

УДК 547.772.2:542.958.3:543.87

**ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ИНДИКАТОРЫ
ДЛЯ ОБЛАСТИ НИЗКИХ ЗНАЧЕНИЙ рН: ПРОИЗВОДНЫЕ
1-[4-(4-СУЛЬФОФЕНИЛАЗО)ФЕНИЛЕН]-3-АРИЛ-2-ПИРАЗОЛИНА**

© 2001 В.Д.Орлов, Н.О.Мчедлов-Петросян, М.А.Азиз, Н.Н.Орлова

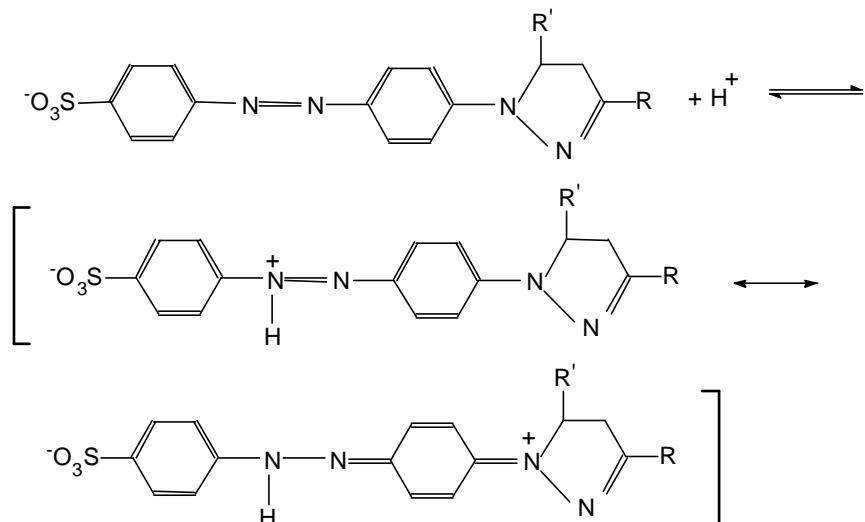
Синтезировано 9 красителей – производных 1-[4-(4-сульфофенилазо)фенилен]-3-арил-2-пиразолина. Являясь аналогами стандартного индикатора метилоранжа, содержащими пиразолиновый цикл вместо диметиламиногруппы, соединения проявляют индикаторные свойства в области низких значений рН. Наличие сульфогруппы обеспечивает достаточную растворимость соединений в воде; значения pK_a лежат в области 10 0.4 ai 2.3. Непротонированные желтые анионные формы флуоресцируют. Протонирование азо-группы приводит к углублению окраски и к исчезновению зеленой флуоресценции. Это позволяет использовать описанные красители не только как цветные индикаторы с контрастным переходом окраски (батохромный сдвиг – до 100 нм и более, против 45 нм для метилоранжа), но и как флуоресцентные индикаторы с весьма узкими интервалами перехода рН.

Поиск новых флуоресцентных индикаторов рН является важной задачей, поскольку соединения такого типа могут быть использованы для титрований и для контроля кислотности растворов в случае окрашенных и мутных сред. Ассортимент флуоресцентных кислотно-основных индикаторов, предложенных за последнее столетие [1-4], по-прежнему гораздо более узок, чем цветных индикаторов. Особенно мало имеется флуоресцентных индикаторов для области низких значений рН (<3).

Ранее [5] при исследовании кислотно-основных свойств азо-производных N-арил-2-пиразолинов была выявлена их способность выступать в роли флуоресцентных индикаторов рН. Однако низкая растворимость в воде налагает ограничения на их применение в данном качестве. Поэтому представляло интерес получить водорастворимые соединения этого класса, которые при сохранении флуоресцентных свойств характеризовались бы контрастным изменением окраски в области рН 0–3.

Решение такой задачи может быть достигнуто введением сульфогруппы. Нами показано, что хлороводородная соль диазония, полученная на основе сульфаниловой кислоты, с хорошим выходом (60-65%) реагирует в уксусной кислоте при 10-15 °C с 1,3-диарил- либо 1,3,5-триарил-2-пиразолинами; характеристики синтезированных соединений (I-VI) представлены в таблице 1. Реакция проходит, как и в описанном ранее случае [5], по 4- положению N-фенильного ядра. Идентификация соединений осуществлялась методами элементного анализа, ИК- и УФ-спектроскопии. В ИК-спектрах всех соединений наблюдаются интенсивные характеристические полосы в области 1600 ($\nu_{C=N}$), 1500 ($\nu_{\text{цикла}}$) и 1150, 1340 cm^{-1} ($\nu_{SO_3H}^{\text{s,as}}$).

Анализ электронных спектров соединений (I-IX) показывает, что варьирование заместителей в 3- и 5-положениях практически не оказывается на значениях λ_{max} как полосы длинноволнового поглощения, так и полосы флуоресценции (табл.1). Исключения составляют лишь соединения VIII и IX, что, очевидно, обусловлено ярко выраженным эlectronными эффектами нитро- и диметиламиногрупп. Напротив, значение λ_{max} полосы длинноволнового поглощения протонированной формы оказалось чувствительным к наличию либо отсутствию ароматического радикала в 3- положении пиразолинового ядра, то есть к общей длине хромофорной системы. Протонирование протекает по азо-группе и приводит к значительному углублению окраски (от желтой – к синей) за счет образования хинонгидразонной структуры и одновременно – к исчезновению зеленой флуоресценции. В водном растворе в кислой среде наиболее вероятно протекание следующего превращения:



На рисунке 1 сопоставлены спектры поглощения соединения IV и стандартного кислотно-основного индикатора метилоранжа (4-диметиламино-4'-сульфоазобензола) в водных растворах. Нетрудно заметить, что полосы депротонированной и протонированной форм в случае азопиразолинов разрешены гораздо лучше, что, вероятно, обусловлено их более развитой π -системой. Батохромное смещение за счет протонирования составляет около 100 нм, против 45 нм в случае метилоранжа. Например, для соединения IV значения λ_{\max} (± 1 нм) исходной анионной формы B^- и протонированной формы составляют в воде 477 нм и 575 нм, а для соединения III – 475 нм и 586 нм, соответственно. Для соединения III значение ε_{\max} протонированной формы в 3 раза выше значения ε_{\max} формы B^- .

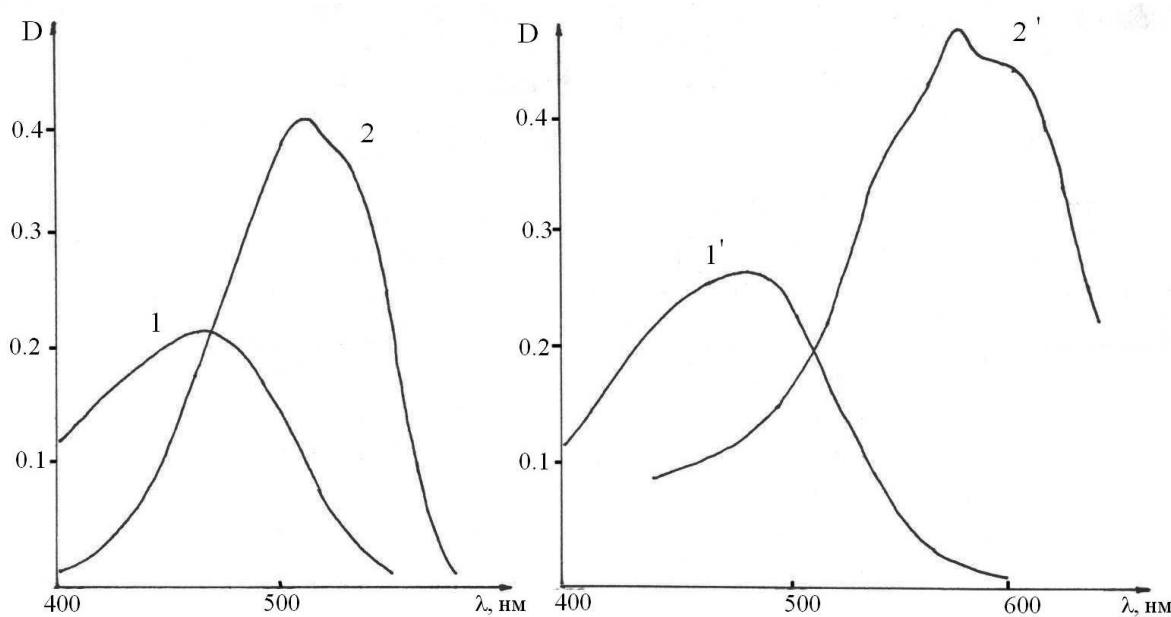


Рис.1. Спектры поглощения депротонированных (1,1') и протонированных (2,2') форм метилоранжа (1,2) и 1-[4-(4-сульфофенилазо)фенилен]-3-толил-5-фенил-2-пиразолина(1',2') в водных растворах.

Типичные для новых индикаторов данные представлены также на рисунке 2. Добавки органических растворителей (ацетона, метанола) оказывают депротонирующее действие, смещающая равновесие в сторону формы B^- , что согласуется с аналогичным эффектом, зарегистрированным для метилоранжа и его аналогов [6].

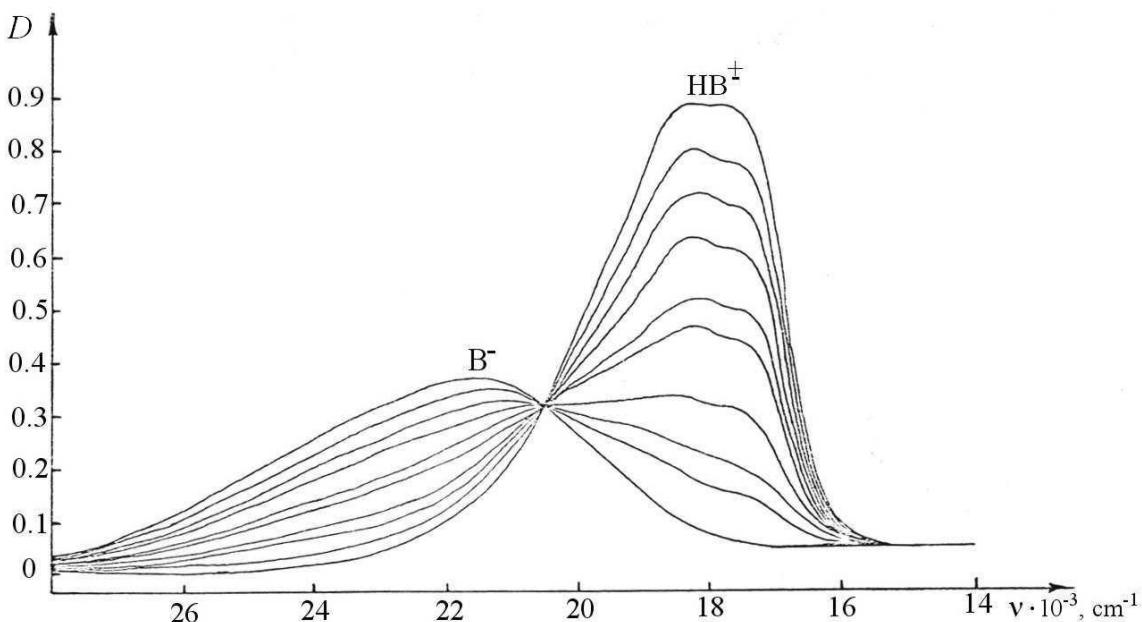


Рис.2. Спектры поглощения 1-[4-(4-сульфофенилазо)фенилен]-3-метил-5-фенил-2-пиразолина(соединение I) в водных растворах при различных значениях pH.

Основные спектральные характеристики соединений в метаноле представлены в таблице 1. Там же даны оценки значений pK_a в воде, отвечающие равновесию $\text{HB}^\pm \rightleftharpoons \text{B}^- + \text{H}^+$. Все они существенно ниже, чем соответствующее значение для метилоранжа ($pK_a = 3.40$). Безусловно, это в определенной мере отражает большую электронодонорность пиразолинового цикла по сравнению с диметиламиногруппой метилоранжа. При этом солевые эффекты для определяемых спектрофотометрически "смешанных" значений pK_a ¹ меньше, чем это обычно бывает для нейтральных кислот (при увеличении ионной силы от 0.001 до 0.1 моль/ л значение pK_a снижается всего на 0.17 единиц). Это явление, еще более выраженное в случае метилоранжа [7-9], объясняется тем, что цвиттер-ион HB^\pm ведет себя как два отдельных иона. Для этой формы некоторые авторы [10] допускают также возможность ассоциации с катионами электролитов, обычно считающихся инертными. Представленные в таблице 1 значения pK_a являются смешанными, определенными при переменной ионной силе (создаваемой растворами HCl или HClO_4); данные таблицы 2 иллюстрируют характер изменения этих значений с ионной силой.

Следует, однако, отметить, что превращения, имеющие место в кислых средах, могут в случае исследованных нами красителей оказаться еще сложнее. Так, в некоторых случаях наблюдалась "размытость" изосбестической точки, медленное установление равновесий, а также появление в ходе протонирования наряду с полосой поглощения синей формы еще и нового максимума в области 420-430 нм (например, для соединения I). Протонирование хромофорной системы в случае производных 1-[4-(4-сульфофенилазо)фенилен]-3-арил-2-пиразолина наблюдается при более низких значениях pH, чем в случае метилоранжа, и поэтому уже нельзя полностью исключить возможность протонирования группы SO_3^- (значения pK_a группы SO_3H бензолсульфоновой кислоты и ее производных составляют 0.4 – 0.7 [11]). Последний эффект может мало проявляться в спектрах поглощения, но неучет его может исказить полученные значения pK_a . Поэтому представленные в таблице 1 значения нужно рассматривать как предварительные оценки. Спектры протонированной формы в метаноле, полученные в присутствии HCl , могут относиться уже не к форме

¹ Под "смешанными" здесь понимаются значения pK_a , вычисленные на основании активностей ионов водорода и концентраций сопряженных форм индикаторов.

HB^\pm , а форме H_2B^+ , содержащей группу SO_3H . Впрочем, это различие должно лишь незначительно сказаться на полосе в видимой области.

Таблица 1. Основные характеристики производных 1-[4-(4-noeuoioaieeaci)oaiieeai]-3-a?ee-2-ie?acieeia

Соединение	R	R'	t _{пл.} , °N	Спектры поглощения красителей в метаноле		λ_{\max} флуоресценции в метаноле, нм	λ_{\max} флуоресценции в метаноле, нм	Спектры поглощения протонированной формы красителей в метаноле λ_{\max} , нм ^{a)}	Оценки рK _a в воде	Область pH перехода окраски в воде
				λ_{\max} , нм	ε_{\max} 10 ⁻³					
I	CH ₃	C ₆ H ₅	240-242	434	28.5	540	540	555	2.0	1.0-3.0
II	C ₆ H ₅	H	250-252	441	22.0	540	540	588	2.2 ^{б)}	1.0-3.0
III	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	253-255	435	22.5	535	535	588	1.0	0.8-1.1
IV	4-CH ₃ – C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	253-255	440	22.3	545	545	588	1.5 ^{б)}	1.7-3.0
V	C ₆ H ₅ – CH = CH	C ₆ H ₅	250-252	465	25.0	550	550	602	1.3	0.0-3.0
VI	4-CH ₃ O – C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	255-257	444	22.0	545	545	588	2.3 ^{б)}	1.4-3.0
VII	4-Cl – C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	265-268	435	23.4	540	540	588	1.0	0.0-3.0
VIII	4-NO ₂ – C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	270-272	500	24.0	590	590	581	0.4	0.0-3.0
IX	4-(CH ₃) ₂ N-C ₆ H ₄	C ₆ H ₅	260-263	495	23.0	590	590	581	0.4 ^{в)}	0.0-1.0

^{a)} По обе стороны от максимума в спектре протонированной формы имеются плечи, например, при λ_{max} 588 нм – в области 560-575 нм и в области 595-610 нм. ^{b)} Изосбестическая точка размыта. ^{b)} В этой области pH имеются, вероятно, две ступени протонирования.

Таблица 2. Значения pK_a соединения I, ви?енеaiua при различных значениях pH
(растворы HCl; по данным рис.2,3)

pH	2.97	2.66	2.36	2.06	1.89	1.66	1.36	1.06
pK_a	2.10	2.00	2.01	2.02	1.95	1.98	1.92	1.93

Среднее значение: $pK_a = 1.99 \pm 0.10$

Далее, в концентрированной ($\approx 80\text{-}85\%$ -ной) серной кислоте для некоторых из индикаторов имеет место частичное снижение интенсивности поглощения синей формы, носящее обратимый характер: спектр не восстанавливается после разбавления водой. Наконец, в случае соединения **IX** протонирование азо-группы протекает, вероятно, уже как вторая стадия протонирования (после протонирования диметиламиногруппы). Это согласуется с тем, что для катиона **N,N**-диметиланилиния $pK_a = 5.1$ [11]. Кроме того, при титровании водного раствора данного индикатора раствором

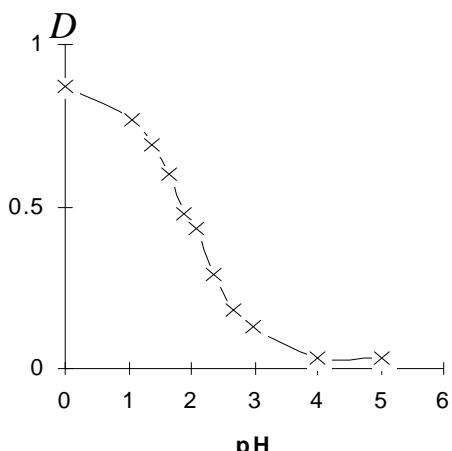


Рис.3. Зависимость интенсивности светопоглощения от pH в водных растворах для соединения I.

HCl даже визуально наблюдается вначале переход окраски от желтого к светло-желтому и лишь после этого – к фиолетовому.

Поэтому необходимы дальнейшие, более подробные исследования протолитических превращений данных индикаторов. Особенно ценным свойством этих соединений нам представляется исключительная узость интервала **pH**, на котором исчезает флуоресценция формы **B⁻** вследствие протонирования. Так, соединению **I** отвечает участок **pH 1.9±0.3**, соединениям **III** и **IX** – **pH 1.4±0.3**, а всем остальным индикаторам – **pH 1.7±0.3**. Оказавшись на сау внимание и аномально большой Стоксов сдвиг флуоресценции – до 6 тысяч см⁻¹ (табл.1).

Экспериментальная часть

Синтез соединений (I-IX). Соответствующие 1,3-диарил- либо 1,3,5-триарил-2-пиразолины растворяют в уксусной кислоте при нагревании и охлаждают раствор до 10–15 °C. Отдельно готовят раствор п-сульфобензодиазоний хлорида растворением п-сульфаниловой кислоты в 5 моль/ л растворе **HCl**, охлаждением до 0–5 °C и прибавлением раствора **NaNO₂** до положительной реакции на подкрахмаленную бумагу. Этот раствор приливают при перемешивании и постоянной температуре (10–14 °C) к раствору пиразолина и оставляют на ночь при комнатной температуре. Образовавшийся синий раствор выливают в стакан со льдом и **NaOH** и высаливают с помощью **NaCl** желто-красный осадок, который отфильтровывают, промывают и кристаллизуют из подходящего растворителя.

Методика измерений. ИК спектры препаратов снимали в таблетках **KCl** на приборе **Specord IR 75**. Спектры поглощения измерены на приборах **Specord UV-Vis** и **СФ-4А**, а спектры флуоресценции – на спектрофлуориметре **Hitachi MPF-4** в метанольных растворах. Значения **pH** растворов контролировали потенциометрическим методом в цепи с переносом с использованием стеклянного электрода ЭСЛ 43-07; градуировка проводилась при помощи стандартных буферных растворов. Исследования проведены при комнатной температуре. Значения **pK_a** определены спектрофотометрически, по стандартной методике. Кислотность варьировали растворами **HCl** и **HClO₄**, в отдельных случаях – **H₂SO₄**. Интервалы перехода окраски и изменения флуоресценции регистрировали визуально, титруя водные растворы красителей растворами **HCl** и контролируя при этом значение **pH** потенциометрически.

Литература

1. Виксво Л.А. Материалы научно-исследовательской работы Украинского института советской торговли. Харьков, 1940. С.49-63.
2. Индикаторы. / Под ред. Э.Бишопа. Т.2. М.: Мир, 1976. 446 с.
3. Головина А.П., Левшин Л.В. Химический люминесцентный анализ неорганических веществ. М.: Химия, 1978. 248 с.
4. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. М.: Химия, 1989. 448 с.
5. Орлов В.Д., Азиз М.А., Мчедлов-Петросян Н.О., Асока П.К.Д. Химия гетероциклических соединений. 1985. №11. С.1511-1516.
6. De Ligny C.L., Loriaux H., Ruiter A. Rec. Trav. Chim. 1961. V.80. P.725-739.
7. Бейтс Р. Определение pH. Л.: Химия, 1972. 400 с.
8. Индикаторы./ Под ред. Э.Бишопа. Т.1. М.: Мир, 1976. 496 с.
9. Nguen Tinh Dung, Do Phi Bang, Huynh Dang Cau, Tran Thanh Hue. Hoa hoc. 1976. №3. P.9-14.
10. De Vylder M., Rigole W. Analytical Chemistry. 1971. V.43. №10. P.1234-1237.
11. Свойства органических соединений./ Под ред. А.А.Потехина. Л.: Химия, 1984. 520 с.

Поступила в редакцию 25 октября 2001 г.

Kharkov University Bulletin. 2001. №532. Chemical Series. Issue 7(30). V.D.Orlov, N.O.Mchedlov-Petrosyan, M.A.Aziz, N.N.Orlova. Fluorescent indicators for the low pH region: derivatives of 1-[4-(4-sulfophenylazo)phenylene]-3-aryl-2-pyrazoline.

Nine dyes – derivatives of 1-[4-(4-sulfophenylazo)phenylene]-3-aryl-2-pyrazoline – are synthesised. These substances, analogous with the standard indicator methyl orange, contain pyrazoline cycle instead of dimethylamino group. They possess indicator properties in the low pH region; the sulfonate group ensures sufficient solubility in water. The pK_a values are within the interval 0.4 to 2.3. The non-protonated yellow anionic species are fluorescent. The protonation of the azo-group results in disappearance of fluorescence and in a large red shift of the absorption band in aqueous solutions – up to 100 nm, while in the case of methyl orange the shift is only 45 nm. The described dyes are shown to be not only indicators with distinct colour change, but also fluorescent indicators with an extremely narrow pH interval.