Z. Hubicki (Ed.) Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości. WYD. UMCS, Lublin 2013, ISBN: 978-83-937272-0-9, pp. 328-332.
4. M. Gierszewski, D. Prukała, T. Pędziński, M. Sikorski, Porównanie właściwości spektralnych i fotofizycznych pochodnych 5-deazaalloksazyny i alloksazyny, in: Z. Hubicki (Ed.) Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości. WYD. UMCS, Lublin 2013, ISBN: 978-83-937272-0-9, pp. 332-336.
5. D. Prukała, M. Gierszewski, M. Sikorski, Widma synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej w analizie równowag prototropowych pochodnych 5-deazaalloksazyn, in: Z. Hubicki (Ed.) Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości. WYD. UMCS, Lublin 2013, ISBN: 978-83-937272-0-9, pp. 340-344.
6. M. Gierszewski, D. Prukała, T. Pędziński, M. Sikorski. Spektroskopia pochodnych 5-deazaalloksazyny. Ujęcie eksperymentalne i teoretyczne, in: Z. Hubicki (Ed.) Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości. WYD. UMCS, Lublin 2014, ISBN: 978-83-939465-2-5, 2014, Tom I, pp. 195-198.
7. M. Gierszewski, D. Prukała, E. Sikorska, M. Sikorski. Widma synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej w badaniach flawin, in: Z. Hubicki (Ed.) Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości. WYD. UMCS, Lublin 2014, ISBN: 978-83-939465-2-5, 2014, Tom I, pp. 199-202.

Referaty w języku obcym na konferencji międzynarodowej (zagranicznej)

1. International Photochemistry Conference (ICP 2013), Leuven – Belgia, 21-26.07.2013
M. Sikorski, E. Sikorska, D. Prukała, J. Karolczak, M. Gierszewski. Tautomerism, protolytic equilibria and electronic structure of flavins and their derivatives in the ground and excited states. (Współautorstwo, prezentujący: prof. dr hab. Marek Sikorski)
2. „Molecules and Light 2013”, Zakopane, 23-27.09.2013

M. Gierszewski, D. Pukała, E. Sikorska, M. Sikorski. Synchronous Fluorescence Spectroscopy: Methods and Applications. (Współautorstwo, prezentujący: prof. dr hab. Marek Sikorski)

3. 6th International Conference of PhD Students of Szczecin University, Szczecin, 25.10.2013

M. Gierszewski, S. Lijewski, T. Gośliński, J. Mielcarek, M. Sikorski. Spectral and photochemical properties of novel sulfanyl porphyrazines with extensive peripheral groups.

4. 7th International Conference of PhD Students of Szczecin University, Szczecin, 17.10.2014

M. Gierszewski, D. Pukała, M. Sikorski. Measurements of the quantum yield of singlet oxygen generations by 5-deazaflavin derivatives.

Referaty na konferencjach krajowych

1. VI Ogólnopolska Konferencja Naukowa "Nauka i Przemysł", Kraków 25. 11. 2011

M. Gierszewski, D. Pukała, M. Sikorski. Czwartorzędowe sole stilbazoliowe jako wskaźniki kwasowo-zasadowe.

2. II Ogólnopolska Konferencja „Wpływ młodych naukowców na osiągnięcia polskiej nauki”, Gdańsk 21.04.2012

M. Gierszewski, D. Pukała, W. Pukała, J. Karolczak, M. Sikorski. Wpływ pH na właściwości spektralne i fotofizyczne czwartorzędowych soli stilbazoliowych.

3. XVI Mikrosymposium „Kinetyczne metody badania mechanizmów reakcji w roztworach”, Poznań 25.05.2012

M. Gierszewski, D. Pukała, W. Pukała, J. Karolczak, M. Sikorski. Synchroniczna spektroskopia fluorescencyjna w badaniach równowag kwasowo-zasadowych.

4. VI Kopernikańskie Seminarium Doktoranckie, Toruń 15.06.2012

M. Gierszewski, D. Pukała, W. Pukała, J. Karolczak, M. Sikorski. Równowagi kwasowo-zasadowe czwartorzędowych soli hydroksystilbazoliowych.

5. Pomiędzy Naukami: Zjazd fizyków i chemików. I Ogólnopolska Konferencja dla studentów i doktorantów, Chorzów 05.10.2012

M. Gierszewski, D. Pukała, M. Sikorski. Właściwości spektralne i fotofizyczne 5-dezaalloksazyny i jej metylowych pochodnych.

6. III Ogólnopolska Konferencja „Wpływ młodych naukowców na osiągnięcia polskiej nauki”, Kraków 16.12.2012

M. Gierszewski, D. Pukała, T. Pędziński, M. Sikorski. Właściwości spektralne i fotofizyczne pochodnych 5-deazaalloksazyny.

7. VII Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Nauka i Przemysł 2013”, Kraków 8-9.03.2013

M. Gierszewski, D. Pukała, W. Pukała, M. Sikorski. Właściwości spektralne i fotofizyczne czwartorzędowych soli hydroksystilbazoliowych oraz metyloowych pochodnych 5-deazaalloksazyny.

8. Nauka i Przemysł. Metody spektroskopowe w praktyce – nowe wyzwania i możliwości. Lublin 4-6.06.2013

M. Gierszewski, D. Pukała, T. Pędziński, M. Sikorski. Porównanie właściwości spektralnych i fotofizycznych pochodnych 5-deazaalloksazyny i alloksazyny.

9. Nauka i Przemysł. Metody spektroskopowe w praktyce – nowe wyzwania i możliwości. Lublin 4-6.06.2013

D. Pukała, M. Gierszewski, M. Sikorski. Widma synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej w analizie równowag prototropowych pochodnych 5-deazaalloksazyn.

10. Wpływ młodych naukowców na osiągnięcia polskiej nauki – V edycja – metodologia badań w naukach przyrodniczych i inżynierskich, Zakopane, 23.11.2013

M. Gierszewski, D. Pukała, E. Sikorska, M. Sikorski. Wykorzystanie metod spektroskopii absorpcyjno-emisyjnej w zakresie UV-Vis do badań podstawowych i stosowanych.

11. Wpływ młodych naukowców na osiągnięcia polskiej nauki – V edycja – nowe trendy w naukach przyrodniczych, Wrocław, 14.12.2013

M. Gierszewski, S. Lijewski, T. Gośliński, J. Mielcarek, M. Sikorski. Badania spektralne i fotochemiczne porfirazyn siarkowych z rozbudowanym podstawnikiem peryferyjnym. (referat wyróżniony przez organizatorów)

12. Dokonania Naukowe Doktorantów – II edycja, Kraków, 12.04.2014

M. Gierszewski, D. Pukała, R. Cibulka, T. Pędziński, M. Sikorski. Badania spektralne i fotofizyczne czteropierścieniowych metyloowych pochodnych alloksazyny.

13. Wpływ młodych naukowców na osiągnięcia polskiej nauki – VI edycja – nowe trendy w naukach przyrodniczych, Gdańsk, 25.04.2014

M. Gierszewski, D. Pukała, M. Sikorski. Pochodne 5-deazaalloksazyny jako fotosensybilizatory tlenu singletowego. (referat wyróżniony przez organizatorów)

14. Nauka i Przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości, Lublin, 10-12.06.2014

M. Gierszewski, D. Pukała, T. Pędziński, M. Sikorski. Spektroskopia pochodnych 5-

deazaalloksazyny. Ujęcie eksperymentalne i teoretyczne.

15. VI Konwersatorium Chemii Medycznej, Lublin, 18-20.09.2014

M. Gierszewski, S. Lijewski, M. Falkowski, G. Burdziński, J. Karolczak, T. Gośliński, M. Sikorski, J. Mielcarek. Investigations of singlet and triplet states for sulfanyl porphyrazines with isophthaloxy substituents.

16. IX Poznańska Konferencja Naukowa: Chemia - nowe wyzwania dla nauki i przemysłu, Poznań, 05.12.2014

M. Gierszewski, D. Prukała, M. Sikorski. Generowanie tlenu singletowego przez pochodne 5-deazaalloksazyny.

17. Wpływ młodych naukowców na osiągnięcia polskiej nauki – VII edycja, Wrocław, 17.01.2015

M. Gierszewski, D. Prukała, M. Sikorski. Tlen singletowy - co warto wiedzieć o tej reaktywnej formie tlenu?

Postery w języku obcym na konferencjach międzynarodowych (zagranicznych)

1. Polish Photoscience Seminar, Krutyń 08-11. 06. 2011

M. Gierszewski, D. Prukała, M. Sikorski, Spectral and photophysical properties of (E)-N-(alkylcarbonyl-alkoxy)-2'(4')-hydroxy-4-stilbazolium halides.

2. „Molecules and Light”, Zakopane, 19-23.09.2011

M. Gierszewski, D. Prukała, M. Sikorski. Spectral and photophysical properties of (E)-N-(alkylcarbonyl-alkoxy)-2'(4')-hydroxy-4-stilbazolium halides.

3. V Międzynarodowa Konferencja Doktorantów Uniwersytetu Szczecińskiego „Najnowsze osiągnięcia w dziedzinie biologii”

M. Gierszewski, D. Prukała, T. Pędziński, M. Sikorski. Spektroskopia i fotofizyka metylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny – badania eksperymentalne i teoretyczne.

4. 13th Conference on Methods and Applications of Fluorescence, Genoa - Italia, 08-11.09.2013

M. Sikorski, D. Prukała, M. Gierszewski, E. Sikorska. Photophysics, excited-state double proton transfer and hydrogen-bonding properties of 5-deazaalloxazines. (Współautorstwo, prezentujący: prof. dr hab. Marek Sikorski).

5. 25th Bilateral Poznań-Halle Symposium “Perspectives and Challenges in Medicine”, Poznań, 13-15.09.2013

S. Lijewski, P. Kordas, M. Gierszewski, Ł. Sobotta, J. Piskorz, M. Kucińska, M. Murias, D. Baranowski, Z. Gdaniec, M. Sikorski, J. Mielcarek, T. Gośliński. Synthesis, characterization, photochemical studies and in vitro photodynamic activity of novel sulfanyl porphyrazines bearing isophthaloxybutyl substituents. (Współautorstwo, prezentujący mgr S. Lijewski)

6. „Molecules and Light 2013”, Zakopane, 23-27.09.2013

M. Gierszewski, D. Prukała, T. Pędziński, M. Sikorski. Excited-state double proton transfer in 5-deazaalloxazines.

7. „Molecules and Light 2013”, Zakopane, 23-27.09.2013

D. Prukała, W. Prukała, M. Gierszewski, M. Sikorski. Influence of pH and solvents polarities on photophysical properties of N-(4-bromobenzyl) substituted hydroxystilbazium hemi- and merocyanine (współautorstwo, prezentująca: dr D. Prukała).

8. 6th International Conference of PhD Students of Szczecin University, Szczecin, 25.10.2013

M. Gierszewski, D. Prukała, M. Sikorski. Spectral and photochemical properties of 10-ethyl-5-deazaisoalloxazine.

9. 10th Warsaw International Medical Congress for Young Scientists, Warszawa, 15-18.05.2014

M. Falkowski, M. Gierszewski, S. Lijewski, Ł. Sobotta, M. Stolarska, Ł. Popenda, S. Jurga, M. Sikorski, J. Mielcarek, T. Gośliński. Synthesis and photochemical properties of novel magnesium sulfanyl porphyrazine functionalized with isophthaloxyethyl groups.

10. 4th Summer Symposium on Nanomaterials and their Application to Biology and Medicine, Poznań, 15-18.06.2014

M. Falkowski, M. Gierszewski, S. Lijewski, Ł. Sobotta, M. Stolarska, Ł. Popenda, S. Jurga, M. Sikorski, J. Mielcarek, T. Gośliński. Synthesis and physicochemical properties of novel sulfanyl porphyrazines functionalized with isophthaloxy substituents as potential building blocks for nanotechnology.

Postery na konferencjach krajowych

1. II Ogólnopolska Konferencja „Wpływ młodych naukowców na osiągnięcia polskiej nauki”, Gdańsk 21.04.2012

M. Gierszewski, D. Prukała, W. Prukała, M. Sikorski. Właściwości spektralne i fotofizyczne barwników hemicyjaninowych i merocyjaninowych.

2. XVI Mikrosymposium „Kinetyczne metody badania mechanizmów reakcji w roztworach”,
Poznań 25.05.2012

M. Gierszewski, D. Prukała, W. Prukała, M. Sikorski. Właściwości spektralne i fotofizyczne
halogenków (E)-N-(alkilo-karbonylo-alkoksy)-2'(4')-hydroksy-4-stilbazoliowych.

3. VI Kopernikańskie Seminarium Doktoranckie, Toruń 15.06.2012

M. Gierszewski, D. Prukała, W. Prukała, M. Sikorski. Solwatochromizm soli
hydroksystilbazoliowych.

4. Pomiędzy Naukami: Zjazd fizyków i chemików. I Ogólnopolska Konferencja dla
studentów i doktorantów, Chorzów 05.10.2012

M. Gierszewski, D. Prukała, M. Sikorski. PDT – kierunki badań i zastosowania medyczne.

5. III Ogólnopolska Konferencja „Wpływ młodych naukowców na osiągnięcia polskiej
nauki”, Kraków 16.12.2012

M. Gierszewski, D. Prukała, T. Pędziński, M. Sikorski. Nowe trendy w badaniach związków
o strukturze flawin.

6. XVII Mikrosymposium „Kinetyczne metody badania mechanizmów reakcji w
roztworach”, Poznań 24.05.2012

A. Krawczyk, M. Piasecka, D. Prukała, M. Gierszewski, M. Sikorski. Właściwości spektralne
i fotofizyczne (E)-2-stilbenyloksyalkilotiouracylu.

7. XVII Mikrosymposium „Kinetyczne metody badania mechanizmów reakcji w
roztworach”, Poznań 24.05.2012

M. Gierszewski, D. Prukała, A. Krawczyk, M. Sikorski. Pochodne 5-deazaalloksazyny w
stanach singletowych i trypletowych. Ujęcie teoretyczne.

8. „Nauka i Przemysł. Metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości”,
Lublin 4-6. 06. 2013

M. Gierszewski, D. Prukała, T. Pędziński, M. Sikorski. Solwatochromowe właściwości 8-
metylo-5-deazaalloksazyny w stanie podstawowym i wzbudzonym.

9. Szkoła Chemii Medycznej, Wrocław, 17-18.10.2013

S. Lijewski, T. Rębiś, M. Falkowski, P. Kordas, D. Młynarczyk, M. Gierszewski, Ł. Sobotta,
J. Piskorz, M. Sikorski, G. Milczarek, J. Mielcarek, T. Gośliński. Właściwości foto- i
elektrochemiczne nowych porfirazyn posiadających peryferyjne ugrupowania
izoftaloksyalkilosulfanylowe. (Współautorstwo, prezentujący: mgr M. Falkowski).

10. Nauka i Przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości,
Lublin, 10-12.06.2014

M. Gierszewski, D. Prukała, E. Sikorska, M. Sikorski. Widma synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej w badaniach flawin.

11. VI Konwersatorium Chemii Medycznej, Lublin, 18-20.09.2014

D. Młynarczyk, S. Lijewski, W. Szczęółko, Ł. Sobotta, M. Gierszewski, Ł. Popena, M. Sikorski, S. Jurga, J. Mielcarek, T. Gośliński. Synthesis and characterization of novel sulfanyl tribenzoporphyrazines.

12. VI Konwersatorium Chemii Medycznej, Lublin, 18-20.09.2014

M. Falkowski, M. Stolarska, M. Gierszewski, S. Lijewski, Ł. Sobotta, J. Piskorz, Ł. Popena, S. Jurga, M. Sikorski, J. Mielcarek, T. Gośliński. Sulfanyl porphyrazines as potential agents for photodynamic therapy - synthesis and physicochemical properties.

13. IX Poznańska Konferencja Naukowa: Chemia - nowe wyzwania dla nauki i przemysłu, Poznań, 05.12.2014

M. Gierszewski, M. Falkowski, S. Lijewski, T. Gośliński, J. Mielcarek, M. Sikorski. Badania spektralne i fotochemiczne wybranych porfirazyn siarkowych z rozbudowanym ugrupowaniem peryferyjnym w roztworach wodnych.

Artykuły w materiałach konferencyjnych, abstrakty

1. VI Ogólnopolska Konferencja Naukowa "Nauka i Przemysł", Kraków, 25. 11. 2011

M. Gierszewski, D. Prukała, M. Sikorski. Czwartorzędowe sole stilbazoliowe jako wskaźniki kwasowo-zasadowe, strona: 23-31, artykuł w materiałach konferencyjnych.

2. Młodzi Naukowcy dla polskiej nauki, Gdańsk, 21.04.2012

M. Gierszewski, D. Prukała, W. Prukała, J. Karolczak, M. Sikorski. Wpływ pH na właściwości spektralne i fotofizyczne czwartorzędowych soli stilbazoliowych, Wyd. CreativeTime, Kraków 2012, strony: 111-120, ISBN: 978-83-63058-14-2, artykuł w materiałach konferencyjnych.

3. V Międzynarodowa Konferencja Doktorantów Uniwersytetu Szczecińskiego „Najnowsze osiągnięcia w dziedzinie biologii”, Szczecin, 26.10.2012

M. Gierszewski, D. Prukała, T. Pędziński, M. Sikorski. Spektroskopia i fotofizyka metylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny – badania eksperymentalne i teoretyczne, strony: 42-44, artykuł w materiałach konferencyjnych.

4. Wpływ młodych naukowców na osiągnięcia polskiej nauki, Kraków, 16.12.2012

M. Gierszewski, D. Prukała, T. Pędziński M. Sikorski. Właściwości spektralne i fotofizyczne pochodnych 5-deazaalloksazyny i jej pochodnych. Ujęcie eksperymentalne i teoretyczne. Strony: 144-154, ISBN: 978-83-63058-22-7, artykuł w materiałach konferencyjnych.

Ponadto współautorstwo, łącznie 29 jednostronicowych, abstraków w materiałach konferencyjnych

Wykaz stosowanych skrótów i symboli

SSF	- synchroniczna spektroskopia fluorescencyjna
Rfl	- ryboflawina
5DRfl	- 5-deazaryboflawina
FMN	- mononukleotyd flawinowy
FAD	- dinukleotyd flawinowo-adeninowy
All	- alloksazyna
5DAI1	- 5-dezaalloksazyna
IzoAll	- izoalloksazyna
5DIzoAll	- 5-dezaizoalloksazyna
LChr	- lumichrom
LFI	- lumiflawina
1Me-5DAI1	- 1-metylo-5-dezaalloksazyna
3Me-5DAI1	- 3-metylo-5-dezaalloksazyna
5Me-5DAI1	- 5-metylo-5-dezaalloksazyna
6Me-5DAI1	- 6-metylo-5-dezaalloksazyna
7Me-5DAI1	- 7-metylo-5-dezaalloksazyna
8Me-5DAI1	- 8-metylo-5-dezaalloksazyna
9Me-5DAI1	- 9-metylo-5-dezaalloksazyna
13Me-5DAI1	- 1,3-dimetylo-5-dezaalloksazyna
15Me-5DAI1	- 1,5-dimetylo-5-dezaalloksazyna
16Me-5DAI1	- 1,6-dimetylo-5-dezaalloksazyna
17Me-5DAI1	- 1,7-dimetylo-5-dezaalloksazyna
18Me-5DAI1	- 1,8-dimetylo-5-dezaalloksazyna
19Me-5DAI1	- 1,9-dimetylo-5-dezaalloksazyna
35Me-5DAI1	- 3,5-dimetylo-5-dezaalloksazyna
36Me-5DAI1	- 3,6-dimetylo-5-dezaalloksazyna
37Me-5DAI1	- 3,7-dimetylo-5-dezaalloksazyna
38Me-5DAI1	- 3,8-dimetylo-5-dezaalloksazyna
39Me-5DAI1	- 3,9-dimetylo-5-dezaalloksazyna
56Me-5DAI1	- 5,6-dimetylo-5-dezaalloksazyna
57Me-5DAI1	- 5,7-dimetylo-5-dezaalloksazyna

58Me-5DAI	-	5,8-dimetylo-5-deazaalloksazyna
59Me-5DAI	-	5,9-dimetylo-5-deazaalloksazyna
67Me-5DAI	-	6,7-dimetylo-5-deazaalloksazyna
68Me-5DAI	-	6,8-dimetylo-5-deazaalloksazyna
69Me-5DAI	-	6,9-dimetylo-5-deazaalloksazyna
78Me-5DAI	-	7,8-dimetylo-5-deazaalloksazyna
79Me-5DAI	-	7,9-dimetylo-5-deazaalloksazyna
89Me-5DAI	-	8,9-dimetylo-5-deazaalloksazyna
135Me-5DAI	-	1,3,5-trimetylo-5-deazaalloksazyna
136Me-5DAI	-	1,3,6-trimetylo-5-deazaalloksazyna
137Me-5DAI	-	1,3,7-trimetylo-5-deazaalloksazyna
138Me-5DAI	-	1,3,8-trimetylo-5-deazaalloksazyna
139Me-5DAI	-	1,3,9-trimetylo-5-deazaalloksazyna
156Me-5DAI	-	1,5,6-trimetylo-5-deazaalloksazyna
157Me-5DAI	-	1,5,7-trimetylo-5-deazaalloksazyna
158Me-5DAI	-	1,5,8-trimetylo-5-deazaalloksazyna
159Me-5DAI	-	1,5,9-trimetylo-5-deazaalloksazyna
167Me-5DAI	-	1,6,7-trimetylo-5-deazaalloksazyna
168Me-5DAI	-	1,6,8-trimetylo-5-deazaalloksazyna
169Me-5DAI	-	1,6,9-trimetylo-5-deazaalloksazyna
356Me-5DAI	-	3,5,6-trimetylo-5-deazaalloksazyna
357Me-5DAI	-	3,5,7-trimetylo-5-deazaalloksazyna
358Me-5DAI	-	3,5,8-trimetylo-5-deazaalloksazyna
359Me-5DAI	-	3,5,9-trimetylo-5-deazaalloksazyna
567Me-5DAI	-	5,6,7-trimetylo-5-deazaalloksazyna
568Me-5DAI	-	5,6,8-trimetylo-5-deazaalloksazyna
569Me-5DAI	-	5,6,9-trimetylo-5-deazaalloksazyna
678Me-5DAI	-	6,7,8-trimetylo-5-deazaalloksazyna
679Me-5DAI	-	6,7,9-trimetylo-5-deazaalloksazyna
789Me-5DAI	-	7,8,9-trimetylo-5-deazaalloksazyna
1356Me-5DAI	-	1,3,5,6-tetrametylo-5-deazaalloksazyna
1357Me-5DAI	-	1,3,5,7-tetrametylo-5-deazaalloksazyna
1358Me-5DAI	-	1,3,5,8-tetrametylo-5-deazaalloksazyna

1359Me-5DAI	-	1,3,5,9-tetrametylo-5-deazaalloksazyna
1367Me-5DAI	-	1,3,6,7-tetrametylo-5-deazaalloksazyna
1368Me-5DAI	-	1,3,6,8-tetrametylo-5-deazaalloksazyna
1369Me-5DAI	-	1,3,6,9-tetrametylo-5-deazaalloksazyna
1378Me-5DAI	-	1,3,7,8-tetrametylo-5-deazaalloksazyna
1389Me-5DAI	-	1,3,8,9-tetrametylo-5-deazaalloksazyna
3567Me-5DAI	-	3,5,6,7-tetrametylo-5-deazaalloksazyna
3568Me-5DAI	-	3,5,6,8-tetrametylo-5-deazaalloksazyna
3569Me-5DAI	-	3,5,6,9-tetrametylo-5-deazaalloksazyna
5678Me-5DAI	-	5,6,7,8-tetrametylo-5-deazaalloksazyna
5679Me-5DAI	-	5,6,7,9-tetrametylo-5-deazaalloksazyna
6789Me-5DAI	-	6,7,8,9-tetrametylo-5-deazaalloksazyna
1MeFR	-	1-metylonafto[2,3-g]pterydino-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-dion
3MeFR	-	3-metylonafto[2,3-g]pterydino-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-dion
10Et-5DIzoAll	-	10-etylo-5-deazaizoalloksazyna
6MeAll	-	6-metyloalloksazyna
7MeAll	-	7-metyloalloksazyna
8MeAll	-	8-metyloalloksazyna
9MeAll	-	9-metyloalloksazyna
67MeAll	-	6,7-dimetyloalloksazyna
68MeAll	-	6,8-dimetyloalloksazyna
69MeAll	-	6,9-dimetyloalloksazyna
78MeAll	-	7,8-dimetyloalloksazyna
79MeAll	-	7,9-dimetyloalloksazyna
89MeAll	-	8,9-dimetyloalloksazyna
136MeAll	-	1,3,6-trimetyloalloksazyna
137MeAll	-	1,3,7-trimetyloalloksazyna
138MeAll	-	1,3,8-trimetyloalloksazyna
139MeAll	-	1,3,9-trimetyloalloksazyna
Per	-	perinaftenon
IND	-	indykaksantyna
1,4-Diox	-	1,4-dioksan
CHCl ₃	-	chloroform

DCM	-	dichlorometan
AcOEt	-	octan etylu
DMSO	-	dimetylosulfotlenek
Acet	-	aceton
ACN	-	acetonitryl
PrCN	-	propionitryl
MeOH	-	metanol
EtOH	-	etanol
2-PrOH	-	propan-2-ol
1-PrOH	-	propan-1-ol
1-BuOH	-	butan-1-ol
2-BuOH	-	butan-2-ol
1-PeOH	-	pentan-1-ol
1-HeOH	-	heksan-1-ol
d-H ₂ O	-	woda deuterowana
λ_{exc}	-	długość fali promieniowania wzbudzającego
λ_F	-	długość fali dla maksimum fluorescencji
Φ_F	-	wydajność kwantowa fluorescencji
τ_F	-	czas życia fluorescencji
k_r	-	stała radiacyjna
Σk_{nr}	-	suma stałych nieradiacyjnych
Φ_Δ	-	wydajność generowania tlenu singletowego
τ_Δ	-	czas życia tlenu singletowego
Φ_{ISC}	-	wydajność przejścia interkombinacyjnego

Wykaz tabel

Tabela 1. Właściwości lumichromu i lumiflawiny w niektórych rozpuszczalnikach organicznych w stanach singletowych

Tabela 2. Właściwości alloksazyny oraz jej mono- i di- metylowych pochodnych w stanach singletowych

Tabela 3. Właściwości spektralne i fotofizyczne wybranych tetrametylo-
podstawionych izoalloksazyn w acetonitrylu w stanach singletowych

Tabela 4. Czas życia stanu trypletowego (τ_T), wydajność fotosensybilizowanego tworzenia tlenu singletowego (Φ_Δ) oraz czas życia tlenu singletowego (τ_Δ) dla wybranych dimetylowych pochodnych alloksazyny w acetonitrylu, na podstawie (51).

Tabela 5. Spis badanych pochodnych 5-deazaalloksazyny

Tabela 6. Spis pochodnych alloksazyny, których właściwości zostały porównane z danymi dla pochodnych 5-deazaalloksazyny

Tabela 7. Dane spektralne i fotofizyczne dla 5DAI w wybranych rozpuszczalnikach organicznych. Dla porównania podano również dane literaturowe dostępne dla AI.

Tabela 8. Dane spektralne i fotofizyczne dla monometylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny: 8Me-5DAI i 9Me-5DAI w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, na podstawie (149).

Tabela 9. Dane spektralne i fotofizyczne dla monometylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny: 8Me-5DAI i 9Me-5DAI w alkoholach, na podstawie (149).

Tabela 10. Dane spektralne i fotofizyczne dla 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, na podstawie (148).

Tabela 11. Dane spektralne i fotofizyczne dla trimetylowych pochodnych 5-deazaalloksazyny: 138Me-5DAI i 139Me-5DAI w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, dla porównania w dichlorometanie, acetonitrylu i metanolu podano odpowiednie dane dla 1,3,8-trimetyloalloksazyny oraz 1,3,9-trimetyloalloksazyny.

Tabela 12. Dane spektralne i fotofizyczne dla 10-etylo-5-deazaizoalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, na podstawie (149).

Tabela 13. Dane spektralne i fotofizyczne dla 1MeFR i 3MeFR w wybranych rozpuszczalnikach organicznych

Tabela 14. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DAI (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem funkcjonu B3LYP w różnych bazach atomowych: 6-31G, 6-311G, 6-31G*, 6-31G**, 6-31+G(d), cc-pVTZ, cc-pVDZ, aug-cc-pVDZ (w fazie gazowej) oraz 6-31+G(d) z

zastosowaniem modelu rozpuszczalnikowego PCM w dichlorometanie, wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 15. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone na następujących poziomach teorii: cam-B3LYP/6-31+G(d) i aug-cc-pVDZ; PBE0/aug-cc-pVDZ; MP2/aug-cc-pVDZ i aug-cc-pVTZ; EOM-CCSD/aug-cc-pVDZ i aug-cc-pVTZ, z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*, na podstawie (148).

Tabela 16. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 9Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem funkcjonału B3LYP w różnych bazach atomowych: 6-31G, 6-311G, 6-31G*, 6-31G**, 6-31+G(d), cc-pVTZ, cc-pVDZ, aug-cc-pVDZ (w fazie gazowej) oraz 6-31+G(d) z zastosowaniem modelu rozpuszczalnikowego PCM w metanolu, wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 17. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 1Me-5DAll; 3Me-5DAll; 5Me-5DAll; 6Me-5DAll; 7Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 18. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 13Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem funkcjonału B3LYP w różnych bazach atomowych: 6-31G, 6-311G, 6-31G*, 6-31G**, 6-31+G(d), cc-pVTZ, cc-pVDZ, aug-cc-pVDZ (w fazie gazowej), wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 19. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 15Me-5DAll; 16Me-5DAll; 17Me-5DAll; 18Me-5DAll; 19Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 20. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 35Me-5DAll; 36Me-5DAll; 37Me-5DAll; 38Me-5DAll; 39Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 21. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 56Me-5DAll; 57Me-5DAll; 58Me-5DAll; 59Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 22. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 67Me-5DAll; 68Me-5DAll; 69Me-5DAll; 78Me-5DAll; 79Me-5DAll i 89Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 23. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 139Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem funkcjonu B3LYP w różnych bazach atomowych: 6-31G, 6-311G, 6-31G*, 6-31G**, 6-31+G(d), cc-pVTZ, cc-pVDZ, aug-cc-pVDZ (w fazie gazowej), wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 24. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 135Me-5DAll; 136Me-5DAll; 137Me-5DAll; 138Me-5DAll; 139Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 25. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 156Me-5DAll; 157Me-5DAll; 158Me-5DAll; 159Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 26. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 167Me-5DAll; 168Me-5DAll; 169Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 27. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 356Me-5DAll; 357Me-5DAll; 358Me-5DAll; 359Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 28. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 567Me-5DAll; 568Me-5DAll; 569Me-5DAll; 678Me-5DAll; 679Me-5DAll i 789Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 29. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 1356Me-5DAll; 1357Me-5DAll; 1358Me-5DAll; 1359Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 30. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 1367Me-5DAll; 1368Me-5DAll; 1369Me-5DAll; 1378Me-5DAll i 1389Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 31. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 3567Me-5DAll; 3568Me-5DAll; 3569Me-5DAll; 5678Me-5DAll; 5679Me-5DAll i 6789Me-5DAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem metody [B3LYP/6-31+G(d)], wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 32. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 10Et-5DIzoAll (w cm^{-1}) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego, wyliczone z użyciem funkcjonu B3LYP w różnych bazach atomowych: 6-31G, 6-311G, 6-31G*, 6-31G**, 6-31+G(d), cc-pVTZ, cc-pVDZ, aug-cc-pVDZ (w fazie gazowej) oraz 6-31+G(d) z zastosowaniem modelu rozpuszczalnikowego PCM w metanolu, wraz z odpowiadającymi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 33. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet wyznaczone metodami teoretycznym: B3LYP/6-31G(d) oraz B3LYP/aug-cc-pVDZ ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego w fazie gazowej dla 1MeFR i 3MeFR z odpowiednimi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 34. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet wyznaczone metodami teoretycznym: B3LYP/6-31G(d) ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego przy uwzględnieniu modelu rozpuszczalnikowego PCM (rozpuszczalniki: metanol, woda, acetonitryl) dla 1MeFR z odpowiednimi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 35. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet wyznaczone metodami teoretycznym: B3LYP/6-31G(d) ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego przy uwzględnieniu modelu rozpuszczalnikowego PCM (rozpuszczalniki: metanol, woda, acetonitryl) dla 3MeFR z odpowiednimi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 36. Długości wiązań (w Å) oraz momenty dipolowe w stanach S_0 , S_1 i T_1 dla 138Me-5DAll and 139Me-5DAll, na podstawie (147).

Tabela 37. Ładunki atomowe neutralnych form 138Me-5DAll i 139Me-5DAll w stanie podstawowym (S_0), w pierwszym wzbudzonym stanie singletowym (S_1) w fazie gazowej wyznaczone za pomocą analizy populacyjnej NBO, na podstawie (147).

Tabela 38. Przewidywane energie [B3LYP/6-31+G(d)] przejść $S_0 \rightarrow T_i$ dla 5DAll, 8Me-5DAll, 9Me-5DAll, 13Me-5DAll, 138Me-5DAll, 139Me-5DAll i 10Et-5DIzoAll z odpowiednimi siłami oscylatora, *f*.

Tabela 39. Przewidywane energie przejść [uB3LYP /6-31+G(d)] $T_1 \rightarrow T_i$ dla 5DAll, 8Me-5DAll, 9Me-5DAll, 13Me-5DAll, 138Me-5DAll, 139Me-5DAll i 10Et-5DIzoAll z odpowiadającymi im siłami oscylatora, *f*.

Tabela 40. Przewidywane energie przejść [uB3LYP/6-31+G(d)] $T_1 \rightarrow T_i$ dla 1MeFR i 3MeFR z odpowiadającymi im siłami oscylatora, *f*.

Tabela 41. Czasy życia fluorescencji (τ_F) zmierzone dla form izo- i alloksazynowej 5DAll w DCM przy różnych stężeniach kwasu octowego ($\lambda_{\text{exc}} = 360 \text{ nm}$ oraz $\lambda_{\text{em}} = 405 \text{ nm}$, 440 nm i 500 nm), na podstawie (148).

Tabela 42. Czas życia fluorescencji, τ_F , dla związków 1MeFR i 3MeFR w dichlorometanie wraz ze wzrastającym stężeniem kwasu octowego [AA]; zarejestrowane przy $\lambda_{\text{exc}} = 368 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{em}} = 590 \text{ nm}$.

Tabela 43. Wydajności kwantowej fotosensybilizowanego tworzenia tlenu singletowego (Φ_{Δ}) przez 5DAll, 8Me-5DAll, 9Me-5DAll, 13Me-5DAll, 138Me-5DAll, 139Me-5DAll oraz 10Et-5DIzoAll w acetonitrylu, metanolu oraz dichlorometanie. Wartości Φ_{Δ} wyznaczono korzystając z metody jednopunktowej oraz zaników fosforescencji przy $\lambda_{em} = 1270$ nm a także korzystając z metody gradientowej (wybrane przypadki). W każdym przypadku zastosowano jako standard perinaftenon w tym samym rozpuszczalniku.

Tabela 44. Czasy zaniku tlenu singletowego ($\tau_{\Delta} / \mu s$) zmierzone przy $\lambda_{exc} = 371$ nm oraz $\lambda_{em} = 1270$ nm dla 5DAll, 8Me-5DAll, 9Me-5DAll, 13Me-5DAll, 138Me-5DAll, 139Me-5DAll oraz 10Et-5DIzoAll w acetonitrylu, metanolu oraz dichlorometanie.

Tabela 45. Wydajności generowania tlenu singletowego (Φ_{Δ}) oraz czasy zaniku tlenu singletowego ($\tau_{\Delta} / \mu s$) zmierzone przy $\lambda_{exc} = 371$ nm oraz $\lambda_{em} = 1270$ nm dla 5DAll oraz 13Me-5DAll w wodzie deuterowanej.

Tabela 46. Charakterystyka absorpcyjno - emisyjna 5DAll w różnych warunkach pH.

Tabela 47. Wydajności kwantowe (Φ_F) oraz czasy życia fluorescencji (τ) dla 5DAll w różnych warunkach pH zarejestrowane przy $\lambda_{exc} = 368$ nm oraz 338 nm (dla pH = -0.50) oraz $\lambda_{em} = 420$ nm i / lub 500 nm oraz 460 nm (dla pH = -0.50).

Tabela 48. Wydajności kwantowe (Φ_F) oraz czasy życia fluorescencji (τ) dla 13Me-5DAll w różnych warunkach pH zarejestrowane przy $\lambda_{exc} = 368$ nm oraz $\lambda_{em} = 420$ nm oraz 460 nm.

Tabela 49. Parametry rozpuszczalników w różnych skalach polarności rozpuszczalników: Δf , E_T^N , SA (kwasowość rozpuszczalnika), SB (zasadowość rozpuszczalnika), SdP (bipolarność rozpuszczalnika) oraz SP (polaryzowalność rozpuszczalnika).

Tabela 50. Rezultaty statystycznych dopasowań wartości badanej właściwości (v_{abs} i v_{em}) dla 8Me-5DAll, 9Me-5DAll oraz 10Et-5DIzoAll wyznaczone w oparciu o multiparametrową skalę Catalán'a dla stanu gazowego (A_0) oraz oszacowane współczynniki – a_{SP} , b_{SdP} , c_{SA} , d_{SB} wraz ze współczynnikiem korelacji liniowej (R), na podstawie [149].

Wykaz rysunków

Rysunek 1. Porównanie struktur: alloksazyny (All), izoalloksazyny (IzoAll), 5-dezaalloksazyny (5DAll) oraz 5-dezaizoalloksazyny (5DIzoAll)

Rysunek 2. Struktura izoalloksazyny, ryboflawiny, FMN oraz FAD

Rysunek 3. Struktura lumichromu (LChr) i lumiflawiny (LFl)

Rysunek 4. Widma absorpcji (**A**), widma emisji (**B**) LChr oraz LFl w acetonitrylu. Widma emisji otrzymano przy $\lambda_{\text{exc}} = 360$ nm (LChr) oraz $\lambda_{\text{exc}} = 400$ nm (LFl)

Rysunek 5. Rezultaty miareczkowania spektrofotometrycznego lumichromu w acetonitrylu jonami fluorkowymi (**A**) oraz jonami octanowymi (**B**); wstawki na (**A**) i (**B**) oznaczają odchylenia absorbancji przy 350 nm (\blacksquare) i 450 nm (\blacktriangle), linie ciągłe odnoszą się do dopasowanej funkcji. Zmiana widm fluorescencji wskutek dodania wzrastającej ilości jonów fluorkowych (**C**) oraz octanowych (**D**) zarejestrowane przy $\lambda_{\text{exc}} = 309$ nm; wstawki na (**C**) i (**D**) oznaczają zmiany intensywności fluorescencji przy 440 nm (\blacksquare) oraz 530 nm (\blacktriangle); na podstawie (39).

Rysunek 6. Schematyczne przedstawienie obecności lumichromu w środowisku micelarnym, na podstawie (42).

Rysunek 7. Struktura alloksazyny i jej wybranych mono- i di- metylowych pochodnych

Rysunek 8. Struktury wybranych izoalloksazyn wraz z wyznaczonymi kierunkami i wartościami momentów dipolowych w różnych stanach elektronowych (S_0 , S_1 oraz T_1)

Rysunek 9. Struktura ryboflawiny (Rfl) oraz 5-deazaryboflawiny (5DRfl)

Rysunek 10. (**A**) Przewidywane przejścia $T \rightarrow T$ dla ryboflawiny otrzymane z użyciem metod TD-DFT (górnego panelu) oraz eksperymentalne widmo absorpcji $T \rightarrow T$ dla Rfl w roztworze wodnym przy $\text{pH} \approx 6.8$, $\lambda_{\text{exc}} = 355$ nm (dolny panel) na podstawie [61]; (**B**) Przewidywane przejścia $T \rightarrow T$ dla 5-deazaryboflawiny otrzymane z użyciem metod TD-DFT (górnego panelu) porównane do eksperymentalnego widma absorpcji przejściowej (dolny panel) zarejestrowanego w metanolu ($\lambda_{\text{exc}} = 355$ nm, $\text{OD}_{355} = 0.301$, 2mJ/puls, $l = 1$ cm) na podstawie (62).

Rysunek 11. Szlak reakcji prowadzący od ryboflawiny do lumichromu i lumiflawiny; na podstawie (63).

Rysunek 12. Struktury wybranych dimetylowych pochodnych alloksazyny, dla których przybliżono informację na temat stanów trypletowych.

Rysunek 13. Widmo czasowo-rozdzielcze rozproszeniowo-odbiciowe laserowej flash-fotolizy lumichromu osadzonego na celulozie w temperaturze pokojowej dla uprzednio

odtlenionej próbki, czasy opóźnienia (w sekundach) zostały pokazane na widmie, $\lambda_{\text{exc}} = 355 \text{ nm}$, na podstawie (80).

Rysunek 14. Konfiguracja elektronowa i obsadzenie orbitali molekularnych cząsteczki tlenu w stanie podstawowym.

Rysunek 15. Struktury elektronowe tlenu w stanie podstawowym.

Rysunek 16. Diagram stanów energetycznych cząsteczki tlenu: ${}^3\Sigma_g^- \text{O}_2$ (stan podstawowy), ${}^1\Delta_g \text{O}_2$ (wzbudzony stan singletowy tlenu o energii 94 kJ/mol) oraz ${}^1\Sigma_g^+ \text{O}_2$ (wzbudzony stan singletowy tlenu o energii 157 kJ/mol).

Rysunek 17. (A) Uproszczony diagram Jabłońskiego przedstawiający jedno- i dwu- fotonową absorpcję sensybilizatora, która inicjuje fotosensybilizowaną produkcję tlenu singletowego ze stanów trypletowych sensybilizatora. IC oraz ISC oznaczają odpowiednio konwersję wewnętrzną oraz przejście interkombinacyjne. **(B)** Diagram ilustrujący podejście, w którym kontrola może zostać osiągnięta w sensybilizowanym wytwarzaniu tlenu singletowego z wzbudzonych stanów singletowych oraz trypletowych sensybilizatora; na podstawie (85).

Rysunek 18. Proponowany mechanizm fotoutleniania sulfidów do sulfoksydów.

Rysunek 19. Mechanizmy utleniania zachodzące według Typu I i II z udziałem ryboflawiny, na podstawie (1).

Rysunek 20. Proponowany mechanizm reakcji przeniesienia protonu dla lumichromu w obecności pirydyny zaproponowany przez Kash'a, XI oznacza kompleks pirydyny z atomem azotu N(1) lumichromu w stanie podstawowym, XII: produkt pośredni w postaci pary jonowej we wzbudzonym stanie singletowym S_1 oraz XIII: utworzenie flawinowego tautomeru z wiązaniem wodór-azot przy N(10) w zrelaksowanym stanie S'_1 ; na podstawie (31).

Rysunek 21. Zależności strukturalne lumichromu w różnych warunkach pH, na podstawie (112).

Rysunek 22. (A) Widmo IRMPD protonowanego lumichromu (a) porównane z liniowymi widmami IR wyznaczonymi na podstawie obliczeń B3LYP/cc-pVDZ dla trzech najbardziej stabilnych izomerów: $\text{H}^+ \text{LC@N5}$ (b), $\text{H}^+ \text{LC@O4}^+$ (c), and $\text{H}^+ \text{LC@N10}$ (d); **(B)** Widmo IRMPD protonowanej lumiflawiny (a) porównane z liniowymi widmami IR najbardziej stabilnych izomerów uzyskanych na podstawie obliczeń B3LYP/cc-pVDZ: $\text{H}^+ \text{LF@O2}^+$ (b), $\text{H}^+ \text{LF@N1}$ (c), and $\text{H}^+ \text{LF@OH}^+$ (d); na podstawie (118).

Rysunek 23. Równowagi protonacji / deprotonacji dla 9-metylo-5-deazaalloksazyny w różnych warunkach pH, na podstawie (114).

Rysunek 24. Równowagi protonacji / deprotonacji dla 10-etylo-5-deazaalloksazyny w różnych warunkach pH, na podstawie (114).

Rysunek 25. Struktury produktów hydrolizy lumiflawiny w obecności wodorotlenku sodu: LF^- (anion lumiflawiny), $DMIA^-$ (anion 7,8-dimetyloizoalloksazyny), MIA^- (anion 7-metyloizoalloksazyny), $QO1$ (kwas 1,2-dihydro-2-keto-1,6,7-trimetylochinoxalino-3-karboksylowy), $QO2$ (kwas 2-metoksy-6,7-dimetylochinoxalino-3-karboksylowy), $QO3$ (6-metylo-chinoxalin-2-ol), $QO4$ (3-hydroksy-1,6,7-trimetylo-1H-chinoxalin-2-on); na podstawie (121).

Rysunek 26. Możliwe struktury kompleksów lumichromu z metanolem (po lewej stronie) oraz z kwasem octowym (po prawej stronie); na podstawie (122).

Rysunek 27. (A) Struktura izoalloksazynowa bez uformowanych wiązań wodorowych, (B) schemat formowania wiązań wodorowych na heteroatomach izoalloksazyny, na podstawie (123).

Rysunek 28. Widma absorpcji pochodnej ryboflawiny w tetrachlorometanie w obecności kwasu trichlorooctowego (A) oraz kwasu trifluorooctowego (B), stężenia kwasów wynoszą odpowiednio: 0 M (I), 10^{-3} M (II), 10^{-2} M (III). Widma emisji zarejestrowane dla pochodnej ryboflawiny w tetrachlorometanie w funkcji wzrastającego stężenia kwasu trichlorooctowego, stężenia wynoszą odpowiednio: 0 M (I), 0.0005 M (II), 0.002 M (III) (C) oraz kwasu trifluorooctowego, stężenia wynoszą odpowiednio: 0 (I), 0.0001 M (II), 0.001 M (III), 0.004 M (IV) (D), na podstawie (123).

Rysunek 29. Widma SSF nanokryształów o różnym kształcie i wielkości (1-4) oraz ich mieszaniny (5) zarejestrowane przy $\Delta\lambda = 200$ nm; na podstawie (145).

Rysunek 30. Uproszczony diagram Jabłońskiego przedstawiający idee powstawania widm synchronicznych, na podstawie (127).

Rysunek 31. Widmo emisji ($\lambda_{exc} = 442$ nm) oraz widmo wzbudzenia emisji ($\lambda_{em} = 507$ nm) tetracenu w etanolu (A) porównane z widmem SSF ($\Delta\lambda = 3$ nm) tej cząsteczki (B); na podstawie (129).

Rysunek 32. Widma: wzbudzenia emisji, fluorescencji oraz synchroniczne (A) fenantrenu; (B) antracenu; (C) perylenu w etanolu; na podstawie (129).

Rysunek 33. (A) Konwencjonalne widmo fluorescencji mieszaniny naftalenu, fenantrenu, antracenu, perylenu i tetracenu w etanolu; (B) Widmo synchroniczne mieszaniny tych składników w etanolu; na podstawie (129).

Rysunek 34. Struktury innych pochodnych badanych w pracy doktorskiej: 1MeFR: 1-metylonafto[2,3-g]pterydino-2,4(1H,3H)-dion, 3MeFR: 3-metylonafto[2,3-g]pterydino-2,4(1H,3H)-dion, 10Et-5DIzoAll: 10-etylo-5-deazaizoalloksazyna.

Rysunek 35. Fotografia stosowanego spektrofлуorymetru Horiba Jobin Yvon Spex Fluorolog 3-221

Rysunek 36. Fotografia pikosekundowego spektrometru emisyjnego. Na podstawie: www.cbusl.amu.edu.pl

Rysunek 37. **A** - widma absorpcji 5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, **B** - widma emisji 5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$), na podstawie (148).

Rysunek 38. **A** – proponowana struktura kompleksów 5DAll z alkoholami w stanie podstawowym; **B** – proponowana struktura kompleksów 5DAll i 13Me-5DAll z alkoholami w stanie wzbudzonym.

Rysunek 39. **A** - widma absorpcji 8Me-5DAll w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, **B** - widma emisji 8Me-5DAll w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$), na podstawie (149).

Rysunek 40. **A** - widma absorpcji 9Me-5DAll w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, **B** - widma emisji 9Me-5DAll w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$), na podstawie (149).

Rysunek 41. **A** - widma absorpcji 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, **B** - widma emisji 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$), na podstawie (148).

Rysunek 42. **A** - widma absorpcji 1,3,8-trimetylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, **B** - widma emisji 1,3,8-trimetylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$), na podstawie (147).

Rysunek 43. **A** - widma absorpcji 1,3,9-trimetylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, **B** - widma emisji 1,3,9-trimetylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$), na podstawie (147).

Rysunek 44. **A** - widma absorpcji 10-etylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych, **B** - widma emisji 10-etylo-5-deazaalloksazyny w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{\text{exc}} = 370 \text{ nm}$), na podstawie (149).

Rysunek 45. Widma absorpcji związków: 1MeFR (**A**) i 3MeFR (**B**) w wybranych rozpuszczalnikach organicznych

Rysunek 46. Widma emisji związków: 1MeFR (**A**) i 3MeFR (**B**) w wybranych rozpuszczalnikach organicznych ($\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$).

Rysunek 47. Widma absorpcji przejściowej 5-deazaalloksazyny: **A** - w wodzie (pH ~ 6); **B** - w acetonitrylu; $\lambda_{\text{exc}} = 355 \text{ nm}$, $l = 1 \text{ cm}$, 0.5 mJ / puls, roztwory saturowane argonem.

Rysunek 48. Analiza globalna zaników absorpcji przejściowej 5DAll **A** - woda (pH ~ 6), **B** - acetonitryl

Rysunek 49. Kinetyki zaniku 5-deazaalloksazyny przy $\lambda = 460 \text{ nm}$: **A** - w roztworze wodnym, **B** - w acetonitrylu

Rysunek 50. Stacjonarne widma absorpcji zarejestrowane w: **A** - wodzie; **B** - acetonitrylu dla 5DAll przed i po wykonaniu laserowej fotolizy błyskowej

Rysunek 51. Widma absorpcji przejściowej mieszaniny 5DAll oraz IND w wodzie (pH ~ 6); $\lambda_{\text{exc}} = 355 \text{ nm}$, $l = 1 \text{ cm}$, 0.5 mJ / puls , roztwór saturowany argonem.

Rysunek 52. Eksperymentalne widma absorpcji przejściowej monometylowych pochodnych 5DAll: **A**: 8Me-5DAll, **B**: 9Me-5DAll, and **C**: 10Et-5DIzoAll w acetonitrylu; $\lambda_{\text{exc}} = 355 \text{ nm}$, $l = 1 \text{ cm}$, 0.5 mJ / puls , roztwory saturowane argonem, na podstawie (149).

Rysunek 53. Kinetyki zaniku absorpcji przejściowej 8Me-5DAll (**A**), 9Me-5DAll (**B**) oraz 10Et-5DIzoAll (**C**) w acetonitrylu przy $\lambda = 460 \text{ nm}$ (**A i B**) oraz $\lambda = 530 \text{ nm}$ (**C**), na podstawie (149).

Rysunek 54. Eksperymentalne widma absorpcji przejściowej związku 3MeFR w acetonitrylu zarejestrowane po różnych czasach opóźnienia: 20 ns, 30 ns, 40 ns and 50 ns (**A**) and 0.5 μs , 2 μs , 3 μs and 5 μs (**B**); $\lambda_{\text{exc}} = 355 \text{ nm}$, $l = 1 \text{ cm}$, 0.5 mJ / puls , roztwory saturowane argonem.

Rysunek 55. Kinetyki zaniku absorpcji przejściowej zmierzone dla związku 3MeFR w acetonitrylu odtlenionym argonem (**A** - $\lambda = 330 \text{ nm}$, **B** - $\lambda = 460 \text{ nm}$, **C** - $\lambda = 600 \text{ nm}$)

Rysunek 56. Kinetyki zaniku absorpcji przejściowej zmierzone dla 3MeFR w acetonitrylu (**A**: $\lambda = 550 \text{ nm}$ saturowany argonem, **B**: $\lambda = 550 \text{ nm}$ saturowany powietrzem)

Rysunek 57. Widmo absorpcji 5DAll w DCM (dolny panel), przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DAll [rB3LYP/aug-cc-pVDZ] w odniesieniu do fazy gazowej (środkowy panel) oraz przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DAll [rB3LYP/6-31G*] w odniesieniu do fazy gazowej (górny panel). Przejścia o charakterze π, π^* zostały oznaczone czarnymi liniami, natomiast o charakterze n, π^* czerwonymi trójkątami, na podstawie (148).

Rysunek 58. Widmo absorpcji 5DAll w DCM (dolny panel), przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DAll [cam-B3LYP/6-31+G(d)] w odniesieniu do fazy gazowej (środkowy panel) oraz przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DAll [rB3LYP/6-31+G(d)] w odniesieniu do fazy gazowej (górny panel). Przejścia o charakterze π, π^* zostały oznaczone czarnymi liniami, natomiast o charakterze n, π^* czerwonymi trójkątami, na podstawie (148).

Rysunek 59. Widmo absorpcji 9Me-5DAll w DCM (dolny panel), przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 9Me-5DAll [rB3LYP/aug-cc-pVDZ] w odniesieniu do fazy gazowej (środkowy panel) oraz przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 9Me-5DAll [rB3LYP/6-31G**] w odniesieniu do fazy gazowej (górny panel). Przejścia o charakterze π, π^* zostały oznaczone czarnymi liniami, natomiast o charakterze n, π^* czerwonymi trójkątami, na podstawie (149).

Rysunek 60. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 5DAll i jej monometylowych pochodnych wyznaczone na poziomie teorii [rB3LYP/6-31+G(d)]. Numery związków: **(1)** 5DAll, **(2)** 1Me-5DAll, **(3)** 3Me-5DAll, **(4)** 5Me-5DAll, **(5)** 6Me-5DAll, **(6)** 7Me-5DAll, **(7)** 8Me-5DAll, **(8)** 9Me-5DAll.

Rysunek 61. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla All i jej wybranych monometylowych pochodnych wyznaczone na poziomie teorii [rB3LYP/6-31+G(d)]. Numery związków: (1) All, (2) 6MeAll, (3) 7MeAll, (4) 8MeAll, (5) 9MeAll; na podstawie (50).

Rysunek 62. Widmo absorpcji 13Me-5DAll w DCM (dolny panel), przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 13Me-5DAll [rB3LYP/aug-cc-pVDZ] w odniesieniu do fazy gazowej (środkowy panel) oraz przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 13Me-5DAll [rB3LYP/6-31G**] w odniesieniu do fazy gazowej (górny panel). Przejścia o charakterze π,π^* zostały oznaczone czarnymi liniami, natomiast o charakterze n,π^* czerwonymi trójkątami, na podstawie (148).

Rysunek 63. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla dimetylo- podstawionych pochodnych 5DAll wyznaczone na poziomie teorii [rB3LYP/6-31+G(d)]. Numery związków: (9) 13Me-5DAll, (10) 15Me-5DAll, (11) 16Me-5DAll, (12) 17Me-5DAll, (13) 18Me-5DAll, (14) 19Me-5DAll, (15) 35Me-5DAll, (16) 36Me-5DAll, (17) 37Me-5DAll, (18) 38Me-5DAll, (19) 39Me-5DAll, (20) 56Me-5DAll, (21) 57Me-5DAll, (22) 58Me-5DAll, (23) 59Me-5DAll, (24) 67Me-5DAll, (25) 68Me-5DAll, (26) 69Me-5DAll, (27) 78Me-5DAll, (28) 79Me-5DAll, (29) 89Me-5DAll; **A** – 1XMe-5DAll, **B** – 3XMe-5DAll, **C** – 5XMe-5DAll, **D** – 6XMe-5DAll, **E** – 7XMe-5DAll, **F** – 89Me-5DAll.

Rysunek 64. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla dimetylo- podstawionych pochodnych All wyznaczone na poziomie teorii [rB3LYP/6-31+G(d)]. Numery związków: (6) 67MeAll, (7) 68MeAll, (8) 69MeAll, (9) 78MeAll, (10) 79MeAll, (11) 89MeAll; na podstawie (51).

Rysunek 65. Widmo absorpcji 139Me-5DAll w DCM (dolny panel), przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 139Me-5DAll [rB3LYP/aug-cc-pVDZ] w odniesieniu do fazy gazowej (środkowy panel) oraz przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 139Me-5DAll [rB3LYP/6-31G**] w odniesieniu do fazy gazowej (górny panel). Przejścia o charakterze π,π^* zostały oznaczone czarnymi liniami, natomiast o charakterze n,π^* czerwonymi trójkątami, na podstawie (147).

Rysunek 66. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla trimetylo- podstawionych pochodnych 5DAll wyznaczone na poziomie teorii [rB3LYP/6-31+G(d)]. Numery związków: (30) 135Me-5DAll, (31) 136Me-5DAll, (32) 137Me-5DAll, (33) 138Me-5DAll, (34) 139Me-5DAll, (35) 156Me-5DAll, (36) 157Me-5DAll, (37) 158Me-5DAll, (38) 159Me-5DAll, (39) 167Me-5DAll, (40) 168-Me-5DAll, (41) 169Me-5DAll, (42) 356Me-5DAll, (43) 357Me-5DAll, (44) 358Me-5DAll, (45) 359Me-5DAll, (46) 567Me-5DAll, (47) 568Me-5DAll, (48) 569Me-5DAll, (49) 678Me-5DAll, (50) 679Me-5DAll, (51) 789Me-5DAll; **A** – 13XMe-5DAll, **B** – 15XMe-5DAll, **C** – 16XMe-5DAll, **D** – 35XMe-5DAll, **E** – 56XMe-5DAll, **F** – 67XMe-5DAll, **G** – 789Me-5DAll

Rysunek 67. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla trimetylo- podstawionych pochodnych All wyznaczone na poziomie teorii [rB3LYP/6-31+G(d)]. Numery związków: (12) 136MeAll, (13) 137MeAll, (14) 138MeAll, (15) 139MeAll; na podstawie (170).

Rysunek 68. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla tetrametylo- podstawionych pochodnych 5DAI1 wyznaczone na poziomie teorii [rB3LYP/6-31+G(d)]. Numery związków: (52) 1356Me-5DAI1, (53) 1357Me-5DAI1, (54) 1358Me-5DAI1, (55) 1359Me-5DAI1, (56) 1367Me-5DAI1, (57) 1368Me-5DAI1, (58) 1369Me-5DAI1, (59) 1378Me-5DAI1, (60) 1389Me-5DAI1, (61) 3567Me-5DAI1, (62) 3568Me-5DAI1, (63) 3569Me-5DAI1, (64) 5678Me-5DAI1, (65) 5679Me-5DAI1, (66) 6789Me5-DAI1, **A** – 135XMe-5DAI1, **B** – 136XMe-5DAI1, **C** – 1378Me-5DAI1, **D** – 1389Me-5DAI1, **E** – 356XMe-5DAI1, **F** – 567XMe-5DAI1, **G** – 6789Me-5DAI1

Rysunek 69. Widmo absorpcji 10Et-5DIzoAI1 w DCM (dolny panel), przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 10Et-5DIzoAI1 [rB3LYP/aug-cc-pVDZ] w odniesieniu do fazy gazowej (środkowy panel) oraz przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet dla 10Et-5DIzoAI1 [rB3LYP/6-31G**] w odniesieniu do fazy gazowej (górny panel). Przejścia o charakterze π, π^* zostały oznaczone czarnymi liniami, natomiast o charakterze n, π^* czerwonymi trójkątami, na podstawie (149).

Rysunek 70. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet (rB3LYP/aug-cc-pVDZ); porównane do eksperymentalnych widm absorpcji w dichlorometanie dla związków 1MeFR (**A**) oraz 3MeFR (**B**); liniami pionowymi oznaczono przejścia elektronowe $\pi \rightarrow \pi^*$ natomiast trójkątami przejścia elektronowe typu $n \rightarrow \pi^*$.

Rysunek 71. Przewidywane energie przejść singlet \rightarrow singlet wyznaczone na poziomie teorii rB3LYP/6-31G(d) dla związku 1MeFR (**A**) oraz 3MeFR (**B**) wyznaczone ze zoptymalizowanej geometrii stanu podstawowego przy uwzględnieniu fazy gazowej oraz modelu rozpuszczalnikowego PCM dla rozpuszczalników: acetonitryl, metanol i woda, z odpowiadającymi im siłami oscylatora, f . Lokalizacja przejść o charakterze n, π^* została oznaczona za pomocą trójkątów, natomiast pionowymi liniami oznaczono przejścia o charakterze π, π^* .

Rysunek 72. Ładunki atomowe neutralnych form: 8Me-5DAI1 (**A**), 9Me-5DAI1 (**B**) i 10Et-5DIzoAI1 (**C**) w stanie podstawowym (S_0) oraz w pierwszym wzbudzonym stanie singletowym (S_1) w fazie gazowej, wyznaczone przy wykorzystaniu analizy NBO, S_0 – czarny, S_1 – czerwony, na podstawie (149).

Rysunek 73. Ładunki atomowe neutralnych form: 8Me-5DAI1 (**A**), 9Me-5DAI1 (**B**) i 10Et-5DIzoAI1 (**C**) w stanie podstawowym (S_0) oraz w pierwszym wzbudzonym stanie singletowym (S_1) wyznaczone w oparciu o model rozpuszczalnikowy PCM z uwzględnieniem metanolu jako rozpuszczalnika, przy wykorzystaniu analizy NBO, S_0 – czarny, S_1 – czerwony, na podstawie (149).

Rysunek 74. Anizotropowo - elipsoidalna prezentacja 138Me-5DAI1 oraz 139Me-5DAI1, oznaczenia atomów są zgodne z informacjami podanymi w **Tabeli 36**, na podstawie (147).

Rysunek 75. Przewidywane energie przejść $T_1 \rightarrow T_i$ (UB3LYP/6-31G(d)) dla związków 5DAI1 (**A**), 8Me-5DAI1 (**B**), 9Me-5DAI1 (**C**), 13Me-5DAI1 (**D**), 138Me-5DAI1 (**E**), 139Me-5DAI1 (**F**), 10Et-5DIzoAI1 (**G**); f – siła oscylatora.

Rysunek 76. Przewidywane energie przejść $T_1 \rightarrow T_1$ (UB3LYP/6-31G(d)) dla związków 1MeFR (**A**) oraz 3MeFR (**B**); f – siła oscylatora.

Rysunek 77. Kształt najwyższych obsadzonych orbitali molekularnych (HOMO) oraz najniższych nieobsadzonych orbitali molekularnych (LUMO) dla 8Me-5DAll, 9Me-5DAll oraz 10Et-5DIzoAll, głównie zaangażowanych w najniższe energetycznie przejścia singlet \rightarrow singlet. Stopień zaangażowania orbitali HOMO \rightarrow LUMO podano (w %) na rysunku, B3LYP/6-31+G(d), na podstawie (149).

Rysunek 78. Kształty orbitali dla 8Me-5DAll, głównie zaangażowanych w przejścia $S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$ i $S_0 \rightarrow S_3$. Procent zaangażowania danych orbitali w przejścia $S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$ i $S_0 \rightarrow S_3$ został podany na rysunku, B3LYP/6-31+G(d), na podstawie (149).

Rysunek 79. Kształty orbitali dla 9Me-5DAll, głównie zaangażowanych w przejścia $S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$ i $S_0 \rightarrow S_3$. Procent zaangażowania danych orbitali w przejścia $S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$ i $S_0 \rightarrow S_3$ został podany na rysunku, B3LYP/6-31+G(d), na podstawie (149).

Rysunek 80. Kształt najwyższych obsadzonych orbitali molekularnych (HOMO) oraz najniższych nieobsadzonych orbitali molekularnych (LUMO) dla 138Me-5DAll oraz 139Me-5DAll, głównie zaangażowanych w najniższe energetycznie przejścia singlet \rightarrow singlet. Stopień zaangażowania orbitali HOMO \rightarrow LUMO podano (w %) na rysunku, B3LYP/6-31+G(d), na podstawie (147).

Rysunek 81. Kształt najwyższych obsadzonych orbitali molekularnych (HOMO) oraz najniższych nieobsadzonych orbitali molekularnych (LUMO) dla 1MeFR oraz 3MeFR, głównie zaangażowanych w najniższe energetycznie przejścia singlet \rightarrow singlet. Stopień zaangażowania orbitali HOMO \rightarrow LUMO podano (w %) na rysunku, B3LYP/6-31G(d).

Rysunek 82. Kształty orbitali dla 1MeFR, głównie zaangażowanych w przejścia $S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$ i $S_0 \rightarrow S_3$. Procent zaangażowania danych orbitali w przejścia $S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$ i $S_0 \rightarrow S_3$ został podany na rysunku, B3LYP/6-31G(d).

Rysunek 83. Widma absorpcji **A**: 5-deazaalloksazyny oraz **B**: 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny w dichlorometanie w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego (C_{AA}), na podstawie (148).

Rysunek 84. Widma emisji **A**: 5-deazaalloksazyny oraz **B**: 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny w dichlorometanie w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego (C_{AA}), $\lambda_{exc} = 360$ nm, na podstawie (148).

Rysunek 85. Widma synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej dla 5-deazaalloksazyny w dichlorometanie **A**: $\Delta\lambda = 20$ nm oraz **B**: $\Delta\lambda = 60$ nm w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego (C_{AA}), na podstawie (148).

Rysunek 86. Widma synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej dla 1,3-dimetylo-5-deazaalloksazyny w dichlorometanie **A**: $\Delta\lambda = 20$ nm oraz **B**: $\Delta\lambda = 60$ nm w funkcji wzrastającego stężenia kwasu octowego (C_{AA}), na podstawie (148).

Rysunek 87. Widma wzbudzenia 5-deazaalloksazyny w dichlorometanie **A** - w nieobecności kwasu octowego, $\lambda_{em} = 395$ nm i 440 nm; **B** – w obecności kwasu octowego ($C_{AA} = 0.058$ mol / dm³) $\lambda_{em} = 395$ nm, 440 nm i 550 nm, na podstawie (148).

Rysunek 88. Mechanizm reakcji podwójnego przeniesienia protonu dla 5-deazaalloksazyny w dichlorometanie w obecności kwasu octowego prowadzący do powstania struktury 5-deazaizoalloksazynowej.

Rysunek 89. Widma emisji związków 1MeFR (**A**) oraz 3MeFR (**B**) w dichlorometanie wraz ze wzrastającym stężeniem kwasu octowego ($\lambda_{exc} = 375$ nm), wstawka: widma absorpcji związków 1MeFR (**A**) i 3MeFR (**B**) wraz ze wzrastającym stężeniem kwasu octowego.

Rysunek 90. Wygaszanie fluorescencji na podstawie eksperymentów stacjonarnych i czasowo-rozdzielczych, opracowane z zależności Sterna-Volmera dla związku 1MeFR (**A**) i 3MeFR (**B**) w dichlorometanie w obecności kwasu octowego; współczynniki korelacji podano na Rysunkach.

Rysunek 91. Widmo absorpcji, emisji [$\lambda_{exc} = 360$ nm (**A**), 400 nm (**B**), 330 nm (**C**)], wzbudzenia [$\lambda_{em} = 470$ nm (**A**), 550 nm (**B**), 450 nm (**C**)] oraz synchroniczne ($\Delta\lambda = 10$ nm, 20 nm, 30 nm oraz 40 nm) dla lumichromu (**A**), lumiflawiny (**B**) oraz 5-deazaalloksazyny (**C**) w acetonitrylu.

Rysunek 92. Widmo 3D fluorescencji lumichromu w acetonitrylu. Na górnym panelu przedstawiono widmo emisji wyznaczone przy $\lambda_{exc} = 380$ nm natomiast na bocznym panelu widmo wzbudzenia przy $\lambda_{em} = 440$ nm.

Rysunek 93. Widmo 3D fluorescencji lumiflawiny w acetonitrylu. Na górnym panelu przedstawiono widmo emisji wyznaczone przy $\lambda_{exc} = 440$ nm natomiast na bocznym panelu widmo wzbudzenia przy $\lambda_{em} = 520$ nm.

Rysunek 94. Widmo 3D fluorescencji 5-deazaalloksazyny w acetonitrylu. Na górnym panelu przedstawiono widmo emisji wyznaczone przy $\lambda_{exc} = 350$ nm natomiast na bocznym panelu widmo wzbudzenia przy $\lambda_{em} = 400$ nm.

Rysunek 95. Widmo absorpcji, emisji ($\lambda_{exc} = 350$ nm) oraz synchroniczne ($\Delta\lambda = 20$ nm) dla mieszaniny: lumichrom i 5-deazaalloksazyna (**A**).

Rysunek 96. Widmo 3D fluorescencji mieszaniny 5-deazaalloksazyny i lumichromu w acetonitrylu. Na górnych panelach przedstawiono widma emisji wyznaczone przy $\lambda_{exc} = 380$ nm (**A**) oraz 350 nm (**B**) natomiast na bocznych panelach widma wzbudzenia wyznaczone przy $\lambda_{em} = 440$ nm (**A**) oraz 400 nm (**B**).

Rysunek 97. Widmo absorpcji, emisji ($\lambda_{exc} = 350$ nm) oraz synchroniczne ($\Delta\lambda = 20$ nm) dla mieszaniny: lumichrom, 5-deazaalloksazyna i lumiflawina w acetonitrylu.

Rysunek 98. Widmo 3D fluorescencji mieszaniny 5-deazaalloksazyny, lumichromu i lumiflawiny w acetonitrylu. Na górnych panelach przedstawiono widma emisji wyznaczone

przy $\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$ (**A**) oraz 440 nm (**B**) natomiast na bocznych panelach widma wzbudzenia wyznaczone przy $\lambda_{\text{em}} = 400 \text{ nm}$ (**A**) oraz 520 nm (**B**).

Rysunek 99. Widma charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego ($\lambda_{\text{max}} = 1270 \text{ nm}$) dla 5-deazaalloksazyny (**A**) i perinaftenonu (**B**) w dichlorometanie ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$) [metoda gradientowa]; wykres zależności absorbancji od pola powierzchni pod widmem charakterystycznej emisji tlenu singletowego dla 5-deazaalloksazyny (5DAI) w dichlorometanie oraz standardu: perinaftenonu (Per) w dichlorometanie (**C**).

Rysunek 100. Widma charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego ($\lambda_{\text{max}} = 1270 \text{ nm}$) dla 5-deazaalloksazyny (**A**) i perinaftenonu (**B**) w acetonitrylu ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$) [metoda gradientowa]; wykres zależności absorbancji od pola powierzchni pod widmem charakterystycznej emisji tlenu singletowego dla 5-deazaalloksazyny (5DAI) w acetonitrylu oraz standardu: perinaftenonu (Per) w acetonitrylu (**C**).

Rysunek 101. Wykres zależności absorbancji od pola powierzchni pod widmem charakterystycznej emisji tlenu singletowego dla 5-deazaalloksazyny (5DAI) w metanolu oraz standardu: perinaftenonu (Per) w metanolu.

Rysunek 102. Wykres zależności absorbancji od pola powierzchni pod widmem charakterystycznej emisji tlenu singletowego dla 10-etylo-5-deazaizoalloksazyny (10Et-5DIzoAll) w acetonitrylu oraz standardu: perinaftenonu (Per) w acetonitrylu (**A**) oraz wykres zależności absorbancji od pola powierzchni pod widmem charakterystycznej emisji tlenu singletowego dla 10-etylo-5-deazaizoalloksazyny (10Et-5DIzoAll) w dichlorometanie oraz standardu: perinaftenonu (Per) w dichlorometanie (**B**).

Rysunek 103. Widma charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego ($\lambda_{\text{max}} = 1270 \text{ nm}$) dla 5-deazaalloksazyny i perinaftenonu w dichlorometanie ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$) [metoda jednopunktowa].

Rysunek 104. Widma charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego ($\lambda_{\text{max}} = 1270 \text{ nm}$) dla 8-metylo-5-deazaalloksazyny i perinaftenonu w dichlorometanie ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$) [metoda jednopunktowa].

Rysunek 105. Widma charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego ($\lambda_{\text{max}} = 1270 \text{ nm}$) dla 10-etylo-5-deazaizoalloksazyny i perinaftenonu w dichlorometanie ($\lambda_{\text{exc}} = 370 \text{ nm}$) [metoda jednopunktowa].

Rysunek 106. Pomiary zaników tlenu singletowego ($\lambda_{\text{exc}} = 371 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 1270 \text{ nm}$) generowanego przez 5DAI w acetonitrylu, w pomiarach zastosowano standard - Per w acetonitrylu. **A** - liczba skumulowanych impulsów: 8000, czas pomiaru: 300 sekund; **B** - liczba skumulowanych impulsów: 1000, czas pomiaru: 300 sekund.

Rysunek 107. Pomiary zaników tlenu singletowego ($\lambda_{\text{exc}} = 371 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 1270 \text{ nm}$) generowanego przez 10-etylo-5-deazaizoalloksazynę w acetonitrylu, w pomiarach zastosowano standard - perinaftenon w acetonitrylu. **A** - liczba skumulowanych impulsów: 8000, 10 000 zliczeń; **B** - liczba skumulowanych impulsów: 8000, czas pomiaru: 300 sekund.

Rysunek 108. Pomiary zaników tlenu singletowego ($\lambda_{\text{exc}} = 371 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 1270 \text{ nm}$) generowanego przez 1,3,8-trimetylo-5-dezaalloksazynę w metanolu zarejestrowane przy różnych stężeniach 138Me-5DAI1.

Rysunek 109. Pomiary zaników tlenu singletowego ($\lambda_{\text{exc}} = 371 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 1270 \text{ nm}$) generowanego przez 5-dezaalloksazynę w dichlorometanie zarejestrowane przy różnych stężeniach 5DAI1 (**A**) oraz przez perinaftenon w dichlorometanie (**B**).

Rysunek 110. Widma charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego ($\lambda_{\text{max}} = 1270 \text{ nm}$) dla 5-dezaalloksazyny, 1,3-dimetylo-5-dezaalloksazyny oraz perinaftenonu w wodzie deuterowanej ($\lambda_{\text{exc}} = 370 \text{ nm}$) [metoda jednopunktowa].

Rysunek 111. Pomiary zaników tlenu singletowego ($\lambda_{\text{exc}} = 371 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 1270 \text{ nm}$) generowanego przez 5DAI1 oraz Per w wodzie deuterowanej.

Rysunek 112. Widma absorpcji 5-dezaalloksazyny w wybranych warunkach pH.

Rysunek 113. Widma emisji 5-dezaalloksazyny w wybranych warunkach pH, $\lambda_{\text{exc}} = 320 \text{ nm}$ (**A**), $\lambda_{\text{exc}} = 346 \text{ nm}$ (**B**) oraz $\lambda_{\text{exc}} = 410 \text{ nm}$ (**B**).

Rysunek 114. Widma absorpcji oraz wzbudzenia [$\lambda_{\text{em}} = 420 \text{ nm}$, 460 nm , 530 nm (**A**); $\lambda_{\text{em}} = 420 \text{ nm}$, 460 nm (**B**); $\lambda_{\text{em}} = 420 \text{ nm}$, 500 nm (**C-F**)] 5-dezaalloksazyny w wybranych warunkach pH: (**A**) -0.50; (**B**) 4.8; (**C**) 9.1; (**D**) 11.6; (**E**) 12.5; (**F**) 13.6.

Rysunek 115. Widma synchroniczne 5-dezaalloksazyny w wybranych warunkach pH, $\Delta\lambda = 20 \text{ nm}$ (**A**) oraz $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$ (**B**).

Rysunek 116. Wykres całkowitej fluorescencji (3D) dla 5-dezaalloksazyny w różnych warunkach pH: (**A**) -0.50; (**B**) 4.8; (**C**) 9.1; (**D**) 11.6; (**E**) 12.5; (**F**) 13.6.

Rysunek 117. Równowagi kwasowo-zasadowe oraz formy strukturalne 5DAI1 ustalające się w różnych warunkach pH w stanie podstawowym i wzbudzonym.

Rysunek 118. Widma absorpcji 1,3-dimetylo-5-dezaalloksazyny w wybranych warunkach pH.

Rysunek 119. Widma emisji 1,3-dimetylo-5-dezaalloksazyny w wybranych warunkach pH, $\lambda_{\text{exc}} = 320 \text{ nm}$ (**A**) oraz $\lambda_{\text{exc}} = 346 \text{ nm}$ (**B**).

Rysunek 120. Widma absorpcji oraz wzbudzenia ($\lambda_{\text{em}} = 420 \text{ nm}$ oraz 460 nm) 1,3-dimetylo-5-dezaalloksazyny w wybranych warunkach pH: 4.8 (**A**) oraz -0.07 (**B**).

Rysunek 121. Widma synchroniczne 1,3-dimetylo-5-dezaalloksazyny w wybranych warunkach pH, $\Delta\lambda = 20 \text{ nm}$ (**A**) oraz $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$ (**B**).

Rysunek 122. Wykres całkowitej fluorescencji (3D) dla 1,3-dimetylo-5-dezaalloksazyny w różnych warunkach pH: (**A**) 4.8; (**B**) -0.07.

Rysunek 123. Równowagi kwasowo-zasadowe oraz formy strukturalne 13Me-5DAII ustalające się w różnych warunkach pH w stanie podstawowym i wzbudzonym.

Rysunek 124. Wykres zależności v_{abs} od $\Delta f(\epsilon, n)$ dla 8Me-5DAII (A), 9Me-5DAII (B) oraz 10Et-5DIzoAll (C). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynniki korelacji podano na wykresach, na podstawie (149).

Rysunek 125. Wykres zależności v_{abs} od E_T^N dla 8Me-5DAII (A), 9Me-5DAII (B) oraz 10Et-5DIzoAll (C). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynniki korelacji podano na wykresach.

Rysunek 126. Wykres zależności v_{abs} od SA dla 8Me-5DAII (A), 9Me-5DAII (B) oraz 10Et-5DIzoAll (C). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynniki korelacji podano na wykresach.

Rysunek 127. Wykres zależności v_{abs} od SB dla 8Me-5DAII (A), 9Me-5DAII (B) oraz 10Et-5DIzoAll (C). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynniki korelacji podano na wykresach.

Rysunek 128. Wykres zależności v_{em} od $\Delta f(\epsilon, n)$ dla 8Me-5DAII (A), 9Me-5DAII (B) oraz 10Et-5DIzoAll (C). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynniki korelacji podano na wykresach, na podstawie (149).

Rysunek 129. Wykres zależności v_{em} od E_T^N dla 8Me-5DAII (A), 9Me-5DAII (B) oraz 10Et-5DIzoAll (C). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynniki korelacji podano na wykresach.

Rysunek 130. Wykres zależności v_{em} od SA dla 8Me-5DAII (A), 9Me-5DAII (B) oraz 10Et-5DIzoAll (C). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynniki korelacji podano na wykresach.

Rysunek 131. Wykres zależności v_{em} od SB dla 8Me-5DAII (A), 9Me-5DAII (B) oraz 10Et-5DIzoAll (C). Linie oznaczają dopasowanie punktów odpowiednio dla rozpuszczalników protycznych jak i aprotycznych metodą najmniejszych kwadratów. Współczynniki korelacji podano na wykresach.