

ОПТИКА И СПЕКТРОСКОПИЯ

УДК 535.37

Т.Ю. ТИТОВА, Ю.П. МОРОЗОВА, Б.В. КОРОЛЁВ

ФОТОФИЗИКА ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ЗОНДА МОЛЕКУЛЫ ЛАУРДАНА
В ГОМОГЕННЫХ И БИНАРНЫХ РАСТВОРИТЕЛЯХ*

Проведено исследование спектрально-люминесцентных свойств молекулы лаурдана (6-додеканоил-2-диметиламинонафталин) экспериментальными и теоретическими методами (TDDFT). Выполнен анализ спектров флуоресценции лаурдана в гомогенных и бинарных растворителях с использованием метода производной спектроскопии. Показано, что полоса флуоресценции (в гексане, циклогексане и тритоне X-100) является сложной: проявляется две структуры молекулы, разница в энергии между которыми 1000–1500 см^{-1} . Полученные расчетные данные указывают на жесткость структуры молекулы. Влияние протонодонорных растворителей рассмотрено как с учетом диполь-дипольных взаимодействий, так и с образованием водородной связи.

Ключевые слова: флуоресцентный зонд, лаурдан, TDDFT/B3LYP, жесткость структуры, водородная связь.

Введение

Объектом исследования в работе является молекула лаурдана (6-додеканоил-2-диметиламинонафталин), которая имеет донорную (диметиламино) (D) и акцепторную (додеканоильную) (A) группы (рис. 1). Для флуоресцентных зондов существуют определенные требования [1], наиболее важными из которых являются изменение дипольного момента при переходе молекулы из основного во флуоресцентное состояние, существование нескольких конформаций молекулы, способность к межмолекулярным взаимодействиям. Рассматриваемая молекула лаурдана удовлетворяет требованиям к флуоресцентным зондам [1, 2]. Однако структурные перестройки исследуемой молекулы изучены недостаточно.

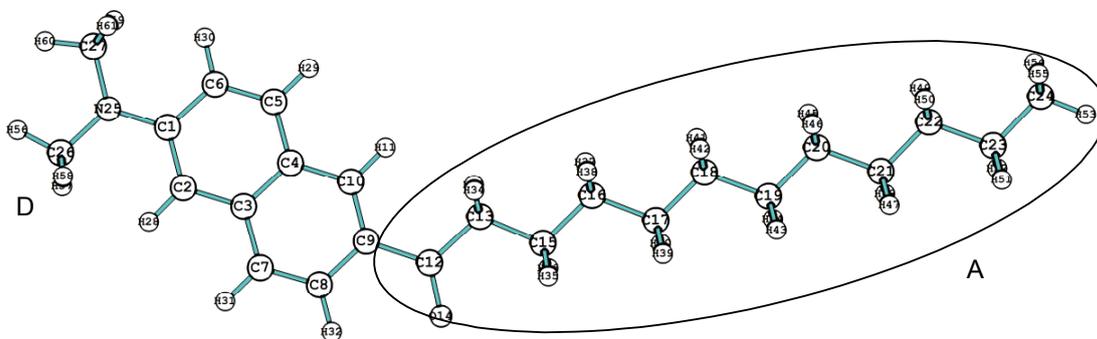


Рис. 1. Структура молекулы лаурдана. Нумерация атомов получена программой в ходе оптимизации

Ранее авторами была проведена оптимизация геометрической структуры в рамках полуэмпирического метода ЧПДП [3]. Примененный метод молекулярной динамики показал плоскую и неплоскую (с поворотом метильных групп в диметиламиногруппе) структуры. Проявление особенностей флуоресценции лаурдана в глицерине в работе [4] связывалось с поворотом диметиламиногруппы. Проведенное квантово-химическое исследование молекулы лаурдана в рамках метода TDDFT [5] показало, что в додеканоильной группе возможны повороты $\text{C}_9\text{--C}_{12}\text{--C}_{13}\text{--C}_{15}$ и $\text{C}_{21}\text{--C}_{22}\text{--C}_{23}\text{--C}_{24}$ (рис. 1). Другие отклонения связи C–C от плоскости молекулы незначительны (по энергии различны не более чем на 100 см^{-1}).

В литературе имеются противоречивые данные и по затуханию флуоресценции в гомогенных растворителях [6, 7]. Показано, что затухание флуоресценции имеет моноэкспоненциальный характер, но в работах [6, 8] полоса флуоресценции лаурдана в этаноле объясняется двумя независимыми состояниями.

* Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (задание № 2014/223 на выполнение государственных работ в сфере научной деятельности в рамках базовой части госзадания Минобрнауки России), код проекта 1766.

Сольватохромия и флуорохромия лаурдана интенсивно изучалась [6, 7]. При этом одна из точек зрения по этому вопросу основана на нежесткости структуры молекулы [3, 4, 9], благодаря чему существующие конформации проявляются как в спектрах поглощения, так и в спектрах флуоресценции. В [4, 7] обсуждаются только N-TICT-конформации лаурдана (поворот диметиламиногруппы на 90°). Другая точка зрения основана на одновременном присутствии в спектре флуоресценции молекулы локально-возбужденного *LE*-состояния и состояния с переносом заряда СТ [7]. В [5] было показано, что O-TICT- и N-TICT-конформации лаурдана в S_0 - и S_1 -состояниях молекулы отсутствуют. Имеющиеся литературные данные по величине дипольного момента лаурдана, вычисленные методом РМЗ, в основном и возбужденном состояниях составляют 4.0 и 7.6 D [7].

В данной работе исследована возможность проявления конформационных изменений молекулы лаурдана в спектрах флуоресценции в различных растворителях, взаимосвязь спектральных характеристик с химической природой растворителя.

Методы исследования

Электронные спектры флуоресценции регистрировались на установке для снятия спектров люминесценции СДЛ-2. Используемое вещество – лаурдан (Fluka). Концентрация вещества варьировалась в диапазоне 10^{-4} – 10^{-5} М. Толщина слоя 1 см. Эксперименты проводились при комнатной температуре. Использовались следующие растворители: гексан, циклогексан, тритон X-100, ацетон, изопропанол, глицерин, метанол, этанол, этилацетат.

В работе применен метод четных производных от спектров флуоресценции. Спектроскопия производных является источником дополнительной информации при разделении полос, при выделении слабых максимумов (перегиб, плечо в спектре). Кривые четных производных имеют экстремум (минимум в точке максимума полосы) и дополнительные минимумы для слабых полос. Чем выше порядок четных производных, тем уже центральная полоса [10]. Уменьшение полуширины основных пиков в четных производных улучшает разрешение полос, перекрывающихся в исходных спектрах.

Для оценки положения энергетических уровней и дипольных моментов основного и возбужденного состояний использовался квантово-химический метод TDDFT. *Ab initio* расчеты выполнялись на базе вычислительного кластера «СКИФ Cyberia» Томского госуниверситета [11], в рамках метода TDDFT, используя гибридный функционал B3LYP и базис атомных орбиталей TZV [12]. Учет растворителя осуществлялся в рамках модели поляризованного континуума IEFPCM (polarizable continuum model in its integral equation formalism version [13]) (пакет программ GAMESS US) [14].

Обсуждение результатов

Для изучения проявления особенностей структуры молекулы лаурдана в спектре флуоресценции в работе зарегистрированы и интерпретированы электронные спектры флуоресценции в гомогенных растворителях различной химической природы (табл. 1). Классификация растворителей по параметру SA и SB приведена по методологии из [15], остальные параметры – из [16].

Таблица 1

Физико-химические параметры растворителей

Растворитель	μ , D	Параметр SA	Параметр SB	ϵ	$f(\epsilon)$
Циклогексан	0	0.000	0.073	2.03	0.202
Изопропанол (7)	1.66	0.283	0.830	19.92	0.463
Ацетон (3)	2.84	0.000	0.475	20.56	0.464
Метанол (5)	1.65	0.605	0.545	32.66	0.477
Этанол (4)	1.69	0.400	0.658	24.55	0.470
Тритон X-100 (6)	–	0.073±0.019	0.222±0.096	–	–
Тетрагидрофуран (ТГФ)	1.6	0.000	0.591	7.32	0.404
Этилацетат (8)	1.81	0.000	0.542	6.02	0.384
Ацетонитрил	3.92	0.044	0.286	38.80	0.481
Глицерин	–	0.653	0.309	42.50	0.485

Примечание. μ – дипольный момент; SA – параметр кислотности; SB – параметр основности; ϵ – диэлектрическая постоянная; $f(\epsilon)$ – низкочастотная поляризуемость.

Электронные спектры флуоресценции лаурдана в гомогенных растворителях представлены на рис. 2, максимальный сдвиг максимума полосы относительно гексана наблюдается в метаноле и этаноле и составляет 5120 и 4700 см^{-1} соответственно.

Как видно из рис. 3, зависимость подразделяется на две группы: в первую попадают растворители с основными свойствами (ацетонитрил, ацетон, этилацетат, тетрагидрофуран), во вторую – с кислотными свойствами (изопропанол, метанол, этанол, глицерин). При этом во второй группе параметр кислотности изменяется от 0.283 (изопропанол) до 0.653 (глицерин).

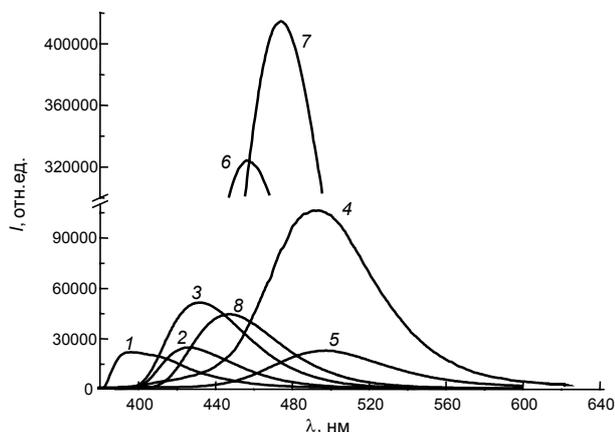


Рис. 2. Спектры флуоресценции лаурдана в гексане (кр. 1), диоксане (кр. 2), ацетоне (кр. 3), этаноле (кр. 4), метаноле (кр. 5), тритоне X-100 (кр. 6), изопропаноле (кр. 7) и этилацетате (кр. 8)

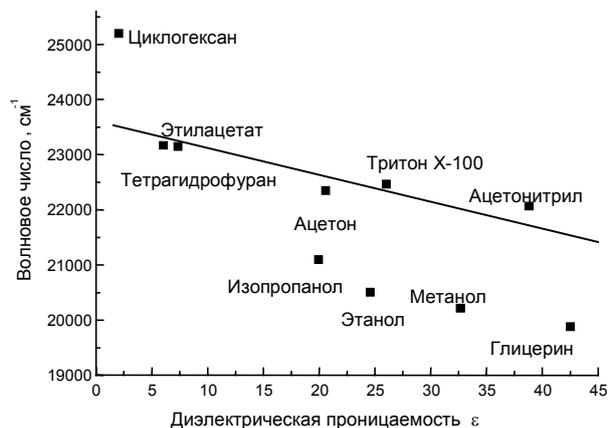


Рис. 3. Зависимость максимума полосы флуоресценции от диэлектрической проницаемости (ϵ) растворителя

Изучение влияния растворителя (циклогексана, ацетона, тетрагидрофурана, метанола и этанола) на энергии перехода и дипольные моменты в основном и флуоресцентном состояниях зонда для плоской структуры и структур с учетом отклонением связей C–C углеводородной цепочки проведено и квантово-химическим методом. Указанные растворители включены в базу модели поляризационного континуума IEFPCM в пакете программ GAMESS US. Процедура получения оптимизированной геометрии описана в [2].

Расчетный спектр с учетом растворителя для плоской геометрии основного и флуоресцентного состояний молекулы в рамках метода TDDFT/B3LYP (IEFPCM) показал: в интервале диэлектрической проницаемости от 2 до 7.32 ($f(\epsilon)$ от 0.384 до 0.477) происходит изменение энергии состояния S_1 при переходе от циклогексана к тетрагидрофурану на 650 и 520 см^{-1} для геометрии основного и возбужденного состояний молекулы. В интервале диэлектрической проницаемости от 8 до 33 энергия перехода практически не изменяется. Для инертного растворителя экспериментальные значения энергии практически совпадают с расчетными ($E(S_1)_{\text{расч}} = 24900$ см^{-1} , $E(S_1)_{\text{эксп}} = 25200$ см^{-1}). Для остальных растворителей необходимо учитывать химическую природу растворителя, поскольку параметры кислотности и основности не включены в программу расчета.

Экспериментальные данные показывают, что смещение полосы флуоресценции в протонодонорных растворителях определяется параметром кислотности, а для апротонных – параметром основности (табл. 1). Однако смещение полосы флуоресценции также обусловлено и изменением дипольного момента молекулы в растворителях при переходе из основного в возбужденное S_1 -состояние [17, 18]. Экспериментальными значениями дипольного момента в различных растворителях мы не обладаем.

Методом TDDFT/B3LYP в рамках модели IEFPCM проведен расчет величин дипольного момента для основного S_0 - и возбужденного S_1 -состояний молекулы в растворителях: тетрагидрофуран, метанол, ацетон, этанол, циклогексан. Величина дипольного момента лаурдана в различных растворителях в состоянии S_1 отличается от дипольного момента S_0 -состояния в 1.2 раза относительно циклогексана и в 2.6 – относительно газовой фазы. Дипольный момент при переходе из основного в нижнее возбужденное состояние для всех растворителей изменяется в 2 раза (табл. 2).

Анализ спектров флуоресценции методом второй производной по сравнению с исходным спектром флуоресценции показывает более четко изменения в контуре полосы флуоресценции. В спектре второй производной лаурдана в гексане наблюдается отчетливый минимум на 390 нм и

Таблица 2

Расчетные и экспериментальные данные для молекулы лаурдана в гомогенных растворителях

Характеристики	Среда					
	ТГФ	Метанол	Ацетон	Этанол	Циклогексан	Тритон X-100
$\mu(S_0), D$	8.8	9.2	9.1	9.2	7.5	–
$\mu(S_1), D$	17.9	18.9	18.7	18.8	15.1	–
ϵ	7.32	32.66	20.56	24.55	2.03	–
$E(S_0)$	26450	26300	26310	26290	27100	–
$E(S_1)$	24380	24280	24280	24250	24900	–
λ_{\max}^{ab} (эксп.) (нм/см ⁻¹)	351 / 28490*	368 / 27170	351 / 28490	366 / 27320	343 / 29150	–
λ_{\max}^{Π} (эксп.) (нм/см ⁻¹)	432 / 23150*	498 / 20080	447 / 22370	488 / 20500	396 / 25200	445 / 22470
$\nu_{\text{Stoks}}, \text{см}^{-1}$	5340	7090	6120	6820	3950	–
$\Delta\nu_{1/2}, \text{см}^{-1}$	–	2840	2660	2870	2870	3190

Примечание. В газовой фазе в основном состоянии дипольный момент – 6.28 D; $E(S_0)$ и $E(S_1)$ – энергии перехода в геометрии основного и возбужденного состояния. *Экспериментальные данные в растворителе – тетрагидрофуран – заимствованы из [19].

размытый перегиб в области 410–414 нм (24390–24150 см⁻¹). Такая же картина наблюдается в тритоне X-100 и циклогексане. Таким образом, полоса флуоресценции в гексане, циклогексане и тритоне X-100 является сложной, расстояние между минимумом и перегибом ~ 1500 см⁻¹. Считаем, что полученные два значения энергии соответствуют плоской структуре и структуре с отклонением С–С-связей в додеканойльной группе, указанных ранее. Поскольку структуры С₉–С₁₂–С₁₃–С₁₅ и С₂₁–С₂₂–С₂₃–С₂₄, согласно расчетным данным, отличаются не более чем на 150 см⁻¹, то одновременно в спектре флуоресценции не могут быть обнаружены. На рис. 4 представлены спектры флуоресценции лаурдана в тритоне X-100 и гексане.

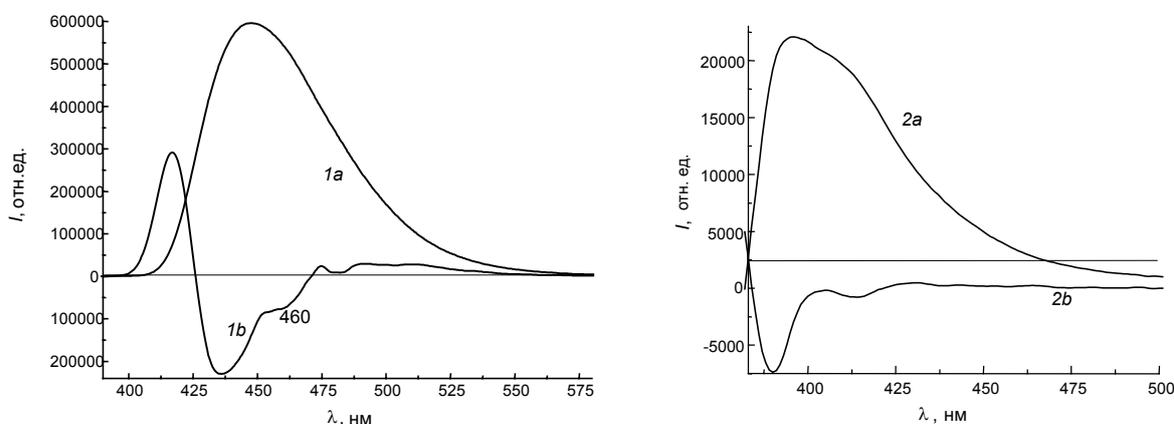


Рис. 4. Спектры флуоресценции лаурдана в тритоне (кр. 1a) и гексане (кр. 2a) и результаты методом второй производной (кр. 1b и 2b) соответственно ($\lambda_b = 390$ нм)

В растворителях с основными свойствами с низкими значениями диэлектрической проницаемости (диоксан, этилацетат) перегиб отсутствует, при этом полуширина полосы $\Delta\nu_{1/2}$ имеет значение 2560, 2360 и 2660 см⁻¹, что меньше по сравнению с тритоном X-100 (3190 см⁻¹) и гексаном (2870 см⁻¹). В растворителях с параметром кислотности 0.400–0.605 вклад второй полосы незначителен. В таких растворителях мы не можем говорить о двухполосной флуоресценции.

В работе [6] для лаурдана полоса флуоресценции в гомогенных растворителях представлена в виде контуров Гаусса, но это приближение не соответствует экспериментально наблюдаемым контурам полос электронных спектров молекулы [20, 21]. При сравнении данных [6] и результатов, полученных нами методом второй производной, можно отметить, что совпадения наблюдаются только для циклогексана.

В работе [2] показано, что в состоянии S_1 взаимодействие молекулы лаурдана с протонодонорным растворителем осуществляется по протоноакцепторной группе С = О. Поскольку молеку-

ла лаурдана используется в биофизических и биохимических исследованиях [1, 8, 18], где важна водородная связь (клетки, белки, протеины), было проведено рассмотрение смесей циклогексан + + изопропанол, циклогексан + ацетон. Выбранные вторые компоненты являются полярными с одинаковыми значениями ϵ (табл. 1). В первой смеси реализуются диполь-дипольные взаимодействия, во второй – диполь-дипольные и водородной связи.

Приведенные в табл. 3 значения диэлектрической проницаемости относятся к бинарным смесям, при этом использовались данные из [22]. Малые добавки полярной компоненты использовались для того, чтобы не учитывать влияния на спектры флуоресценции лаурдана ассоциированных молекул растворителей.

Таблица 3

Смещение полосы флуоресценции при изменении концентрации полярной компоненты

Объемный процент ацетона	C, моль/л	$\Delta\nu$	ϵ	Объемный процент изопропанола	C, моль/л	$\Delta\nu$	ϵ	Н-связь, см ⁻¹
Циклогексан + ацетон				Циклогексан + изопропанол				
2	0.27	280	2.25	2	0.26	1920	2.11	1640
4	0.54	640	2.51	4	0.52	2500	2.14	1860
8	1.09	1200	2.95	8	1.05	2900	2.25	1700
20	2.70	1830	4.87	20	2.62	3430	3.48	1600
40	5.40	2070	8.40	40	5.24	3680	6.49	1610

Проанализируем спектры флуоресценции лаурдана в смесях (рис. 5). При увеличении изопропанола в смеси больше 8 % происходит смещение полосы в спектре за счет возрастания диэлектрической проницаемости (табл. 3). Дальнейшее изменение концентрации изопропанола приводит к насыщению сольватной оболочки изопропанолом, что наглядно проявляется в спектрах второй производной. Таким образом, метод второй производной эффективен при изучении процессов пересольватации молекулы в бинарных смесях.

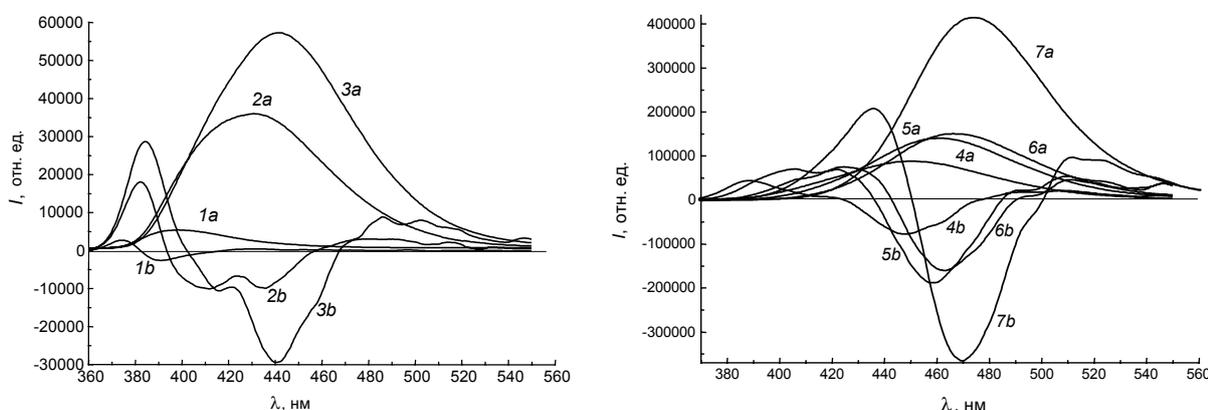


Рис. 5. Спектры флуоресценции лаурдана в смеси циклогексан + изопропанол (%): кр. 1a – 0 %; кр. 2a – 2 %; кр. 3a – 4 %; кр. 4a – 8 %; кр. 5a – 20 %; кр. 6a – 40 %; кр. 7a – 100 %; кр. 1b, 2b, 3b, 4b, 5b, 6b, 7b – соответствующие вторые производные спектроскопии

Сравнение спектральных характеристик лаурдана в смесях (смещение полосы относительно циклогексана) выбранных двух пар растворителей (циклогексан + ацетон, циклогексан + изопропанол) позволяет выделить вклад диполь-дипольных взаимодействий и водородной связи в смещение полосы флуоресценции (табл. 3). При этом смещение полосы за счет водородной связи составляет 1600–1860 см⁻¹. Смещение полосы флуоресценции для пар гомогенных растворителей с близкими значениями ϵ составляет: ацетон – изопропанол – 1250 см⁻¹, ацетон – этанол – 1860 см⁻¹, ацетонитрил – метанол – 2000 см⁻¹. При этом параметр SA спиртов имеет значение 0.283, 0.400 и 0.605 (см. табл. 1). Приведенные данные показывают, что оценку вклада водородной связи в смещение полос флуоресценции следует изучать в бинарных смесях при малых добавках второй компоненты.

Разгорание флуоресценции (рис. 5) лаурдана в смесях наблюдается как в случае диполь-дипольных взаимодействий, так и в случае образования водородной связи. При этом интенсивность флуоресценции с увеличением концентрации изопропанола изменяется в 16 раз, ацетона – в 6 раз относительно циклогексана. Причина разгорания флуоресценции остается невыясненной. Для описания влияния межмолекулярных взаимодействий растворителя на процессы внутренней и интеркомбинационной конверсии необходимо теоретическое рассмотрение комплексов лаурдан – протондонорный растворитель и лаурдан – протонакцепторный растворитель.

Для ряда ароматических карбоксильных соединений нижним состоянием является состояние $\pi\pi^*$ -типа. И при образовании водородной связи наблюдается инверсия состояний. За счет этого идет разгорание флуоресценции [23]. В нашем случае (табл. 4) разница в энергии состояний $\pi\pi^*$ и $\pi\pi^*$ составляет 4000 см^{-1} , поэтому инверсии состояний не происходит.

Таблица 4

Результаты расчета положений энергетических уровней лаурдана в основном состоянии для плоской структуры и с поворотом, выполненные в рамках метода TDDFT/B3LYP в циклогексане (в рамках модели IEFPCM)

Состояние		Плоская	$C_9-C_{12}-C_{13}-C_{15}$	$C_{21}-C_{22}-C_{23}-C_{24}$
Основное	S_1	27150 $\pi\pi^*$	27200 $\pi\pi^*$	25100 $\pi\pi^*$
	S_2	30040 $\pi\pi^*$	29860 $\pi\pi^*$	28950 $\pi\pi^*$
Возбужденное	S_1	24880 $\pi\pi^*$	25240 $\pi\pi^*$	24780 $\pi\pi^*$
	S_2	28860 $\pi\pi^*$	28870 $\pi\pi^*$	28860 $\pi\pi^*$

Заключение

В работе проведено экспериментальное и квантово-химическое исследование особенностей флуоресценции молекулы лаурдана в гомогенных и бинарных смесях растворителей. Показано:

- 1) Полоса флуоресценции лаурдана является сложной в гомогенных растворителях (гексане, циклогексане, тритоне). В спектрах второй производной первая полоса проявляется в виде четкого минимума, вторая – в виде перегиба. В протондонорных растворителях вторая полоса практически отсутствует. Считаем, что метод второй производной спектроскопии в интерпретации экспериментального спектра флуоресценции более надежен, чем гауссово приближение.
- 2) Влияние протонных растворителей на смещение полосы флуоресценции проведено как с учетом диполь-дипольных взаимодействий, так и с образованием Н-связи.
- 3) Природа сольватационных эффектов молекулы лаурдана определяется свойствами растворенного вещества (изменение дипольного момента в растворителях тетрагидрофуран, метанол, ацетон, этанол, циклогексан в диапазоне 7.5–9 D для основного и 15–19D для возбужденного состояний) и параметрами кислотности и основности растворителя.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Добрецов Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. – М.: Мир, 1989. – 500 с.
2. Titova T.Yu., Artyukhov V.Ya., Zharkova O.M., and Morozova Ju.P. // Spectrochim. Acta Part A. – 2014. – V. 124. – P. 64–69.
3. Морозова Ю.П., Жаркова О.М., Балакина Т.Ю. и др. // Изв. вузов. Физика. – 2011. – Т. 54. – № 5. – С. 79–84.
4. Brozis M., Tomin V.I., and Heldt J. // Chem. Phys. – 2003. – V. 58a. – P. 109–117.
5. Жаркова О.М., Морозова Ю.П., Титова Т.Ю. и др. // Изв. вузов. Физика. – 2013. – Т. 56. – № 5. – С. 75–85.
6. Vequi-Suplicy Cíntia C., Coutinho Kaline, and Teresa Lamy M. // Biophys. Rev. – 2014. – V. 6. – No. 1. – P. 63–74.
7. Брозис М., Томин В.И., Хелд Ю. // Журн. прикл. спектр. – 2002. – Т. 69. – № 5. – С. 589–591.
8. Brozis M., Kozyra K.A., Tomin V.I., and Heldt J. // J. Appl. Spectrosc. – 2002. – V. 69. – No. 3. – P. 480–483.
9. Морозова Ю.П., Жаркова О.М., Балакина Т.Ю., Артюхов В.Я. // Журн. прикл. спектр. – 2009. – Т. 76. – № 3. – С. 334–341.
10. Шмидт В. Оптическая спектроскопия для химиков и биологов. – М.: Техносфера, 2007. – 368 с.
11. <http://skif.tsu.ru>
12. Grimme S. and Neese F. // J. Chem. Phys. – 2007. – V. 127. – P. 154116–154128.
13. Li H., Pomelli C.S., and Jensen J. H // Theor. Chem. Accounts. – 2003. – V. 109. – P. 71–84.

14. Schmidt M.W., Baldrige K.K., Boatz J.A., et al. // J. Comput. Chem. – 1993. – V. 14. – P. 1347–1363.
15. Catalan J. // J. Phys. Chem. B. – 2009. – No. 113. – P. 5951–5960.
16. Гордон А., Форд Р. Спутник химика. – М.: Мир, 1976. – 541 с.
17. Лакович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии. – М.: Мир, 1986. – 496 с.
18. Weber G. and Farris F.G. // Biochemistry. – 1979. – V. 18. – No. 14. – P. 3075–3078.
19. Jozefowicz M., Kozyra K.A., Heldt J.R., and Heldt J. // Chem. Phys. – 2005. – V. 320. – P. 45–53.
20. Казаченко Л.П. Молекулярная спектроскопия жидкостей. – Минск : Изд-во Белорус. ун-та, 1978. – 176 с.
21. Свердлова О.В. Электронные спектры в органической химии. – Л.: Химия, 1985. – 248 с.
22. Ахадов В.Ю. Диэлектрические свойства бинарных растворов. – М.: Наука, 1977. – 400 с.
23. Барлтруп Дж., Кайл Дж. Возбужденные состояния в органической химии. – М.: Мир, 1978. – 167 с.

Национальный исследовательский Томский государственный университет,
г. Томск, Россия

Поступила в редакцию 22.06.15,
после доработки – 04.12.15.

Титова Татьяна Юрьевна, к.ф.-м.н., ассистент каф. оптики и спектроскопии, мл. науч. сотр. лаб. фотофизики и фотохимии молекул, e-mail: tatyana.yu.titova@gmail.com;

Морозова Юлия Петровна, к.ф.-м.н., ведущ. инженер каф. оптики и спектроскопии, e-mail: morj69@mail.ru;

Королёв Борис Владимирович, ведущ. электроник каф. оптики и спектроскопии, e-mail: bvk@phys.tsu.ru.