

ОПТИКА И СПЕКТРОСКОПИЯ

УДК 535.37

*О.М. ЖАРКОВА, Т.Ю. ТИТОВА, Ю.П. МОРОЗОВА, В.Я. АРТЮХОВ, Б.В. КОРОЛЕВ***ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИРОДЫ ЭМИССИОННОГО СОСТОЯНИЯ
ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ЗОНДА – ЛАУРДАНА¹**

Проведено экспериментальное и квантово-химическое (ЧПДП, TDDFT) исследование молекулы лаурдана. Определены устойчивые геометрические структуры лаурдана, соответствующие глобальному и локальным энергетическим минимумам в основном и возбужденном состоянии молекулы. Оценены константы скоростей фотофизических процессов устойчивых конформаций зонда и определены вклады каждой структуры в спектр флуоресценции молекулы.

Ключевые слова: лаурдан, нежесткость структуры, метод МД, метод TDDFT, метод ЧПДП.

Введение

Флуоресцентные зонды с одновременным присутствием донорных и акцепторных групп отражают структуру микроокружения и широко используются при проведении биофизических исследований протеинов, мембран, клеток [1]. В данной работе детально исследована молекула лаурдана с донорной (диметиламино) и акцепторной (додеканоильной) группами, являющаяся таким зондом [1, 2] и впервые синтезированная Вебером [3]. Интерес к ней объясняется экстремально-большим сдвигом в спектрах флуоресценции и большим изменением величины квантового выхода флуоресценции при смене полярности растворителя. Исследования спектральных свойств лаурдана начинаются с начала 80-х годов и продолжаются по настоящее время [4–12]. Однако, несмотря на экспериментальное и теоретическое исследование лаурдана, до сих пор не определена природа эмиссионного состояния зонда. Существует несколько точек зрения на природу флуоресцентного состояния лаурдана. Одна из них базируется на структурной нежесткости молекулы, т.е. на существовании нескольких конформаций молекулы, проявляющихся в её спектре поглощения и флуоресценции [4–6]. В [4, 7] обсуждается только N-TICT-конформация зонда (поворот диметиламиногруппы на 90°). O-TICT-конформация зонда (поворот додеканоильной группы на 90°) в известной нам литературе не обсуждается. Но для родственной молекулы зонда-продана (6-пропионил-2-диметиламино нафталин) поворот пропионильной группы рассматривается в ряде работ [13–15]. Другая точка зрения на природу флуоресцентного состояния – проявление в спектре флуоресценции молекулы локально возбужденного LE-состояния и состояния с переносом заряда СТ. Однако, по нашему мнению и авторов [4], этот термин является условным и применим только для очень низких температур. В ряде работ [9, 11] отмечалось, что лаурдан в полярных средах – негомогенная спектроскопическая среда, для которой закон затухания флуоресценции не является моноэкспоненциальным, но причина этого не выяснена.

В работе определены конформации лаурдана, вносящие вклады в спектр поглощения и флуоресценции зонда. Природа эмиссионного состояния выясняется путем исследования связи определенных геометрических структур лаурдана с их фотофизическими параметрами (энергией, природой и силой осциллятора электронного перехода, дипольными моментами S_0 - и S_1 -состояний и константами скоростей излучательных и безызлучательных процессов).

В [5, 6] было показано, что лаурдан может существовать как в плоской, так и в неплоской конформациях. Однако это было выполнено в рамках метода молекулярной динамики, который даёт лишь возможные отклонения фрагментов молекулы и не позволяет доказать наличие её устойчивых конформаций. Теоретических работ по исследованию свойств лаурдана мало. Все они, в том числе и наши, выполнены в рамках полуэмпирических методов. Работы [4, 7–11, 16] ограничиваются определением энергии и дипольных моментов основного и возбужденных S_1 - и S_2 -состояний. Величины дипольных моментов лаурдана варьируются в интервале 3,8–5 D [4, 7, 9, 16]

¹ Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (грант № 12-03-31408 мол_а).

для основного и 7,6–19,8 D [4, 7, 9, 16] для S_1 -состояния. В [5, 6] помимо интерпретации спектров поглощения и флуоресценции лаурдана были определены константы скоростей фотопроцессов и квантовый выход флуоресценции молекулы. В большинстве случаев полагается, что геометрия основного и возбужденного состояния лаурдана – плоская. Исключение составила работа [4], в которой в рамках РМЗ-метода показано, что лаурдан в основном состоянии имеет минимум энергии при угле поворота диметиламиногруппы -25° , а в возбужденном – при $-12,5^\circ$.

Таким образом, теоретические исследования лаурдана выполнены только на полуэмпирическом уровне. Однако в плане поиска глобального и локальных минимумов энергии молекулы использовать только полуэмпирические методы сложно. Поэтому в работе структура и конформации лаурдана исследованы на более высоком теоретическом уровне. Для оценки вклада полученных конформаций зонда в спектр флуоресценции необходимо знание квантового выхода флуоресценции, который определяется константами скоростей фотопроцессов. Для их определения использовались полуэмпирические методы.

Методы исследования

Электронные спектры поглощения регистрировались с помощью двухлучевого спектрофотометра Cary 5000. Спектры флуоресценции регистрировались на установке для снятия спектров люминесценции СДЛ-2. Все наблюдения производились при комнатной температуре. В качестве растворителя использовался гексан.

Оптимизация геометрии основного состояния молекулы проводилась в три этапа. На первом этапе геометрия лаурдана оптимизировалась методом молекулярной механики с силовым полем MM2 (пакет программ ChemOffice Ultra v.10.0). На втором и третьем этапах структура молекул рассчитывалась в рамках метода TDDFT (time-dependent density functional theory) [17] (пакет программ GAMESS US) [18]. Используемые алгоритмы: Quadratic Approximation (QA) (второй этап) и прямой метод Newton-Raphson NR (третий этап) (пакет программ GAMESS US) [18]. Геометрия возбужденного состояния лаурдана также рассчитывалась на основе TDDFT-метода с алгоритмами QA и NR.

Имитация молекулярных движений молекулы исследовалась методом молекулярной динамики (МД) [19] (пакет программ ChemOffice Ultra v.10.0). Длина молекулярно-динамической траектории – 70000 шагов.

Все *ab initio* расчеты выполнялись на базе вычислительного кластера «Скиф Cyberia» Томского госуниверситета [20], в рамках метода TDDFT, с использованием гибридного функционала B3LYP и базиса атомных орбиталей TZV [21]. Учет растворителя в *ab initio* расчетах производился в рамках модели поляризованного континуума IEFPCM (polarizable continuum model in its integral equation formalism version [22]) (пакет программ GAMESS US) [18].

Полуэмпирические расчёты молекулы лаурдана выполнялись с помощью оригинального пакета программ, воспроизведённого на основе метода ЧПДП (частичное пренебрежение дифференциальным перекрытием) с оригинальной спектроскопической параметризацией [23, 24]. Параметризация метода получена на основе экспериментальных данных в инертных углеводородных растворителях. Пакет программ имеет возможность независимой оценки констант скоростей фотофизических процессов. Квантово-химическая процедура оценки констант скоростей фотопроцессов в органических молекулах дана в [25].

Поиск геометрии возбужденного состояния лаурдана выполнялся двумя способами. Исходная геометрия зонда соответствовала геометрии S_0 -состояния. В первом случае оптимизация геометрии лаурдана в S_1 -состояние проводилась на основе TDDFT/B3LYP-метода с алгоритмами QA и NR. Во втором случае использовали методику, приведенную в [26], которая основана на знании распределения эффективных зарядов на атомах в молекуле и известной линейной зависимости между длиной и заселенностью связи.

Обсуждение результатов

Обсудим экспериментальные спектры поглощения и флуоресценции молекулы лаурдана.

В экспериментальном спектре поглощения лаурдана в гексане (рис. 1) длинноволновая полоса занимает значительный интервал (10000 см^{-1}). Согласно результатам второй производной (рис. 1), в эту полосу попадают три перехода, соответствующие 26670 см^{-1} (375 нм), 28980 см^{-1} (345 нм) и 30490 см^{-1} (328 нм). В коротковолновой области спектра поглощения лаурдана в гекса-

не ($34000\text{--}50000\text{ см}^{-1}$) результаты второй производной показывают пять переходов, соответствующих 35340 см^{-1} (283 нм), 36760 см^{-1} (272 нм), 38170 см^{-1} (262 нм), 40160 см^{-1} (249 нм) и 44840 см^{-1} (223 нм).

Экспериментальный спектр флуоресценции лаурдана в гексане представлен на рис. 2. Используемая длина волны возбуждения – 370 нм. Результаты, полученные методом второй производной, показывают, что кроме минимума (25470 см^{-1}), соответствующего максимуму полосы флуоресценции, наблюдается отчетливый перегиб (24330 см^{-1}). На рис. 2 также приведен экспериментальный спектр флуоресценции продана в гексане и результаты метода второй производной. Продан отличается от молекулы лаурдана наличием короткой углеводородной цепочки ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$). Спектры обоих зондов подобны. Для продана, как и для лаурдана, наблюдаются минимум (25540 см^{-1}) и перегиб (24360 см^{-1}). В литературе экспериментальное разделение спектров флуоресценции с помощью временных измерений проводилось только для молекулы продана [27]. Согласно им, спектр флуоресценции продана в неполярном растворителе сформирован двумя электронными переходами, расстояние между которыми соответствует 1000 см^{-1} [27]. Мы полагаем, что спектр флуоресценции лаурдана также сформирован двумя электронными переходами. Одним из наших предположений о природе этих переходов было то, что каждый из них сформирован отдельной конформацией зонда.

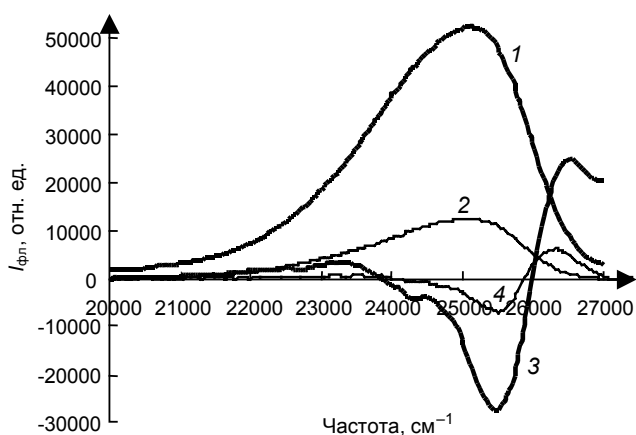


Рис. 2. Экспериментальный спектр флуоресценции молекул лаурдана (кр. 1) в циклогексане и продана (кр. 2) в изооктане и результаты метода второй производной для лаурдана (кр. 3) и продана (кр. 4)

практически плоская. Наблюдаются небольшие отклонения метильных групп зонда от плоскости молекулы, соответствующие -6 и 7° (рис. 3). Полученная геометрическая структура лаурдана подтверждается частотным анализом. Все вычисленные колебательные частоты действительные.

Далее было проведено исследование динамического поведения молекулы лаурдана в рамках метода молекулярной динамики. Показано, что для диметиламиногруппы зонда возможны повороты метильных групп относительно плоскости молекулы на углы не более 60° . Это исключает возможность существования N-ТІСТ-конформации (поворот диметиламино группы на угол 90° относительно ароматических колец) в молекуле лаурдана. Относительно O-ТІСТ-конформации зонда, т.е. конформации, связанной с поворотом додеканоильной группы лаурдана на угол 90° , однозначно говорить сложно, так как имеют место вращения C–C-связей углеводородной цепочки на углы от 0 до 360° . При этом угол $\text{C}_8\text{-C}_9\text{-C}_{12}\text{-O}_{14}$ изменяется в пределах от -89 до $+88^\circ$. Длина молекулярно-динамической траектории составила 70000 шагов. Отметим, что метод молекулярной

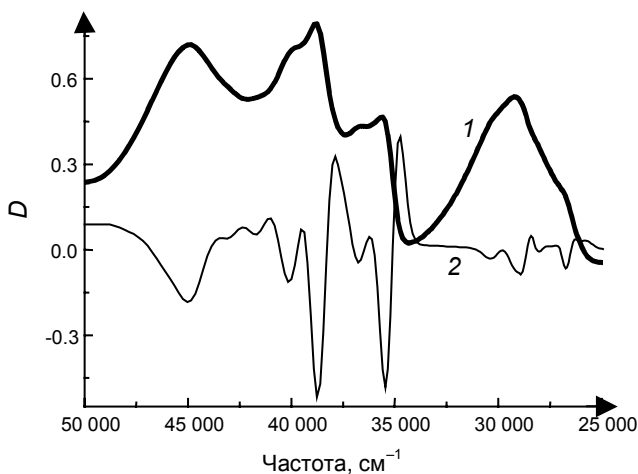


Рис. 1. Экспериментальный спектр поглощения лаурдана в гексане (кр. 1) и результаты метода второй производной (кр. 2)

Для подтверждения этого предположения мы воспользовались методами квантовой химии (*ab initio* и полуэмпирическими). Для начала была определена геометрия основного состояния лаурдана. Оптимизация геометрии лаурдана проводилась в 2 этапа. На первом этапе структура лаурдана была оптимизирована методом MM2. В результате нами была получена плоская структура молекулы с отклонениями метильных групп в диметиламиногруппе зонда от плоскости лаурдана на углы менее 1° . На втором этапе оптимизации определение геометрии основного состояния лаурдана было выполнено методом TDDFT/B3LYP с использованием следующих алгоритмов: QA и прямой метод NR. Полученная геометрическая структура лаурдана

динамики можно использовать только в качестве начальной стадии определения внеплоскостных конформаций молекулы, так как данный метод показывает наличие возможных отклонений фрагментов молекулы, но не доказывает существование устойчивых внеплоскостных конформаций

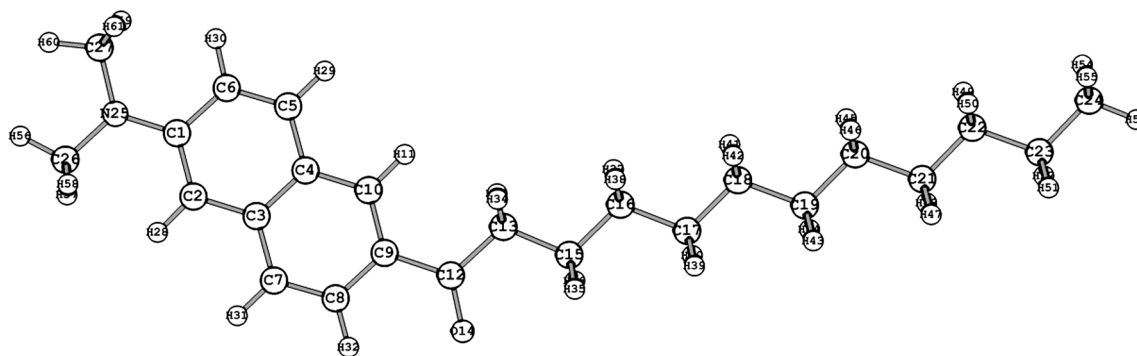


Рис. 3. Структура молекулы лаурдана. Приведена нумерация атомов, сгенерированная программой в ходе оптимизации

зонда. Основываясь на данных, полученных методом МД, выбрали ряд возможных внеплоскостных конформаций лаурдана и рассчитали для них полную энергию системы (табл. 1 и 2). В табл. 1 приведены полные энергии молекулы-зонда в зависимости от различных углов поворота метильных групп и додеканойльной группы. Показано, что с увеличением угла поворота как метильных групп, так и додеканойльной группы полная энергия зонда уменьшается. Минимальное значение энергии наблюдается при повороте метильной группы на 60° , а додеканойльной группы на 90° . На основании этих данных выполнена оптимизация геометрии молекулы лаурдана в S_0 -состоянии методом TDDFT/B3LYP с использованием алгоритмов QA и NR начиная от конформации зонда с поворотом диметиламиногруппы на угол 60° и от конформации зонда с поворотом додеканойльной группы на 90° . В ходе оптимизации, как в том, так и в другом случае, мы вновь получили плоские геометрические структуры лаурдана. Таким образом, устойчивые N-TICT- и O-TICT-конформации в основном состоянии лаурдана отсутствуют. Мы полагали, что структуры, соответствующие ортогональным положениям додеканойльной и диметиламино групп лаурдана, отсутствуют, так как в этих случаях спектры поглощения и флуоресценции зонда были бы смещены в более коротковолновую область.

Таблица 1
Полные энергии молекулы лаурдана при различных углах поворота диметиламино и додеканойльной групп

Диметиламино группа			Додеканойльная группа	
$C_6-C_1-C_{25}-C_{27}$	$C_2-C_1-C_{25}-C_{26}$	E , Хартри	$C_8-C_9-C_{12}-O_{14}$	E , Хартри
-6	7	-1065,285280	10	-1065,28480
7	20	-1065,283548	20	-1065,28387
17	30	-1065,281270	30	-1065,28290
27	40	-1065,278493	40	-1065,28132
37	50	-1065,275366	50	-1065,27948
47	60	-1065,272380	60	-1065,27700
-	-	-	70	-1065,27528
-	-	-	80	-1065,27437
-	-	-	90	-1065,27380

Для обнаружения устойчивых конфигураций лаурдана, связанных с вращениями C-C-связей углеводородной цепочки, рассчитана полная энергия молекулы при различных углах поворота каждой из связей. Угол поворота каждой связи изменялся в пределах от -180 до -90° . Минимальные значения полных энергий зонда наблюдались при отклонениях связи $C_{13}-C_{15}$ на угол -130° , связей $C_{19}-C_{20}$ и $C_{21}-C_{22}$ на угол 110° , а остальных связей на угол -110° . Соответствующие минимальные значения полных энергий молекулы лаурдана приводятся в табл. 2.

Таблица 2
Минимальные значения полных энергий лаурдана при различных углах поворота С–С-связей углеводородной цепочки молекулы

Угол поворота С–С-связи	Значение угла	<i>E</i> , Хартри
C ₉ –C ₁₂ –C ₁₃ –C ₁₅	–130	–1065,28501
C ₁₂ –C ₁₃ –C ₁₅ –C ₁₆	–110	–1065,28122
C ₁₃ –C ₁₅ –C ₁₆ –C ₁₇	–110	–1065,28001
C ₁₅ –C ₁₆ –C ₁₇ –C ₁₈	–110	–1065,28012
C ₁₆ –C ₁₇ –C ₁₈ –C ₁₉	–110	–1065,28035
C ₁₇ –C ₁₈ –C ₁₉ –C ₂₀	110	–1065,28020
C ₁₈ –C ₁₉ –C ₂₀ –C ₂₁	–110	–1065,28048
C ₁₉ –C ₂₀ –C ₂₁ –C ₂₂	110	–1065,28021
C ₂₀ –C ₂₁ –C ₂₂ –C ₂₃	–110	–1065,28060
C ₂₁ –C ₂₂ –C ₂₃ –C ₂₄	–110	–1065,27999

Чтобы проверить, являются ли структуры лаурдана с отклонениями С–С-связей углеводородной цепочки на углы, указанные в табл. 2, устойчивыми, была проведена оптимизация геометрии основного состояния зонда. При этом исходными были структуры зонда с минимальными значениями полной энергии системы (см. табл. 2). Оптимизация проводилась методом TDDFT/B3LYP с использованием алгоритмов QA и NR. В результате было получено 10 устойчивых конформаций лаурдана с углами отклонения С–С-связей углеводородной цепочки от плоскости ароматических колец в интервале от 61 до 114,7°, которые будем называть «внеплоскостными». Таким образом, в основном состоянии для молекулы лаурдана имеют место 11 устойчивых конформаций (1 – «плоская» и 10 внеплоскостных). Конфигурация, соответствующая глобальному минимуму энергии зонда, – «плоская». Внеплоскостные конфигурации лаурдана соответствуют структурам молекулы с локальными энергетическими минимумами.

В табл. 3 и 4 приведены результаты квантово-химического расчета энергетических уровней, сил осциллятора и дипольных моментов всех определенных устойчивых структур зонда в основном состоянии, выполненные в рамках метода ЧПДП и метода TDDFT/B3LYP.

На основании результатов, полученных методом ЧПДП (см. табл. 3), можно говорить, что длинноволновая полоса поглощения лаурдана (рис. 1) сформирована тремя электронными переходами: 1 – $\pi\pi^*$ -типа, 2 – $\pi\pi^*$ -типа, причем нижнее состояние – запрещенное. Отметим также, что по положению энергетических уровней внеплоскостные структуры лаурдана мало отличаются между собой, но более значительно отличаются от плоской структуры зонда: для $S_1 \sim 400 \text{ см}^{-1}$, $S_2 \sim 700 \text{ см}^{-1}$, $S_3 \sim 70 \text{ см}^{-1}$. Дипольный момент основного состояния лаурдана варьируется в интервале от 5,96 до 6,94 D, что выше ранее приводимых значений [4, 7, 9, 16].

Таблица 3
Результаты расчета положений энергетических уровней, природы состояний и сил осциллятора лаурдана в основном состоянии методом ЧПДП для структур молекулы с глобальным и локальными энергетическими минимумами

$S_1 (\pi\pi^*)$	<i>f</i>	$S_2 (\pi\pi^*)$	<i>f</i>	$S_3 (\pi\pi^*)$	<i>f</i>
Плоская геометрическая структура $\mu(S_0) = 5,96 \text{ D}$					
29110	0,000	30920	0,017	32770	0,327
Структура с отклонением угла C ₉ –C ₁₂ –C ₁₃ –C ₁₅ на –119,024° $\mu(S_0) = 6,81 \text{ D}$					
29330	0,001	30240	0,043	32840	0,463
Структура с отклонением угла C ₁₂ –C ₁₃ –C ₁₅ –C ₁₆ на –79,076° $\mu(S_0) = 6,92 \text{ D}$					
29490	0,000	30200	0,047	32700	0,461
Структура с отклонением угла C ₁₃ –C ₁₅ –C ₁₆ –C ₁₇ на –73,856° $\mu(S_0) = 6,94 \text{ D}$					
29360	0,000	30200	0,047	32740	0,458
Структура с отклонением угла C ₁₅ –C ₁₆ –C ₁₇ –C ₁₈ на –72,168° $\mu(S_0) = 6,84 \text{ D}$					
29410	0,000	30200	0,046	32740	0,459

Окончание табл. 3

S_1 ($\pi\pi^*$)	f	S_2 ($\pi\pi^*$)	f	S_3 ($\pi\pi^*$)	f
Структура с отклонением угла $C_{16}-C_{17}-C_{18}-C_{19}$ на $-74,089^\circ$ $\mu(S_0) = 6,92$ D					
29390	0,000	30200	0,047	32740	0,458
Структура с отклонением угла $C_{17}-C_{18}-C_{19}-C_{20}$ на $71,568^\circ$ $\mu(S_0) = 6,82$ D					
29410	0,000	30190	0,046	32740	0,457
Структура с отклонением угла $C_{18}-C_{19}-C_{20}-C_{21}$ на $-70,654^\circ$ $\mu(S_0) = 6,89$ D					
29400	0,000	30210	0,047	32740	0,459
Структура с отклонением угла $C_{19}-C_{20}-C_{21}-C_{22}$ на $68,623^\circ$ $\mu(S_0) = 6,82$ D					
29410	0,000	30200	0,047	32740	0,459
Структура с отклонением угла $C_{20}-C_{21}-C_{22}-C_{23}$ на $-65,950^\circ$ $\mu(S_0) = 6,90$ D					
29380	0,000	30200	0,047	32740	0,459
Структура с отклонением угла $C_{21}-C_{22}-C_{23}-C_{24}$ на $-65,296^\circ$ $\mu(S_0) = 6,82$ D					
29400	0,000	30200	0,047	32740	0,458

Сопоставим результаты расчета энергетических уровней и сил осциллятора в основном состоянии, полученные методом TDDFT/B3LYP (табл. 4), с экспериментальными данными (рис. 1). Результаты расчета для плоской, соответствующей глобальному энергетическому минимуму структуры лаурдана выполнены с учетом и без учета растворителя. Согласно им, длинноволновой полосе поглощения лаурдана ($25000-34000$ см^{-1}) соответствуют три электронных перехода. Нижнее S_1 -состояние – разрешенное. В области $34000-39000$ см^{-1} лежит один разрешенный электронный переход, в области $39000-43000$ см^{-1} лежат три перехода, а в области $43000-50000$ см^{-1} – восемь переходов. Отметим, что результаты расчета, выполненные в рамках IEFPCM, хорошо согласуются с экспериментом ($E(S_1)_{\text{TDDFT}} = 27150$ см^{-1} , $E(S_1)_{\text{эксп}} = 26670$ см^{-1}). По положению энергетических уровней и сил осциллятора результаты расчета для плоской и внеплоскостных конформаций зонда очень мало различаются между собой. Дипольный момент основного состояния лаурдана без учета растворителя варьируется в интервале от 6,17 до 6,41 D. В циклогексане состояния S_0 лаурдана $\mu = 7,36$ D.

Таблица 4

Результаты расчета положений энергетических уровней и сил осциллятора лаурдана в основном состоянии методом TDDFT/B3LYP в газовой фазе и в циклогексане (в рамках модели IEFPCM) для структур молекулы с глобальными и локальными энергетическими минимумами

$S_1 - S_5$	f	$S_6 - S_{10}$	f	$S_{11} - S_{15}$	f
Плоская геометрическая структура $\mu(S_0) = 6,28$ D					
28240	0,308	40380	0,199	47250	0,020
30360	0,001	41430	0,277	47550	0,009
30580	0,057	42140	0,020	47660	0,237
35760	0,303	44340	0,136	48640	0,001
39490	0,001	46010	0,492	48960	0,001
Плоская геометрическая структура (с учетом растворителя – циклогексан) $\mu(S_0) = 7,36$ D					
27150	0,457	40410	0,001	46810	0,051
30040	0,073	40880	0,175	47200	0,098
30960	0,001	43180	0,024	48030	0,002
34730	0,333	43530	0,220	48280	0,000
39820	0,411	45110	0,479	48470	0,013
Структура с отклонением угла $C_9-C_{12}-C_{13}-C_{15}$ на $-119,024^\circ$ $\mu(S_0) = 6,35$ D					
28440	0,346	40370	0,356	47160	0,263
29740	0,000	41350	0,118	47310	0,000
30440	0,060	42300	0,018	47990	0,024
35550	0,270	44680	0,271	48830	0,004
38740	0,001	45830	0,331	49000	0,019

Окончание табл. 4

$S_1 - S_5$	f	$S_6 - S_{10}$	f	$S_{11} - S_{15}$	f
Структура с отклонением угла $C_{12}-C_{13}-C_{15}-C_{16}$ на $-79,076^\circ \mu(S_0) = 6,41 \text{ D}$					
28230	0,322	40370	0,205	47170	0,023
30490	0,005	41460	0,279	47620	0,211
30580	0,048	42240	0,017	47900	0,018
35690	0,298	44240	0,133	47970	0,016
39700	0,000	45910	0,515	48880	0,015
Структура с отклонением угла $C_{13}-C_{15}-C_{16}-C_{17}$ на $-73,856^\circ \mu(S_0) = 6,17 \text{ D}$					
28340	0,310	40390	0,228	47230	0,027
30280	0,000	41450	0,248	47551	0,226
30570	0,055	42320	0,017	47790	0,008
35720	0,297	44410	0,154	48830	0,000
39410	0,000	46000	0,456	48890	0,000
Структура с отклонением угла $C_{15}-C_{16}-C_{17}-C_{18}$ на $-72,168^\circ \mu(S_0) = 6,26 \text{ D}$					
28280	0,313	40370	0,201	47210	0,018
30380	0,001	41480	0,284	47620	0,156
30600	0,054	42240	0,018	47780	0,092
35740	0,302	44310	0,136	48780	0,003
39560	0,001	45990	0,499	48970	0,009
Структура с отклонением угла $C_{16}-C_{17}-C_{18}-C_{19}$ на $-74,089^\circ \mu(S_0) = 6,19 \text{ D}$					
28300	0,309	40380	0,208	47210	0,022
30320	0,000	41480	0,272	47610	0,203
30580	0,053	42330	0,017	47790	0,039
35730	0,300	44340	0,145	48840	0,004
29490	0,000	46030	0,471	48950	0,010
Структура с отклонением угла $C_{17}-C_{18}-C_{19}-C_{20}$ на $71,568^\circ \mu(S_0) = 6,21 \text{ D}$					
28290	0,310	40410	0,199	47180	0,019
30320	0,000	41450	0,285	47580	0,194
30570	0,054	42340	0,017	47790	0,054
35740	0,303	44280	0,147	48790	0,007
39520	0,000	46050	0,475	48690	0,008
Структура с отклонением угла $C_{18}-C_{19}-C_{20}-C_{21}$ на $-70,654^\circ \mu(S_0) = 6,24 \text{ D}$					
28300	0,312	40400	0,209	47200	0,021
30370	0,000	41460	0,280	47620	0,190
30580	0,055	42320	0,023	47780	0,064
35740	0,301	44290	0,149	48820	0,002
39500	0,000	46060	0,470	48800	0,011
Структура с отклонением угла $C_{19}-C_{20}-C_{21}-C_{22}$ на $68,623^\circ \mu(S_0) = 6,26 \text{ D}$					
28260	0,312	40390	0,202	47230	0,021
30350	0,000	41470	0,277	47610	0,144
30580	0,055	42220	0,019	47740	0,106
35740	0,302	44340	0,146	48710	0,002
39520	0,000	46010	0,480	49000	0,010
Структура с отклонением угла $C_{20}-C_{21}-C_{22}-C_{23}$ на $-65,950^\circ \mu(S_0) = 6,20 \text{ D}$					
28300	0,309	40370	0,201	47200	0,019
30360	0,000	41490	0,282	47610	0,151
30600	0,052	42340	0,017	47750	0,098
35740	0,302	44310	0,143	48790	0,003
39540	0,000	46030	0,476	48950	0,011
Структура с отклонением угла $C_{21}-C_{22}-C_{23}-C_{24}$ на $-65,296^\circ \mu(S_0) = 6,17 \text{ D}$					
28320	0,244	40380	0,205	47200	0,020
30360	0,001	41490	0,280	47610	0,198
30610	0,052	42370	0,017	47830	0,048
35740	0,302	44330	0,146	48830	0,004
39550	0,000	46030	0,480	48860	0,000

Для поиска геометрии возбужденного состояния зонда использовано два способа, изложенные в методах исследования (см. выше). В ходе оптимизации, как одним, так и другим способом, также были получены 11 устойчивых геометрических структур лаурдана: 1 – «плоская» и 10 внеплоскостных. Результаты расчета положений энергетических уровней и сил осциллятора лаурдана в возбужденном состоянии, выполненные в рамках метода TDDFT/B3LYP, для полученных структур зонда представлены в табл. 5. Геометрия возбужденного состояния зонда при этом была определена первым способом. Проанализируем данные, полученные в газовой фазе (табл. 5). Анализ результатов расчета для плоской структуры зонда показал, что в полосу флуоресценции лаурдана (рис. 2) попадает один переход (25900 см^{-1}). Аналогичная ситуация наблюдается и для остальных внеплоскостных конформаций зонда. Отметим также, что по положению энергетических уровней результаты расчета всех конформаций очень мало различаются между собой. Исключение составили только структуры лаурдана с отклонением связей $C_{13}-C_{15}$ и $C_{23}-C_{24}$ углеводородной цепочки. Для них смещение относительно плоской структуры лаурдана составило 450 и -120 см^{-1} соответственно. Для этих и плоской структур зонда расчет положений энергетических уровней и сил осциллятора молекулы в возбужденном состоянии методом TDDFT/B3LYP выполнен с учетом неполярного растворителя (циклогексан) (табл. 5). Смещение за счет растворителя составило $1000-1120\text{ см}^{-1}$ в область меньших частот, а сила осциллятора S_1 -перехода при этом увеличилась при-

Таблица 5

Результаты расчета положений энергетических уровней и сил осциллятора лаурдана в возбужденном состоянии методом TDDFT/B3LYP в газовой фазе и в циклогексане (в рамках модели IEFPCM) для структур молекулы с глобальными и локальными энергетическими минимумами

S_1	f	S_2	f	S_3	f
Плоская геометрическая структура					
25900	0,241	29350	0,000	29530	0,036
Плоская геометрическая структура (с учетом растворителя – циклогексан)					
24880	0,357	28860	0,060	30030	0,000
Структура с отклонением угла $C_9-C_{12}-C_{13}-C_{15}$ на $-119,883^\circ$					
26350	0,269	28860	0,000	29440	0,057
Структура с отклонением угла $C_9-C_{12}-C_{13}-C_{15}$ на $-119,883^\circ$ (с учетом растворителя – циклогексан)					
25240	0,409	28870	0,084		
Структура с отклонением угла $C_{12}-C_{13}-C_{15}-C_{16}$ на $-74,229^\circ$					
25850	0,259	29350	0,002	29510	0,031
Структура с отклонением угла $C_{13}-C_{15}-C_{16}-C_{17}$ на $-75,348^\circ$					
25900	0,239	29290	0,000	29500	0,036
Структура с отклонением угла $C_{15}-C_{16}-C_{17}-C_{18}$ на $-70,531^\circ$					
25880	0,246	29360	0,000	29530	0,035
Структура с отклонением угла $C_{16}-C_{17}-C_{18}-C_{19}$ на $-74,396^\circ$					
25890	0,240	29320	0,000	29490	0,035
Структура с отклонением угла $C_{17}-C_{18}-C_{19}-C_{20}$ на $71,601^\circ$					
25970	0,245	29410	0,001	29520	0,040
Структура с отклонением угла $C_{18}-C_{19}-C_{20}-C_{21}$ на $-68,318^\circ$					
25890	0,242	29360	0,000	29530	0,035
Структура с отклонением угла $C_{19}-C_{20}-C_{21}-C_{22}$ на $67,679^\circ$					
25900	0,244	29340	0,000	29530	0,035
Структура с отклонением угла $C_{20}-C_{21}-C_{22}-C_{23}$ на $-66,009^\circ$					
25870	0,241	29360	0,000	29510	0,036
Структура с отклонением угла $C_{21}-C_{22}-C_{23}-C_{24}$ на $-65,300^\circ$					
25780	0,244	29140	0,000	29350	0,032
Структура с отклонением угла $C_{21}-C_{22}-C_{23}-C_{24}$ на $-65,300^\circ$ (с учетом растворителя – циклогексан)					
24780	0,361	28860	0,054	29810	0,000

мерно в 1,5 раза. Таким образом, по положению энергетических уровней плоская структура и структура с отклонением связей C₁₃–C₁₅ и C₂₃–C₂₄ углеводородной цепочки лаурдана отличаются на 360 и –100 см⁻¹ соответственно.

Для того чтобы оценить вклад каждой конформации в спектр молекулы лаурдана, были определены константы скоростей фотопроцессов и квантовые выходы флуоресценции для всех полученных структур зонда. Это было сделано на полуэмпирическом уровне. Геометрия возбужденного состояния лаурдана при этом была определена вторым способом. На рис. 4 представлена схема энергетических уровней и фотопроцессов для плоской геометрии лаурдана, полученная в рамках метода ЧПДП. Согласно ей, квантовые выходы флуоресценции лаурдана из состояний S₁ и S₂ – 0,031 и 0,00001 соответственно. Таким образом, по данным метода ЧПДП для плоской структуры зонда, в полосу флуоресценции лаурдана попадает один переход (25800 см⁻¹).

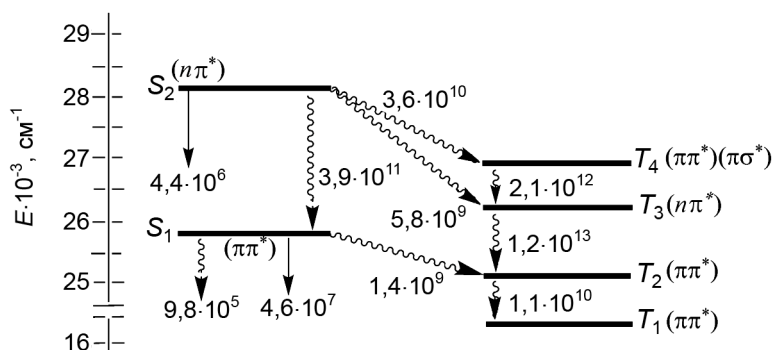


Рис. 4. Схема энергетических уровней и фотопроцессов плоской структуры молекулы лаурдана, полученная в рамках метода ЧПДП

Результаты расчета положений энергетических уровней, констант скоростей фотопроцессов и квантовых выходов флуоресценции внеплоскостных структур лаурдана, рассчитанные в рамках метода ЧПДП, приведены в табл. 6. По положению энергетических уровней внеплоскостные конформации отличаются от плоской структуры зонда примерно на 500 см⁻¹. Все структуры лаурдана обладают низким квантовым выходом ~ 3·10⁻². Полученные результаты расчета позволили описать только полосу, соответствующую максимуму спектра флуоресценции лаурдана в гексане. Природу менее интенсивной полосы 24300 см⁻¹, наблюдаемой в спектре флуоресценции молекулы в циклогексане (рис. 2), объяснить не удалось.

Таблица 6

Результаты расчета положений энергетических уровней, природы состояний, констант скоростей фотопроцессов и квантовых выходов флуоресценции лаурдана в возбужденном состоянии для внеплоскостных устойчивых структур молекулы, выполненные в рамках метода ЧПДП

E, см ⁻¹	Тип	k _r	Σk _{вн.к}	Σk _{СТ}	φ	E, см ⁻¹	Тип	k _r	Σk _{вн.к}	Σk _{СТ}	φ
Структура с отклонением угла C ₉ –C ₁₂ –C ₁₃ –C ₁₅ на –119,883°											
26380	ππ*	3,5·10 ⁷	2,1·10 ⁵	9,6·10 ⁸	0,035	28680	ππ*	2,0·10 ⁶	4,3·10 ¹⁰	2,2·10 ¹¹	7,5·10 ⁻⁶
Структура с отклонением угла C ₁₂ –C ₁₃ –C ₁₅ –C ₁₆ на –74,229°											
26260	ππ*	3,6·10 ⁷	2,3·10 ⁵	1,0·10 ⁹	0,033	28780	ππ*	3,5·10 ⁶	3,0·10 ¹⁰	2,0·10 ¹¹	1,5·10 ⁻⁵
Структура с отклонением угла C ₁₃ –C ₁₅ –C ₁₆ –C ₁₇ на –75,348°											
26310	ππ*	3,7·10 ⁷	2,3·10 ⁵	9,7·10 ⁸	0,037	28690	ππ*	3,2·10 ⁶	4,0·10 ¹⁰	2,3·10 ¹¹	1,2·10 ⁻⁵
Структура с отклонением угла C ₁₅ –C ₁₆ –C ₁₇ –C ₁₈ на –70,531°											
26260	ππ*	3,6·10 ⁷	2,3·10 ⁵	1,0·10 ⁹	0,034	28670	ππ*	3,1·10 ⁶	3,5·10 ¹⁰	2,0·10 ¹¹	1,3·10 ⁻⁵
Структура с отклонением угла C ₁₆ –C ₁₇ –C ₁₈ –C ₁₉ на –74,396°											
26300	ππ*	3,7·10 ⁷	2,3·10 ⁵	9,7·10 ⁸	0,037	28740	ππ*	3,6·10 ⁶	3,7·10 ¹⁰	2,0·10 ¹¹	1,5·10 ⁻⁵
Структура с отклонением угла C ₁₇ –C ₁₈ –C ₁₉ –C ₂₀ на 71,601°											
26290	ππ*	3,6·10 ⁷	2,3·10 ⁵	8,4·10 ⁸	0,041	28730	ππ*	3,2·10 ⁶	3,5·10 ¹⁰	2,0·10 ¹¹	1,3·10 ⁻⁵

Окончание табл. 6

$E, \text{см}^{-1}$	Тип	k_r	$\Sigma k_{\text{вн.к}}$	$\Sigma k_{\text{СТ}}$	ϕ	$E, \text{см}^{-1}$	Тип	k_r	$\Sigma k_{\text{вн.к}}$	$\Sigma k_{\text{СТ}}$	ϕ
Структура с отклонением угла $C_{18}-C_{19}-C_{20}-C_{21}$ на $-68,318^\circ$											
26280	$\pi\pi^*$	$3,6 \cdot 10^7$	$2,3 \cdot 10^5$	$8,7 \cdot 10^8$	0,039	28700	$\pi\pi^*$	$3,3 \cdot 10^6$	$3,6 \cdot 10^{10}$	$2,0 \cdot 10^{11}$	$1,4 \cdot 10^{-5}$
Структура с отклонением угла $C_{19}-C_{20}-C_{21}-C_{22}$ на $67,679^\circ$											
26300	$\pi\pi^*$	$3,7 \cdot 10^7$	$2,3 \cdot 10^5$	$1,0 \cdot 10^9$	0,035	28740	$\pi\pi^*$	$3,5 \cdot 10^6$	$3,6 \cdot 10^{10}$	$2,0 \cdot 10^{11}$	$1,2 \cdot 10^{-5}$
Структура с отклонением угла $C_{20}-C_{21}-C_{22}-C_{23}$ на $-66,009^\circ$											
26300	$\pi\pi^*$	$3,7 \cdot 10^7$	$2,3 \cdot 10^5$	$1,0 \cdot 10^9$	0,035	28730	$\pi\pi^*$	$3,4 \cdot 10^6$	$3,7 \cdot 10^{10}$	$2,0 \cdot 10^{11}$	$1,2 \cdot 10^{-5}$
Структура с отклонением угла $C_{21}-C_{22}-C_{23}-C_{24}$ на $-65,300^\circ$											
26300	$\pi\pi^*$	$3,6 \cdot 10^7$	$2,3 \cdot 10^5$	$9,1 \cdot 10^8$	0,038	28680	$\pi\pi^*$	$3,1 \cdot 10^6$	$3,7 \cdot 10^{10}$	$2,0 \cdot 10^{11}$	$1,2 \cdot 10^{-5}$

Заклучение

В ходе работы было проведено экспериментальное и квантово-химическое (в рамках *ab initio* и полуэмпирических методов) исследование спектральных свойств флуоресцентного зонда лаурдана. Определено 11 возможных устойчивых геометрических структур лаурдана в основном и возбужденном состояниях. При этом показано, что O-ТІСТ и N-ТІСТ конформации лаурдана в S_0 - и S_1 -состояниях молекулы отсутствуют. Каждой структуре зонда в неполярном растворителе соответствует одно эмиссионное состояние, которое лежит в интервале $25800-26380 \text{ см}^{-1}$ (ЧПДП) и $24780-26350 \text{ см}^{-1}$ (TDDFT/B3LYP/IEFPCM) и соответствует экспериментальному максимуму полосы флуоресценции лаурдана (25470 см^{-1}). Квантовый выход флуоресценции плоской и внеплоскостных структур лаурдана лежит в интервале $0,031-0,041$.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Добрецов Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. – М.: Мир, 1989. – 500 с.
- Lakowicz J. R. Principles of fluorescence spectroscopy. – 2nd ed. – New York: Kluwer Academic Plenum Publishers, 1999. – 698 p.
- Weber G. and Farris F. G. // Biochemistry. – 1979. – V. 14. – P. 3075–3078.
- Брозис М., Томин В. И., Хелдт Ю. // Журн. прикл. спект. – 2002. – Т. 69. – № 5. – С. 589–591.
- Морозова Ю. П., Жаркова О. М., Балакина Т. Ю. и др. // Изв. вузов. Физика. – 2011. – Т. 54. – № 5. – С. 79–84.
- Морозова Ю. П., Жаркова О. М., Балакина Т. Ю. и др. // Журн. прикл. спект. – 2009. – Т. 76. – № 3. – С. 334–341.
- Брозис М., Томин В. И. // Журн. прикл. спект. – 2003. – Т. 70. – № 4. – С. 465–468.
- Parasassi T., Krasnowska E. K., Bagatolli L., and Gratton E. // J. Fluorescence. – 1998. – No. 4. – P. 365–373.
- Брозис М., Козыра К. А., Томин В. И., Хелдт Ю. // Журн. прикл. спект. – 2002. – Т. 69. – № 3. – С. 412–414.
- Jozefowicz M., Kozyra K. A., Heldt J. R., and Heldt J. // Chem. Phys. – 2005. – V. 320. – P. 45–53.
- Kusube M., Tamai N., Matsuki H., and Kaneshina S. // Biophys. Chem. – 2005. – V. 117. – P. 199–206.
- Kozyra K. A., Heldt J. R., Engelke M., and Diehl H. A. // Spectrochim. Acta. A. – 2005. – V. 61. – P. 1153–1161.
- Everett R. K., Nguyen H. A. A., and Abelt C. J. // J. Phys. Chem. A. – 2010. – V. 114. – No. 14. – P. 4946–4950.
- Parusel A. B. J., Nowak W., Grimme S., and Köhler G. // J. Phys. Chem. A – 1998. – V. 102. – P. 7149–7156.
- Novaira M., Biasutti M. A., Silber J. J., and Correa N. M. // J. Phys. Chem. B. – 2007. – V. 111. – P. 748–759.
- Nemkovich N. A. and Baumann W. // J. Photochem. Photobiol. A. – 2007. – V. 185. – P. 26–31.
- Rosenthal J., Young E. R., and Nocera D. G. // Inorg. Chem. – 2007. – V. 46. – P. 8668–8675.
- Schmidt M. W., Baldrige K. K., Boatz J. A., et al. // J. Comput. Chem. – 1993. – V. 14. – P. 1347–1363.
- Соловьев М. Е., Соловьев М. М. Компьютерная химия. – М.: Солон-Пресс, 2005. – 536 с.
- <http://skif.tsu.ru>
- Grimme S. and Neese F. // J. Chem. Phys. – 2007. – V. 127. – P. 154116–154128.
- Li H., Pomelli C. S., and Jensen J. H. // Theor. Chem. Acc. – 2003. – V. 109. – P. 71–84.
- Майер Г. В., Артюхов В. Я., Базыль О. К. и др. Электронно-возбужденные состояния и фотохимия органических соединений. – Новосибирск: Наука, 1997. – 232 с.

24. <http://www.photonics.tsu.ru>
25. Artyukhov V.Ya., Kopylova T.N., Samsonova L.G., et al. // Russ. Phys. J. – 2008. – V. 51. – P. 1097–1111.
26. Артюхов В.Я., Жаркова О.М., Морозова Ю.П. // Журн. прикл. спектр. – 2005. – Т. 72. – № 3. – С. 330–334.
27. Rowe B.A., Roach C.A., Lin J., et al. // J. Phys. Chem. A. – 2008. – V. 112. – P. 13402–13412.

Национальный исследовательский Томский государственный университет,
г. Томск, Россия
E-mail: morj69@mail.ru

Поступила в редакцию 22.01.13.

Жаркова Оксана Михайловна, к.ф.-м.н., доцент каф. оптики и спектроскопии;
Титова Татьяна Юрьевна, аспирантка;
Морозова Юлия Петровна, к.ф.-м.н., доцент каф. оптики и спектроскопии;
Артюхов Виктор Яковлевич, д.ф.-м.н., профессор;
Королев Борис Владимирович, ведущ. электроник.