

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ УКРАИНЫ
Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина

На правах рукописи

КИРИЧЕНКО АЛЕКСАНДР ВАСИЛЬЕВИЧ



УДК 544.1+544.3+544.4+544.7

**ДИНАМИКА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В
ЭЛЕКТРОННО-ВОЗБУЖДЕННЫХ МОЛЕКУЛАХ,
НАНОРАЗМЕРНЫХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ:
ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ И КОМПЬЮТЕРНОЕ
МОДЕЛИРОВАНИЕ**

02.00.04 - физическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени доктора химических наук

Научный консультант

Дорошенко Андрей Олегович

доктор химических наук,

профессор

ХАРЬКОВ – 2017

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ	7
ВВЕДЕНИЕ	11
РАЗДЕЛ 1	
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ЭЛЕКТРОННО-ВОЗБУЖДЕННЫХ МОЛЕКУЛАХ, НАНОРАЗМЕРНЫХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ (Литературный обзор)	30
1.1 Фотофизика азотсодержащих гетероциклических соединений	30
1.2 Селективная лазерная спектроскопия высокого разрешения в условиях матричной изоляции при низкой температуре	39
1.3 Теоретические методы установления структуры сайтов внедрения примесных молекул в матрицу из инертных газов	42
1.4 Внутримолекулярный перенос энергии электронного возбуждения в системах донор-мостик-акцептор	45
1.4.1 Индуктивно-резонансный механизм переноса энергии	47
1.4.2 Обменно-резонансный механизм переноса энергии	48
1.4.3 Роль мостикового хромофора в процессе переноса энергии электронного возбуждения в системах донор-мостик-акцептор	49
1.4.4 Практическое применение систем с переносом энергии в оптоэлектронных наноматериалах	51
1.5 Физико-химические свойства, строение и молекулярное моделирование наночастиц благородных металлов	52
1.6 Локализация флуоресцентных маркеров и зондов в липидной мембране	56
1.6.1 Методы оценки мембранной локализации флуоресцентных зондов по глубинно-зависимому тушению флуоресценции	60
1.6.2 Применение распределительного анализа глубинно-зависимого тушения флуоресценции в медико-биологических исследованиях	64
Выводы к Разделу 1	66

РАЗДЕЛ 2

МАТЕРИАЛЫ, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ	67
2.1 Материалы и приготовление образцов	67
2.2 Спектральные измерения	67
2.2.1 Электронная абсорбционная спектроскопия	67
2.2.2 Флуоресценция при стационарном возбуждении	67
2.2.3 Флуоресценция при импульсном возбуждении	67
2.2.4 Лазерно-индуцированная флуоресценция в условиях сверхзвуковой струи	68
2.2.5 Спектроскопия кругового дихроизма	68
2.3 Метод низкотемпературной изоляции в матрице инертных газов	68
2.4 Методика расчета размеров наночастиц по электронным спектрам поглощения	69
2.5 Методика расчета коэффициента распределения в системе вода- липидный бислой	69
2.6 Распределительный анализ глубинно-зависимого тушения флуоресцентного зонда в липидном бислое	70
2.7 Квантово-химические расчеты	71
2.8 Молекулярно-динамическое моделирование	72
2.8.1 Силовое поле поливинилового спирта	72
2.8.2 Силовое поле наночастицы серебра	72
2.8.3 Силовое поле НЧЗ-pHLIP	74
2.8.4 Расчет потенциала средней силы	75
Выводы к Разделу 2	76

РАЗДЕЛ 3

ФОТОНИКА АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ ИНДОЛЬНЫЕ, ПИРРОЛЬНЫЕ, ПИРИДИНОВЫЕ И ХИНОЛИНОВЫЕ ЦИКЛЫ	77
3.1 Тушение флуоресценции производных 2-пиридилиндола в спиртовых и водных растворах	78
3.1.1 Флуориметрическое определение ККМ при помощи производных 2-пиримидилиндола	88
3.2 Фотоиндуцированный перенос протона в производных пирролохинолина и пиридокарбазола в спиртовых растворах	90
3.3 Строение изолированных водородосвязанных комплексов 1 <i>H</i> -пирроло[3,2- <i>h</i>]хинолина с молекулами спирта и воды	104
3.3.1 Комплексы 1 <i>H</i> -пирроло[3,2- <i>h</i>]хинолина с метанолом	105
3.3.2 Комплексы 1 <i>H</i> -пирроло[3,2- <i>h</i>]хинолина с водой	118
3.4 Молекулярно-динамическое моделирование сольватационной динамики азотсодержащих гетероциклических соед. 3.6-3.8	124
3.5 Механизм фотоиндуцированного двойного переноса протона в 1 <i>H</i> -пирроло[3,2- <i>h</i>]хинолине	133
Выводы к Разделу 3	140

РАЗДЕЛ 4

ФОТОИНДУЦИРОВАННЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ПОРФИЦЕНАХ, ПОРФИРИНАХ И ИХ ДИАДАХ	143
4.1 Электронная абсорбционная и колебательная спектроскопия высокого разрешения порфиринов и порфиценов в низкотемпературных матрицах инертных газов	144
4.2 Методика МД моделирования внедрения молекулы “гостя” в кристаллическую решетку низкотемпературной матрицы аргона и ксенона	154
4.3 МД моделирование сайтов включения порфирина и порфицена в низкотемпературную матрицу аргона и ксенона	160

4.4	Компьютерное моделирование электронных и колебательных спектров порфирина и его изомеров в низкотемпературной матрице ксенона	173
4.5	Перенос энергии электронного возбуждения в диадах порфирина ·	181
4.5.1	Выбор объектов исследования синглет-синглетного переноса энергии	182
4.5.2	Синглет-синглетный перенос энергии электронного возбуждения в порфириновых системах донор-мостик-акцептор ...	186
4.5.2.1	Индуктивно-резонансный перенос энергии в системах ZnПФ–мостик–H ₂ ПФ и Zn(Py)ПФ–мостик–H ₂ ПФ	193
4.5.2.2	Обменно-резонансный перенос энергии в системах ZnПФ–мостик–H ₂ ПФ и Zn(Py)ПФ–мостик–H ₂ ПФ	195
4.5.2.3	Квантово-химический анализ электронного сопряжения в симметричных димерах ZnПФ–nB–ZnПФ и H ₂ ПФ–nB–H ₂ ПФ ·	200
4.5.3	Триплет-триплетный перенос энергии электронного возбуждения в порфириновых системах донор-мостик-акцептор ...	207
4.5.3.1	Объекты исследования триплет-триплетного переноса энергии	208
4.5.3.2	Спектры и кинетика триплет-триплетного поглощения 5,15-диарил-октаалкил порфиринов	210
4.5.3.3	Строение стерически затрудненных 5,15-диарил-октаалкил порфиринов в состоянии S ₀ и T ₁	216
4.5.3.4	Механизм дезактивации состояния T ₁ в стерически затрудненных 5,15-диарилоктаалкил порфиринах	224
4.5.3.5	Влияние температуры и вязкости растворителя на константу скорости триплет-триплетный перенос энергии в димерах порфирина	226
4.5.3.6	Квантово-химический анализ конформационно-контролируемого дальнего действующего триплет-триплетного переноса энергии в димерах порфирина	236
	Выводы к Разделу 4	243

РАЗДЕЛ 5

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА и СЕРЕБРА	246
5.1 Поверхностно-функционализированные наночастицы золота	246
5.1.1 Наночастицы золота, функционализированные додекан- тиолом	246
5.1.2 Нанозолото, декорированное пептидом pHLP	258
5.2 Поверхностно-функционализированные наночастицы серебра	268
5.2.1 Наночастицы серебра с покрытием поливинилпирролидона ..	268
5.2.2 Наночастицы серебра с покрытием поливинилового спирта ..	280
Выводы к Разделу 5	287

РАЗДЕЛ 6

ФОТОНИКА И КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В БИОЛИГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ	289
6.1 Локализация флуоресцентных зондов в липидном бислое	289
6.1.1 2-[2'-(4',6'-Диметил-пиримидил)]индол и 2-(2'-пиридил)-5- метииндол	290
6.1.2 2,6-Бис(1 <i>H</i> -бензимидазол-2-ил)пиридин	299
6.1.3 Октиловый эстер аминокислоты триптофан	307
6.1.4 Родамин-ФЭ	310
6.2 МД моделирование парамагнитных фосфолипидных тушителей в липидным бислое	313
6.3 Калибровка глубинно-зависимого тушения флуоресценции NBD- PE в липидном бислое парамагнитными фосфолипидными тушителями	328
6.4 Мембранная топология транслокационного домена дифтерийного токсина	338

6.5 Мембранная топология домена гликопротеина gp41 вируса иммунодефицита человека	342
Выводы к Разделу 6	348
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	351
СПИСОК АВТОРСКИХ ПУБЛИКАЦИЙ	357
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ЛИТЕРАТУРНЫХ ПЕРВО- ИСТОЧНИКОВ	371

СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ

АКФ	– автокорреляционная функция
БУВ	– большие униламелярные везикулы
БУВ 25ФХ:75ФГ	– большие униламелярные везикулы, содержащие 25 молярных % фосфатидилхолина и 75 молярных % фосфатидилглицерола
БУВ 75ФХ:25ФГ	– большие униламелярные везикулы, содержащие 75 молярных % фосфатидилхолина и 25 молярных % фосфатидилглицерола
БУВ 90ФХ:10ХЛ	– большие униламелярные везикулы, содержащие 90 молярных % фосфатидилхолина и 10 молярных % холестерина
ВЗМО	– высшая занятая молекулярная орбиталь
ВС	– водородная связь
ВСК	– водородосвязанный комплекс
ВМВС	– внутримолекулярная водородная связь
ГЦКР	– гранецентрированная кубическая решетка
ДМСО	– диметилсульфоксид
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДПП	– двойной перенос протона
ИК-спектроскопия	– инфракрасная спектроскопия
НВМО	– низшая вакантная молекулярная орбиталь
Н-комплекс	– комплекс с водородной связью
НЧЗ	– наночастица золота
НЧС	– наночастица серебра
КД	– круговой дихроизм
ККМ	– критическая концентрация мицеллообразования

ЛИФ	– лазерно-индуцированная флуоресценция
МД	– молекулярная динамика
МНК	– метод наименьших квадратов
ММВС	– межмолекулярная водородная связь
ПВС	– поливиниловый спирт
ПВП	– поливинилпирролидон
ПС	– полистирол
ПСС	– потенциал средней силы
ПЭМ	– просвечивающая электронная микроскопия
РА	– распределительный анализ
РСА	– рентгеноструктурный анализ
Родамин-ФЭ	– 1,2-дипальмитоил- <i>sn</i> -глицеро-3-фосфоэтаноламин- <i>N</i> -сульфородамин-В
ССПЭ	– синглет-синглетный перенос энергии
ТДДТ	– транслокационный домен дифтерийного токсина
ТТПЭ	– триплет-триплетный перенос энергии
ФГ	– фосфатидилглицерол
ФДТ	– фотодинамическая терапия
ФКС	– флуоресцентная корреляционная спектроскопия
ФРПЭ	– фёрстеровский резонансный перенос энергии
ФРР	– функция радиального распределения
ФПП	– фотоперенос протона
ФС	– фосфатидилсерин
ФХ	– фосфатидилхолин
ЭПР	– электронный парамагнитный резонанс
ЯМР	– ядерный магнитный резонанс
Φ _{МК}	– доля мембранно-компетентной формы протеина
GROMACS	– программный пакет для молекулярно-динамического

	моделирования
H ₂ ПФ	– 5,15-диарил-2,8,-12,18-тетраэтил-3,7,13,17-тетраметилпорфирин
DFT	– теория функционала плотности (<i>от англ. Density Functional Theory</i>)
MPER	– M embrane P roximal E ctodomain R egion
pHLIP	– pH чувствительный пептид (<i>от англ. pH Low Insertion Peptide</i>)
TCSPC	– T ime- C orrelated S ingle P hoton C ounting
TD-DFT	– нестационарная теория функционала плотности (<i>от англ. Time Dependent Density Functional Theory</i>)
TOE	– октиловый эстер аминокислоты триптофан (<i>от англ. Tryptophan Octyl Ester</i>)
ZnПФ	– цинк(II) 5,15-диарил-2,8,-12,18-тетраэтил-3,7,13,17-тетраметилпорфирин

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Полиядерные азотсодержащие гетероциклические системы, на основе пиррола, индола, пиридина и хинолина, находят широкое практическое применение в качестве активных сред в методах оптической обработки и хранения информации, флуоресцентных красителей, зондов, маркеров, фотосенсибилизирующих агентов в фотодинамической терапии раковых заболеваний. Перечисленные гетероциклы являются перспективными в медико-биологических исследованиях, поскольку являются структурными аналогами триптофановых остатков белков и азотистых оснований, составляющих основу природных нуклеотидов. Тетрапиррольные производные: порфирины, металлопорфирины и их структурные аналоги лежат в основе растительных фотосинтетических пигментов, таких как хлорофилл и феофитин, поэтому изучение их фотоники открывает новые возможности для моделирования физико-химических процессов, наблюдаемых в реакционном центре фотосинтезирующих организмов. Супрамолекулярные ансамбли на основе производных порфирина находят применение при создании систем искусственного фотосинтеза. Полиядерные π -сопряженные системы на основе порфирина являются перспективными соединениями для компонентов молекулярной оптоэлектроники (молекулярные проводы, переключатели, транзисторы и антенны), элементы которой должны быть намного меньше по размеру, чем кремниевой.

Изучение фотоиндуцированных физико-химических процессов, таких как перенос протона, электрона или энергии, в сочетании с методами компьютерной химии позволяет расширить возможности целенаправленного дизайна и прогнозирования свойств новых полиядерных азотсодержащих систем. Фотоперенос протона в бифункциональных производных пиридин-индола, медиатором которого выступают молекулы протонного растворителя, является прототипом фотохимических процессов в комплементарных,

дважды водородосвязанных гетеродимерах азотистых оснований. Поэтому, исследование динамики и механизма первичных и вторичных фотопроцессов в ВСК производных 2-пиридилиндола и пирролохинолина представляет интерес с точки зрения установления механизмов физико-химических процессов, приводящих в конечном итоге к фотоповреждению ДНК, т.е. к изменению химической и пространственной структуры этой макромолекулы под воздействием ультрафиолетового излучения. Изучение переноса протона с участием молекул воды представляет интерес для выявления последовательности фотоиндуцированных процессов в зеленом флуоресцентном белке и фотосинтетическом пигменте бактериородопсине, а также в ряде других интегральных мембранных белков, выполняющих роль протонного насоса в клетках живых организмов. Физико-химические принципы дальнего действующего переноса энергии электронного возбуждения в диадах порфирина определяют возможность практического применения их как компонентов молекулярной наноэлектроники.

В последнее время особый интерес вызывают гибридные органо-неорганические наноматериалы на основе наночастиц благородных металлов, которые применяются в нанохимии и наномедицине в качестве контрастирующих агентов и средств адресной доставки лекарственных препаратов. Методы компьютерного моделирования позволяют предсказать строение различных конъюгатов наночастиц золота и серебра с синтетическими полимерами и полипептидами биологического происхождения, что обеспечивает теоретическое обоснование синтеза новых наноматериалов, обладающих прогнозируемыми физико-химическими свойствами.

Принимая во внимание значительный потенциал флуоресцентных зондов и маркеров в медико-биологических исследованиях и мембранной биофизике, комплексное применение методов флуоресцентной спектроскопии и компьютерного молекулярно-динамического моделирования таких систем представляет научный и практический интерес.

Связь работы с научными программами, планами, темами.

Диссертационная работа является частью плановых научных исследований, проводившихся в течение последних лет в отделе физико-органической химии НИИ химии и на кафедре неорганической химии химического факультета Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина в рамках госбюджетных тем: «*Фотоніка органолюмінофорів з поширенням Стоксовим зсувом флуоресценції – люмінесцентних зондів нового типу*» (№ гос. регистрации 0199U004432), «*Внутрішньомолекулярний водневий зв'язок та перенос протона у збудженому стані в молекулах-флуорофорах*» (№ гос. регистрации 0101U002779), «*Органічні полігетероциклічні люмінесцентні сполуки для потреб біологічно орієнтованого аналізу*» (№ гос. регистрации 0107U000662), «*Молекулярні системи з фотопереносом протону і заряду як основа для створення сенсорних матеріалів*» (№ гос. регистрации 0110U000582), «*Моделювання та створення нанокон'югантів для фармацевтичного застосування*» (№ гос. регистрации 0113U002426) и «*Наносистеми та нановпорядковані матеріали: дизайн, фізико-хімічні характеристики, оптимізація умов використання у високих технологіях, медицині, аналізі*» (№ гос. регистрации 0116U000834). В перечисленных научно-исследовательских работах диссертант был исполнителем. Часть исследований Главы 3 выполнена в рамках индивидуального гранта NATO Science fellowship «*Relationship between structure and photophysics of H-bonded complexes of azaaaromatic compounds*». Часть исследований выполнена в рамках проекта Швейцарского научного фонда по программе SCOPES 2009-2012 № IZ73Z0_127864 «*Design, synthesis and photophysical investigations of self organized nanoassemblies of noble metal nanoparticles and organic luminophores – new materials for optical devices, bio- and chemo-sensors*». Некоторые исследования проведены совместно с проф. А. Ладохиным (кафедра биохимии Медицинского центра университета штата Канзас, г. Канзас-Сити, США) в рамках грантов Национального института здоровья США GM-069783 и GM-069783-S1 «*pH-*

Triggered membrane insertion of proteins». Результаты главы 4 получены в сотрудничестве с кафедрой физической химии Технологического университета Чалмерса (проф. Б. Албинссон, г. Гетеборг, Швеция) и с отделом спектроскопии Института физической химии Польской академии наук (проф. Я. Валюк, г. Варшава, Польша).

Цель и задачи исследования. Целью данной работы является развитие физико-химических основ решения актуальной научной проблемы – разработки концепции электронного строения, электронных взаимодействий и внутримолекулярных электронных процессов в азотсодержащих гетероциклических полиядерных системах на основе пиррола, индола, пиридина, хинолина, порфирина и его металлокомплексов, которая позволит с единых позиций анализировать фотофизические и фотохимические процессы переноса протона с участием молекул протонного растворителя, а также синглет-синглетного и триплет-триплетного переноса энергии электронного возбуждения в диадах порфирина, медиатором которого служит мостиковый хромофор. Решение этой проблемы включает ряд задач: (i) Теоретическую интерпретацию оптических спектров ансамбля примесных центров порфирина и его производных, изолированных в низкотемпературной матрице аргона и ксенона в терминах дискретных сайтов внедрения. (ii) Молекулярно-динамическое моделирование структуры гибридных органо-неорганических материалов на основе наночастиц благородных металлов и их конъюгатов с органическими лигандами, полимерами и биомолекулами. (iii) Повышение точности определения области локализации флуоресцентных зондов, флуоресцентных липидов и парамагнитных липидных тушителей в липидной мембране путем усовершенствования существующих подходов, внедрения новых методов анализа глубинно-зависимого тушения флуоресценции и разработки методов компьютерного прогнозирования.

Решение поставленных задач включает:

1. По данным методов электронной абсорбционной и флуоресцентной спектроскопии при стационарном и импульсном возбуждении для ряда производных 2-(2'-пиридил)индола и 1*H*-пирроло[3,2-*h*]хинолина в растворителях различной природы установление механизма тушения и природы длинноволновой полосы флуоресценции в спиртовых и водных растворах, а именно:

а) выявление физико-химических закономерностей и свойств среды (полярность, кислотность/основность, вязкость, температура), влияющие на двухполосную флуоресценцию 1H-пирроло[3,2-h]хинолина в спиртовых растворах.

б) установление структуры и стехиометрии водородосвязанных комплексов 1H-пирроло[3,2-h]хинолина с молекулами протонных растворителей с применением техники вакуумной изоляции в молекулярном пучке и время-пролетной масс-спектрометрии в сочетании с ИК-УФ спектроскопией, техникой выжигания спектральных провалов и квантово-химическими расчетами.

*в) молекулярно-динамическое моделирование сольватационной динамики ряда бифункциональных азотсодержащих гетероциклических систем в метаноле, воде и в неполярном *n*-гексане с протонодонорными добавками (вода, метанол) с целью выяснения структуры, стехиометрического состава и популяции водородосвязанных комплексов.*

г) методами квантовой химии (DFT/TD-DFT) установить строение и оценить стабильность водородосвязанных комплексов 1H-пирроло[3,2-h]хинолина с молекулами воды и метанола различного стехиометрического состава в основном состоянии S_0 и в электронно-возбужденном состоянии S_1 . Оценить термодинамические характеристики реакции фототаутомеризации, а именно, строение и энергию нормальной формы,

таутомера, переходного состояния между ними, а также энергию активации переноса протона с пиррольной группы N-H на пиридиновый атом азота для изолированной молекулы 1*H*-пирроло[3,2-*h*]хинолина и ее комплексов с молекулами воды.

2. *Установление* природы электронных и колебательных тонкоструктурных спектров порфирина, порфицена и его производных в низкотемпературной матрице инертного газа с использованием спектроскопии высокого разрешения (ИК-спектроскопия, спектроскопия селекции сайтов и выжигания провалов).

3. *Разработку* метода компьютерного прогнозирования спектральных параметров молекулы “гостя” в низкотемпературной матрице инертного газа, который позволит:

а) на основе молекулярно-динамического моделирования *воспроизвести* условия внедрения молекулы “гостя” в матрицу инертного газа, *оценить* количество возможных дискретных сайтов внедрения, их структуру и статистическую вероятность формирования каждого индивидуального сайта в матрице.

б) *разработать* комплексный подход, сочетающий молекулярно-динамическое моделирование и квантово-химические расчеты, к теоретическому описанию электронных и колебательных спектров молекулы “гостя”, внедренной в полость сайта в кристаллической решетке матрицы.

4. Анализ электронных спектров, фотофизических свойств и констант скорости синглет-синглетного и триплет-триплетного переноса энергии электронного возбуждения в диадах порфирина Д-М-А, состоящих из 5,15-ди-мезо-арил-октаалкил цинк (II) порфирина-донора (Д), связанного ковалентно с 5,15-ди-мезо-арил-октаалкил порфирином-акцептором (А) через мостиковый хромофор (М), который включает:

а) *оценку* физико-химических характеристик мостикового хромофора (пространственное строение, конформация, размер хромофорной системы,

вклад σ - и π -сопряжения, энергия нижних возбужденных состояний S_1 и T_1) влияющих на перенос энергии и *установление* электронных факторов, определяющих трансмиссионные характеристики мостика. Экспериментальное *определение* эффективности переноса энергии.

б) *усовершенствование* методики оценки физико-химических параметров на основе квантово-химического метода TD-DFT (электронное сопряжение, граничные орбитали, энергия нижнего возбужденного состояния), позволяющую *рассчитывать* эффективность дальнедействующего синглет-синглетного и триплет-триплетного переноса энергии в полихромных системах.

5. *Разработку* молекулярно-динамического аппарата, позволяющего в рамках единого подхода *описывать* строение гибридных органо-неорганических материалов на основе наночастиц серебра и золота в нулевых степенях окисления и их конъюгатов с додекантиолом, органическими полимерами (поливинилпирролидоном, поливиниловым спиртом) и рН-чувствительным пептидом рНЛIP. *Валидация* теоретических моделей путем сопоставления расчетных характеристик с экспериментально наблюдаемыми (снимки просвечивающего электронного микроскопа, электронные спектры резонансно-индуцированного поглощения, тушение триптофановой флуоресценции рНЛIP).

6. *Применение* методов флуоресцентной спектроскопии при стационарном и импульсном возбуждении для *оценки* динамики, физико-химических и термодинамических параметров взаимодействия с липидными мембранами, для повышения точности определения области локализации флуоресцентных зондов, липидных флуоресцентных маркеров и парамагнитных спиновых меток, а именно:

а) *оценить* термодинамические параметры распределения в системе липидный бислой/вода ряда флуоресцентных соединений на основе 2-пиридилиндола и 2-пиримидилиндола с использованием метода флуориметричес-

кого титрования. Молекулярно-динамическое моделирование этих систем с целью установления области локализации указанных флуорофоров в модельном липидном бислое.

б) *усовершенствовать* методику молекулярно-динамического моделирования потенциала средней силы для расчета профиля энергии Гиббса проникновения небольших органических и биологических молекул сквозь липидный бислой, которая: (i) *повысит* точность определения области локализации и (ii) *позволит прогнозировать* термодинамику распределения в системе липидный бислой/вода для широкого круга фармацевтических и лекарственных препаратов.

в) молекулярно-динамическое моделирование ряда флуоресцентных липидных маркеров и зондов в липидном бислое с целью выяснения их структурно-динамических характеристик в мембране и роль углеводородного радикала как “якоря” для фиксации зонда в мембране.

г) молекулярно-динамическое моделирование ряда парамагнитных (нитроксильных) фосфолипидных тушителей ТЕМПО-ФХ и серии *n*-доксил-ФХ (где $n = 5, 7, 10, 12, 14$ – положение метки в стеариновой цепи), встроенных в фосфолипидный бислой, с целью *установления* глубины погружения парамагнитной метки и *усовершенствования* экспериментальной шкалы, построенной ранее методом электронного парамагнитного резонанса.

д) *разработка* методики реконструкции профиля “статического” глубинно-зависимого тушения флуоресцентных зондов в мембране. *Калибровка* и валидация предложенной методики на примере мембранных пептидов и белков (гликопротеина gp41, входящего в состав вируса иммунодефицита человека; а также транслокационного домена дифтерийного токсина).

Объекты исследования – физико-химические процессы в электронно-возбужденных полиядерных азотсодержащих гетероциклических соединениях; строение и физико-химические свойства наночастиц благородных металлов, поверхностно-функционализированных органическими лигандами, полимерами и пептидами; структурно-динамические характеристики флуоресцентных зондов, липидных маркеров и парамагнитных меток, топология флуоресцентно-меченных пептидов и белков в биологических мембранах и модельных липидных бислоях.

Предмет исследования – динамика и механизм переноса протона в азотсодержащих гетероциклических соединениях на основе пиррола, индола, пиридина, хинолина, в которых медиатором выступают молекулы протонного растворителя; дальнодействующий синглет-синглетный и триплет-триплетный перенос энергии электронного возбуждения в диадах порфирина и металлопорфирина, ковалентно связанных мостиковым хромофором; физико-химические характеристики гибридных органо-неорганических материалов на основе наночастиц золота и серебра, функционализированных додекантиолом, поливинилпирролидоном, поливиниловым спиртом и рН-чувствительным пептидом рНЛР; строение и локализация в липидных мембранах органических флуорофоров, флуоресцентных липидов и парамагнитных нитроксильных липидных тушителей, мембранная топология флуоресцентно-меченных пептидов и белков.

Методы исследования. Электронная абсорбционная спектроскопия в УФ и видимой областях спектра, флуоресцентная спектроскопия при стационарном и импульсном возбуждении, флуоресцентная корреляционная спектроскопия, инфракрасная спектроскопия, спектроскопия кругового дихроизма. Трансмиссионная электронная микроскопия. Рентгеноструктурный анализ. Метод изоляции молекул в низкотемпературной матрице инертного газа и в сверхзвуковом молекулярном пучке. Спектроскопия селекции сайтов и выжигания спектральных провалов. Полуэмпирические (AM1, PM3) и неэмпирические (MP2, CC2)

методы квантовой химии. Стационарный и нестационарный метод функционала электронной плотности (DFT/TD-DFT) (программные пакеты HyperChem, GAUSSIAN, GAMESS, TURBOMOLE). Метод молекулярно-динамического моделирования (программные пакеты GROMOS96, GROMACS, NAMD и VMD).

Научная новизна полученных результатов.

1. Комплексное применение электронной абсорбционной спектроскопии, флуоресцентной спектроскопии при стационарном и импульсном возбуждении, в сочетании с молекулярно-динамическим моделированием и квантово-химическими расчетами позволило дополнить научные данные об электронной структуре основного S_0 и электронно-возбужденного состояния S_1 серии полиядерных азотсодержащих систем на основе пиррола, индола, пиридина и хинолина, их электронные спектры и кинетику затухания флуоресценции в жидких и замороженных растворах, а также в условиях вакуумной изоляции в сверхзвуковом молекулярном пучке. *Показано*, что для производных 1Н-пирроло[3,2-*h*]хинолина в спиртовых и водных растворах характерно появление новой длинноволновой полосы испускания, обусловленной реакцией фотоиндуцированного переноса протона. *Впервые показано*, что фотоперенос протона становится возможным в водородосвязанном комплексе флуорофора с одной молекулой воды, который имеет циклическую форму и формируется при помощи двух водородных связей, которые образуют мостик между пиррольной группой N-H и хинолиновым атомом нитрогена. Указанный комплекс является устойчивым в основном состоянии S_0 , в результате чего перенос протона, проходящий по цепочке водородных связей, не требует существенной перестройки сольватной оболочки, слабо зависит от вязкости растворителя и регистрируется даже в замороженных растворах. Установленный механизм переноса протона в молекуле 1Н-пирроло[3,2-*h*]хинолина отличается от общепринятого в литературе для классических систем 7-азаиндола и 7-азакарбазола, которые tradi-

ционно рассматриваются как прототип фотоиндуцированного мутагенеза в молекуле ДНК и в которых образование циклического Н-комплекса происходит за время жизни их электронно-возбужденного состояния.

2. *Обоснована целесообразность совместного применения* результатов лазерной спектроскопии высокого разрешения, техники выжигания спектральных провалов и методов компьютерной химии (молекулярно-динамическое моделирование и квантово-химические расчеты) для интерпретации сложных многополосных ИК и электронных спектров поглощения органических молекул, изолированных в низкотемпературной (10-60 К) матрице инертного газа, в терминах набора дискретных сайтов встраивания молекулы “гостя” в кристаллическую решетку матрицы. *Дополнены научные данные* о спектральных параметрах главных и второстепенных сайтов встраивания порфирина и порфицена в матрицу аргона и ксенона при 15 К. С применением молекулярно-динамического моделирования, которое воспроизводит процесс формирования матрицы, и соотнесения теоретических и экспериментальных ИК и электронных спектров поглощения установлено строение сайтов встраивания и впервые доказано, что при встраивании молекулы порфирина в твердый ксенон предпочтительно формируется сайт X(111), популяция которого составляет 55%.

3. Методами флуоресцентной спектроскопии при стационарном и импульсном возбуждении в сочетании с квантово-химическими расчетами *получили дальнейшее развитие* представления про зависимость между эффективностью синглет-синглетного переноса энергии (ССПЭ) в диадах порфирина **Д-М-А** и химической природой мостиковой группировки. *Установлено*, что константа скорости СПЭ электронного возбуждения может быть представлена в виде двух вкладов: (1) - универсального диполь-дипольного (ферстеровского) и (2) - обменно-резонансного ПЭ. В изученных диадах **Д-М-А** перенос энергии по обменно-резонансному механизму

составляет 40-60%, при этом мостиковый хромофор выполняет роль медиатора процесса энергии возбуждения. Установлено, что константа скорости ССПЭ зависит от величины энергетического зазора Д-М (ΔE_{DB}), который, в свою очередь, определяется строением и размерами мостиковой группировки. Обоснована целесообразность применения предложенного разделения ферстеровского и обменно-резонансного вкладов для прогнозирования эффективности дальнедействующего ССПЭ в различных полихромофорных системах.

4. С применением время-разрешенной спектроскопии триплет-триплетного поглощения на примере диад порфирина Д-М-А расширены научные представления про то, что природа мостиковой группировки определяет ее способность выполнять роль медиатора дальнедействующего триплет-триплетного переноса энергии (ТТПЭ) с порфирина-донора на порфирин-акцептор, что подтверждается высокой эффективностью ТТПЭ при участии π -сопряженных мостиков пара-фениленэтинилена и полным блокированием ТТПЭ в случае несопряженного мостика аналогичной длины.

5. С применением квантово-химических расчетов методом (TD-DFT) на примере симметричных диад порфирина усовершенствованна методика оценки слабого электронного сопряжения в трихромофорных системах Д-М-А и А-Д-А в электронно-возбужденных состояниях S_1 и T_1 , которая позволяет прогнозировать эффективность дальнедействующего синглет-синглетного и триплет-триплетного переноса энергии электронного возбуждения в различных слабосопряженных полихромофорных системах и биологических макромолекулах.

6. С применением кинетики триплет-триплетного поглощения доказано, что в серии стерически затрудненных 5,15-ди-мезо-арилоктаалкил порфиринов и их комплексов с ионами цинка (II) аномально короткое время жизни ($\tau_{T_1} < 80$ нс) электронно-возбужденного состояния T_1 обусловлено их

конформационной перестройкой, которая связана с переходом из конформации с плоским тетрапиррольным макроциклом в разуплощенную седловидную конформацию в форме седла. Установлено, что потеря планарности порфириновым макроциклом сопровождается понижением энергии триплетного состояния T_1 на 21-28 кДж/моль, что, в свою очередь, приводит к уменьшению энергетической разности $\Delta E(T_1-S_0)$ с основным состоянием S_0 и вызывает увеличение вероятности безызлучательной дезактивации по механизму интеркомбинационной конверсии $T_1 \rightsquigarrow S_0$ и, как следствие, сокращение времени жизни нижнего триплетного состояния T_1 молекулы 5,15-ди-мезо-арилоктаалкил порфирина.

7. Обоснована целесообразность совместного применения результатов флуоресцентных исследований и молекулярно-динамического моделирования для установления строения, локализации и глубины проникновения флуоресцентных липидных зондов и маркеров в липидной бислои. Впервые установлено, что октильный радикал в молекуле зонда **ТОЕ** (октиловый эстер аминокислоты триптофан) не влияет существенно на локализацию триптофанового флуорофора, который расположен на глубине 12-13 Å от центра бислоя, что соответствует глубине погружения молекулы незамещенного триптофана и его производных. Уточнены научные данные о локализации флуоресцентного липида **Родамин-ФЭ** в липидном бислое, в молекуле которого фосфатидилэтанола (ФЭ), который помечен сульфородаминовым флуорофором, способен зафиксировать и удерживать флуорофор на границе раздела вода-липид, при этом последний располагается в водной фазе на расстоянии 26-28 Å от центра бислоя.

Практическое значение полученных результатов.

1. *Предложен новый способ* определения и прогнозирования численных значений главных и второстепенных сайтов встраивания молекулы “гостя” в низкотемпературную кристаллическую матрицу инертного газа, который основан на на применении молекулярно-динамического моделирования и квантово-химических расчетов, что в совокупности позволяет: (i) *воспроизводить* динамику напыления матрицы на кристаллическую подложку и *моделировать* встраивание молекулы “гостя” в кристаллическую решетку матрицы, (ii) *предсказывать* число дискретных сайтов и статистическую вероятность формирования конкретного сайта встраивания, (iii) расчетным путем *оценивать* влияние матрицы на ИК и электронный спектр поглощения молекулы “гостя”.

2. На примере диад порфирина Д-М-А *предложен новый способ* разделения диполь-дипольного и обменно-резонансного вкладов константы скорости ССПЭ электронного возбуждения между цинк(II)-порфирином-донором и порфирин-акцептором, который может быть применен для прогнозирования ССПЭ в различных слабосопряжённых полихромофорных системах. Для ССПЭ в серии диад порфирина с мостиковым хромофором *пара*-фениленэтинил, в которых число фениленовых фрагментов варьируется от 2 до 5, *впервые установлен* аттеньюирующий фактор $\beta = 0.25 \text{ \AA}^{-1}$, что открывает возможность целенаправленного дизайна новых полихромофорных порфириновых систем с прогнозируемым дальнедействующим переносом энергии.

3. С применением результатов просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и электронных резонансно-индуцированных спектров поглощения *разработана* компьютерная молекулярно-динамическая модель наночастицы золота, поверхностно-функционализированной додекантиолом (НЧЗ-додекантиол), с диаметром от 1.4 нм до 3.8 нм, которая *позволяет*

прогнозировать строение наночастицы и соотношение между числом несвязанных атомов золота, входящих в состав неорганического ядра, и атомов, связанных с органическим лигандом. *Показано* практическое применение разработанных МД моделей НЧЗ-додекантиол для интерпретации ПЭМ снимков и установления структуры, упаковки и морфологии ансамбля НЧЗ-додекантиола, который адсорбирован на графитовой подложке.

4. Предложенная в работе МД модель наночастицы серебра, стабилизированной поливинилпирролидоном или поливиниловым спиртом в водном растворе, *позволяет* экстраполировать зависимость между экранирующим эффектом полимерного слоя и длиной полимерной цепи при помощи изотермы адсорбции Ленгмюра-Фрейндлиха, что *дает возможность* прогнозировать физико-химические характеристики полимерного покрытия при синтезе наночастиц серебра.

5. Усовершенствована методика МД расчета потенциала средней силы, описывающая профиль энергии Гиббса для проникновения флуоресцентного зонда сквозь липидный бислой, которая основана на одновременном и синхронном сканировании положения двух молекул зонда. Преимуществом разработанной методики является улучшенная оценка диапазона погрешности и гистерезиса системы, что *позволяет прогнозировать* термодинамику распределения в системе вода/мембрана для широкого ряда низкомолекулярных органических и биологических молекул, лекарственных и фармацевтических препаратов.

6. МД моделирование серии парамагнитных фосфолипидных тушителей, которая состоит из ТЕМПО-ФХ и ряда *n*-доксил-ФХ (где *n*=5, 7, 10, 12, 14 – положение метки в стеариновой цепи), встроенных в фосфолипидный бислой фосфатидилхолина, *позволило усовершенствовать* экспериментальную шкалу глубины погружения парамагнитной метки ТЕМПО и Доксил в липидную мембрану. Предложенная усовершенствованная шкала, которая служит теоретической основой для интерпретации результатов глубинно-

зависимого тушения флуоресценции в медико-биологических исследованиях, содержит шесть градуировочных точек и покрывает наибольший из существующих диапазон глубин от 2.9 Å до 18.2 Å от центра мембраны.

7. *Впервые разработана* процедура реконструкции профиля статического глубинно-зависимого тушения флуоресцентного зонда в липидной мембране, которая позволяет учитывать вклад диффузионно-зависимой динамической компоненты, что, по сравнению с существующими методиками, существенно уточняет диапазон вероятной локализации зонда. Предложенная процедура позволила: (а) *уточнить* топологическую модель мембранного встраивания транслокационного домена дифтерийного токсина и *установить* трансмембранную конфигурацию α -спиралей ТН8-ТН9 в его мембранно-встроенном состоянии при рН 5-6; (б) *впервые установить* формирование трансмембранной формы гидрофобного домена МРЕР гликопротеина gr41 вируса иммунодефицита человека, и *выяснить*, что при взаимодействии с липидной мембраной фосфатидилхолина МРЕР внедряется в липидный бислой в виде α -спирали.

8. Вследствие высокой спектральной чувствительности флуоресцентного сигнала 2-[2'-(4',6'-диметил-пиримидил)]индола к протонным растворителям *продемонстрирована возможность* его использования как нового флуоресцентного зонда для флуориметрического определения критической концентрации мицеллообразования Тритон X-100 и других неионогенных ПАВ.

Результаты исследования использованы в учебном процессе кафедры неорганической химии Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина при разработке новых специализированных курсов лекций “Теоретические методы исследования биологических мембран” и “Современные компьютерные методы изучения наноразмерных и биологических систем”.

Личный вклад соискателя. Анализ и систематизация литературных данных по теме диссертационной работы, формирование научного направления, выбор объектов исследования, постановка научного задания выполнены диссертантом лично. Планирование и проведение спектральных исследований, квантово-химических расчетов и молекулярно-динамического моделирования диссертант выполнял самостоятельно.

Автор выражает благодарность научному консультанту проф. А.О. Дорошенко (ХНУ им. В. Н. Каразина) за постановку задачи исследования строения наночастиц золота та участие в обсуждении результатов и подготовке диссертационной работы; проф. Я. Валуку (Институт физической химии ПАН, Варшава, Польша) за многолетнее сотрудничество, предоставление образцов порфиценов, приборов для спектральных исследований и оборудования низкотемпературной матричной изоляции; проф. А. Ладохину (Медицинский центр университета штата Канзас, Канзас-Сити, США) за многолетнее сотрудничество и предоставление современного спектрального оборудования для флуоресцентных исследований; проф. Б. Албинсону (Технологический университет Чалмерса, Гетеборг, Швеция) за предоставление спектрального оборудования и образцов диад порфиринов; проф. Р. Тхуммелу (Хьюстонский университет, Хьюстон, США) за синтез полиядерных азотсодержащих соединений; к.ф-м.н. Н. Роднину (Медицинский центр университета штата Канзас, Канзас-Сити, США) за помощь в сайт-селективном мутагенезе и флуоресцентном мечении транслокационного домена дифтерийного токсина; проф. О. Н. Калугину (ХНУ им. В. Н. Каразина) за помощь в постановке задач и планировании молекулярно-динамического моделирования наноразмерных систем; д.х.н. Е. А. Посохову (Национальный технический университет “ХПИ”, Харьков) за обсуждение результатов главы 6; докт. хаб. Ю. Степаненко (Институт физической химии ПАН, Варшава, Польша) и Е. Носенко (Технический университет Кайзерслаутерна, Кайзерслаутерн, Германия) за помощь в про-

ведении измерений и интерпретации результатов экспериментов в молекулярных сверхзвуковых пучках; докт. хаб. А. Горскому (Институт физической химии ПАН, Варшава, Польша) за помощь в проведении измерений в низкотемпературных матрицах инертных газов.

Некоторые результаты МД моделирования выполнены с использованием ресурсов компьютерного кластера НПО “Институт монокристаллов” и Института сцинтилляционных материалов НАН Украины, интегрированного в общенациональный проект ГРИД.

Апробация результатов диссертации. Основные результаты диссертации были представлены и обсуждались на международных научных съездах и конференциях: XVIII International symposium on molecular beams (Ameland, the Netherlands, 1999), XX International conference on photochemistry (Moscow, Russia, 2001), XVth International conference on Horizons in hydrogen bond research (Berlin, Germany, 2003), XXVII European congress on molecular spectroscopy (Krakow, Poland, 2004), XX IUPAC Symposium on Photochemistry (Granada, Spain, 2004), 16th IUPAB International Biophysical Congress (Long Beach, California USA, 2008), Biophysical Society 53rd Annual Meeting (Boston, Massachusetts, USA, 2009), Biophysical Society 54th Annual Meeting (San Francisco, USA, 2010) Biophysical Society 56th Annual Meeting (San Diego, California, USA, 2012), V Всеукраинской научной конференции студентов и аспирантов «Хімічні Каразінські читання» (Харьков, 2013), 245th American Chemical Society National Meeting, (New Orleans, Louisiana, USA, 2013), 5th International Symposium: Methods and Applications of Computational Chemistry, (Kharkiv, 2013), Biophysical Society 58th Annual Meeting (San Diego, California, USA, 2014), the 28th Annual Gibbs Conference on Biothermodynamics (Carbondale, Illinois, USA, 2014), XIX Українська конференція з неорганічної хімії (Одесса, 2014), Biophysical Society 59th Annual Meeting (Baltimore, Maryland, USA, 2015), The Biophysical Society 60th Annual Meeting (Los

Angeles, California, USA, 2016). 7th International Conference "Physics of Liquid Matter: Modern Problems" (Kyiv, 2016).

Публикации. Материалы диссертации опубликованы в **64** научных работах, среди которых **40** статей в специализированных научных изданиях (в т.ч. из них **37** статей в журналах с импакт-фактором, которые входят в наукометрическую базу данных Scopus), **24** тезиса докладов на специализированных отечественных и международных научных конференциях.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, экспериментальной части, шести глав, выводов, списка авторских публикаций и использованных литературных первоисточников из 505 наименований. Общий объем диссертации составляет 418 страниц, работа содержит 44 таблицы и 181 рисунок.

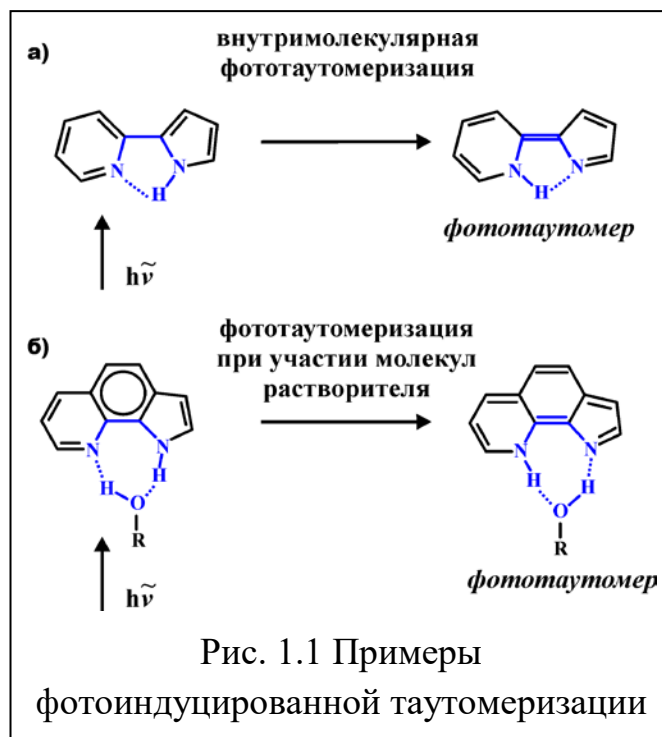
РАЗДЕЛ 1
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ЭЛЕКТРОННО-
ВОЗБУЖДЕННЫХ МОЛЕКУЛАХ, НАНОРАЗМЕРНЫХ И
БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ
(Литературный обзор)

Литературный обзор включает четыре подраздела. В первом из них рассмотрена фотофизика азотсодержащих гетероциклических соединений, в которых реализуется фотоиндуцированный перенос протона с участием молекул растворителя. Во втором подразделе рассмотрены экспериментальные методы изучения систем с переносом протона в условиях низкотемпературной матричной изоляции, показано влияние матрицы на спектральные характеристики и колебательную структуру электронных спектров, приведены данные об экспериментальных исследованиях матрично-изолированных производных порфирина и порфицена. В третьем подразделе обсуждены физико-химические процессы формирования наночастиц благородных металлов и представлен обзор современных компьютерных методов, позволяющих моделировать строение гибридных наноматериалов и органо-неорганических нанокомпозитов на основе наночастиц золота и серебра. В четвертом подразделе рассмотрены преимущества и недостатки совместного применения флуоресцентной спектроскопии и молекулярно-динамического моделирования для изучения взаимодействия флуоресцентных зондов и парамагнитных меток с липидными мембранами, а также приведен обзор экспериментальных методик определения глубины погружения зонда в мембрану методом тушения флуоресценции спиновыми метками.

1.1 Фотофизика азотсодержащих гетероциклических соединений

Водородная связь (ВС) играет ключевую роль во многих химических реакциях и биофизических процессах. Образование межмолекулярных водородных связей (ММВС) приводит к значительным изменениям физико-

химических характеристик азотсодержащих гетероциклических соединений, содержащих пиридиновые, хинолиновые или пиррольные циклы, способные выступать в качестве донора или акцептора водородной связи. Это феномен становится особенно актуальным в случае фотовозбуждения хромофора и его последующей релаксации в нижнее электронно-возбужденное состояние [1]. Известно, что некоторые реакции межмолекулярного переноса протона, реализуемые в растворе протонного растворителя являются диффузионно-контролируемыми. Процесс фотопереноса протона становится возможным в случае образования устойчивой внутри- или межмолекулярной водородной связи, которая сформировалась в основном электронном состоянии перед фотовозбуждением системы [2, 3]. Примеры азотсодержащих бифункциональных систем, в которых возможна внутримолекулярная фототаутомеризация, реализуемая непосредственно напрямую или с участием молекул растворителя показаны на рис. 1.1. В процессе фотоиндуцированной таутомеризации протон пиррольной группы N-H мигрирует к пиридиновому атому азота.



Феномен фотоиндуцированной таутомеризации является актуальным предметом исследования, которому посвящена серия монографий и обзоров [1, 4, 5]. Эта тема по-прежнему остается актуальной, поскольку во многих случаях динамика и механизм реализации фототаутомеризации остаются не полностью установленными [2, 6-9].

При возбуждении молекул органических соединений происходит значительное изменение их электронной структуры, что закономерно приводит к существенному изменению их реакционной способности. В частности, в молекулах гетероароматических соединений, содержащих атом азота, может происходить повышение или понижение электронной плотности на гетероатоме, следствием чего является изменение кислотно-основных характеристик молекулы. Поэтому, в возбужденном состоянии становятся возможными процессы, которые не наблюдаются или даже проходят в обратном направлении в основном состоянии. К ним относятся кислотно-основные взаимодействия ароматических соединений в возбужденном состоянии, в частности, реакции фотопереноса протона (ФПП), в основе которых лежит присоединение или отщепление протона от кислотно-основного центра.

Феномен ФПП с участием молекул азотсодержащих гетероциклов был впервые обнаружен профессором М. Кашей для 7-азаиндола (**7АИ**) [10] и ряда его производных [10-16]. В работах [12, 13, 17] было показано, что для соединений этой группы в спиртовых растворах характерно появление двух полос флуоресценции (Φ_H и Φ_T) (рис. 1.2). Было выдвинуто предложение, что вторая, длинноволновая полоса флуоресценции Φ_T обусловлена излучением таутомерной формы, в которой произошел перенос протона пиррольного цикла на пиридиновый атом азота [15]. Также было обнаружено, что в неполярных растворителях **7АИ** склонен к самоассоциации с образованием дважды водородсвязанных димеров, в которых возможен фотоиндуцированный двойной перенос протона (рис. 1.3)

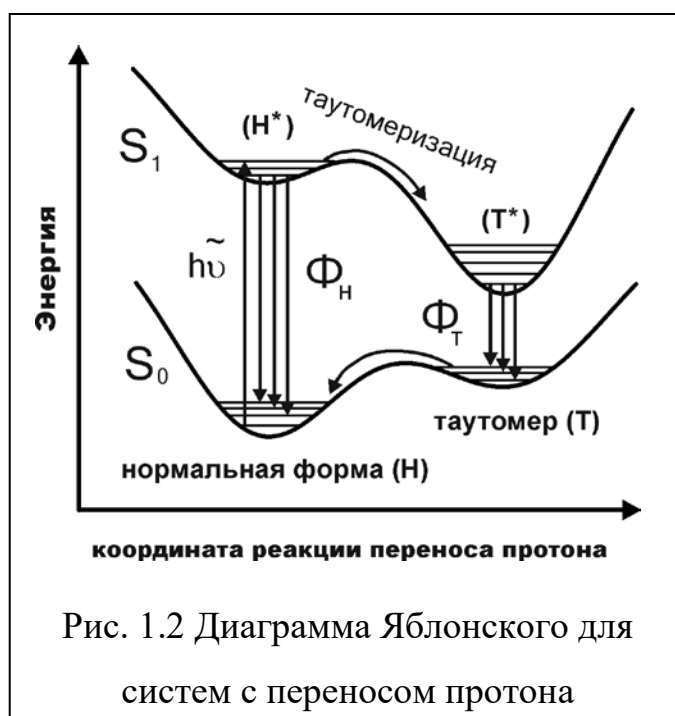


Рис. 1.2 Диаграмма Яблонского для систем с переносом протона

[15]. Также было обнаружено, что в неполярных растворителях **7АИ** склонен к самоассоциации с образованием дважды водородсвязанных димеров, в которых возможен фотоиндуцированный двойной перенос протона (рис. 1.3)

[18-22]. С момента обнаружения фототаутомеризации в **7АИ**, эта система стала классической моделью для изучения двойного переноса протона, медиатором которого выступают молекулы растворителя [23]. Также, *перенос протона в димере 7АИ является удобной моделью для изучения начальной стадии фотоиндуцированного мутагенеза в комплементарных парах азотистых оснований молекулы ДНК* [5, 10, 20].

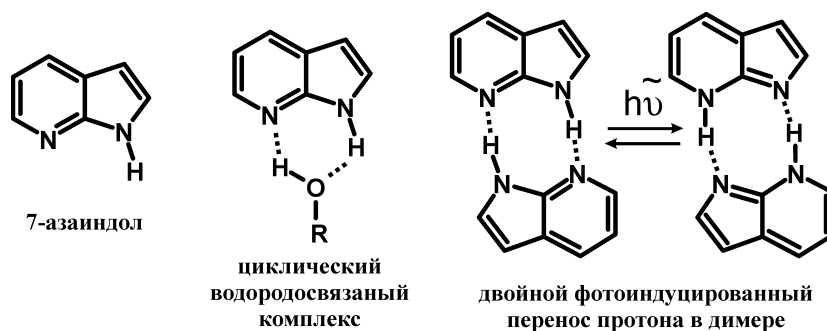


Рис. 1.3 7-Азаиндол (**7АИ**) и его водородсвязанный комплекс с молекулой гидроксилсодержащего растворителя. Схема фотоиндуцированного двойного переноса протона в димере **7АИ**.

Благодаря реакции фотопереноса протона, молекула **7АИ** является популярным модельным объектом для изучения широкого класса систем, в которых возможна amino-imine тавтомерия (рис. 1.4). В последнее десятилетие этот вид таутомерии был обнаружен также в таких системах как 2-аминопиридин и его производные [24-28], в азотистых основаниях ДНК цитозине [29] и аденине [30-32]. Во всех этих случаях прямой внутри-молекулярный перенос протона amino группы на иминный атом нитрогена невозможен по причине отсутствия ВМВС, однако, он может быть реализован по механизму образования циклического ВСК с участием молекул гидроксилсодержащих растворителей. Недавно в работе [33] было показано, что феномен двойного переноса протона в молекуле **7АИ** может быть использован для изучения динамики микросольватации белковых молекул.

Другими интересными примерами бифункциональных систем, в которых возможен перенос протона через цепочку молекул растворителя,

являются производные 6- и 7-гидроксихинолина [34, 35]. Было показано, что в случае 7-гидроксихинолина перенос протона с 7-гидроксильной группы на хинолиновый атом азота может проходить через цепочку, состоящую из нескольких молекул воды [34, 36], спирта [37], [38, 39] или аммиака [40].



Рис. 1.4 Амино-иминная таутомерия: (а) 2-аминопиридин, (б) цитозин, и (в) аденин.

Для 6-гидроксихинолина также была показана возможность переноса протона через цепочку водородных связей, образованную двумя молекулами уксусной кислоты [41]. Отмечено, что участие молекул воды также возможно при фототаутомеризации 7-гидроксиизофлавонов [42].



Рис. 1.5 Системы с ДФПП в водородосвязанных димерах (орто-аминопиридин, 1-азакарбазол (1АК), 1H-пиразоло[3,4-b]хинолин, 11-пропил-6H-индоло-[2,3-b]хинолин).

После обнаружения фотоиндуцированной таутомеризации в димерах **7АИ**, в котором мономерные молекулы ассоциируются за счет формирования между ними двух ВС (рис. 1.3), указанный феномен был последовательно изучен на примере целого ряда подобных систем, например, димере *орто*-аминопиридина [25, 43, 44] и производных 1-азакарбозола [45-49].

В 1974 году проф. П. С. Сонгом [50] была впервые предсказана возможность фотоиндуцированной таутомерии в люмихроме (6,7-диметилизоаллоксазин), с участием молекулы воды как медиатора (рис. 1.6). Впоследствии было показано, что фотофизика и флуоресцентная сольватохромия люмихрома являются очень чувствительными к присутствию даже следовых количеств воды в органических растворителях [51, 52].

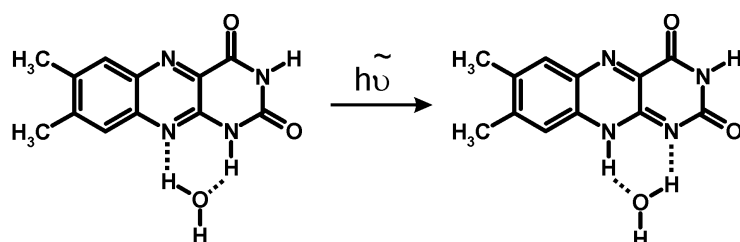


Рис. 1.6 Фототаутомерия в люмихроме с участием молекулы воды.

Фотоиндуцированные процессы в системах, самоорганизованных цепочками ВС, вызывают повышенный интерес с точки зрения дизайна новых хромофорных систем и выяснения структурных факторов, влияющих на термодинамику и кинетику реакции двойного переноса протона.

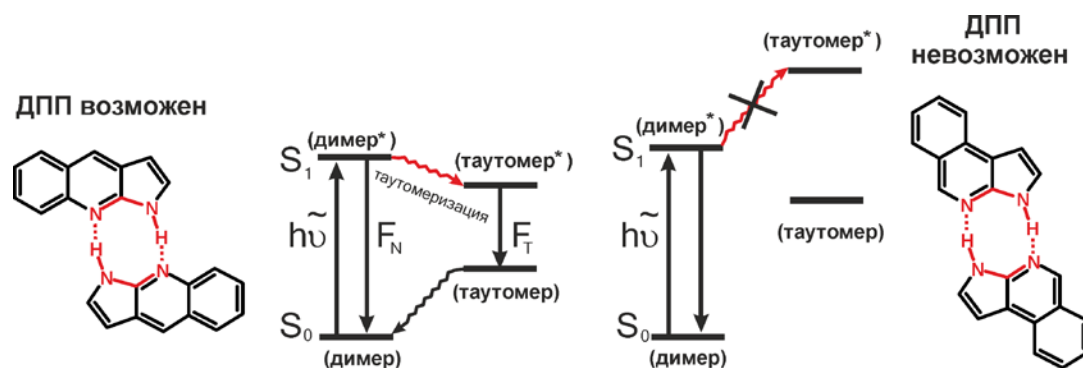


Рис. 1.7 Влияние изомерии на протекание двойного переноса протона.

Например, в недавней работе [53], было проведено интересное теоретическое исследование роли аннелирования дополнительного бензольного кольца к хромофорной системе **7AI**, в котором было продемонстрировано, что аннелирование в положения 5-6 должно приводить к дополнительной стабилизации фототаутомерной формы, в то время, как аннелирование в положения 4-5, наоборот, делает фототаутомерную форму термодинамически невыгодной (рис. 1.7).

Не удивительно, что, благодаря высокой спектральной чувствительности к присутствию следовых количеств воды, бифункциональные системы с переносом протона находят широкое применение в качестве флуоресцентных зондов для изучения сольватационной динамики прямых мицелл ПАВ и обращенных мицелл АОТ [54-56], а также ряда циклодекстринов [57, 58].

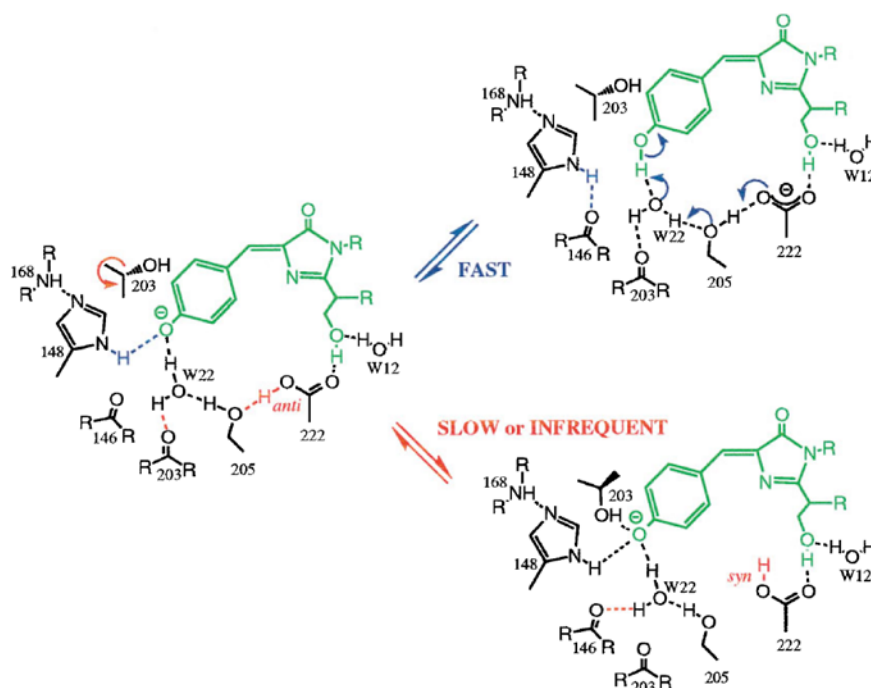


Рис. 1.8 Схема переноса протона с участием молекулы воды в хромофорном фрагменте зеленого флуоресцентного белка [59].

Перенос протона, протекающий по цепочке ВС, в которой участвует и молекула воды (рис. 1.8) [60], играет важную роль в фотоиндуцированных

физико-химических процессах, наблюдаемых в зеленом флуоресцентном белке и его мутантах [59, 61, 62].

Не менее важную функцию выполняет аналогичный эстафетный перенос протона в интегральном мембранном белке бактериородопсине (*от англ. light-driven proton pump bacteriorhodopsin*), который выполняет роль протонного насоса, осуществляющего транспорт протонов через мембрану клетки [63, 64]. По этой причине, изучение механизма протонной проводимости и физико-химических процессов образования и разрыва водородосвязанных мостиков и цепочек является важной составляющей в понимании протекания процессов, индуцированных светом в биологических системах [65] (рис. 1.9).

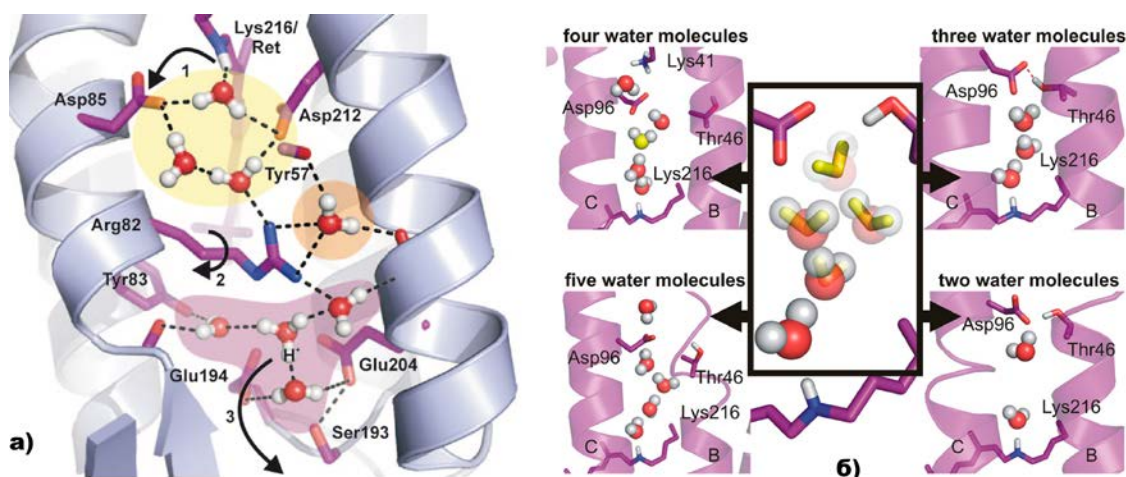


Рис. 1.9 Схема переноса протона в бактериородопсине с участием от двух до пяти молекул воды, предложенная в работах [66] (а) и [65] (б).

Вместе с тем, *вопрос о механизме и кинетике элементарного акта фотопереноса протона по цепочке водородных связей изучен недостаточно*. В частности, остается не выясненным вопрос о соотношении активационного и туннельного механизма, о природе потенциального барьера этой реакции (рис. 1.10). Этот вопрос активно обсуждается в литературе в рамках “эстафетного” механизма переноса протона, известного также как механизм Гротгуса (*от англ. Grotthuss proton shuttling mechanism*) [67] (рис. 1.10а). В недавних работах было уделено внимание установлению оптимальной

геометрии цепочки водородосвязанных молекулы воды, структурные дефекты ВС и числа молекул воды на проводимость всей цепочки с точки зрения миграции протона (рис. 1.10б-в) [68, 69]. Перенос протона по цепочке ВС может также сопровождаться согласованным фотоиндуцированным переносом электрона (*от англ.* concerted proton–electron transfer) (рис. 1.10г) [70].

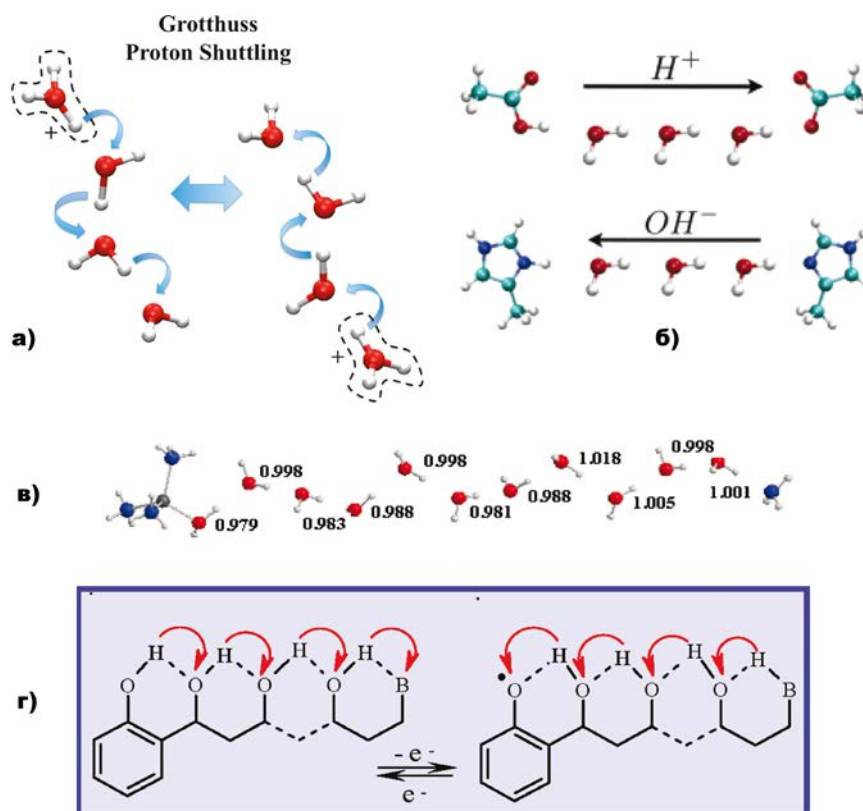


Рис. 1.10 Примеры систем с дальнедействующим переносом протона по цепочке ВС (*от англ.* long-range proton transfer wire): “эстафетный” механизм переноса протона [67] (а), квантово-химический анализ оптимальной геометрии ВС в цепочке молекулы воды [69] (б-в), согласованный перенос протона и электрона [70] (г).

Представляет интерес также вопрос о взаимосвязи между механизмом реакции ФПП и свойствами растворителя. Показано, что природа растворителя определяет возможность образования различных продуктов реакции и часто оказывает определяющее влияние на кинетику и термодинамику процесса. Таким образом, проведенный литературный анализ показывает, что

изучение механизма и закономерностей элементарного акта фотопереноса протона с участием молекул растворителя является актуальной научной проблемой и имеет связь с решением ряда фундаментальных проблем молекулярной люминесценции, фотохимии и фотобиологии.

1.2 Селективная лазерная спектроскопия высокого разрешения в условиях матричной изоляции при низкой температуре

В последнее время широкую популярность приобрела селективная лазерная спектроскопия высокого разрешения, основанная на методе матричной изоляции изучаемых молекул в среде инертных газов при низких температурах [71, 72]. В этом методе, газообразные молекулы или радикалы, находящиеся в смеси с парами инертных газов, такими как N_2 , Ar или Xe, осаждаются на подложку, охлажденную до сверхнизких температур 5-30 K, [73].

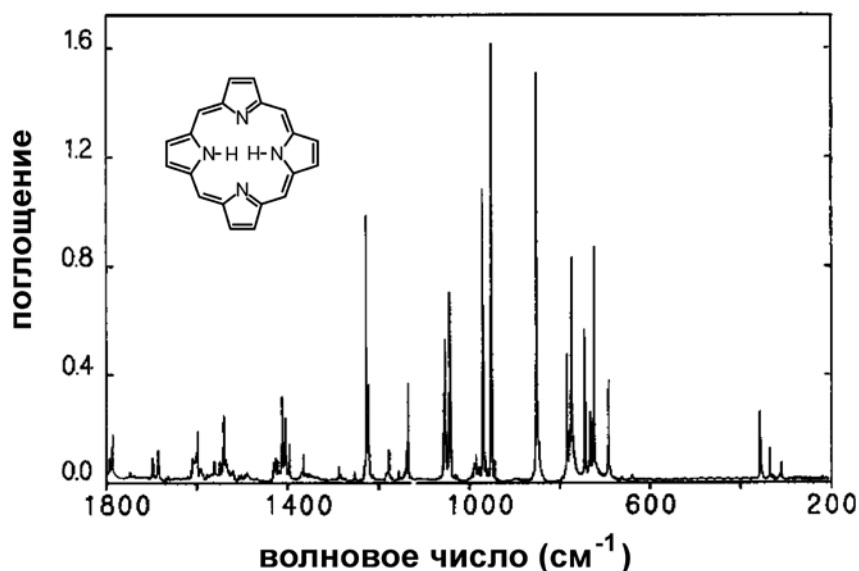


Рис. 1.11 Фрагмент ИК-спектра молекулы порфирина, изолированной в матрице Xe при 10 K [74].

Преимуществом данного метода является то, что в условиях матричной изоляции при сверхнизких температурах, близких к гелиевым (5-10 K), удастся регистрировать тонкоструктурные спектры высокого разрешения

(рис. 1.11), которые не удастся получить в классических экспериментах в растворе или в твердом состоянии при комнатных температурах (рис. 1.12).

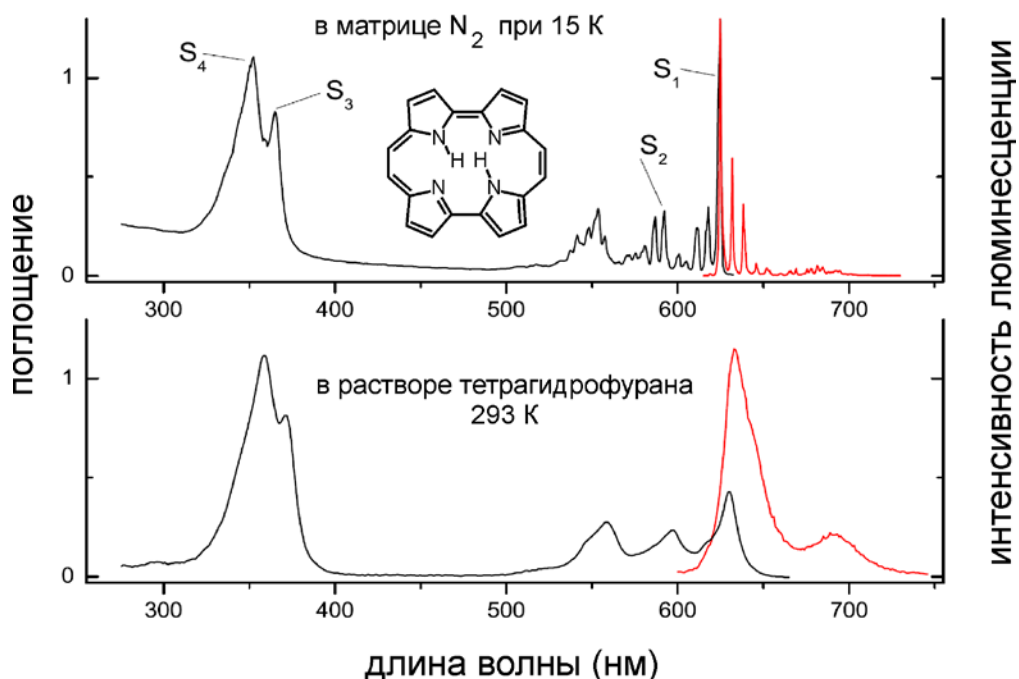


Рис. 1.12 Сравнение электронных спектров поглощения и флуоресценции порфицена в низкотемпературной матрице N_2 и в растворе при комнатной температуре [75].

В процессе матричной изоляции исследуемые молекулы, радикалы или нестабильные продукты химических реакций изолируются друг от друга и от окружающей среды путем их встраивания в кристаллическую решетку инертной матрицы [76, 77]. Наличие у матриц при низких температурах кристаллической решетки является обязательным условием наблюдения узкополосных спектров примесных молекул, что обусловлено относительно небольшим числом способов расположения примесной молекулы в кристаллической матрице. Такие центры встраивания, называемых также примесными центрами или “сайтами” (*от англ. trapping sites*), различаются не только геометрией, но и характером взаимодействия с матрицей [78]. Метод матричной изоляции минимизирует межмолекулярные взаимодействия, что в сочетании с низкотемпературным режимом, позволяет измерять

узкополосные оптические спектры поглощения высокого разрешения в УФ и ИК диапазонах (рис. 1.11 и 1.12) [79].

Особый интерес представляет применение техники матричной изоляции для изучения физико-химических аспектов систем с внутримолекулярным двойным переносом протона, который возможен, например, в молекулах порфирина [80, 81] и порфицена [82-88]. Указанные соединения являются эффективными фотосенсибилизаторами, генерирующими синглетный кислород под действием света, а также являются перспективными для применения в фотодинамической терапии [89].* В связи с этим, представляет интерес изучение спектрально-флуоресцентных свойств этих систем в матрице инертного газа, чему будет посвящен раздел 4.1.

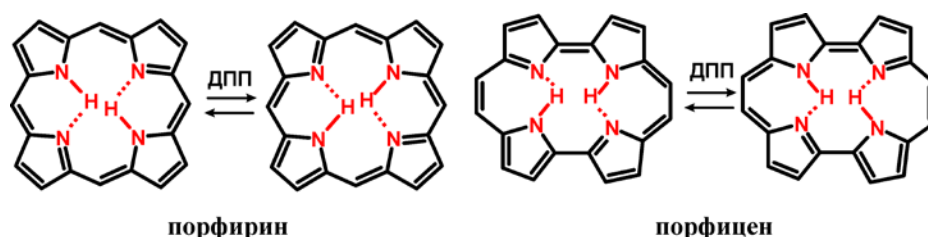


Рис. 1.13 Фотоиндуцированная таутомерия в порфирине и порфицене.

Несмотря на ряд очевидных преимуществ, метод матричной изоляции обладает существенным недостатком, связанным с тем, что, с увеличением размеров молекулы, возрастает число различных конфигураций встраивания примесной молекулы в кристалл, в результате чего, молекула “гостя” может оказаться в различных полостях или сайтах встраивания внутри матричной решетки. Это обстоятельство вызывает появление спектральной гетерогенности и, как следствие, - дополнительных полос в узкополосных спектрах [90-92]. Феномен спектрального расщепления полос поглощения и испус-

* Фотодинамическая терапия (ФДТ) – метод лечения ряда онкологических и инфекционных заболеваний, а также заболеваний кожи, основанный на воздействии света на ткани, содержащие органический фотосенсибилизатор. Метод ФДТ был развит в трудах Нильса Финсена, по результатам которых в 1903 г. он был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине.

кания, наблюдаемый при переходе из газовой фазы в окружение низкотемпературной матрицы, также известный как “эффект матрицы”, особенно актуален для многоатомных органических молекул, для которых измерение индивидуального спектра в условиях матричной изоляции становится нетривиальной задачей [72].

1.3 Теоретические методы установления структуры сайтов внедрения примесных молекул в матрицу инертного газа

В связи со сложностью интерпретации спектрально-люминесцентных свойств матрично-изолированных органических соединений возрастает роль теоретических подходов и методов компьютерной химии, открывающих возможность моделирования и прогнозирования строения, электронных, оптических и других физико-химических свойств сложных органических молекул, внедренных в низкотемпературные кристаллические матрицы инертных газов. Особенно актуальными являются методы, способные учитывать в явном виде влияние окружения матрицы на строение, спектральные свойства и фотохимию изолированных молекул.

Одним из ранних теоретических методов, позволяющих учитывать “эффект матрицы”, является подход, основанный на встраивании изучаемой молекулы в идеальную кристаллическую решетку инертного газа путем удаления определенного числа атомов, что позволяет создавать матричные пустоты или “сайты” [93]. Указанные матричные полости должны быть сконструированы таким образом, чтобы вместить изолируемую молекулу “гостя” [78]. В работе [94] такой подход был применен для интерпретации полос в ИК-спектре молекулы HCN и её изотопомеров, изолированных в низкотемпературной ксеноновой матрице. Развитие указанного подхода, связанного с интуитивным встраиванием двухатомных молекул типа HCl, HBr и CO в инертные матрицы Ar, Kr или Xe, нашло свое продолжение в работе [95]. В недавней публикации [96] представлен обзор современных методов компью-

терной химии, используемых при интерпретации спектров небольших молекул, внедренных в кристаллическую матрицу инертного газа. Очевидно, что такой подход в установлении структуры сайта внедрения возможен для двух-трехатомных молекул [97] (рис. 1.14), но с увеличением размеров молекулы “гостя” интуитивный перебор возможных конфигураций сайтов встраивания становится трудно реализуемым на практике.

Очередным этапом в развитии методов моделирования спектральных свойств систем в условиях матричной изоляции стал компьютерный подход, основанный на учете сил взаимодействия между изолируемой молекулой и атомами окружающей матрицы, описываемых в форме эмпирических межатомных парные потенциалов, таких как потенциалы Морзе [98] или Леннард-Джонса [99]. Указанный подход позволил учесть такие факторы, как влияние матрицы на равновесную геометрию изучаемой молекулы, а также обратный эффект, локальную деформацию и дефекты решетки матрицы, вызываемые встраиванием молекулы “гостя”. В работе [100] впервые была изучена геометрия сайтов включения и нормальные колебания молекулы 1,2-дихлорэтана в окружении, состоящем от 62 до 364 атомов Ar, с помощью метода минимизации энергии для всей суперсистемы типа “хозяин-гость”. В указанной работе было впервые продемонстрировано, что в зависимости от характера матричного окружения, частоты колебаний изолированной молекулы могут подвергаться смещению, как в низко-, так и в высокочастотный диапазон, по сравнению с соответствующими колебаниями молекулы в газовой фазе.



В последующих работах основное внимание было уделено разработке и валидации новых эмпирических силовых полей для таких инертных газов, как Ar и Xe, которые наиболее часто применяются в матричной изоляции [101]. Новые силовые поля и параметризация были созданы преимущественно на основе парного потенциала Леннарда-Джонса 12-6 и позволили с высокой степенью точности описать экспериментальные данные, такие как параметры ячейки гранецентрированной кубической решетки (ГЦКР) Ar и Xe, а также, что не менее важно, температурную зависимость плотности твердых инертных



газов и температуру их фазового перехода кристалл-жидкость [101]. На рис. 1.15 приведен пример МД моделирования напыления газообразного Ar на предварительно сформированную кристаллическую подложку твердого Ar [102].

Несмотря на существенный прогресс, достигнутый в последние годы в развитии силовых полей и методов молекулярной динамики, а также в описании реакционной способности [103], фотохимии и физико-химических свойств молекул [104] и радикалов внутри центров включения [101, 105-107], *основным недостатком вышеперечисленных методик является отсутствие систематического теоретического подхода, позволяющего определить геометрию и объемную форму полости включения, а также возможное число и вероятность заселения отдельных полостей молекулами “гостя” в условиях матричной изоляции.*

Таким образом, проведенный анализ показывает, что *в настоящее время в литературе отсутствуют современные компьютерные методы прогнозирования физико-химических аспектов матричной изоляции сложных органических молекул и не предложен способ теоретической оценки влияния “эффекта матрицы” на структурно-динамические и спектральные характеристики многоатомных молекул, встроенных в полость сайта внедрения.* Решению этой актуальной научной задачи будет посвящены разделы 4.1-4.4.

1.4 Внутримолекулярный перенос энергии электронного возбуждения в системах донор-мостик-акцептор

Для сложных органических молекул могут быть характерны фотоиндуцированные *внутримолекулярный и межмолекулярный перенос* энергии электронного возбуждения и электрона [108-110]. Перечисленные фотоиндуцированные процессы играют ключевую роль в природных светочувствительных биомолекулах и в фотосинтетическом реакционном центре растительных пигментов, принимающих участие в фотосинтезе. Поэтому, изучение первичных и вторичных фотопроцессов переноса энергии электронного возбуждения, механизма этого процесса и его энергетики уже долгое время являются актуальными научными проблемами [111].

Наиболее распространенный случай – это межмолекулярный перенос энергии электронного возбуждения, который происходит без промежуточного испускания и поглощения фотона по схеме $D^* + A \rightarrow D + A^*$, где D и A – соответственно молекулы донора и акцептора энергии электронного возбуждения. Такой перенос энергии электронного возбуждения сопровождается уменьшением времени жизни и квантового выхода флуоресценции донора, для которого акцептор выступает в роли тушителя. В настоящее время физико-химия процесса межмолекулярного переноса энергии изучена достаточно подробно [108], однако, ввиду того, что он происходит между химически

несвязанными донором и акцептором, практическое применение этого явления затруднено вследствие невозможности прогнозировать и контролировать структурно-динамические параметры, такие как расстояние и относительную пространственную ориентацию молекул донора и акцептором [110].

В связи с этим, повышенное внимание уделяется системам **донор-мостик-акцептор**, в которых возможен внутримолекулярный перенос энергии электронного возбуждения, при этом мостиковая группировка может выступать как в качестве инертного спейсера (*от англ. spacer*), так и играть роль активного участника процесса фотопереноса, являясь его медиатором (*от англ. bridge-mediated transfer*) и увеличивая таким образом эффективное расстояние, на которое становится возможным перенос энергии. В зависимости от характера взаимодействия молекул донора, акцептора и мостиковой группировки различают индуктивно-резонансный и обменно-резонансный механизмы переноса энергии [108]. В случае дальнего действующего переноса энергии в системах **донор-мостик-акцептор** становится возможным прогнозирование, контроль и управление фотопереносом посредством химической модификации отдельных группировок, составляющих диады и триады хромофоров. В настоящее время прогресс в дизайне, синтезе и спектральных исследованиях новых систем типа **донор-мостик-акцептор** в основном реализуется усилиями нескольких лабораторий, являющимися признанными мировыми лидерами в этой области: группой проф. Дж. Линдсей (J. S. Lindsey, North Carolina State University, North Carolina, U.S.A.) [112], проф. Б. Албинссона (B. Albinsson, Chalmers Technical University, Sweden) [113] и проф. М. Василевского (M. R. Wasielewski, Northwestern University, Illinois, U.S.A.) [114]. Анализ работ этих исследовательских групп показывает *отсутствие систематического подхода к дизайну полихромофорных систем, и, что более важно, существует необходимость установления взаимосвязи между структурно-динамическими свойствами изучаемых систем и механизмом дальнего действующего фотоиндуцированных процессов в системах*

донор-мостик-акцептор. Решению этой научной проблемы будет посвящен раздел 4.5.

1.4.1 Индуктивно-резонансный механизм переноса энергии. При реализации индуктивно-резонансного механизма, который был впервые количественно описан Фёрстером в 1948 году [115], скорость переноса энергии зависит от степени перекрывания спектра флуоресценции донора и спектра поглощения акцептора, от взаимной ориентации дипольных моментов переходов, а также от расстояния между взаимодействующими молекулами. Константа скорости переноса энергии по индуктивно-резонансному механизму определяется следующим выражением (ур. 1.1):

$$k_{ET} = \frac{1}{\tau_D} \left(\frac{R_0}{r} \right)^6 \quad (1.1)$$

здесь τ_D – время жизни возбужденного состояния донора в отсутствие акцептора; R_0 – характеристическое расстояние (Фёрстеровский радиус), на котором константа скорости переноса энергии равна константе скорости флуоресценции донора в отсутствие акцептора. Таким образом, при $r=R_0$ половина возбужденных молекул донора дезактивируется за счет переноса энергии, а половина – по обычным излучательным и безызлучательным механизмам; r – фактическое (среднее) расстояние между молекулами донора и акцептора [116].

1.4.2 Обменно-резонансный механизм переноса энергии. Перенос энергии электронного возбуждения по обменно-резонансному механизму между органическими молекулами в твердых растворах при низких температурах впервые наблюдался В.Л. Ермолаевым и А.Н. Терениным в 1952 г [117]. В 1953 году Д. Л. Декстером была разработана обобщенная теория переноса энергии по обменно-резонансному механизму [118], поэтому в англоязычной литературе данный механизм носит его имя.

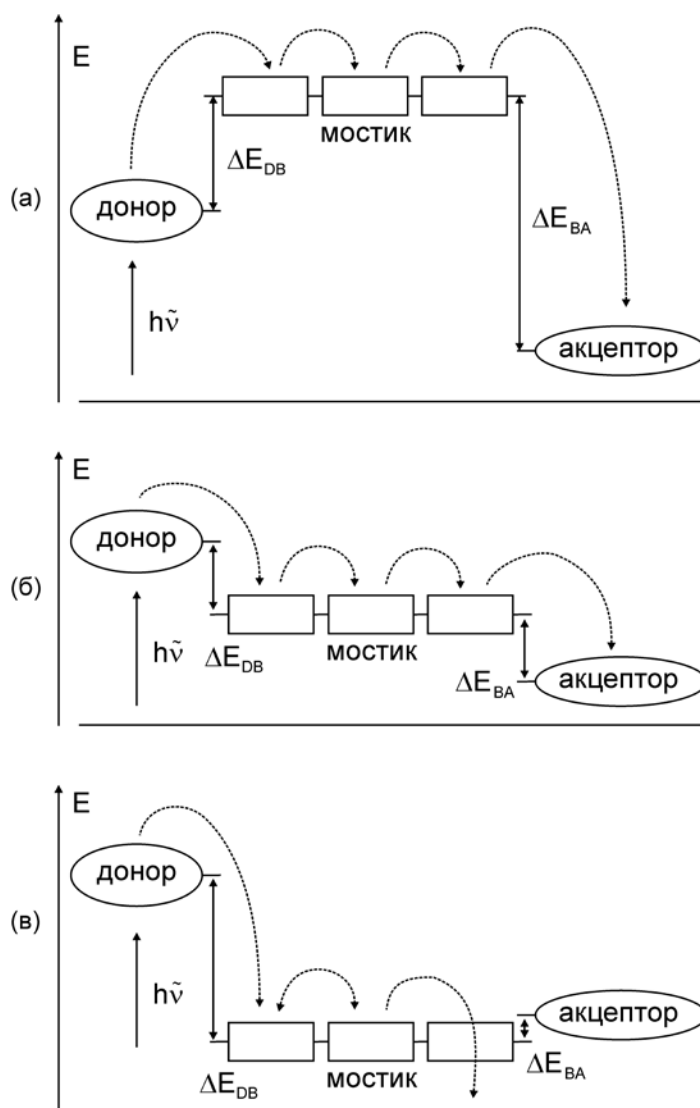


Рис. 1.16 Влияние природы мостикового хромофора на перенос энергии электронного возбуждения в системах донор-мостик-акцептор. (а) Обменно-резонансный перенос энергии по механизму суперобмена (*от англ. super-exchange mechanism*). (б) Каскадная миграция энергии возбуждения через мостиковую молекулу (*от англ. molecular-wire mechanism*). (в) Дезактивация энергии возбуждения донора через мостиковую молекулу (*от англ. bridge energy trapping mechanism*).

При обменно-резонансной миграции энергия переносится с триплетного уровня молекулы донора Д на триплетный уровень молекулы акцептора А по схеме $^3Д + ^1А \rightarrow ^1Д + ^3А$ не в результате индуктивно-резонансного взаимодействия молекул, а при прямом перекрывании молекулярных орбиталей, при этом про-

цесс зависит от электростатического взаимодействия электронов донора и акцептора, и, следовательно, эффективность переноса зависит от расстояния Д-А, и поэтому, наблюдается на коротких расстояниях до 7-10 Å.

1.4.3 Роль мостикового хромофора в процессе переноса энергии электронного возбуждения в системах донор-мостик-акцептор. Как было показано в разделе 1.4.2, индуктивно-резонансный перенос может происходить на расстояниях, значительно превышающих физические размеры молекул, т. е. при которых не требуется перекрывания электронных орбиталей донора и акцептора. [119, 120].

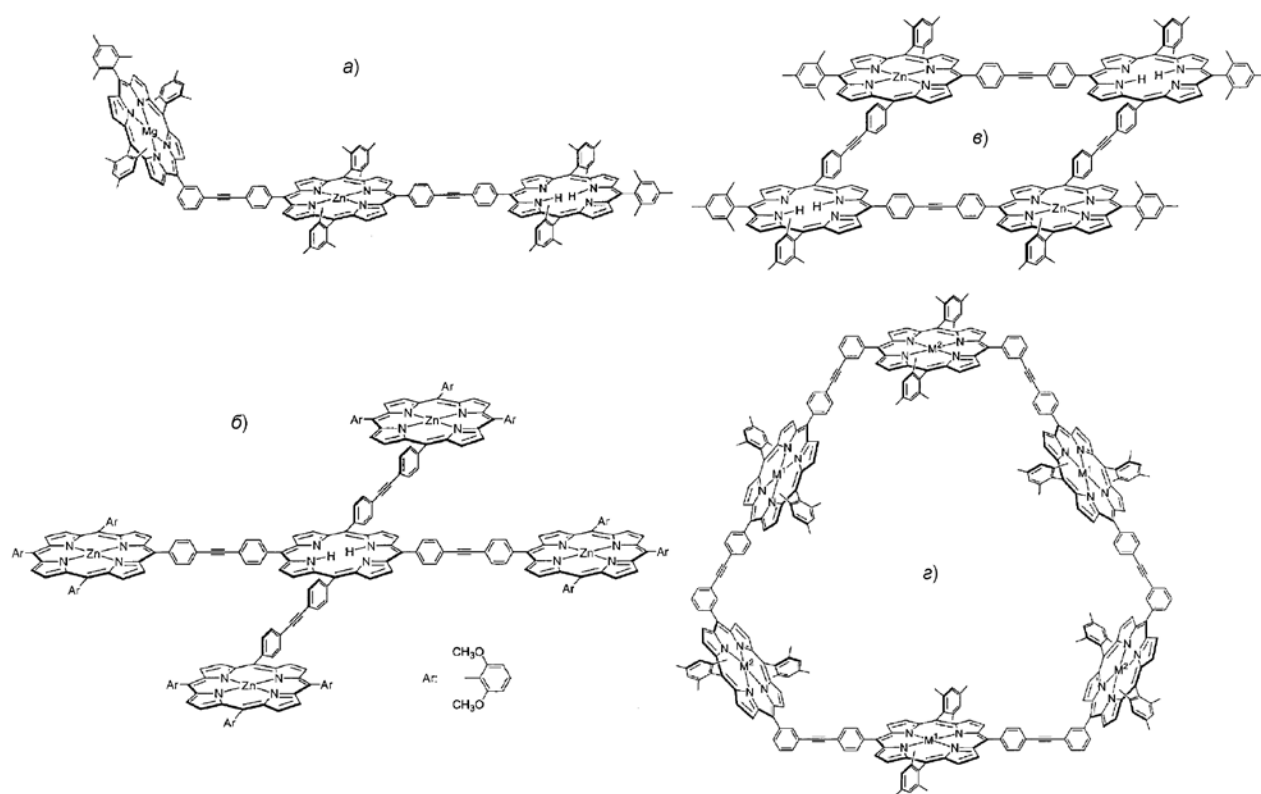


Рис. 1.17 Пример порфириновых мультихромофорных систем с различным направлением и последовательностью переноса энергии электронного возбуждения [121].

Роль мостиковой группировки в процессе переноса энергии электронного возбуждения в системах донор-мостик-акцептор проиллюстрирована на рис. 1.16. С практической точки зрения повышенный интерес

вызывают системы, в которых мостиковая группировка не участвует непосредственно в процессе переноса, а выступает медиатором дальнего действия переноса энергии на акцептор (рис. 1.16a). Этот механизм известен так же, как “суперобмен” (*от англ. superexchange-mediated energy transfer*) [122]. Эффективность переноса убывает по экспоненциальному закону с ростом расстояния между молекулами донора и акцептора, т.е. значительно быстрее, чем в случае индуктивно-резонансного взаимодействия [123].

В связи с этим был синтезирован целый ряд систем **донор-мостик-акцептор**, на основе порфириновых диад, триад (рис. 1.17a) [113, 124] и мультихромофорных ансамблей (рис. 1.17б-г), позволяющих контролировать светопоглощение в широком диапазоне видимой области спектра, с последующим переносом энергии системы на расстояния до 100 Å [112].

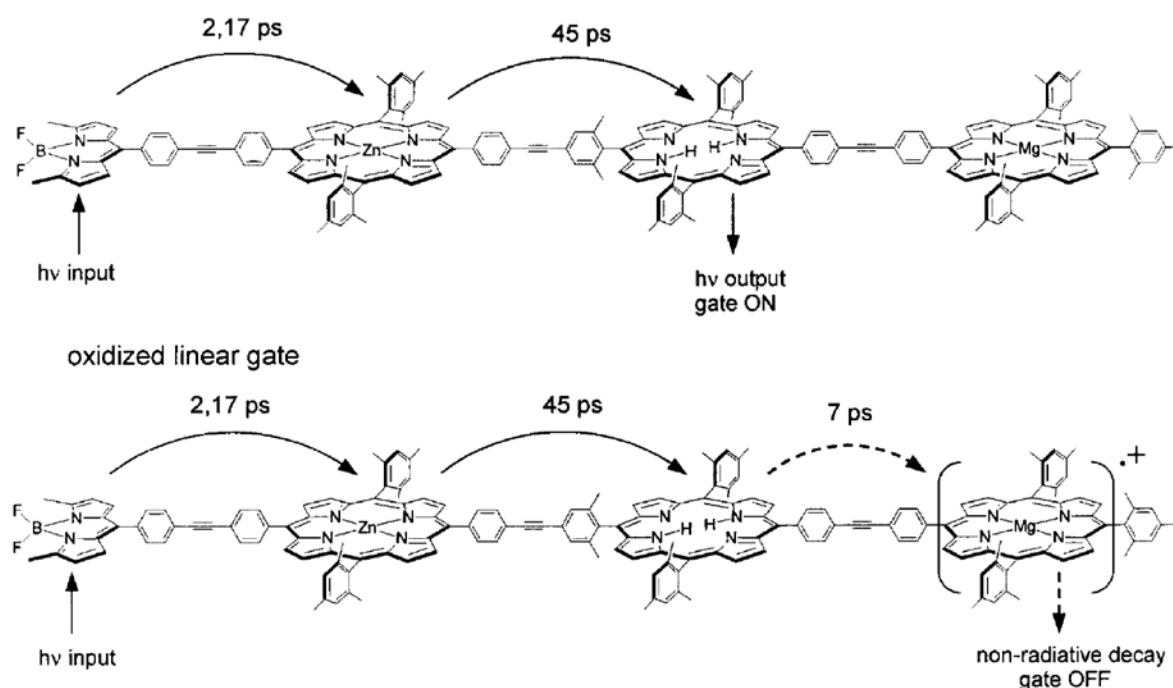


Рис. 1.18 Пример полядерных порфириновых систем с последовательным переносом энергии электронного возбуждения, обладающих элементами “молекулярной логики”.

В полиядерных порфириновых системах возможно прохождение сложной последовательности конкурирующих процессов, включающих параллельный [125] и последовательный перенос энергии электронного возбуждения [112, 126-128], как показано на рис. 1.18 [112].

Очевидно, что для *рационального дизайна полиядерных порфириновых систем необходимо решение актуальной научной проблемы – выявление физико-химических принципов, позволяющих контролировать прохождение дальнодействующих эффектов переноса энергии электронного возбуждения в вышеперечисленных системах, а именно, - установление взаимосвязи между строением, размером, конформацией и химической природой мостиковых группировок-медиаторов и эффективностью, и скоростью переноса энергии электронного возбуждения, который реализуется с их участием по обменно-резонансному механизму*. Решению этой научной проблемы будет посвящен раздел 4.5.

1.4.4 Практическое применение систем с переносом энергии в оптоэлектронных наноматериалах. Полиядерные порфириновые системы активно применяются в различных областях нанохимии и нанотехнологии в качестве компонентов наноэлектроники в гибридных органо-неорганических материалах [129, 130]. Синтезирован целый ряд гибридных систем, в которых порфириновая группировка ковалентно связана с поверхностью золота через мостиковую группировку и является фотосенсибилизирующим агентом [131-133] (рис. 1.19а и в) или молекулярным органическим проводником [134] (*от англ. molecular wire*) (рис. 1.19б).

Анализ литературных данных показывает, что для указанных гибридных систем отсутствуют теоретические подходы и компьютерные методы анализа, позволяющие прогнозировать физико-химические, оптические и электрооптические свойства. Решению этой актуальной научной задачи будет посвящен раздел 5.

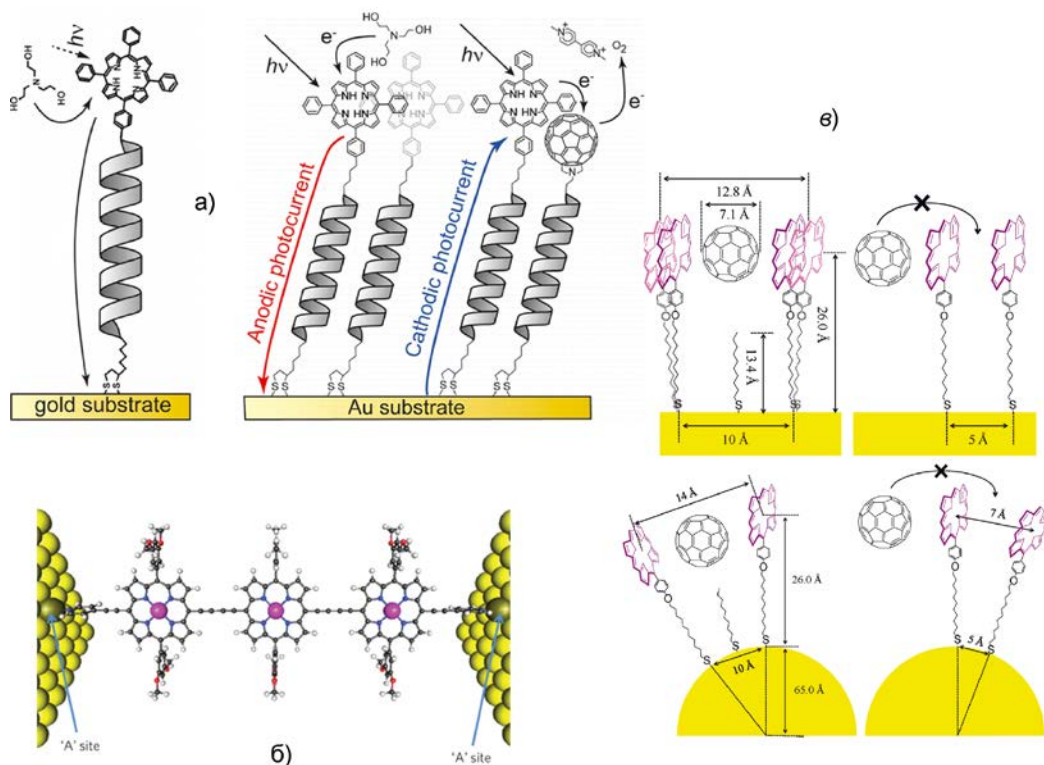


Рис. 1.19 Примеры гибридных органо-неорганических компонентов нанoeлектроники с участием порфириновых систем.

1.5 Физико-химические свойства и молекулярное моделирование наночастиц благородных металлов

Наноразмерные частицы (НЧ) благородных металлов, таких как золото и серебро, обладают рядом специфических физико-химических характеристик, которые отличаются от свойств этих металлов в растворах и кристаллическом состоянии. Таким нанообъектам, состоящим из $\sim 10^2$ - 10^3 атомов, характерны “квантово-размерные эффекты”, которые обуславливают их широкое применение в различных областях недавно созданных и интенсивно развивающихся новых научных дисциплин - нанохимии и наномедицины [135-137]. В ряде работ показано, что ключевую роль в коллоидной стабильности НЧ играет выбор стабилизирующего агента, в качестве которого могут выступать различные низкомолекулярные органические лиганды, а также полимеры и белки [138]. Наночастицы, которые не стабилизированы долж-

ным образом, могут подвергаться быстрому окислению растворенным кислородом, они более склонны к агрегации, легко агломерируют и выпадают в осадок из раствора [139]. Поэтому, при разработке более эффективных методов получения НЧ первоочередной задачей является подбор механизма формирования и стабилизации функционализированных наночастиц с заданными размерами и морфологией [139-141]. Большой интерес представляют нанокompозиты серебра, обладающие рядом ценных свойств, которые могут быть получены с использованием водорастворимых полимеров, таких как поливинилпирролидон (ПВП) или поливиниловый спирт (ПВС) [142, 143]. Очевидно, что для выяснения стабилизирующей роли лиганда в синтезе наночастиц серебра с заданными свойствами требуется учет размеров и морфологии поверхности наночастицы, которые определяют силы атомно-молекулярных взаимодействий, возникающие на границе между неорганическим ядром наночастицы и органическим полимером [144].

Наночастицы (НЧ) благородных металлов, таких как золото и серебро, также находят широкое применение в наномедицине в области ИК лазерной диагностики и деактивации раковых клеток [145]. Конъюгаты золотых наночастиц активно применяются в качестве контрастирующих агентов, способных селективно присоединяться к раковым клеткам, облучение которых лазерным излучением ближнего ИК диапазона приводит к эффективной деструкции раковых клеток без повреждения здоровых. Этот эффект достигается тем, что облучение производится в диапазоне 750-1000 нм, который соответствует “окну прозрачности биотканей”, однако при этом может происходить плазменно-резонансный термолиз болезнетворных клеток адсорбированными на них золотыми наночастицами [146].

Широкие возможности применения НЧ обусловлены также тем фактом, что они могут быть получены в виде наноструктур различной формы, таких как нанокубы, нанопроволоки или нанопризмы [139], которые, в свою очередь, могут быть легко функционализированы органическими лигандами,

синтетическими и биологическими полимерами [147, 148]. Функционализированные НЧ обладают дополнительными возможностями в области дизайна новых наноконъюгатов [149], у которых терапевтический эффект может смещаться от пассивного накопления нанозолота в организме до адресной доставки наночастицы в клетку злокачественных новообразований [150].

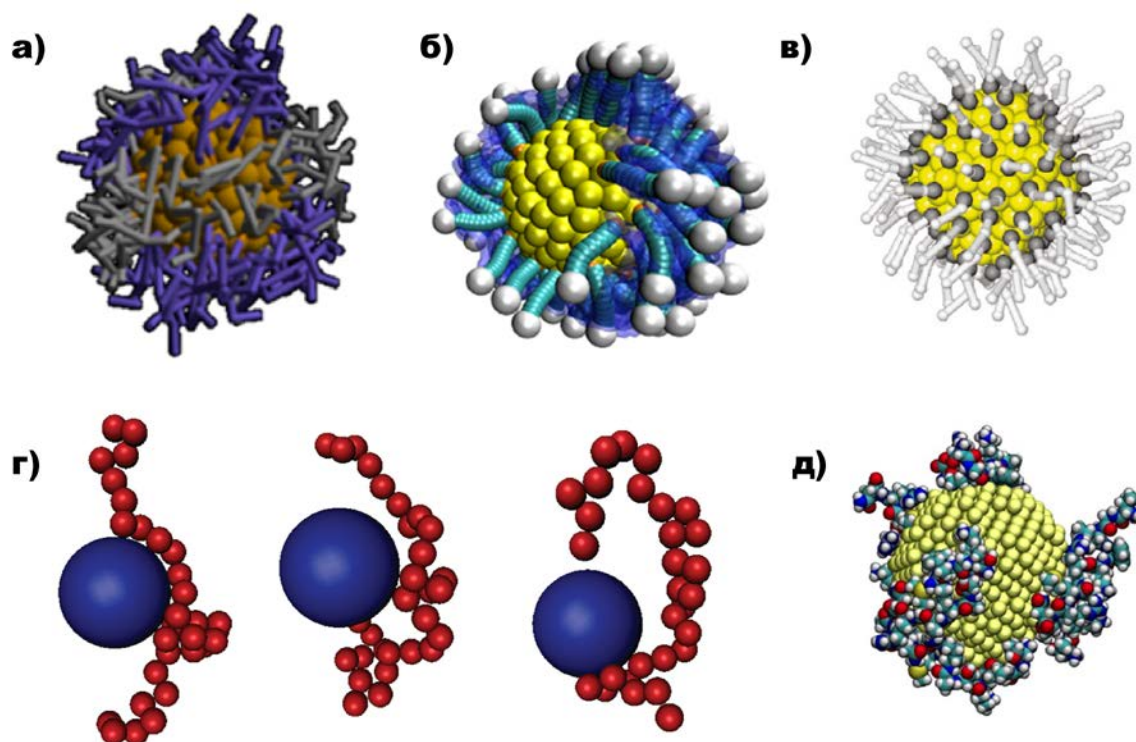


Рис. 1.20 Примеры крупнозернистых моделей функционализированных НЧЗ: (а-б) НЧЗ, стабилизированная низкомолекулярным лигандом (в) НЧЗ, стабилизированная октантиолом [151], (г) крупнозернистая модель наночастица-полимер [152], (д) пептид-стабилизированная наночастица золота [153].

В настоящее время, в дополнение к широкому спектру экспериментальных методов изучения физико-химических свойств НЧ благородных металлов, все более актуальным становится применение методов МД моделирования, которые позволяют установить взаимосвязь экспериментальных данных со строением НЧ на супрамолекулярном уровне [154]. МД моделирование НЧ позволяет прогнозировать их строение, механизм зарождения и роста

в растворе. Методы компьютерной химии позволяют также установить взаимосвязь между химической природой стабилизирующего агента и физическими характеристиками органического покрытия нанобъекта [155].

Широкое применение получило МД моделирование наночастиц серебра и золота, в которых в качестве стабилизирующих агентов выступают алифатические алкилтиолы [155-157], органические несопряженные [A6, A40] и сопряженные полимеры [158, 159], а также пептиды [A8]. В литературе предложен целый набор МД моделей наночастиц, в которых в зависимости от физических размеров нанобъекта и характера стабилизирующего агента, применяется различная степень атомной детализации, варьирующаяся от полноатомной (all-atom) [A7] до так называемой крупнозернистой (*от англ. coarse-grained*) [A30].

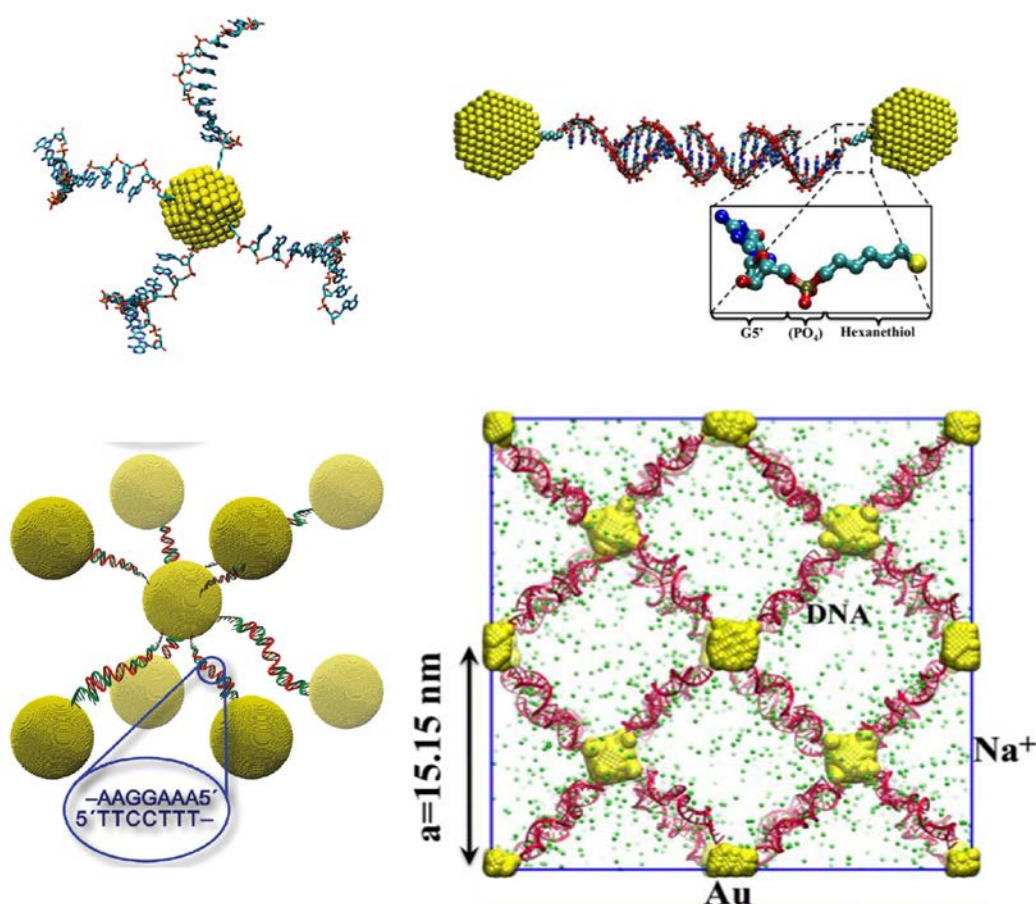


Рис. 1.21 Примеры МД моделирования самосборки ансамблей НЧЗ, упорядоченных и организованных при помощи молекул ДНК.

Крупнозернистые модели силового поля (рис. рис. 1.20) позволяют изучать взаимодействие наночастиц с биообъектами больших размеров, такими как белки и молекулы ДНК [160]. Актуальными являются работы по МД моделированию композитных систем для оптоэлектроники на основе наночастиц, внедренных в полимерные матрицы [161]. В недавних работах было продемонстрировано применение ДНК в качестве темплейта для упорядочивания НЧЗ [162, 163]. Эта технология получила название ДНК-оригами и открывает возможности для создания молекулярных двумерных и трехмерных компьютерных чипов с размером всего 2-4 нм (рис. 1.21) [164, 165].

Таким образом, проведенный литературный обзор показал, что *методы компьютерной химии позволяют прогнозировать физико-химические свойства гибридных органо-неорганических наноразмерных материалов, однако для целей практического применения необходима разработка новых теоретических подходов и методов молекулярно-динамического моделирования, позволяющих в явном виде моделировать функционализированные наночастицы больших размеров (с числом атомов металла 1000-5000), их супрамолекулярные ансамбли и наноконъюгаты с биополимерами, пептидами и белками.* В диссертационной работе решению этой актуальной научной задачи посвящен раздел 5.

1.6 Локализация флуоресцентных маркеров и зондов в липидной мембране

Применение флуоресцентных зондов для изучения строения и динамики физико-химических процессов, проходящих в биологических системах, имеет ряд очевидных преимуществ [A2], среди которых следует выделить: (1) использование низкой концентрации зонда (10^{-7} - 10^{-12} М), что минимизирует его влияние на структуру и биологическую функцию изучаемой

системы, (2) высокую чувствительность флуоресцентного отклика зонда к изменению физических и химических свойств изучаемой системы, (3) тот факт, что большинство физико-химических процессов в биологических системах протекают во временной шкале, совпадающей с временным откликом флуоресцентных методов (10^{-6} - 10^{-12} сек), (4) возможность ратиометрического анализа (*двухполосная флуоресценция*) и одновременного детектирования сигнала в стационарном (*интенсивность и анизотропия*) и время-разрешенном режиме (*время жизни и анизотропия затухания, временная корреляция и кросс-корреляция*).

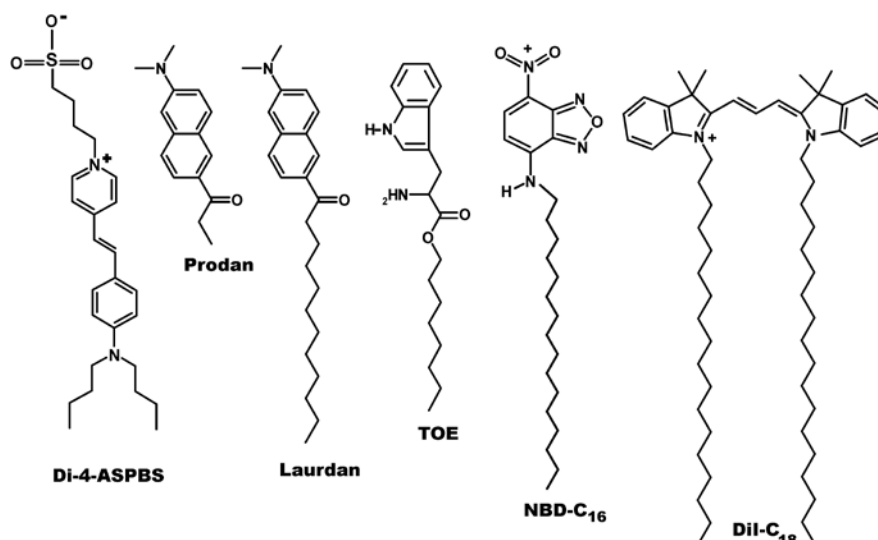


Рис. 1.22 Алкил-функционализированные флуоресцентные зонды: дибутиламино-стильбазолиум бутилсульфонат (di-4-ASPBS), 2-диметиламино-6-пропаноил-нафталин (Prodan), 6-лауроил-2-(диметиламино)-нафталин (Laurdan), октиловый эстер триптофана (TOE), 4-(гексадециламино)-7-нитробенз-2-окса-1,3-диазол (NBD-C₁₆), диоктадецил карбоцианин (DiI-C₁₈).

Флуоресцентные зонды и маркеры на основе азотсодержащих гетероциклических производных индольного ряда являются перспективными и не вызывающими побочных цитотоксических эффектов структурными аналогами природных флуоресцентных производных индола и триптофана [A2]. Одним из потенциальных недостатков этого класса соединений является невозможность надежного фиксирования заданного положения зонда в

мембране и, как результат, широкая область распределения зонда в липидном бислое, достигающая 12-14 Å [A9]. В качестве одного из путей решения этой проблемы традиционно применяется включение в структуру зонда длинных углеводородных радикалов и остатков жирных кислот, выступающих в качестве “якоря”, фиксирующего зонд в мембране (рис. 1.22). Одним из примеров служит октиловый эстер аминокислоты триптофана (*от англ.* *L-Tryptophan Octyl Ester*, **ТОЕ**, рис. 1.22), являющийся удобной моделью для изучения триптофановой флуоресценции пептидов и белков [166-168]. Однако, отмеченная многими авторами [169] высокая степень спектрально-флуоресцентной гетерогенности **ТОЕ** в модельных и биологических мембранах указывает на высокую неоднородность распределения зонда в липидном бислое.

Флуоресцентные аналоги липидов находят широкое применение в различных областях биофизики [A2], в частности, они используются для изучения строения, организации и динамики липидных бислоев биологических мембран [170-175]. Наиболее часто применяемые флуоресцентные липиды показаны на рис. 1.23.

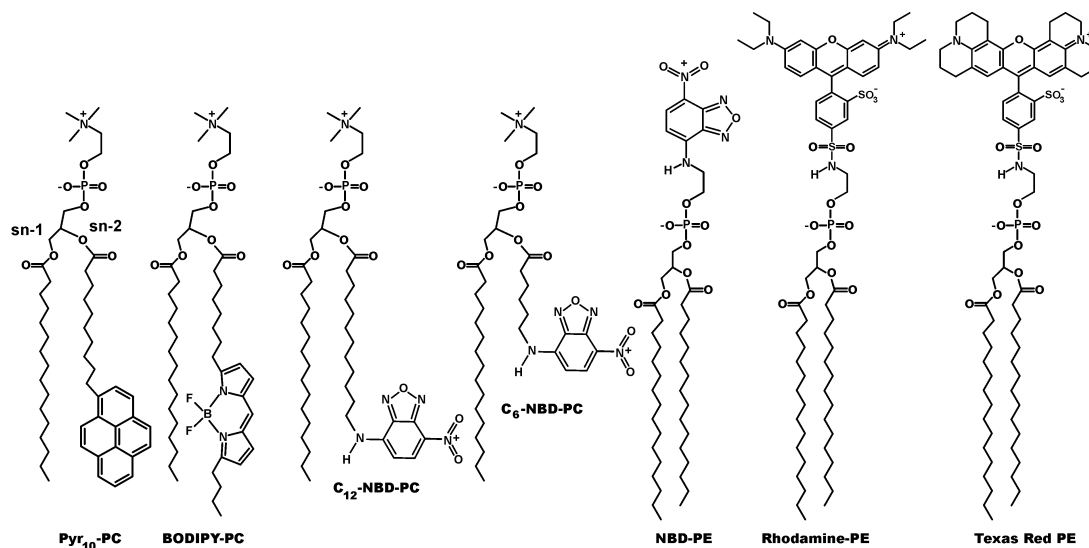


Рис. 1.23 Флуоресцентные липиды: 1-пальмитоил-2-(2-пирендеcanoил)-*sn*-глицеро-3-фосфатидилхолин (Pyr₁₀-PC), 1,2-дипальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфатидилэтаноламин-*N*-(7-нитро-2-1,3-бензоксазодиазол-4-ил) (**NBD-PE**) [A2].

Структурный дизайн липидных зондов основан на ковалентном присоединении флуорофора к гидрофильной части или в различные положения гидрофобного хвоста липида, что позволяет проводить селективный мониторинг физико-химических свойств внутри определенной области липидного бислоя. Во многих случаях, когда речь идет о небольших и неполярных зондах, указанный подход оказывается оправданным. Однако, в случае объемных и полярных флуорофоров, роль липидной молекулы, которая должна выступать в роли “якоря”, оказывается недостаточной, чтобы фиксировать флуорофорный фрагмент в заданной области бислоя [176, 177]. На примере серии зондов, в которых флуорофор NBD, помещался в положения 6 и 12 вдоль ацильного хвоста липида (C_{12} -NBD-PC и C_6 -NBD-PC, рис. 1.23), было показано, что при встраивании таких зондов в мембрану их спектральный сигнал оказывался практически одинаковым, что свидетельствует о близкой области локализации флуорофора в бислое [178]. Этот вывод был впоследствии подтвержден при помощи МД моделирования, которое показало, что в случае двух липидных зондов C_{12} -NBD-PC и C_6 -NBD-PC полярная часть NBD флуорофора располагается предпочтительно в поверхностном слое липидной фазы [179]. Поэтому, несмотря на тот факт, что многие популярные флуоресцентные липидные маркеры и зонды сами по себе считаются калибровочными стандартами в области определения зоны предпочтительной локализации и топологии новых изучаемых флуорофоров, тем не менее, сведения о локализации флуорофорных фрагментов обсуждаемых калибровочных маркеров в липидных мембранах оказываются довольно противоречивыми. Например, литературные данные о локализации флуорофора NBD в липидном маркере **NBD-PE**, который активно используется в изучении тушения флуоресценции других флуорофоров за счет переноса электрона или энергии электронного возбуждения, варьируются в широком интервале: 14.2 Å [180], 18.9 Å [181] и 20.3 Å [182] от центра бислоя. Таким образом, актуальной задачей в современной биофизике является изучение

влияния структурных факторов на предпочтительную локализацию флуорофорного фрагмента липидных маркеров и зондов в биологических объектах [183]. Наиболее перспективным подходом для такого рода исследований является привлечение нескольких независимых экспериментальных методов в комбинации с молекулярно-динамическим моделированием. Преимущества такого подхода хорошо продемонстрированы в недавних обзорах по МД моделированию флуоресцентных зондов в липидных мембранах [184, 185].

В разделе 6.1 предложено решение актуальной научной задачи – *установлены структурно-динамические свойства и физико-химические аспекты взаимодействия ряда флуоресцентных зондов и липидных маркеров с модельным липидным бислоем ФХ посредством МД моделирования равновесного распределения молекул зонда и неравновесного сканирования профиля потенциала средней силы для проникновения молекулы зонда сквозь бислой. Для решения этой задачи изучены спектрально-флуоресцентные свойства ряда флуоресцентных зондов на основе 2-пиридил и 2-пиримидил-индолов. Разработаны и валидированы полноатомная и атомистическая МД модель липидных маркеров TOE, NBD-PE, и Родамин-ФЭ.*

1.6.1 Методы оценки мембранной локализации флуоресцентных зондов по глубинно-зависимому тушению флуоресценции. Конформация и фолдинг пептидов и белков в фосфолипидном бислое определяет их биологическую активность, поэтому информация об этих свойствах является важной для детального изучения механизма связывания, встраивания и топологии мембранных белков. Однако, в большинстве случаев, получение количественных сведений о локализации флуоресцентного зонда в мембране исходя из спектральных данных, таких как положение и форма спектра флуоресценции, а также кинетика затухания флуоресценции, оказывается затруднительным ввиду существенной гетерогенности распределения самого зонда в липидном бислое. Поэтому, в дополнение к указанным характеристикам,

глубина погружения флуорофора может быть рассчитана по его тушению серией липидно-связанных тушителей, в качестве которых могут выступать бромоллипиды или липиды, содержащие парамагнитные группы, такие как ТЕМПО и Доксил [186]. В то время, как бромоллипиды (рис. 1.24) являются эффективными тушителями триптофановой флуоресценции [187], парамагнитные группировки способны тушить флуоресценцию широкого ряда органических флуорофоров, таких как NBD, родамин, биман [171]. Основным постулатом глубинно-зависимого тушения флуоресценции является предположение, что максимальное тушение будет наблюдаться в том случае, когда изучаемый флуорофор и тушитель будут находиться на одной глубине погружения в липидной мембране.

Одним из первых количественных методов расчета глубины погружения зонда в мембрану является подход, предложенный в 1987 году проф. Э. Лондоном, и известный как метод параллакса (*от англ. Parallax method*) [180]. Основное математическое выражение метода описывается ур. 1.2.

$$PM(h) = C\pi(R_c^2 - (h - h_m)^2) \quad (1.2)$$

в котором, R_c - радиус тушения, C – концентрация липидного тушителя. Этот метод основан на количественном сравнении тушения изучаемого зонда двумя разными тушителями, находящимися на разных глубинах в бислое. Наиболее популярными парами тушителей являются 5-Доксил-ФХ/10-Доксил-ФХ и 5-Доксил-ФХ/12-Доксил-ФХ [188]. В случае, если изучаемый зонд располагается в поверхностном слое мембраны, необходимо дополнительное сравнение с тушением ТЕМПО-ФХ, локализованным в поверхностном слое, в области гидрофильных липидных головок [181].

Метод параллакса обладает рядом существенных недостатков. При исследовании тушения изучаемого флуоресцентного зонда выбирается всего пара тушителей, поэтому выбор тушителей накладывает определенные ограничения на область применения самого метода, а именно, необходимы пред-

варительные сведения об зоне локализации изучаемого флуоресцентного зонда.

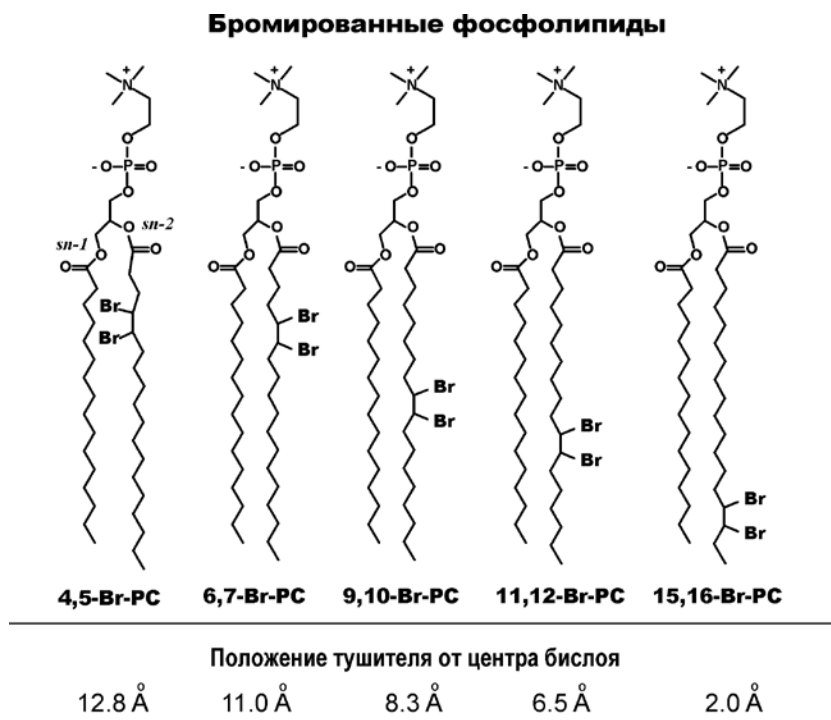


Рис. 1.24 Бромированные липиды как тушители флуоресценции.

Эта проблема может быть минимизирована в случае использования серии тушителей, включающей несколько соединений с тушащей группировкой, находящихся на разной глубине и перекрывающих весь диапазон глубин бислоя, от его поверхности до центра. В этом случае становится возможным реконструировать не только глубинно-зависимый профиль тушения изучаемого флуорофора, но и определить наиболее вероятную глубину погружения флуорофора [189]. Профиль тушения может быть аппроксимирован функцией Лоренца, согласно ур. 1.3.

$$LF(h) = \frac{2A}{\pi} \frac{w}{4(h-h_m)^2 + w^2} \quad (1.3)$$

Приложением вышеуказанных подходов к мембранному тушению является метод распределительного анализа (*от англ.* Distribution Analysis), предложенный проф. А. Ладохиным в 1993 году, и развитый в его последующих работах [167, 189-191]. В этом методе учитываются недостатки преды-

дущих подходов: (i) Целью метода является расчет всего глубинно-зависимого профиля тушения флуорофора в бислое, поэтому для этих целей обязательным является применение серии из 3-5 тушителей, перекрывающих максимально возможный диапазон глубин в мембране. Итоговый профиль аппроксимируется функцией Гаусса, как будет показано ниже. (ii) В случае зондов, находящихся глубоко в гидрофобной части бислоя, для учета их возможного тушения, как за счет тушителей, находящихся с зондом в одном монослое, так и за счет тушителей из противоположного монослоя, в профиль тушения включается вторая функция Гаусса $G(-h)$, которая расположена симметрично относительно шкалы глубины погружения зонда [191]. Итоговое математическое выражение распределительного анализа (РА) описывается ур. 1.4

$$QP(h) = G(h) + G(-h) = \frac{S}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left[-\frac{(h-h_m)^2}{2\sigma^2}\right] + \frac{S}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left[-\frac{(h+h_m)^2}{2\sigma^2}\right] \quad (1.4)$$

В ур. 1.4 используются всего три параметра: h_m – центр профиля тушения, определяющий глубину погружения зонда в бислое, σ – ширина профиля тушения, характеризующая гетерогенность распределения зонда в бислое, S – площадь под кривой тушения, описывающая общую доступность зонда для тушения.

1.6.2 Применение распределительного анализа глубинно-зависимого тушения флуоресценции в медико-биологических исследованиях.

Преимуществом метода распределительного анализа глубинно-зависимого тушения флуоресценции является возможность определения мембранной топологии встраивания широкого ряда мембранных пептидов и белков.

Гликопротеин gp41 вируса иммунодефицита человека. В литературе предложены несколько взаимоисключающих моделей мембранной топологии гликопротеина gp41. Этот результат отчасти связан со сложной четвертичной мембранной структурой белка: Наружная оболочка вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) состоит из липидного бислоя клеточной мембраны клетки хозяина. "Шляпка" гриба, встроенного в мембрану, состоит из четырех молекул поверхностного гликопротеина gp120, который отвечает за связывание с поверхностными рецепторами клетки. "Ножка" гриба формируется из четырех молекул гликопротеина gp41, которые встроены в мембрану и управляют слиянием и проникновением в клетку (рис. 1.25).

В этой модели особый интерес представляет гликопротеин ВИЧ gp41 (рис. 1.25a), который является мембранным белком, способным встраиваться в клетку своим С-концом, при этом, его топологические особенности являются предметом активного обсуждения [192-194]. В недавнем обзоре Д. Ж. Стечбэк и соавторы провели сравнение двух популярных моделей, предложенных для топологии мембранного домена гликопротеина ВИЧ gp41 [192]: (i) традиционная модель, в которой мембранно-проникающий домен (МПД) представляет собой одну трансмембранную (ТМ) α -спираль, состоящую из остатков 684-705 (рис. 1.25б слева) и (ii) альтернативную модель, впервые предложенную М. Ж. Холлиером и Н. Ж. Диммоч [195], в которой МПД пронизывает мембрану в виде трех ТМ β -структур (рис. 1.25б справа).

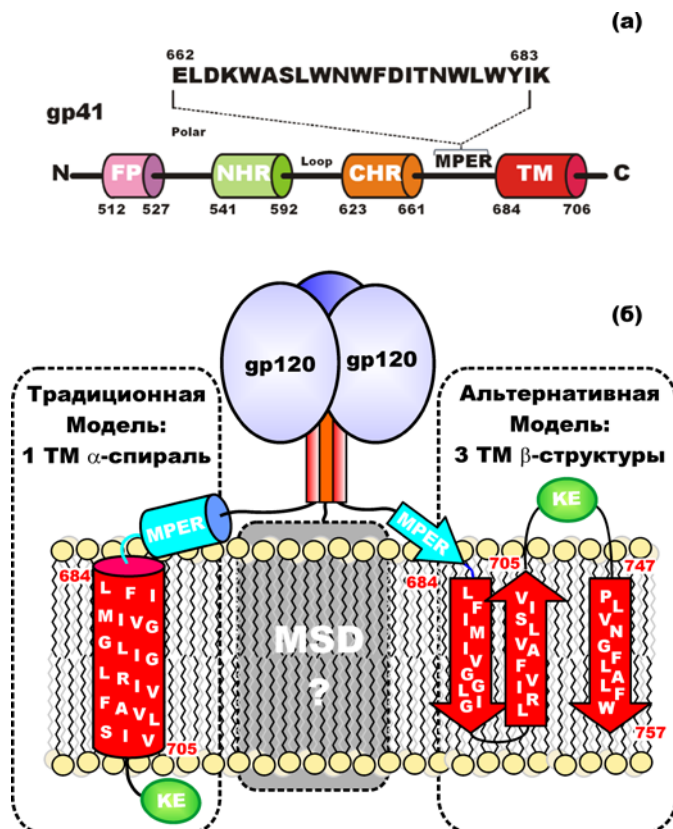


Рис. 1.25 Возможные топологические модели МПД гликопротеина gp41.

В настоящее время, традиционная модель не в состоянии объяснить известные экспериментальные данные, в частности мембранную топологию фрагмента эпитопа Кеннеди (*от англ.* Kennedy epitope (KE), рис. 1.25) [194]. Альтернативная модель решает эту проблему, однако, при этом сама модель находится в противоречии с основополагающими термодинамическими принципами белок-мембранных взаимодействий. Многие авторы выделяют в gp41 также важный гидрофобный фрагмент 662-683, обозначаемый как **MPER** (*от англ.* **m**embrane **p**roximal **e**ctodomain **r**egion), который в традиционной модели предшествует ТМ α -спирали и является поверхностным доменом, доступным для ВИЧ-1-антител [196, 197]. Поэтому, *понимание топологической модели MPER является ключевым при поиске новых ВИЧ-антител* [192-195, 197, 198]. Решению этой актуальной научной задачи будет посвящен раздел 6.5.

Выводы к Разделу 1

Проведенный литературный анализ показал, что фотоника полиядерных азотсодержащих гетероциклов играет ключевую роль во многих научно-практических приложениях, однако некоторые важные физико-химические аспекты фотоиндуцированных процессов, таких как перенос протона с участием молекул растворителя и дальнедействующий перенос энергии в полихромофорных системах изучены недостаточно, а именно:

- основное внимание уделено азотсодержащим гетероциклическим системам на основе 7-азаиндола, в то время как вопрос о влиянии топологии протонодонорных и протоноакцепторных гетероциклов на физико-химию переноса протона с участием молекул протонного растворителя требует дальнейшего изучения.

- в полиядерных системах на основе порфирина типа донор-мостик-акцептор не выяснена роль мостиковой группировки в дальнедействующем синглет-синглетном и триплет-триплетном переносе энергии электронного возбуждения с порфирина-донора на порфирин-акцептор.

Литературный анализ показал недостаток современных теоретических подходов и методов молекулярно-динамического моделирования, позволяющих прогнозировать физико-химические свойства функционализированных наночастиц благородных металлов, их супрамолекулярных ансамблей и наноконъюгатов с биополимерами, пептидами и белками. Показано, что наиболее перспективным подходом для решения ряда биофизических задач является привлечение методов флуоресцентной спектроскопии в комбинации с молекулярно-динамическим моделированием.

РАЗДЕЛ 2

МАТЕРИАЛЫ, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

Во втором разделе кратко описаны методы приготовления образцов, описано использованное спектральное оборудование, приведены методики выполнения экспериментов, описание квантово-химических расчетов, теоретических методов и молекулярно-динамической параметризации, а также приведено обоснование применяемых методов исследования.

2.1 Материалы и приготовление образцов

Синтез и очистка соед. **3.1-3.11** выполнены в лаборатории проф. Р. Тхуммела (Университет Хьюстона, Техас, США), как описано в работах [199, 200].

2.2 Спектральные измерения

2.2.1 Электронная абсорбционная спектроскопия. Электронные спектры поглощения в УФ и видимой области спектра были измерены на спектрофотометрах: Hitachi U3210, Shimadzu UV3100 и Cary Varian. Оптическая плотность растворов не превышала 0.5 при оптическом пути 1 см.

2.2.2 Флуоресценция при стационарном возбуждении. Спектры флуоресценции были измерены на флуориметрах: Hitachi F4010, Edinburgh FS 900 CDT (Edinburgh Analytical Instruments, Эдинбург, Англия) и SPEX Fluorolog FL3-22 (Jobin Yvon, Эдисон, США), последний был оснащен двойным монохроматором.

2.2.3 Флуоресценция при импульсном возбуждении. Кинетика затухания флуоресценции измерялась при помощи флуориметров Edinburgh FL 900 CDT (Edinburgh Analytical Instruments, Эдинбург, Англия) и FluoTime 200 (PicoQuant, Берлин, Германия). Измерения кинетики затухания флуоресценции были основаны на принципе стандартной схемы время-скоррелированных одиночных фотонов [201]. Возбуждение флуоресценции происходило

на длине волны 439 нм при помощи наносекундного диодного лазера LDH 440 (PicoQuant, Берлин, Германия), излучающего с частотой 10 МГц. Излучаемая флуоресценция измерялась на определенной длине волны при помощи монохроматора Sciencetech Model 9030 и PMA-182 в качестве детектора. Анализ кинетических кривых выполнялся при помощи программы FluoFit 4.0.

2.2.4 Лазерно-индуцированная флуоресценция в условиях сверхзвуковой струи. Изоляция в условиях сверхзвуковой струи достигалась за счет испарения образца, нагретого до 380 К, в потоке гелия, подаваемого под давлением 3 Бар через пульсирующее сопло (General Valve 9, диаметр 0.5 мм) в вакуумную камеру (остаточное давление 10^{-7} Бар). Эксперименты были выполнены на оборудовании Лазерного центра Института физической химии АН Польши, Варшава.

2.2.5 Спектроскопия кругового дихроизма. Спектры кругового дихроизма измерены на спектрополяриметре Jasco-720 (Jasco, Токио, Япония). Процедура измерения включала накопление и усреднение до 40–80 спектров в диапазоне 190–260 нм с шагом 1 нм [202]. Измерения проводились в кварцевой кювете с оптическим путем 1 мм при температуре 20° С. Все спектры были скорректированы на фоновый сигнал.

2.3 Метод низкотемпературной изоляции матрице инертных газов. Матричное напыление выполнялось на охлажденную подложку, изготовленную из сапфирового стекла или из KBr с использованием криостатов закрытого типа двух модификаций: Displex 202 (Air Products) или CSW-202 N (Advanced Research Systems). Образцы порфирина или порфицена помещались в поток газообразного ксенона, нагретый до температуры 440–480 К. Напыление аргоновой или ксеноновой матриц производилось на охлажденную подложку, температура которой составляла 25–30 К или 55–60 К, соответственно. ИК спектры измерялись на FTIR спектрометре NICOLET SX 170.

Эксперименты были выполнены на оборудовании Лазерного центра Института физической химии АН Польши, Варшава.

2.4 Методика расчета размеров наночастиц по электронным спектрам поглощения. Одним из приемов оценки диаметра неорганического ядра наночастицы золота является метод, основанный на сравнении оптической плотности раствора, измеренной на двух разных длинах волн: первое измерение всегда выполняется на длине волны 450 нм (A_{450}), в то время как второе измерение выполняется на длине волны максимума полосы плазмонного поглощения (A_x), который, как правило, расположен в диапазоне 480-530 нм [203]. Указанный метод обладает рядом экспериментальных недостатков. Спектральное положение максимума и форма полосы плазмонного поглощения наночастицы является функцией не только ее диаметра, они также чувствительны к изменениям диэлектрической постоянной растворителя и к степени агломерации самих наночастиц в растворе [204].

Расчет числа атомов золота, входящих в состав наночастицы определенного диаметра, производился согласно ур. 2.1 [204].

$$n = \frac{N_A \pi \rho D^3}{6M} \quad (2.1)$$

в котором N_A – постоянная Авагадро ($6,022 \cdot 10^{23}$), ρ – плотность золота ($19,3 \text{ г/см}^{-3}$), D – диаметр НЧЗ в сантиметрах, и M – атомная масса золота (197 г/моль).

2.5 Методика расчета коэффициента распределения в системе вода-липидный бислой. Коэффициент распределения (K_p) флуоресцентного зонда между буферным раствором и липидным бислоем оценивался по результатам флуориметрического титрования. Изменения интенсивности флуоресценции (I_i) зонда на фиксированной длине волны обрабатывались по ур. 2.2 с помощью метода наименьших квадратов:

$$I_i([L]) = I_0 + (I_{\max} - I_0) \frac{K_p [L]}{[W] + K_p [L]} \quad (2.2)$$

здесь I_0 - исходная интенсивность флуоресценции зонда в водном растворе в отсутствие БУВ; I_{max} - максимальная интенсивность флуоресценции зонда, наблюдаемая при полном связывании, $[L]$ - молярная концентрация липида, $[W]$ - молярная концентрация воды (55.3 моль) [205]. Свободная энергия Гиббса для процесса распределения зонда в системе вода-бислой рассчитывалась из оцененного выше коэффициента распределения по ур. 2.3.

$$\Delta G = -RT \ln K_p \quad (2.3)$$

2.6 Распределительный анализ глубинно-зависимого тушения флуоресцентного зонда в липидном бислое. Глубина погружения флуоресцентного зонда в липидный бислой может быть рассчитана при помощи сравнения эффективности тушения его флуоресценции различными парамагнитными липидными тушителями, у которых парамагнитная метка расположена на разной глубине погружения в бислой [186]. Максимальное тушение флуоресценции зонда будет наблюдаться для парамагнитного тушителя, который будет находиться с зондом на одной глубине в липидной мембране. Использование серии из 3-5 парамагнитных липидных тушителей позволяет реконструировать весь профиль глубинно-зависимого тушения зонда при помощи функции Гаусса, параметры которой определяют область вероятной локализации зонда в бислое.

Для этих целей была применена усовершенствованная процедура распределительного анализа (РА) глубинно-зависимого тушения флуоресценции [A10, A33], итоговое математическое выражение которого описывается ур. 2.4

$$QP(h) = G(h) + G(-h) = \frac{S}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left[-\frac{(h-h_m)^2}{2\sigma^2}\right] + \frac{S}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left[-\frac{(h+h_m)^2}{2\sigma^2}\right] \quad (2.4)$$

В ур. 2.4 используются всего три параметра: h_m - центр профиля тушения, определяющий глубину погружения зонда в бислой, σ - ширина профиля тушения, характеризующая гетерогенность распределения зонда в

бислое, S – площадь под кривой распределения, описывающая общую доступность зонда для тушения. Для флуоресцентных зондов, находящихся глубоко в гидрофобной части бислоя, для учета их возможного тушения, как за счет тушителей, находящихся с зондом в одном монослое ($G(h)$), так и за счет тушителей из противоположного монослоя, в ур. 2.4 включена вторая симметричная функция Гаусса ($G(-h)$).

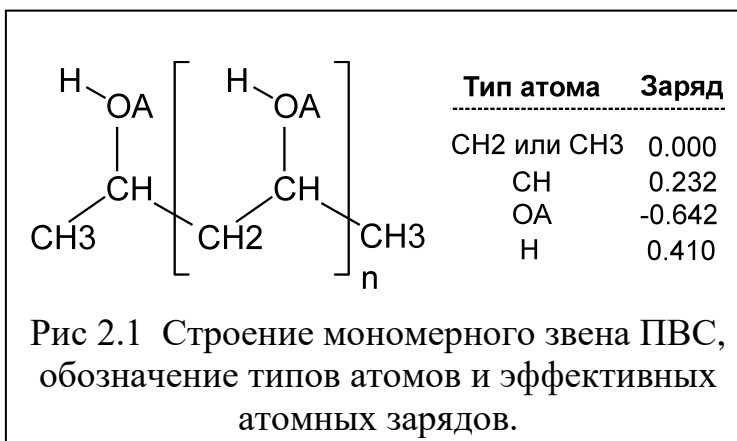
2.7 Квантово-химические расчеты. Квантово-химические расчеты выполнялись с использованием пакета программ GAUSSIAN, версии G98 [206], G03 [206] и G09 [207]. В работе проводилась оптимизация геометрических параметров молекул в рамках теории функционала плотности (*англ.* DFT) и теории возмущения второго порядка (*англ.* MP2), а также нестационарного метода функционала плотности (*англ.* TD-DFT).

Оптимизация геометрии молекул и расчет частот нормальных колебаний в возбужденном состоянии выполнялись с применением метода TD-DFT с учетом аналитических градиентов [208]. Энергии вертикальных переходов $S_0 \rightarrow S_1$ рассчитывались с использованием нескольких квантово-химических подходов, таких как TD-DFT, мультikonфигурационного самосогласованного поля (*англ.* multi-configuration self-consistent field, MCSCF в варианте полного активного пространства - CASSCF) и теория связанных кластеров второго порядка (*англ.* second-order approximate coupled-cluster, CC2) [209, 210] с применением программных пакетов GAUSSIAN и TURBOMOLE, версия 5.7 [211], а также GAMESS [212].

При расчетах с участием атомов золота и серебра применялся релятивистский эффективный остоновый псевдопотенциал LANL2DZ (Los Alamos National Laboratory 2 double ζ) [213].

2.8 Молекулярно-динамическое моделирование

2.8.1 Силовое поле поливинилового спирта. В литературе предложен целый ряд моделей силового поля ПВС, различающихся по степени атомной детализации [214-216]. В данной работе, параметры силового поля ПВС были адаптированы из работы [217], в которой авторы провели сравнительный анализ и рекомендовали силовое поле GROMOS G45a4 в качестве наиболее подходящего для описания физико-химических



свойств ПВС в разбавленном водном растворе. В указанном силовом поле атомные фрагменты CH₃, CH₂ и CH описываются одним общим центром взаимодействия (рис. 2.1). Такой подход известен в литературе как “united atom”. Обозначение OA относится к атому кислорода в гидроксильной группе спиртов.

2.8.2 Силовое поле наночастицы серебра. В литературе предложен целый ряд парных потенциалов, описывающих взаимодействие между атомами благородных металлов, как в кристалле, так и расплаве в широком диапазоне температур [218-220]. В данной работе, взаимодействие между атомами серебра описывалось потенциалом Леннарда-Джонса 12-6 (ур. 2.5) с применением параметров $\sigma=0.2995$ нм и $\epsilon=19.05865$ кДж/моль [221].

$$V_{LJ}(r_{ij}) = 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (2.5)$$

Параметры потенциала Леннарда-Джонса для расчета нековалентных взаимодействий между атомами серебра и остальными атомами, включая атомы воды, вычислялись по ур. 2.6 и 2.7 [222].

$$\sigma_{ij} = \frac{1}{2}(\sigma_{ii} + \sigma_{jj}) \quad (2.6)$$

$$\varepsilon_{ij} = (\varepsilon_{ii} \times \varepsilon_{jj})^{\frac{1}{2}} \quad (2.7)$$

Используемые нами параметры σ и ε хорошо воспроизводят кубическую гранецентрированную кристаллическую упаковку атомов серебра в ядре наночастицы, как показано на рис. 2.2 в виде функции радиальной распределения Ag-Ag. МД моделирование было выполнено для NPT-ансамбля с использованием программного пакета GROMACS 4.5.5 [222] в кубической ячейке с периодическими граничными условиями. Постоянная температура в системе поддерживалась посредством термостата Берендсена [223], в котором отклонение текущей температуры

(T_i) от равновесного значения (T_0) корректируется экспоненциально со временем отклика равным 0.1 пс. Давление в системе контролировалось с помощью баростата Берендсена [223], в котором для его приведения к равновесному значению (P_0) в конце каждого шага интегрирования происходит перерасчет

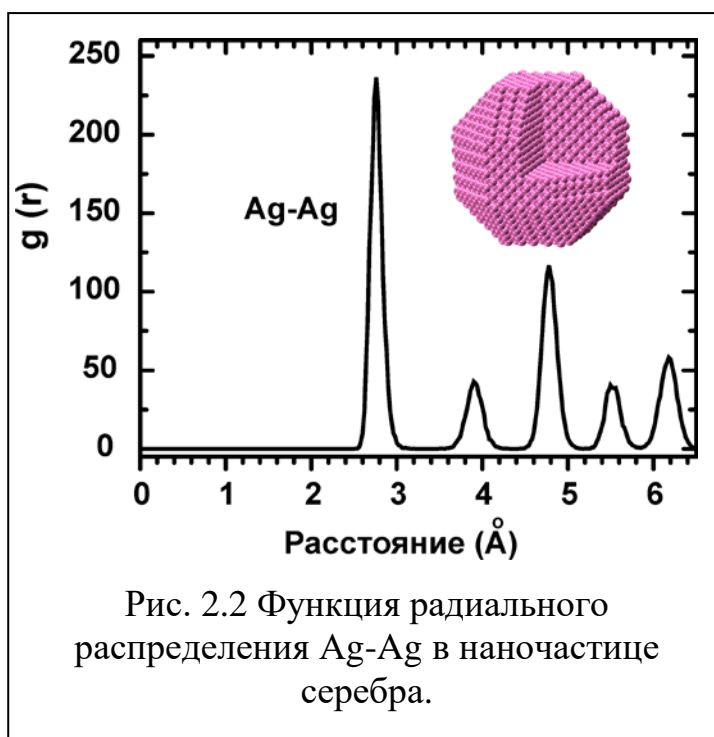


Рис. 2.2 Функция радиального распределения Ag-Ag в наночастице серебра.

координат и линейных размеров ячейки со временем релаксации 1 пс. Радиус отсечения Кулоновского потенциала равнялся 0.8 нм. Параметры силового поля воды были основаны на трехцентровой модели SPC [224]. Шаг интегрирования составлял 2 фс. Визуализация результатов МД моделирования выполнялась с помощью программы VMD 1.8.6 [225].

2.8.3 Силовое поле НЧЗ-rHLIP. Силовое поле для НЧЗ, функционализированной мономалеимид-rHLIP-пептидом (НЧЗ-rHLIP), было разработано для системы, сольватированной в водном растворе NaCl (0.1 моль/л) при pH 7 по следующей процедуре: неорганическое ядро НЧЗ описывалось квазисферическим микрокристаллом (гранецентрированная кубическая решетка) с диаметром 1.4 нм, состоящим из 135 атомов золота. Один из атомов Au был ковалентно связан с атомом азота малеимидного линкера, как показано на рис. 2.3. Геометрия этого линкера была получена с помощью квантово-химических расчетов на примере изолированной молекулы Au-малеимид-S-CH₂-CH₃, как показано на рис. 2.3. Для этих целей нами была выполнена оптимизация геометрии и определены энергетические параметры торсионного вращения фрагмента C-S-CH₂-CH₃, который обеспечивает сочленение неорганического ядра с пептидом rHLIP. Оптимизация геометрии была выполнена с использованием метода UMP2 в смешанном базисном наборе: cc-pVDZ для всех атомов кроме Au, для которого применялся базисный набор и псевдопотенциал LANL2DZ [213].

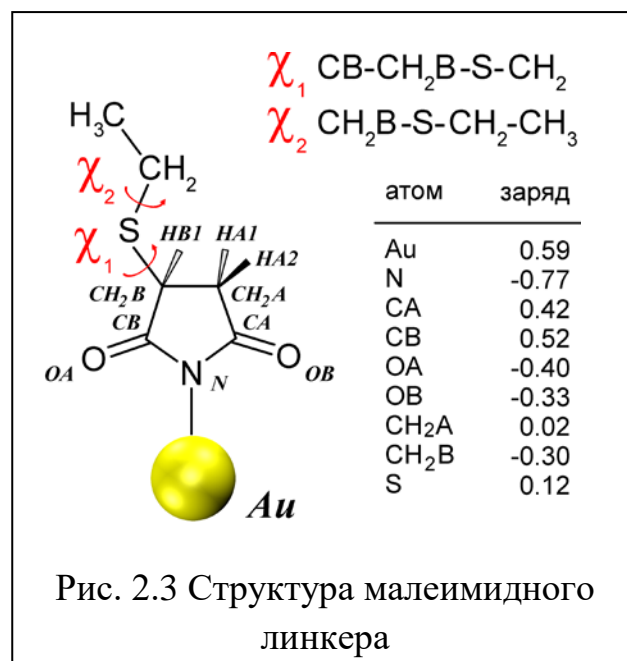


Рис. 2.3 Структура малеимидного линкера

Пептид rHLIP (ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADET) был ковалентно связан своим цистеиновым остатком (C2) через малеимидную группировку с неорганическим ядром. Параметры силового поля пептида были адаптированы из двух популярных полноатомных силовых полей AMBER03 [226] и OPLS-AA [227]. Дополнительно, параметры силового поля пептида были адаптированы из трех версий полноатомного силового поля CHARMM, согласно его последней имплементации в МД пакет GROMACS

[228]: версия CHARMM22* [229] (уточненная параметризация торсионных потенциалов пептидных связей), CHARMM27 [230] (введен дополнительный потенциал СМАР для пептидных связей) и CHARMM36 [231] (расширенная параметризация для липидов и бислоев). Для сравнения производительности упомянутых полноатомных силовых полей, параметризация пептида была также адаптирована из биомолекулярного силового поля GROMOS G53A6 [232], в котором пептидные группировки CH_3 , CH_2 и CH описывались общим центром взаимодействия (united-atom).

2.8.4 Расчет потенциала средней силы. Энергетический профиль свободной энергии (ΔG) для перемещения флуоресцентного зонда сквозь липидный бислой рассчитан по методу потенциала средней силы (ПСС, *от англ.* potential mean force, PMF) [222]. При расчете ΔG выбрана реакционная координата Z , направленная перпендикулярно плоскости поверхности бислоя (рис. 2.4а).

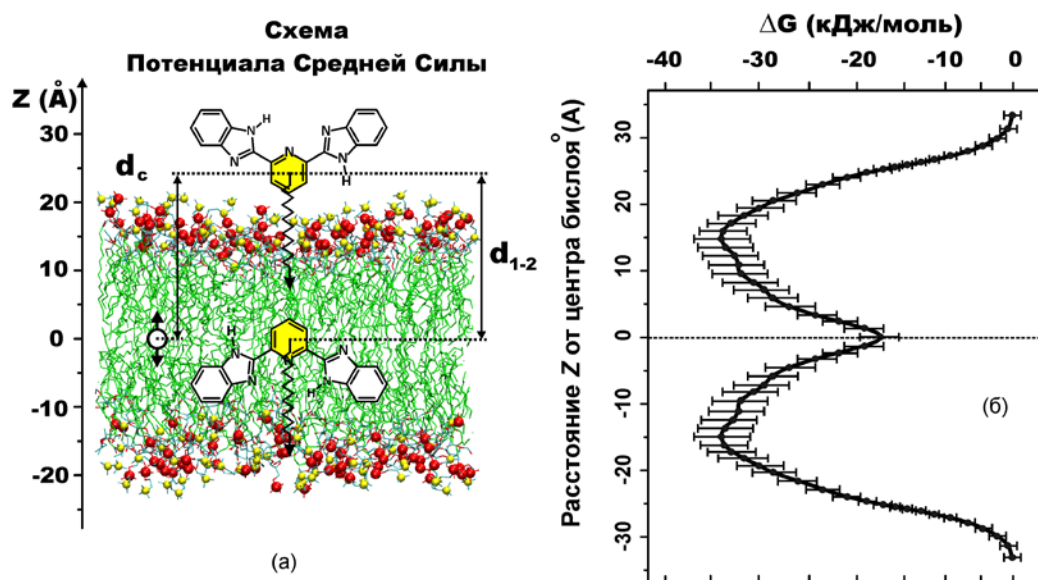


Рис. 2.4 (а) Схематическое изображение выбора реакционной координаты при расчете энергетического профиля ПСС для одновременного перемещения двух молекул зонда **ВВР** сквозь липидный бислой **ФХ**. (б) Пример рассчитанного профиля ПСС для зонда **ВВР**.

При сканировании положения зонда в бислое в направлении реакционной координаты Z , величина ΔG рассчитана из Z -компоненты силы (F_z), действующей на молекулу, по ур. 2.8. Заданное положение зонда d_c в выбранных дискретных точках вдоль реакционной координаты фиксировалось при помощи “удерживающей силы” (*от англ.* constraint force), задаваемой гармоническим потенциалом с силовой постоянной $1500 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{нм}^{-2}$. Таким образом, градиент ПСС по модулю равен средней по ансамблю силе, действующей в данной точке на частицу со стороны всей остальной системы. Изменение ΔG между положением молекулы зонда в двух разных точках z_1 и z_2 рассчитано по ур. 2.8.

$$\Delta G = \Delta G_{z_2} - \Delta G_{z_1} = - \int_{z_1}^{z_2} \langle F_z \rangle_z dz \quad (2.8)$$

Значения вектора силы F_z были рассчитаны для каждой фиксированной точки z_i на реакционной координате методом МД моделирования в NPT ансамбле (298 К) путем усреднения $\langle F_z \rangle$ на протяжении 2 нс (10^4 независимых конфигураций системы). Профиль ПСС рассчитан из значений $\langle F_z \rangle$ по методу взвешенных гистограмм (*от англ.* weighted histogram analysis method) [233]. При расчете ПСС выбиралось от 30 до 35 точек вдоль координаты z . Пример ПСС для зонда ВВР (раздел 6.1.2) показан на рис. 2.4б.

Выводы к Разделу 2

В разделе представлены методики приготовления образцов, перечислено использованное спектральное оборудование для флуоресцентной спектроскопии при стационарном и импульсном возбуждении. Представлена методика расчета диаметра наночастиц золота по их электронным спектрам поглощения. Описаны использованные методы квантово-химических расчетов. Приведена методика оптимизации и валидации параметров силового поля для наночастиц золота и серебра, описано построение МД моделей для поливинилпироллидона и поливинилового спирта.

РАЗДЕЛ 3

ФОТОНИКА АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ ИНДОЛЬНЫЕ, ПИРРОЛЬНЫЕ, ПИРИДИНОВЫЕ И ХИНОЛИНОВЫЕ ЦИКЛЫ

Фотофизика бифункциональных гетероциклических соединений, объединяющих в одной молекуле протонодонорный и протоноакцепторный фрагменты, традиционно вызывает повышенный интерес [234, 235]. В таких системах в качестве протонодонорных гетероциклов могут выступать пиррольный, индольный или карбазольный циклы. Протоноакцепторной фрагмент может быть представлен пиридиновым или хинолиновым циклами. Особенностью фотофизики такого рода бифункциональных систем является то, что при переходе в электронно-возбужденное синглетное состояние эти соединения демонстрируют сложную последовательность физико-химических процессов, индуцированных образованием ММВС между флуорофором и молекулами гидроксилсодержащих растворителей [1, 234, 235]. В указанных системах один из гетероциклов способен выступать в качестве донора ВС, в то время как второй гетероциклический фрагмент может быть акцептором ВС [5]. Электронное возбуждение таких систем приводит к значительным кооперативным изменениям кислотно-основных свойств донорного и акцепторного фрагмента флуорофора [4]. В свою очередь, указанные фотоиндуцированные изменения кислотно-основных свойств создают необходимую движущую силу для переноса протона донорного цикла, содержащего группу NH, на пиридиновый или хинолиновый атом нитрогена акцепторного цикла. В случае благоприятного взаимного расположения этих циклов в молекуле, между ними возможно образование устойчивой ВМВС; в таких случаях фотоперенос протона может проходить по внутримолекулярному механизму [A1]. В противном случае, т.е. если донорная и акцепторная группа удалены друг от друга на расстояния, превышающие среднюю длину ВС, фотоперенос

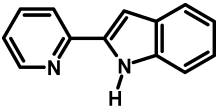
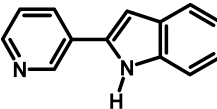
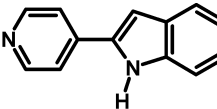
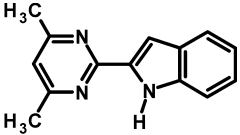
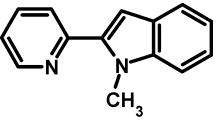
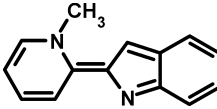
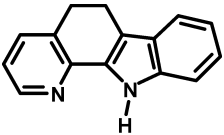
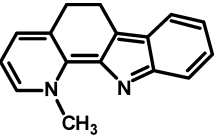
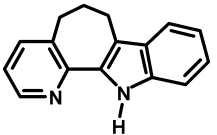
протона все еще остается возможным, однако в этом случае, для его реализации необходимо образование водородосвязанного мостика с участием дополнительного партнера, как правило, - молекулы гидроксилсодержащего растворителя [4]. В ряде работ было показано, что, в зависимости от топологии донора и акцептора, одна или несколько молекул воды или спирта способны образовывать циклический мостик из ВС, соединяющий упоминаемые выше центры протолитических взаимодействий флуорофора [2, 7, 8]. В таких циклических ВСК флуорофора с молекулами растворителя фотовозбуждение может приводить к миграции протонов по цепочке ВС, обуславливая, в конечном итоге, перенос протона от донорного на протоноакцепторный гетероцикл [236-238].

3.1 Тушение флуоресценции производных пиридилиндола в спиртовых и водных растворах

В табл. 3.1 приведены структурные формулы объектов исследования данного раздела – производных 2-пиридилиндола, а также ряда модельных соединений. На рис. 3.1 представлены электронные спектры поглощения соед. **3.1** и **3.5м** (табл. 3.1), измеренные в растворителях различной природы: в неполярном *n*-гексане, в полярном апротонном ацетонитриле и гидроксилсодержащем 1-пропаноле. Для указанных соединений наблюдается незначительное смещение первой полосы поглощения в коротковолновую область спектра при переходе от *n*-гексана к ацетонитрилу, которое также сопровождается исчезновением характерной колебательной структуры. В 1-пропаноле наблюдается смещение первой полосы поглощения в противоположном направлении, в длинноволновую область (рис. 3.1), что свидетельствует о появлении специфических межмолекулярных взаимодействий между хромофором и молекулами растворителя.

Таблица 3.1

Азотсодержащие гетероциклические производные и модельные соединения, содержащие пиридиновый, пиримидиновый и индольный циклы

 <p>2-(2'-пиридил)индол (3.1)</p>	 <p>2-(3'-пиридил)индол (3.2)</p>	 <p>2-(4'-пиридил)индол (3.3)</p>
 <p>2-[2'-(4',6'-диметил- пиримидил)]-индол (3.4)</p>	 <p>2-(2'-пиридил)-N- метил-индол (3.5м)</p>	 <p>1-метил-2-(2'- индолинилден)-1,2- дигидропиридин (3.5т)</p>
 <p>3,3'-диметилен-2-(2'- пиридил)индол (3.6)</p>	 <p>1-метил-3,3'-диметилен- 2-(2-индолинилиден)- 1,2-дигидропиридин (3.6т)</p>	 <p>3,3'-триметилен-2- (2'-пиридил)индол (3.7)</p>

В ряде работ [2, 6, 7] было показано, что специфические межмолекулярные взаимодействия производных 2-пиридилиндола в гидроксилсодержащих растворителях обусловлены образованием ММВС между индольным гетероциклом и молекулами растворителя. Этот вывод подтверждается тем фактом, что длинноволновое смещение наблюдается только в спектрах соед. **3.1** в 1-пропанол, но при этом указанный эффект отсутствует у модельного соед. **3.5м**, у которого метилирование индольной NH группы блокирует возможность образования ВС (рис. 3.1в). Ранее было показано [6, 7], что для соед.

3.1 характерны ММВС с молекулами спирта типа $N-H \cdots O$, в которых гидроксильная группа спирта выступает акцептором ВС. Этот вывод подтверждается также тем, что аналогичное длинноволновое спектральное смещение наблюдается для соед. **3.1** в апротонном ДМСО, который способен выступать только в роли акцептора ММВС [7].

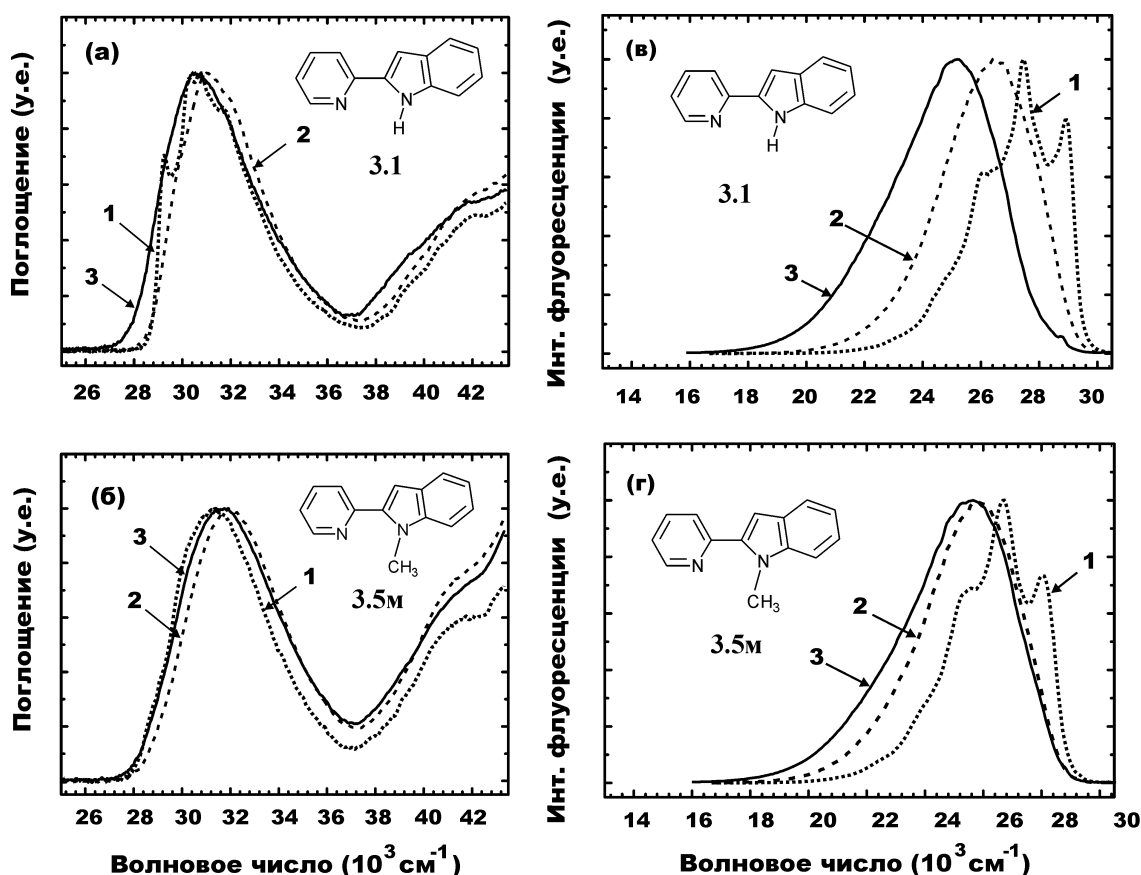


Рис. 3.1 Электронные спектры поглощения и флуоресценции соед. **3.1** и **3.5m**, измеренные в растворителях различной природы: *n*-гексане (1), ацетонитриле (2), 1-пропанол (3).

В спектрах флуоресценции соед. **3.1** наблюдается bathochromic смещение при переходе от *n*-гексана к ацетонитрилу и 1-пропанолу (рис. 3.1в). Общее уширение и bathochromic смещение спектра соед. **3.1** в 1-пропанолу становится особенно заметным при сравнении с модельным соед. **3.5m** (рис. 3.1г).

Таблица 3.2

Спектрально-флуоресцентные характеристики изученных соединений

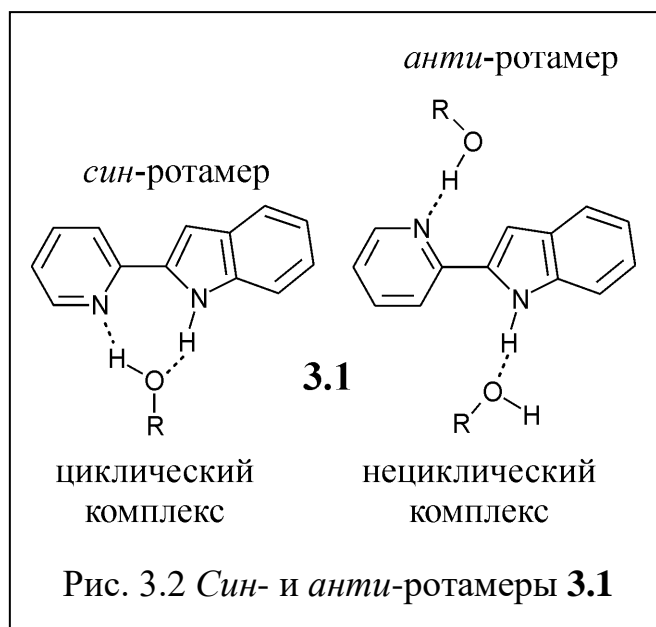
Растворитель	$\nu_{\text{полгл}}^{\text{а}}$ [10^3 см^{-1}]	$\nu_{\text{фл}}^{\text{б}}$ [10^3 см^{-1}]	$\phi_{\text{фл}}^{\text{в}}$	$\tau_{\text{фл}}^{\text{г}}$ [нс]	$k_{\text{r}} \times 10^7^{\text{д}}$ [с $^{-1}$]	$k_{\text{nr}} \times 10^9^{\text{е}}$ [с $^{-1}$]
Соед. 3.1						
<i>n</i> -гексан	30.80	27.50	0.48	1.3	38.4	0.42
ацетонитрил	31.00	26.45	0.53	1.8	30.3	0.27
1-пропанол	30.40	24.60	0.12	3.2 (τ_1) ^ж <0.2(τ_2) ^ж		
Соед. 3.2						
<i>n</i> -гексан	31.40	27.50	0.99	2.0	49.5	0.005
ацетонитрил	32.00	25.80	0.98	3.4	28.8	0.006
1-пропанол	31.30	25.25	0.05	≤0.4	≥12.5	≥2.4
Соед. 3.3						
<i>n</i> -гексан	32.20	27.75	0.83	1.6	52.0	0.1
ацетонитрил	31.10	26.00	0.88	3.0	29.5	0.04
1-пропанол	30.00	25.55	0.73	2.7	27.1	0.1
Соед. 3.4						
<i>n</i> -гексан	30.85	27.45	0.62	1.7	36.5	0.2
ацетонитрил	31.30	26.30	0.70	2.4	29.1	0.1
1-пропанол	30.50	25.80	0.02	<0.3	>6.7	>3.3
Соед. 3.5м						
<i>n</i> -гексан	31.40	26.80	0.51	1.9	27.1	0.26
ацетонитрил	31.95	25.80	0.61	2.5	24.4	0.16
1-пропанол	31.70	25.30	0.09	0.6	16.3	1.65
Соед. 3.6						
<i>n</i> -гексан	29.60	26.35	0.50	1.3	38.5	0.4
ацетонитрил	29.65	25.70	0.38	1.8	21.1	0.3
1-пропанол						
F ₁	29.05	25.50	0.006	~0.2	3.0	4.9
F ₂		14.90	0.0004	~0.2	0.2	5.0

^а максимум длинноволновой полосы поглощения; ^б максимум спектра флуоресценции; ^в квантовый выход флуоресценции; ^г время жизни флуоресценции; ^д константа излучательного перехода $S_1 \rightarrow S_0$; ^е сумма констант безызлучательной дезактивации $S_1 \rightarrow S_0$; ^ж двух-экспоненциальное затухание флуоресценции

Анализ спектров флуоресценции соед. **3.1** и **3.5м** в растворителях различной природы указывает на существенную роль ММВС типа N-H...O, которые в случае соед. **3.1** могут образовываться с молекулами спирта. Наиболее существенным результатом является тот факт, что при переходе от *n*-

гексана к 1-пропанолу, для обоих соед. **3.1** и **3.5м** наблюдается уменьшение квантового выхода флуоресценции от величин порядка 0.5 до 0.1 (табл. 3.2). Интересной спектральной особенностью соед. **3.1** в 1-пропаноле является появление в кинетике затухания флуоресценции дополнительной быстро затухающей компоненты ($\tau_2 < 0.2$ нс), которой не наблюдается в случае модельного соед. **3.5м** (табл. 3.2) [A19]. Феномен тушения флуоресценции производных 2-пиридилиндолов в спиртовых растворах ранее упоминался в работах [2, 6], однако вопрос об его механизме оставался открытым.

Известно, что соед. **3.1-3.2** и **3.5м** могут находиться в растворе в виде двух ротамерных *син*- и *анти*-форм (рис. 3.2). В спиртовых растворах обе эти формы могут образовывать ММВС, в которых пиридиллиндолы **3.1-3.2** будут выступать в роли как донора, так и акцептора ВС [A59]. Соед. **3.5м** может выступать только акцептором ВС. Спектр флуоресценции соед. **3.4** в 1-пропаноле обнаруживает не-



большое батохромное смещение по сравнению со спектром в ацетонитриле (рис. 3.3в), однако при этом квантовый выход флуоресценции уменьшается в 35 раз, от 0.7 до 0.02 (табл. 3.2).

Интересную особенность демонстрирует спектр флуоресценции соед. **3.6** при переходе от ацетонитрила к 1-пропанолу: одновременно с резким уменьшением квантового выхода наблюдается появление новой длинноволновой полосы флуоресценции при 670 нм. Сравнение положения и формы длинноволновой полосы флуоресценции соед. **3.6** показывает высокую степень сходства со спектром флуоресценции модельного соед. **3.6т**, которое является структурным аналогом фототаутомера **3.6** (рис. 3.4). Для соед. **3.7**,

наблюдалась очень схожая спектральная картина [A19, A20]. Таким образом, нами впервые был сделан вывод, что *основным источником тушения флуоресценции 2-(2'-пиридил)индолов в спиртовых растворах является образование циклического ВСК, в котором возможен фотоиндуцированный перенос протона с пиррольного цикла на пиридиновый атом азота, медиатором которого выступают молекулы протонного растворителя* (рис. 3.4).

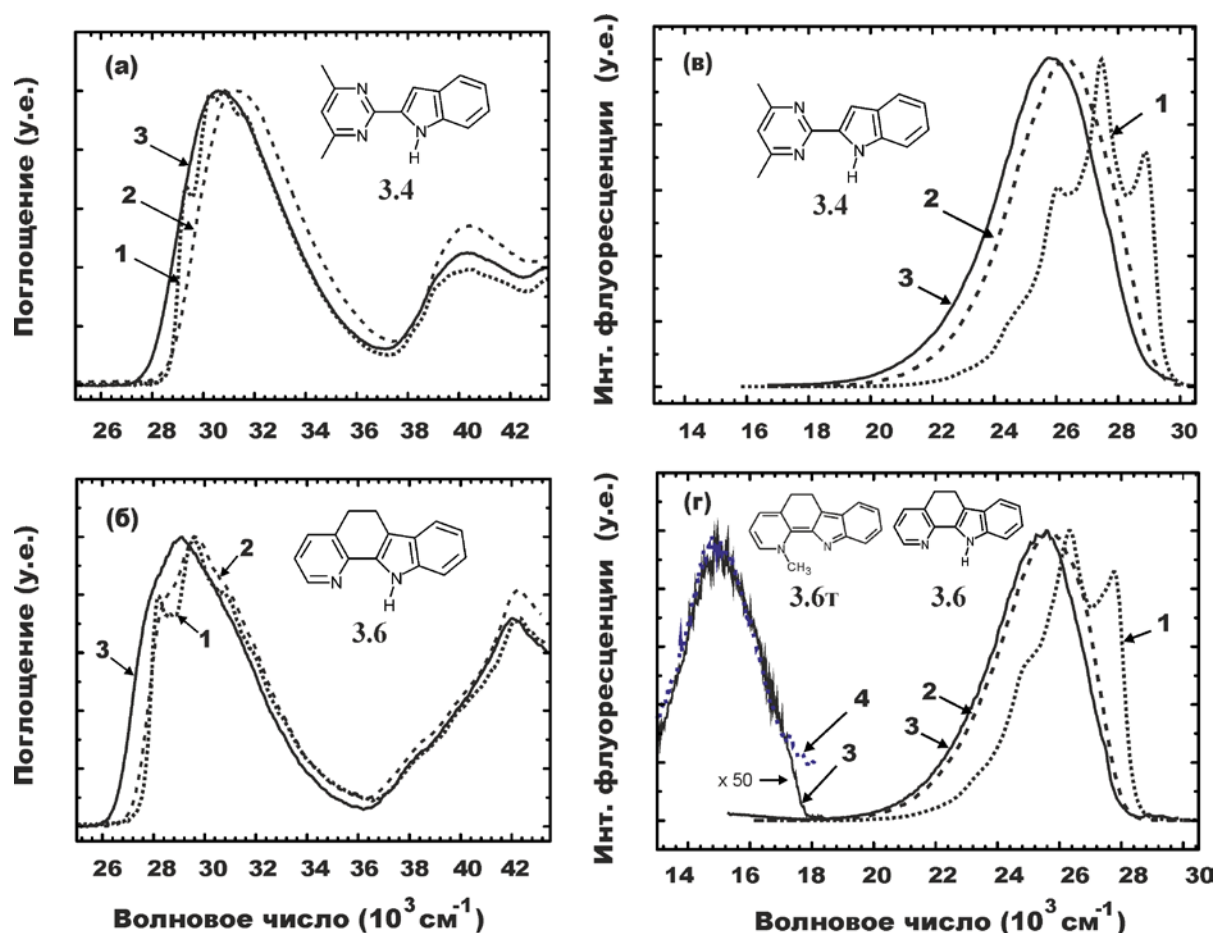
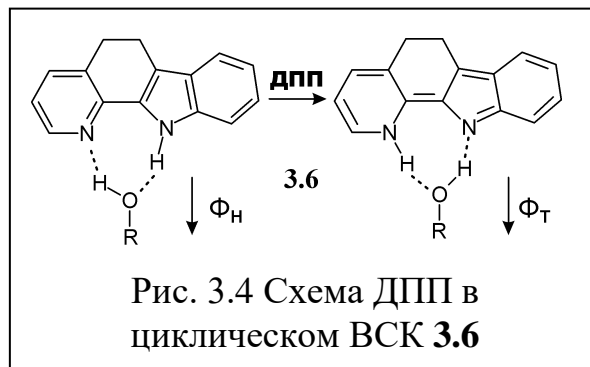


Рис. 3.3 Спектры поглощения и флуоресценции соед. **3.4** и **3.6**, измеренные в *n*-гексане (1), ацетонитриле (2), 1-пропаноле (3) [A19]. На панели (г) приведен спектр модельного соед. **3.6т** в 1-пропаноле (4).

Для проверки вывода о том, что тушение флуоресценции 2-пиридил-индолов в спиртовых растворах обусловлено образованием циклического ВСК, выполнено сравнение спектрально-флуоресцентных свойств соед. **3.1** с двумя его изомерами – соед. **3.2** и **3.3**, которые имеют различную простран-

венную топологию расположения донорного и акцепторного центров ВС, поскольку в этих изомерах индольный цикл соединен с пиридиновым в его положениях *мета* и *пара* (табл. 3.1).

Изменение топологии донорно-акцепторных центров должно сказаться на способности к образованию циклических комплексов с молекулами растворителя. Как видно из рис. 3.1, 3.3 и



3.5, спектры поглощения и флуоресценции соед. **3.1-3.3**, а также соед. **3.4**, в растворителях различной природы демонстрируют похожие характеристики, за исключением существенного уширения спектра флуоресценции соед. **3.1** в 1-пропаноле, что будет обсуждено ниже.

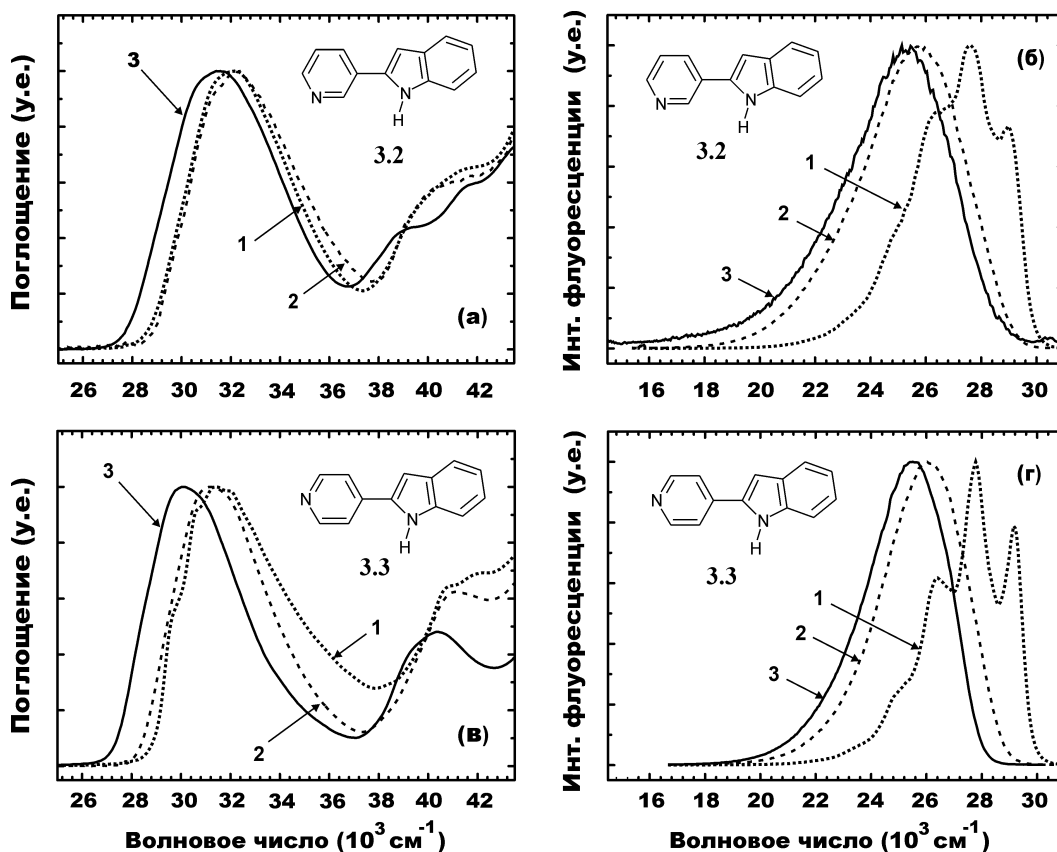


Рис. 3.5 Электронные спектры поглощения и флуоресценции соед. **3.2** и **3.3**, измеренные в *n*-гексане (1), ацетонитриле (2) и 1-пропаноле (3).

Наиболее интересным результатом сравнения спектрально-флуоресцентных свойств изомеров **3.1-3.3** в 1-пропаноле является тот факт, что несмотря на изменение топологии центров водородного связывания изомера **3.2** по сравнению с **3.1**, квантовый выход флуоресценции соед. **3.2** составляет всего 0.05. При этом время жизни флуоресценции также уменьшается от 3.2 нс до 0.4 нс. Оба эти фактора указывают на то, что у изомера **3.2** в спиртовом растворе также присутствует эффективный канал тушения флуоресценции.

Следует отметить, что кислотно-основные свойства указанных изомеров при переходе в нижнее электронно-возбужденное состояние характеризуются близкими значениями ΔpK_a , поэтому различие в тушении флуоресценции не может быть объяснено с позиций изменения кислотно-основного поведения различных изомеров. Для пиридинового атома азота ΔpK_a , рассчитанные по циклу Ферстера [239], обобщены в табл. 3.3.

Таблица 3.3

Величины ΔpK_a , рассчитанные по методу Ферстера для возбуждений $S_0 \rightarrow S_1$

Соединение	ΔpK_a
3.1	11.1±1.0
3.2	12.6±2.5
3.3	12.1±1.0
3.5	10.5±1.0
3.6	12.2±2.5

Для выяснения механизма тушения флуоресценции соед. **3.2** в спиртовых растворах проведено сравнительное спектроскопическое титрование соед. **3.1** и **3.2** 1-бутанолом в растворе *n*-гексана. На рис. 3.6 показаны линейные аппроксимации экспериментальных данных в шкале $\ln[(D-D_0)/D_\infty - D]$ от $\ln[1\text{-бутанол}]$, где D – текущее значение оптической плотности, измеренной на фиксированной длине волны 350 нм (соед. **3.1**) и 344 нм (соед. **3.2**), D_0 – оптическая плотность в отсутствие 1-бутанола, D_∞ – максимальное зна-

чение поглощения при насыщении раствора 1-бутанолом [7]. Титрование было выполнено в диапазоне концентраций 1-бутанола $0.002 < [1\text{-бутанол}] < 0.02$, выбранного таким образом, чтобы можно было пренебречь образованием димеров и более сложных ассоциатов 1-бутанола. Из рис. 3.6 определен тангенс угла наклона n , который равен числу молекул 1-бутанола, участвующих в реакции образования ММВС с соответствующим производным пиридил-индола [7]. Для соед. **3.1** и **3.2** значения n составили 1.02 ± 0.06 (коэффициент линейной корреляции $r=0.998$) и 2.06 ± 0.06 ($r=0.999$), соответственно [A19]. Таким образом, в случае соед. **3.2** возможно образование комплекса, связанного ММВС с двумя молекулами спирта.

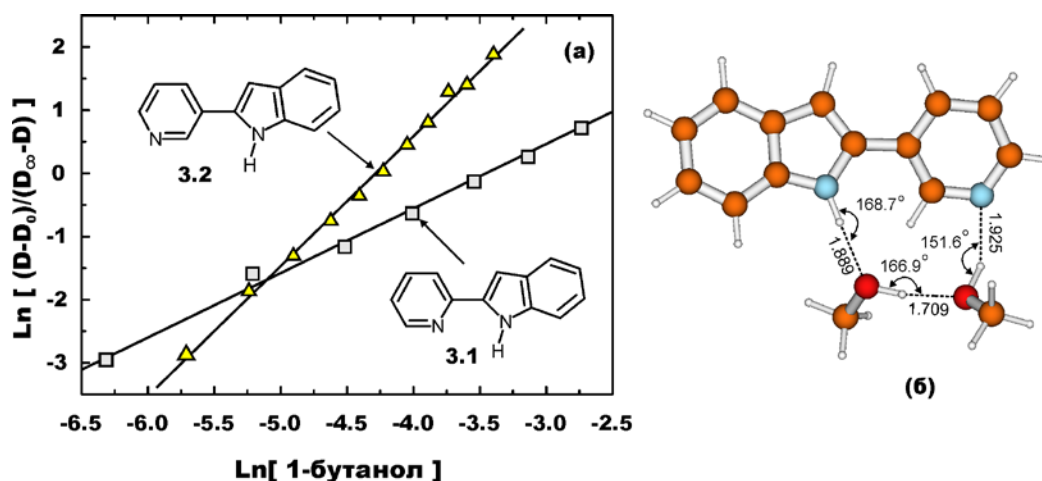


Рис. 3.6 (а) Обработка результатов спектрофотометрического титрования соед. **3.1** и **3.2** 1-бутанолом в *n*-гексане, позволившая выявить различную стехиометрию комплексообразования. (б) Геометрия циклического комплекса соед. **3.2** с двумя молекулами метанола (B3LYP/6-31G).

Возможное строение комплексов **3.2** со спиртом было нами промоделировано расчетным путем на примере комплексов с молекулами метанола с использованием метода функционала электронной плотности B3LYP/6-31G. Оптимизированная геометрия комплекса соед. **3.2** с метанолом состава 1:2 показана на рис. 3.6б. Как видно, две молекулы метанола способны образо-

вызывать циклический комплекс, в котором цепочка из трех ММВС соединяет пиррольную группу N-H с пиридиновым атомом азота.

На основании анализа спектральных данных нами впервые была предложена обобщенная схема физико-химических процессов, которые происходят в основном состоянии и при электронном возбуждении в растворе 2-(2'-пиридил)индолов в протонных растворителях, представленная рис. 3.7.

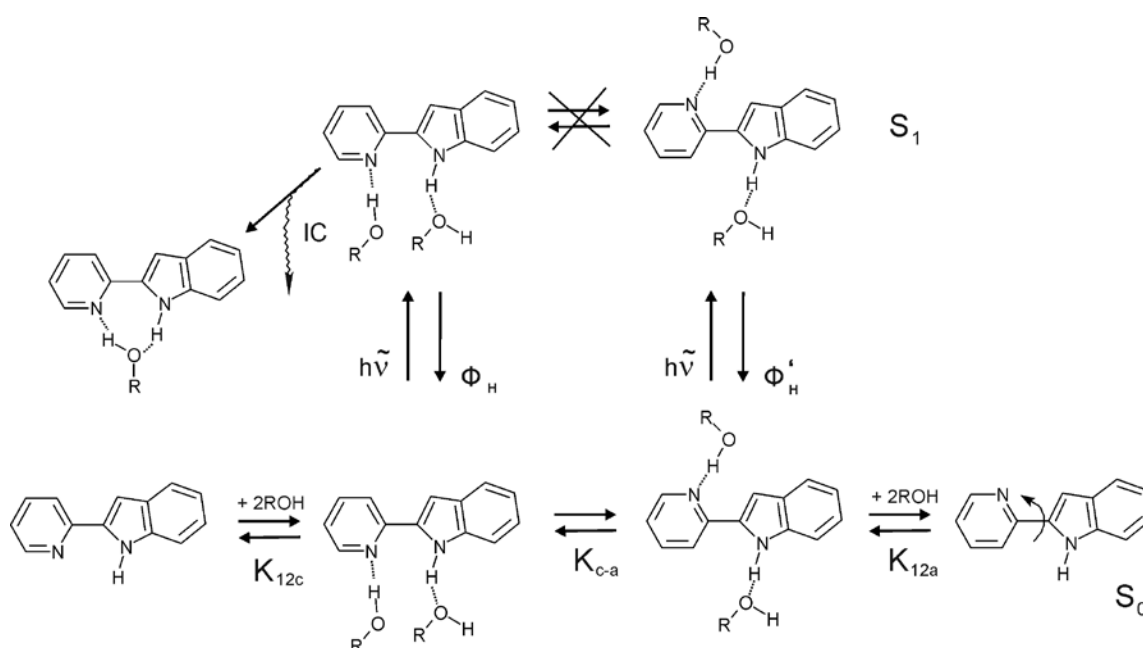


Рис. 3.7 Схема физико-химических процессов, протекающих в спиртовых растворах производных 2-(2'-пиридил)индола в основном и возбужденном состоянии.

На первом этапе, в основном состоянии S_0 , молекула 2-(2'-пиридил)индола образует ряд водородосвязанных комплексов с одной (вклад этой формы незначителен, и, поэтому не показан на рис. 3.7) и двумя молекулами протонного растворителя (константы комплексообразования K_{11c} и K_{12a}). Вклад несвязанной формы пиридилиндола и его комплекса с одной молекулой растворителя (не показан на рис. 3.7) в спиртовом растворе незначителен. При образовании водородосвязанного комплекса с двумя молекулами растворителя термодинамически устойчивой формой 2-(2'-пиридил)индола является *анти*-ротамер. После фотовозбуждения, дезактивация нижнего

электронно-возбужденного S_1 -состояния ВСК *син*- и *анти*-ротамеров 2-(2'-пиридил)индола происходит через различные излучательные и безызлучательные каналы (рис. 3.7). *Анти*-ротамер вносит основной вклад в наблюдаемую флуоресценцию (Φ_n) и характеризуется временем жизни $\tau_1=3.2$ нс (табл. 3.2). В случае *син*-формы, нециклический водородосвязанный комплекс претерпевает структурную перестройку ММВС, стремясь перейти в термодинамически более устойчивый циклический комплекс. Указанный процесс перестройки ММВС активирует канал безызлучательной дезактивации производных 2-(2'-пиридил)индола (рис. 3.7, *англ.* IC – internal conversion), приводя к значительному снижению квантового выхода (Φ_n) и уменьшению наблюдаемого времени жизни *син*-формы до $\tau_2=0.2$ нс (табл. 3.2). При этом, за время жизни электронно-возбужденного состояния, равновесие между *син*- и *анти*-формами не успевает установиться в следствие быстрой безызлучательной дезактивации *син*-формы.

3.1.1 Флуориметрическое определение ККМ при помощи производных 2-пиримидилиндола

Феномен тушения флуоресценции 2-пиримидилиндолов **3.1-3.3** и 2-пиримидилиндола **3.4** в присутствии протонных растворителей позволяет использовать эти соединения в качестве флуоресцентных зондов, чувствительных к изменению сольватного окружения. В работах [240, 241] было показано, что флуоресцентные зонды, в которых ДПП происходит с участием молекул воды, могут быть использованы для изучения сольватационной динамики, протекающей как на поверхности прямых мицелл [240], так и внутри обращенных мицелл АОТ [55, 242, 243].

Флуоресценция соед. **3.4** в водном растворе при $pH=7$ является существенно затухнувшей ($\phi_{fl}<0.015$). При титровании водного раствора соед. **3.4** Тритоном X-100 наблюдалось значительное увеличение интенсивности

флуоресценции, сопровождавшееся гипсохромным сдвигом максимума испускания с 435 нм до 386 нм (рис. 3.8а) [А1].

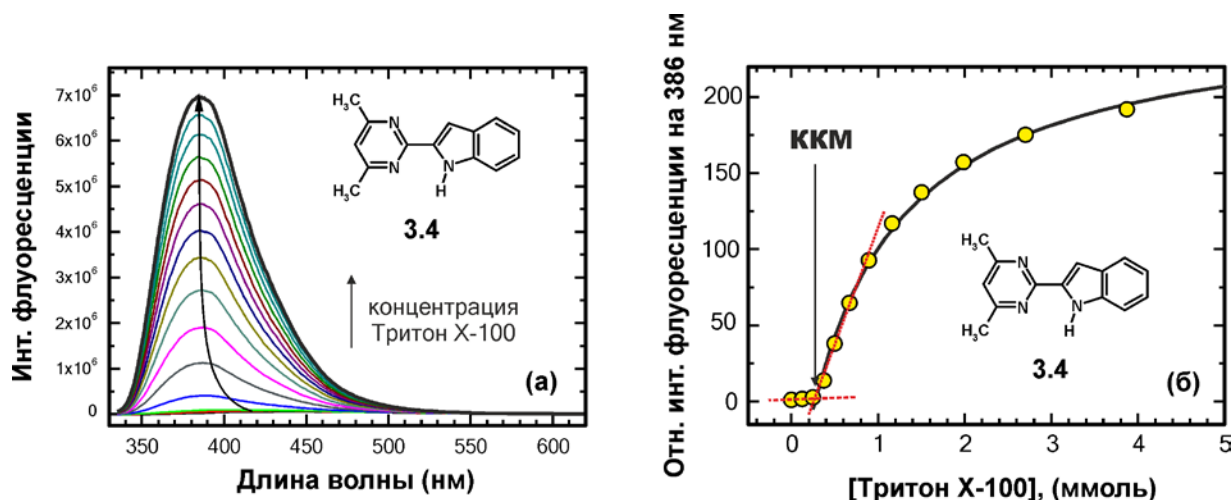


Рис. 3.8 Флуориметрическое определение ККМ для Тритон X-100 в водном растворе с помощью зонда **3.4**.

Возгорание флуоресценции **3.4**, наблюдаемое при увеличении концентрации Тритона X-100 выше области критической концентрации мицеллообразования (ККМ), связано с тем, что, на начальном этапе титрования зонд **3.4** сначала связывается поверхностно, а при последующем титровании - встраивается (проникает) в гидрофобную часть мицеллы. Поэтому, был сделан вывод о том, что в результате проникновения зонда **3.4** в гидрофобное ядро мицеллы уменьшается вероятность образования ВСК с участием зонда, что, в свою очередь, приводит к резкому росту квантового выхода ($\phi_{\text{фл}}=0.3$). На рис. 3.8б показана зависимость интенсивности флуоресценции, измеренная при фиксированной длине волны 386 нм, как функция концентрации Тритон X-100. В указанной зависимости присутствуют два характерных участка (пунктирные прямые на рис. 3.8); первый линейных участок наблюдается в диапазоне предмицеллярных концентраций ПАВ ($C_{\text{TX-100}}=0-0.15$ ммоль/л), второй участок ($C_{\text{TX-100}}=0.15-4.0$ ммоль/л) характеризуется резким нарастанием интенсивности флуоресценции зонда, достигающим 200-кратных значений при насыщении раствора ПАВ. Переход между этими участка-

ми зависимости соответствует ККМ, выше которого наблюдается образование мицелл Тритон Х-100. Значение ККМ для Тритон Х-100 в водном растворе, определенное при помощи зонда **3.4** составило 0.16 ммоль/л (рис. 3.8б). Литературные значения ККМ для Тритон Х-100, определенные различными методами равны 0.17 [244], 0.17 [245], 0.225 ммоль/л [246], соответственно. Таким образом, нами был сделан вывод о том, что *соед. 3.4 может быть рекомендовано как новый флуоресцентный зонд для флуориметрического определения ККМ неионогенных ПАВ* [А3].

3.2 Фотоиндуцированный перенос протона в производных пирролохинолина и пиридокарбазола в спиртовых растворах

В табл. 3.4 представлены изученные производные пирролохинолина и пиридокарбазола. Характерной особенностью этой серии соединений является объединение донорного (пиррольный или индольный циклы) и акцепторного (пиридиновый или хинолиновый циклы) центров ВС, в одну общую ароматическую систему, достигаемое путем аннелирования дополнительного бензольного кольца.

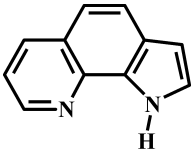
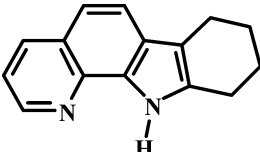
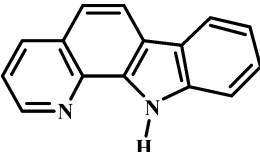
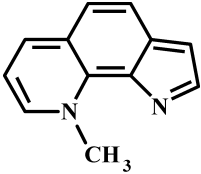
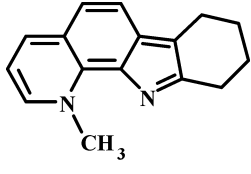
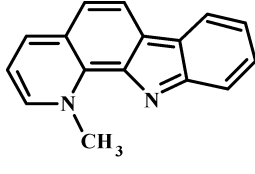
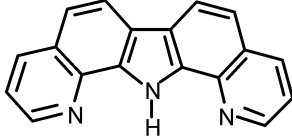
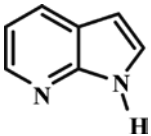
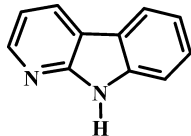
На рис. 3.9 и 3.10 представлены электронные спектры поглощения и флуоресценции производных пиридилиндола **3.6**, пирролохинолина и пиридокарбазола **3.8-3.10** в 1-бутаноле. Спектрально-флуоресцентные характеристики этих соединений в неполярном *n*-гексане и полярном апротонном ацетонитриле представлены в таб. 3.5-3.6.

Характерной особенностью этой группы соединений является феномен двухполосной флуоресценции, наблюдаемой в спиртовых растворах (рис. 3.10), который сопровождается резким уменьшением квантового выхода и сокращением времени жизни (табл. 3.5) [247, 248]. В ранних работах [236] упоминалась двухполосная флуоресценция *соед. 3.11* в спиртовых растворах, при этом авторы выдвинули предположение, что это связано с протеканием

фотоиндуцированного переноса протона с участием молекул растворителя. Нами было впервые показано, что спектральное положение и форма длинноволновой полосы флуоресценции соед. **3.8-3.10** достаточно хорошо совпадают со спектром флуоресценции модельных соед. **3.8т-3.10т**, которые являются структурными аналогами соответствующих фототаутомерных форм (рис. 3.10). Ранее это сходство нами было отмечено для соед. **3.6** и модели его таутомерной формы **3.6т** в 1-пропаноле (рис. 3.3г) [A20].

Таблица 3.4

**Гетероциклические соединения, содержащие хинолиновый и
пиррольный цикл.**

 <p>1H-пирроло[3,2- h]хинолин</p> <p>(3.8)</p>	 <p>7,8,9,10- тетрагидропиридо[2,3- a]карбазол</p> <p>(3.9)</p>	 <p>пиридо[2,3- a]карбазол</p> <p>(3.10)</p>
 <p>1-метил-3,3'-этинил-2- (2'-пирроленилиден)- 1,2-дигидропиридин</p> <p>(3.8т)</p>	 <p>1-метил-4',5',6',7'- тетрагидро-3,3'-этинил- 2-(2'-индолиденил)-1,2- дигидропиридин</p> <p>(3.9т)</p>	 <p>1-метил-3,3'- диметин-2-(2'- индолиденил)-1,2- дигидропиридин</p> <p>(3.10т)</p>
 <p>дипиридо[2,3-a:3',2'- i]карбазол</p> <p>(3.11)</p>	 <p>7-азаиндол</p> <p>(7AI)</p>	 <p>7-азакарбазол</p> <p>(7AK)</p>

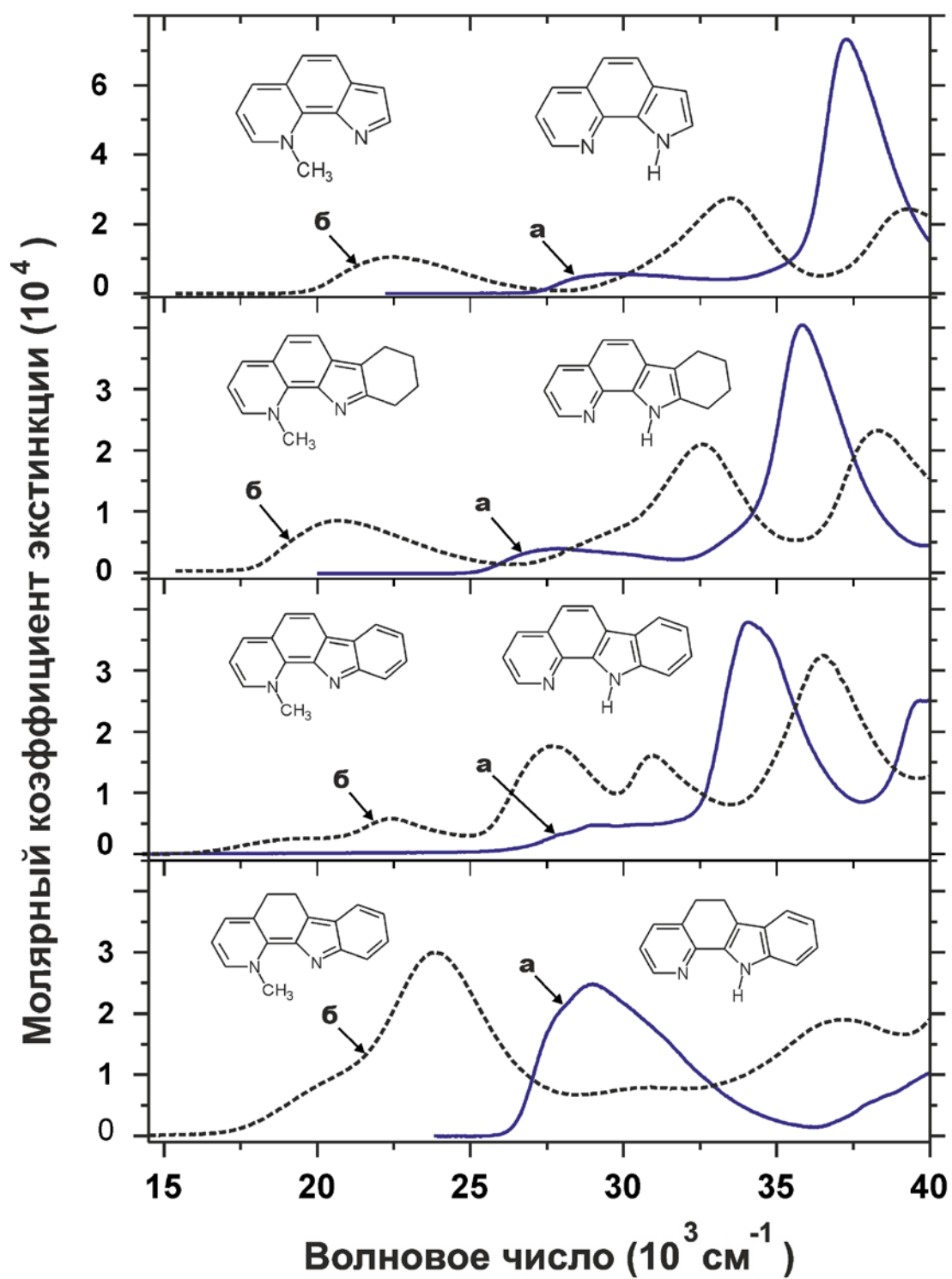


Рис. 3.9 Электронные спектры поглощения соед. **3.6** и **3.8-3.10** (*a*) и модельных соед. **3.6т** и **3.8т-3.10т** (*б*) в 1-бутаноле.

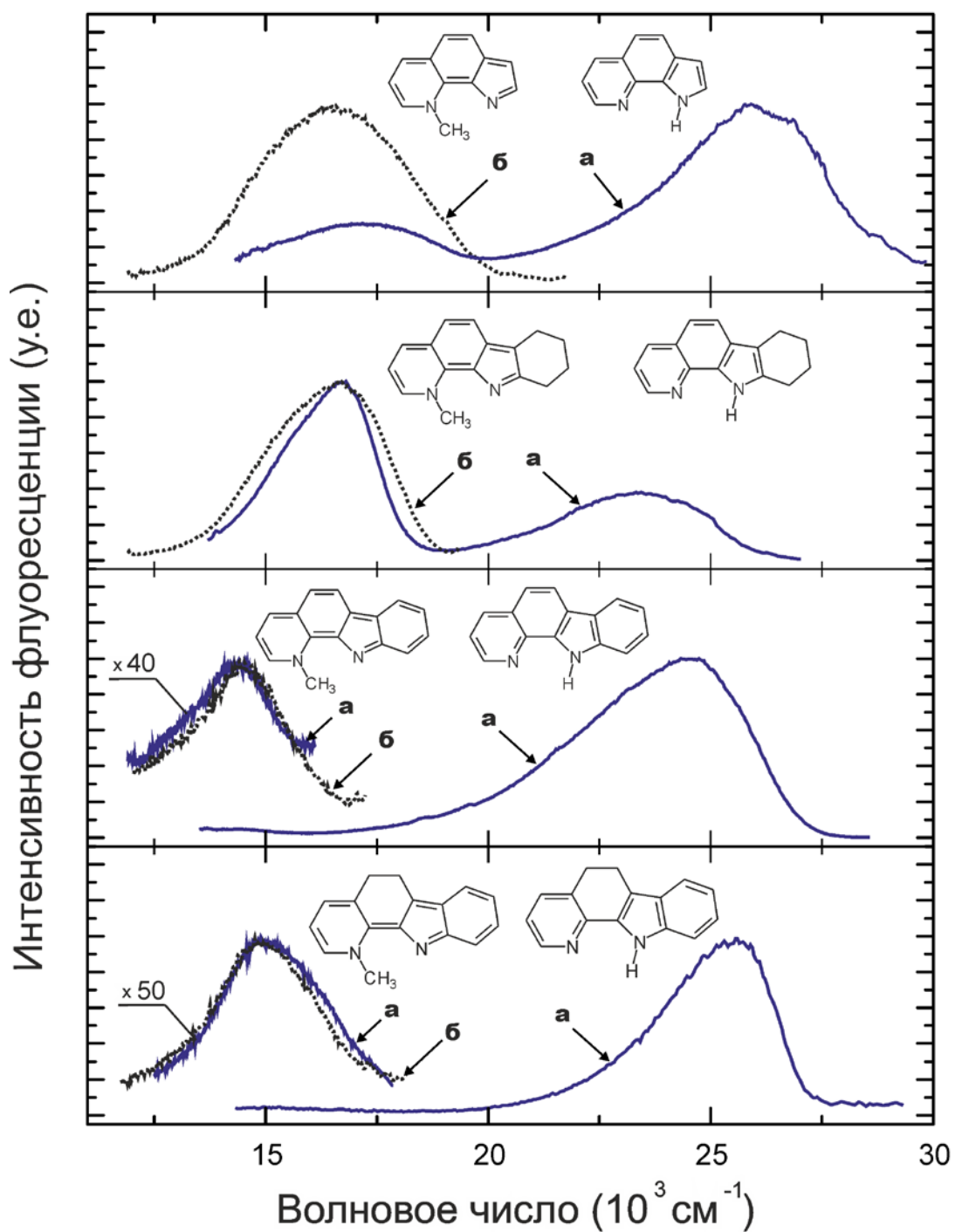


Рис. 3.10 Спектры флуоресценции соед. **3.6** и **3.8-3.10** (a) и модельных соед. **3.6т** и **3.8т-3.10т** (б) в 1-бутаноле.

Таблица 3.5

Спектрально-флуоресцентные характеристики соед. 3.6 и 3.8-3.10

Растворитель	$\nu_{\text{погл}} [10^3 \text{ см}^{-1}]$	$\nu_{\text{фл}} [10^3 \text{ см}^{-1}]$	$\phi_{\text{фл}}$	$\tau_{\text{фл}}^{\text{a}} [\text{пс}]$
соед. 3.8				
<i>n</i> -гексан	28.90	27.30	0.25	6300
ацетонитрил	30.50	25.85	0.16	4300
1-бутанол F ₁	29.70	26.00	0.0013	60±20 ^{б,в}
F ₂		17.20	0.0008	290±20 ^б
соед. 3.9				
<i>n</i> -гексан	28.75	25.45	0.26	6700
ацетонитрил	28.65	23.00	0.17	5000
1-бутанол F ₁	27.80	23.85	0.0006	60±20 ^{б,в}
F ₂		15.85	0.0017	190±20 ^б
соед. 3.10				
<i>n</i> -гексан	29.25	25.60	0.32	10100
ацетонитрил	29.50	23.20	0.15	7100
1-бутанол F ₁	29.15	23.60	0.0015	60±20 ^{б,в}
F ₂		14.40	0.0002	60±10 ^б
соед. 3.6				
<i>n</i> -гексан	29.60	26.35	0.50	1300
ацетонитрил	29.65	25.70	0.38	1800
1-бутанол F ₁	29.05	25.55	0.009	<200
F ₂		14.90	0.0003	<200

^а инструментальная погрешность ±200 пс^б измерено при более высоком временном разрешении^в указана только долгоживущая компонента биэкспоненциального затухания

Образование в основном электронном состоянии устойчивого ВСК соед. **3.8** в протонном растворителе дополнительно подтверждено при измерении спектра флуоресценции в замороженном растворе в *n*-пропаноле. Из рис. 3.11а видно, что спектры флуоресценции соед. **3.8**, измеренные в 1-пропаноле при 300 К и в замороженном растворе при 123 К, демонстрируют наличие двух полос испускания $\Phi_{\text{н}}$ и $\Phi_{\text{т}}$. При понижении температуры интенсивность $\Phi_{\text{н}}$

значительно увеличивается, при этом в замороженном растворе по-прежнему наблюдается малоинтенсивная полоса Φ_T .

Таблица 3.6

Спектрально-флуоресцентные характеристики соед. 3.6т и 3.8т-3.10т

Растворитель	$\nu_{\text{полг}} [10^3 \text{ см}^{-1}]$	$\nu_{\text{фл}} [10^3 \text{ см}^{-1}]$	$\phi_{\text{фл}}^a$	$\tau_{\text{фл}}^b [\text{пс}]$
соед. 3.8т				
н-гексан	20.35	15.80	0.0013	<700
ацетонитрил	22.42	16.15	0.0011	<600
1-бутанол	22.45	16.65	0.0024	350 ± 20^b
вода	24.24	16.75	0.0009	<700
соед. 3.9т				
н-гексан	18.80	15.60	0.0010	<200
ацетонитрил	20.55	16.00	0.0014	<400
1-бутанол	20.73	16.65	0.0036	200 ± 20^b
вода	22.75	16.80	0.0032	<700
соед. 3.10т				
ацетонитрил	19.27	14.60	0.0003	<600
1-бутанол	19.42	14.15	0.0006	60 ± 10^b
вода	20.83	14.60	0.0001	<500
соед. 3.6т				
ацетонитрил	20.16	14.50	0.0001	<200
1-бутанол	19.88	14.90	0.0005	<200

^a погрешность: $\pm 40\text{-}50\%$

^b инструментальная погрешность ± 200 пс

^в данные получены при более высоком временном разрешении

Таким образом, нами был сделан вывод о том, что *циклический ВСК* соед. 3.8 с молекулой спирта образуется уже в основном состоянии S_0 . По этой причине, это процесс не зависит от вязкости растворителя, поскольку не требует перестройки сольватной оболочки при переходе в электронно-возбужденное состояние S_1 [A20]. Этот результат отличает изученный класс соединений от производных 7АИ и 7АК, для которых установлено, что формирование циклического ВСК происходит уже после фотовозбуждения и

перехода в состояние S_1 [4, 15, 249]. Поэтому, нами впервые был сделан вывод о том, что феномен формирования устойчивого циклического ВСК для соед. **3.8-3.10** в состоянии S_0 является общим, что отличает этот класс соединений от ранее изученных производных **7АИ** и **7АК**, имеющих другую топологию протонодонорных и протоноакцепторных гетероциклов [14-16, 250-252].

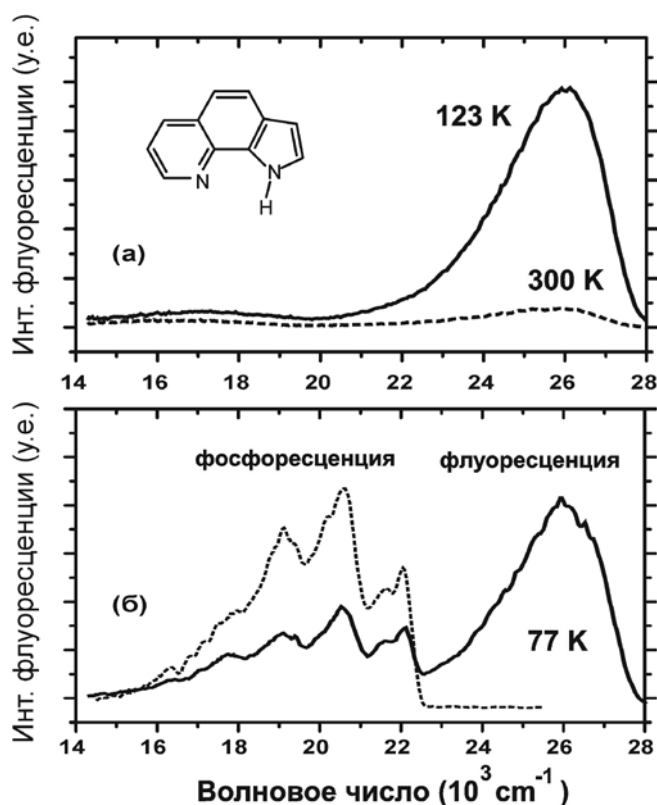
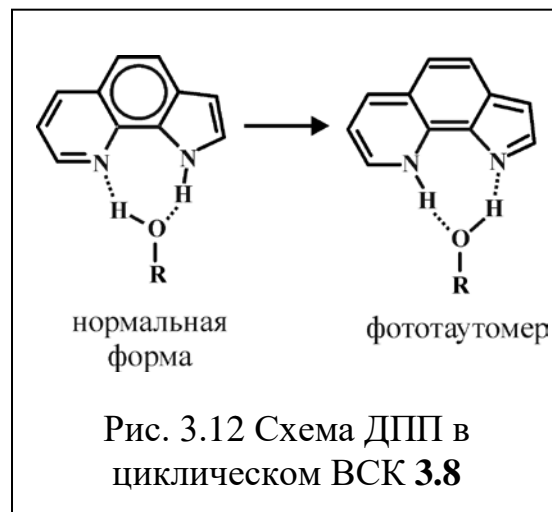


Рис. 3.11 Спектры люминесценции соед. **3.8** в 1-пропанолe. (а) Спектры флуоресценции, измеренные при 300 К и 123 К. (б) Спектры флуоресценции (сплошная линия) и фосфоресценции (пунктирная линия), измеренные в замороженном 1-пропанолe при 77 К.

Очевидно, что ответ на вопрос о том, на каком этапе: в основном состоянии или уже после перехода в электронно-возбужденное состояние формируется циклический ВСК, является ключевым для понимания всей последовательности фотоиндуцированных процессов, связанных с переносом

протона (рис. 3.12). Он также важен для установления механизма тушения флуоресценции в этом классе соединений [2, 8, 14, 16, 235].

Для выяснения механизма тушения флуоресценции, сопровождающегося формированием ВСК соедин. **3.8** с молекулой 1-пропанола, был измерен спектр люминесценции при 77 К, в котором наряду с флуоресценцией в диапазоне 14000-22700 см⁻¹ отчетливо наблюдается структурированная полоса фосфоресценции (рис. 3.11б). Наличие фосфоресценции свидетельствует о том, что формирование ВСК не приводит к активации канала безызлучательной дезактивации типа $S_1 \rightarrow T_n$,[†] который до-



вольно часто упоминается в литературе как возможный источник тушения флуоресценции в азотсодержащих гетероциклических соединениях в спиртовых и водных растворах [6, 7].

В ранних работах методом рентгеноструктурного анализа было показано [253], что в кристаллическом состоянии соедин. **3.8** находится в виде димеров, связанных системой ММВС и имеющих строение аналогичное димерам, показанным на рис.1.5. Вследствие несколько отличной топологии центров ВС, димер соедин. **3.8** является существенно непланарным и угол между плоскостями мономеров достигает 70° [253]. Существование водородосвязанных димеров в кристаллах дает определенные предпосылки для протекания ДПП. Несмотря на то, что вырастить кристаллы, пригодные для измерения флуоресценции соедин. **3.8** не удалось, однако нами была обнаружена двухполосная флуоресценция (Φ_n и Φ_T) в кристаллическом состоянии для соедин. **3.11** (рис. 3.13) [A20] [254].

[†] Модельное соедин. **3.8г** имеет сходную форму спекта флуоресценции в 1-пропанолe при 77 К [A32].

В кристаллическом состоянии длинноволновая полоса Φ_T находится в том же спектральном диапазоне, что и полоса Φ_T в 1-пропаноле, что свидетельствует о возможности протекания ДПП в димере соед. **3.11**, стабилизированном в кристалле системой ММВС и имеющим строение, аналогичное соед. **3.8** [A20]. Наличие димеров соед. **3.8** в кристаллическом состоянии было недавно подтверждено экспериментально методами колебательной спектроскопии, а также промоделировано при помощи квантово-химических расчетов [255].

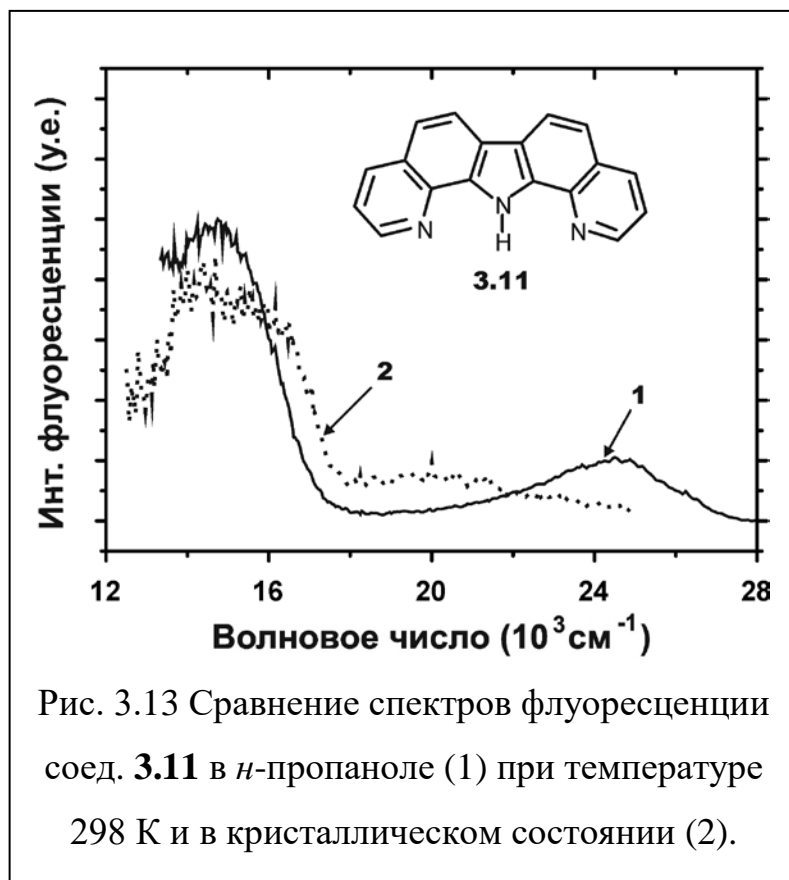


Рис. 3.13 Сравнение спектров флуоресценции соед. **3.11** в *n*-пропаноле (1) при температуре 298 К и в кристаллическом состоянии (2).

В литературе в качестве одного из альтернативных источников появления дополнительной длинноволновой полосы флуоресценции в водных или спиртовых растворах азотсодержащих гетероциклических соединений довольно часто упоминается протонирование пиридинового атома азота флуорофора, которое происходит в электронно-возбужденном состоянии вследствие усиления основных свойств пиридинового цикла [2, 6, 8]. Фотоиндуцированное протонирование, приводящее к формированию нефлуоресцирующего катиона, также часто упоминается как возможный механизм тушения флуоресценции [8, 15, 256, 257]. Для выяснения роли этого эффекта в ряду изученных нами соединений на рис. 3.14 показаны электронные спектры поглощения и флуоресценции соед. **3.8**, измеренные в 1-бутаноле при 293 К. При подкислении раствора в результате протониро-

вания соед. **3.8** спектры поглощения и флуоресценции смещаются в длинноволновую область, как показано на рис. 3.14. При этом спектр флуоресценции катиона **3.8** в 1-бутаноле расположен между полосами нормальной формы (Φ_n) и фототаутомера (Φ_t), что является дополнительным подтверждением того факта, что длинноволновая полоса Φ_t в спиртовых растворах не является результатом протонирования пирролохинолинов в электронно-возбужденном состоянии [A20].

Известно, что движущей силой фотоиндуцированного переноса протона является перераспределение электронной плотности, происходящее в молекуле хромофора при переходе в электронно-

возбужденное состояние [4, 10, 258]. При этом, во многих случаях, в электронно-возбужденном состоянии может наблюдаться как увеличение значения pK_a для группировки, являющейся акцептором протона, так и уменьшение значения pK_a для протодонорного атома, а также возможна комбинация обоих этих эффектов [1, 235, 259].

Изменение ΔpK_a при переходе молекулы в электронно-возбужденное состояние было нами оценено по методу Ферстера (3.2) [239, 260]:

$$\Delta pK_a = pK_a^* - pK_a^G \approx -0.0021(\tilde{\nu}_{00}^A - \tilde{\nu}_{00}^B) \quad (3.2)$$

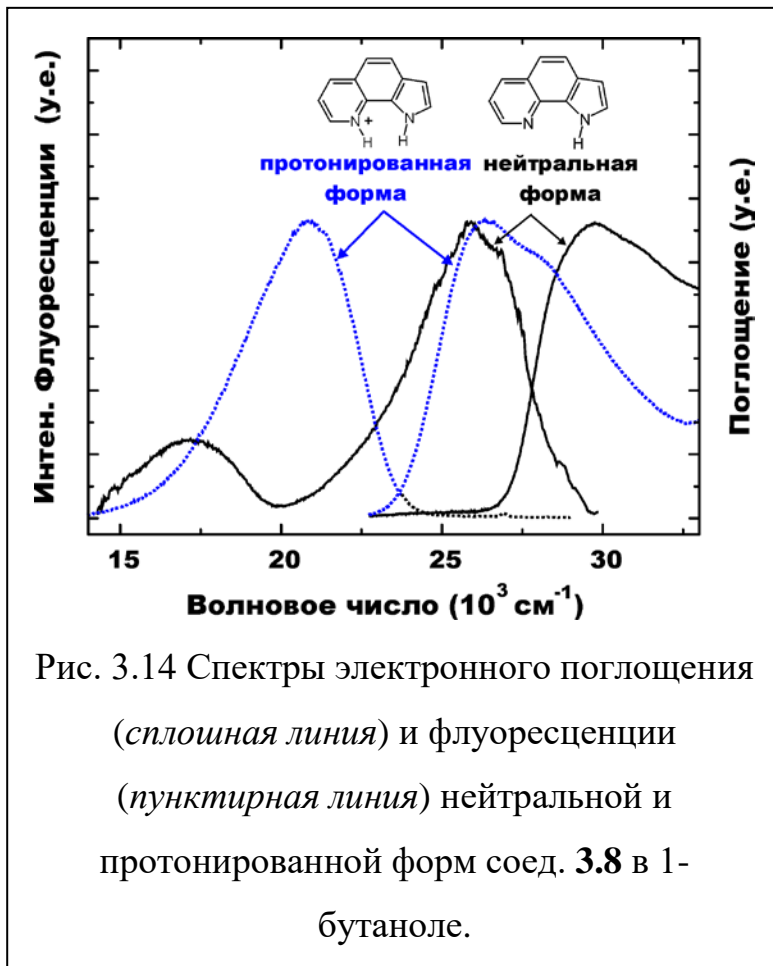


Рис. 3.14 Спектры электронного поглощения (сплошная линия) и флуоресценции (пунктирная линия) нейтральной и протонированной форм соед. **3.8** в 1-бутаноле.

в котором pK_a^* and pK_a^G – значения pK_a в электронно-возбужденном и основном состоянии; $\tilde{\nu}_{00}^A$ – энергии чисто электронных переходов рассчитаны из спектров, показанных на рис. 3.14.

В табл. 3.7 приведены экспериментальные значения pK_a пиридинового или хинолинового атома азота, полученные с помощью флуориметрического титрования соед. **3.6** и **3.8-3.10** в водном растворе. В табл. 3.7 для соед. **3.6** и **3.8-3.10** в электронно-возбужденном состоянии также приведены значения ΔpK_a при протонировании пиридинового атома азота ($\Delta pK_a(N)$) или при депротонировании NH группы пиррольного фрагмента ($\Delta pK_a(NH)$) рассчитанные по ур 3.2.

Таблица 3.7

pK_a в основном состоянии и ΔpK_a при переходе в электронно-возбужденное состояние.

соединение	pK_a	$\Delta pK_a(N)$	$\Delta pK_a(NH)$
3.6	4.4 ± 0.2	12.2 ± 2.5	-4.9 ± 1
3.8	4.5 ± 0.2	9.6 ± 1	-6.0 ± 1
3.9	4.2 ± 0.2	9.1 ± 1	-5.1 ± 1
3.10	3.9 ± 0.1	10.2 ± 1	-4.3 ± 1

Как следует из табл. 3.7, для соед. **3.8** в электронно-возбужденном состоянии $\Delta pK_a(N)=9.6$, что указывает на существенное повышение основных свойств хинолинового цикла при фотовозбуждении. В то же время, для этого же соединения $\Delta pK_a(NH)=-6.0$, что свидетельствует о значительном увеличении N-H кислотности пиррольного цикла. Аналогичная тенденция в согласованном изменении кислотно-основных свойств в возбужденном состоянии наблюдается для соед. **3.6** и **3.9-3.10** (табл. 3.7). Таким образом, нами было выдвинуто предположение о том, что *существенное усиление основных свойств протоноакцепторного гетероцикла одновременно со значительным усилением кислотных свойств протонодонорной группы*

создает предпосылки для внутримолекулярного переноса протона в электронно-возбужденном состоянии.

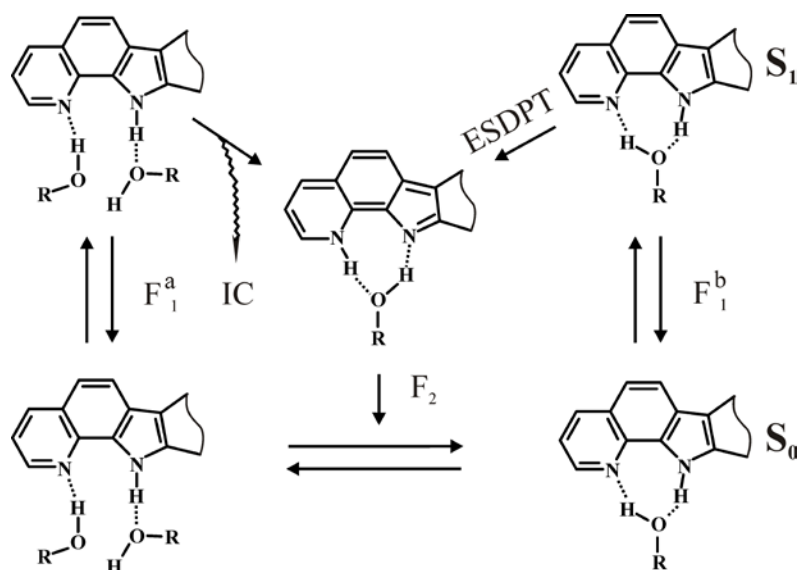


Рис. 3.15 Схема ДПП и тушения флуоресценции пирролохинолинов в протонном растворителе.

Дополнительным аргументом в пользу существования в спиртовых растворах соед. **3.8-3.10** двух различных типов ВСК, деактивация которых протекает по разным механизмам, является сравнение фотофизических параметров для фототаутомеров и их соответствующих N-метилованных аналогов **3.8т-3.10т**. Как видно из табл. 3.5 и 3.6, времена жизни флуоресценции фототаутомера и модельного соединения являются довольно близкими, в то время, как квантовые выходы флуоресценции выше у модельных соединений.

Квантовый выход флуоресценции модельного соединения можно обозначить как произведение константы излучательного перехода (k_f^M) и времени жизни флуоресценции (τ^M) согласно ур. 3.3:

$$\phi_f^M = k_f^M \tau^M \quad (3.3)$$

Если предположить, что фототаутомеризация является необратимым процессом, можно записать выражение для квантового выхода флуоресцен-

ции (φ_{fl}^T), которое аналогично ур. 3.3, но должно содержать дополнительный коэффициент (f), который соответствует фракции электронно-возбужденных молекул, превращающихся при возбуждении в фототаутомер:

$$\varphi_{\text{fl}}^T = f k_r^T \tau^T \quad (3.4)$$

Таким образом из ур. 3.3-3.4, коэффициент f равен:

$$f = (\varphi_{\text{fl}}^T / \varphi_{\text{fl}}^M) (k_r^M \tau^M / k_r^T \tau^T) \approx (\varphi_{\text{fl}}^T / \varphi_{\text{fl}}^M) (\tau^M / \tau^T) \quad (3.5)$$

Ур. 3.5 получено при допущении, что константы излучательного перехода в фототаутомере и его модельном соединении являются близкими величинами. Используя ур. 3.5 и значения из табл. 3.5-3.6, для соедин. **3.8** получено значение $f=0.40$. Это означает, что процесс фототаутомеризации в соедин. **3.8** протекает только в случае ~40 % циклических ВСК, а для остальной популяции ВСК деактивация электронно-возбужденного состояния проходит по безызлучательным каналам (рис. 3.15). Для соедин. **3.9** и **3.10** значения f составило 0.50 и 0.33, соответственно. Отсутствие надежных данных по времени жизни флуоресценции фототаутомера **3.6** и модельного соединения **3.6г** не позволило надежно оценить значение f для этой системы [A19].

Для изучения стехиометрии и энергетики образования ВСК проведено спектрофотометрическое и спектрофлуориметрическое титрование соедин. **3.8** спиртом в неполярном растворителе. Как показано на рис. 3.16, при добавлении 1-бутанола в раствор соедин. **3.8** в *n*-гексане, спектральные изменения происходят как в электронном спектре поглощения, так и в спектре флуоресценции. В электронных спектрах поглощения наблюдается несколько изобестических точек (рис. 3.16а). В спектре флуоресценции уменьшение интенсивности полосы нормальной формы ($\Phi_{\text{н}}$) сопровождалось нарастанием интенсивности длинноволновой полосы флуоресценции ($\Phi_{\text{т}}$) фототаутомерной формы (рис. 3.16б). Наличие нескольких изобестических точек на рис. 3.16а указывает на то, что в растворе присутствует всего две формы, несвязанная

форма соед. **3.8** и ее ВСК. Константа комплексообразования K_a рассчитана на основании двух независимых наборов данных (спектрофотометрического и спектрофлуориметрического). По результатам спектрофотометрического титрования $K_a=180\pm36 \text{ M}^{-1}$ со стехиометрическим коэффициентом $n=1.01\pm0.02$ (рис. 3.16а). По результатам спектрофлуориметрического титрования $K_a=115\pm25 \text{ M}^{-1}$, $n=1.03\pm0.02$ (рис. 3.16б). Константа тушения флуоресценции соед. **3.8** составила $4.0\cdot10^{10} \text{ с}^{-1} \text{ M}^{-1}$, что близко к значениям констант скорости диффузионно-контролируемых процессов [A19].

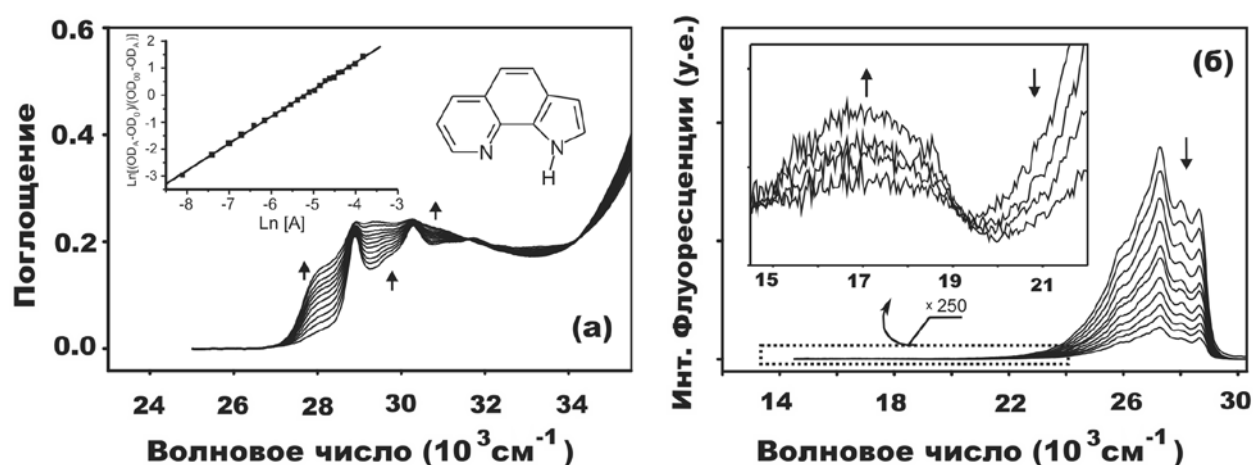


Рис. 3.16 Титрование соед. **3.8** *n*-бутанолом в *n*-гексане. (а) Изменения электронных спектров поглощения и определение стехиометрии комплексообразования. (б) Изменение спектров флуоресценции соед. **3.8** при титровании.

На основании совокупности спектрально-флуоресцентных характеристик впервые показано, что для производных 1*H*-пирроло[3,2-*h*]хинолина при переходе от неполярных растворителей к спиртовым растворам характерно 120-кратное тушение флуоресценции, сопровождаемое появлением новой длинноволновой полосы излучения. Феномен двухполосной флуоресценции обусловлен протеканием фотоиндуцированного переноса протона с пиррольной группировки *N-H* на хинолиновый атом азота. Длинноволновая полоса флуоресценции относится к таутомерной форме, что было впервые

подтверждено сопоставлением с соответствующим модельным соединением. Фотоперенос протона становится возможным в циклическом водородосвязанном комплексе хромофора с одной молекулой воды или спирта, которая формирует мостик между пиррольной группой N-H и хинолиновым атомом азота. Установлено, что указанный комплекс образуется и является устойчивым в основном электронном состоянии, в результате чего перенос протона по цепочке водородных связей не требует существенной перестройки сольватной оболочки, слабо зависит от вязкости растворителя и реализуется даже в замороженных растворах при 77 К. Предложенный механизм двойного переноса протона в производных 1H-пирроло[3,2-h]хинолина отличается от известного в литературе механизма, общепринятого на данный момент для классических систем 7AI и 7AK.

3.3 Строение изолированных водородосвязанных комплексов 1H-пирроло[3,2-h]хинолина с молекулами спирта и воды

Флуоресценция изученных гетероциклических азотсодержащих производных пирролохинолина и пиридокарбазола характеризуется высоким квантовым выходом в неполярных апротонных растворителях [199, 261]. При переходе к протонным растворителям, для указанных соединений характерно снижение квантового выхода флуоресценции на несколько порядков величины. В спиртовых и водных растворах спектры флуоресценции указанных соединений демонстрирует заметное уширение и появление новых полос, что обусловлено специфическими межмолекулярными взаимодействиями, приводящими к образованию целого ряда водородосвязанных комплексов различной стехиометрии [1, 235]. В результате сложного характера сольватации, изучение строения ВСК в протонных растворителях является нетривиальной задачей. Поэтому, перспективным направлением в изучении микросольватации и начальных этапов формирования сольватной оболочки у азотсодержа-

щих производных пирролохинолина и пиридокарбазола являются эксперименты, выполненные в условиях сверхзвукового расширяющегося молекулярного пучка в вакууме [262, 263]. Условия изоляции в сверхзвуковых пучках позволяют направленно создавать сольваты программированного состава, промежуточные между несольватированной молекулой, изолированной в газовой фазе, и молекулой, полностью сольватированной в растворе. Неоспоримым преимуществом такого метода является возможность детектирования и спектрально-селективной регистрации комплексов органического флуорофора с одной, двумя и более молекулами протонного растворителя с контролем состава сольватных комплексов с использованием время-пролетного масс-анализатора [264]. Такой подход позволяет исследовать электронное строение, физико-химические и спектральные свойства изолированных водородосвязанных комплексов с заданной стехиометрией [265-267], которые являются прототипами и предшественниками первой сольватной оболочки флуорофора.

3.3.1 Комплексы 1*H*-пирроло[3,2-*h*]хинолина с метанолом

Спектры возбуждения лазерно-индуцированной флуоресценции (ЛИФ) несольватированного соедин. **3.8** и его ВСК с метанолом были изучены методом молекулярных пучков в условиях сверхзвукового потокового расширения буферного газа (гелия), содержащего примесные добавки паров спирта [A17, A18]. Энергия чисто электронного перехода $S_1 \rightarrow S_0$ в спектре изолированного соедин. **3.8** (0-0 переход) соответствует 29524 см^{-1} [A18]. Таким образом, для флуорофора **3.8**, изолированного в молекулярном пучке, характерно коротковолновое спектральное смещение 624 см^{-1} по сравнению с аналогичной характеристикой в *n*-гексане (рис. 3.9, табл. 3.5). При добавлении в молекулярный пучок соедин. **3.8** паров метанола, в случае образования молекулярных агрегатов и ВСК со спиртом, следует ожидать появления новых

спектральных полос, смещенных в длинноволновую область относительно положения 0-0 перехода в спектре изолированной молекулы **3.8**.

На рис. 3.17 показаны спектры возбуждения ЛИФ для соед. **3.8**, измеренные в диапазоне 27500-28700 см^{-1} при различной концентрации метанола.

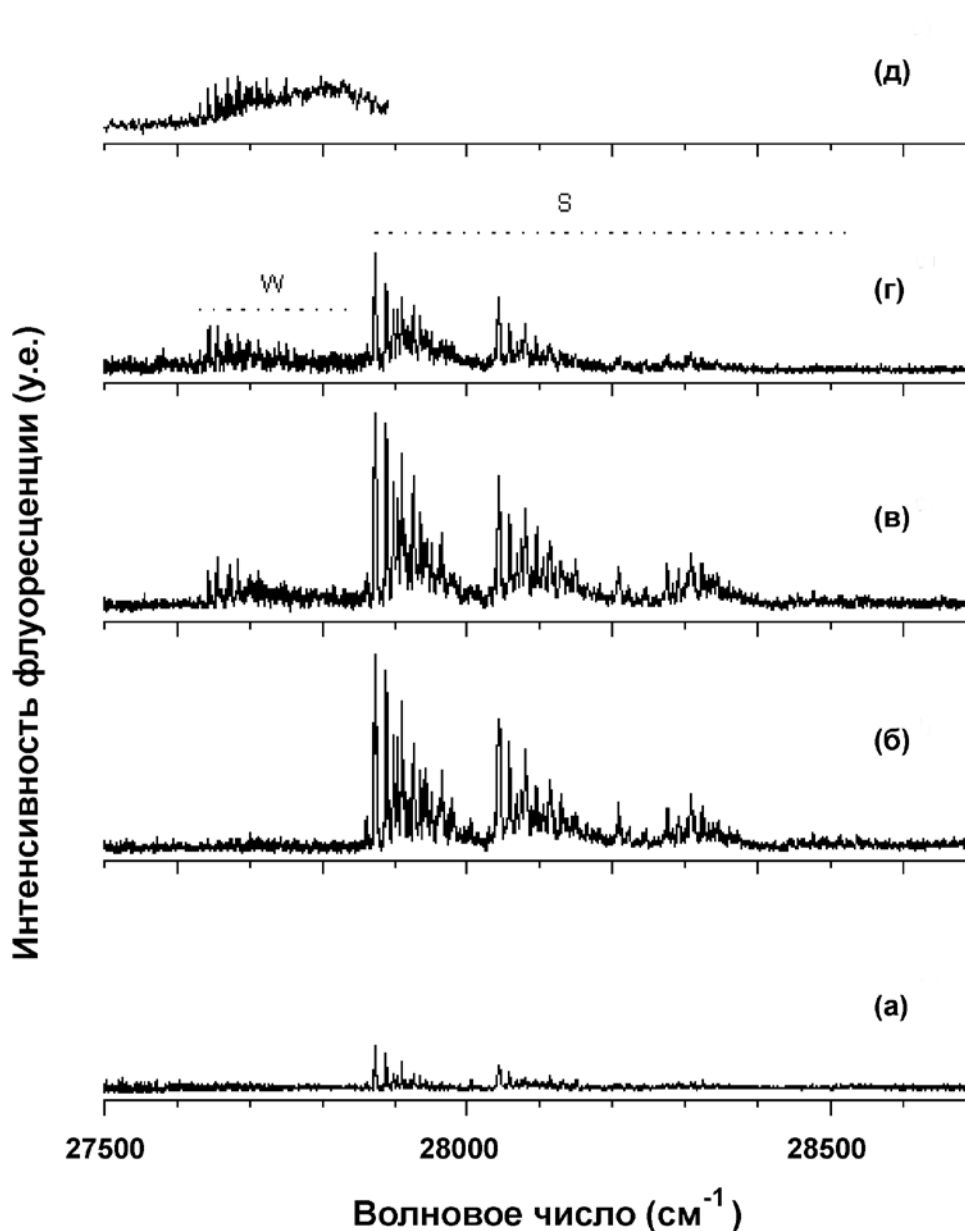


Рис. 3.17 Спектры возбуждения ЛИФ соед. **3.8**, измеренные в условиях молекулярного сверхзвукового пучка при разном парциальном давлении спирта: а) 0,07 кПа, б) 0,42 кПа, в) 0,63 кПа, г) 1,9 кПа, д) 7 кПа.

При минимальном парциальном давлении метанола 0,07 кПа в спектре ЛИФ соедин. **3.8** наблюдается появление новой колебательной прогрессии (рис. 3.17а-б), которая начинается с интенсивной полосы при 27873 см^{-1} и затухает до $\sim 28470\text{ см}^{-1}$. Эта колебательная прогрессия, обозначенная как S на рис. 3.17а-г, отнесена к образованию молекулярных комплексов между соедин. **3.8** и молекулами метанола [A18]. При дальнейшем повышении парциального давления метанола в молекулярном пучке, в спектре ЛИФ наблюдалось появление новой колебательной прогрессии (обозначенной как W), которая была дополнительно смещена на 250 см^{-1} в длинноволновый диапазон спектра (рис. 3.17в-г).

Прогрессия W могла быть обусловлена образованием молекулярных комплексов соедин. **3.8** с метанолом, имеющих более сложный состав. При максимальном парциальном давлении метанола в молекулярном пучке 7 кПа в спектре возбуждения ЛИФ наблюдалось увеличение интенсивности фоновых сигналов (рис. 3.17д), которое сопровождалось исчезновением колебательной структуры в спектральном диапазоне, в котором доминирует прогрессия W [A18]. Ранее было показано, что такое спектральное поведение характерно для поли-сольватированных систем, в которых имеет место существенное перекрывание спектральных полос [262].

На рис. 3.18 показан фрагмент спектра возбуждения ЛИФ и обозначение полос в колебательной прогрессии S для комплексов соедин. **3.8** с метанолом. В указанном спектре колебательный переход 0-0 расположен при 27873 см^{-1} . Таким образом, при комплексообразовании происходит смещение 0-0 перехода в красную область спектра на 1651 см^{-1} по сравнению с изолированным флуорофором [A18]. Детальный анализ полос спектра возбуждения ЛИФ, показанного на рис. 3.18, представлен в табл. 3.8. В колебательной прогрессии S нами были обнаружены восемь фундаментальных частот, смещенные относительно 0-0 перехода на 15, 25, 36.5, 91, 170, 240, 402 и 435 см^{-1} , соответственно. Остальные полосы в спектре возбуждения ЛИФ нами были

отнесены к полосам обертонов и составных колебаний. Наличие большого числа последних указывает на сильное смещение низкочастотных колебаний комплекса, которое проявляется как сумма и разность колебательных частот.

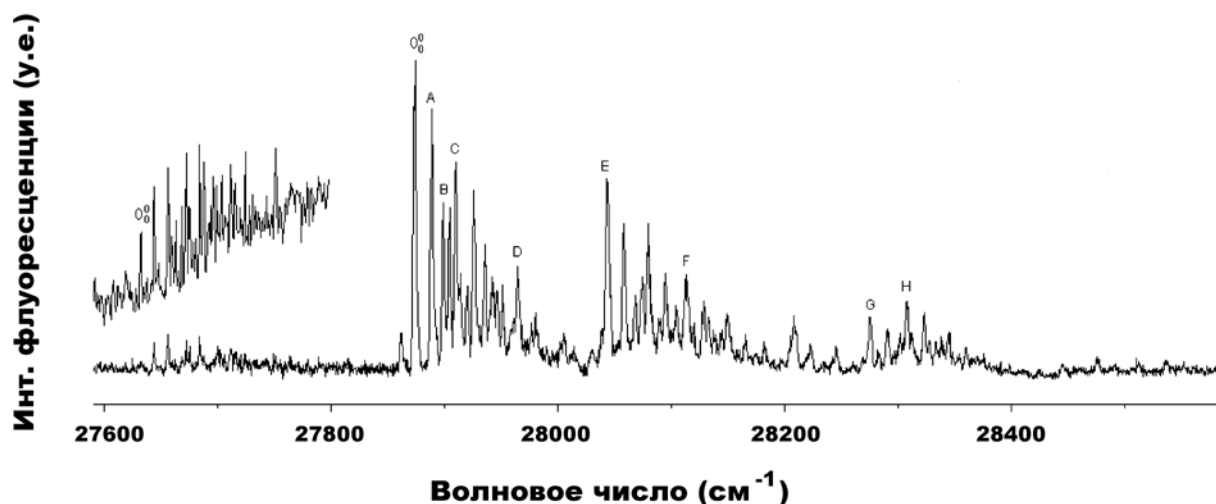


Рис. 3.18 Фрагмент спектра возбуждения ЛИФ молекулярных комплексов соед. **3.8** с метанолом. Заглавными латинскими буквами А-Н обозначены основные пики в колебательной прогрессии S. В левом верхнем углу показан фрагмент спектра, измеренный при более высокой концентрации метанола.

*Анализ спектра возбуждения ЛИФ (рис. 3.18) показал, что прогрессия S относится к спектру одного типа комплексов соед. **3.8** с метанолом, и не является суперпозицией спектров нескольких комплексов, различных по составу и строению.*

Изменения, наблюдаемые в спектре возбуждения ЛИФ для соед. **3.8** в присутствии паров метанола (рис. 3.17 и 3.18), не дают прямого ответа на вопрос о стехиометрии и строении Н-комплекса. Поэтому, для разрешения данной проблемы был проведен сравнительный квантово-химический анализ строения и стабильности комплексов с одной и двумя молекулами метанола. Для выбранного стехиометрического состава, наиболее термодинамически устойчивыми оказались водородосвязанные комплексы **3.8А-3.8С**, показанные на рис. 3.19. Разность теплот образования ($\Delta\Delta H$) различных π -комплекс-

сов, в которых молекула метанола координируется по ароматическому кольцу флуорофора, оказалась на 10-15 кДж/моль выше, чем энергия ВСК такого же состава (табл. 3.9) и, поэтому π -комплексы были исключены из дальнейшего сравнительного анализа.

Таблица 3.8

Обозначение спектральных полос в колебательной прогрессии S в спектре возбуждения ЛИФ для комплексов соед. 3.8 с метанолом

$\nu - \nu_{00}/$ см^{-1}	I / I_{00}	обозначение	$\nu - \nu_{00}/$ см^{-1}	I / I_{00}	обозначение
0	1	(27873 см^{-1})	255	0.25	F^1A^1
15	0.85	A^1	259	0.18	E^1D^1
25	0.55	B^1	264.5	0.14	F^1B^1
31	0.54	A^2	271	0.15	F^1A^2
36.5	0.68	C^1	276	0.21	F^1C^1
40.5	0.3	B^1A^1	291.5	0.14	$F^1C^1A^1$
46.5	0.29	A^3	308.5	0.12	$F^1C^1A^2$
52	0.59	C^1A^1 и B^2	335	0.2	E^2
62	0.42	C^1B^1	350	0.11	E^2A^1
68.5	0.32	C^1A^2 и B^2A^1	371.5	0.1	E^2C^1
73	0.27	C^2	402	0.19	G^1
78	0.29	$C^1B^1A^1$ и B^3	409	0.09	F^1E^1
91	0.35	D^1	417.5	0.16	G^1A^1
107	0.21	D^1A^1	428	0.14	G^1B^1
116.5	0.1	D^1B^1	434.5	0.25	H^1
129	0.1	D^1C^1	439	0.13	G^1C^1
132	0.14	$D^1B^1A^1$	450	0.21	H^1A^1
141	0.09	D^1B^2	454.5	0.12	$G^1C^1A^1$
170	0.63	E^1	460	0.12	H^1B^1
184.5	0.49	E^1A^1	465	0.12	$G^1C^1B^1$
195	0.26	E^1B^1	471	0.15	H^1C^1
200.5	0.32	E^1A^2	486.5	0.1	$H^1C^1A^1$
206	0.49	E^1C^1	572	0.05	G^1E^1
216.5	0.19	E^1A^3	602.5	0.07	H^1E^1
221	0.33	$E^1C^1A^1$	639	0.06	$H^1E^1C^1$
231.5	0.23	$E^1C^1B^1$	663	0.06	$G^1E^1D^1$

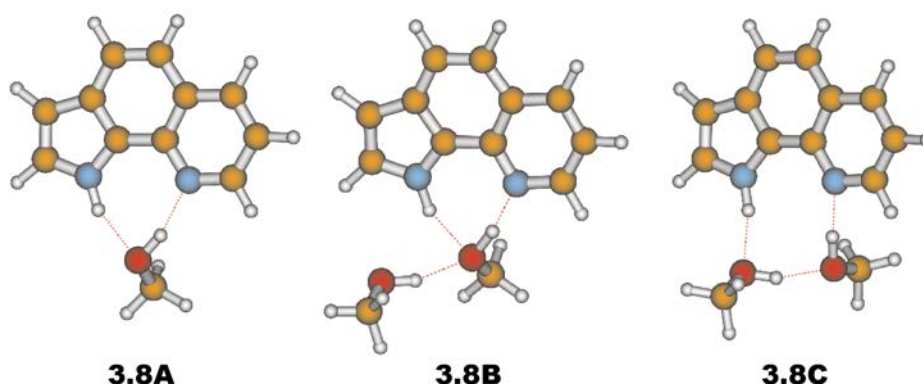


Рис. 3.19 Строение ВСК соед. **3.8** с одной (**3.8A**) и двумя (**3.8B** и **3.8C**) молекулами метанола, рассчитанное методом B3LYP/сс-pVDZ.

В табл. 3.9 приведено сравнение экспериментальных и рассчитанных энергии и силы осциллятора для перехода $S_0 \rightarrow S_1$ в изолированной молекуле **3.8** и комплексах **3.8A-3.8C**.

Таблица 3.9

Экспериментальные и рассчитанные (TD-B3LYP/сс-pVDZ) переходы в электронном спектре комплексов соед. **3.8** с метанолом.

тип комплекса	РАСЧЕТ				ЭКСПЕРИМЕНТ	
	$\Delta E(S_0)$ кДж/моль	$S_0 \rightarrow S_1$ (см^{-1})	сила осциллятора	спектральный сдвиг (см^{-1})	$S_0 \rightarrow S_1$ (см^{-1})	спектральный сдвиг (см^{-1})
3.8	-	31360	0.0197	-	29524	-
3.8A	-43.5	29880	0.0234	-1480	-	-
3.8B	-49.3 ^a	29910	0.0245	-1450	-	-
3.8C	-58.1 ^a	29590	0.0256	-1770	27873	-1651

^a - Энергия комплексообразования, рассчитанная как разница энергий молекулы **3.8** и димера метанола, оцененных методом B3LYP/сс-pVDZ. Энергия димеризации метанола, рассчитанная тем же методом составила -16.3 кДж/моль.

В случае всех трех комплексов **3.8A-3.8C** квантово-химический расчет предсказывает батохромное смещение 0-0 перехода по сравнению с электронным переходом изолированного флуорофора (табл. 3.9). Для комплексов **3.8A** и **3.8B** батохромный спектральный сдвиг практически идентичен -1480 см^{-1} и -1450 см^{-1} , что согласуется с тем фактом, что в комплексе **3.8B** вторая молекула метанола действует как слабый возмущающий фактор. Наибольшее

батохромное смещение -1770 см^{-1} наблюдалось в случае комплекса **3.8C** [A18]. Согласно фотометрическим данным для комплексообразования соедин. **3.8** с 1-бутанолом в растворе *n*-гексана (рис. 3.16), формирование ВСК состава 1:1 сопровождалось смещением 0-0 перехода в длинноволновую область на $\sim 1000\text{ см}^{-1}$ [A20]. Было также показано, что спектральное смещение может достигать $1500\text{--}2000\text{ см}^{-1}$ при образовании комплексов более сложного состава [A20] [268].

Область низкочастотных фундаментальных колебаний в спектре возбуждения ЛИФ является аналогом “области отпечатков пальцев”, известной в традиционной колебательной спектроскопии [262]. Поэтому, низкочастотные колебания, наблюдаемые в спектре возбуждения ЛИФ в диапазоне $15.0\text{--}36.5\text{ см}^{-1}$, были использованы для установления строения и стехиометрии комплексов соедин. **3.8**. В табл. 3.10 приведено сравнение экспериментальных и рассчитанных низкочастотных колебаний, для трех различных комплексов **3.8A–3.8C**, геометрия которых была оптимизирована в электронно-возбужденном состоянии S_1 методом TD-B3LYP/сс-pVDZ. В настоящее время, для электронно-возбужденных состояний сложных органических молекул прямое сравнение рассчитанных колебаний с экспериментальными данными является трудно выполнимой задачей [267]. Поэтому, в табл. 3.10 рассчитанные частоты были скорректированы на коэффициент 0.9704, рекомендованный для базисного набора сс-pVDZ, а также приведено сравнение суммы трех низкочастотных колебаний, которая является более надежным кумулятивным критерием при сопоставлении с экспериментальными данными. Как видно из табл. 3.10, наихудшее совпадение с экспериментальной суммой $\Sigma=76.5\text{ см}^{-1}$ наблюдается для комплекса **3.8A** ($\Sigma=223\text{ см}^{-1}$). Удовлетворительное совпадение с экспериментом, в пределах ошибки в $24\text{--}43\text{ см}^{-1}$ наблюдается для комплексов **3.8B** и **3.8C**. Однако, тот факт, что разность суммы частот колебаний по порядку величины не превышает

погрешность сделанной оценки не позволяет сделать однозначный выбор в пользу одного из этих комплексов.

Таблица 3.10

Сравнение экспериментальных и рассчитанных (TD-B3LYP/cc-pVDZ) низкочастотных фундаментальных колебаний (см^{-1}), проявляющихся в спектре возбуждения ЛИФ для комплексов 3.8 с метанолом.

эксперимент	3.8A	3.8B	3.8C
36.5	99	44	54
25	81	36	39
15	43	21	26
$\Sigma=76.5^a$	$\Sigma=223$	$\Sigma=101$	$\Sigma=119$

^a – сумма трех частот фундаментальных колебаний

Проведенный сравнительный анализ позволяет сделать вывод о том, что *основной сигнал флуоресценции, наблюдаемый в молекулярном пучке соедин. 3.8 в присутствии метанола и детектируемый как прогрессия S в спектре возбуждения ЛИФ, относится к комплексу состава флуорофор-метанол стехиометрии 1:2.*

Одним из потенциальных недостатков, затрудняющим интерпретацию спектров возбуждения ЛИФ, является тот факт, что в этих условиях детектируются только интенсивно флуоресцирующие молекулы и агрегаты. При этом интенсивность сигнала соединений, характеризующихся низким квантовым выходом флуоресценцией (<5 %) и коротким временем жизни (<0.1 нс), оказывается сопоставима с уровнем фонового сигнала. Это обстоятельство позволяет объяснить возможное отсутствие колебательной прогрессии в спектре возбуждения ЛИФ, относящейся к комплексу соедин. 3.8 с метанолом состава 1:1, поскольку ранее было показано, что флуоресценция такого циклического комплекса в растворе является очень короткоживущей (<0.1 нс) [247].

Дополнительное изучение слабофлуоресцирующих комплексов **соед. 3.8** было выполнено в Институте физической и теоретической химии университета Гете (Франкфурт-на-Майне, Германия). Для обнаружения возможных нефлуоресцирующих агрегатов, которые не удалось детектировать в спектре возбуждения ЛИФ (рис. 3.17-3.18), состав молекулярного сверхзвукового пучка **соед. 3.8** с метанолом был проанализирован с помощью время-пролетного масс-спектрометра. В результате проведенного анализа, в масс-спектре **соед. 3.8** нами были зарегистрированы пики, относящиеся как к изолированному флуорофору, так и к комплексам с одной и двумя молекулами метанола (рис. 3.20). Таким образом, комбинированный подход, основанный на применении техники молекулярных пучков в сочетании с время-пролетной масс-спектрометрией позволил установить наличие в молекулярном пучке ВСК **соед. 3.8** с метанолом состава 1:1 и 1:2. Комплекс состава 1:1 имеет низкий квантовый выход флуоресценции, и, скорее всего поэтому не детектируется в соответствующем спектре возбуждения ЛИФ.



В указанном эксперименте, для того, чтобы минимизировать фоторазложение флуорофора и распад ВСК за счет локального фототермического перегрева, детектируемые комплексы возбуждались по двухфотонной схеме в области генерации второй гармоники 532 нм фемтосекундного Тi-сапфирового лазера (прямое возбуждение 266 нм, длительность импульса 300 фс). Одновременное сканирование молекулярного пучка вторым ИК лазером

в диапазоне $3150\text{--}3450\text{ см}^{-1}$ позволило нам измерить фрагмент колебательного спектра комплекса в электронно-возбужденном состоянии S_1 .

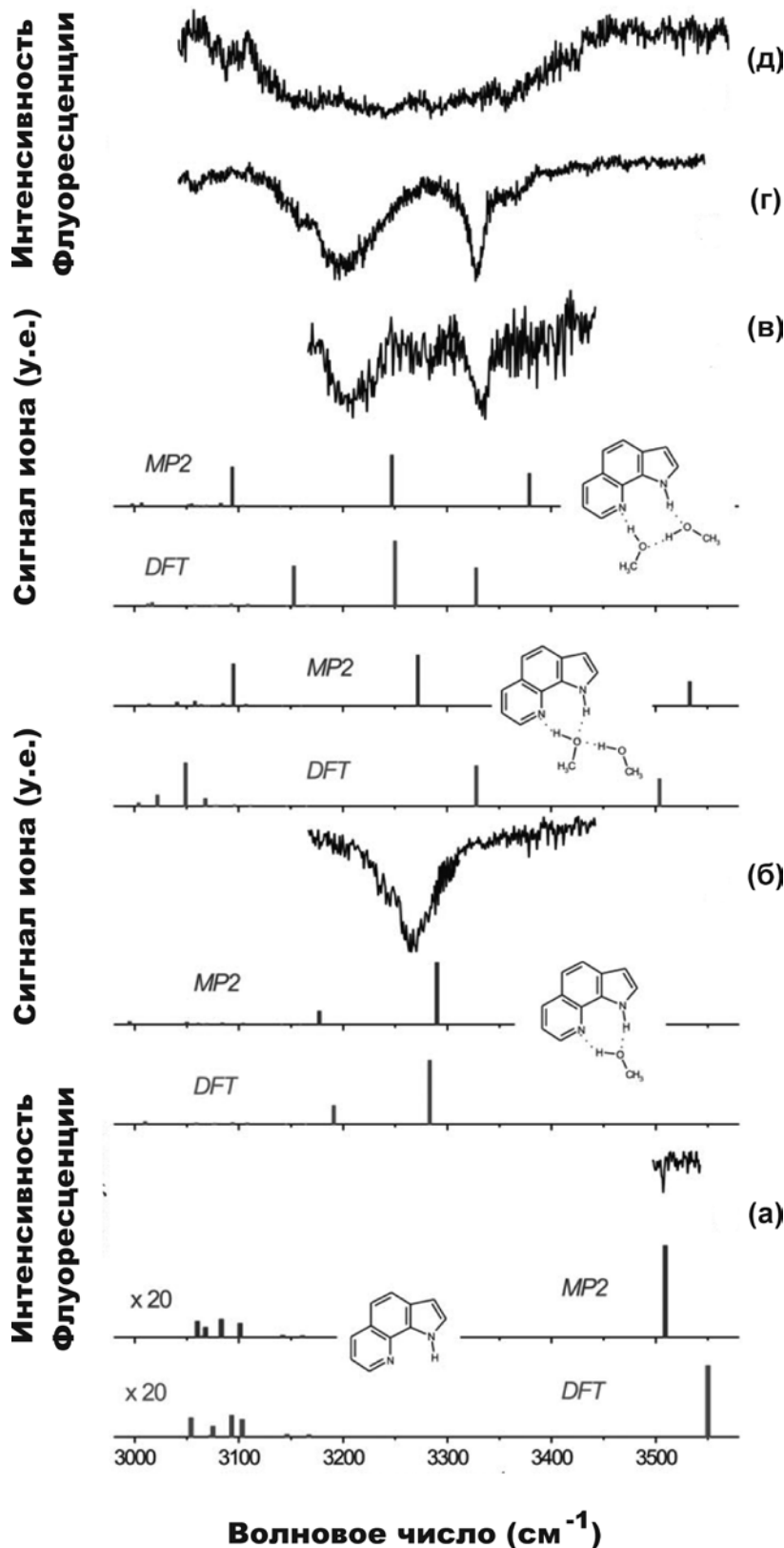


Рис. 3.21 Фрагмент ИК спектра комплексов соедин. **3.8** с молекулами метанола, измеренного в молекулярном сверхзвуковом пучке после селективного возбуждения во время-пролетном масс-анализаторе. Возбуждение УФ лазером проводилось при следующих частотах: (а) 29524 см^{-1} (изолированный флуорофор), (г) 27873 см^{-1} (комплекс состава 1:2), (д) 27656 см^{-1} (комплекс содержащий 3 и более молекул метанола). ИК полосы измеренные при фемтосекундном мультифотонном возбуждении, отнесенные к комплексам состава 1:1⁺ (б) и 1:2⁺ (в) (см текст). Полосы в ИК спектрах рассчитанных методом B3LYP/cc-pVDZ (DFT) и MP2/TZVP (MP2) обозначены столбиками (см. табл. 3.11).

На рис. 3.21 представлен анализ фрагментов ИК спектров комплексов **3.8** с метанолом состава 1:1 и 1:2 (их стехиометрический состав был предварительно определен в масс-спектрометрическом эксперименте).

Таблица 3.11

Характеристики некоторых нормальных колебаний N-H и O-H, рассчитанные для изолированной молекулы 3.8 и ее комплексов 3.8А-3.8С с помощью различных квантово-химических методов.

Валентные колебания	теория			эксперимент	
	B3LYP/ 6-31G**	B3LYP/ cc-pVDZ	MP2/ TZVP	IR/fsMPI	FDIR
соед. 3.8					
NH	3574	3550	3509	-	3507
комплекс 3.8А					
противофазное NH...О и ОН...N	3291	3283	3290	3268	-
“перенос протона”	3204	3191	3177	-	-
комплекс 3.8С					
ОН...О между молекулами метанола	3328	3328	3379	3332	3332
противофазное NH...О и ОН...N	3212	3250	3247	3209	3205
“перенос протона”	3148	3153	3094	-	-
комплекс 3.8В					
ОН...О между молекулами метанола	3539	3504	3533	-	-
противофазное NH...О и ОН...N	3355	3328	3272	-	-
“перенос протона”	2961	3049	3095	-	-

Для отнесения комплексов было проведено сравнение частот колебаний в экспериментальном ИК спектре с результатами квантово-химических расчетов, проведенных на различном уровне теории (табл. 3.11). Из рис. 3.21б видно, что в ИК спектре комплекса состава 1:1 наблюдается всего одна полоса в области 3268 см^{-1} , в то время как в ИК спектре комплекса состава 1:2 наблюдается расщепление сигнала на две полосы 3209 и 3332 см^{-1} [A17, A18].

Квантово-химические расчеты ИК спектра циклического комплекса **3.8A** с одной молекулой метанола, выполненные как методом MP2/TZVP, так и в различных вариациях метода функционала плотности (B3LYP/6-31G** и B3LYP/cc-pVDZ), показали, что в рассматриваемый диапазон попадает частота $3283\cdots3291\text{ см}^{-1}$. Положение полосы этого колебания хорошо согласуется с экспериментом, а ее форма определяется согласованным противофазным растяжением связей О-Н одной молекулы метанола и группы N-H пиррольного цикла (табл. 3.11). Аналогичный квантово-химический расчет для комплекса **3.8C** показал наличие двух колебаний: (1) первая интенсивная ИК полоса при $3212\cdots3250\text{ см}^{-1}$, отвечает согласованному противофазному растяжению связей N-H пиррольного цикла и О-Н группы молекулы метанола, образующей ВС с хинилиновым атомом азота, (2) вторая ИК полоса при $3328\cdots3379\text{ см}^{-1}$, в основном, связана с согласованным растяжением связей О-Н между молекулами метанола, входящими в состав комплекса [A17] (табл. 3.11). Форма указанных колебаний комплекса **3.8C**, рассчитанных методом MP2/TZVP показана на рис. 3.22. Сравнение ИК спектра комплекса **3.8B** с экспериментом показывает значительное расхождение (табл. 3.11). Таким образом, анализ ИК колебаний, выполненный для области “отпечатков пальцев”, позволяет сделать вывод о том, что среди двух структур **3.8B** и **3.8C**, лучшее соответствие с экспериментом наблюдается для комплекса **3.8C**, который, поэтому может считаться наиболее вероятной

структурой, появляющейся в спектрах возбуждения ЛИФ и фс-ИК (рис. 3.17-3.18 и 3.21) [A17, A18].

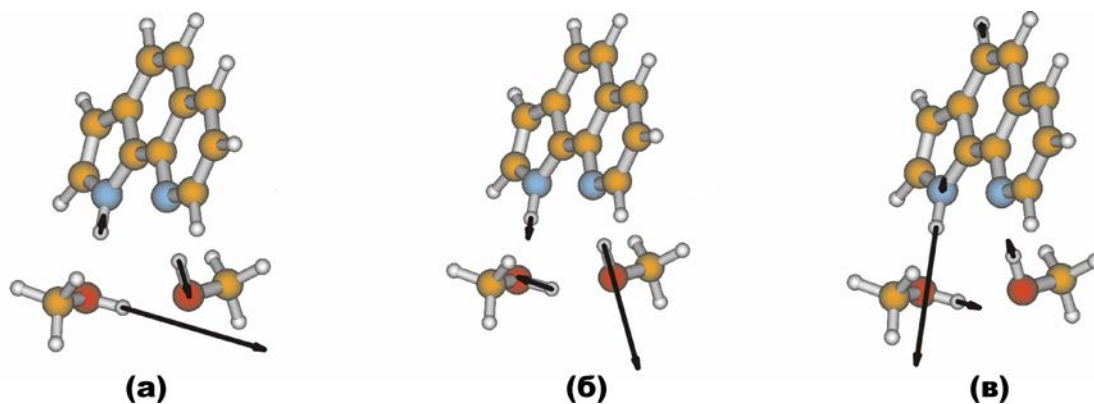


Рис. 3.22 Колебания комплекса **3.8C**, показывающие смещения протонов в N-H и O-H группах. а) 3313 cm^{-1} , б) 3235 cm^{-1} , в) 3139 cm^{-1} . Расчет выполнен методом MP2/TZVP.

Таким образом, на основании изучения стехиометрического состава и строения комплексов соедин. **3.8** с молекулами метанола в молекулярном сверхзвуковом пучке было установлено, что основными детектируемыми флуоресцирующими агрегатами являются комплексы, содержащие две и более молекул метанола. Комплекс состава 1:1, имеющий циклическое строение **3.8A**, является очень короткоживущим (<0.1 нс), и поэтому, его наличие может быть подтверждено только с помощью схемы с мультифотонным фемтосекундным возбуждением. Нами был сделан вывод о том, что короткое время жизни и низкий квантовый выход флуоресценции комплекса **3.8A** является результатом реакции фотопереноса протона, которая приводит к образованию слабо флуоресцирующего таутомера. Именно этот процесс является эффективным каналом безызлучательного рассеивания энергии электронного возбуждения **3.8A** в состоянии S_1 . Таким образом, этот результат означает, что в условиях сверхзвукового расширения молекулярного пучка, в условиях вакуумной изоляции и низкой температуры, фотоперенос протона в комплексе **3.8A** не требует значительной энергии активации. С другой стороны, отсутствие фотоиндуцированного переноса прото-

на в комплексах с двумя (**3.8C**) и более молекулами метанола означает, что для прохождения такого процесса необходима значительная энергия активации, и, поэтому, в условиях низкой температуры молекулярного пучка этот процесс не реализуется по кинетическим соображениям.

3.3.2 Комплексы 1*H*-пирроло[3,2-*h*]хинолина с водой

Флуоресценция соед. **3.8** в водном растворе при рН 7 характеризуется очень низким квантовым выходом флуоресценции, составляющим менее 0.01 %. Однако, в отличие от спектра флуоресценции этого соединения в спиртовых растворах, в которых наблюдается двухполосная флуоресценция, в водных растворах обнаружена только уширенная полоса испускания нормальной формы. Для понимания механизма тушения соед. **3.8** в водных растворах были исследованы его спектры флуоресценции в условиях молекулярных сверхзвуковых пучков. Методика эксперимента и процедура интерпретации спектров были аналогичными ранее описанным для случая ВСК с метанолом (раздел 3.3.1).

На рис. 3.23 представлен спектр возбуждения ЛИФ соед. **3.8** в молекулярном пучке в присутствии паров воды. Первая полоса при 28061 см^{-1} соответствует наименьшему по массе флуоресцирующему комплексу соед. **3.8**. Учитывая, что первая полоса в спектре возбуждения ЛИФ изолированной молекулы **3.8** находится при 29524 см^{-1} полоса комплекса с молекулой воды смещена в длинноволновую область на 1463 см^{-1} . Спектр возбуждения ЛИФ в диапазоне $28100\text{--}28200\text{ см}^{-1}$ (рис. 3.23а) содержит целый ряд полос, происхождение которых требовало дополнительного исследования: эти полосы могли быть (i) спектральной прогрессией индивидуального флуоресцирующего комплекса, (ii) суперпозицией нескольких флуоресцирующих комплексов разного строения и состава. Поэтому для того, чтобы убедиться, что полученный набор полос соответствует одному типу флуоресцирующих комплексов,

нами был выполнен дополнительный эксперимент по выжиганию провалов (*англ.* hole-burning) в ИК-УФ спектрах, при котором молекулярный пучок облучался в ИК-диапазоне узкополосным лазерным излучением ($\Delta\nu=2\text{ см}^{-1}$) при 3411 см^{-1} , что соответствует области колебаний пиррольной группы N-H [A21].

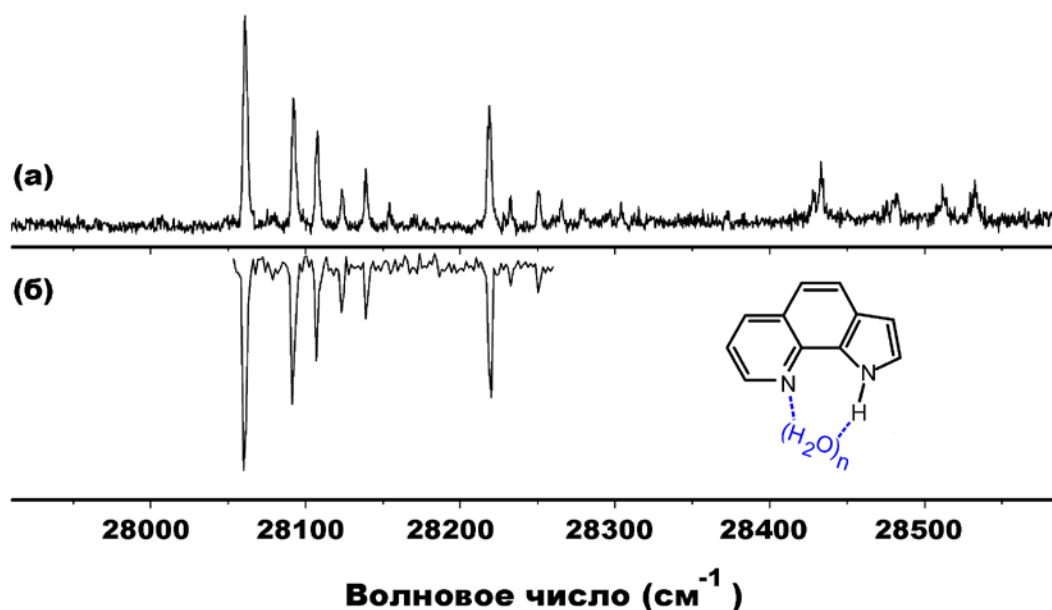


Рис 3.23 Спектры возбуждения ЛИФ (а) и ИК-УФ спектры выжигания провалов (б), измеренные в условиях молекулярных сверхзвуковых пучков в диапазоне спектральной активности кластеров соед. **3.8** с одной или двумя молекулами воды [A21].

Экспериментальная техника ЛИФ, в сочетании с методом ИК-выжигания спектральных провалов, активно применяется в литературе для расшифровки сложных спектров, содержащих смесь ВСК, различных как по строению, так и по составу [269, 270]. Как следует из рис. 3.23б при облучении молекулярного пучка ИК лазером наблюдалось одновременное уменьшение интенсивности всех полос в спектре в диапазоне $28060\text{--}28250\text{ см}^{-1}$, что служит *подтверждением того, что спектр на рис. 3.23а относится к одному флуоресцирующему комплексу*. Следует отметить, что спектральная прогрессия в спектре ЛИФ комплекса соед. **3.8** с водой имеет много сходства

со спектром ЛИФ для этого соединения с метанолом (рис. 3.17-3.18). В случае комплекса **3.8**·(H₂O)_n длинноволновое смещение первой полосы в спектре ЛИФ составляет 1463 см⁻¹, что согласуется с аналогичным смещением 1651 см⁻¹, наблюдаемым в случае комплекса соедин. **3.8C** с двумя молекулами метанола (соед. **3.8C** на рис. 3.19).

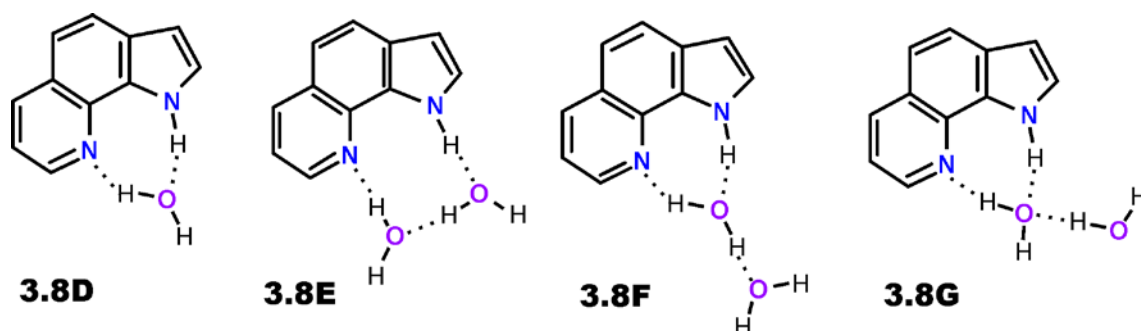


Рис. 3.24 Структура наиболее вероятных комплексов соедин. **3.8** с одной (**3.8D**) и двумя (**3.8E-3.8G**) молекулами воды, по результатам квантово-химического моделирования.

Строение и стабильность возможных ВСК соедин. **3.8** с одной или двумя молекулами воды промоделированы с помощью квантово-химического расчета методом B3LYP/сс-pVDZ, который позволил установить ряд наиболее устойчивых ВСК, структура которых показана на рис. 3.24. Энтальпия ΔH образования комплекса **3.8D** составила 38.9 кДж/моль. В ряду **3.8E-3.8G** ΔH уменьшается и составляет 52.7, 46.0 и 39.7 кДж/моль [A21], соответственно.

Для повышения информативности результатов ЛИФ, проведен анализ молекулярного пучка соедин. **3.8**, содержащего пары воды, при помощи методики, аналогичной той, что была применена в разд. 3.3.1 для ВСК с молекулами метанола, а именно выполнен комплексный анализ состава молекулярного пучка при помощи спектроскопии ЛИФ, время-пролетного масс-анализатора и ИК-спектрометра (рис. 3.25).

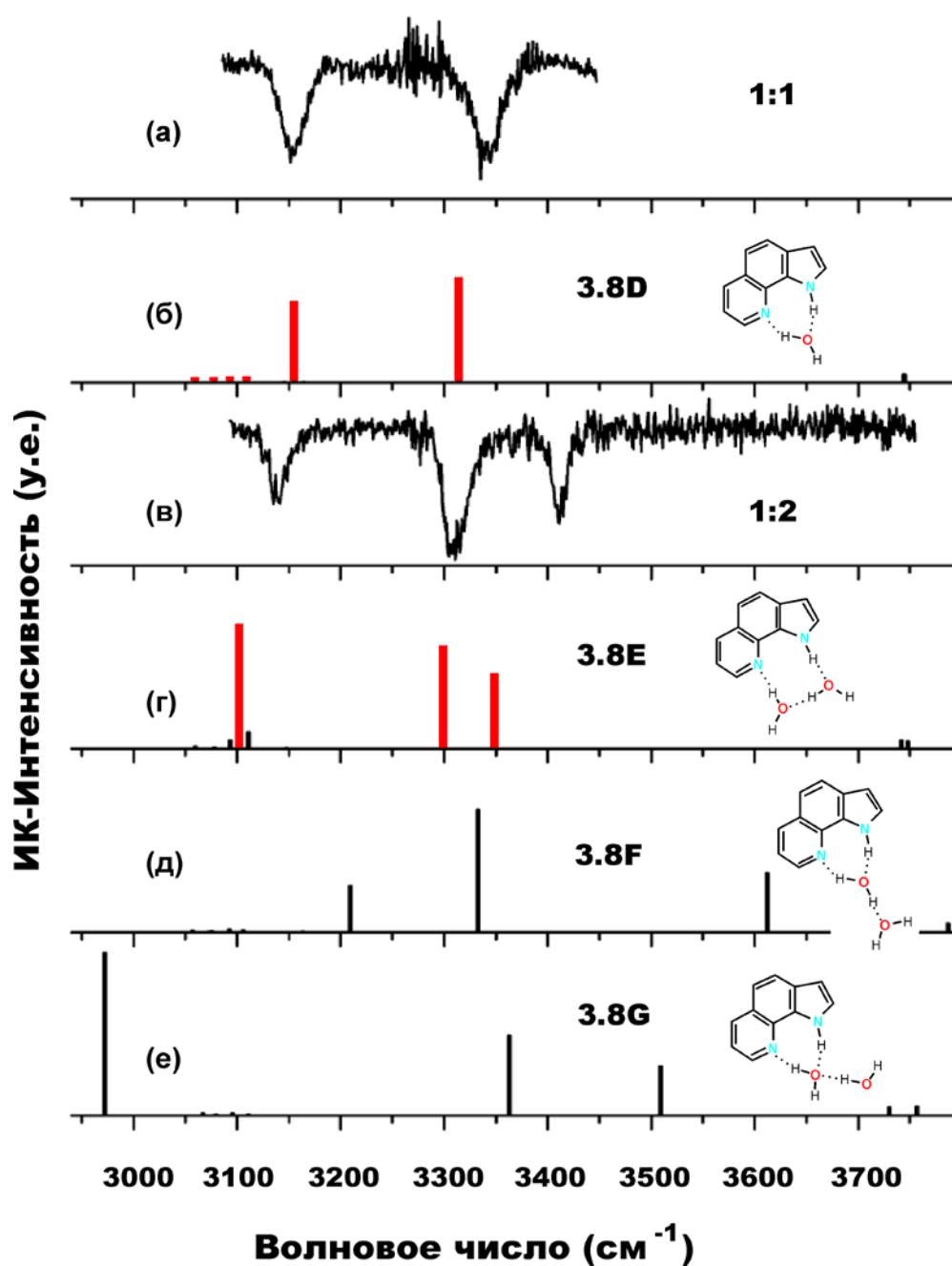


Рис. 3.25 Фрагмент ИК спектра комплексов соед. **3.8** с молекулами воды, измеренный в молекулярном пучке в области колебаний группировки N-H. Спектр *a* и *в* соответствует комплексу соед. **3.8** с одной (1:1) и двумя (1:2) молекулами воды. Теоретические ИК спектры комплексов **3.8D-3.8G**, рассчитанные методом B3LYP/cc-pVDZ (*б*, *г*, *д* и *е*).

Анализ масс-спектра показал, что в молекулярном пучке присутствуют ВСК как состава 1:1, так и состава 1:2 [A21]. При этом спектр возбуждения ЛИФ, приведенный на рис. 3.21, соответствует ВСК состава 1:2. На рис. 3.25а и 3.25в показан фрагмент ИК-спектра комплекса соедин. **3.8** с водой состава 1:1 и 1:2.

Таблица 3.12

Характеристики некоторых нормальных колебаний N-H и O-H, рассчитанные для комплексов 3.8D-3.8G методом B3LYP/cc-pVDZ.

комплекс	$\nu_{\text{теор}} / \text{см}^{-1}$	$\nu_{\text{эксп}} / \text{см}^{-1}$	Колебательная мода
3.8D	3314	3341	противофазное NH...O и OH...N
	3155	3155	“перенос протона”
3.8E	3349	3411	ОН молекул воды, входящих в комплекс
	3300	3310	противофазное NH...O и OH...N
	3103	3140	“перенос протона”
3.8F	3612		ОН молекул воды, входящих в комплекс
	3333		противофазное NH...O и OH...N
	3210		“перенос протона”
3.8G	3509		ОН молекул воды, входящих в комплекс
	3363		противофазное NH...O и OH...N
	2972		“перенос протона”

Сравнение экспериментального и теоретического ИК-спектра показывает, что комплекс состава 1:1 с большей вероятностью имеет циклическое строение **3.8D** (рис. 3.24, рис. 3.25а-б и табл. 3.12). ИК полосы 3341 и 3155

см^{-1} соответствуют асинхронному и синхронному валентным колебаниям водородосвязанных групп N-H и O-H (рис. 3.26а-б). При этом синхронная колебательная мода 3155 см^{-1} является промотирующей модой для переноса протона по цепочке образующих цикл водородных связей.

На примере комплекса соед. **3.8** с водой состава 1:2 выполнено сравнение экспериментальных и теоретических спектров трех возможных структур, при этом лучшее соответствие наблюдалось для комплекса **3.8E** (рис. 3.25г, рис. 3.24 и табл. 3.12). Эти данные хорошо согласуются с рассчитанными ранее ΔH образования трех обсуждаемых комплексов. При этом, структура **3.8E** оказывается более термодинамически выгодной на 6.2 и 13.0 кДж/моль по сравнению с комплексами **3.8F** и **3.8G**, соответственно [A21].

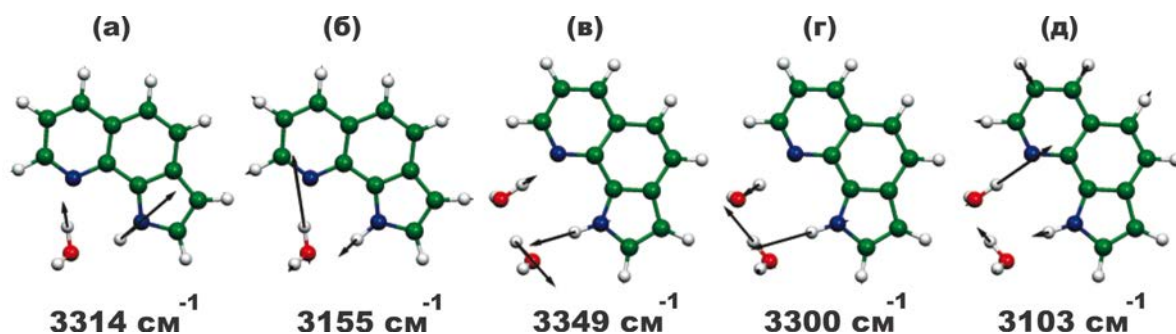


Рис. 3.26 Нормальные моды колебаний комплексов **3.8D** (а-б) и **3.8E** (в-д), рассчитанные методом B3LYP/сс-pVDZ.

*Комплексное применение техники вакуумной изоляции в сверхзвуковом молекулярном пучке и время-пролетной масс-спектрометрии в сочетании с ИК-УФ спектроскопией и квантово-химическими расчетами позволило установить для соед. **3.8** присутствие двух типов ВСК с водой, имеющих различные флуоресцентные свойства: (i) флуоресцирующий комплекс состава 1:2, в котором две молекулы воды формируют цепочку от пиррольной N-H до пиридинового атома азота, наиболее вероятной структурой которого является комплекс **3.8E**, (ii) слабо флуоресцирующий комплекс состава 1:1, в котором молекула воды непосредственно связана с пиррольным и*

пиридиновым группами. Вероятной причиной низкого квантового выхода флуоресценции комплекса состава 1:1 может быть реакция фотоиндуцированного переноса протона с пиррольного на пиридиновый цикл, медиатором которого выступает молекула воды. В пользу этого механизма тушения свидетельствует близкая аналогия спектров ЛИФ для комплекса соед. 3.8 с одной молекулой метанола (раздел 3.3.1), а также результаты квантово-химического расчета, приведенного в разделе 3.5.

3.4 Молекулярно-динамическое моделирование сольватационной динамики азотсодержащих гетероциклических соед. 3.6-3.8.

Несмотря на наличие широкого набора экспериментальных спектральных данных по строению ВСК изучаемых в данном разделе гетероциклических азотсодержащих соединений, полученных для изолированных комплексов в газовой фазе или в сверхзвуковой струе, интерпретация результатов спектральных исследований, выполненных в растворе или смесях растворителей, по-прежнему остается нетривиальной задачей. В связи с этим, становится все более актуальным применение методов квантовой химии и молекулярно-динамического (МД) моделирования, которые являются важным вспомогательным средством при установлении взаимосвязи между фотофизикой изучаемых соединений и микросольватацией в растворе на молекулярном уровне. Преимуществом такого совместного подхода является то, что МД моделирование позволяет на молекулярном уровне изучить физико-химические аспекты сольватации флуорофора [A3] [249], отследить динамику перестройки сольватной оболочки [271], проследить частоту образования и разрыва индивидуальных ВС между определенным донорным или акцепторным центром флуорофора и молекулами растворителя [A13, A19].

Для выяснения строения ВСК, времени жизни и относительного вклада в сольватационную динамику в растворах 2-пиридининдолов и пирроло-

хинолинов в протонсодержащих растворителях нами было выполнено МД моделирование сольватационной динамики соед. **3.6** и **3.8** в метаноле и воде, а также для случая присутствия этих соединений в виде в неполярном *n*-гексane. Для выяснения роли топологии расположения донорно-акцепторных центров в молекуле флуорофора на сольватационную динамику нами был дополнительно изучен **7АИ**, который является классическим модельным соединением для выявления роли ВСК в тушении флуоресценции гетероциклических азотсодержащих соединений в протонных растворителях [15, 249].

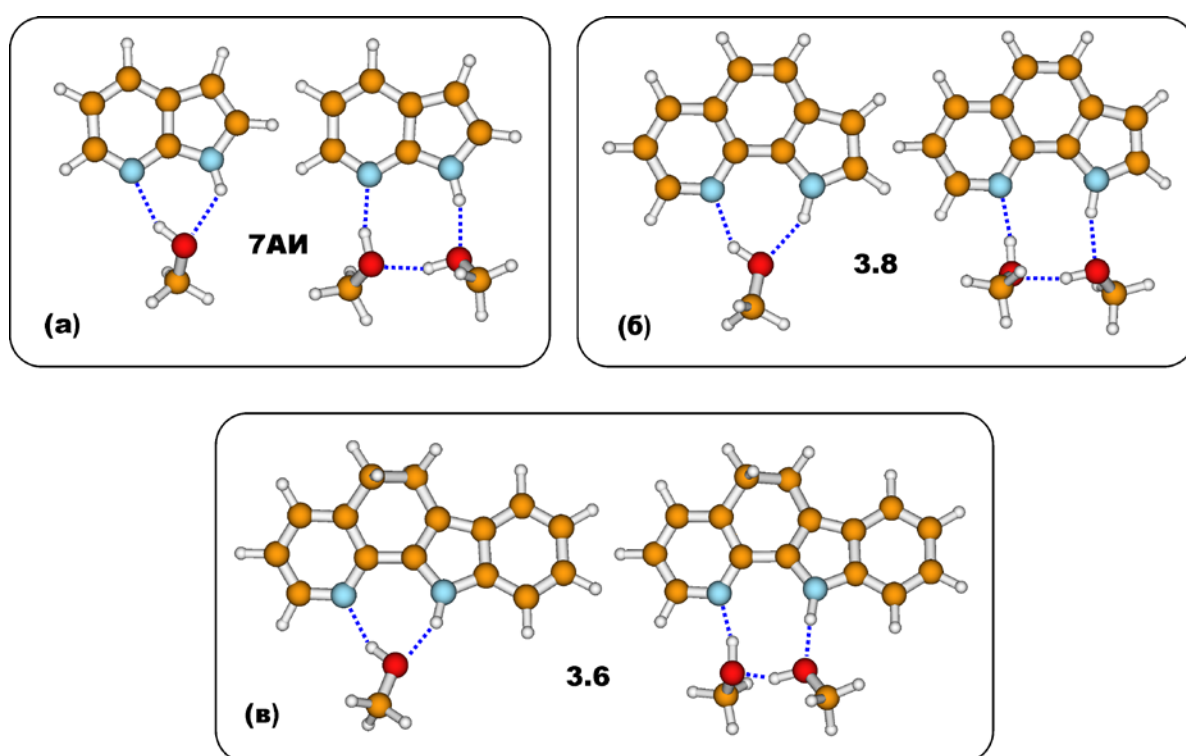


Рис. 3.27 Геометрия комплексов **7АИ** (а), соед. **3.8** (б) и соед. **3.6** (в) с одной и двумя молекулами метанола, оптимизированная методом B3LYP/6-31G(d,p) [A13].

На начальном этапе методом B3LYP/6-31G(d,p) была выполнена оптимизация геометрии для двух типов ВСК, в которых флуорофор образует комплекс с одной или двумя молекулами метанола. Анализ возможных конфигураций ВСК показал, что наиболее термодинамически устойчивыми являются структуры с циклическими ВС, как показано на рис. 3.27 [A13].

Оптимизированные геометрии комплексов **7АИ** и соед. **3.6** и **3.8** позволяют оценить равновесные длины ВС. Кроме этого, распределение заряда в хромофоре было использовано для параметризации соответствующей МД модели хромофора при моделировании сольватации в растворе.

Вклад циклического ВСК в общую популяцию Н-комплексов в растворе был оценен при помощи, разработанной нами процедуры, основанной на построении трехмерной (*англ.* 3-dimentional, 3D) гистограммы, описывающей вероятностное распределение ММВС между хромофором и молекулами растворителя. Построение 3D гистограммы выполнялось по результатам МД моделирования и анализа множества (10^6) мгновенных конфигураций Н-комплексов в растворе [A4, A13, A19] [1]. Использование 3D гистограмм для изучения сольватационной динамики и распределения ММВС для системы флуорофор-растворитель было ранее продемонстрировано в литературе для бис-функциональных систем типа **7АИ** и **1АК** [249].

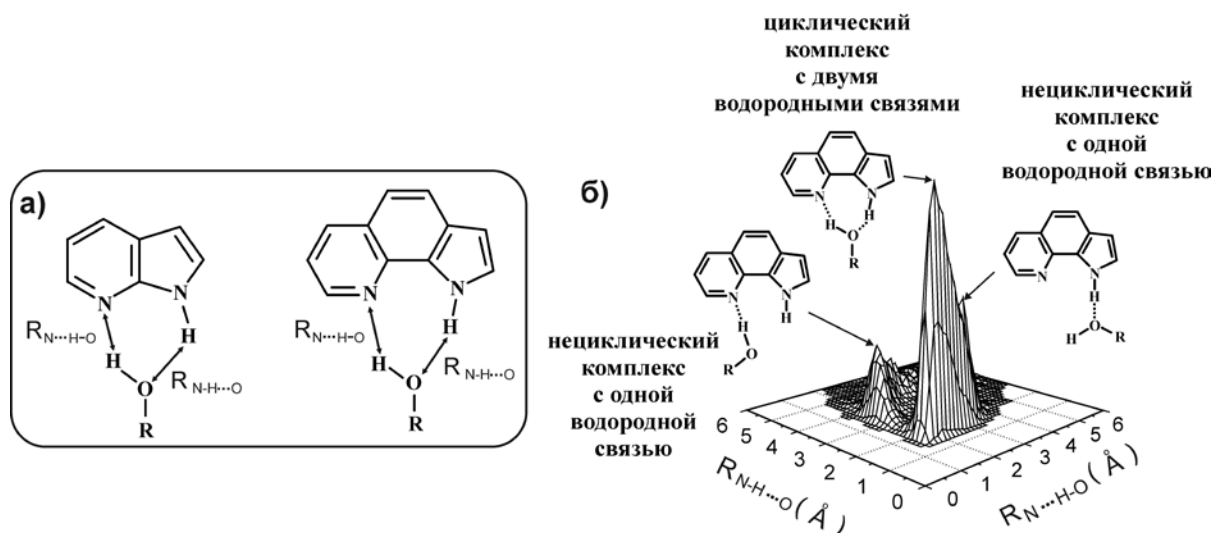


Рис. 3.28 Схема ММВС в циклическом ВСК в **7АИ** и соед. **3.8** с молекулой протонного растворителя. (а) Пример 3D гистограммы распределения ММВС для соед. **3.8**, в которой можно выделить наличие трех типов ВСК (б).

На рис. 3.28а показана схема водородных связей $N\cdots H-O$ и $N-H\cdots O$ в циклическом ВСК соед. **7АИ** и **3.8** с протонным растворителем, таким как

спирт или вода. На рис. 3.28б приведен пример 3D гистограммы, описывающей распределение двух указанных ВС для соед. **3.8**. В построенной гистограмме проявляется три пика, каждый из которых соответствуют определенному типу ВСК, присутствующему в растворе: два нециклических комплекса, в которых соед. **3.8** выступает в качестве донора или акцептора ВС, и один циклический ВСК с двумя ВС.

При анализе мгновенных конфигураций ВСК, формирующихся в процессе МД моделирования, критерием отнесения к одному из трех перечисленных комплексов является длина ВС $R_{N\cdots H-O}$ и $R_{N-H\cdots O}$. В случае, если величины $R_{N\cdots H-O}$ и $R_{N-H\cdots O}$ находятся в диапазоне 1.6-2.5 Å, ВСК считается циклическим (рис. 3.28). Граничная длина ВС, равная 2.5 Å, была рассчитана, исходя из геометрии циклических ВСК, оптимизированных методом B3LYP/6-31G(d,p) (рис. 3.27). В случае, если длина только одной из указанных ВС остается в пределах условного радиуса отсечения 2.5 Å, а длина второй ВС превышает указанный предел (что равнозначно разрыву ВС), комплекс является моноводородосвязанным, как показано на рис. 3.28б. Интегрирование объема 3D гистограммы, ограниченного соответствующим пиком, позволяет оценить вклад соответствующего комплекса в общую популяцию всех Н-комплексов в растворе. Выбор радиуса отсечения 2.5 Å позволяет исключить из 3D гистограммы полисольватированные ВСК, в которых хромофор одновременно связан с более чем двумя молекулами растворителя.

Среди основных задач, которые необходимо было решить по результатам МД моделирования сольватационной динамики, выделим следующие: (1) проверка адекватности впервые разработанной нами МД модели и параметризация силового поля для соед. **3.6** и **3.8**: необходимо было сравнить и воспроизвести результаты МД моделирования и 3D гистограмму распределения ММВС для системы **7АИ**, приведенную в литературе [249], (2) используя общую МД параметризацию для **7АИ** и соед. **3.6** и **3.8** сравнить сольватационную динамику, и выявить влияние топологии центров водород-

ного связывания на относительные популяции циклических и нециклических ВСК в растворе неполярного *n*-гексана с добавками спирта или воды (<1 %), а также в чистых спиртовых и водных растворах.

На начальном этапе было выполнено МД моделирование (длительность 1 нс) трех указанных соединений в растворе *n*-гексана в присутствии одной молекулы метанола. Моделирование выполнялось для NPT ансамбля в кубической ячейке, содержащей 116 молекул *n*-гексана, что соответствует экспериментальной концентрации метанола 10^{-5} моль/л. В начальный момент времени, флуорофор помещался в центр ячейки, при этом молекула метанола располагалась на расстоянии 3-4 Å (расстояние и ориентация относительно флуорофора выбирались случайным образом).

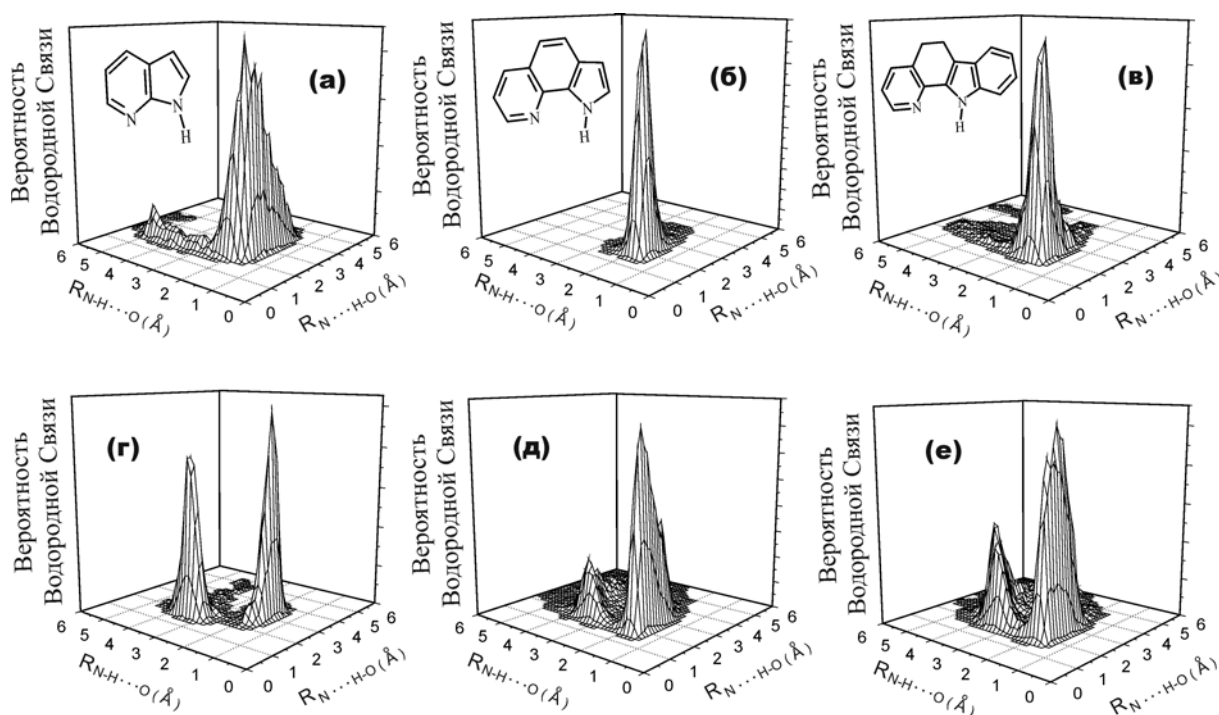


Рис. 3.29 3D-гистограмма распределения ММВС для **7AI** (а,г), соед. **3.8** (б,д) и соед. **3.6** (в,е) в растворе *n*-гексана, содержащем одну (вверх) и две (низ) молекулы метанола.

На рис 3.29а-в показаны 3D-гистограммы распределения ММВС для **7AI** и соед. **3.6** и **3.8** с одной молекулой метанола в растворе *n*-гексана,

полученные по результатам усреднения $5 \cdot 10^5$ мгновенных конфигураций ВСК. Как видно из рис. 3.29а-в, во всех трех 3D-гистограммах наблюдается один центральный пик, с положением максимума в шкале координат $R_{N \cdots H-O}$ и $R_{N-H \cdots O}$ 2.28×1.89 Å, 2.02×1.89 Å и 2.02×1.76 Å для **7АИ**, **3.6** и **3.8**, соответственно. Из этих данных следует, что, поскольку в каждом случае длина ВС была < 2.5 Å, следовательно, все три изученных флуорофора большую часть времени были сольватированы одной молекулой метанола, образуя с ними циклический ВСК. 3D-гистограмма для соед. **3.8** характеризуется четко выраженным пиком (рис. 3.29б), что соответствует устойчивому циклическому ВСК с двумя сильными ВС. В то же время, в 3D-гистограмме **7АИ** наблюдается размытость центрального пика и его существенное уширение вдоль координаты $R_{N \cdots H-O}$ (рис. 3.29а), что указывает на тот факт, что в процессе сольватации происходил периодический разрыв связи $N \cdots H-O$. Интегрирование поверхности под контуром 3D-гистограммы, выполненное в интервале от 0 до 2.5 Å, деленное на общий объем гистограммы, позволило нам рассчитать вклад циклического комплекса в общую популяцию ВСК. Для **7АИ** и соед. **3.6** и **3.8** вклад циклического комплекса составил $37 \pm 4\%$, $72 \pm 6\%$ и $88 \pm 6\%$, соответственно [A13].

После добавления второй молекулы метанола в раствор флуорофора в *n*-гексане наблюдались значительные изменения сольватационной оболочки, которые отражались в изменении формы 3D-гистограммы, как показано на рис. 3.29г-е. Наиболее существенные изменения наблюдались в 3D-гистограмме для **7АИ**, в которой исчезал центральный пик и появлялись два новых пика с положениями максимума 1.89×3.45 Å и 3.19×1.89 Å, соответственно (рис. 3.29г). Таким образом, можно сделать вывод, что в присутствии второй молекулы метанола наиболее устойчивой, и, следовательно, наиболее часто появлявшейся в МД модели, являлась конфигурация ВСК, в которой каждая из двух молекул метанола образовывала сильную ВС с донорным и акцепторным центром **7АИ**. При этом, вклад циклического ВСК **7АИ** с одной

молекулой метанола составил всего $\sim 1\%$ [A13]. В случае соед. **3.6** и **3.8** присутствие второй молекулы метанола приводило к уширению 3D-гистограммы и появлению дополнительных пиков (рис. 3.29e-d). Это свидетельствует о том, что образование конкурирующих ММВС флуорофора с молекулами метанола приводило к перестройке сольватной оболочки, однако, тем не менее, для соед. **3.6** и **3.8** вклад циклического ВСК с одной молекулой метанола оставался довольно высоким $26\pm 5\%$ и $39\pm 5\%$, соответственно [A13].

Аналогичная картина наблюдалась и в результатах МД моделирования **7AI** и соед. **3.6** и **3.8** в растворе *n*-гексана при добавлении одной и двух молекул воды. В присутствии одной молекулы воды, в 3D-гистограмме для соед. **3.6** и **3.8** присутствовал один пик (рис. 3.30б-в), отражающий доминирование циклического ВСК, вклад которого составлял $74\pm 6\%$ и $89\pm 6\%$, соответственно [A13].

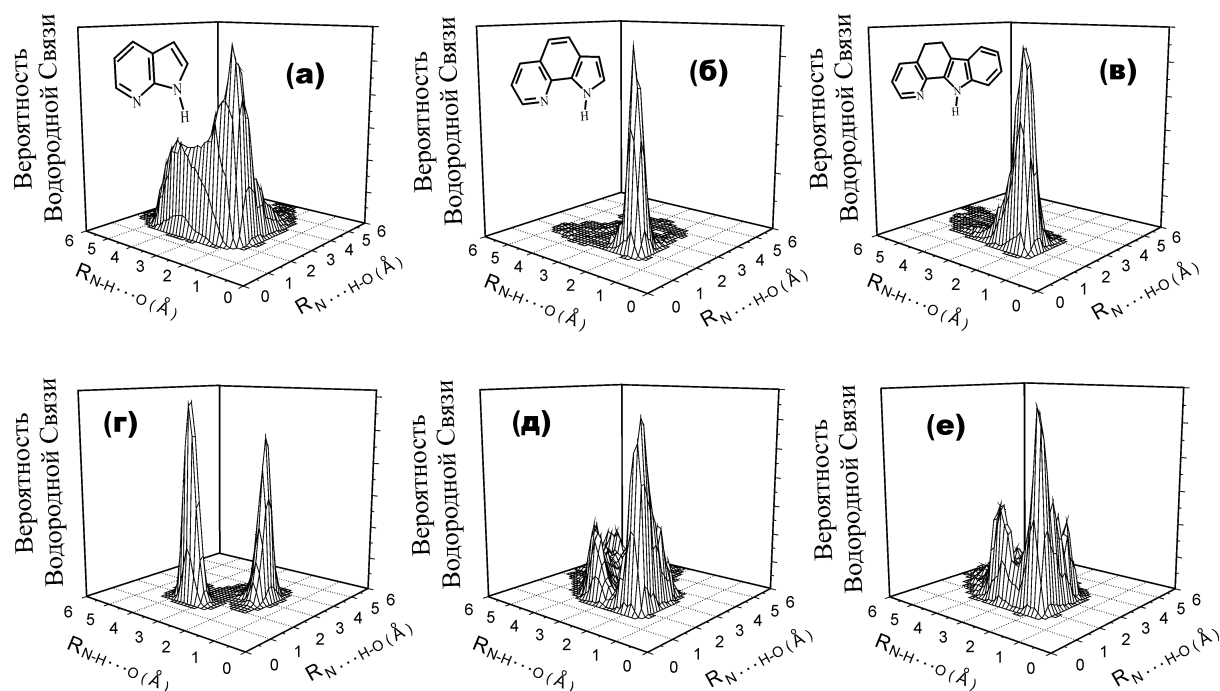


Рис. 3.30 3D-гистограмма распределения ММВС для **7AI** (a,г), соед. **3.8** (б,д) и соед. **3.6** (в,е) в растворе *n*-гексана, содержащем одну (вверх) и две (низ) молекулы воды.

В случае **7АИ**, сольватационная динамика оказалась более сложной (рис. 3.30а). В ней вклад циклического ВСК составил всего $35 \pm 5\%$. Добавление второй молекулы воды в раствор **7АИ** в неполярном *n*-гексane приводило к практически полному исчезновению циклического ВСК состава 1:1 (рис. 3.30г, вклад $<0.1\%$). Для соед. **3.6** и **3.8** присутствие второй молекулы приводило к снижению популяции циклического ВСК состава 1:1 до $31 \pm 5\%$ и $42 \pm 5\%$, соответственно (рис. 3.30д-е).

Полученные результаты МД моделирования сольватационной динамики трех соединений **7АИ**, **3.6** и **3.8** в растворе *n*-гексана, содержащем низкое содержание спирта или воды, показали, что добавление в неполярный раствор *n*-гексана второй молекулы протонного соединения вызывает усиление конкуренции ММВС между флуороформом и молекулами метанола, что в случае **7АИ** приводит к уменьшению в 35-37 раз фракции циклического ВСК. В другой стороны, для соед. **3.6** и **3.8** такая конкуренция ММВС приводит только к 2-3 кратному снижению популяции циклического ВСК.

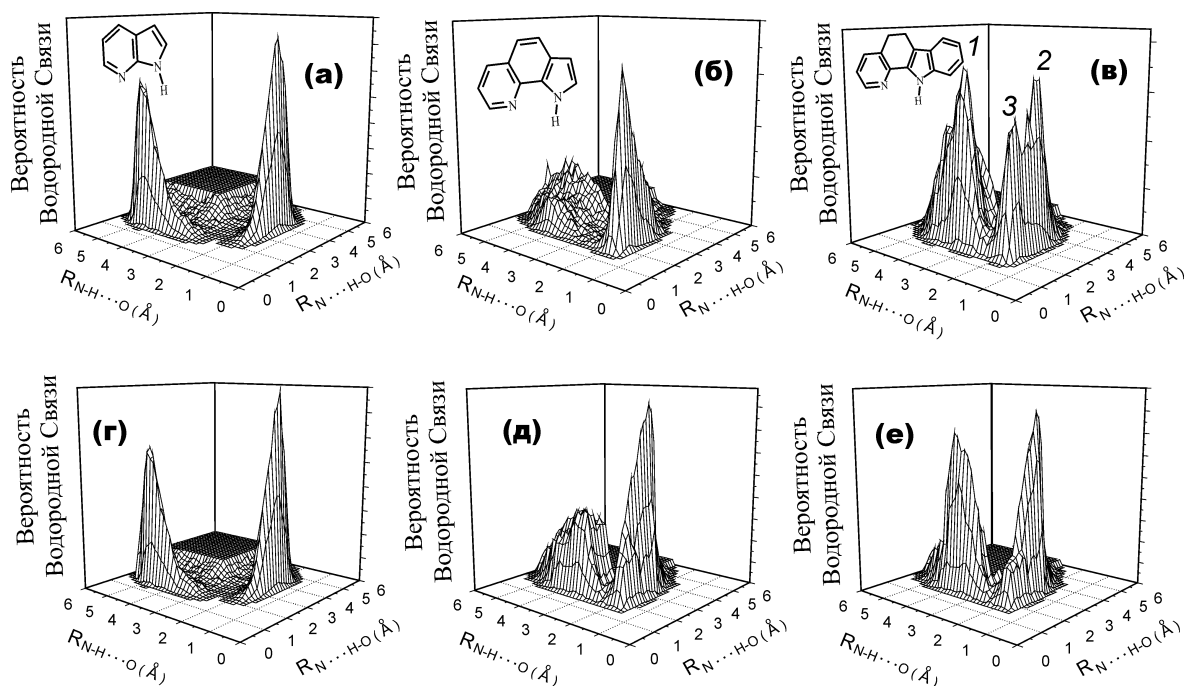


Рис. 3.31 3D-гистограммы распределения ММВС для **7АИ** (а,г), соед. **3.8** (б,д) и соед. **3.6** (в,е) в растворе чистого метанола (вверх) и воды (низ).

Для изучения сольватационной динамики трех вышеупомянутых соединений в протонном растворителе нами было выполнено МД моделирование в растворе чистого метанола и воды, каждый из которых содержал 216 молекул растворителя. По его результатам было проанализировано строение сольватной оболочки флуорофора в терминах распределения ММВС в виде соответствующих 3D-гистограмм, как показано на рис. 3.31. Основная научная задача, которую требовалось решить в результате такого анализа – это оценка вклада циклического комплекса в общую популяцию ВСК в растворе. Решение этой задачи позволяет прогнозировать фотонику этого класса соединений в протонных растворителях.

Анализ 3D-гистограммы для **7АИ** как в чистом метаноле, так и в воде, указывает на тот факт, что основная популяция ВСК состоит из поливодородосвязанных сольватов, среди которых доля циклического комплекса с одной молекулой протонного растворителя составляет всего $0.9 \pm 0.5\%$ (метанол) и $0.01 \pm 0.01\%$ (вода), соответственно [A13]. Этот результат хорошо согласуется с экспериментальными данными, которые свидетельствуют о том, что в водном растворе, в основном состоянии, фракция циклических ВСК **7АИ** составляет менее 1 % [15, 16].

Интересно отметить, что в идентичных условиях проведения МД моделирования, фракция циклических ВСК состава 1:1 для *соед. 3.8* составляет $35 \pm 5\%$ (метанол) и $10 \pm 1\%$ (вода), что хорошо согласуется с величинами, рассчитанными по данным экспериментально измеренных квантового выхода и времени жизни этого соединения в растворе 1-бутанола (см. раздел 3.2). Для *соед. 3.6*, фракция циклического ВСК соответствует несколько меньшим значениям, равным $15 \pm 5\%$ (метанол) и $5 \pm 2\%$ (вода), что, по-видимому, может быть связано с определенной конформационной нежесткостью молекулы флуорофора, за счет наличия диметиленового мостика $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ между индольным и пиридиновым циклами [A13, A19].

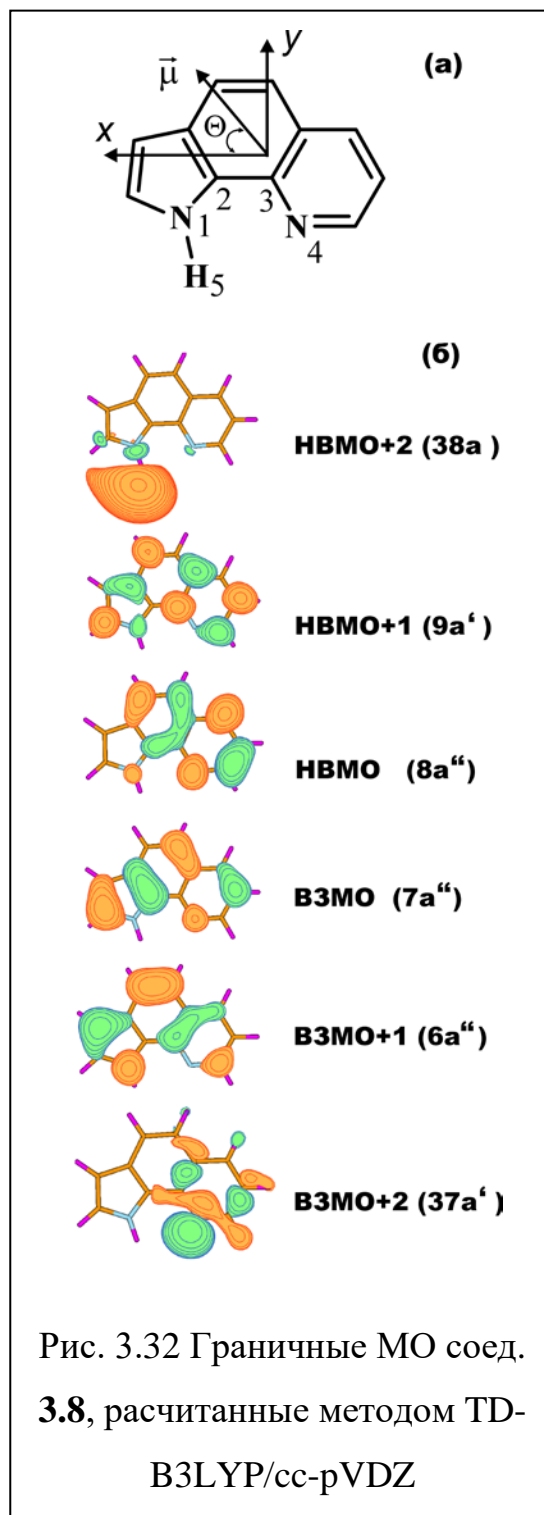
3.5 Механизм фотоиндуцированного двойного переноса протона в 1*H*-пирроло[3,2-*h*]хинолине

В предыдущих разделах было показано, что для соед. **3.6** и соед. **3.8-3.11** в спиртовых и водных растворах характерен феномен двухполосной флуоресценции, который обусловлен реакцией фотоиндуцированного переноса протона с пиррольного цикла на хинолиновый атом азота [A1, A19, A32] [248]. Нами было впервые показано, что *протекание этого процесса становится возможным в циклическом ВСК, образованном флуорофором с молекулой протонодонорного растворителя, в котором последняя выступает медиатором миграции протона по цепочке ВС* [A3] [1, 235]. Одним из ключевых вопросов остается вопрос о механизме, по которому реализуется двойной перенос протона. Этот вопрос остается актуальным со времени обнаружения указанного феномена в димерах **7АИ** и **1АК** [10, 252, 268, 272-280]. В литературе для такого рода систем по-прежнему активно обсуждается два возможных механизма переноса протона: (1) – одновременный синхронный перенос двух протонов по схеме $N-H\cdots HO-H\cdots N \rightarrow N\cdots H-OH\cdots H-N$ [18, 268, 281], (2) – последовательный асинхронный перенос двух протонов, при котором на первой стадии происходит перенос одного протона с донорного пиррольного центра хромофора на молекулу растворителя и формирование короткоживущего цвиттерионного интермедиата, а завершается процесс на второй стадии переносом протона молекулы растворителя на акцепторный атом азота хромофора [272-275]. Кроме этого, вопрос о механизме переноса протона, проходящем при участии молекул протонных растворителей и реализуемом вдоль цепочки ВС, имеет фундаментальное значение для понимания целого ряда фотофизических и фотохимических явлений, наблюдаемых в молекуле ДНК, в зеленом флуоресцентном белке и фотосинтетическом пигменте бактериородопсине, а также других интегральных мембранных белках,

выполняющих роль протонного насоса в клетках живых организмов [59, 61-63].

Для выяснения механизма двойного переноса протона в соед. **3.8**, реализуемого с участием молекул протонодонного растворителя, нами был проведен квантово-химический расчет энергетике прямого переноса протона в изолированной молекуле **3.8** и в циклическом ВСК комплексе с одной и двумя молекулами воды.

Геометрия изолированной молекулы **3.8** и ее ВСК с молекулами воды были оптимизированы методом B3LYP/сс-pVDZ. Было показано [282, 283], что квантово-химические расчеты систем с переносом протона являются чувствительными к выбору базисного набора, в частности, к включению в него диффузных функций, которые является необходимым условием для корректного воспроизведения очередности расположения электронно-возбужденных состояний L_a и L_b в хромофорах, содержащих индольный цикл, а также низкоэнергетических уровней типа $\pi\pi^*$, $\pi\pi^*$ и $\pi\sigma^*$ в азотсодержащих гетероциклах. Поэтому, в дополнение к стандартному базисному набору сс-pVDZ, в молекуле **3.8**, на атомах N1, N4, H5 (рис. 3.32a), а в случае



в комплексе с одной молекулой воды, на атомах N1, N4, H5 (рис. 3.32a), а в случае

комплексов, - также и на всех атомах молекул воды, нами были применены расширенные базисные функции aug-cc-pVDZ.

Таблица 3.13

Экспериментальные и рассчитанные (TD-B3LYP/cc-pVDZ) энергии переходов $S_0 \rightarrow S_n$ (эВ), сила осциллятора (f), дипольный момент перехода (M , Дебай), направление вектора момента электронного перехода ($\omega(M)$, градус), постоянный дипольный момент (μ , Дебай), направление вектора постоянного дипольного момента ($\Theta(\mu)$, градус), электронные конфигурации переходов $S_0 \rightarrow S_n$ в соед. 3.8.

Состояние	Расчет	Экс.	f	M	$\omega(M)$	μ	$\Theta(\mu)$	МО ^д
$1^1A'$						0.07	66.0	
$2^1A'$ ($1L_a$)	3.89	3.66 ^a	0.0197	1.15	+52.1	4.57	-1.21	H→L 85.8 H-1→L+1 9.1
$3^1A'$ ($1L_b$)	4.00	3.7-4.0 ^б	0.0304	1.42	-10.3	4.25	10.7	H-1→L 80.8 H→L+1 15.0
$1^1A''$ ($n\pi^*$)	4.64	-	0.0020	0.33	Γ	2.19	-	H-2→L 98.7
$4^1A'$ ($1B_a$)	4.76	4.6-4.8 ^б	0.0795	2.09	+69.4	3.47	1.6	H-1→L+1 81.3 H→L 6.8
$5^1A'$ ($1B_b$)	4.95	4.6-4.8 ^б	0.4949	5.13	-6.4	2.11	-3.4	H→L+1 68.6 H-1→L 13.6
$2^1A''$ ($\pi\sigma^*$)	5.14	-	0.0020	0.30	-	12.38	-	H→L+2 95.0
$3^1A''$ ($\pi\sigma^*$)	5.25	-	0.0012	0.24	-	13.65	-	H-1→L+2 94.8
$4^1A''$ ($n\pi^*$)	5.34	-	0.0001	0.05	Γ	3.07	-	H-2→L+1 98.3
$6^1A'$ ($\pi\pi^*$)	5.60	-	0.1953	3.03	13.6	-	-	H-3→L 63.3
<i>Триплет</i>								
$1^3A'$ ($\pi\pi^*$)	2.85	2.7 ^в	-	-	-	1.66	-	H→L 44.7 H-1→L 33.0
$2^3A'$ ($\pi\pi^*$)	3.36	-	-	-	-	4.17	-	H→L 40.4 H-1→L 52.3
$3^3A'$ ($\pi\pi^*$)	3.64	-	-	-	-	1.75	-	H→L+1 62.0 H-1→L+1 19.0
$4^3A'$ ($\pi\pi^*$)	3.82	-	-	-	-	1.55	-	H-1→L+1 66.0 H→L+1 25.7
$1^3A''$ ($n\pi^*$)	4.08	-	-	-	-	2.19	-	H-2→L 93.8

^a – положение 0-0 перехода в электронном спектре поглощения, измеренном в условиях молекулярного сверхзвукового пучка [A17]

^б – полоса поглощения в *n*-гексане и 1-бутаноле при 298 К [A19]

^в – спектр флуоресценции в 1-пропанолe и этаноле при 77 К [A19]

Γ – момент перехода направлен вдоль оси *z* (рис. 3.32a)

^д – H – (ВЗМО), L – (НВМО)

Для состояния S_1 энергия и геометрия изолированной молекулы и комплексов с молекулами воды рассчитывались с помощью метода время-зависимого функционала плотности TD-DFT/сс-pVDZ [208]. В изолированной молекуле соедин. **3.8** электронный переход $S_0 \rightarrow S_1$ обусловлен одноконфигурационным переходом ВЗМО \rightarrow НВМО, локализация орбиталей показана на рис. 3.32а [A12]. Таким образом, в изолированной молекуле **3.8**, электронно-возбужденное состояние S_1 является состоянием $\pi\pi^*$ типа [A19], что согласуется с высокой силой осциллятора длинноволновой полосы в спектре поглощения [248] (табл. 3.13). Анализ МО показывает, что при одноконфигурационном переходе ВЗМО \rightarrow НВМО электронная плотность смещается с пиррольного на хинолиновый цикл (рис. 3.32б), что объясняет усиление кислотных и основных свойств соответствующих гетероциклов, как было показано в табл. 3.7.

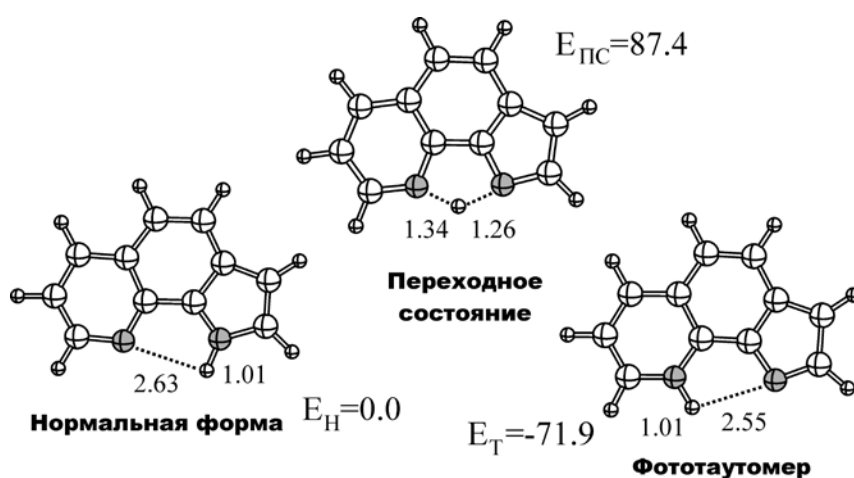


Рис. 3.33 Геометрия и относительная энергия (кДж/моль) нормальной (Н) и таутомерной (Т) форм, а также переходного состояния (ПС) для соедин. **3.8** в возбужденном состоянии S_1 , рассчитанные методом TD-B3LYP/сс-pVDZ.

Для изучения энергетики переноса протона был проведен квантово-химический анализ минимумов и экстремумов на поверхности потенциальной энергии для основного S_0 и электронно-возбужденного состояния S_1 и выполнена оптимизация геометрии для изолированной молекулы **3.8** в виде нор-

мальной формы, таутомера, а также переходного состояния между ними методом TD-B3LYP/сс-pVDZ. На рис. 3.33 показана геометрия нормальной формы, таутомера и переходного состояния для соедин. **3.8** в электронно-возбужденном состоянии S_1 . На этом же рисунке, указаны длины связей N-H и N-H...O (в Å) и относительная энергия представленных форм. В электронно-возбужденном состоянии S_1 таутомерная форма **3.8** стабилизирована относительно нормальной формы на -71.9 кДж/моль (рис. 3.33). При этом энергия переходного состояния превышает энергию возбужденной нормальной формы на +87.4 кДж/моль. Эта разность соответствует энергии активации ($\Delta E_{\text{акт}}$) реакции внутримолекулярного переноса протона. Т.о. внутримолекулярного переноса протона в изолированной молекуле соедин. **3.8** вряд ли возможен при комнатной, а тем более – при низкой температуре.

В случае ВСК соедин. **3.8** с одной и двумя молекулами воды, был проведен поиск не только переходных состояний, но и устойчивых интермедиатов, находящихся вдоль реакционной координаты переноса протона. Нахождение истинного минимума или переходного состояния было подтверждено расчетом колебательного спектра, в котором, в случае нормальной формы, интермедиата и таутомера отсутствовали мнимые частоты, а в случае переходного состояния была обнаружена одна мнимая частота колебаний.

Результаты квантово-химического расчета энергетики переноса протона в соедин. **3.8** в комплексе с одной молекулой воды показаны на рис. 3.34а. В возбужденном состоянии S_1 , в циклическом ВСК соедин. **3.8** с одной молекулой воды $\Delta E_{\text{акт}}$ снижается до 12.5 кДж/моль (рис. 3.34а), по сравнению с реакцией переноса протона в изолированной молекуле (рис. 3.33). Учитывая тот факт, что квантово-химический расчет был выполнен в вакууме, $\Delta E_{\text{акт}}$ в полярной среде должна быть еще ниже. Таутомерная форма **3.8**, которая существует в виде ВСК, является более термодинамически выгодной относительно нормальной формы на -52.3 кДж/моль (рис. 3.34а). Строение ПС и длины связей, участвующих в переносе протона, указывает на то, что процесс переноса

двух протонов происходит асинхронно: (i) вначале проходит отщепление протона от молекулы воды в направлении его присоединения к хинолиновому атому азота, на что указывают близкие значения расстояний $N\cdots H$ и $H\cdots O$, равные 1.26 Å и 1.24 Å, соответственно (рис. 3.34a). (ii) отщепление второго протона от пиррольной группы N-H на данном этапе не происходит, на что указывает длина соответствующей связи 1.12 Å.

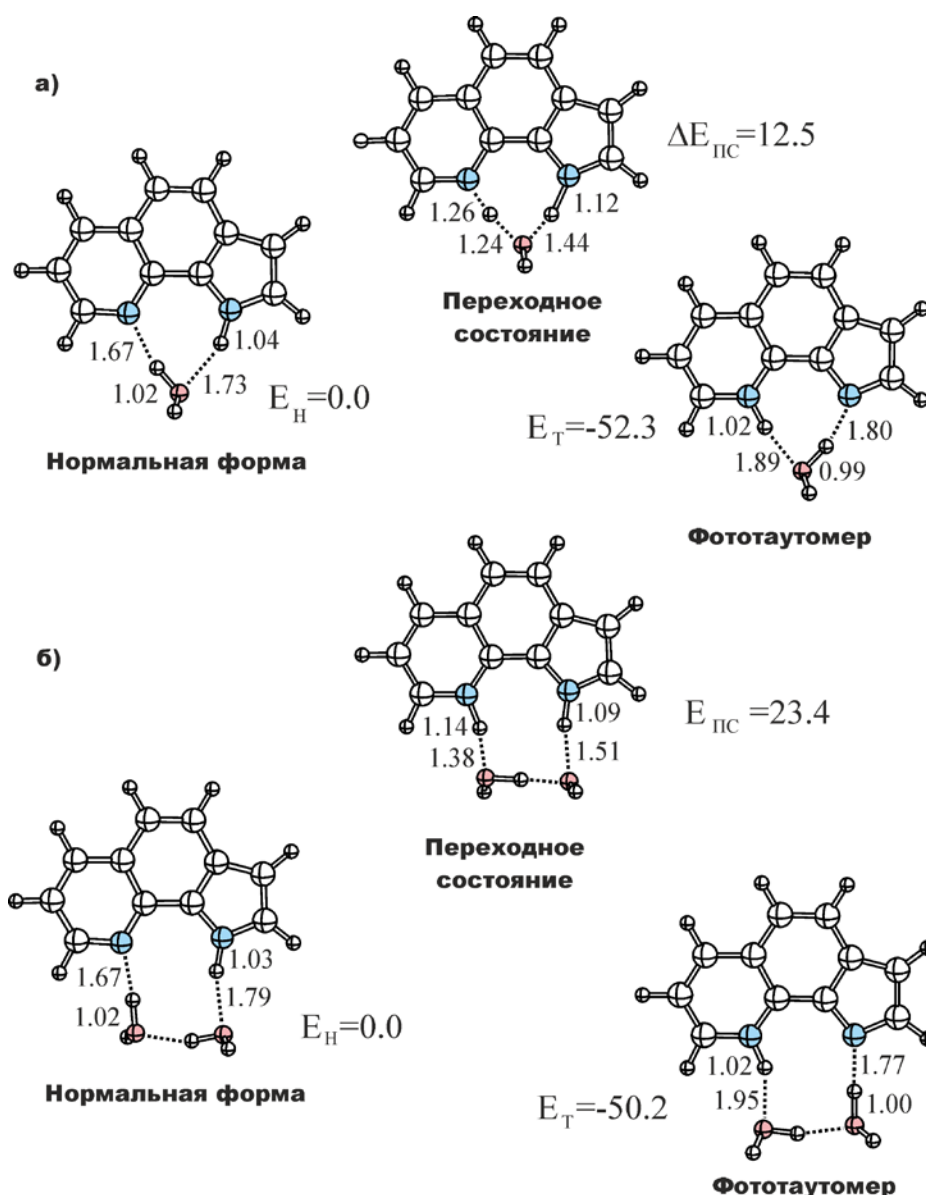


Рис. 3.34 Геометрия и относительная энергия (кДж/моль) нормальной (Н), таутомерной (Т) форм, и переходного состояния (ПС) для ВСК соедин. **3.8** с одной (a) и двумя (б) молекулами воды в S_1 -состоянии.

Поиск переходного состояния в циклическом комплексе **3.8** с двумя молекулами воды показал, что в указанной системе перенос протона также происходит последовательно с образованием переходного состояния (рис. 3.34б). При переходе в ПС реализуется перенос протона по цепочке ВС с одной молекулы воды на другую, с последующим переносом протона на хинолиновый атом азота (мнимая колебательная мода $i453\text{ см}^{-1}$) (рис. 3.34б). $E_{\text{ПС}}$ расположена на +23.4 кДж/моль выше энергии нормальной формы. Строение ПС, в котором и пиррольный, и хинолиновый атомы азота связаны с атомами водорода, указывает на то, что это состояние является протонированной формой, т.е. фотовозбужденным катионом соедин. **3.8**. На втором этапе происходит перенос протона с пиррольной группы N-H на димер воды и процесс завершается формированием устойчивого нейтрального фототаутомера, более энергетически выгодного на -50.2 кДж/моль по сравнению с энергией возбужденной нормальной формы (рис. 3.34б).

Таким образом, согласно результатам квантово-химических расчетов, выполненных для изолированной молекулы **3.8** в состоянии S_1 , для прямого переноса протона необходима высокая $\Delta E_{\text{акт}} = 87.4$ кДж/моль, и, поэтому, такой процесс является маловероятным. В циклическом ВСК соедин. **3.8** с одной молекулой воды $\Delta E_{\text{акт}}$ снижается до 12.5 кДж/моль, при этом, перенос протона через молекулу воды происходит по асинхронному механизму. В циклическом ВСК соедин. **3.8** с двумя молекулами воды, перенос протона по цепочке ВС требует существенной перестройки геометрии ВС, что приводит к повышению $\Delta E_{\text{акт}}$ до 23.4 кДж/моль, что в условиях сольватации и конкурирующих ММВС с молекулами растворителя может активировать безызлучательные процессы, конкурирующие с реакцией переноса протона [A13, A20].

Выводы к Разделу 3

По результатам комплексного исследования производных 2-(2'-пиридил)индола и 1Н-пирроло[3,2-*h*]хинолина методами электронной и флуоресцентной спектроскопии при стационарном и импульсном возбуждении с привлечением результатов квантово-химических расчетов и молекулярно-динамического моделирования могут быть сделаны следующие выводы:

1. На основании совокупности спектрально-флуоресцентных характеристик показано, что для производных 2-(2'-пиридил)индола и 1Н-пирроло[3,2-*h*]хинолина при переходе от неполярных растворителей в спиртовые растворы характерно существенное тушение флуоресценции. В 1Н-пирроло[3,2-*h*]хинолинах, тушение флуоресценции сопровождается появлением новой длинноволновой полосы испускания, обусловленной реакцией фотоиндуцированного переноса протона от группы N-H пиррольного цикла на хинолиновый атом азота. Впервые показано, что фотоперенос протона становится возможным в циклическом водородосвязанном комплексе хромофора с одной молекулой воды, которая формирует мостик между пиррольным и хинолиновым циклами. В спиртовых растворах 2-(2'-пиридил)индолов образование ВСК не приводит к появлению полосы флуоресценции фототаутомера, что обусловлено конформационной нежесткостью их молекул, в результате которой активируются безызлучательные процессы в состоянии S_1 . Установлено, что циклический водородосвязанный комплекс является устойчивым в основном электронном состоянии S_0 , в результате чего перенос протона по цепочке ВС не требует существенной перестройки сольватной оболочки, слабо зависит от вязкости растворителя и регистрируется даже в замороженных растворах при 77 К. Предложенный механизм двойного переноса протона у производных 1Н-пирроло[3,2-*h*]хинолина отличается от общепринятого в литературе для

классических систем **7АИ** и **7АК**, для которых считается, что образование циклического комплекса происходит за время жизни возбужденного состояния хромофора.

2. Комплексное применение техники вакуумной изоляции в молекулярном пучке и время-пролетной масс-спектрометрии в сочетании с ИК-УФ спектроскопией и квантово-химическими расчетами позволили установить для соедин. **3.8** присутствие двух типов ВСК с водой и метанолом, имеющих различные флуоресцентные свойства: (i) флуоресцирующий комплекс состава 1:2, в котором две молекулы протонного растворителя образуют циклический ВСК с пиррольной и пиридиновой группами, (ii) слабо флуоресцирующий комплекс состава 1:1, в котором молекула протонного растворителя образует циклический ВСК с пиррольной группой N-H и хинолиновым атомом азота. Низкий квантовый выход флуоресценции комплекса состава 1:1 обусловлен реакцией фотоиндуцированного двойного переноса протона с пиррольного на пиридиновый цикл, который происходит с участием молекулы протонного растворителя.

3. С использованием квантово-химических расчетов показано, что в электронно-возбужденном состоянии S_1 в изолированной молекуле **3.8**, $\Delta E_{\text{акт}}$ прямого переноса протона должна быть порядка 87 кДж/моль. Формирование циклического ВСК соедин. **3.8** с одной молекулой воды снижает $\Delta E_{\text{акт}}$ до 13 кДж/моль, при этом, перенос протона через молекулу воды реализуется по асинхронному механизму. В циклическом ВСК соедин. **3.8** с двумя молекулами воды, перенос протона по цепочке ВС требует существенной перестройки геометрии ВС, что приводит к повышению $\Delta E_{\text{акт}}$ до 23 кДж/моль, что в условиях сольватации и конкурирующих ММВС с молекулами растворителя может активировать безызлучательные процессы, конкурирующие с реакцией переноса протона.

4. По результатам флуориметрического титрования показано, что флуоресценция 2-[2'-(4',6'-диметил-пиримидил)]-индола усиливается в 200 раз при переходе из водной фазы в гидрофобную фазу мицеллы Тритон Х-100, что позволяет использовать это соединений как новый флуоресцентный зонд для флуориметрического определения критической концентрации мицеллообразования неионогенных ПАВ.

Основные научные результаты, приведенные в Разделе 3, опубликованы в работах [A1-A3, A9, A12, A13, A17-A21, A57, A60, A63-A64].

РАЗДЕЛ 4

ФОТОИНДУЦИРОВАННЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ПОРФИРИНАХ, ПОРФИЦЕНАХ И ИХ ДИАДАХ

Молекулы порфирина (порфина) и его изомера - порфицена имеют макроциклическую систему, характерной особенностью которой является наличие четырех пиррольных колец, объединенных по α -положениям этиленовыми и/или метиновыми мостиками в общую сопряженную систему (рис. 4.1). Интерес к данному классу соединений обусловлен уникальной геометрической и электронной структурой их молекул [284]. Порфирины и металлопорфирины являются перспективными для практического применения в качестве активных сред оптической обработки и хранения информации [285], низкоразмерных проводников [286], молекулярных магнетиков [287] и люминесцентных материалов [288].

Важность спектроскопического изучения порфиринов и их его изомеров заключается еще и в том, что эти исследования тесно связаны с проблемами биохимии и фотосинтеза [289]. Порфириновый скелет лежит в основе структур растительных фотосинтетических пигментов, таких как

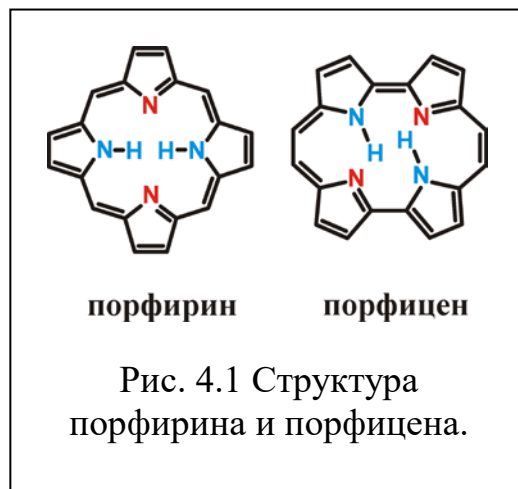


Рис. 4.1 Структура порфирина и порфицена.

хлорофилл и феофитин, что открывает новые возможности для создания систем искусственного фотосинтеза [290], а также для моделирования физико-химических процессов, происходящих в реакционном центре фотосинтезирующих организмов. Вследствие низкой цитотоксичности многие производные порфирина нашли применение в фотодинамической терапии онкологических заболеваний [89].

Порфирины являются перспективными соединениями для молекулярной оптоэлектроники [291], элементы которой должны быть гораздо меньшими

по размеру, чем современной кремниевой, а также должны отличаться меньшим потреблением энергии. В настоящее время на основе порфиринов уже созданы молекулярные транзисторы, молекулярные провода и молекулярные переключатели [288].

Ряд вышеперечисленных практических приложений соединений порфиринового ряда основан на уникальной особенности порфирина и порфицена - внутримолекулярной фотоиндуцированной реакции двойного переноса протона (раздел. 1.2). Вследствие высокой симметрии молекулы изучение динамики и механизма этого процесса в изотропных средах и растворах при комнатной температуре затруднено. В связи с этим, актуальным является изучение фотоники порфиринов и порфиценов в анизотропных средах при сверхнизких температурах или в низкотемпературных матрицах инертных газов.

4.1 Электронная абсорбционная и колебательная спектроскопия высокого разрешения порфиринов и порфиценов в низкотемпературных матрицах инертных газов

Использование в научных исследованиях лазеров и развитие методов селективной лазерной спектроскопии высокого разрешения, таких как селективное возбуждение люминесценции и выжигания провала [292], получили новые перспективные направления в области оптической спектроскопии порфиринов, изолированных в низкотемпературных инертных матрицах [293]. Методы селективной лазерной спектроскопии принципиально расширяют возможности спектроскопических исследований фотоиндуцированной таутомерии, поскольку, в отличие от неселективных методов классической спектроскопии, позволяют устранять неоднородное уширение спектров и измерять истинные (однородные) контуры спектральных линий отдельных таутомерных форм [289, 294]. Вместе с тем, следует отметить, что теоретические аспекты метода выжигания провалов изучены недостаточно [295].

Особую сложность представляют вопросы, связанные со спектральной гетерогенностью, которая определяется, в основном, формированием ансамбля примесных центров включения молекулы порфирина в низкотемпературную матрицу инертного газа [284]. Поэтому, *проведение комплексных теоретических и экспериментальных исследований оптических и колебательных спектров, а также разработка компьютерных методов количественного определения спектральных параметров примесного центра включения позволит установить зависимость электронных взаимодействий хромофор-матрица от строения примесной молекулы и природы матрицы (Ar или Xe) и, в конечном итоге, выявить зависимость спектральных характеристик широкого ряда производных порфирина от характера их взаимодействия с низкотемпературной матрицей.*

Фотоиндуцированная таутомеризация (таутомерия) в молекуле порфирина приводит в миграции двух протонов внутри макроцикла по типу $N-H\cdots N$, в результате чего образуется две *транс*-таутомерные формы (рис. 4.2). Поскольку результатом такой таутомеризации наблюдается “псевдовращение”[‡] молекулы на 90° , как показано на рис. 4.2, в изотропном растворе два этих *транс*-таутомера оказываются спектрально неразличимыми. Другая ситуация наблюдается в случае нахождения этих таутомеров в замороженном растворе или в анизотропном кристаллическом матричном окружении. В результате фототаутомеризации, приводящей к “псевдовращению” макроцикла порфирина в полости матрицы, каждый из двух *транс*-таутомеров будет иметь разное окружение в анизотропной кристаллической решетке (рис. 4.2), и, следовательно, несколько различающийся электронный спектр поглощения. Таким образом, измерение узкополосных спектров высокого разрешения в видимом и ИК-диапазонах для порфирина,

[‡] Термин “псевдовращение” означает, что, поскольку за время жизни электронно-возбужденного состояния физическое вращение макроцикла не успевает произойти, то наблюдается только миграция двух атомов водорода, с последующей структурной перестройкой длин связей и углов в макроцикле

порфицена и их производных, помещенных в кристаллическую матрицу, представляет значительный интерес в связи с возможностью получения информации об особенностях процесса таутомеризации и электронно-колебательных подуровнях возбужденных электронных состояний [74, 296], что является актуальным в случае колебательно индуцированного двойного фотопереноса протона (ДФПП) в порфирине [297] (рис. 4.2) и порфицене [82, 298-301].

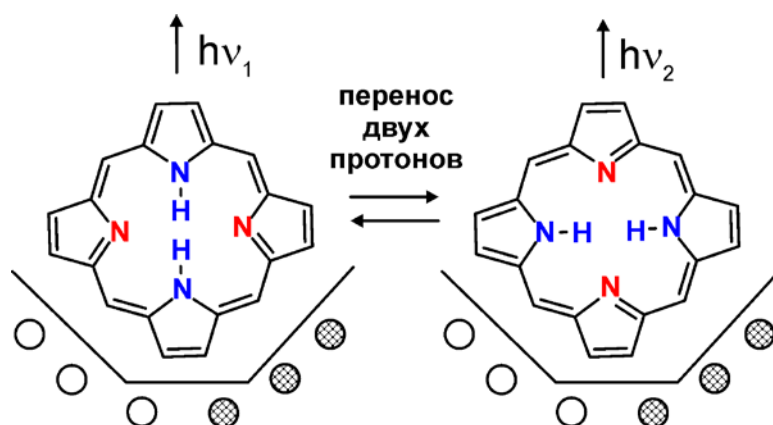


Рис. 4.2 Схема ДФПП в молекуле порфирина, оказавшейся в разном матричном окружении [302].

В электронном спектре поглощения порфирина в матрице Ag при 15 К, в области разрешенного перехода $S_0 \rightarrow S_1$ ($16250\text{--}16350\text{ см}^{-1}$), известного как полоса Core [289], наблюдается набор из 4-5 узких полос (рис. 4.3а). Для порфирина в матрице Хе при температуре 15 К, наблюдается всего две интенсивных полосы (рис. 4.3б). Наличие подобных линий в спектре, которые не проявляются в растворах и в газовой фазе, очевидно, связано с “эффектом матрицы”. Традиционно, этот эффект объясняется наличием одинаковых молекул “гостя”, находящихся в разных локальных условиях, или сайтах, иногда называемых примесными центрами, встроенными в кристаллическую решетку матрицы. Подобный эффект спектрального расщепления полосы $S_0 \rightarrow S_1$ для порфирина в матрице Ag и Хе, уже упоминался в ранних исследованиях, выполненных с худшим спектральным разрешением [296, 303]. В

упомянутых работах этот эффект был приписан наличию в матрице ряда дискретных примесных центров, однако, число самих центров и их природа авторами не обсуждались.

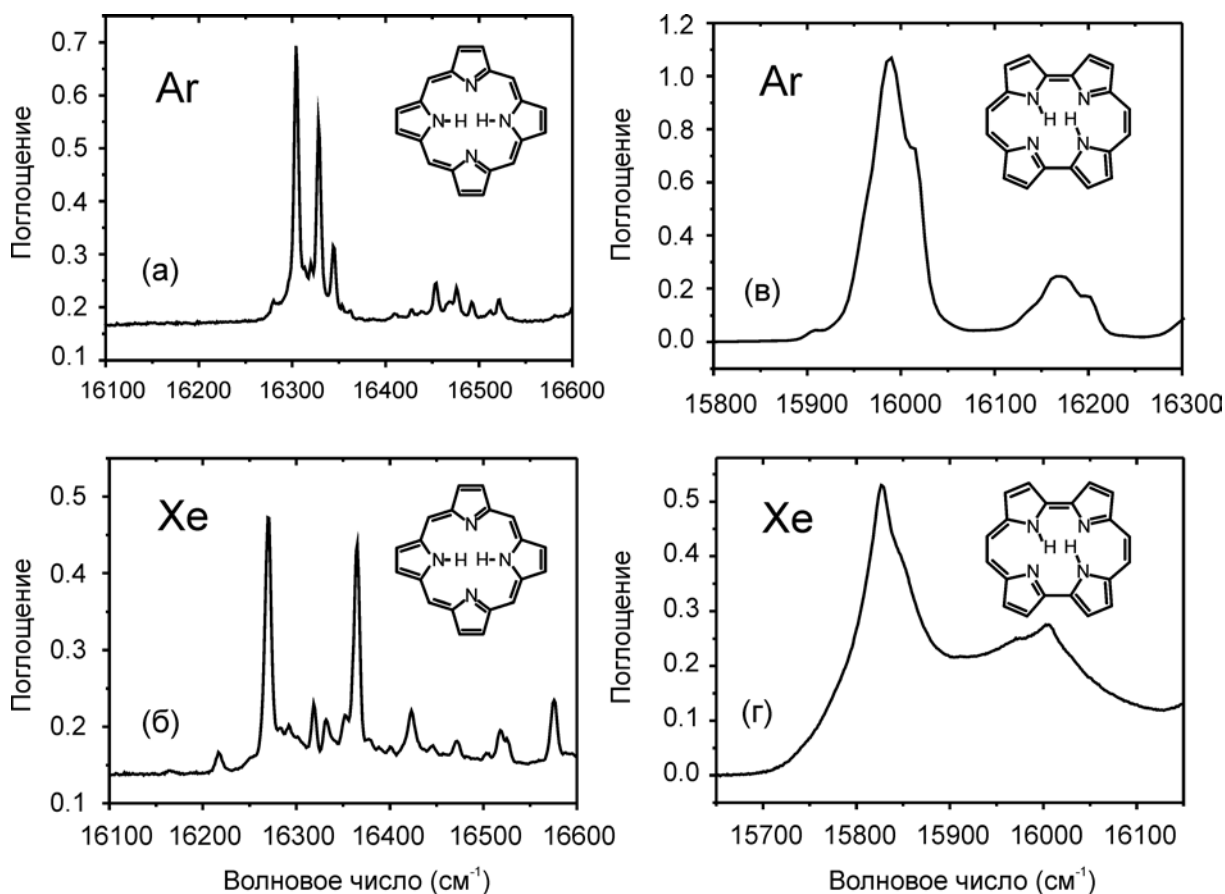
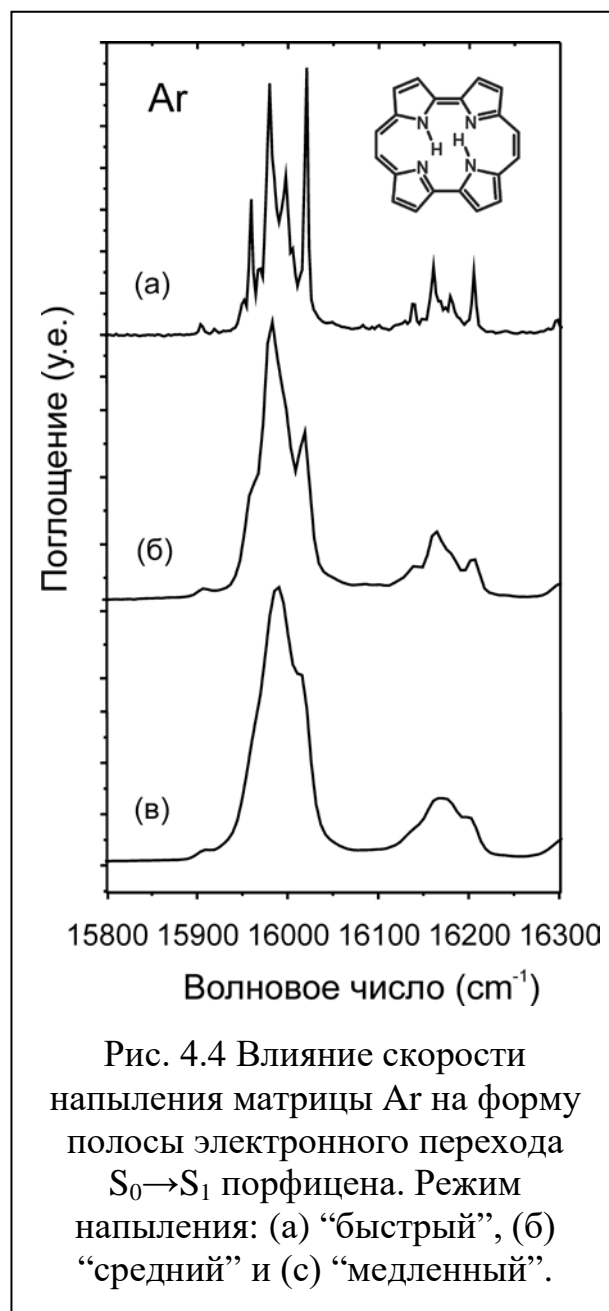


Рис. 4.3 Сравнение электронных спектров поглощения порфирина (а-б) и порфицена (в-г), изолированных в матрице Ar и Xe при 15 К.

Интересные особенности проявляются при сравнении электронных спектров поглощения в области перехода $S_0 \rightarrow S_1$ для двух изомеров – порфирина и порфицена (рис. 4.3). Многочисленные эксперименты, впервые выполненные нами в аналогичных экспериментальных условиях и матрицах, для порфицена показали наличие бесструктурной полосы электронного перехода $S_0 \rightarrow S_1$, характеризующейся значительным неоднородным уширением (рис. 4.3в-г).

Установлено, что спектральные характеристики полосы поглощения порфицена в матрице Ar зависят от скорости напыления буферного газа Ar, что было менее выражено для порфирина. При стандартном скоростном режиме напыления, спектральная полоса $S_0 \rightarrow S_1$ характеризуется аномальным уширением, и ее полуширина близка к таковой в растворе (рис. 4.3в) [A28]. При повышении скорости напыления в этой полосе начинает появляться сложная структура (рис. 4.4а-в). Это указывает на то, что наблюдаемая на рис. 4.4в спектральная картина является суперпозицией множества спектральных линий, которые наиболее явно проявляются в спектре на рис. 4.4а. Указанный эффект известен в литературе, и, обычно интерпретируется таким образом, что при быстром напылении матрицы идеальная кристаллическая решетка инертного газа не успевает сформироваться, и поэтому, формируется кристалл, содержащий большое число структурных дефектов и неустойчивых сайтов внедрения [71].



В работах [300, 304] ранее упоминалась спектральная гетерогенность в 3D-спектрах флуоресценции и спектрах возбуждения флуоресценции, измеренных для порфицена в низкотемпературной матрице Ar. Следует отдельно отметить, что для молекулы порфирина подобный эффект

зависимости низкотемпературных спектров высокого разрешения от условий напыления не наблюдается.

Для более детального изучения тонкой структуры и природы скрытых спектральных полос порфирина в матрице Хе применена спектроскопия селекции сайтов (*от англ. site selection spectroscopy*), основанная на технике выжигания спектральных провалов (*от англ. spectral hole burning*) [292, 305]. Для одного и того же образца, в дополнение к электронному спектру одновременно измерялся спектр ИК-поглощения, который также обнаруживал спектральное расщепление на ряд узкополосных линий (рис. 4.5 слева).

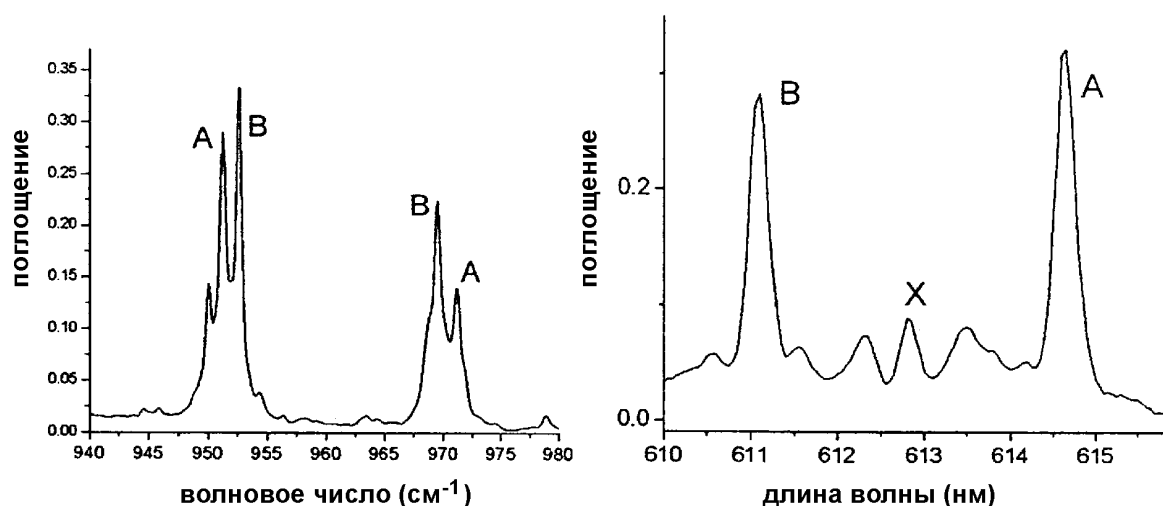


Рис. 4.5 Фрагмент ИК спектра (слева) и электронного спектра поглощения в области Q_x перехода (справа) для порфирина в матрице Хе [A26, A27].

Таким образом, очевидно, что интерпретация спектральных данных для порфирина в низкотемпературных матрицах инертных газов является задачей нетривиальной, и поэтому для ее решения в последующих разделах 4.2-4.4 нами будет предложена методика идентификации возможных центров включения и их природы при помощи комбинированного подхода с использованием методов молекулярно-динамического моделирования и квантово-химических расчетов.

Очевидно, что спектральные отличия, наблюдаемые для двух изомеров, порфирина и порфицена, (рис. 4.3-4.5) могут быть связаны с различием в линейных размерах и форме их макроциклов. Поэтому, нами были сопоставлены спектральные характеристики замещенного порфицена. При выборе объектов мы исходили из известных фактов, [82, 299], что в молекуле порфицена кинетика фотоиндуцированной таутомеризации зависит от размера внутренней полости макроцикла, а константа скорости переноса протона является достаточно чувствительной к изменению расстояния $N \cdots N$. Поэтому введение в макроцикл объемных заместителей, таких как арильные и алкильные радикалы, приводит к изменению скорости таутомеризации на несколько порядков. Одним из таких примеров является молекула 2,7,12,17-тетра-*трет*-бутилпорфицена (ТТБП) (рис. 4.6).

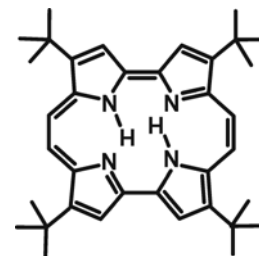


Рис. 4.6 Структура
2,7,12,17-тетра-*трет*-
бутилпорфицена
(ТТБП)

Электронный спектр поглощения ТТБП в матрице Ag при 6 К, измеренный в области перехода $S_0 \rightarrow S_1$, в диапазоне $15850\text{--}16050\text{ см}^{-1}$, имеет сложную мультиплетную структуру (рис. 4.7). Очевидно, что, по сравнению с молекулой незамещенного порфицена, наличие четырех объемных *трет*-бутильных радикалов приводит к появлению большего числа возможных сайтов встраивания за счет большой конформационной лабильности *трет*-бутильных радикалов (рис. 4.7). Таким образом, различное локальное микроокружение хромофорной системы ТТБП, встроенной в полость сайтов включения различного строения, проявляется в значительной спектральной гетерогенности, которая, в свою очередь, находит отражение в электронных спектрах в виде множества острых пиков. В дополнение к этому, оказалось, что тонкая структура электронного спектра и характер расщепления полос проявляет заметную чувствительность к температурному и скоростному

режиму напыления, а также зависят от материала подложки (сапфир или стекло) [A29].

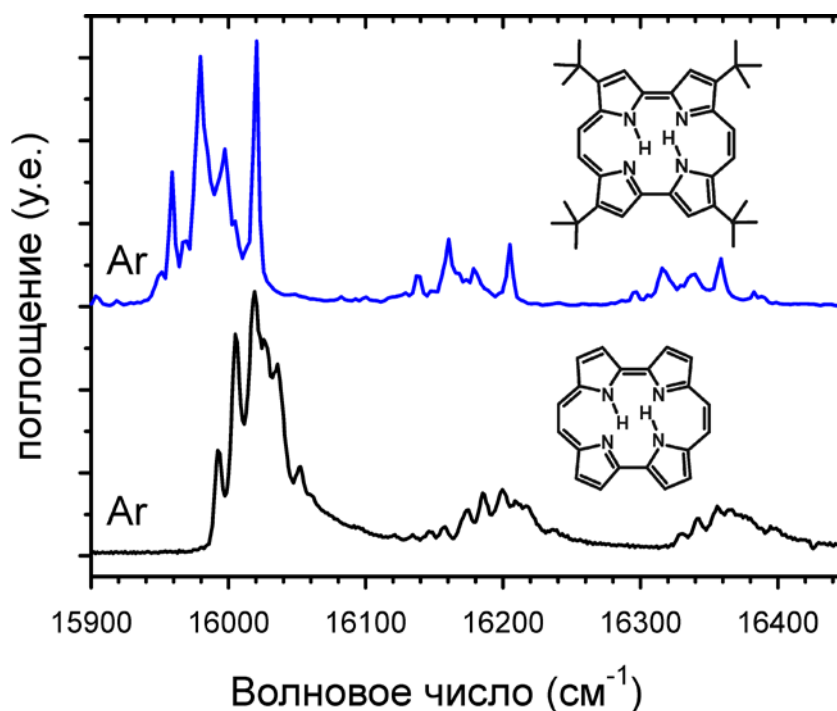


Рис. 4.7 Сравнение электронных спектров поглощения **ТТБП** и незамещенной молекулы порфицена, изолированных в матрице Ar при 10 К.

Электронный спектр поглощения **ТТБП** в матрице Хе, в области перехода $S_0 \rightarrow S_1$, имеет размытую структуру с неоднородным уширением (рис. 4.8). Многократные повторы и варьирование скоростного и температурного режимов напыления матрицы, показали, что форма спектральной полосы **ТТБП** имеет низкую чувствительность к режиму приготовления матрицы. В отличие от спектра **ТТБП** в матрице Ar, изменение режима напыления не приводит к появлению четко выраженных полос поглощения или новых пиков, а проявляется только в изменении полуширины и асимметрии полосы в области 0-0 перехода [A29]. Такое спектральное поведение указывает на наличие целого ансамбля дискретных сайтов включения **ТТБП**, каждый из которых может иметь множество подклассов, вызванных незначительными локальными дефектами матрицы, как в самой полости включения, так и в ее ближайшем окружении. Комплексное применение спектроскопии

селекции сайтов позволило нам обнаружить 13 уникальных сайтов включения **ТТБП** в матрице Ag, спектральные параметры которых обобщены в таблице 4.1.

Таблица 4.1

Положение и интенсивность полос в электронном спектре поглощения для основных сайтов включения ТТБП в аргоновой матрице

№ сайта	Волновое число (см ⁻¹)	Интенсивность ^a
1	15863	в
2	15866	в
3	15871	в
4	15879	в
5	15915	в
6	15922	в
7	15927	ср
8	15939	в
9	15949	в
10	15959	в
11	15979	в
12	16001	ср
13	16010	ср

^a интенсивная полоса (в), полоса средней интенсивности (ср).

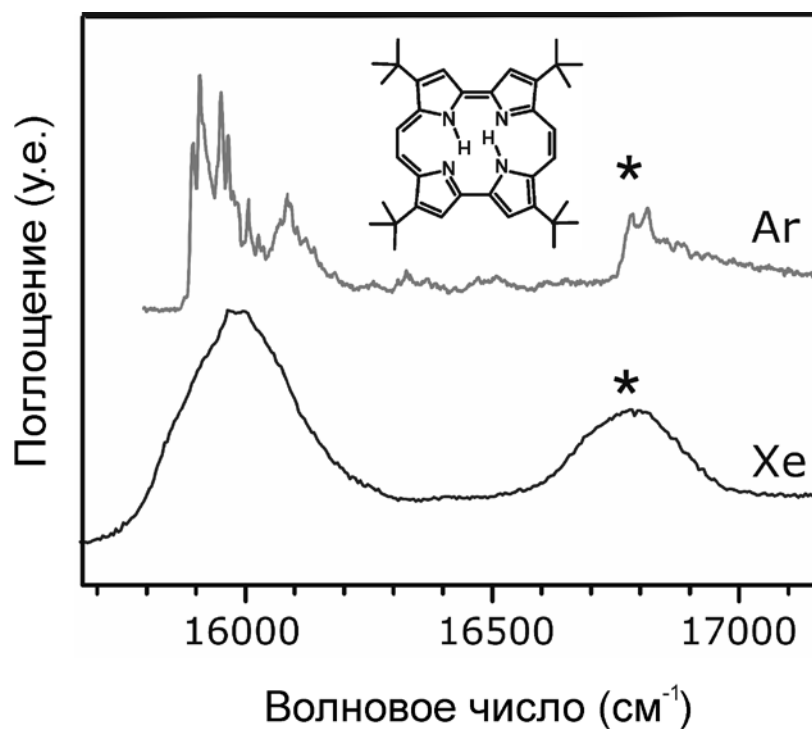


Рис. 4.8 Сравнение спектров высокого разрешения в области электронного перехода $S_0 \rightarrow S_1$ ($15900\text{--}16100\text{ см}^{-1}$) для **ТТБП**, измеренных в матрицах Ar и Xe при 15 К. Звездочкой отмечена полоса электронного перехода $S_0 \rightarrow S_2$.

Таким образом, очевидно, что для понимания сложной природы спектров высокого разрешения, которые характерны для молекул порфирина и производных порфицена в матрицах инертных газов, необходима разработка новых теоретических подходов и методов компьютерного моделирования, позволяющих воспроизводить физико-химические процессы напыления кристаллической матрицы в реальном времени и имитирующих встраивание изучаемых молекул в решетку матрицы. Такой подход позволит прогнозировать не только структуру и число, но и спектральные параметры индивидуальных сайтов включения. Этому вопросу посвящены подразделы 4.2-4.4.

4.2 Методика МД моделирования внедрения молекулы “гостя” в кристаллическую решетку низкотемпературной матрицы аргона и ксенона

В работах [102, 107] показано, что метод классического МД моделирования, основанный на описании межатомных взаимодействий при помощи потенциала Леннард-Джонса 6-12 (ур. 2.4), позволяет адекватно описывать физико-химические свойства ансамбля атомов инертных газов при низких температурах, при которых происходят фазовые переходы, связанные с конденсацией из газообразного состояния и кристаллизацией из жидкого раствора. В ряде работ [102, 306] отмечено, что практически идеальная кристаллическая структура инертных газов (Kr, Ar, Xe) формируется, если в процессе МД моделирования напыление и конденсация инертного газа происходит на уже сформированную кристаллическую поверхность из этого же материала. Такой подход является более сложным с точки зрения компьютерной реализации т.к. требует учета стадии МД моделирования неравновесного процесса – осаждения “горячего” инертного газа из газовой фазы на “охлажденную” поверхность кристалла. Преимуществом данного подхода является то, что при таком методе появляется возможность контролировать интенсивность и скорость напыления, в результате чего моделируется медленный рост кристаллической гранецентрированной кубической решетки (ГЦКР) инертного газа, и, в итоге, последняя может сформироваться в виде идеальной ГЦКР с минимальным количеством структурных дефектов [101, 107, 306, 307].

Нами была усовершенствована и разработана методика проведения неравновесного МД моделирования матричного напыления сложных органических молекул, позволяющая в конечном итоге изучить особенности устройства их сайтов внедрения в кристаллическую решетку низко-

температурной матрицы, состоящей из атомов инертных газов Ar или Xe. Разработанная нами методика включает следующие этапы:

- определение структуры сайта включения молекулы “гостя” в кристаллическую решетку инертной матрицы при помощи МД моделирования процесса напыления матрицы, который максимально воспроизводит условия эксперимента.
- проведение статистически значимого числа независимых параллельных МД расчетов (не менее 50), в процессе которых в системе формируется распределение различных по строению, и, следовательно, по энергии, сайтов включения молекулы “гостя”.
- анализ полученного распределения сайтов включения молекулы “гостя”, установление частоты появления каждого уникального сайта и, следовательно, вероятности обнаружения определенного сайта в инертной матрице.
- для наиболее вероятных сайтов включения молекулы “гостя” извлечение фрагмента кристаллической решетки, содержащей каждый конкретный сайт, для последующего выполнения квантово-химических расчетов ИК и электронных спектров молекулы “гостя”.
- интерпретация и соотнесение рассчитанных и экспериментальных спектральных данных.

В качестве исходной твердой подложки для МД моделирования процесса напыления аргона и ксенона были выбраны две кристаллографические плоскости (001) и (111). Предварительные расчеты показали, что формирование и рост идеальной ГЦКР происходит при напылении инертного газа на поверхность (001), поэтому она и была выбрана как основа для проведения дальнейших расчетов. На первом этапе построен идеальный монокристалл с ГЦКР, состоящий из $8 \times 8 \times 8$ элементарных ячеек с общим числом атомов аргона или ксенона, равным 2048. Параметры элементарной

кубической кристаллической ячейки аргона и ксенона составили 5.31 Å и 6.14 Å, соответственно [308]. На втором этапе, три нижних кристаллографические плоскости (001) монокристалла были выбраны в качестве жесткой подложки, а остальные атомы использованы для последующего напыления инертной матрицы. Для аргона и ксенона размеры подложки составили 42x42 и 50x50 Å². В процессе МД моделирования положение атомов в узлах решетки и, следовательно, структура подложки достаточно жёстко фиксировались при помощи гармонического потенциала, который позволял атомам отклоняться от их идеального положения таким образом, что амплитуда отклонений соответствовала температуре 10-15 К [A26].

Таблица 4.2

**Параметры потенциала Леннарда-Джонса и сравнение
экспериментальных и рассчитанных расстояний в кристаллическом
аргоне и ксеноне**

	Параметры Леннарда-Джонса ^a		Межатомное расстояние [Å]	
	σ [Å]	ε [ккал/моль]	МД	Эксперимент ^b
Ar – Ar [309]	3.45	0.238	3.78	3.76 [308]
Xe – Xe [71]	4.03	0.440	4.41	4.34 [310]
Ar – C	3.60	0.203	—	—
Ar – N	3.22	0.233	—	—
Ar – H	2.91	0.141	—	—
Xe – C	3.89	0.276	—	—
Xe – N	3.51	0.317	—	—
Xe – H	3.20	0.192	—	—

^a параметры Леннарда-Джонса для C, N и H были рассчитаны по ур. (2.5-2.6)

^b T=10 K.

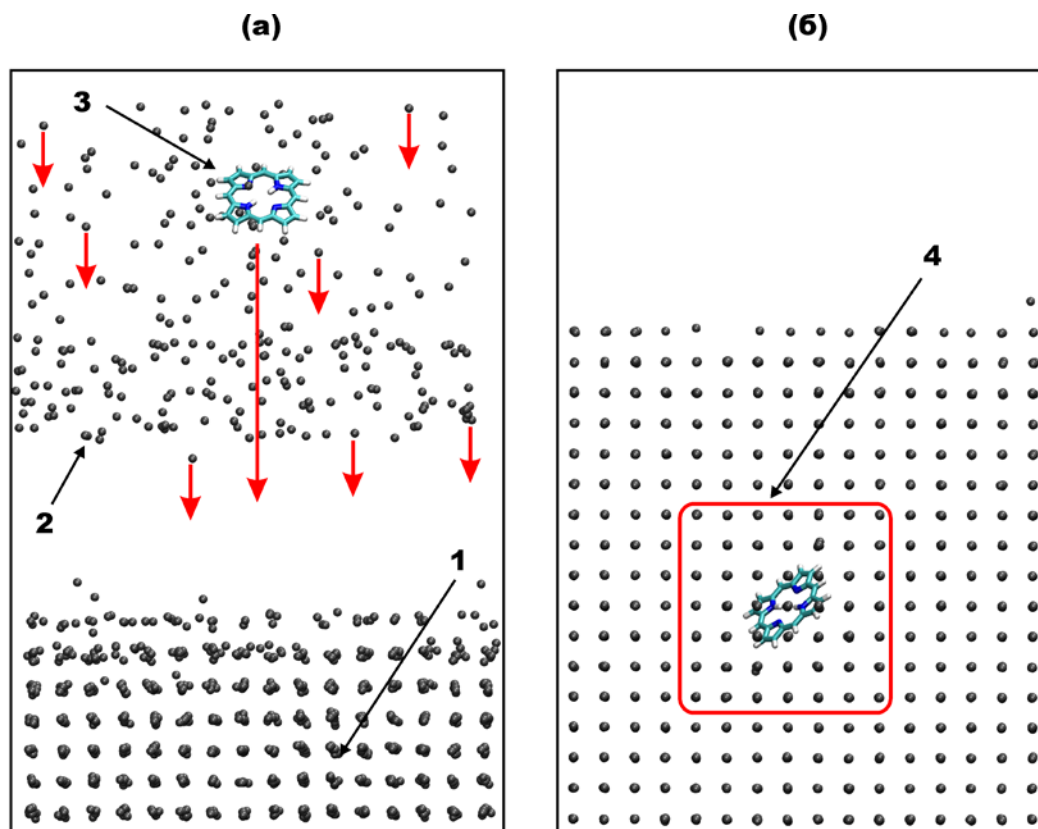


Рис. 4.9 Схема МД моделирования процесса “напыления” газообразного Хе и внедрения молекулы “гостя” в низкотемпературную матрицу Хе. (а) Исходная конфигурация системы. 1 – жесткая подложка из кристаллических слоев Хе. 2 – буферный напыляемый газ Хе. 3 – внедряемая молекула “гостя-порфирина”. (б) Конечная конфигурация кристаллической решетки Хе, содержащая (4) сайт внедрения молекулы “гостя”.

Аргоновая или ксеноновая подложка помещалась и фиксировалась на дне прямоугольной МД ячейки (рис. 4.9).[§] МД моделирование процесса напыления инертного газа выполнялось с использованием потенциалов Леннард-Джонса (табл. 4.2) и периодических граничных условий (рис. 4.9). На начальном этапе, перед введением молекулы “гостя” в систему, производилось напыление первых 3-5 слоев матрицы. Формирование кристаллов из

[§] На рис. 4.9 представлен фронтальный вид на прямоугольную МД ячейку, поэтому в узлах решетки видны отклонения атомов от их положения в идеальной ГЦКР.

атомов аргона или ксенона производилось последовательно и небольшими порциями, имитируя экспериментальные условия пульсирующего напыления [72]. Средняя скорость напыления составляла до 50 атомов инертного газа каждые 50 пс. Начальные координаты новых напыляемых атомов задавались с помощью генератора случайных чисел таким образом, чтобы они помещались в МД ячейку на расстоянии 10-30 Å от поверхности подложки. Напыление газа выполнялось в направлении перпендикулярном к подложке (рис. 4.9а). Начальные скорости напыляемых атомов генерировались согласно распределению Максвелла-Больцмана при температуре 300-350 К [222], при этом вектор скорости имел ненулевой компонент только в направлении оси напыления. Для аргоновой и ксеноновой матрицы температура внутри МД ячейки поддерживалась равной 25 и 60 К при помощи термостата Берендсена [222], путем скалирования скоростей всех атомов в системе, что хорошо зарекомендовало себя при моделировании равновесных систем [223]. В случае МД моделирования процесса напыления, в котором существует большой градиент температур от 10 до 350 К, чтобы избежать искусственного “переохлаждения” напыляемого газа релаксационное время термостата τ_T было увеличено от стандартного значения 1 пс до 5 пс [A26].

После напыления нескольких кристаллических слоев матрицы, в газовую фазу МД ячейки помещалась молекула “гостя”. При каждом напылении молекула “гостя” располагалась на расстоянии в 40-50 Å от поверхности матрицы. Ориентация молекулы “гостя” относительно вектора напыления выбиралась случайным образом. Молекула “гостя” помещалась в поток инертного газа при его кинетической температуре 300-350 К. После задания начальной конфигурации выполнялось МД моделирование, воспроизводящее движения атомов газа и молекулы “гостя” к поверхности матрицы. При столкновении с поверхностью матрицы атомы напыляемого газа и молекула “гостя” теряют кинетическую энергию и охлаждаются за счет столкновений и обмена энергией с “холодными” атомами, находящимися в узлах решетки и

имеющими более низкую кинетическую энергию, а, следовательно, - и локальную температуру. Напыление каждой последующей порции атомов приводит к росту матрицы вдоль оси Z с формированием упорядоченной кристаллической структуры. Таким образом, в процессе роста кристаллической решетки происходит постепенное внедрение молекулы “гостя” в полость ГЦКР. На рис. 4.9а-б приведен пример МД моделирования процесса напыления и встраивания молекулы порфирина в ксеноновую матрицу.

Установлено, что физико-химические аспекты взаимодействия молекулы “гостя” с окружением инертного газа и внедрение ее в кристаллическую решетку матрицы зависят от скоростного и температурного режимов МД моделирования. Сокращение общего времени напыления конкретной матрицы за счет сокращения интервала времени между напылением отдельных порций газа (что равнозначно увеличению скорости напыления), приводило к формированию ГЦКР, которая содержала большое число локальных дефектов и вакансий, как в объеме кристалла, так и в самой полости сайта включения молекулы “гостя”. Для устранения локальных дефектов в решетке матрицы выполнялось МД моделирование, имитирующее экспериментальную процедуру “отжига” [71], при которой матрица медленно нагревалась на 10-15 К выше температуры напыления, а после этого происходило медленное охлаждение всей системы до начальной температуры. В результате одного цикла “отжига” удавалось устранить большинство локальных дефектов кристаллической решетки матрицы [A26].

4.3 МД моделирование сайтов включения порфирина и порфицена в низкотемпературную матрицу аргона и ксенона

Как было показано в предыдущем разделе, МД моделирование процесса напыления молекулы “гостя” и ее встраивания в кристаллическую решетку матрицы инертного газа позволяет предсказать структуру отдельно взятого сайта внедрения. Однако, для сопоставления теоретически предсказанного строения сайта с экспериментальными данными необходимо многократное повторение указанной процедуры для накопления статистически значимого набора возможных конфигураций сайтов включения.

Моделирование внедрения молекулы порфирина и порфицена в кристаллическую решетку низкотемпературной матрицы выполнено путем проведения 100 параллельных независимых МД прогонов, выполненных отдельно для каждого типа молекулы “гостя” и типа матрицы. Таким образом, общее число независимых МД-напылений составило 400. В каждом из расчетов исходная ориентация и расстояние молекулы “гостя” от плоскости осаждения выбирались случайным образом. Моделирование выполнялось для одной молекулы “гостя”, внедряемой в кристалл, содержащий от 1100 до 1300 атомов аргона или ксенона, что соответствует экспериментальному соотношению концентрации “гость”:матрица 1:1000 [71]. МД моделирование процесса напыления матриц аргона и ксенона выполнено при заданных температурах 25 и 60 К, соответственно [71].

Встраивание молекулы “гостя” в матрицу происходило за счет замещения нескольких атомов инертного газа, находящихся в узлах идеальной ГЦКР с образованием полости включения внутри кристалла. В большинстве случаев молекула “гостя” встраивалась в полость кристалла таким образом, при котором плоскость молекулы совпадала с одной из кристаллографических плоскостей решетки матрицы. Такой способ встраивания обеспечи-

вает минимальные искажения кристаллической упаковки за пределами полости включения [107].

При моделировании процесса внедрения молекулы порфирина и порфицена в аргоновую матрицу наблюдалось формирование целого ряда уникальных сайтов включения. Обозначение сайтов было выбрано согласно индексам Миллера и плоскостям кристаллической решетки, в которой располагалась плоскость молекулы “гостя” [A26]. В название каждого сайта включения указывалась начальная буква, обозначающая тип матрицы “А” и “Х” для Ag и Xe, соответственно.

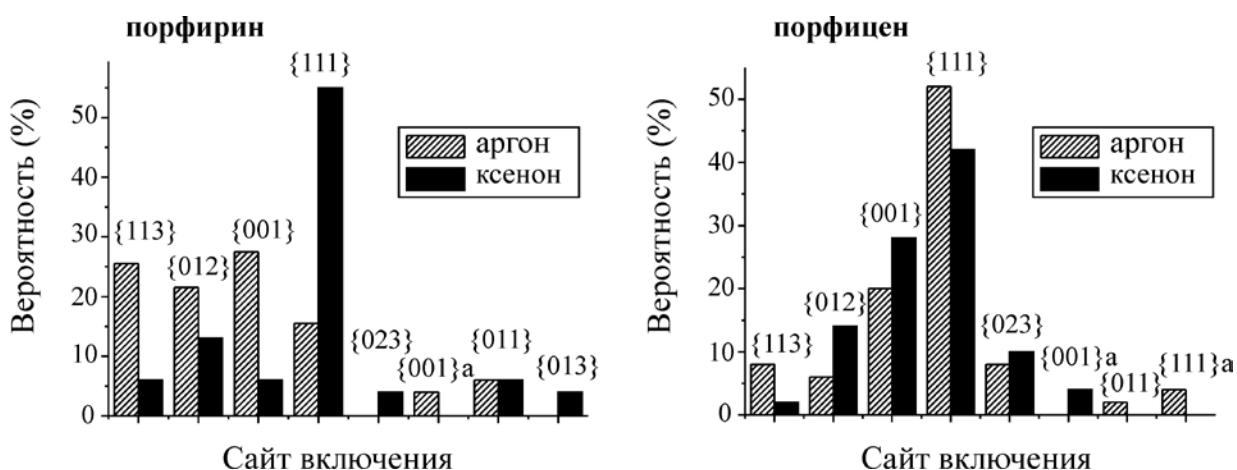


Рис. 4.10 Гистограмма распределения сайтов включения порфирина и порфицена, идентифицированных в аргоновой и ксеноновой матрице по результатам МД моделирования.

Обработка набора независимых МД-напылений показала, что для двух изомеров, порфирина и порфицена, было характерно существенно разное распределение сайтов в зависимости от типа матрицы (рис. 4.10). Для порфирина в аргоне характерно формирование 4-5 сайтов, популяция которых варьировалась от 5 до 28%. Для порфицена в аргоне наблюдалось формирование преимущественно одного доминирующего сайта А(111) с популяцией 52%. При переходе к ксеноновой матрице, распределение сайтов для порфирина и порфицена изменялось на противоположное: для порфирина в

ксеноне характерен один доминирующий сайт X(111) с популяцией 55%, а для порфицена обнаружено 3-4 сайта, из которых три основных формировались с вероятностью 14%, 28% и 42%, соответственно (рис. 4.10 *справа*).

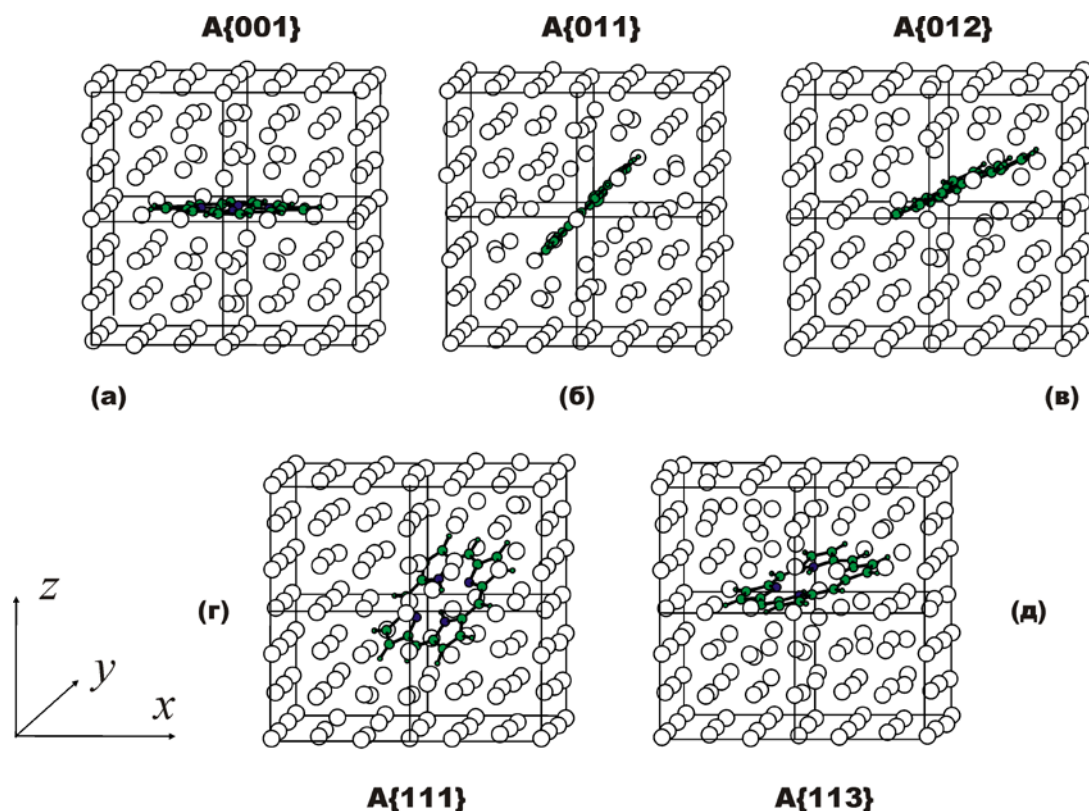


Рис. 4.11 Пять стабильных сайтов включения молекулы порфирина в кристаллическую матрицу аргона, полученные по результатам МД моделирования [A26].

Порфирин в аргоне. Строение основных пяти сайтов включения порфирина в кристалл аргона показано на рис. 4.11. Суммарная популяция этих пяти сайтов составляет 96%. В сайтах A(001) и A(011) молекула порфирина встраивается в кристаллическую решетку путем замещения 7-8 и 9-13 атомов аргона в узлах ГЦКР, расположенных в соответствующей кристаллографической плоскости. При этом упаковка атомов в остальной части кристалла остается практически неизменной. В некоторых сайтах, внедрение молекулы “гостя” в кристалл аргона способно вызывать деформационные искажения и дефекты в упаковке атомов инертных газов в узлах

кристаллической решетки, которое в некоторых случаях распространяется на несколько слоев вокруг полости сайта включения (сайт A(113) на рис. 4.11d).

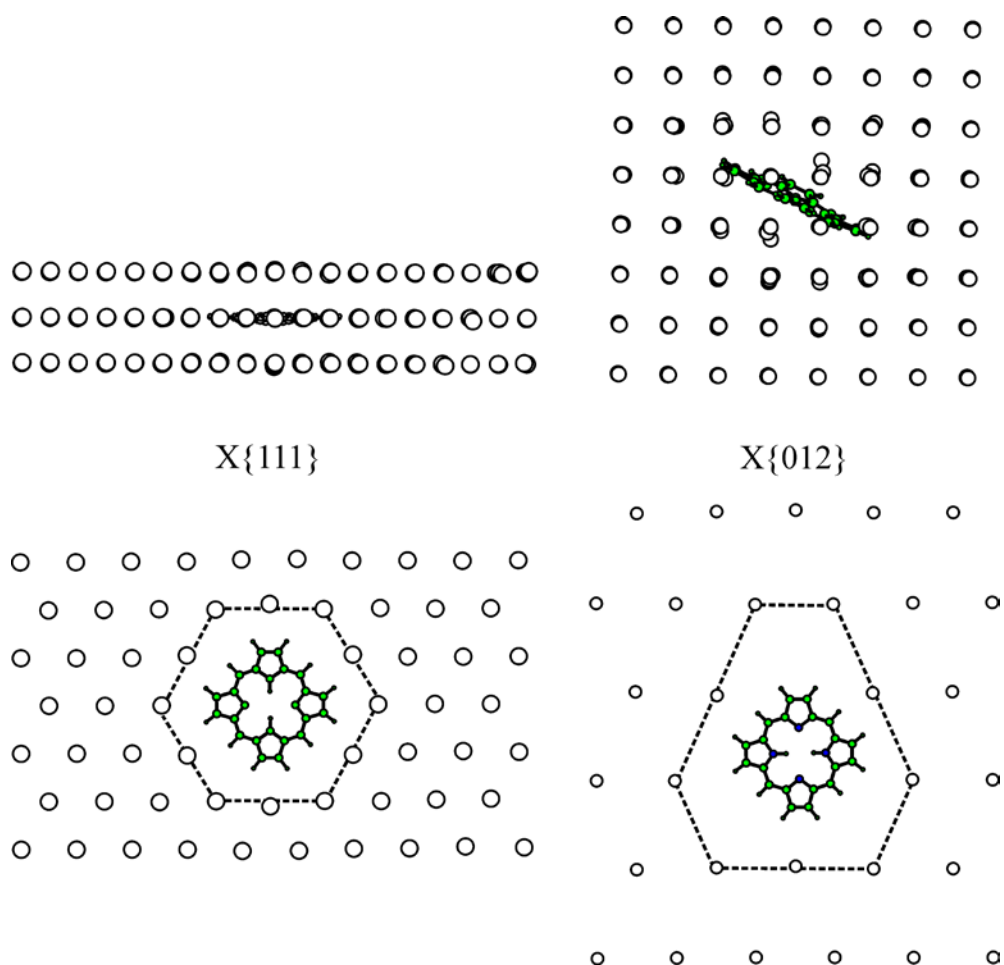


Рис. 4.12 Два стабильных сайта включения молекулы порфирина в ксеноновую матрицу [A26]. Воображаемая граница полости сайта показана пунктирной линией.

Порфирин в ксеноне. В отличие от аргоновой матрицы, для молекулы порфирина в твердом ксеноне характерны два основных сайта, X(111) (55 %) и X(012) (13 %), структура которых показана на рис. 4.12. При встраивании в сайт X(111) молекула “гостя” замещает 7 атомов ксенона, при этом внутренний объем формируемой полости оказывается несколько больше объема встраиваемой молекулы “гостя”, что вызывает незначительное смещение ближайших атомов ксенона от их идеального положения в ГЦКР внутрь полости. Следует отметить, что в результате оптимального совпадения

линейных размеров молекулы “гостя” и параметров полости включения сайта X(111), внедрение порфирина не вызывает существенных внеплоскостных деформаций решетки матрицы и смещения атомов ксенона, расположенных над и под полостью включения (рис. 4.12) [A26]. При встраивании в сайт X(012) молекула порфирина замещает 7 атомов ксенона, при этом только три из них принадлежат кристаллической плоскости (012), в которой расположена сама полость сайта, а остальные атомы ксенона замещаются в узлах решетки над и под плоскостью полости (рис. 4.12). Линейные размеры полости сайта X(012), показанные пунктирной линией на рис. 4.12, значительно превышают размеры молекулы порфирина. В результате, основные стерические контакты молекулы порфирина с атомами ксенона располагаются не внутри, а над и под плоскостью полости включения, распространяясь на несколько слоев вглубь кристаллической решетки (рис. 4.12). Следует также отметить, что около 25% от общей популяции сайтов внедрения порфирина в ксеноне были равномерно распределены между такими сайтами, как X(001), X(011), X(112) X(013) и X(113). Однако популяция каждого из этих сайтов не превышала 4-5% (рис. 4.10) [A26].

Таким образом, по результатам МД моделирования нами установлено, что *характер встраивания молекулы порфирина в матрицу из твердого инертного газа существенно зависит от ее природы (рис. 4.10): Порфирин встраивается в кристаллическую матрицу ксенона преимущественно в виде одного доминирующего сайта X(111). В кристаллическом аргоне отсутствует доминирующий сайт, вместо этого наблюдается распределение популяции между 4-5 равновероятными сайтами. Наличие доминирующего сайта X(111) в ксеноне может быть объяснено оптимальным совпадением размеров молекулы “гостя” и полости включения, чего не наблюдается ни в одном из сайтов в аргоне. Обнаруженная структурная гетерогенность порфирина в твердом аргоне хорошо согласуется со спектральной гетерогенностью в ИК- и электронных спектрах поглощения (рис. 4.10-4.11 и 4.3а,*

4.5). Наличие одного основного $X(111)$ и одного второстепенного $X(012)$ сайтов включения в ксеноне позволяет объяснить наличие всего 2-3 четко выраженных пиков в электронных спектрах поглощения порфирина, изолированного в матрицу твердого ксенона.

Порфицен в аргоне. Основным сайтом включения молекулы порфицена в аргоновую матрицу (52 %) является сайт типа $A(111)a$, в котором молекула “гостя” встраивается в кристаллографическую плоскость (111) путем замещения семи атомов аргона (рис. 4.13). Макроцикл порфицена располагается внутри гексагональной полости, показанной пунктирной линией на рис. 4.13. Хорошее геометрическое соответствие размеров молекулы гостя и размеров полости сайта вызывает минимальные стерические искажения в кристаллической упаковке матрицы. Сайт $A(111)a$ имеет четко выраженную структуру, которая хорошо воспроизводится по результатам серии независимых МД-напылений [A28]. Обнаружена незначительная популяция (4%) этого сайта, в которой возможны структурные дефекты матрицы. На рис 4.13 показан пример сайта $A(111)b$, в котором молекула порфицена встроена в гексагональную полость (111) таким образом, что длинная ось молекулы повернута на 90° относительно длинной оси полости сайта. Встраивание молекулы “гостя” в сайт $A(111)b$ становится возможным после дополнительной замены 1-2 атомов аргона. Установлено, что сайт $A(111)b$ имеет менее воспроизводимое строение по сравнению с сайтом $A(111)a$.

Вторым по вероятности формирования (20%) является сайт $A(001)$. В нем молекула порфицена встраивается в прямоугольную полость внутри кристаллографической плоскости (001) путем замены девяти атомов аргона (рис. 4.13). Объем полости сайта $A(001)$ превышает объем молекулы “гостя”, на что указывают незначительные смещения атомов аргона от их идеального расположения в узлах кристаллической решетки внутрь полости. При этом наблюдается деформация и нарушение упаковки атомов матрицы в несколь-

ких кристаллографических слоях (001), расположенных параллельно над плоскостью молекулы порфицена (рис. 4.13).

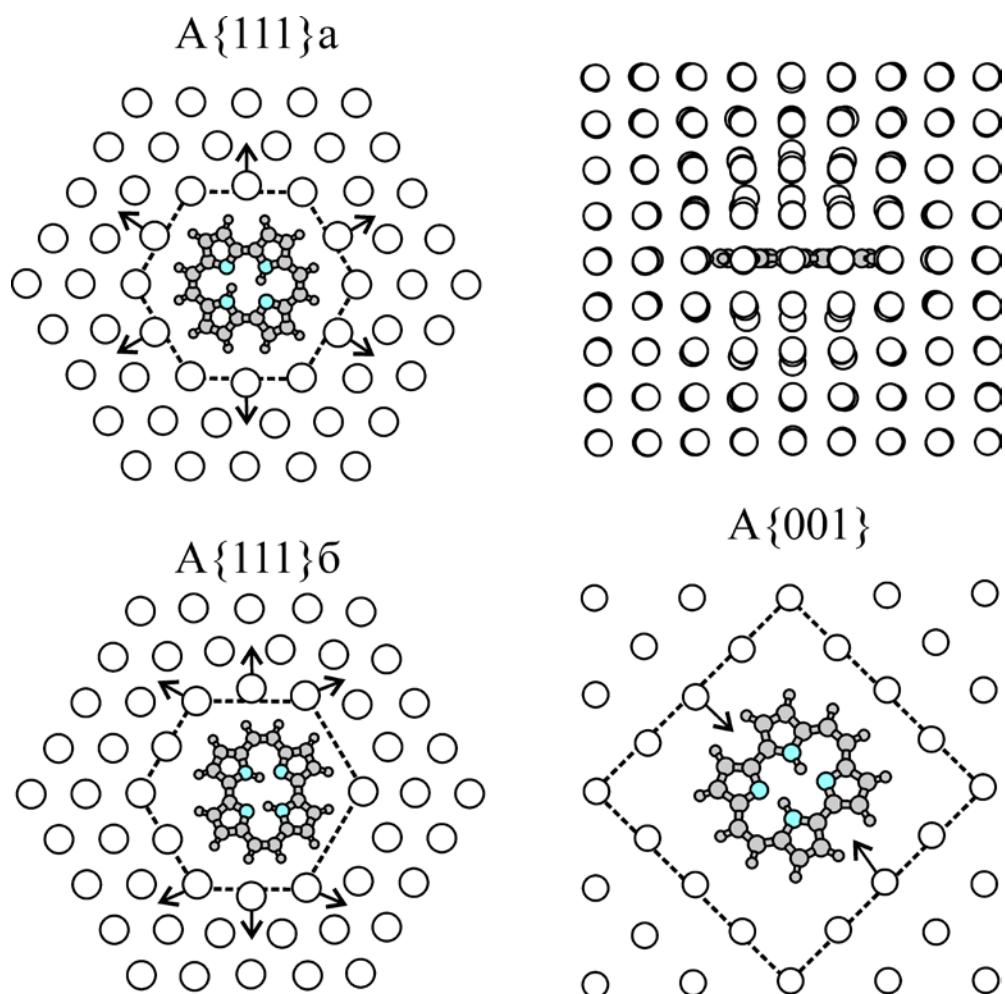


Рис. 4.13 Структура наиболее вероятных сайтов включения молекулы порфицена в кристаллическую матрицу аргона.

Два указанных сайта, $A(111)$ и $A(001)$, являются доминирующими с суммарной популяцией 76%. Оставшиеся 24% общей популяции равномерно распределены между несколькими сайтами включения, такими как $A(012)$, $A(023)$ и $A(113)$ (рис. 4.10), а также сайтами включения, которые характеризуются рядом структурных дефектов или не имеющих четкой кристаллической структуры матрицы вокруг полости включения. Очевидно, что во всех указанных сайтах включения молекула порфицена находится внутри полости, в которой хромофор молекулы “гостя” имеет существенно разное

окружение из атомов аргона. Поэтому, с точки зрения неспецифического взаимодействия хромофора с матричным окружением это неизбежно должно отражаться в существенной гетерогенности в электронных спектрах поглощения порфицена в матрице.

Порфицен в ксеноне. При встраивании молекулы порфицена в ксеноновую матрицу наблюдается тенденция, которая подобна случаю встраивания этой молекулы в аргоновую матрицу. В случае 74% МД-напылений молекула порфицена встраивалась в ксеноновую матрицу в виде двух типов сайтов включения X(111) и X(001) (рис. 4.14). Сайт X(111) (42 %) имеет сходную структуру с сайтом A(111)*a* в аргоне. Полость сайта включения расположена в кристаллографической плоскости (111) и имеет гексагональную форму. Размер полости сайта X(111), образованной замещением семи атомов ксенона, оказывается больше размеров макроцикла порфицена, на что указывает смещение положения некоторых атомов ксенона от их идеального расположения в кристаллической решетке внутрь полости сайта включения (рис. 4.14).

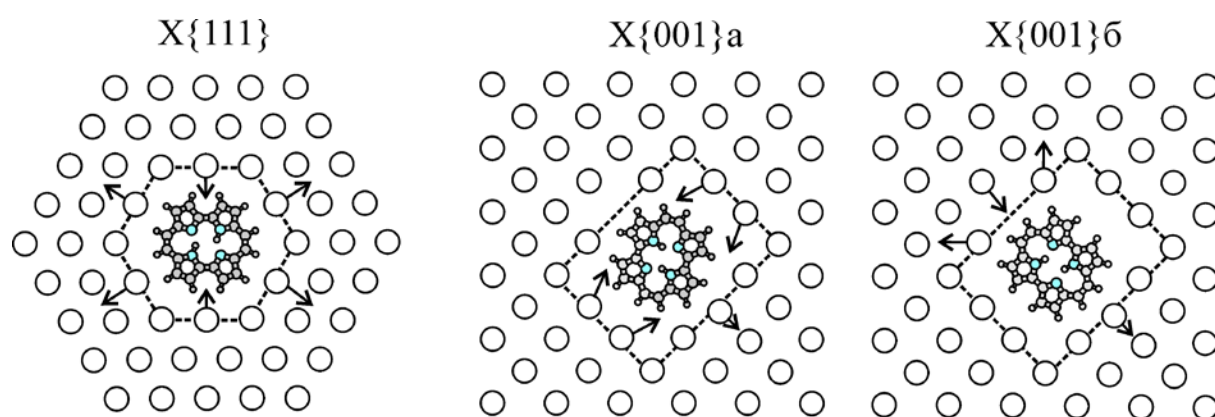


Рис. 4.14 Структура наиболее вероятных сайтов включения молекулы порфицена в ксеноновую матрицу.

Вторым по вероятности образования является сайт X(001), который составляет 32% от общей популяции. Полость сайта имеет прямоугольную

форму и образуется за счет замещения от 7 до 9 атомов ксенона (рис. 4.14). Молекула порфицена может располагаться внутри полости в нескольких ее пространственных конфигурациях, приводя к формированию двух модификаций этого сайта - X(001)*а* (28%) и X(001)*б* (4%), строение которых изображено на рис. 4.14. Остальные 26 % от общей популяции матрично-изолированной молекулы порфицена в ксеноне распределены между двумя сайтами X(012) (14%), X(023) (10%), а также между другими слабо структурированными центрами включения.

Таким образом, по результатам МД моделирования нами было показано, что *низкотемпературная матричная изоляция молекулы порфицена в кристаллической матрице аргона и ксенона происходит по сходному механизму, а именно, путем формирования целого ряда главных и второстепенных сайтов. Такой характер матричной изоляции указанного хромофора позволяет объяснить значительную спектральную гетерогенность и отсутствие четко выраженных спектральных пиков и колебательной структуры электронных спектров поглощения молекулы порфицена, изолированной в матрице аргона или ксенона.*

ТТБП в аргоне и ксеноне. В предыдущих разделах было показано, что физико-химические аспекты матричной изоляции сложных органических молекул, таких как порфирин и порфицен, зависят как от строения молекулы “гостя”, так и от типа матрицы. Во многих случаях изучение спектральных особенностей встраиваемой молекулы осложнено присутствием в матрице большого числа дискретных сайтов, каждый из которых обладает собственным, отличным от других, спектром. В этой связи было особенно актуальным изучить влияние объемных заместителей в порфиценовом макроцикле на возможность матричной изоляции больших органических хромофоров.

В качестве объекта исследования был выбран замещенный порфицен **ТТБП** (рис. 4.6). Электронный спектр поглощения **ТТБП** в матрице аргона характеризуется сложной структурой, в то же время в матрице из ксенона наблюдается одна широкая бесструктурная полоса поглощения (рис. 4.7-4.8). Для выяснения природы такого спектрального поведения, процесс встраивания молекулы **ТТБП** в низкотемпературную матрицу аргона и ксенона был изучен методом МД моделирования матричного напыления при температурах 25 К и 60 К, соответственно [A29]. Для аргоновой и ксеноновой матрицы выполнено по 65 независимых МД-напылений, воспроизводящих встраивание молекулы **ТТБП** в кристаллическую решетку инертного газа.

Для **ТТБП** в аргоновой матрице обнаружено 8 уникальных сайтов включения, на которые приходится ~88% всей популяции сайтов (табл. 4.3). Уникальность сайта включения определялась нахождением плоскости порфиценового макроцикла в одной из кристаллографических плоскостей матрицы. В случае оставшихся 12% общей популяции, молекула **ТТБП** встраивалась в аргоновую матрицу с нарушением кристаллической структуры матрицы в ближайшем окружении вокруг полости сайта включения. Статистический анализ показал, что среди 8 уникальных сайтов включения **ТТБП** в аргоновую матрицу 7 сайтов формируются с равной вероятностью 10-20%. Сайт A(012) имеет наибольшую вероятность 20% и его структура показана на рис. 4.15. При встраивании в кристаллическую решетку, молекула **ТТБП** замещает 19-20 атомов аргона. Следующими по вероятности появления являются сайты A(001), A(111) и A(011), структура которых изображена на рис. 4.16. В указанных сайтах включения молекула **ТТБП** встраивается в полость внутри матрицы, образованную путем удаления 20-22 атомов аргона [A29]. В каждом из указанных сайтов можно выделить локальные подгруппы с различной вращательной конформацией *терт*-бутильных радикалов.

Таблица 4.3

Распределение сайтов включения ТТБП в матрице из аргона и ксенона, полученные по результатам МД моделирования [А29].

сайт включения	матрица аргона (%)	матрица ксенона (%)
(012)	20	3
(001)	17	23
(111)	15	45
(011)	12	10
(013)	12	7
(023)	12	3
(113)	10	-
(112)	2	9

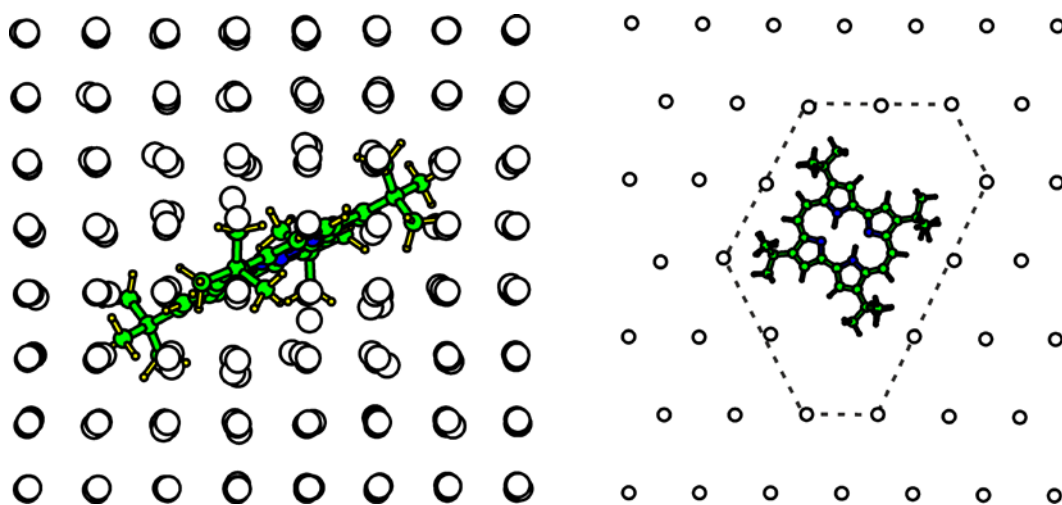


Рис. 4.15 Сайт включения ТТБП А(012) в аргоновую матрицу: (слева) Фрагмент кристаллической решетки, содержащий сайт включения молекулы ТТБП, находящийся в кристаллографической плоскости (012) (справа). Пунктирной линией обозначена условная границы полости включения.

Для ТТБП в ксеноновой матрице обнаружено 7 уникальных сайтов включения (табл. 4.3). В отличие от ТТБП в аргоновой матрице, из 7 уникальных сайтов ТТБП в ксеноновой матрице два сайта X(001) и X(111)

являются доминирующими и на них приходится 67% общей популяции (табл. 4.3).

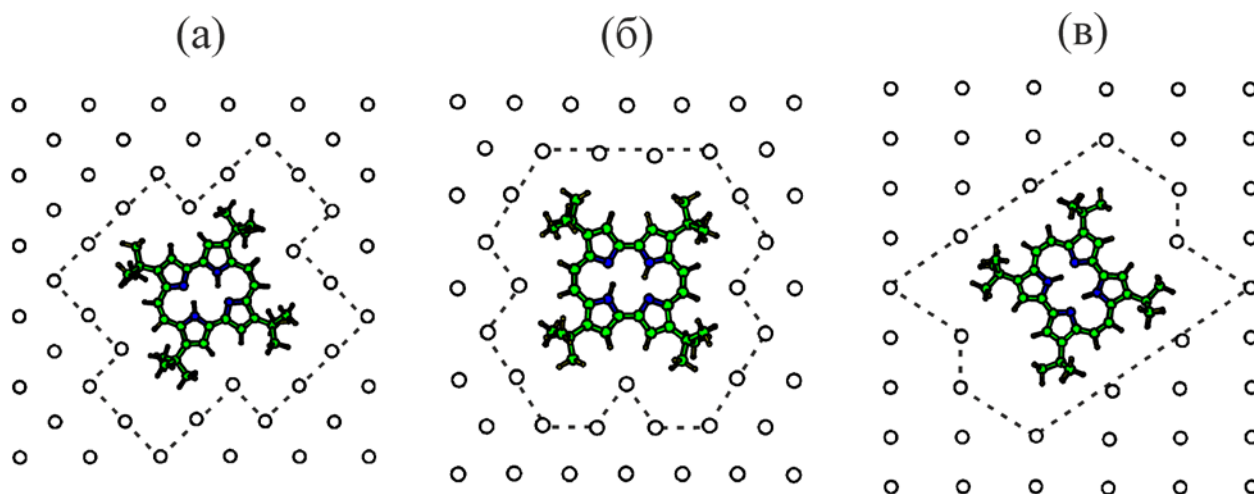


Рис. 4.16 Сайты включения **ТБП** в аргоновую матрицу: (а) – А(001); (б) – А(111); (в) – А(011).

На рис. 4.17а показан фрагмент матрицы, содержащий сайт включения **ТБП** X(111) в кристаллический ксенон. Результаты МД моделирования показали, что этот сайт образуется с вероятностью 45% (табл. 4.3). Сайт X(111) является основным, в нем молекула **ТБП** встраивается в матрицу таким образом, что плоскость порфиценового макроцикла располагается в кристаллографической плоскости (111), а объемные *трет*-бутильные радикалы занимают полости в межплоскостном пространстве кристалла (рис. 4.17а). При встраивании молекулы **ТБП** и формировании сайта (111), в зависимости от пространственной ориентации *трет*-бутильных радикалов, происходило замещение от 10 до 16 атомов ксенона. Вторым, наиболее часто наблюдаемым сайтом включения **ТБП** в ксенон является X(001), в котором молекула “гостя” замещает от 12 до 16 атомов ксенона.

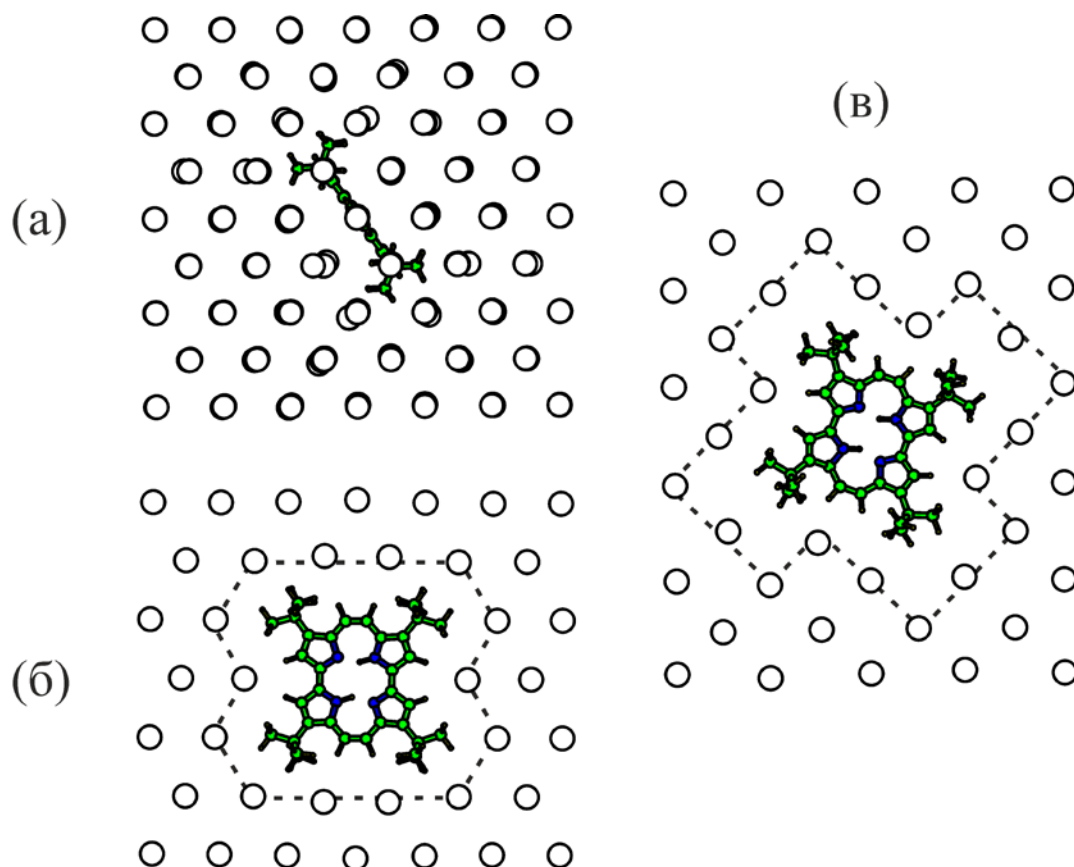


Рис. 4.17 Два наиболее вероятных сайта включения **ТБП** в ксеноновую матрицу: (а-б) – сайт (111); (в) – (001).

По совокупности серии МД расчетов установлено, что при встраивании **ТБП** в кристаллическую решетку аргона формируются 8-9 дискретных сайтов включения, что согласуется со сложным мультиплетным характером спектра поглощения, в котором идентифицировано от 10 до 13 поглощающих примесных центров. При встраивании **ТБП** в твердый ксенон формируются три основных сайта $X(001)$, $X(011)$ и $X(111)$ (табл. 4.3), каждый из которых имеет ряд второстепенных сайтов с различной ориентацией терт-бутильных групп **ТБП**. Такой характер встраивания **ТБП** в твердый ксенон приводит к неоднородному уширению спектров поглощения (рис. 4.8).

4.4 Компьютерное моделирование электронных и колебательных спектров порфирина и его изомеров в низкотемпературной матрице ксенона

Влияние ксеноновой матрицы на ИК и электронные спектры порфирина было проанализировано с помощью квантово-химических расчетов методом DFT [A27]. В качестве начальной геометрии сайта включения были выбраны две конфигурации **1** и **2**, в которых молекула порфирина окружена двумя ближайшими слоями атомов ксенона, находящимися в узлах ГЦКР в кристаллографической плоскости (111), как показано на рис. 4.18. Для того, чтобы воспроизвести дальний порядок, присущий кристаллической решетке, положения атомов ксенона во внешнем слое были зафиксированы, в то время как положения атомов ксенона, входящих во внутренний слой, и геометрия молекулы порфирина были оптимизированы. При оптимизации структуры сайта включения использовался функционал B3LYP и смешанный базисный набор: 3-21G(*d,p*) и 6-31G(*d,p*) для атомов ксенона и порфирина, соответственно. Конфигурация сайтов **1** и **2** имеет симметрию D_{2h} . Оптимизированные таким образом конфигурации показаны на рис. 4.18.

При встраивании в сайт включения в ксеноновую матрицу равновесная геометрия порфирина незначительно деформируется. Деформация вызвана неоптимальным совпадением квадратной формы порфиринового гетероцикла и гексагональной полости ксеноновой матрицы. Сильное отталкивание между молекулой порфирина и окружающими атомами ксенона наблюдается вдоль оси *x*, в результате чего происходит сжатие гетероцикла вдоль оси NH-NH или N-N в случае сайтов **1** и **2**, соответственно (рис. 4.18). При этом деформации гетероциклической системы вдоль оси *y* не наблюдается. Взаимное отталкивание в системе “гость-хозяин” также проявляется в смещении положения некоторых атомов ксенона относительно их равновесного положения в кристалле, как показано стрелками на рис. 4.18.

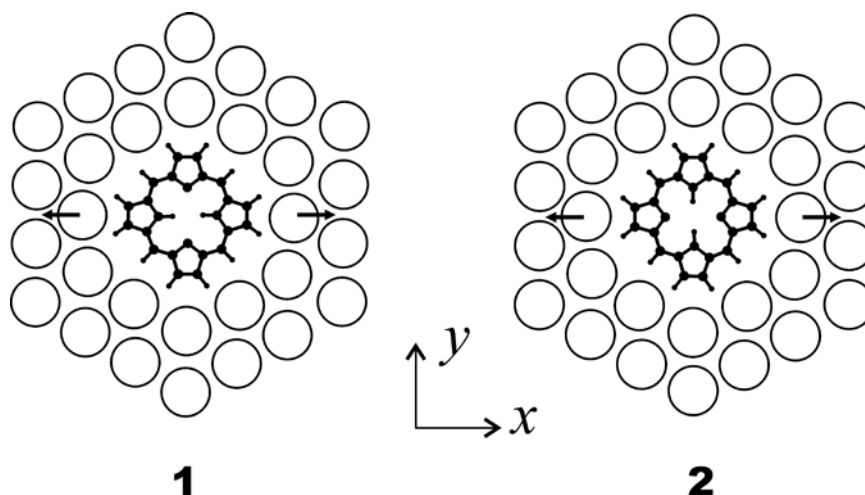


Рис. 4.18. Две возможные конфигурации порфирина, включенного внутрь полости ксеноновой матрицы, полученные по результатам МД моделирования. Полость расположена в кристаллографической плоскости (111) [A27].

Расщепление ИК полос порфирина, вызванное эффектом ксеноновой матрицы [A27], в зависимости от спектрального поведения можно разделить на три категории (табл. 4.4) [74]:

- Полосы, у которых положение пика сайта **A** расположено в области более низких частот относительно пика сайта **B** (рис. 4.4 *слева*).
- Полосы, у которых спектральное поведение противоположно, т.е. положение пика сайта **A** расположено в области более высоких частот относительно пика сайта **B** (рис. 4.4 *слева*).
- Полосы, для которых положение максимума слабо зависит от эффекта матрицы.

Для установления соответствия между спектральным сигналом и конфигурацией сайтов **1** и **2** (рис. 4.18) был проанализирован ряд наиболее интенсивных полос в ИК спектре. Отдельно были рассмотрены колебания, которые являются чувствительными к матричному окружению, а именно те, которые характеризуются растяжением и сжатием макроцикла порфирина. В

табл. 4.4 приведено сравнение экспериментальных и рассчитанных частот. Смещение положения ИК полос молекулы порфирина в матричных сайтах **1** и **2** может происходить за счет двух факторов: (а) неспецифического взаимодействия с матричным окружением, (б) в результате искажения равновесной геометрии молекулы “гостя”. Чтобы определить вклад каждого из этих компонентов расчет ИК спектра порфирина выполнен дважды. В первом случае, был выполнен расчет для порфирина в двух конфигурациях **1** и **2**, содержащих все атомы ксенона, показанные на рис. 4.18 (результаты расчета представлены в табл. 4.4 как DFT(1)). Во втором случае, все атомы ксенона были исключены, и расчет ИК спектра выполнен только для геометрии молекулы порфирина, деформированной в результате встраивания в матрицу (табл. 4.4, DFT(2)). В дополнение к этим расчетам также были рассчитаны ИК частоты для оптимизированной геометрии свободной молекулы порфирина в газовой фазе (DFT(3) в табл. 4.4)

ИК полосы при 723 и 725 см⁻¹, наблюдаемые в ксеноновой матрице при 10 К, отнесены к симметричным деформационным колебаниям пиррольного цикла [311]. Указанное колебание является характеристичным для порфиринов и известно в литературе как “колебание Кекуле” [284, 311]. Поляризационные данные позволили установить, что оно имеет симметрию B_{3u} , и полоса 723 см⁻¹ относится к сайту **A**, в то время как пик при 725 см⁻¹ соответствует сайту **B**. Расщепление $\Delta A\bar{B}=+2$ см⁻¹. Форма этого колебания и рассчитанные частоты для порфирина, находящегося в сайте включения **1** и **2** показаны на рис. 4.19а. Видно, что для порфирина при переходе от изолированной молекулы в матричное окружение наблюдается расщепление полосы этого колебания на 1.8 см⁻¹, при этом полоса 728.8 см⁻¹ соответствует сайту **1**, а полоса 730.6 см⁻¹ соответствует сайту **2** (рис. 4.19а). Таким образом, сравнение величины и направления для экспериментального и рассчитанного расщепления “колебания Кекуле” позволяет идентифицировать сайты **1** и **2**, как искомые сайты **A** и **B** (табл. 4.4 и рис. 4.6).

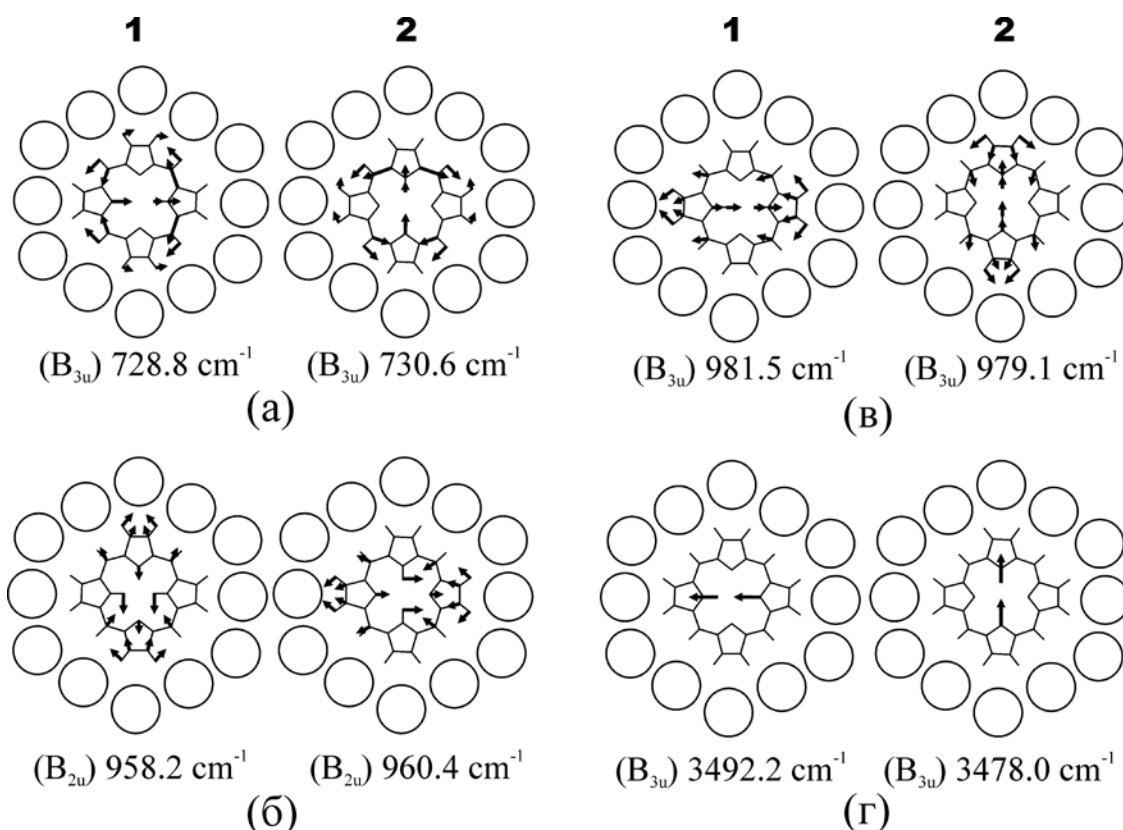


Рис. 4.19 Некоторые колебания порфирина, рассчитанные методом DFT/6-31G(d,p) для молекулы, встроенной в полость матрицы Хе (*a-z*) [A27].

В ИК спектрах порфиринов нормальные колебания пиррольного цикла проявляются в виде двух групп, которые соответствуют двум типам “протонированного” пиррольного и “непротонированного” пирроленинового циклов (рис. 4.1-4.2) [284]. Поэтому, в порфирине для “колебания Кекуле” существует его симметричная копия, которая локализована на пирролениновом цикле. Соответствующая ИК полоса порфирина в ксеноновой матрице, имеющая симметрию B_{2u} , обнаруженная при 745 cm^{-1} и 744 cm^{-1} [74], и была отнесена к сайтам **A** и **B**, соответственно (табл. 4.4). Для этого колебания наблюдается инвертирование низкочастотной и высокочастотной полосы и расщепление $\Delta A B = -1 \text{ cm}^{-1}$. Соответствующее деформационное колебание с симметрией B_{2u} рассчитано при 747.5 и 746.2 cm^{-1} для сайтов **1** и **2** (табл. 4.4), что хорошо согласуется с экспериментом ($\Delta 12 = -1.3 \text{ cm}^{-1}$).

Таблица 4.4

**Экспериментальные и рассчитанные частоты колебаний (см⁻¹)
порфирина, встроенной в полость сайта X(111) в твердом ксеноне.**

ксеноновая матрица (10 K)				DFT(1) ^a				DFT(2) ^b			DFT(3) ^b
A	B	Инт. ^г	ΔAB	1	2	Инт.	Δ12	1	2	Δ12	
B_{3u}											
310	314	vw	-4	312.8	317.3	vw	-4.5	309.5	310.5	-1.0	310.3
723	725	s	-2	728.8	730.6	s	-1.8	726.5	728.4	-1.9	725.5
780	782	m	-2	782.3	782.7	w	-0.4	779.6	780.8	-1.2	778.8
971	969	s	+2	981.5	979.1	s	+2.4	979.6	977.6	+2.0	974.6
1043	1045	s	-2	1071.5	1066.1	s	+5.4	1054.8	1054.2	+0.6	1057.2
1134	1136	m	-2	1154.6	1155.7	s	-1.1	1150.6	1149.8	+0.8	1149.5
1177	1179	m	-2	1214.8	1215.2	m	-0.4	1211.9	1212.2	-0.3	1207.2
1396	1397	m	-1	1419.9	1422.1	s	-2.2	1418.2	1419.8	-1.6	1415.4
1411	1412	m	-1	1425.9	1427.7	w	-1.8	1423.7	1425.7	-2.0	1419.1
3191	3194	vw	-3	3218.0	3242.7	w	-24.7	3214.2	3229.4	-15.2	3200.9
3324	3319	s	+5	3492.2	3478.0	s	+14.2	3492.5	3480.2	+12.3	3486.6
B_{2u}											
745	744	s	+1	747.5	746.2	s	+1.3	744.7	743.7	+1.0	743.3
951	952	vs	-1	958.2	960.4	vs	-2.2	956.6	958.7	-2.1	953.1
986	985	m	+1	997.2	994.9	s	+2.3	992.0	922.5	+0.5	991.5
1054	1056	s	-2	1067.8	1079.7	s	-11.9	1056.2	1059.9	-3.7	1062.5
1222	1225	w	-3	1243.7	1247.4	s	-3.7	1242.4	1246.5	-4.1	1243.4
1227	1227	s	0	1263.5	1263.4	m	0.0	1259.5	1260.0	-0.5	1256.7
1406	1405	m	+1	1428.9	1427.6	m	+1.3	1426.0	1425.9	0.0	1423.2
B_{1u}											
691	692	s	-1	705.9	703.5	m	+2.4	691.0	693.4	-2.4	697.7
731	732	m	-1	741.4	743.4	m	-2.0	730.0	731.1	-1.1	733.5
773	775	s	-2	794.7	790.9	s	+6.2	772.0	776.1	-4.1	780.1
785	783	s	+2	803.4	810.7	s	-7.3	787.5	787.2	+0.3	792.1
852	851	vs	+1	867.9	867.2	vs	+0.7	852.2	851.9	+0.3	854.6

^a – Частоты колебаний молекулы порфирина, рассчитанные после оптимизации геометрии молекул, находящихся в конфигурации **A** и **B** внутри гексагональной ксеноновой полости. Внешние атомы ксеноновой полости были зафиксированы в узлах идеальной кристаллической решетки. Все рассчитанные частоты были скорректированы на коэффициент 0.98.

^b – Частоты колебаний молекулы порфирина, выполненные для геометрии, взятой из конфигураций **1** и **2**, полученных в предыдущем шаге.

^b – Частоты колебаний оптимизированной молекулы порфирина в газовой фазе.

^г – Интенсивность полосы: *vs* – очень высокая, *s* – высокая, *m* – средняя, *w* – низкая, *vw* – очень низкая.

Экспериментальные ИК полосы (симметрия B_{2u}) для сайтов **A** и **B** расположены при 951 см^{-1} и 952 см^{-1} (рис. 4.5 и табл. 4.4). Это колебание соответствует “дыхательным” колебаниям пирроленинового цикла [284]. Расчет соответствующих им колебаний для сайтов включения **1** и **2** показал частоты 958.2 см^{-1} и 960.4 см^{-1} (рис. 4.19б). Для аналогичного колебания, локализованного на пиррольном цикле и имеющего симметрию B_{3u} , следует предположить инверсию полос при расщеплении, что и наблюдается как в эксперименте, так и в рассчитанных ИК спектрах. Экспериментальные ИК полосы при 971 см^{-1} и 969 см^{-1} , отнесенные к сайтам **A** и **B** (рис. 4.5, $\Delta AB = -2\text{ см}^{-1}$), для **1** и **2** имеют частоты колебаний при 981.5 см^{-1} и 979.1 см^{-1} ($\Delta 12 = -2.4\text{ см}^{-1}$, рис. 4.19в), соответственно.

Следует отметить, что указанная тенденция в расщеплении колебаний молекулы порфирина при переходе из газовой фазы в матричное окружение также воспроизводится в случае расчетов DFT(2), т. е. когда атомы ксенона отсутствуют. Следовательно, феномен спектрального расщепления полос обусловлен, в первую очередь, деформацией равновесной геометрии молекулы “гостя”, вызванной ее встраиванием в кристаллическую матрицу “хозяина”. Присутствие в расчете DFT(1) атомов ксенона приводит только к дополнительным незначительным спектральным сдвигам порядка $1\text{--}2\text{ см}^{-1}$. Дополнительной валидацией данной гипотезы является поведение асимметричных колебаний групп N–H, входящих в состав пиррольных гетероциклов порфирина. Эти колебания, имеющие симметрию B_{3u} , характеризуются асимметричным растяжением и сжатием связей N–H (рис. 4.19г), и, поэтому, являются удобной моделью, поскольку они локализованы внутри порфиринового макроцикла и, следовательно, слабо взаимодействуют со скелетными колебаниями молекулы. В ксеноновой матрице экспериментальная ИК полоса этого колебания расщеплена на 5 см^{-1} , при этом пик сайта **A** расположен в более высокочастотной области (табл. 4.4). Частота колебаний молекулы порфирина в сайтах **1** и **2** корректно воспроизводит

экспериментальную последовательность ИК полос (рис. 4.19г и табл. 4.4 DFT(1)). При этом следует также заметить, что абсолютная величина расщепления $\Delta 12 = 14.2 \text{ см}^{-1}$ является завышенной в 3 раза.

При переходе из газовой фазы в окружение низкотемпературной ксеноновой матрицы, полосы в электронном спектре поглощения порфирина, связанные с переходом молекулы в нижние синглетные $\pi\pi^*$ состояния, Q_x ($S_0 \rightarrow S_1$) и Q_y ($S_0 \rightarrow S_2$), претерпевают расщепление на несколько характерных пиков [A26, A32], которые можно приписать встраиванию молекулы порфирина в различные сайты включения (рис. 4.3 и 4.4) [74, 296]. Эти сайты включения порфирина имеют ту же природу, что и сайты **A** и **B**, обозначенные в предыдущих параграфах. Поэтому, предложенная нами интерпретация и обозначение сайтов включения порфирина, основанные на анализе ИК спектров, были использованы для установления природы электронных спектров порфирина в ксеноне.

В низкотемпературной матрице электронный переход Q_x расщепляется на две полосы, обозначенные как **A** и **B** на рис. 4.5 *справа*. В ранних работах, с использованием техники “выжигания спектральных провалов” (*от англ. spectral hole-burning*) было показано, что узкополосное облучение в область одной из этих полос поглощения приводит к снижению ее интенсивности с одновременным увеличением интенсивности второй полосы [A32]. Процесс перераспределения интенсивности между полосами **A** и **B** является обратимым. Этот феномен основан на фотоиндуцированном переносе двух пиррольных протонов N-H на атомы азота в пирролениновых гетероциклах [A26, A32] [312], как схематически показано на рис. 4.2. Для перехода Q_x полоса **A** расположена в более длинноволновой области спектра относительно полосы **B** (рис. 4.5 *справа*). Однако, положение полос **A** и **B** изменяется на противоположное для перехода Q_y , т.е. в этом случае полоса **A** расположена в коротковолновой области спектра относительно полосы **B** (табл. 4.5). Интересно отметить, что расщепление полос также наблюдается и в спектре фосфорес-

ценции порфирина в ксеноне, и при этом, характер расщепления полос имеет определенное сходство с расщеплением полос **A** и **B** для перехода Q_x [303].

Таблица 4.5

**Экспериментальные и рассчитанные частоты электронных переходов
(см⁻¹) молекулы порфирина, встроенной в полость сайта X(111) в
твердом ксеноне.^a**

ксеноновая матрица (10 K)				DFT(1)			DFT(2)			DFT(3)	эксп ^б
A	X	B	ΔAB	1	2	$\Delta 12$	1	2	$\Delta 12$		
S₁-состояние (Q_x)											
16271	16319	16364	-93	18440	18457	-17	18427	18452	-25	18374	16320
T₁-состояние											
~12585	-	~12670	-85	11816	11945	-129	11801	11897	-96	11751	-
S₂-состояние (Q_y)											
19481	-	19350	+131	19741	19735	+6	19735	19729	+6	19674	19884

^a – см. обозначения, указанные в табл. 4.4.

^б – экспериментальные данные, полученные в условиях сверхзвукового молекулярного пучка.

Параметры электронных переходов молекулы порфирина в сайтах **1** и **2** в твердом ксеноне (рис. 4.5) были рассчитаны с использованием процедуры аналогичной той, что применялась для анализа ИК спектров. В табл. 4.5 приведено сравнение экспериментальных и рассчитанных положений (в волновых числах) для первых двух синглетных и нижнего триплетного состояния. Несмотря на некоторые отличия в абсолютной величине расщепления ΔAB и $\Delta 12$, следует отметить хорошее соответствие в сдвигах спектральных полос. Этот факт является дополнительным аргументом в пользу обозначения экспериментальных сайтов **A** и **B**, показанных на рис. 4.5, как сайтов **1** и **2**, указанных на рис. 4.18.

4.5 Перенос энергии электронного возбуждения в диадах порфирина

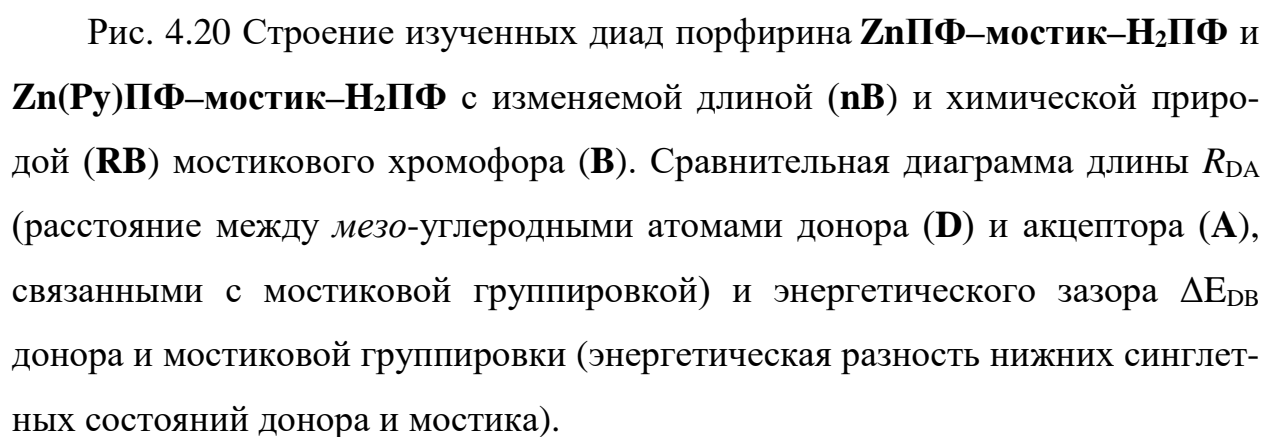
Межмолекулярная миграция энергии электронного возбуждения играет важную роль в функционировании природных фотосинтетических антенн, ответственных за поглощение света и передачу поглощенной энергии к реакционным центрам, где она преобразуется в энергию разделенных зарядов [313]. Для того, чтобы использовать феномен переноса энергии в практических приложениях, таких как молекулярная оптоэлектроника [314] или искусственный фотосинтез [315], этот процесс должен иметь высокую эффективность и, к тому же, обладать контролируруемыми и прогнозируемыми свойствами. Поэтому, дизайн таких молекулярных систем должен включать структурно-жесткое сопряжение различных фрагментов молекулярного ансамбля, которое при этом обеспечивает управление и переключение между заданными направлениями переноса энергии [108].

В соответствии с поставленной целью и задачами исследования в настоящем разделе представлены спектральные данные и результаты квантово-химических расчетов для серии диад порфиринов, в которых порфирин-донор химически связан с порфирином-акцептором через мостиковый хромофор, который выступает в качестве медиатора синглет-синглетного и триплет-триплетного переноса энергии. Показано, что константа скорости переноса энергии электронного возбуждения от порфирина-донора на порфирин-акцептор может быть представлена в виде двух вкладов - универсального диполь-дипольного (ферстеровского) и обменно-резонансного, параметры последнего определяются природой мостиковой группы. В данном разделе будет показано, что для изученных порфириновых систем перенос энергии по обменно-резонансному механизму играет доминирующую роль, при этом на его кинетические параметры оказывает определяющее влияние химическая природа и размеры мостика.

4.5.1 Выбор объектов исследования синглет-синглетного переноса энергии

В качестве объектов исследования переноса энергии нами были выбраны систематические серии диад на основе порфирина типа **донор-мостик-акцептор**, в которых *выбор мостикового хромофора позволяет целенаправленно контролировать физико-химию переноса энергии электронного возбуждения, а именно: (1) фиксировать расстояние донор-акцептор, (2) задавать энергетический зазор донор-мостик, (3) прогнозировать дистанционно-зависимое затухание переноса энергии от порфирина-донора на порфирин-акцептор.*

Диады порфирина типа **донор–мостик–акцептор** состояли из цинк(II) 5,15-диарил-2,8,-12,18-тетраэтил-3,7,13,17-тетраметилпорфирина (**ZnПФ**) или соответствующего порфирина с пиридиновым лигандом (**Zn(Py)ПФ**) (рис. 4.20), выступающих в качестве донора энергии электронного возбуждения. Во всех изученных сериях диад в качестве акцептора энергии возбуждения донора был выбран 5,15-диарил-2,8,-12,18-тетраэтил-3,7,13,17-тетраметилпорфирин (**H₂ПФ**). В качестве мостиковой группы выступали хромофоры, сгруппированные в две серии – **RB** и **nB** (рис. 4.20). В первой серии, все мостиковые молекулы **RB** имели одинаковый размер, но разную величину энергетического зазора донор-мостик ΔE_{DA} . Серия **RB** включает четыре мостиковых хромофора: 1,4-бис-(фенилэтинил)бицикло[2.2.2]октан (**OB**), 1,4-бис-(фенилэтинил)бензол (**3B**), 1,4-бис-(фенилэтинил)нафталин (**NB**), и 9,10-бис-(фенилэтинил)антрацен (**AB**). Во второй серии предусмотрена возможность варьирования как размера группировки **nB**, так и величины энергетического зазора донор-мостик. В указанную серию входят четыре олигомера *пара*-фениленэтиниля (от *англ.* oligo-*p*-phenylene ethynylene, **OPE**), в которых число фенильных фрагментов **n** варьировалось от 2 до 5 (**2B-5B**). Таким образом, выбранный дизайн порфириновых диад



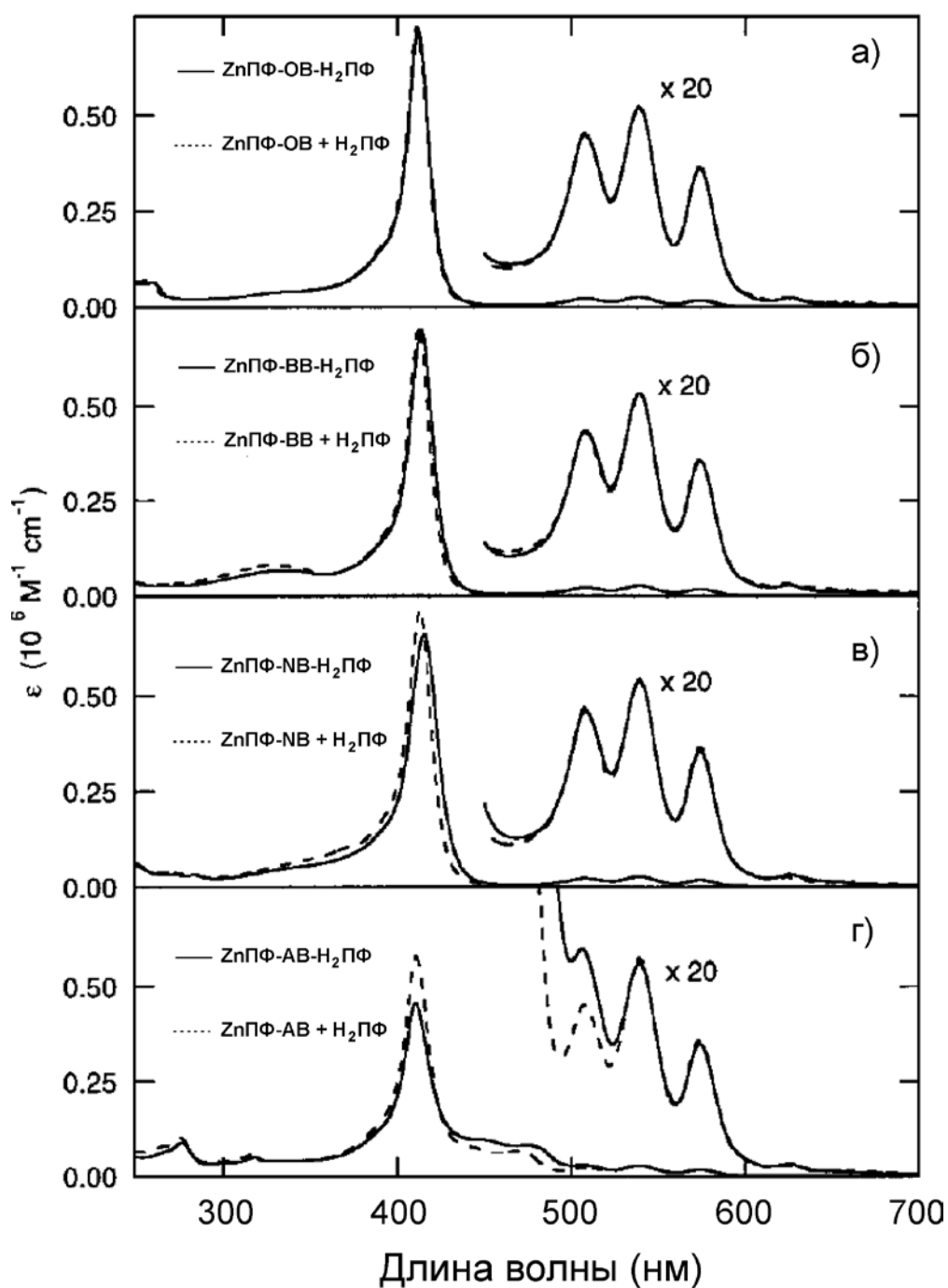


Рис. 4.21 Электронные спектры поглощения диад **ZnPPh-RB-H₂PPh** (—) и сумма спектров эквимольярной смеси **ZnPPh-RB** и **H₂PPh** (---) в хлороформе: (а) **ZnPPh-OB-H₂PPh** и сумма спектров **ZnPPh-OB** и **H₂PPh**, (б) **ZnPPh-BB-H₂PPh** и сумма спектров **ZnPPh-BB** и **H₂PPh**, (в) **ZnPPh-NB-H₂PPh** и сумма спектров **ZnPPh-NB** и **H₂PPh**, (г) **ZnPPh-AB-H₂PPh** и сумма спектров **ZnPPh-AB** и **H₂PPh**.

Дизайн порфириновых диад **ZnPФ–RB–H₂ПФ** и **ZnPФ–nВ–H₂ПФ** выбран таким образом, чтобы исключить прямое π –сопряжение порфирина-донора с порфирином-акцептором через мостиковый хромофор. На рис. 4.21 показано сопоставление электронных спектров поглощения диад **ZnPФ–RB–H₂ПФ** с суммой спектров эквимольной смеси **ZnPФ–RB** и **H₂ПФ**. Как видно, электронный спектр диады может быть представлен как суперпозиция спектров поглощения донорного, акцепторного и соответствующего мостикового хромофоров. При этом новых полос поглощения, которые указывали бы на формирование общей π –сопряженной системы не наблюдается. Отсутствие прямого π –сопряжения в диаде в основном состоянии достигается введением метильных групп в β –положения порфиринового макроцикла, которые соседствуют с *мезо*-положением, в которое введена мостиковая группировка. Поэтому, в молекулах **ZnPФ** и **H₂ПФ** две *мезо*-фенильные группы образуют с плоскостью порфиринового макроцикла угол $\omega=90\pm15^\circ$ [316, 317].



Строение мостиковой группировки **RB** и **nВ** выбрано таким образом, чтобы обеспечить жесткое линейное соединение с фиксированным расстоянием R_{DA} между порфирином-донором с порфирином-акцептором. В работе [317] показано, что барьер вращения фениленовых фрагментов относительно этинильного фрагмента составляет порядка 4 кДж/моль. Таким образом, в растворе при комнатной температуре в мостиковой группировке *пара*-фениленэтинила возможно относительно свободное вращение фениленовых фрагментов друг относительно друга [318].

4.5.2 Синглет-синглетный перенос энергии электронного возбуждения в порфириновых системах донор-мостик-акцептор

На рис. 4.23а показаны электронные спектры поглощения модельных соединений **ZnПФ–4В**, **Zn(Py)ПФ–4В**, и **H₂ПФ**. В присутствии пиридина, который координируется с катионом цинка в **ZnПФ**, происходит bathochromic смещение Q-полосы и небольшое перераспределение колебательной интенсивности полосы в области 450-650 нм. Длинноволновая полоса поглощения мостиковых хромофоров **nВ** находится в области до 400 нм. На рис. 4.23б показаны спектры поглощения диад порфирина типа **Zn(Py)ПФ–nВ–H₂ПФ**. Так же, как и в случае диад **ZnПФ–RB–H₂ПФ** (рис. 4.21), эти спектры являются суперпозицией спектров поглощения донорного, акцепторного и соответствующего мостикового хромофоров, что указывает на то, что в основном состоянии между ними отсутствует прямое π -сопряжение.

Относительно высокая энергия электронного возбуждения мостиковой группы приводит к тому, что энергетический зазор $\Delta E_{\text{ДВ}}$, величина которого рассчитывается как разность энергией нижних синглетных состояний донора и мостика, составляет не меньше 8000 cm^{-1} (1 эВ), что исключает миграцию энергии электронного возбуждения напрямую через мостик (раздел 1, рис. 1.16) [288]. Экспериментальные чисто электронные энергии нижних возбуждённых состояний для изолированных порфиринов и мостиковых группировок, рассчитанные по точке пересечения нормированных спектров поглощения и флуоресценции, приведены в табл. 4.6.

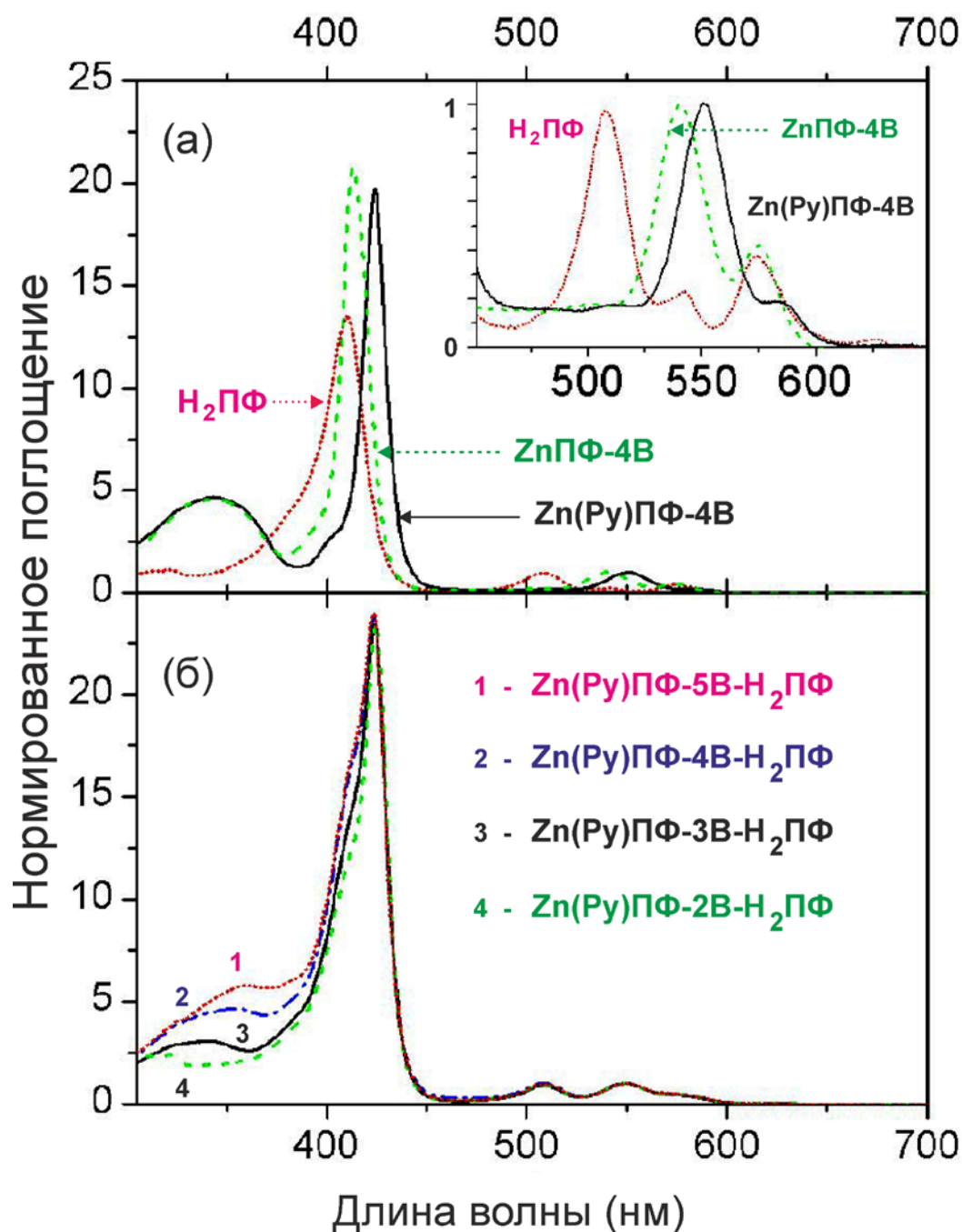


Рис. 4.23 (а) Спектры поглощения Zn(Py)PPh-4B (—), ZnPPh-4B (---) и H_2PPh (···). На вставке детально показан участок спектров поглощения в области Q-полосы. (б) Спектры поглощения $\text{Zn(Py)PPh-5B-H}_2\text{PPh}$ (···), $\text{Zn(Py)PPh-4B-H}_2\text{PPh}$ (---), $\text{Zn(Py)PPh-3B-H}_2\text{PPh}$ (—), и $\text{Zn(Py)PPh-2B-H}_2\text{PPh}$ (---). Спектры измерены в хлороформе и нормированы на поглощение при 550 нм.

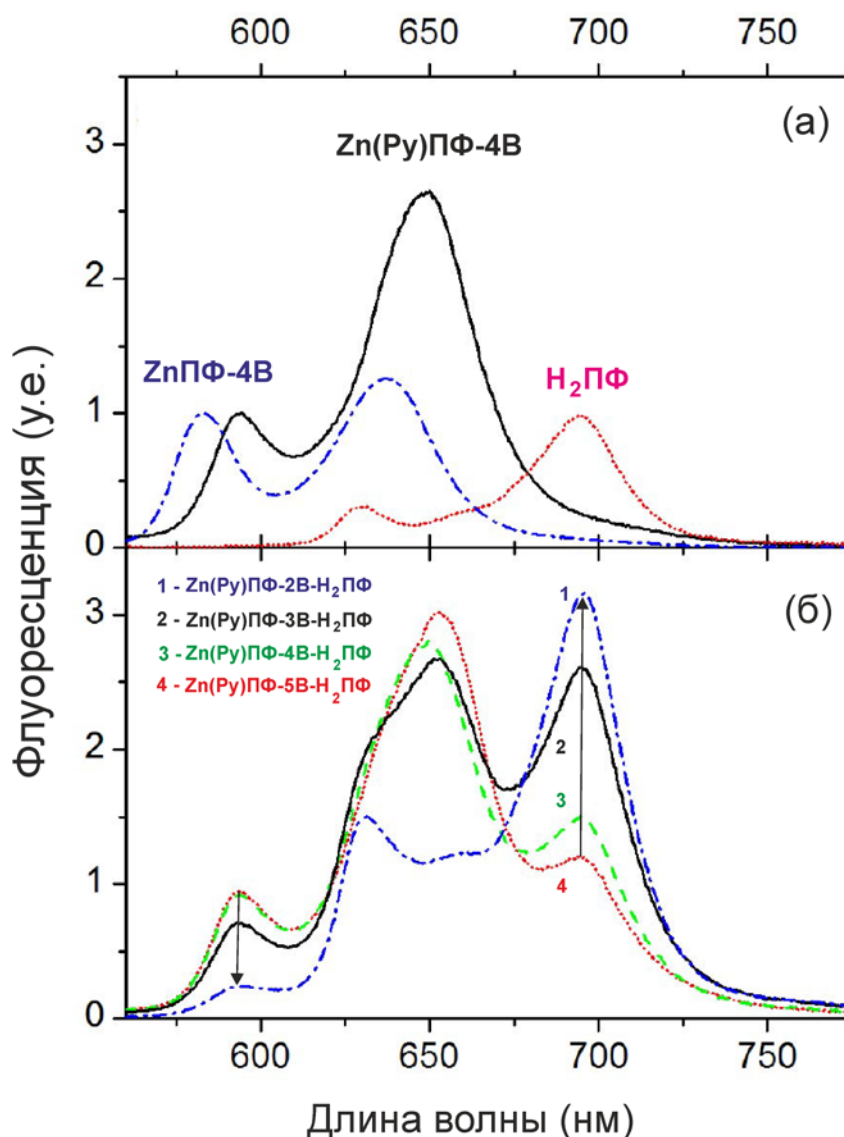


Рис. 4.24 (а) Спектры флуоресценции **Zn(Py)ПФ–4В** (—), **ZnПФ–4В** (---) и **H₂ПФ** (···). (б) Спектры флуоресценции **Zn(Py)ПФ–5В–H₂ПФ** (···), **Zn(Py)ПФ–4В–H₂ПФ** (---), **Zn(Py)ПФ–3В–H₂ПФ** (—), и **Zn(Py)ПФ–2В–H₂ПФ** (---). Спектры измерены в хлороформе при возбуждении на длине волны 510 нм.

На рис. 4.24а показаны спектры флуоресценции модельных соединений **ZnПФ–4В**, **Zn(Py)ПФ–4В**, и **H₂ПФ**. Полосы испускания **ZnПФ** и **H₂ПФ** хорошо разнесены спектрально, что дает возможность изучать перенос энергии в диаде по уменьшению интенсивности флуоресценции полосы

донора и соответствующего ему увеличению интенсивности флуоресценции акцептора (рис. 4.24б).

Для количественного мониторинга уменьшения интенсивности флуоресценции донора были выбраны длины волн 580 нм для **ZnПФ** и 590 нм для **Zn(Py)ПФ**. Изменение интенсивности флуоресценции акцептора **H₂ПФ** фиксировалось на длине волны 700 нм (рис. 4.24б). В пределах серии **Zn(Py)ПФ–nB–H₂ПФ**, при уменьшении длины мостиковой группировки наблюдается синхронное уменьшение интенсивности испускания донора и увеличение интенсивности испускания акцептора (показано стрелками на рис. 4.24б), что указывает на увеличение эффективности переноса энергии при переходе от **Zn(Py)ПФ–5B–H₂ПФ** до **Zn(Py)ПФ–2B–H₂ПФ**.

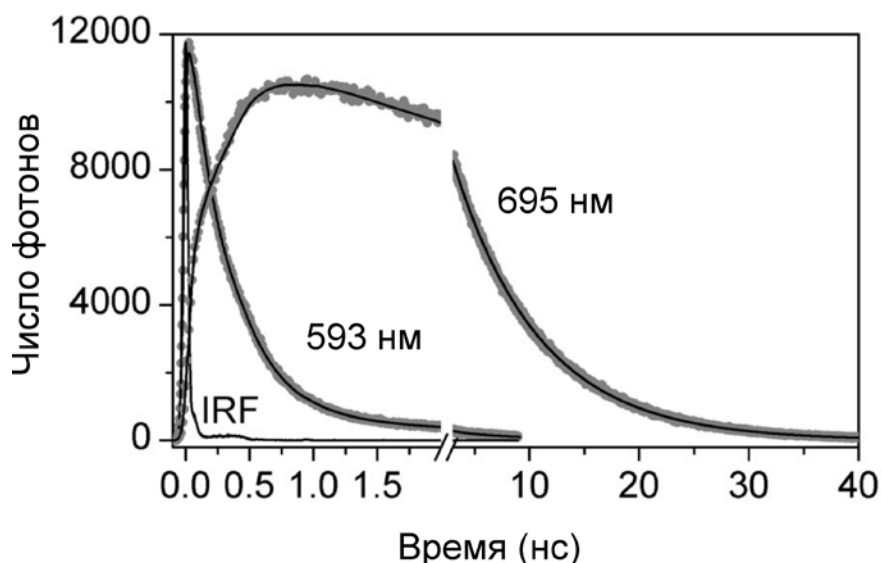


Рис. 4.25 Кривые затухания флуоресценции **Zn(Py)ПФ–2B–H₂ПФ**, измеренные в хлороформе при 593 нм (полоса флуоресценции донора) и 695 нм (полоса флуоресценции акцептора). Аппаратная функция обозначена как IRF (*от англ.* instrument response function).

Этот результат подтверждается данными кинетики затухания флуоресценции, измеренной для диады **Zn(Py)ПФ–2B–H₂ПФ** на длинах волн донорной и акцепторной группировки, как показано на рис. 4.25. Для

Zn(Py)ПФ–2В–H₂ПФ кинетические параметры затухания флуоресценции донора равны кинетике нарастания флуоресценции акцептора и при этом время жизни флуоресценции акцептора (~9 нс) соответствует времени жизни модельной молекулы **H₂ПФ** (табл. 4.6).

Известно, что перенос энергии от донорного на акцепторный фрагмент может конкурировать с параллельным процессом переноса электрона между этими фрагментами [113, 288]. Поэтому, для системы с самой короткой мостиковой группировкой **ZnПФ–2В–H₂ПФ**, в которой наблюдается максимальное тушение флуоресценции донора, было измерено фемто-секундное наведенное поглощение (*от англ. femtosecond transient absorption*) в толуоле и в более полярном растворителе бутиронитриле, которое не обнаружило наличия соответствующих катион- и анион-радикалов **ZnПФ^{•+}** и **H₂ПФ^{•-}** в растворе, что позволяет в данном случае исключить возможность реакции переноса электрона, как конкурирующего канала тушения флуоресценции донора во всей серии изученных диад порфирина.**

Таким образом, данные стационарной и время-разрешенной спектроскопии указывают на то, что в диадах **ZnПФ–nВ–H₂ПФ** и **Zn(Py)ПФ–nВ–H₂ПФ** основным источником тушения флуоресценции донора является синглет-синглетный перенос энергии электронного возбуждения от донорного хромофора **Zn(Py)ПФ** (или **ZnПФ**) на хромофор-акцептор **H₂ПФ** [A16].

Количественным критерием тушения флуоресценции донора (ур. 4.2) является степень уменьшения его времени жизни в диаде (τ_{DBA}) по сравнению со временем жизни модельного соединения (τ_{DB}), не содержащего акцепторный хромофор (ур. 4.3).

** В группе проф. Б. Албинссона было выполнено детальное изучение возможности переноса электрона в диадах порфиринов и было показано, что такой процесс возможен для систем **ZnПФ–RB–AuПФ** в бутиронитриле [Interplay between barrier width and height in electron tunneling: Photoinduced electron transfer in porphyrin-based donor–bridge–acceptor systems / Pettersson, K.; Wiberg, J.; Ljungdahl, T.; Mårtensson, J.; Albinsson, B. // *J. Phys. Chem. A* 2006, 110, 319-326].

Таблица 4.6

Фотофизические параметры диад порфирина и модельных соединений в хлороформе [A16]

	τ , нс	aE	k , c^{-1}	$^b k_{Fr}$, c^{-1}	$^b k_{med}$, c^{-1}	$^r R_{ee}$, \AA	$^d R_{cc}$, \AA	ΔE_{DB} , cm^{-1}
ZnПФ-2В	1.3±0.1							
ZnПФ-2В-Н₂ПФ	0.2±0.1	0.81	$3.4 \cdot 10^9$	$1.5 \cdot 10^9$	$1.9 \cdot 10^9$	12.7	19.7	15 800
ZnПФ-3В	1.3±0.1							
ZnПФ-3В-Н₂ПФ	0.8±0.1	0.38	$4.7 \cdot 10^8$	$3.3 \cdot 10^8$	$2.2 \cdot 10^8$	19.6	26.5	11 600
ZnПФ-4В	1.3±0.1							
ZnПФ-4В-Н₂ПФ	1.1±0.1	0.16	$1.4 \cdot 10^8$	$6.2 \cdot 10^7$	$8.2 \cdot 10^7$	26.5	33.4	9 700
ZnПФ-5В	1.3±0.1							
ZnПФ-5В-Н₂ПФ	1.2±0.1	0.06	$5.2 \cdot 10^7$	$2.0 \cdot 10^7$	$3.2 \cdot 10^7$	33.4	40.3	8 800
Zn(Py)ПФ-2В	1.2±0.1							
Zn(Py)ПФ-2В-Н₂ПФ	0.3±0.1	0.76	$2.7 \cdot 10^9$	$4.0 \cdot 10^8$	$2.3 \cdot 10^9$	12.7	19.7	16 100
Zn(Py)ПФ-3В	1.2±0.1							
Zn(Py)ПФ-3В-Н₂ПФ	0.8±0.1	0.29	$3.5 \cdot 10^8$	$6.8 \cdot 10^7$	$2.8 \cdot 10^8$	19.6	26.5	12 000
Zn(Py)ПФ-4В	1.2±0.1							
Zn(Py)ПФ-4В-Н₂ПФ	1.1±0.1	0.08	$7.7 \cdot 10^7$	$1.7 \cdot 10^7$	$6.0 \cdot 10^7$	26.5	33.4	10 000
Zn(Py)ПФ-5В	1.2±0.1							
Zn(Py)ПФ-5В-Н₂ПФ	1.1±0.1	0.05	$4.5 \cdot 10^7$	$5.5 \cdot 10^6$	$4.0 \cdot 10^7$	33.4	40.3	9 100
ZnПФ-ОВ-Н₂ПФ	1.0±0.1	0.36	$3.7 \cdot 10^8$	$3.3 \cdot 10^8$	$0.4 \cdot 10^8$	19.5	26.5	17 600
ZnПФ-НВ-Н₂ПФ	0.8±0.1	0.43	$5.3 \cdot 10^8$	$3.3 \cdot 10^8$	$2.0 \cdot 10^8$	19.6	26.5	8 600
ZnПФ-АВ-Н₂ПФ	0.6±0.1	0.64	$1.2 \cdot 10^9$	$3.3 \cdot 10^8$	$8.8 \cdot 10^8$	19.6	26.5	3 900

^a по ур. 4.5, ^b k_{Fr} – константа фёрстеровского переноса энергии, ^b k_{med} по ур. 4.8, ^r расстояние между мезо-углеродными атомами порфирина-донора и порфирина-акцептора (рис. 4.22),

^d расстояние от центра порфирина-донора до центра порфирина-акцептора.

Можно принять, что константы скорости первичных фотофизических процессов в электронно-возбужденном состоянии молекулы донора, такие как внутренняя конверсия (k_{ic}), интеркомбинационная конверсия (k_{isc}) и испускание флуоресценции (k_f) не изменяются в присутствии акцептора, что подтверждается данными спектров поглощения для диад (рис. 4.21 и 4.23), указывающими на отсутствие в основном состоянии прямого π -сопряжения между донором и акцептором.

$$\tau_{DBA} = 1/(k_{ic} + k_{isc} + k_f + k) \quad (4.2)$$

$$\tau_{DB} = 1/(k_{ic} + k_{isc} + k_f) \quad (4.3)$$

Константа тушения электронно-возбужденного состояния флуорофора-донора может быть оценена по ур. 4.4:

$$k = 1/\tau_{DBA} - 1/\tau_{DB} \quad (4.4)$$

Для **ZnPФ–2В–H₂ПФ**, константа скорости k (ур. 4.4) равна $3.4 \times 10^9 \text{ с}^{-1}$ и уменьшается на два порядка до $5.2 \times 10^7 \text{ с}^{-1}$ при увеличении длины мостиковой группировки на $\sim 20 \text{ \AA}$ (с 12.7 до 33.4 \AA) при переходе к **ZnPФ–5В–H₂ПФ** (табл. 4.6). Сравнение констант тушения флуоресценции донора в двух разных сериях **ZnP–nВ–H₂P** и **Zn(Py)P–nВ–H₂P** показывает, что в последней абсолютные значения k всегда оказываются меньше.

Эффективность переноса энергии может быть оценена по времени жизни флуоресценции донора в присутствии и отсутствии акцептора по ур 4.5:

$$E = 1 - \tau_{DBA}/\tau_{DB} \quad (4.5)$$

Обобщенные данные по фотонике изученных порфириновых диад приведены в табл. 4.6.

4.5.2.1 Индуктивно-резонансный перенос энергии в системах ZnПФ–мостик–Н₂ПФ и Zn(Py)ПФ–мостик–Н₂ПФ. Константа скорости переноса энергии электронного возбуждения, протекающего по индуктивно-резонансному механизму, может быть оценена по уравнению Фёрстера (ур. 4.6) [110, 319]. В ур. 4.6, Φ_D и τ_D – квантовый выход и время жизни флуоресценции донора в отсутствие акцептора, N_A – постоянная Авогадро, n – показатель преломления растворителя (для использованного хлороформа $n=1.45$), R_{cc} – расстояние между центрами донора и акцептора. Также в ур. 4.6 входит параметр κ^2 – ориентационный фактор, который учитывает относительную ориентацию векторов дипольных моментов электронных переходов в молекулах донора и акцептора (для изотропного динамического усреднения хаотического распределения κ^2 принимается равным 2/3, однако в случае донора и акцептора, связанных через мостик ковалентной связью, $n = 5/6$ [110]).

$$k_{\text{Förster}} = \frac{9000 \ln 10}{128\pi^5 N_A} \frac{\Phi_D \kappa^2 J}{\tau_D R_{cc}^6 n^4} \quad (4.6)$$

В выражение входит интеграл J , рассчитываемый по ур. 4.7 как площадь перекрывания спектра флуоресценции донора $F_D(\lambda)$ и спектра поглощения акцептора $\epsilon_A(\lambda)$, нормированных на единицу.

$$J = \frac{\int_0^\infty F_D(\lambda) \epsilon_A(\lambda) \lambda^4 d\lambda}{\int_0^\infty F_D(\lambda) d\lambda} \quad (4.7)$$

Для диад, в которых донором являлись **ZnПФ** и **Zn(Py)ПФ** интеграл перекрывания J (рис. 4.26) равнялся $2.6 \pm 0.2 \cdot 10^{-14} \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-3}$ и $0.9 \pm 0.2 \cdot 10^{-14} \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-3}$, соответственно. Константы ферстеровского переноса энергии k_{Forster} (далее обозначена как k_{Fr}), рассчитанные по ур. 4.6-4.7, для всех изученных диад порфирина приведены в табл. 4.6. Константа k_{Fr} равна $1.5 \times 10^9 \text{ с}^{-1}$ для

ZnPФ–2В–H₂ПФ и закономерно уменьшается до $3.2 \times 10^7 \text{ с}^{-1}$ в случае **ZnPФ–5В–H₂ПФ** по закону R^{-6} (табл. 4.6). При сравнении двух рядов диад **ZnPФ–nВ–H₂ПФ** и **Zn(Py)ПФ–nВ–H₂ПФ** видно, что при одинаковой длине мостика во втором случае всегда наблюдается несколько меньшие значения k_{Fr} , что объясняется уменьшением спектрального интеграла перекрытия J (рис. 4.26).

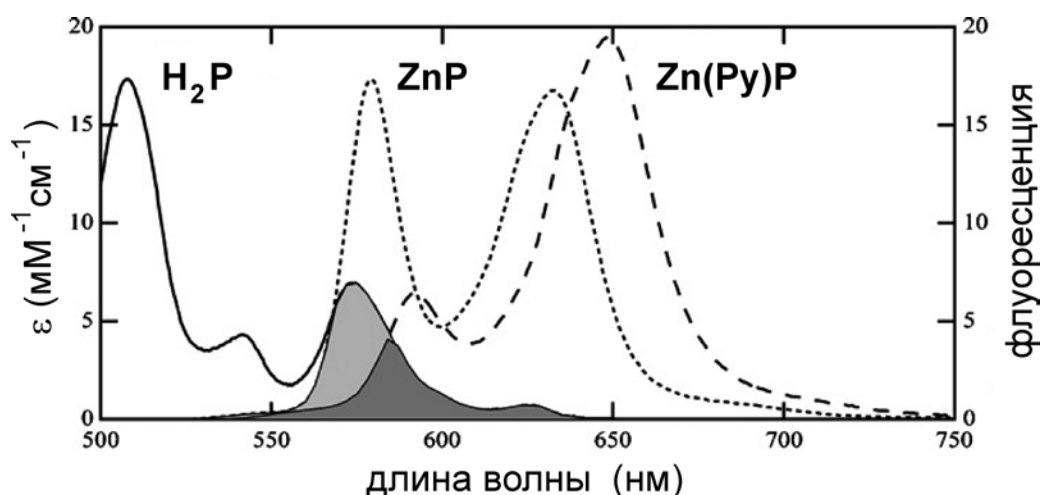


Рис. 4.26 Данные для расчета интеграла перекрытия спектра поглощения порфирина-акцептора **H₂P** (—) и спектра флуоресценции порфирина-донора **ZnP** (···) или **Zn(Py)P** (---) в хлороформе.

Сопоставление наблюдаемой константы переноса k и рассчитанной по теории Фёрстера k_{Fr} позволяет сделать важный вывод о том, что *измеренная скорость переноса энергии не может быть интерпретирована в рамках чисто индуктивно-резонансного механизма миграции энергии (теория Фёрстера)*. Для диад **ZnPФ–nВ–H₂ПФ** вклад ферстеровской константы k_{Fr} может составлять всего порядка 40-50% от величины суммарной константы тушения k флуорофора-донора (табл. 4.6). Для диад **Zn(Py)ПФ–nВ–H₂ПФ** вклад ферстеровской компоненты k_{Fr} становится еще меньше, не более 10-20%, что объясняется уменьшением интеграла перекрытия J (рис. 4.26).

Очевидно, что экспериментально измеренные аномально высокие скорости тушения в изученных порфириновых диадах обусловлены присутствием мостикового хромофора между порфирином-донором и порфирином акцептором, наличие которого не учитывает теория индуктивно-резонансного механизма миграции энергии электронного возбуждения, поскольку в рамках ее формализма мостиковую группировку следует рассматривать как инертный спейсер.

4.5.2.2 Обменно-резонансный перенос энергии в системах ZnПФ–мостик–Н₂ПФ и Zn(Py)ПФ–мостик–Н₂ПФ. Для ряда диад **ZnПФ–RB–Н₂ПФ**, у которых расстояние R_{cc} одинаково, однако природа мостикового хромофора различна (рис. 4.20), сопоставление констант скорости переноса k и k_{Fr} указывает на то, что при наличии мостика **ОВ**, состоящего из двух несопряженных π -систем, перенос энергии достаточно хорошо описывается в рамках теории Фёрстера. Между тем, уже в случае наличия сопряженного мостикового хромофора, такого как **ЗВ**, **НВ** и **АВ**, отличие k от k_{Fr} становится значительным, и его величина зависит от значения ΔE_{DV} (рис. 4.20).

В ранних работах проф. Б. Албинссона [316, 317] было выдвинуто предположение, что скорость переноса энергии в системах **ZnПФ–мостик–Н₂ПФ** может превышать скорость, рассчитанную по классической формуле Фёрстера, за счет наличия мостиковой молекулы, которая сама не принимает непосредственного участия, но выступает “медиатором” переноса энергии, который в этом случае происходит по обменно-резонансному механизму, известному также как механизм “суперобмена” (*от англ. through-bond super-exchange energy transfer*) [120].

Таким образом, вклад мостикового хромофора k_{med} в общую константу скорости переноса энергии, которая превышает фёрстеровскую константу k_{Fr} , может быть оценен из суммарной константы скорости переноса энергии по ур. 4.8:

$$k_{med} = k - k_{Fr} \quad (4.8)$$

Константа k_{med} описывает вклад мостикового хромофора в общую константу скорости переноса энергии с донора на акцептор. При наличии мостиковой группировки с цепью сопряженных связей перенос энергии происходит по обменно-резонансному механизму и наблюдается только при перекрывании электронных орбиталей донор/мостик и мостик/акцептор [120]. Следует отметить, что хотя для изучаемых порфириновых диад прямое π -сопряжение донор/мостик и мостик/акцептор минимизировано ($\omega \sim 90^\circ$) за счет стерических эффектов (рис. 4.21), тем не менее, квантово-химический расчет предсказывает, что при комнатных температурах термически-активируемое торсионное вращение донорного хромофора и мостика, а также мостика и акцепторного хромофора, может приводить к значительной популяции конформеров с торсионным углом ω , достигающим 70° [A16].

В общем виде теория суперобмена для переноса электрона и энергии известна из ранних работ Г. М. МакКоннелла (H. M. McConnell) [320], в которых электронное сопряжение между донором и акцептором осуществляется за счет орбитального перекрывания фрагментов донора, мостика и акцептора, а величина сопряжения V_{DA} прямо пропорциональна электронному сопряжению донор-мостик (V_{DB}) и мостик-акцептор (V_{BA}), и при этом является обратно пропорциональна величине энергетического зазора ΔE_{DB} (ур. 4.9):

$$V_{DA} = \frac{V_{DB} V_{BA}}{\Delta E_{DB}} \quad (4.9)$$

Известно, что в системах типа донор-мостик-акцептор, в рамках теории обменно-резонансного переноса энергии, электронное сопряжение между донором и акцептором убывает с расстоянием по экспоненциальному закону ($k \propto |V|^2$) [113, 321]. Таким образом, константа скорости переноса энергии зависит от расстояния между донором и акцептором в соответствии с ур. 4.10:

$$k = A \exp(-\beta \cdot R_{DA}) \quad (4.10)$$

здесь β - аттенюирующий фактор (*от англ.* attenuation factor), R_{DA} (edge-to-edge) расстояние между ближайшими тяжелыми атомами молекулы донора и акцептора (в случае порфириновых диад – расстояние между мезо-углеродными атомами), A – предэкспоненциальный фактор, учитывающий химическую природу системы, который является постоянным в пределах серии, содержащей одинаковые донор и акцептор.

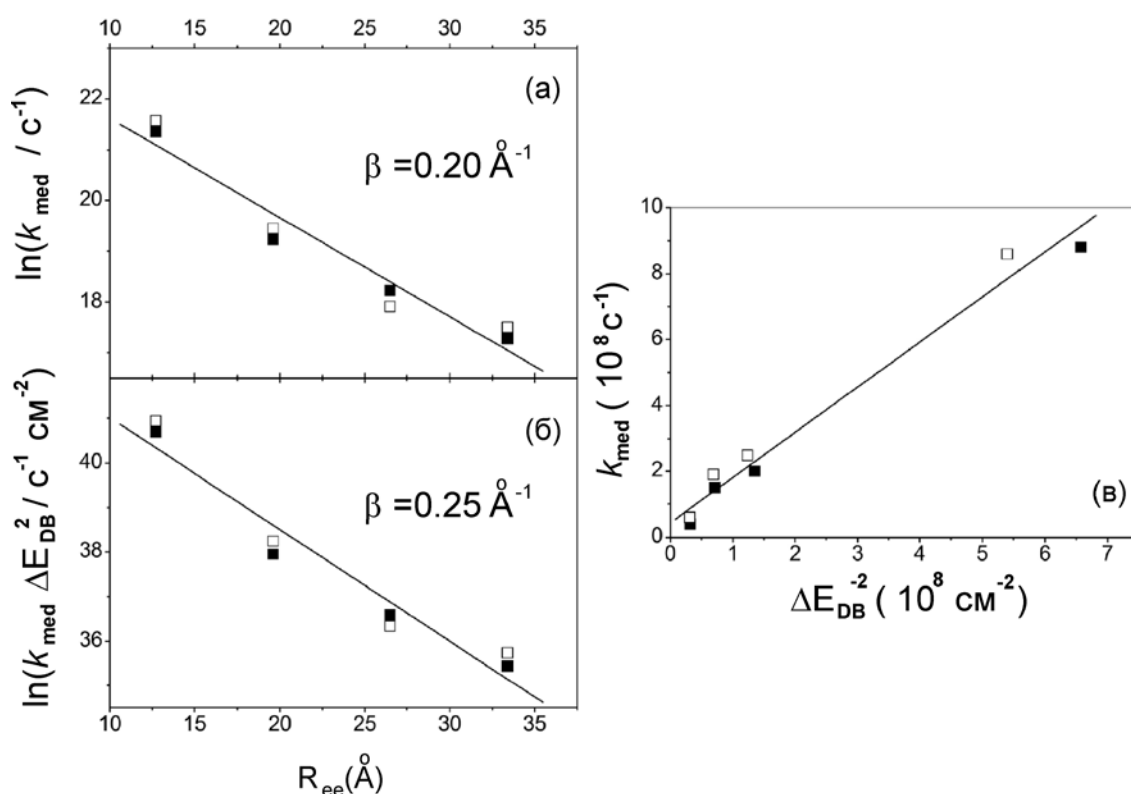


Рис. 4.27 (а) Полулогарифмическая зависимость k_{med} от R_{ee} для **ZnPp-nB-H₂Pp** (■) и **Zn(Py)Pp-nB-H₂Pp** (□) в хлороформе. Прямыми линиями показана линейная аппроксимация данных уравнениями 4.10 (а), 4.11 (б и в). (б) Полулогарифмическая зависимость $k_{\text{med}} \cdot (\Delta E_{\text{DB}})^2$ от R_{ee} для **ZnPp-nB-H₂Pp** (■) и **Zn(Py)Pp-nB-H₂Pp** (□) в хлороформе. Аппроксимация по ур. 4.11. (в) Зависимость k_{med} от $\Delta E_{\text{DB}}^{-2}$ для **ZnPp-RB-H₂Pp** (■) и **Zn(Py)Pp-RB-H₂Pp** (□) в хлороформе. Аппроксимация по ур. 4.11 с учетом $R_{\text{DA}}=R_0=19.6 \text{\AA}$.

Для двух серий димеров **ZnP-nB-H2P** и **Zn(Py)P-nB-H2P** график зависимости $\ln(k_{\text{med}})$ от R_{ee} приведен на рис. 4.27а. Как видно, в полулогарифмической шкале экспериментальные данные адекватно описываются линейной функцией и при этом аттеньюирующий фактор β равен 0.2 \AA^{-1} . Однако, поскольку в указанных сериях диад k_{med} заведомо зависит от ΔE_{DB} , поэтому ур. 4.10 может быть модифицировано в ур. 4.11, в котором предэкспоненциальный фактор становится обратно пропорциональным от квадрата ΔE_{DB} [A16]:

$$k = \frac{\alpha}{\Delta E_{\text{DB}}^2} \exp(-\beta R_{\text{DA}}) \quad (4.11)$$

На рис. 4.27б для этих же серий диад приведена линейная зависимость $\ln(k_{\text{med}} \Delta E_{\text{DB}}^2)$ от R_{ee} , которая приводит к $\beta = 0.25 \text{ \AA}^{-1}$ и $\ln \alpha = 43.5$ [A16]. Форма зависимости на рис. 4.27а и 4.27б принципиально не отличается, однако в последнем случае сохранение линейности является дополнительным аргументом в пользу обменно-резонансного механизма переноса энергии в указанных системах.

Для дополнительной проверки этой гипотезы, ур. 4.11 применено для серии диад **ZnПФ-RB-H2ПФ** и **Zn(Py)ПФ-RB-H2ПФ** у которых длина мостикового хромофора является величиной постоянной 19.6 \AA , а ΔE_{DB} варьируется от 3900 см^{-1} для мостиковой молекулы **AB** до 17600 см^{-1} для **OB** (табл. 4.6). Зависимость k_{med} от $\Delta E_{\text{DB}}^{-2}$ приведена на рис. 4.26в. Линейная аппроксимация данных по двум сериям **ZnПФ-RB-H2ПФ** и **Zn(Py)ПФ-RB-H2ПФ** приводит к тангенсу угла наклона $\alpha \cdot \exp(-\beta \cdot R_{\text{DA}})$, в котором при подстановке аттеньюирующего фактора $\beta = 0.25 \text{ \AA}^{-1}$ предэкспоненциальный фактор $\ln \alpha$ равен 42.2, что довольно хорошо согласуется с $\ln \alpha = 43.5$, полученным для другой серии диад **ZnПФ-nB-H2ПФ** (рис. 4.27б). Близкое значение предэкспоненциального фактора, найденного для двух различных

серий диад, согласуется с тем фактом, что в обеих сериях участвуют одинаковые донор **ZnПФ/Zn(Py)ПФ** и акцептор **H₂ПФ**.

Аттенюирующий фактор β является структурно зависимым параметром, который определяется химической природой мостикового хромофора [320]. На рис. 4.28 приведено сравнение параметра β для различных мостиковых группировок. Для группы, состоящей из остатков *para*-фенилена (рис. 4.28в) в литературе опубликованы значения 0.32 \AA^{-1} и 0.33 \AA^{-1} [322, 323]. π -Сопряженные мостиковые молекулы алкинов (рис. 4.27г) имеют $\beta=0.17 \text{ \AA}^{-1}$ [324]. Введение в *para*-фениленэтинильный мостик алкокси-заместителей (рис. 4.27б) приводит к понижению значения β до 0.11 \AA^{-1} [325].

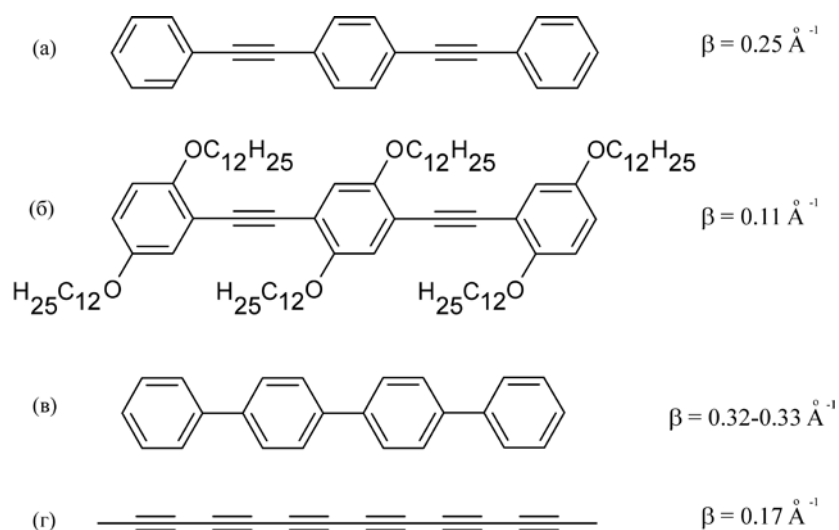


Рис. 4.28 Различные мостиковые хромофоры, для которых имеются данные по величине аттенюирующего фактора β для процесса переноса энергии по механизму “суперобмена”.

Следует отметить тот факт, что учитывая экспоненциальный характер аттенюации k_{med} от R_{DA} (ур. 4.10-4.11), меньшие значения β указывают на лучшую электронную проводимость мостиковой группировки. Также необходимо указать, что эти данные получены для систем с различными донорными и акцепторными хромофорами и, поэтому, позволяют делать только лишь качественное сопоставление β .

В результате проведенного комплексного исследования методами флуоресцентной спектроскопии впервые показано, что в диадах **ZnПФ–RB–H₂ПФ** и **ZnПФ–nB–H₂ПФ** константа скорости ССПЭ электронного возбуждения от цинк(II)-порфирина-донора на порфирин-акцептор может быть представлена в виде двух вкладов - универсального диполь-дипольного (ферстеровского) и обменно-резонансного. Обменно-резонансный вклад играет доминирующую роль и определяются строением и длиной мостиковой группировки, а также величиной энергетической разности донор-мостик ΔE_{DV} . Впервые установлено, что для ССПЭ в серии диад **ZnПФ–nB–H₂ПФ** аттенюирующий фактор β для мостикового хромофора пара-фенилен-этинила **nB** равен 0.25 \AA^{-1} .

4.5.2.3 Квантово-химический анализ электронного сопряжения в симметричных диадах ZnПФ–nB–ZnПФ и H₂ПФ–nB–H₂ПФ. В литературе предложен ряд квантово-химических подходов к анализу электронного сопряжения V_{DA} между донором и акцептором через мостиковую группировку [120, 321, 326-328].

Для симметричных систем донор-мостик-донор или акцептор-мостик-акцептор, электронное сопряжение V_{DV} и V_{VA} через мостиковую группировку, пропорционально величине экситонного расщепления ΔE (рис. 4.28 и ур. 4.12) [A16] [329, 330]:

$$V_{ij} = \Delta E / 2 \quad (4.12)$$

Указанный подход для оценки электронных взаимодействий в симметричных диадах основан на взаимодействии векторов дипольных моментов переходов терминальных хромофоров, что приводит к снятию вырождения энергии нижнего возбужденного состояния и наблюдается экспериментально, как расщепление полосы поглощения симметричных красителей (рис. 4.29), эффект известен также как Давыдовское расщепление [331].

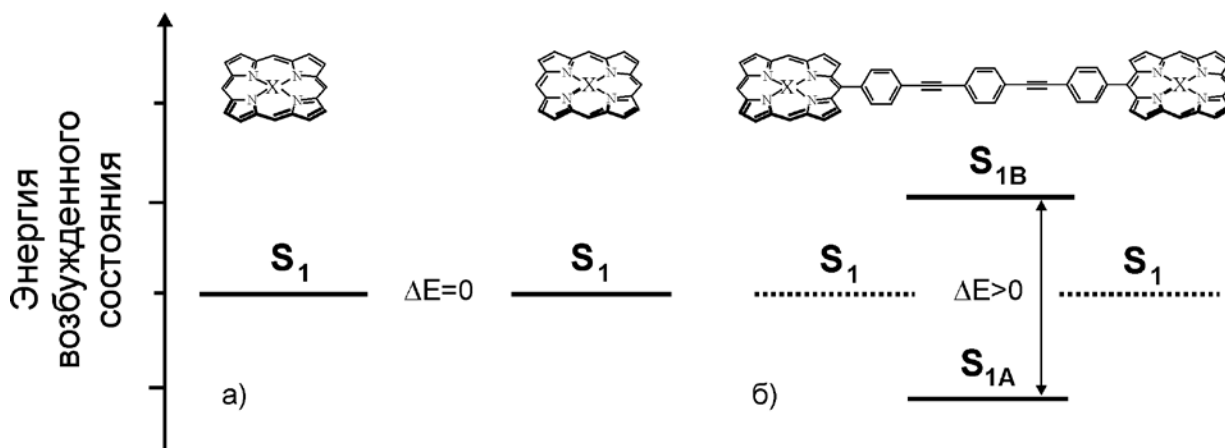


Рис. 4.29 Схема электронного взаимодействия в симметричных диадах: (а) электронное сопряжение между терминальными фрагментами диады отсутствует $\Delta E=0$, (б) мостиковая группировка выступает медиатором электронного сопряжения между фрагментами диады, величина которого пропорциональна $\Delta E/2$.

В недавних работах этот подход был также применен для изучения феномена миграции энергии электронного возбуждения между терминальными хромофорами в симметричных диадах (*от англ. donor-donor energy migration*) [332-335].

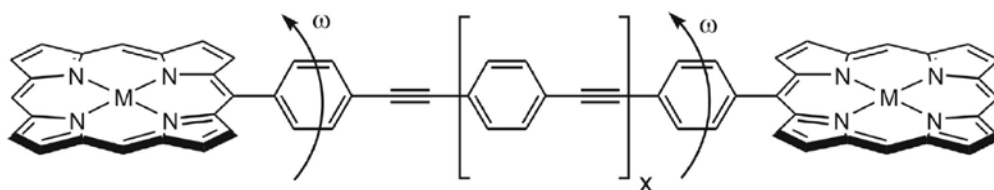


Рис. 4.30 Структура симметричных диад **ZnPc-nB-ZnPc** ($M = Zn$) **H₂Pc-nB-H₂Pc** ($M = H, H$), где $x = 0, 1, 2, 3, 4$ для $n = 2, 3, 4, 5$, и 6. Угол между терминальным бензольным кольцом мостика и макроциклом порфирина обозначен как ω .

Для модельных симметричных диад **ZnPc-nB-ZnPc** и **H₂Pc-nB-H₂Pc**, у которых для упрощения были опущены алкильные и арильные заместители (рис. 4.30), экситонное расщепление ΔE было рассчитано мето-

дом TD-DFT для нижнего синглетного возбужденного состояния. Энергия нижних синглетных состояний определялась как вертикальный переход $S_0 \rightarrow S_1$, рассчитанный методом TD-B3LYP для двух различных базисных наборов 3-21G и 6-31G* [A16]. Квантово-химический анализ также позволяет предсказать свойства диады, содержащей мостик **6B**, который еще не изучен экспериментально (рис. 4.30).

Таблица 4.7

Зависимость электронного сопряжения в диадах ZnПФ–nB–ZnПФ от торсионного угла ω , расчёты методом TD–DFT.

ω	ZnПФ-2B-ZnПФ		ZnПФ-3B-ZnПФ		ZnПФ-4B-ZnПФ		ZnПФ-5B-ZnПФ		ZnПФ-6B-ZnПФ	
	Электронное сопряжение V_{DB} (см ⁻¹)									
	3-21G	6-31G*	3-21G	6-31G*	3-21G	6-31G*	3-21G	6-31G*	3-21G	6-31G*
90°	0.4	3.8	1.5	2.7	0.0	1.5	0.0	1.3	0.0	0.8
85°	8.5	4.3	5.1	3.2	3.7	1.9	2.9	1.5	2.0	1.1
80°	11.7	6.6	7.7	4.7	5.2	3.2	4.1	2.5	2.9	1.9
75°	18.7	11.8	12.4	10.9	9.0	6.0	6.8	4.3	4.8	3.6
70°	31.1	21.5	21.1	19.8	15.3	11.2	11.3	8.5	8.4	6.5
65°	51.9	38.0	34.4	34.9	24.9	19.6	18.5	15.3	13.0	11.5
60°	82.3	63.1	54.0	57.2	38.4	32.0	28.1	24.6	19.9	18.1

В диадах, которые использовались в эксперименте (рис. 4.20), наличие объемных алкильных заместителей в β -положении порфиринового макроцикла приводит к практически ортогональному расположению плоскостей порфириновых и мостикового хромофоров (на рис. 4.22 и 4.30 торсионный угол $\omega=90^\circ$). В работах [316, 317] показано, что в растворе при комнатной температуре термически-активируемые торсионные вращательные движения порфиринов и мостика может приводить к отклонению угла ω от ортогонального положения в пределах до $\pm 30^\circ$, что должно приводить к появлению популяции конформеров с достаточно высокой степенью π -

сопряжения. Поэтому, на первом этапе нами было изучено влияние длины мостика **nB** и торсионного угла ω на величину V_{DB} и V_{BA} (табл. 4.7 и 4.8).

Таблица 4.8

Зависимость электронного сопряжения в диадах $H_2PФ-nB-H_2PФ$ от торсионного угла ω , расчёты методом TD-DFT.

ω	H ₂ ПФ-2В-H ₂ ПФ		H ₂ ПФ-3В-H ₂ ПФ		H ₂ ПФ-4В-H ₂ ПФ		H ₂ ПФ-5В-H ₂ ПФ		H ₂ ПФ-6В-H ₂ ПФ	
	Электронное сопряжение V _{BA} (см ⁻¹)									
	3-21G	6-31G*	3-21G	6-31G*	3-21G	6-31G*	3-21G	6-31G*	3-21G	6-31G*
90°	8.5	4.3	4.8	2.6	3.3	1.8	2.3	1.3	1.4	0.7
85°	8.9	4.6	5.3	2.8	3.5	2.0	2.4	1.4	1.6	1.0
80°	10.8	5.9	6.7	3.8	4.4	2.7	3.1	1.8	1.9	1.5
75°	14.4	8.5	9.2	5.6	6.1	4.1	4.1	2.8	2.6	1.8
70°	20.6	13.0	13.2	9.0	9.0	6.3	6.3	4.4	3.8	2.8
65°	30.5	20.2	19.5	13.9	13.2	9.9	8.9	7.0	5.4	4.4
60°	45.2	31.1	28.4	21.0	19.2	15.2	12.8	10.5	7.5	6.6

Для **ZnPФ-nB-ZnPФ** и **H₂PФ-nB-H₂PФ**, при $\omega = 90^\circ$, V_{DB} и V_{BA} незначительно зависят от выбранного базисного набора и не превышают 8-9 см⁻¹. При последовательном уменьшении ω от 90° до 60° наблюдается существенное увеличение величины электронного сопряжения (табл. 4.7 и 4.8). Например, для **ZnPФ-2B-ZnPФ** увеличение составляет 205 раз, от 0.4 см⁻¹ до 82.3 см⁻¹ (колонка TD-B3LYP/3-21G в табл. 4.7). В случае **ZnPФ-6B-ZnPФ**, с увеличением длины мостиковой группировки до шести фенильных фрагментов, уменьшение ω от 90° до 60° приводит к увеличению V_{DB} всего в 20 раз (колонка TD-B3LYP/3-21G в табл. 4.7). Для серии диад **H₂PФ-nB-H₂PФ**, аналогичная зависимость V_{BA} от ω находится в пределах фактора 5-6, что можно объяснить увеличением энергетического зазора ΔE_{BA} .

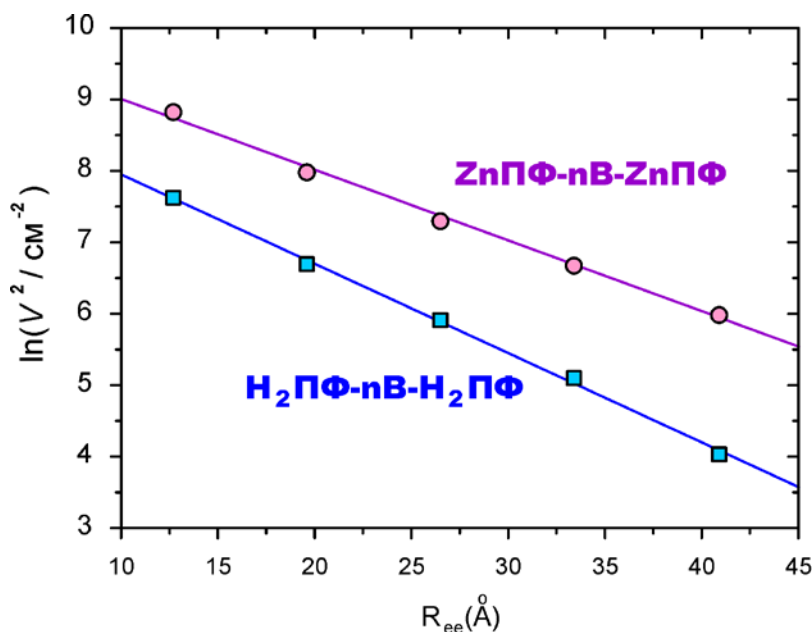


Рис. 4.31 Зависимость логарифма квадрата электронного сопряжения V от длины мостикового хромофора в сериях диад **ZnPPh-nB-ZnPPh** и **H₂PPh-nB-H₂PPh**, оцененных при фиксированном торсионном угле $\omega = 60^\circ$.

Для конформации диады с торсионным углом $\omega=60^\circ$, в которой наблюдается максимальное среди рассмотренных конформаций π -сопряжение между порфирином и мостиком, для двух серий **ZnPPh-nB-ZnPPh** и **H₂PPh-nB-H₂PPh**, наблюдается существенное уменьшение V_{DB} и V_{BA} при увеличении длины мостиковой молекулы с **2B** до **6B** (табл. 4.7 и 4.8). В первой серии V_{DB} уменьшается от 82.3 cm^{-1} до 19.9 cm^{-1} , тогда как во второй серии происходит уменьшение V_{BA} от 45.2 cm^{-1} до 7.5 cm^{-1} (колонка TD-V3LYP/6-31G* в табл. 4.7 и 4.8). Для двух серий диад, зависимость $\ln(V)$ от длины мостика R_{ee} - линейна ($\ln(V_{\text{DB}}^2)=9.201-0.125 \cdot R_{\text{ee}}$ и $\ln(V_{\text{BA}}^2)=9.997-0.099 \cdot R_{\text{ee}}$), соответственно (рис. 4.31). Это подтверждает экспериментальные данные о том, что уменьшение константы скорости переноса энергии в указанных диадах в зависимости от расстояния между донором и акцептором происходит по экспоненциальной зависимости (рис. 4.27 и ур. 4.11).

Одной из задач проведенного квантово-химического анализа электронного сопряжения в порфириновых диадах было выявление общих физико-

химических закономерностей, которые позволили бы прогнозировать дальнедействующие электронные эффекты в новых, еще не синтезированных системах. Экстраполяция линейных зависимостей, представленных на рис. 4.31, позволяет прогнозировать, что *в изученных сериях диад порфиринов ненулевое электронное сопряжение V_{DV} и, следовательно, эффективный перенос энергии электронного возбуждения по обменно-резонансному механизму может наблюдаться вплоть до длины мостикового хромофора $\sim 73 \text{ \AA}$, что соответствует $nB=10-11$.*

Известно [318, 336], что электронное π -сопряжение через мостиковую молекулу *пара*-фениленэтинила зависит от ее конформации и является максимальным в плоской конфигурации, уменьшаясь при разуплощении фениленовых фрагментов. Как уже упоминалось, барьер вращения фениленовых фрагментов относительно этинильного фрагмента составляет порядка 4 кДж/моль [317]. Следовательно, в растворе при комнатной температуре мостиковая молекула *пара*-фениленэтинила может находиться в виде набора конформаций с различными углами ϕ , которые характеризуют разворот фениленовых фрагментов друг относительно друга [318]. В связи с этим, нами был выполнен квантово-химический анализ влияния конформационной гетерогенности и разуплощения мостиковой молекулы на электронное сопряжение V_{DA} в диаде порфирина. Для этих целей была выбрана серия **ZnПФ– nB –ZnПФ**, в которой двугранный угол ω фиксирован при 60° , а π -сопряжение в мостиковой молекуле **nB** варьируется от максимального (плоская конформация, $\phi=0^\circ$) до нулевого (ортогональная конформация, $\phi=90^\circ$).

На рис. 4.32 показаны две граничные конформации диады **ZnПФ–5B–ZnПФ** с максимальной и минимальной степенью π -сопряжения. Квантово-химический расчет, выполненный методом TD-B3LYP/3-21G для **ZnПФ–5B–ZnПФ**, показывает, что при переходе от плоской к ортогональной конформации фениленэтинильного мостика ($\phi=90^\circ$) наблюдается уменьшение

V_{DB} с 28.1 см^{-1} ($\varphi=0^\circ$) до 2.4 см^{-1} . В табл. 4.9 приведены V_{DB} для остальных диад серии **ZnПФ–nB–ZnПФ**.

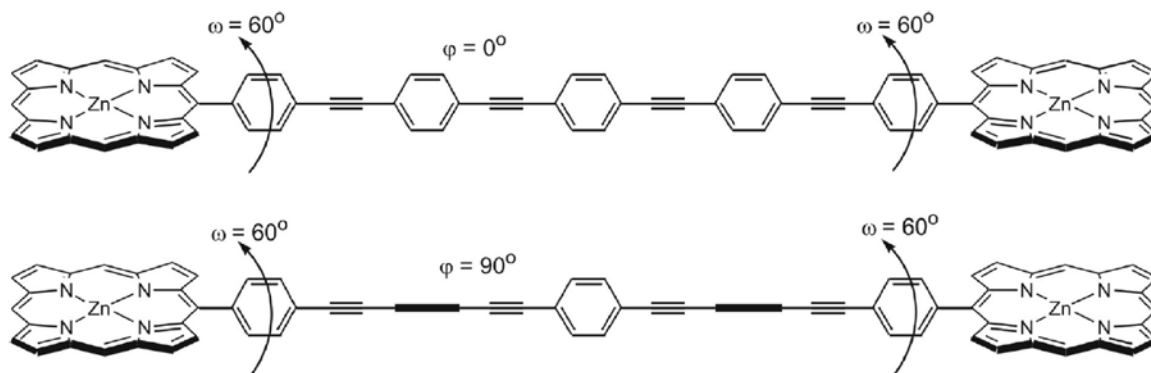


Рис. 4.32 Две граничные конформации диады **ZnPФ–5B–ZnPФ** с максимальным и минимальным π -сопряжением в мостиковой группировке.

Таблица 4.9

Зависимость электронного сопряжения в диадах ZnПФ–nB–ZnPФ от торсионного угла φ в мостиковой группировке при $\omega=60^\circ$, расчет методом TD-B3LYP/3-21G.

$\varphi,^\circ$	Электронное сопряжение V_{DB} (см^{-1})				
	2B	3B	4B	5B	6B
0°	82.3	54.0	38.4	28.1	19.9
30°	65.5	36.3	23.9	13.4	9.6
60°	37.3	15.8	8.9	3.8	2.2
90°	30.2	9.9	5.0	2.4	1.1

4.5.3 Триплет-триплетный перенос энергии электронного возбуждения в системах донор-мостик-акцептор.

Теория переноса энергии электронного возбуждения с нижнего триплетного состояния донора на триплетный уровень акцептора является менее изученной, чем аналогичные теории ССПЭ [319]. В литературе этот феномен известен как триплет-триплетный перенос энергии (ТТПЭ) (*от англ. Triplet-Triplet Energy Transfer, TTET*). В последнее время к нему проявляется повышенный интерес в связи с тем, что механизм ТТПЭ имеет много общего с механизмом переноса электрона (рис. 4.33). ТТПЭ можно рассматривать как двойной перенос – прямой перенос электрона и обратный перенос вакансии (*от англ. electron-hole transfer*) [337-339].

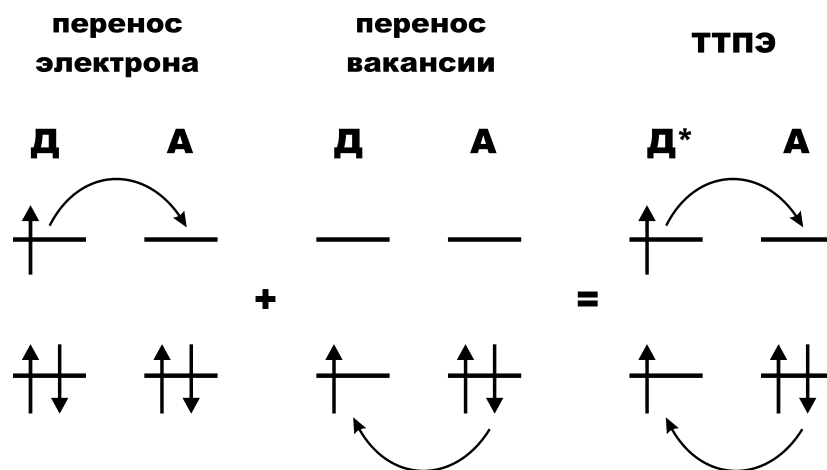


Рис. 4.33 Сравнение переноса электрона, вакансии и ТТПЭ.

Традиционно ТТПЭ наблюдается на коротких расстояниях до 10 Å и происходит по механизму, предложенному в 1953 году Д. Л. Декстером [118]. Особенно актуальным является изучение ТТПЭ в системах донор-мостик-акцептор, в которых эффективное расстояние переноса энергии может достигать 100 Å. Поэтому, *физико-химические принципы дальнего действия эффектов, обуславливающих перенос энергии, электрона или заряда, определяют возможности практического применения для разработки компонентов молекулярной наноэлектроники* [125, 340], таких

как органические транзисторы [341], проволоки (*от англ.* molecular wire) [288], переключатели [125], концентраторы [342], антенны и пр.

4.5.3.1 Объекты исследования триплет-триплетного переноса энергии. Для изучения ТТПЭ нами были выбраны некоторые из диад **ZnПФ–RB–H₂ПФ**, изученные в предыдущем разделе (рис. 4.20). На примере трех диад **ZnПФ–ОВ–H₂ПФ**, **ZnПФ–ВВ–H₂ПФ** и **ZnПФ–NB–H₂ПФ**, а также соответствующих им модельных молекул **ZnПФ–RB** и **H₂ПФ–RB** (рис. 4.34), было исследовано влияние температуры и вязкости растворителя на эффективность и константу скорости ТТПЭ [A24].

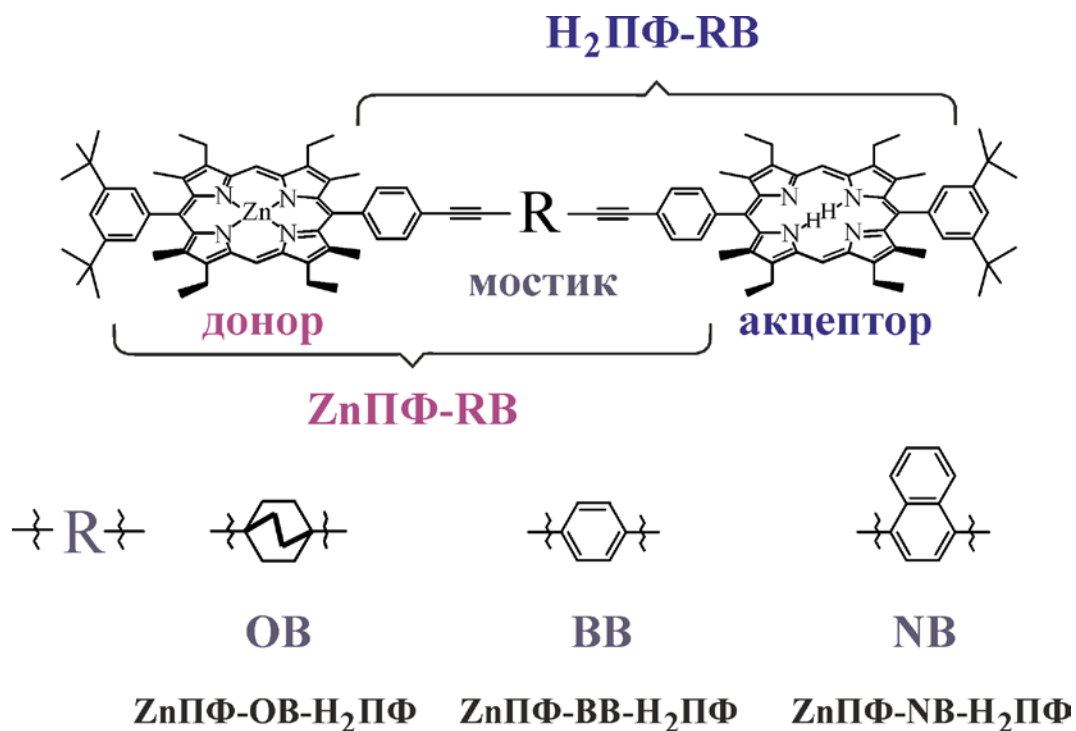


Рис. 4.34 Диады порфирина **ZnПФ–ОВ–H₂ПФ**, **ZnПФ–ВВ–H₂ПФ** и **ZnПФ–NB–H₂ПФ**, а также соответствующие модельные молекулы порфирина-донора и порфирина-акцептора.

Выбор указанной серии **ZnПФ–RB–H₂ПФ** обусловлен тем, что во всех рассмотренных диадах нижнее триплетное состояние T_1 мостикового хромофора располагается по энергии значительно выше чем состояние T_1 как

донора, так и акцептора (рис. 4.35), что позволяет, с одной стороны, *исключить миграцию энергии электронного возбуждения через мостиковую молекулу по типу $^3\text{донор} \rightarrow ^3\text{мостик} \rightarrow ^3\text{акцептор}$* , а с другой стороны, *дает возможность систематически варьировать физико-химические закономерности прохождения дальнедействующего ТТПЭ за счет варьирования мостиковой группировки*. По этой причине, из указанной серии исключена диада **ZnПФ–AB–H₂ПФ**, в которой энергия состояния T_1 мостикового хромофора **AB** находится около 14700 см^{-1} , что всего на 700 см^{-1} выше энергии состояния T_1 донора (рис. 4.35). Это обстоятельство не позволяет полностью исключить возможность термически-активированной миграции энергии возбуждения непосредственно через мостиковую группировку [343]. По этим же соображениям исключена вся серия **ZnP–nB–H₂P** (рис. 4.20), поскольку в этих диадах, начиная с мостика **4B**, состояние T_1 мостикового хромофора приближается к энергии состояния T_1 донора.

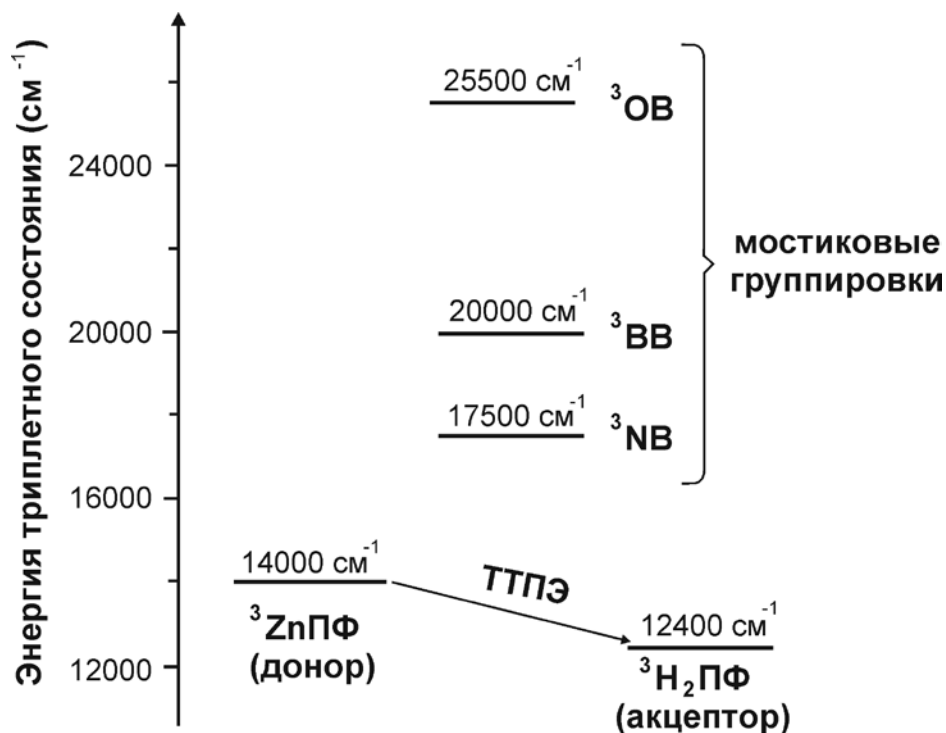


Рис. 4.35 Схема энергетических уровней нижнего триплетного состояния T_1 в диадах **ZnПФ–RB–H₂ПФ**.

Первые попытки количественного изучения ТТПЭ в указанных диадах были осложнены обнаружением факта *аномальной и нетипичной фотоники триплетного состояния порфиринов*, входящих в состав диады. Было обнаружено *эффективное тушение и сокращение времени жизни состояния T_1 как донора **ZnPФ**, так и акцептора **H₂ПФ**, наблюдаемое в растворах, в широком диапазоне температур, которое не связано с механизмом ТТПЭ. Его характерной особенностью являлась сложная неэкспоненциальная кинетика дезактивации состояния T_1 , наблюдаемая для изолированных молекул донора и акцептора, и, следовательно, дополнительно накладывающаяся на кинетику дезактивации состояния T_1 всей диады [343].* Вследствие этого, предварительное количественное изучение ТТПЭ в указанных диадах было возможно только в замороженных растворах [344]. Этот феномен и влияние конформационной динамики на фотонику **ZnPФ** и **H₂ПФ**, наблюдаемую в состоянии T_1 , детально рассмотрено в последующих подразделах 4.5.3.3 и 4.5.3.4.

4.5.3.2 Спектры и кинетика триплет-триплетного поглощения 5,15-диарил-октаалкил порфиринов. На рис. 4.36 приведены кинетика и спектры поглощения $T_1 \rightarrow T_n$ ($\lambda_{\text{возб}}=532$ нм) для модельных соединений **ZnPФ–NB** и **H₂ПФ–NB**, измеренные в растворе МТГФ. Выбор длины волны возбуждения обусловлен тем, что при 532 нм соотношение $\varepsilon_{532}(\text{ZnPФ})/\varepsilon_{532}(\text{H}_2\text{ПФ})$ равно 3, поэтому, в диадах **ZnPФ–RB–H₂ПФ** порфирин-донор поглощает около 75 % возбуждающих фотонов.

При 298 К, кинетика затухания триплетного состояния **ZnPФ** существенно зависит от длины волны наблюдения ($\lambda_{\text{набл}}$ на рис. 4.36а). Кинетические кривые содержат несколько компонент и математически могли быть описаны только в виде двух- и трехэкспоненциальных зависимостей по ур. 4.12. В коротковолновой области спектра при 450 нм наблюдается короткоживущая компонента τ_1 , которая проявляется как соответствующее время нарастания

(отрицательный предэкспоненциальный множитель) на кинетических кривых в длинноволновой части спектра при 462-470 нм.

$$\Delta A(t) = \alpha_1 \cdot \exp(-t/\tau_1) + \alpha_2 \cdot \exp(-t/\tau_2) + \alpha_3 \cdot \exp(-t/\tau_3) \quad (4.12)$$

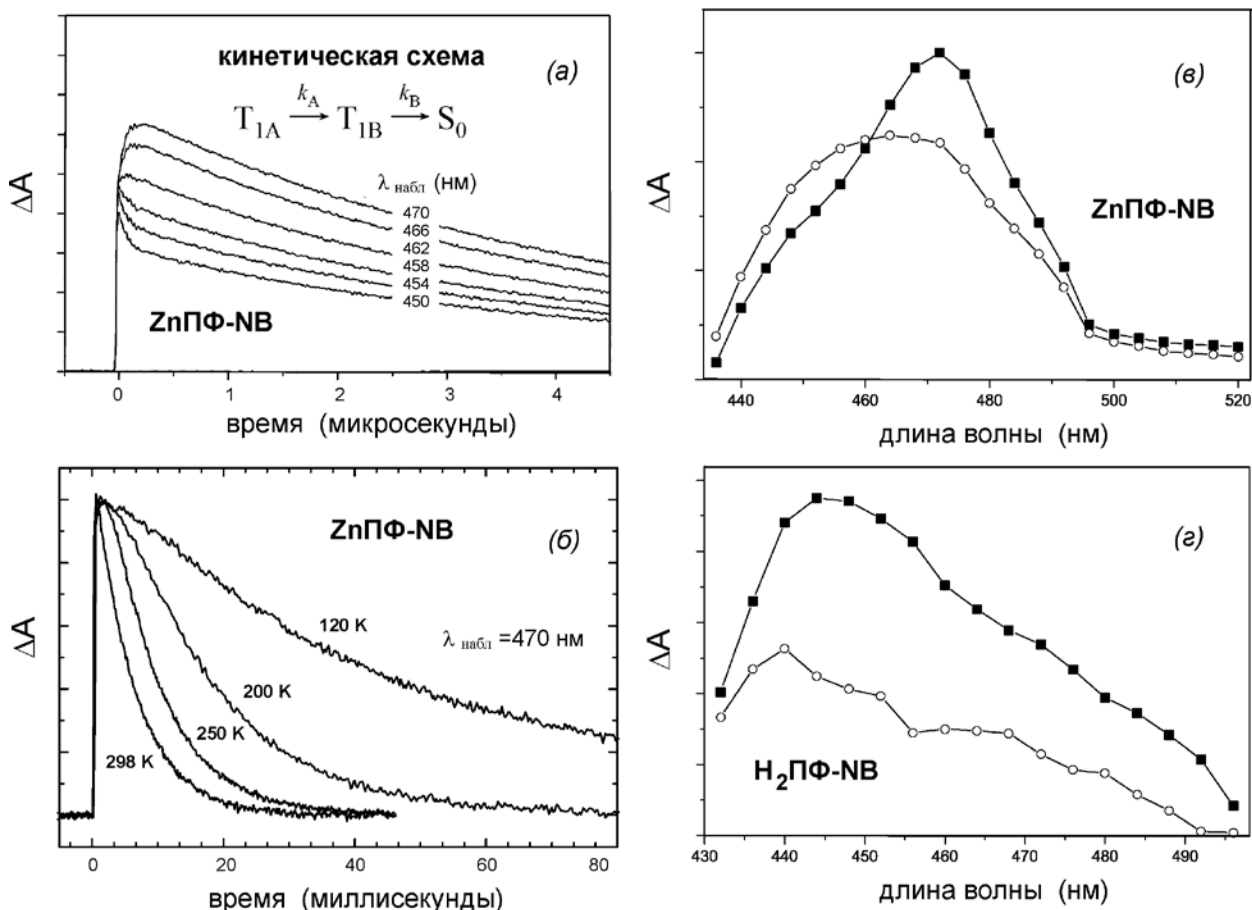


Рис. 4.36 Кинетика затухания поглощения $T_1 \rightarrow T_n$ для **ZnPF-NB**, измеренная в растворе 2-метилтетрагидрофурана (МТГФ) (а) при $T=298$ К и различных длинах волн наблюдения и (б) при фиксированной $\lambda_{\text{набл}}=470$ нм и разных температурах. (в) Спектры поглощения $T_1 \rightarrow T_n$ **ZnPF-NB** и (г) **H₂PF-NB** в растворе МТГФ при $T=298$ К [A24]. Спектры двух форм T_{1A} (○—○—○) и T_{1B} (■—■—■), наблюдаемые в начальный момент после возбуждения и на поздних этапах затухания сигнала.

Глобальный анализ набора кривых затухания выявил наилучшее соответствие между теоретической моделью и экспериментальными дан-

ными для последовательности типа $T_{1A} \rightarrow T_{1B} \rightarrow S_0$ (рис. 4.36а). Времена жизни состояний T_{1A} и T_{1B} представлены в табл. 4.10 и 4.11, как τ_{1A} и τ_{1B} , соответственно. Следует обратить внимание, что в растворе при комнатных температурах для 5,15-диарил-октаалкил порфиринов время жизни состояния T_1 составляет порядка 5-6 мкс, что значительно меньше, чем соответствующее время жизни триплетного состояния ~ 1200 мкс для структурно подобных октаметил- и октаэтил- замещенных цинк(II)-порфиринов [344, 345]. При понижении температуры и при переходе от жидкого раствора к замороженной матрице для **ZnPФ** время жизни T_1 -состояния увеличивается (рис. 4.36б и табл. 4.10-4.11) до ожидаемых для этого класса значений, характерных для триплетных состояний.

Таблица 4.10

Температурная зависимость времени жизни состояния T_1 для **ZnPФ в 2-метилтетрагидрофуране.**

Т, К	ZnPФ–ВВ		ZnPФ–NB	
	τ_A , мкс	τ_B , мкс	τ_A , мкс	τ_B , мкс
295	0.086	5.1	0.073	5.4
250	0.60	6.5	0.47	6.7
200	16	8.5	16	8.4
150	2600	^a	2400	^a
120	32000	^a	34000	^a

^a – при температуре ниже 150 К кинетику затухания формы T_{1B} не удалось зарегистрировать.

Для **ZnPФ** время-разрешенные спектры поглощения $T_1 \rightarrow T_n$ описываются моделью с двумя состояниями. В начальный момент времени, сразу после популяции состояния T_1 **ZnP**, максимум спектра поглощения формы T_{1A} находится при 463 нм (рис. 4.36в). После 10 мкс, спектр поглощения смещается в длинноволновую область, при этом максимум полосы поглощения формы T_{1B} мигрирует к 472 нм. Аналогичная картина наблюдается для спектров $T_1 \rightarrow T_n$ поглощения порфирина-акцептора **H₂ПФ**, а именно начальная форма

T_{1A} ($\lambda_{\text{макс}}=440$ нм) претерпевает переход в форму T_{1B} ($\lambda_{\text{макс}}=445$ нм) (рис. 4.36z).

Таблица 4.11

Температурная зависимость времени жизни состояния T_1 для ZnПФ в растворе ПС в толуоле (1:1).

T, K	ZnP-BB		ZnP-NB	
	τ_A , МКС	τ_B , МКС	τ_A , МКС	τ_B , МКС
295	0.029	9.0	0.31	9.2
250	4.2	12	0.41	13
225	6.5	36	6.4	34
200	380	a	400	a
150	43000	a	42000	a
120	54000	a	56000	a
100	73000	a	75000	a
80	90000	a	90000	a

^a – при температуре ниже 150 К кинетику затухания формы T_{1B} не удалось зарегистрировать.

Анализ температурной зависимости времени жизни триплетного состояния показывает, что при понижении температуры с 298 К до 200 К в молекулах **ZnPФ** и **H₂ПФ** переход $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$ не реализуется, и дезактивация нижнего триплетного состояния происходит из T_{1A} (табл. 4.10 и 4.11). Аналогичная картина наблюдается в полимерной матрице из ПС, в которой дезактивация происходит из T_{1A} во всем диапазоне температур (табл. 4.12).

К настоящему времени предложено несколько подходов, объясняющих аномальную фотонику порфиринов **ZnPФ** и **H₂ПФ** в T_1 -состоянии [344, 346-348]. Согласно предложенной нами модели, причиной аномального поведения является конформационная динамика, связанная с разуплощением порфиринового макроцикла, которая не характерна для основного состояния и проявляется только при электронном возбуждении в нижнее триплетное состояние T_1 . Конформационная релаксация макроцикла предполагает нали-

чие двух состояний [344]: T_{1A} , в котором тетрапиррольный макроцикл является плоским и T_{1B} , в котором макроцикл искажается в неплоскую конформацию, и, таким образом, релаксация происходит по схеме $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$ [A23].

Таблица 4.12

Температурная зависимость времени жизни состояния T_1 для ZnПФ в полимерной матрице полистирола.

Т, К	ZnПФ–ВВ	ZnПФ–NB
	τ_A , мс	τ_A , мс
295	66	62
250	76	75
200	81	81
150	82	81
120	85	83
80	90	90

Поскольку в процессе конформационного перехода $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$ возможны высокоамплитудные торсионные движения объемных заместителей, таких как *мезо*-фенильные кольца и алкильные заместители, этот процесс является чувствительным к изменению температуры и вязкости растворителя. Для определения активационных параметров $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$, температурная зависимость времени жизни τ_{1A} и τ_{1B} (табл. 4.10-4.12) была проанализирована по уравнению Аррениуса (4.13).

$$k = A \cdot \exp(-E_a/RT) \quad (4.13)$$

в котором A – предэкспоненциальный фактор и E_a – энергия активации конформационного перехода.

Как видно из табл. 4.10-4.11, в температурном диапазоне 295-250 К в смеси растворителей толуол:метилциклогексан и толуол:ПС преобладающим каналом дезактивации состояния T_{1A} является конформационный переход

$T_{1A} \rightarrow T_{1B}$, а ниже этой температуры дезактивация происходит через интеркомбинационную конверсию $T_{1A} \rightsquigarrow S_0$.

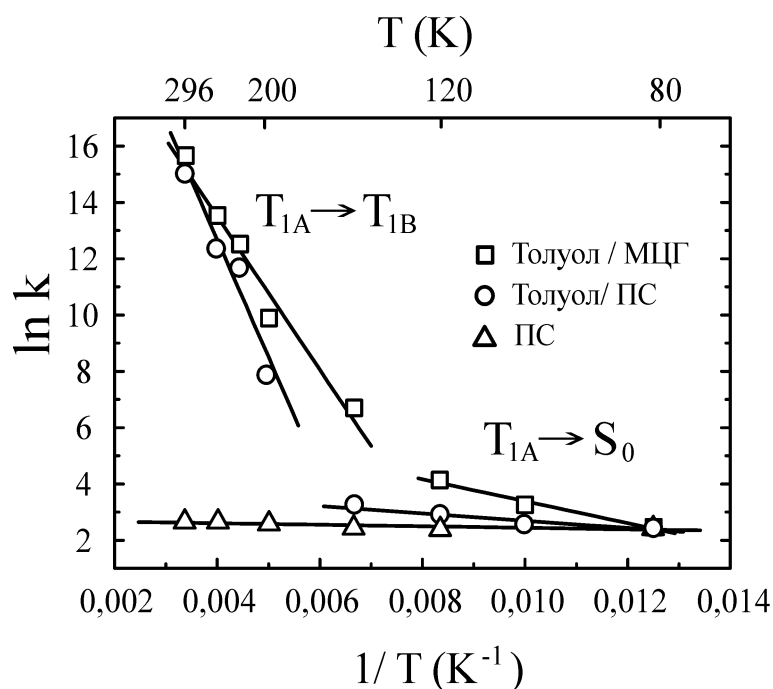


Рис. 4.37 Температурная зависимость дезактивации триплетного состояния **ZnPc-BB** в растворителях различной вязкости.

На рис. 4.37 показана температурная зависимость τ_A и τ_B для **ZnPc-BB** в растворителях различной вязкости и в полимерной пленке полистирола в Аррениусовской шкале $\ln(1/\tau)$ от $1/T$. Видно, что зависимость имеет два четко выраженных линейных участка, соответствующих процессам $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$ и $T_{1A} \rightsquigarrow S_0$, соответственно. В температурном диапазоне 295-250 К для конформационного перехода $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$, энергия активации составила 22.6 и 34.7 кДж/моль в смесях толуол:метилциклогексан и толуол:ПС (табл. 4.13). Таким образом, с повышением вязкости растворителя величина E_a повышается, что характерно для релаксационных процессов с участием конформационных эффектов. В табл. 4.13 обобщены параметры A и E_a для серии порфиринов **ZnPc-RB** и **H₂Pc-RB**. Обращает на себя внимание результат в полимерной матрице ПС, в которой вследствие высокой вязкости конформационный переход $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$ не реализуется и, поэтому, основным каналом дезактива-

ции состояния T_{1A} является процесс интеркомбинационной конверсии $T_{1A} \rightsquigarrow S_0$. Как видно, во всем диапазоне температур 295-80 К зависимость $\ln(1/\tau)$ от $1/T$ для процесса $T_{1A} \rightsquigarrow S_0$ является линейной и характеризуется незначительной температурной зависимостью.

Таблица 4.13

Предэкспоненциальный фактор (A , s^{-1}) и энергия активации (E_a , кДж/моль) конформационного перехода $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$ в порфиринах **ZnПФ-RB и **H₂ПФ-RB** в средах различной вязкости.**

Растворитель	ZnПФ-BB		H₂ПФ-BB		ZnПФ-NB		H₂ПФ-NB	
	A	E_a	A	E_a	A	E_a	A	E_a
2-МТГФ	1.1×10^{12}	28.0	1.4×10^{12}	29.7	1.0×10^{12}	27.6	5.0×10^{12}	32.6
Толуол:МЦГ (1:6)	3.9×10^{10}	22.6	3.3×10^{11}	26.3	4.9×10^{10}	23.0	2.1×10^{11}	25.5
Толуол:ПС (1:1)	5.5×10^{12}	34.7	11.0×10^{12}	36.4	5.3×10^{12}	33.9	13.0×10^{12}	36.8

4.5.3.3 Строение стерически затрудненных 5,15-диарилоктаалкил порфиринов в состоянии S_0 и T_1 . В этом разделе будет показано, что вышеупомянутый переход $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$ вызван наличием объемных мезо-арильных групп, которые индуцируют конформационную релаксацию порфиринового макроцикла, проявляющейся в конформационном переходе из плоской конформации T_{1A} в разуплощенную седловую конформацию T_{1B} .

По данным рентгеноструктурного анализа (РСА), в основном электронном состоянии S_0 порфириновый макроцикл в молекуле **H₂DAOАПФ** (рис. 4.38в) имеет плоское строение (рис. 4.39). Угол разворота ароматического кольца мезо-арильных фрагментов относительно плоскости макроцикла составляет 83.4° [A23]. Плоское строение порфиринового макроцикла характерно для многих октаалкил- и тетрафенил-замещенных производных порфирина и металлопорфиринов [284]. Сравнение с литературными данными показывает существенное отличие геометрических параметров макроцикла

H₂DAOПФ от вышеупомянутых производных порфирина. В молекуле **H₂ОМПФ** (4.38a) геометрия макроцикла порфирина, определяемая по внутреннему расстоянию между атомами азота N...N, близка к квадрату, в котором четыре атома азота находятся в его вершинах. В **H₂DAOПФ** введение двух объемных *мезо*-арильных заместителей вызывает искажение квадратной геометрии макроцикла в прямоугольную, что следует из значений N...N равных 3.183 и 2.695 Å, соответственно [A23].

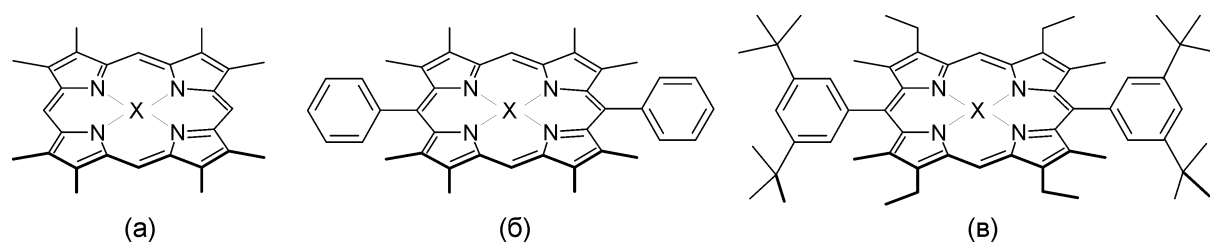


Рис. 4.38 (a) 2,3,7,8,12,18,13,17-октаметилпорфирин (X=H,H - **H₂ОМПФ**, X=Zn - **ZnОМПФ**), (б) 5,15-бис(фенил)-2,3,7,8,12,18,13,17-октаметилпорфирин (X=H,H - **H₂DPОМПФ**, X=Zn - **ZnDPОМПФ**) и (в) 5,15-бис(3,5-ди-*терт*-бутилфенил)-2,8,12,18-тетраэтил-3,7,13,17-тетраметилпорфирин (X=H,H - **H₂DAOПФ**, X=Zn - **ZnDAOПФ**).

Для выяснения природы структурных изменений, сопровождающих конформационный переход $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$, были проведены квантово-химические расчеты геометрии модельных соединений в основном S_0 и нижнем электронно-возбужденном триплетном состоянии T_1 . Известно, что в порфиринах, электронный переход в нижнее триплетное состояние $S_0 \rightarrow T_1$ может быть представлен как одноэлектронное возбуждение типа ВЗМО \rightarrow НВМО [284]. В работах [349-351] показано, что вследствие одноэлектронной природы перехода в триплет равновесная геометрия порфиринов в состоянии T_1 может быть описана в рамках метода неограниченного DFT (*от англ. unrestricted DFT*) [352]. Авторами [347, 353] установлено хорошее соответствие между экспериментальной (резонансная Рамановская и ЭПР спектроскопия) и теоретически предсказанной геометрией ряда порфиринов в

состоянии T_1 . Показано, что оптимизированная в рамках неограниченного DFT незамещенная молекула **H₂ПФ** в состоянии T_1 является плоской, при этом, молекулярная группа симметрии и рассчитанный колебательный спектр хорошо согласуется с экспериментальными данными, полученными методами Рамановской спектроскопии [349, 354].

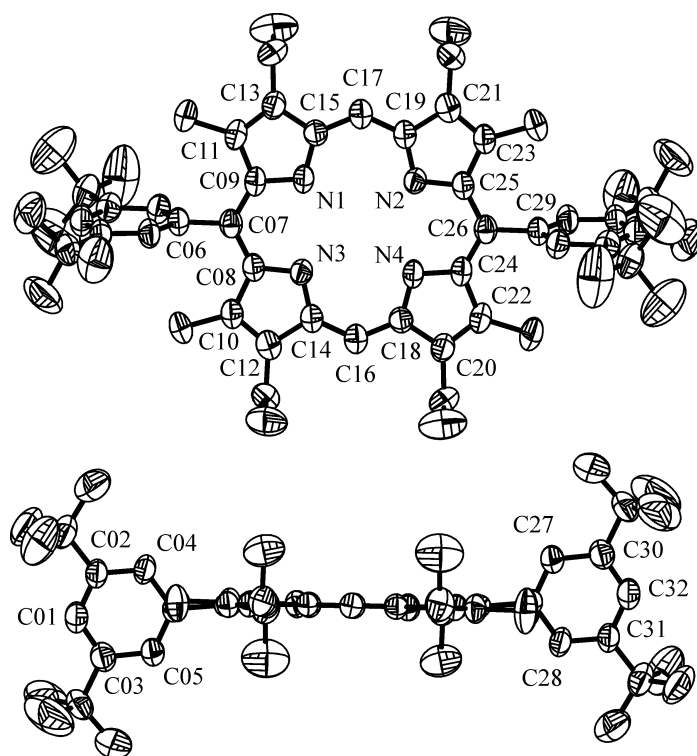


Рис. 4.39 Строение **H₂DAOAPF** по данным РСА. Атомы водорода не показаны.

По данным РСА, в порфирине **H₂DAOAPF** соседство *мезо*-арильных заместителей и метильных групп в β -положении соседних пиррольных и/или пирролениновых колец (рис. 4.38б-в) вызывает стерическое напряжение (рис. 4.39). Вследствие взаимного отталкивания заместителей искажение макроцикла порфирина в основном состоянии S_0 сопровождается внутривоскостной деформацией макроцикла. Для изучения возможной конформационной гетерогенности в 5,15-диарил-октаалкил порфиринах в состоянии S_0 и T_1 проведены квантово-химические расчеты. Для упрощения модели расчетов в изученном экспериментально **H₂DAOAPF** *терт*-бутильные группы, находя-

щиеся на периферийной части молекулы, не учитывались и расчет выполнен для 5,15-дифенил-октаметил порфирина (рис. 4.38б).

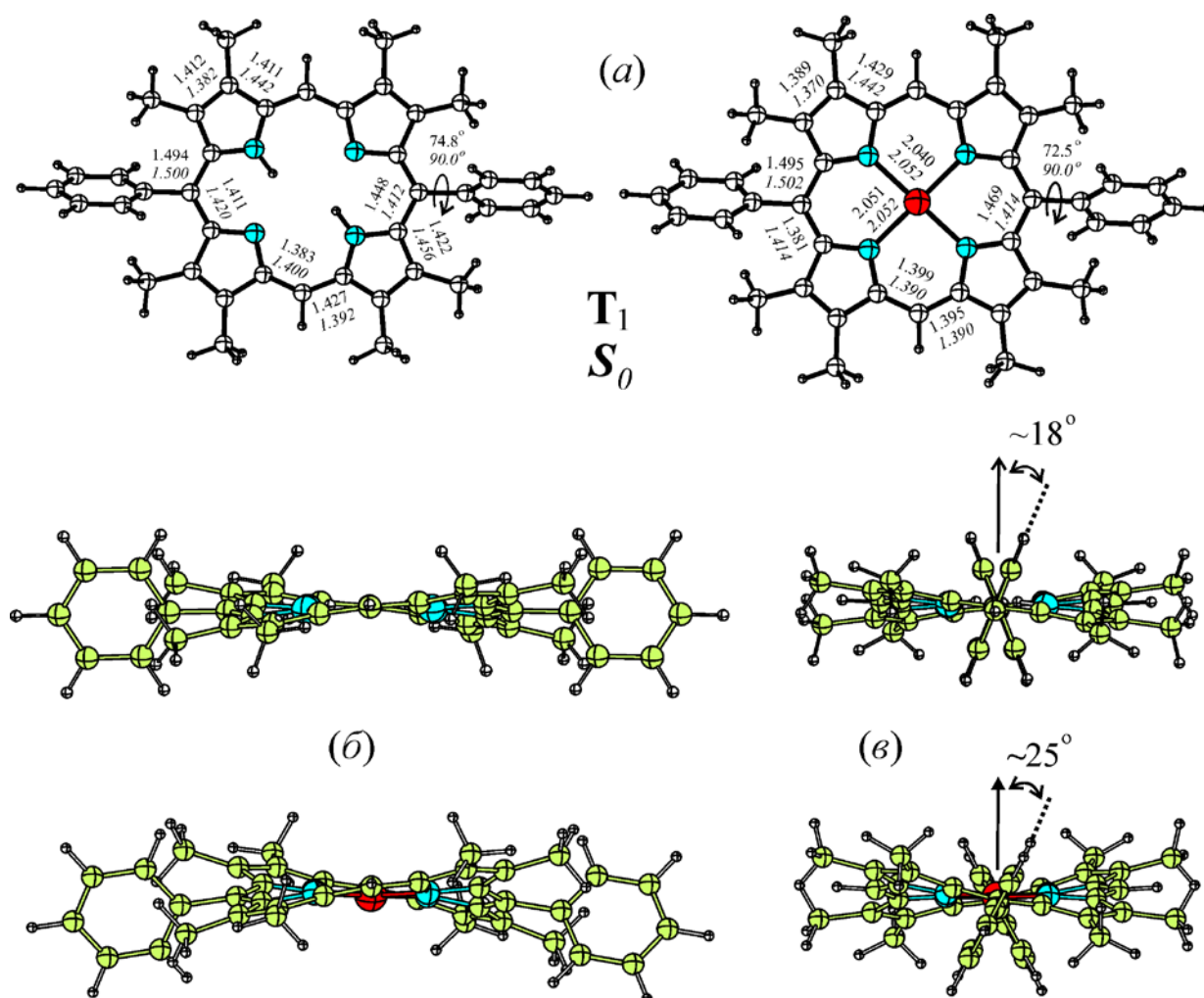


Рис. 4.40 Длины связей в молекулах H_2DAOMP и $ZnDAOMP$, рассчитанные в основном S_0 и нижнем триплетном состоянии T_1 (a). UB3LYP/6-31G(d) оптимизированная геометрия в форме седла для H_2DAOMP (вверх) и $ZnDAOMP$ (низ) в состоянии T_1 . Проекция вдоль длинной (б) и короткой (в) оси молекулы.

Оптимизация геометрии молекулы и последующий расчет нормальных колебаний были выполнены с применением метода стационарной теории функционала плотности (DFT), при этом для состояния S_0 применен ограниченный метод (RB3LYP/6-31G(d)), а для состояния T_1 неограниченный метод (UB3LYP/6-31G(d)), соответственно. Оптимизированные методом

RB3LYP/6-31G(d) молекулы **H₂DPOMПФ** и **ZnDPOMПФ** (рис. 4.38) в состоянии S_0 характеризуются симметрией C_{2h} и D_{2h} (рис. 4.40a), соответственно [A23]. В обоих случаях порфириновый макроцикл является плоским, а угол между плоскостями *мезо*-фенильной группы и макроциклом составляет 90° . Для порфиринового макроцикла **H₂DAOMПФ** рассчитанные длины связей и углы хорошо согласуются с данными рентгеноструктурного анализа (рис. 4.39 и рис. 4.40a) [A23]. В молекуле **H₂DPOMПФ** RB3LYP/6-31G(d) рассчитанные расстояния $N\cdots N$ равны 3.23 \AA и 2.71 \AA , что хорошо согласуется с экспериментальными значениями 3.18 \AA и 2.70 \AA . Таким образом, в состоянии S_0 стерическое напряжение порфиринового макроцикла снимается преимущественно за счет внутривоскостной деформации макроцикла, по типу квадрат→прямоугольник, при этом, вневоскостные искажения и разуплощение оказывается невыгодными энергетически. В молекуле **ZnDPOMПФ**, внутривоскостная деформация макроцикла имеет характер, сходный с **H₂DPOMПФ**, однако, координация с ионом цинка (II) повышает конформационную жесткость и внутривоскостная асимметрия цикла становится менее выраженной, что следует из расстояний $N\cdots N$ равных 2.98 \AA и 2.82 \AA , соответственно.

Геометрия молекул **H₂DPOMП** и **ZnDPOMПФ**, оптимизированная в состоянии S_0 , была введена как начальное приближение в расчете с оптимизацией геометрии в состоянии T_1 методом UB3LYP/6-31G(d). Согласно полученным данным, в состоянии T_1 , в отличие от S_0 , плоская конформация макроцикла является неустойчивой и стерическое напряжение между *мезо*-арильными и β -метильными заместителями (рис. 4.22) частично снимается за счет самопроизвольного вневоскостного (*англ. out-of-plane*) искажения тетрапиррольного макроцикла по типу седла (рис. 4.40б-в). Степень искажения макроцикла в случае **ZnDPOMПФ** является несколько большей, чем для **H₂DPOMПФ**, что следует из величины вневоскостного отклонения β -углеродных атомов на $\pm 0.6 \text{ \AA}$ и $\pm 0.45 \text{ \AA}$, соответственно. Углы между

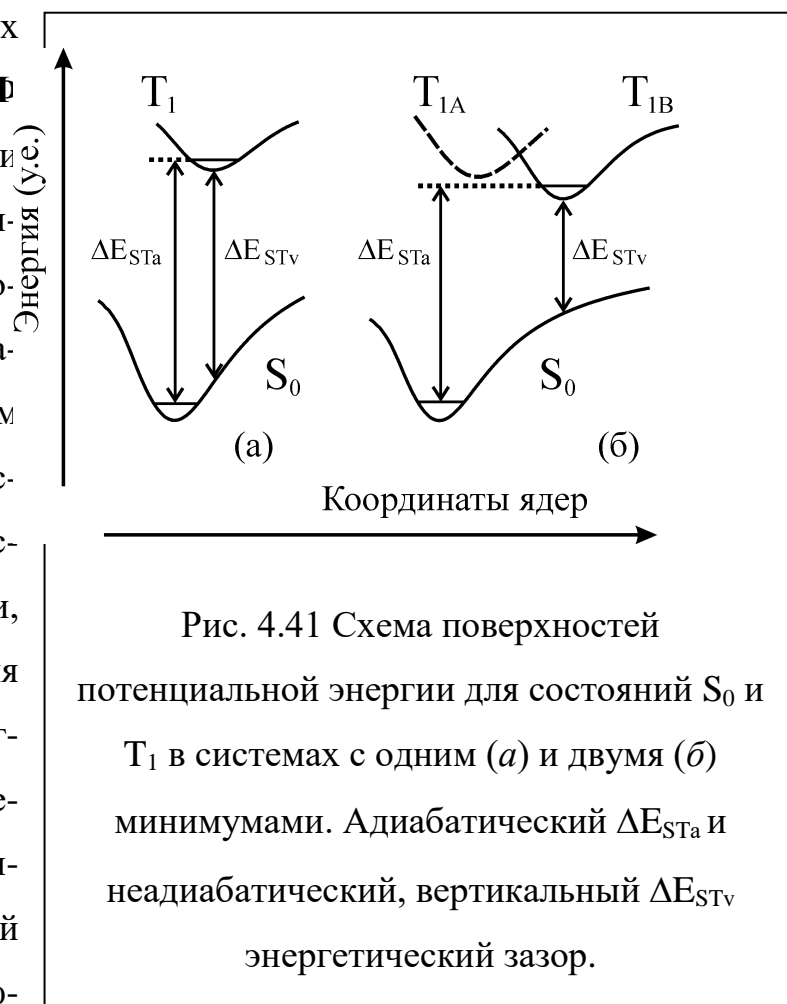
плоскостями *мезо*-фенильных радикалов и макроцикла оказались соответственно равными 75° и 73° для **H₂DPOMPF** и **ZnDPOMPF** (рис. 4.40).

В литературе известна седловая деформация тетрапиррольного макроцикла для стерически затрудненных 5,15-ди-*мезо*-арилпорфиринов, содержащих также объемные заместители в соседнем β -положении пиррольного кольца [346-348, 355-358]. По мере роста числа *мезо*-арильных заместителей седловая деформация сменяется пространственными искажениями, типа рифления и волны [348]. Поэтому, нами также был проведен компьютерный

поиск других возможных конформеров **H₂DAOMPF** и **ZnDPOMPF** в состоянии T_1 . С этой целью оптимизированная геометрия макроцикла существенно искажалась по колебательным координатам, которые обеспечивают его внеплоскостную деформацию, и, после этого оптимизация геометрии повторялась. Согласно проведенным расчетам, альтернативные конформации с деформацией макроцикла по типу риф-

ления или волны оказались неустойчивыми.

С использованием квантово-химических расчетов, изучено влияние конформационной релаксации тетрапиррольного макроцикла в **H₂DAOMPF** и **ZnDPOMPF** на величину энергетической разности $\Delta E(T_1-S_0)$. Энергетическая разность рассчитана в рамках двух различных подходов – адиабати-



ческого и неадиабатического (вертикального) (рис. 4.41). Величина адиабатической разности ΔE_{STa} вычислена как разность общей энергии молекулы в состоянии S_0 и T_1 , которая рассчитана для геометрии, оптимизированной для соответствующего состояния в рамках метода RB3LYP/6-31G(d) и UB3LYP/6-31G(d), соответственно. Величина неадиабатической разности ΔE_{STv} вычислена как разность общей энергии для молекулы в состоянии S_0 и T_1 , для геометрии, оптимизированной в состоянии T_1 в рамках метода RB3LYP/6-31G(d) и UB3LYP/6-31G(d), соответственно (рис. 4.41). Величина ΔE_{STv} интересна тем, что она может быть сопоставлена с экспериментальным спектром флуоресценции.

Таблица 4.14

Энергетическая разность (в кДж/моль) между основным S_0 и нижним триплетным состоянием T_1 в молекулах порфиринов, рассчитанная методом B3LYP/6-31G(d) в рамках адиабатического ΔE_{STa} и неадиабатического ΔE_{STv} приближения.

Соед.	Адиабатический (S ₀ -T ₁)		Неадиабатический (T ₁ →S ₀)	Экспер. ^a
	ΔE _{STa}	ΔH _{ST}	ΔE _{STv}	
H₂ОМПФ	153.4	141.9	130.3	155.4 ^{б,в,г}
	T_{1A} T_{1B}		T_{1A} T_{1B}	
H₂DPOMПФ	159.2 150.5	139.9	145.7 124.5	148.6 ^{б,в}
ZnDPOMПФ	180.5 167.9	-	166.0 138.0	166.9 ^д

^a – 0-0 переход определен из спектра флуоресценции

^б – [346]; ^в – [359]; ^г – [360]; ^д – [344]; (1 кДж/моль = 83.94 см⁻¹)

На первом этапе, для оценки адекватности выбранной схемы был проведен квантово-химический расчет модельного соединения **H₂ОМПФ**, для которого в табл. 4.14 приведено сравнение экспериментальных данных с рас-

считанными значениями ΔE_{STa} и ΔE_{STv} . Лучшее соответствие с экспериментальным 0-0 переходом в спектре флуоресценции найдено для адиабатического ΔE_{STa} (табл. 4.14). Заниженная на ~ 25 кДж/моль величина ΔE_{STv} может быть объяснена тем, что эксперимент выполнен в замороженном растворе 2МТГФ, а квантово-химический расчет - в вакууме.

Для **H₂DAОМПФ** и **ZnDPОМПФ** в состоянии T_1 происходит конформационная перестройка $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$, для которой в рамках UB3LYP/6-31G(d)-оптимизации геометрии, не удалось зафиксировать локальный минимум энергии, соответствующий форме T_{1A} . Поэтому, энергию формы T_{1A} рассчитывали для конформера с плоским макроциклом, в котором все дины связей и углы были оптимизированы в рамках молекулярной симметрии C_{2h} и D_{2h} , характерной для основного состояния. Разница величин ΔE_{STv} для T_{1A} и T_{1B} в молекулах **H₂DAОМПФ** и **ZnDPОМПФ** составляет 21.2 и 28.0 кДж/моль, или в шкале волновых чисел, принятой в оптической спектроскопии, – 1780 см^{-1} и 2350 см^{-1} .

Таким образом, согласно данным квантово-химических расчетов, в электронно-возбужденном состоянии T_1 в стерически затрудненных 5,15-ди-мезо-арил-октаалкил порфиринах и их комплексах с ионами цинка (II) процесс конформационной релаксации $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$ приводит к дополнительной стабилизации формы T_{1B} на 21-28 кДж/моль, что обуславливает уменьшение энергетической разности $\Delta E(T_1-S_0)$. Уменьшение $\Delta E(T_1-S_0)$ в свою очередь, должно приводить к увеличению вероятности безызлучательной интеркомбинационной конверсии $T_1 \rightsquigarrow S_0$ и сокращению времени жизни триплетного состояния.

4.5.3.4 Механизм дезактивации состояния T_1 в стерически затрудненных 5,15-диарил-октаалкил порфиринах. По совокупности экспериментальных данных спектров и времен жизни возбужденных состояний, а также с учетом результатов квантово-химических расчетов, нами была предложена следующая схема фотофизических процессов в молекулах порфиринов **ZnPФ-RB** и **H₂ПФ-RB** при их электронном возбуждении (рис. 4.42). В рамках предложенной модели, фотовозбуждение хромофора приводит к переходу в нижнее синглетное состояние S_1 . Его дезактивация проходит через излучательный переход (F , флуоресценция $S_1 \rightarrow S_0$), который конкурирует с безызлучательными процессами внутренней (IC , $S_1 \rightsquigarrow S_0$) и интеркомбинационной (ISC , $S_1 \rightsquigarrow T_1$) конверсии. В последнем случае происходит безызлучательный интеркомбинационный переход в триплетное состояние T_{1A} , за время которого конформация тетрапиррольного макроцикла не успевает существенно измениться и остается плоской, как и в случае основного S_0 и возбужденного состояний S_1 . В замороженных растворах это состояние является нижним триплетным состоянием, дезактивация которого происходит через излучение фосфоресценции (Ph , $T_{1A} \rightarrow S_0$) и безызлучательную интеркомбинационную конверсию $T_{1A} \rightsquigarrow S_0$. В растворах, при комнатных температурах, возможна дальнейшая структурная реорганизация макроцикла в иную, энергетически более выгодную конформацию T_{1B} (рис. 4.42), в которой нарушается планарность

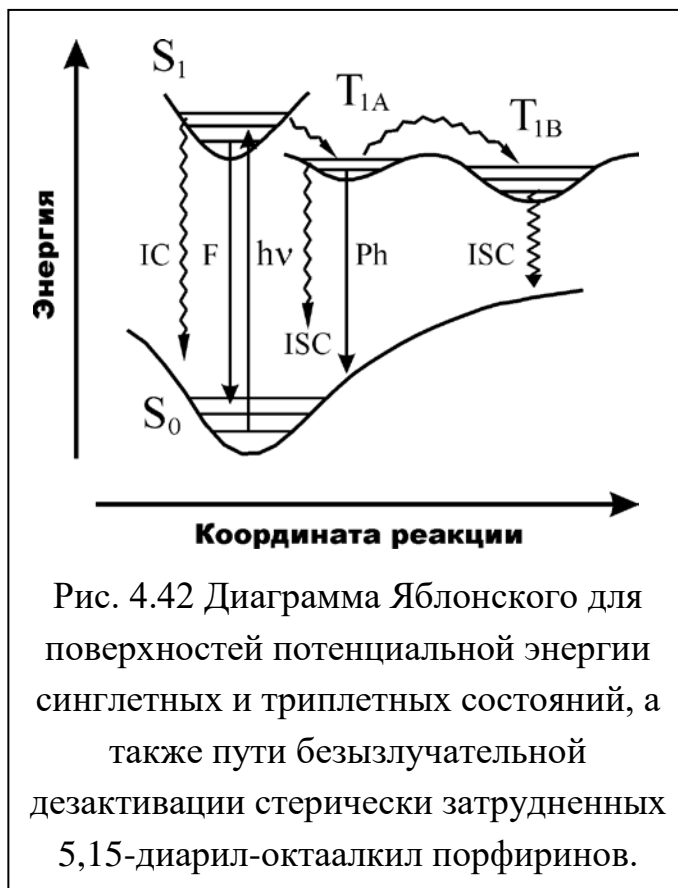


Рис. 4.42 Диаграмма Яблонского для поверхностей потенциальной энергии синглетных и триплетных состояний, а также пути безызлучательной дезактивации стерически затрудненных 5,15-диарил-октаалкил порфиринов.

макроцикла и формируется неортогональная геометрия (торсионные углы $\neq 90^\circ$) мезо-арильных групп.

Конформационная перестройка $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$ является температурно-активируемой, ее скорость регулируется величиной энергетического барьера E_a (табл. 4.13). Переход в термодинамически более выгодную конформацию T_{1B} приводит к уменьшению ее энергетической разности с основным состоянием $\Delta E(T_1-S_0)$. Это, в свою очередь, приводит к росту вероятности безызлучательной дезактивации $T_{1B} \rightsquigarrow S_0$ и уменьшению времени жизни триплетного состояния [A23]. В литературе, среди возможных механизмов тушения триплетного состояния, вызванного деформацией тетрапиррольного макроцикла, обсуждается механизм, при котором внеплоскостные колебательные моды тетрапиррольного макроцикла приводят к усилению вероятности интеркомбинационных переходов $T_1 \rightsquigarrow S_0$ за счет роста вкладов одноцентровых интегралов перекрывания n -орбиталей центральных атомов азота и π -орбиталей макроцикла, известное как орбитальное $n-\pi^*$ смешивание [289, 348, 361, 362].

В целом, приведенные в подразделах 4.5.3.3 и 4.5.3.4 данные свидетельствуют о том, что одной из возможных причин уменьшения времени жизни состояния T_1 в молекулах **ZnPc-RB** и **H₂Pc-RB** является конформационная релаксация $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$, связанная с переходом из конформации с плоским тетрапиррольным макроциклом T_{1A} в разуплощённую седловидную конформацию T_{1B} , сопровождающимся существенным ($\sim 2350 \text{ см}^{-1}$) уменьшением энергетической разности между состояниями S_0 и T_1 и, как следствие - к увеличению вероятности безызлучательной дезактивации.

4.5.3.5 Влияние температуры и вязкости растворителя на триплет-триплетный перенос энергии в диадах порфирина $\text{ZnПФ-RB-H}_2\text{ПФ}$. При комнатных температурах, кинетика затухания поглощения $T_1 \rightarrow T_n$ для модельных соединений и диад $\text{ZnПФ-RB-H}_2\text{ПФ}$ не могла быть описана традиционной моноэкспоненциальной зависимостью. На рис. 4.43 приведена кинетика затухания $T_1 \rightarrow T_n$ поглощения для диады $\text{ZnПФ-BB-H}_2\text{ПФ}$, в которой проявляется характерная короткоживущая компонента, связанная с переносом энергии $\text{ZnПФ} \rightarrow \text{H}_2\text{ПФ}$. Этой короткоживущей компоненте не наблюдается в кинетике затухания соответствующих этой диаде порфирине-доноре ZnПФ-BB и порфирине-акцепторе $\text{H}_2\text{ПФ-BB}$.

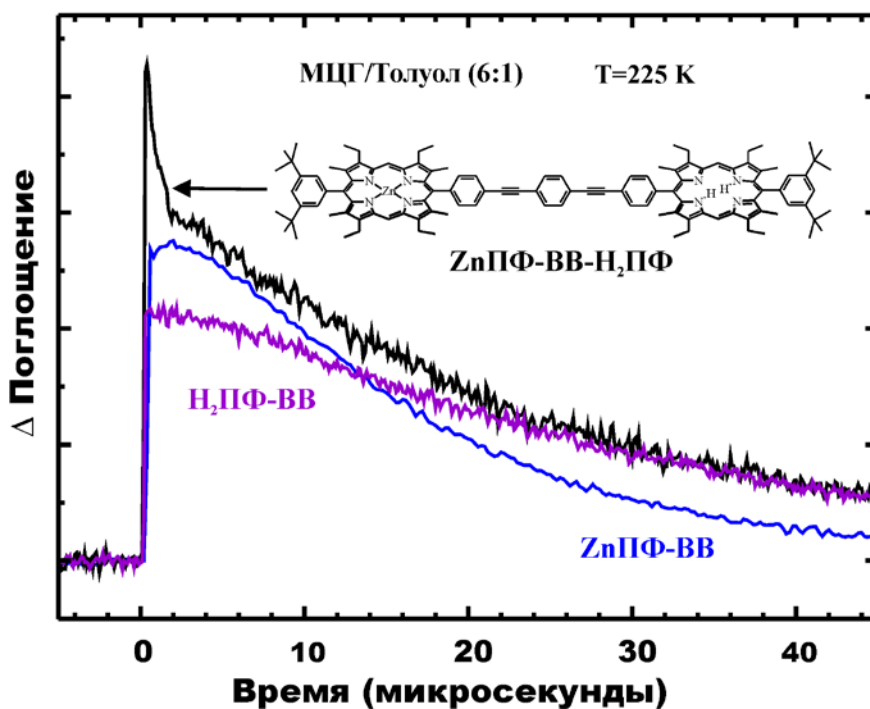


Рис. 4.43 Сравнение кинетики затухания состояния T_1 для диады $\text{ZnПФ-BB-H}_2\text{ПФ}$ и соответствующих порфирине-донора ZnПФ-BB и порфирине-акцептора $\text{H}_2\text{ПФ-BB}$, измеренные при $T=225\text{ K}$ в растворе, содержащем смесь метилциклогексана (МЦГ) с толуолом в соотношении 6:1 ($\lambda_{\text{возб}}=532\text{ nm}$).

Проведенный математический анализ кинетики затухания показал, что во всех изученных диадах, наилучшее математическое описание экспериментальной кривой затухания достигалось при помощи кинетической модели, учитывающей наличие двух состояний T_{1A} и T_{1B} , а также перехода между ними $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$. Для этих целей использовались экспоненциальные модели затухания с двумя и тремя компонентами (ур. 4.12) [A24]. Кроме этого, необходимо отметить, что при комнатных температурах время жизни формы T_{1A} было аномально коротко (< 80 нс), и, поэтому находилось на границе временного разрешения используемого спектрального оборудования. В этом случае, кинетику перехода $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$ удалось надежно зарегистрировать только при понижении температуры до 250 К [A24]. Проведенный кинетический анализ также показал, что для двух диад **ZnPФ–ВВ–H₂ПФ** и **ZnPФ–NB–H₂ПФ** эффективность ССПЭ при комнатной температуре составляет 0.40 и 0.44 (табл. 4.6), соответственно. Учитывая величину квантовой эффективности интеркомбинационной конверсии для структурно подобных порфириновых систем [344], нами был оценен квантовый выход заселения состояния T_1 в диадах, который составил 0.40 для **ZnPФ** и 0.45 для **H₂ПФ** [A24].

На рис. 4.44 приведена кинетика затухания поглощения $T_1 \rightarrow T_n$ диады **ZnPФ–NB–H₂ПФ** в растворе МТГФ при 250 К. В диаде дезактивации состояния T_1 порфирина-донора **ZnPФ** происходит по достаточно сложному кинетическому закону: на начальном этапе наблюдается короткоживущая компонента, приписываемая форме T_{1A} ($\tau = 95$ нс, рис. 4.44); во временном интервале 0.5–30 мксек можно выделить три компоненты: (1, сплошная линия на рис. 4.44) – затухание наведенного триплетного поглощения **H₂ПФ**; (2, пунктирная линия на рис. 4.44) – кинетика возгорания сигнала поглощения ($\tau = 1.7$ мкс), который связан с переходом $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$. (3, штрих-пунктирная линия на рис. 4.44) – последующий процесс интеркомбинационной конверсии $T_{1B} \rightsquigarrow S_0$, имеющий время затухания $\tau = 12.5$ мкс.

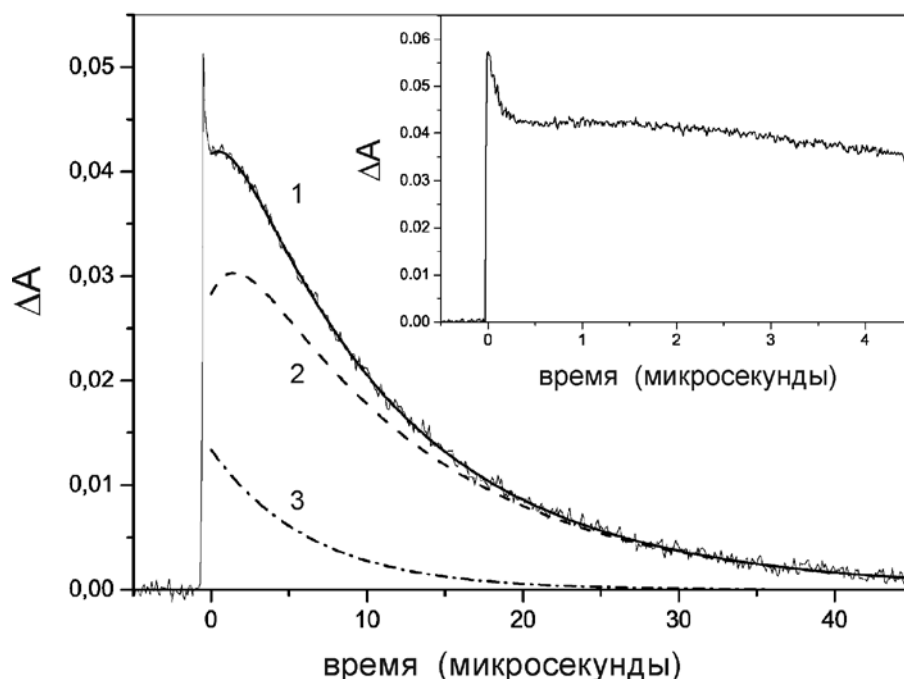


Рис. 4.44 Пример деконволюции кинетики затухания состояния T_1 для **ZnПФ–NB–H₂ПФ** в растворе МТГФ при 250 К ($\lambda_{\text{возб}}=532$ нм) [A24].

Как было показано в предыдущем параграфе, в температурном диапазоне 295–200 К в случае диад **ZnПФ–RB–H₂ПФ**, кинетика конформационного перехода $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$ в молекуле порфирина-донора **ZnПФ** может перекрываться с кинетикой дезактивации состояния T_1 порфирина-акцептора **H₂ПФ**, что в совокупности обуславливает сложный закон затухания состояния T_1 порфирина-донора в диаде (рис. 4.44). Нами впервые было показано, что, в зависимости от температуры, ТТПЭ с донора **ZnПФ** на акцептор **H₂ПФ** может происходить, как из состояния T_{1A} , так и из состояния T_{1B} молекулы донора. Соответствующая константа скорости ТТПЭ обозначена как $k_{\text{ТТПЭ-А}}$ и $k_{\text{ТТПЭ-В}}$ в табл. 4.10 и 4.11. Однако, уже при температурах ниже 200 К, в условиях повышения вязкости растворителя, конформационный переход $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$ не наблюдается, поэтому, в этих условиях ТТПЭ происходит только из состояния T_{1A} ($k_{\text{ТТПЭ-А}}$ в табл. 4.15 и 4.16).

Таблица 4.15

Температурная зависимость времени жизни состояния T_1 ZnПФ и константы скорости ТТПЭ в диаде в 2-метилтетрагидрофуране.

T, K	ZnПФ–ВВ		ZnПФ–ВВ–H ₂ ПФ				ZnПФ–NB		ZnПФ–NB–H ₂ ПФ			
	τ_A , мкс	τ_B , мкс	τ_A , мкс	τ_B , мкс	$k_{\text{ТПЭ-А}},$ с ⁻¹	$k_{\text{ТПЭ-В}},$ с ⁻¹	τ_A , мкс	τ_B , мкс	τ_A , мкс	τ_B , мкс	$k_{\text{ТПЭ-А}},$ с ⁻¹	$k_{\text{ТПЭ-В}},$ с ⁻¹
295	0.086	5.1	—	4.1	—	4.8×10^4	0.073	5.4	—	3.7	—	8.5×10^4
250	0.60	6.5	0.27	—	2.0×10^6	—	0.47	6.7	0.095	—	8.4×10^6	—
200	16	8.5	0.91	—	1.0×10^6	—	16	8.4	0.20	—	4.9×10^6	—
150	2600	^a	1.38	—	7.2×10^5	—	2400	^a	0.28	—	3.6×10^6	—
120	32000	^a	3.6	—	2.8×10^5	—	34000	^a	0.98	—	1.0×10^6	—

^a – при температуре ниже 150 К кинетику затухания формы T_{1B} не удалось зарегистрировать.

Таблица 4.16

Температурная зависимость времени жизни состояния T_1 ZnПФ и константы скорости ТТПЭ в растворе ПС в толуоле (1:1).

T, K	ZnПФ–ВВ		ZnПФ–ВВ–H ₂ ПФ				ZnПФ–NB		ZnПФ–NB–H ₂ ПФ			
	τ_A , мкс	τ_B , мкс	τ_A , мкс	τ_B , мкс	$k_{\text{ТПЭ-А}},$ с ⁻¹	$k_{\text{ТПЭ-В}},$ с ⁻¹	τ_A , мкс	τ_B , мкс	τ_A , мкс	τ_B , мкс	$k_{\text{ТПЭ-А}},$ с ⁻¹	$k_{\text{ТПЭ-В}},$ с ⁻¹
295	0.029	9.0	—	4.1	—	9.4×10^3	0.31	9.2	—	5.9	—	6.1×10^4
250	4.2	12	0.42	—	2.1×10^6	—	0.41	13	0.12	—	8.1×10^6	—
225	6.5	36	0.87	—	1.0×10^6	—	6.4	34	0.18	—	5.3×10^6	—
200	380	^a	1.2	—	8.3×10^5	—	400	^a	0.35	—	2.9×10^6	—
150	43000	^a	4.1	—	2.4×10^5	—	42000	^a	0.95	—	1.1×10^6	—
120	54000	^a	11	—	9.5×10^4	—	56000	^a	2.5	—	4.0×10^5	—
100	73000	^a	18	—	5.5×10^4	—	75000	^a	5.1	—	2.0×10^5	—
80	90000	^a	30	—	3.4×10^4	—	90000	^a	8.3	—	1.2×10^5	—

^a – при температуре ниже 150 К кинетику затухания формы T_{1B} не удалось зарегистрировать.

Сравнение кинетики затухания состояния T_1 порфирина-донора ZnПФ в пределах серии диад ZnПФ–RB–H₂ПФ, а также сравнение с кинетикой затухания модельных соединений ZnП–RB, содержащих только порфирин-

донор, позволило оценить эффективность ТТПЭ. Время жизни состояния T_1 **ZnПФ** в диаде **ZnПФ–ОВ–Н₂ПФ** ($\tau_{T1A}=2.42\pm0.05$ мс) и в **ZnПФ–ОВ** ($\tau_{T1A}=2.45\pm0.05$ мс) совпадают в пределах погрешности измерения (раствор МТГФ при $T=150$ К). Таким образом, в диаде **ZnПФ–ОВ–Н₂ПФ** эффективность ТТПЭ, рассчитанная по ур. 4.5, составляет менее 1 %. В этих же экспериментальных условиях, в диадах **ZnПФ–ВВ–Н₂ПФ** и **ZnПФ–NB–Н₂ПФ** время жизни триплетного состояния донора сокращается до 1.38 мкс и 0.28 мкс (рис. 4.45), соответственно. Таким образом, эффективность ТТПЭ в последнем случае возрастает до 99 %. Времена жизни триплетного состояния донора в модельных соединениях и соответствующих диадах, а также константы скорости ТТПЭ, измеренные в МТГФ при разных температурах, приведены в табл. 4.15.

Таблица 4.17

Температурная зависимость времени жизни состояния T_1 **ZnПФ и константы скорости ТТПЭ в полимерной матрице полистирола.**

Т, К	ZnПФ–ВВ	ZnПФ–ВВ–Н₂ПФ		ZnПФ–NB	ZnПФ–NB–Н₂ПФ	
	τ_A , мс	τ_A , мс	$k_{ТТПЭ-A}$, с ⁻¹	τ_A , мс	τ_A , мс	$k_{ТТПЭ-A}$, с ⁻¹
295	66	5.5	1.8×10^5	62	4.3	2.3×10^5
250	76	6.0	1.7×10^5	75	5.2	1.9×10^5
200	81	7.7	1.3×10^5	81	6.3	1.6×10^5
150	82	9.4	1.1×10^5	81	7.5	1.3×10^5
120	85	12.0	0.9×10^5	83	8.9	1.1×10^5
80	90	16.0	0.6×10^5	90	0.9	1.2×10^5

Общая схема фотофизических процессов, происходящих при дезактивации триплетных состояний молекулы донора, акцептора и диад **ZnПФ–RB–Н₂ПФ** представлена на рис. 4.46 в виде диаграммы Яблонского.

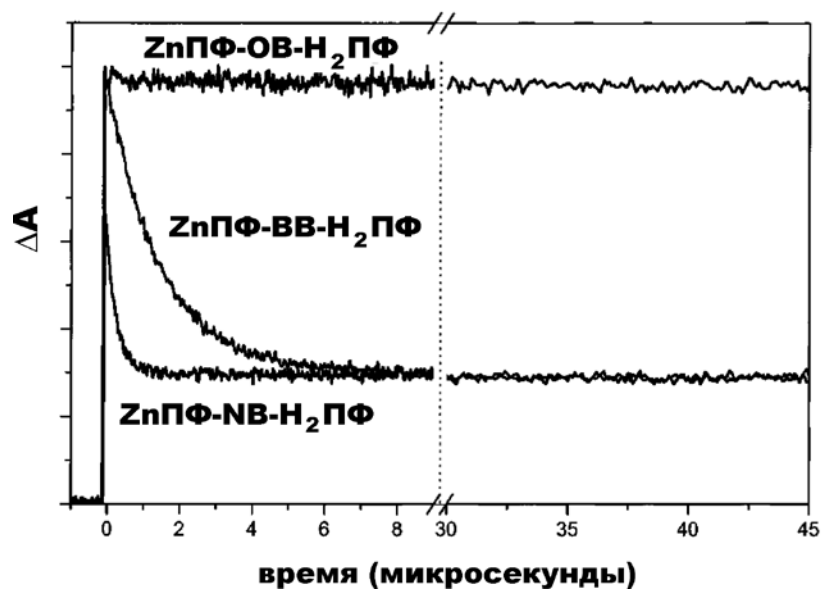


Рис. 4.45 Сравнение кинетики затухания состояния T_1 для серии диад **ZnПФ-РВ-Н₂ПФ** с различной степенью электронного сопряжения в мостиковом хромофоре (раствор МТГФ, $T=150$ К, $\lambda_{\text{возб}}=532$ нм).

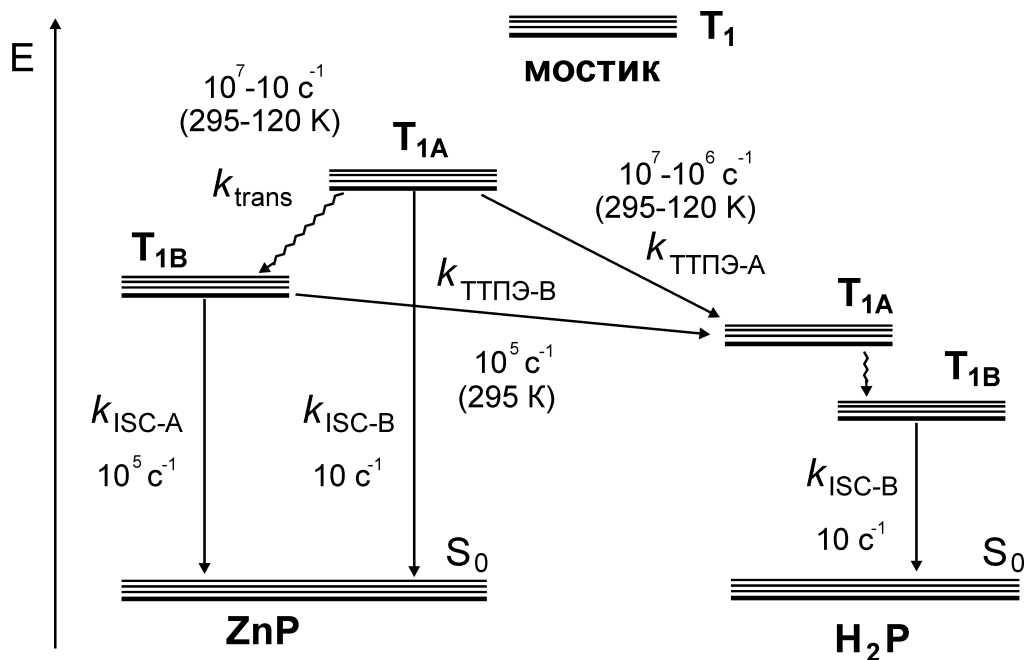


Рис. 4.46 Диаграмма Яблонского для фотофизических процессов дезактивации **ZnПФ**, происходящих в диадах порфирина в растворителях с высокой вязкостью с участием двух форм T_{1A} и T_{1B} .

ΔG и V дальнедействующего ТПЭ. Поскольку ТПЭ может быть представлен как согласованный перенос электрона и электронной вакансии (рис. 4.33) [338], константа скорости дальнедействующего ТПЭ может быть оценена в рамках этого формализма по ур. 4.13.

$$k_{\text{ТПЭ}} = (4\pi^2/h) \cdot |V|^2 \cdot (\text{FCWDS}) \quad (4.13)$$

в котором V – электронное сопряжение (*от англ.* electronic coupling) и FCWDS (*от англ.* Franck–Condon weighed density of states) плотности Франк-Кондоновского состояния донора и акцептора [339].

Поскольку прямое экспериментальное определение фактора FCWDS затруднительно, поэтому константа скорости ТПЭ может быть представлена уравнениями 4.14-4.16.

$$k_{\text{ТЕТ}} = \nu \exp(-\Delta G / RT) \quad (4.14)$$

$$\nu = \frac{2|V|^2}{h} (\pi^3 / \lambda RT)^{1/2} \quad (4.15)$$

$$\Delta G = \frac{\lambda}{4} (1 + \Delta G^0 / \lambda)^2 \quad (4.16)$$

в которых λ – общая реорганизационная энергия системы, включающая перестройку геометрии молекулы и сольватного окружения, и ΔG^0 – изменение энергии Гиббса для процесса ТПЭ.

Комбинируя ур. 4.14 и 4.15, можно получить линейное уравнение 4.17, которое позволяет определить ΔG из тангенса угла наклона соответствующей прямой в координатах $\ln(k_{\text{ТЕТ}} \cdot T^{1/2})$ от $1/T$.

$$\ln(k_{\text{ТЕТ}} \sqrt{T}) = \ln \left(\frac{2|V|^2}{h} (\pi^3 / \lambda R)^{1/2} \right) - \frac{\Delta G}{RT} \quad (4.17)$$

На рис. 4.47 показана зависимость $\ln(k_{\text{ТПЭ}} \cdot T^{1/2})$ от $1/T$ для диад **ZnПФ–BB–H₂ПФ** и **ZnПФ–NB–H₂ПФ** в растворе МТГФ при температурах выше 120 К (температура замерзания растворителя). Видно, что экспериментальные данные хорошо описываются линейной зависимостью, из которой по ур. 4.17 удалось определить энергию активации ΔG , равную 4.2 и 4.6 кДж/моль для **ZnПФ–BB–H₂ПФ** и **ZnПФ–NB–H₂ПФ**, соответственно.

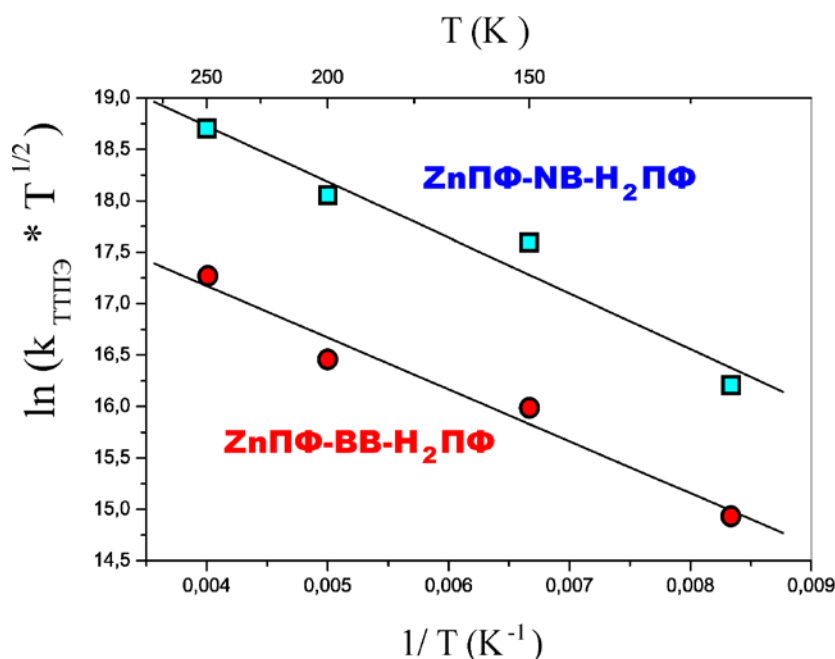


Рис. 4.47 Температурная зависимость ТТПЭ в **ZnПФ–BB–H₂ПФ** (○) и **ZnПФ–NB–H₂ПФ** (□) в МТГФ. Линейная аппроксимация по ур. 4.17.

Общая реорганизационная энергия λ , также оцененная с использованием ур. 4.16, составила 0.50 эВ (4000 см⁻¹), в предположении ее независимости от температуры [363]. В ур. 4.16 величина ΔG^0 , рассчитанная по разности энергии состояний T_1 **ZnПФ** и **H₂ПФ**, составила -1600 см⁻¹. По ур. 4.14, из пересечения линейной зависимости с осью ординат (рис. 4.47) была оценена величина электронного связывания V , составившая 0.18 и 0.43 см⁻¹ для **ZnПФ–BB–H₂ПФ** и **ZnПФ–NB–H₂ПФ**, соответственно. Для двух указанных диад V различается в 2.3 раза, что хорошо согласуется с предложенным механизмом обменно-резонансного ТТПЭ, поскольку в этом случае V должно быть про-

порционально $1/\Delta E_{\text{ДВ}}$. В самом деле, для двух мостиковых хромофоров **ВВ** и **NB** $\Delta E_{\text{ДВ}}$ равна 6000 и 3500 см^{-1} , отношение этих величин составляет 1.7.

В изученных диадах порфирина константа скорости дальнего действующего ТТПЭ зависит от температуры и вязкости растворителя (табл. 4.15-4.17) [А62]. Значение ΔG , λ и $V_{\text{ДА}}$ для **ZnПФ–ВВ–Н₂ПФ** и **ZnПФ–NB–Н₂ПФ** в МТГФ, смеси толуол:ПС 1:1 и в пленке ПС обобщены в табл. 4.18. Из приведенных данных следует, что в диапазоне выше точки замерзания растворителя температурная зависимость ТТПЭ характеризуется ΔG 4.2-7.1 кДж/моль и $V_{\text{ДА}}$ 0.18-0.74 см^{-1} . В замороженном растворе и в пленке ПС эти величины существенно уменьшаются до ΔG 1.6-1.9 кДж/моль и $V_{\text{ДА}}$ 0.027-0.033 см^{-1} . При этом энергия реорганизации λ , которая определяется изменением геометрии донора и акцептора при переходе из состояния S_0 в состояние T_1 , не выходит за пределы интервала 0.4-0.6 эВ (табл. 4.18) [А62].

Таблица 4.18

Энергия активации (ΔG), энергия реорганизации (λ) и электронное связывание ($V_{\text{ДА}}$) для ТТПЭ в диадах порфирина.

Среда	ΔG (кДж/моль)		λ (эВ)		$V_{\text{ДА}}$ (см^{-1})	
	250-120 К	120-80 К	250-120 К	120-80 К	250-120 К	120-80 К
ZnПФ–ВВ–Н₂ПФ						
МТГФ	4.2	–	0.49	–	0.18	–
толуол:ПС ^а	7.1	2.4	0.63	0.40	0.39	0.04
ПС ^б	1.6	–	0.35	–	0.027	–
ZnПФ–NB–Н₂ПФ						
МТГФ	4.6	–	0.50	–	0.43	–
толуол:ПС ^а	6.7	2.8	0.62	0.42	0.74	0.10
ПС ^б	1.9	–	0.37	–	0.033	–

^а – температурный диапазон 250-150 К. ^б – температурный диапазон 298-80 К

Таким образом, нами может быть сделан вывод о том, что более высокие величины $V_{\text{ДА}}$ при более высоких температурах и в менее вязких растворах,

обусловлены конформационной гетерогенностью, в результате чего в растворе присутствует набор ротамеров с различными углами между плоскостями порфирина и мостика, а, следовательно, характеризующихся различной степенью π - π сопряжения в системе донор-мостик-акцептор. В исследуемых тиадах донор-мостик-акцептор распределение по энергии вращательных ротамеров подчиняется распределению Больцмана [113]. При понижении температуры, популяция высокоэнергетических ротамеров с пространственным расположением порфирина-мостик, отличающемся от ортогонального на $20-30^\circ$, существенно уменьшается, что должно приводить к сужению распределения Больцмана, а само распределение - иметь максимум, которому соответствует ортогональная ориентация порфирина-мостик, в которой V_{DA} стремится к нулю. Следовательно, при понижении температуры конформационно-усредненная величина V_{DA} должна уменьшаться, что и наблюдается в эксперименте (табл. 4.18).

Таким образом, комплексное применение спектроскопических методов для изучения физико-химических параметров дальнедействующего ТТПЭ в диадах порфирина позволило сделать следующие выводы:

- *π -Сопряженные мостиковые хромофоры **ВВ** и **НВ** являются эффективными медиаторами дальнедействующего ТТПЭ между **ZnПФ**-донором и **Н₂ПФ**-акцептором. В случае прерывания π -сопряжения в мостиковом хромофоре (**ОВ**), ТТПЭ в диаде не происходит.*

- *Дальнедействующий ТТПЭ является температурно-зависимым, при этом в растворителях с низкой вязкостью ΔG активации составляет 4.2-4.6 кДж/моль. При повышении вязкости растворителя температурная зависимость ТТПЭ становится менее выраженной. Для мостикового хромофора **НВ** величина электронного сопряжения V_{DA} является в 2.3 раза большей, чем для мостика **ВВ**, что хорошо согласуется теорией обменно-резонансного ТТПЭ в этих диадах.*

- В растворителях с высокой вязкостью и в полимерной пленке ПС константа скорости ТТПЭ значительно снижается, что обусловлено уменьшением эффективного электронного связывания V_{DA} между **ZnПФ**-донором и **H₂ПФ**-акцептором в состоянии T_1 . Показано, что уменьшение V_{DA} в диаде в вязких средах обусловлено замедлением температурно-активируемой конформационной перестройки молекулы порфирина-донора и заторможенным торсионными движениями π -систем порфирин-мостик.

4.5.3.6 Квантово-химический анализ дальнодействующего конформационно-контролируемого триплет-триплетного переноса энергии в диадах порфирина. В этом разделе приведен квантово-химический анализ энергии электронно-возбужденных триплетных состояний диад порфирина, изученных экспериментально в разделе 4.5.3.4, а также соответствующих им модельных соединений (рис. 4.48). Предложена усовершенствованная процедура оценки электронного сопряжения между донорным и акцепторным фрагментами диады через мостиковый хромофор, основанная на квантово-химическом расчете методом TD-DFT [A22]. Показано, что в случае π -сопряженных мостиковых молекул дальнодействующий ТТПЭ происходит по обменно-резонансному механизму. Установлено, что величина электронного связывания в диадах определяется орбитальным перекрыванием в системе донор-мостик-акцептор, поэтому, зависит от относительной пространственной ориентацией π -систем хромофоров диады.

Схема энергетических уровней состояния T_1 для донора-**ZnПФ**, акцептора-**H₂ПФ** и серии мостиковых хромофоров, рассчитанная методом TD-B3LYP/3-21G, показана на рис. 4.48 и приведена в табл. 4.19. Для мостикового хромофора энергия рассчитана для набора ротамеров с разным углом разворота центрального ароматического фрагмента, варьируемым от плоской до ортогональной конформации (рис. 4.48, на рис. 4.49 показанная в виде диапазона энергетических подуровней). Следует отметить, что выбранный

квантово-химический метод и базисный набор продемонстрировал хорошее соответствие рассчитанных параметров и экспериментальных данных спектров флуоресценции (рис. 4.35) [343, 346]. При этом, отдельные расчеты энергии состояния T_1 , выполненные в большем базисном наборе 6-31G(d,p), не продемонстрировали существенного улучшения сходимости с экспериментом.

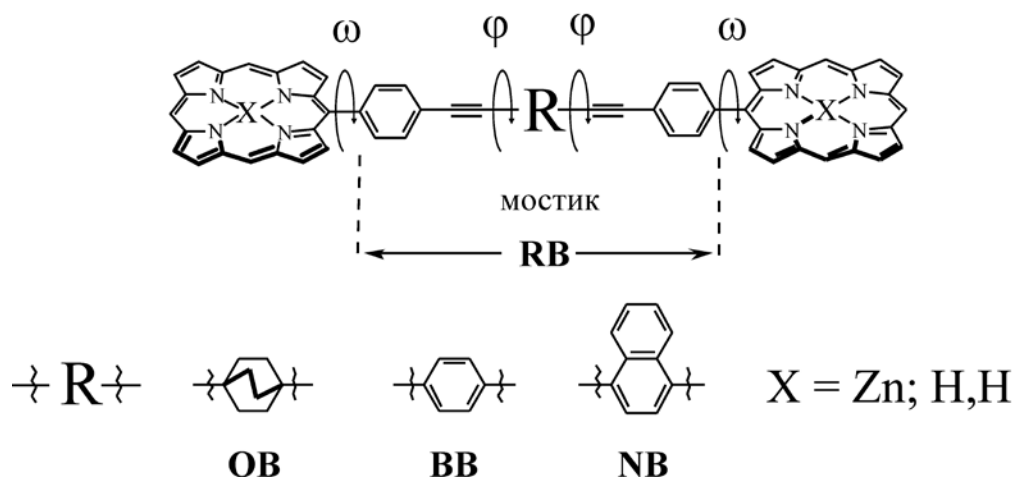


Рис. 4.48 Модельные симметричные диады порфиринов. Обозначение торсионных углов вращения ω (60° - 90°) и ϕ (0° - 90°).

Расположение энергетического уровня T_1 мостикового хромофора относительно состояния T_1 донора-**ZnPФ** и акцептора-**H₂ПФ** показывает, что в случае **ОВ**, **ВВ** и **НВ** ступенчатый каскадный ТТПЭ через мостик маловероятен (рис. 4.49). Однако, в случае мостика **АВ** возможен ступенчатый перенос по схеме **ZnPФ**→**АВ**→**H₂ПФ**, и по этой причине, диада **ZnPФ-АВ-H₂ПФ** была исключена из дальнейшего рассмотрения.

Анализ влияния мостикового хромофора на π -электронное взаимодействие V_{DA} донорного и акцепторного фрагментов в диаде порфирина в состоянии T_1 выполнен с использованием усовершенствованной нами процедуры, основанной на оценке расщепления энергии нижнего электронно-возбужденного состояния T_1 донорного и акцепторного хромофора в симметричной диаде (рис. 4.29) [A22].



Рис. 4.49 Энергетическая диаграмма T_1 -уровней **ZnPF**, **H₂PF** и серии мостиковых хромофоров **RB**, рассчитанных методом TD-B3LYP/3-21G. Для мостикового хромофора показаны энергетические диапазоны существования возможных ротамеров.

Таблица 4.19

Энергия нижнего триплетного состояния, рассчитанная методом TD-B3LYP/3-21G.

	Двугранный угол (градусы)	Симметрия	Энергия (cm^{-1})	Эксперимент (cm^{-1})
ZnPF	-	$^3B_{3u}$	14150	14000 ^a
H₂PF	-	3B_u	11650	12400 ^b
OB	0		27050	
	15	3B_2	27000	25500 ^a
	30		26300	
BV	0	$^3B_{1u}$	19160	
	45	3A_u	21260	20000 ^a
	90	$^3B_{3u}$	23420	
NB	0		16270	
	45	3B_2	17340	17500 ^b
	90		18400	
AB	0	$^3B_{1u}$	10550	14700...11000 ^b
	90	$^3B_{3u}$	11460	

^a - [329]; ^b - [317]; ^B - [344].

Энергия триплетных уровней в диаде была рассчитана методом TD-DFT, по аналогии с процедурой, описанной в разделе 4.5.2.3 для ССПЭ. Электронное сопряжение V_{DD} и V_{AA} для симметричных диад **ZnПФ-RB-ZnПФ** и **H₂ПФ-RB-H₂ПФ** (рис. 4.49) было рассчитано по ур. 4.12. В симметричной диаде в отсутствие мостика энергия порфиринового хромофора донора и акцептора является вырожденной. В присутствии мостикового хромофора энергетическое вырождение. Для изучения влияния конформационных эффектов на физико-химические параметры дальнедействующего ТТПЭ, V_{DD} и V_{AA} рассчитаны для различных вращательных конформаций диад, задаваемых с помощью двух торсионных углов ω и ϕ (рис. 4.48).

На первом этапе выполнена оценка адекватности выбранного квантово-химического подхода для расчета V в изучаемых системах: для различных ротамеров **ZnПФ-OB-ZnПФ** величина V_{DD} была оценена равной нулю, что означает отсутствие электронного связывания между терминальными фрагментами диады. Этот факт хорошо согласуется с экспериментальными данными об отсутствии ТТПЭ в диаде **ZnПФ-OB-H₂ПФ** [A24].^{††} Это позволило перейти ко второму этапу, на котором был выполнен расчет V_{DD} и V_{AA} для различных ротамеров с мостиковым хромофором **BB** и **NB**, результаты которого приведены на рис. 4.50 и в табл. 4.20. Видно, что для ортогональной конформации с $\omega=90^\circ$ для всех диад электронное связывание не превышает 0.1 см^{-1} (табл. 4.20). При уменьшении торсионного угла ω (рис. 4.22) от 90° до 60° наблюдается систематическое увеличение V_{DD} и V_{AA} (рис.

^{††} Для целого ряда систем донор-мостик-акцептор, в которых в качестве мостика выступали полипептидные молекулы, не содержащие π -сопряженные группировки, было показано, что ТТПЭ в таких системах может реализоваться по механизму суперобмена с участием σ -связей (*от англ. through-bond superexchange electronic coupling*) на расстоянии до 10-15 Å [Например: Harriman, A.; Khatyr, A.; Ziessel, R.; Benniston, A. C. An unusually shallow distance-dependence for triplet-energy transfer. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2000, 39, 4287-4290; Sakamoto, M.; Kim, S. S.; Fujitsuka, M.; Majima, T. Reversible intramolecular triplet-triplet energy transfer in benzophenone-N-methylphthalimide dyad. *J. Phys. Chem. A* 2008, 112, 1403-1407].

4.50). Для **ZnПФ-NB-ZnПФ** при $\omega=60^\circ$ величина V_{DD} достигает 23.2 см^{-1} . Для одного и того же ротамера величина V_{DD} в диадах **ZnПФ-RB-ZnПФ** оказывается большей, чем V_{AA} в диадах **H₂ПФ-RB-H₂ПФ**. Это указывает на тот факт, что электронное связывание через мостиковую группировку пропорционально величине энергетической разности ΔE_{DB} (ΔE_{AB}) и значению торсионного угла порфирина-мостик.

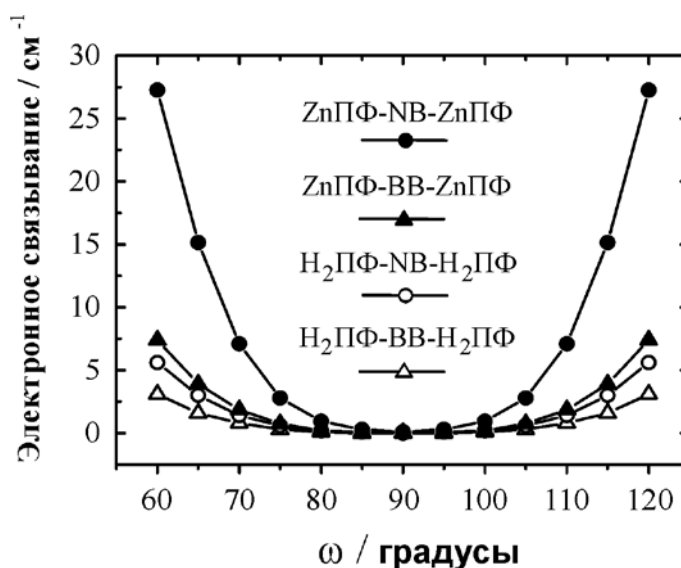


Рис. 4.50 Зависимость электронного связывания V от двугранного угла ω между порфириновым циклом и мостиком, рассчитанная методом TD-B3LYP/3-21G в симметричных диадах порфирина **ZnПФ-RB-ZnПФ** и **H₂ПФ-RB-H₂ПФ**.

Следует отметить, что приведенный характер изменений и сами абсолютные величины V_{DD} и V_{AA} показали незначительную зависимость от выбора базисного набора, поскольку отдельные расчеты, выполненные методом TD-B3LYP/6-31G(d,p), отличались в пределах до 10% (табл. 4.20).

Для лучшего понимания природы электронного сопряжения в изученных диадах, содержащих несопряженный **ОВ** или π -сопряженные мостики **ВВ** или **NB**, были проанализированы граничные молекулярные орбитали. На рис. 4.51а показаны ВЗМО и НСМО для **ZnПФ** и мостика-**ВВ** в диаде **ZnПФ-BB-ZnПФ**, рассчитанные методом TD-B3LYP/6-31G(d,p) для

ортогональной конформации порфирина-мостик и плоской сопряженной конформации мостика ($\omega=90^\circ$ и $\varphi=0^\circ$).

Таблица 4.20

Электронное связывание для ТТПЭ в диадах порфирина, рассчитанное методом TD-B3LYP/3-21G.

ω (град)	φ (град)	ZnПФ-BB-ZnПФ	ZnПФ-NB-ZnПФ	H ₂ ПФ-BB-H ₂ ПФ	H ₂ ПФ-NB-H ₂ ПФ
электронное связывание V (см ⁻¹)					
90	00	0.0	0.1	0.0	0.0
85	00	0.1	0.2	0.0	0.1
80	00	0.2	0.7	0.1	0.2
75	00	0.7	2.4	0.3	0.6
70	00	1.8	6.1	0.8	1.4
65	00	3.9	12.9	1.6	3.0
60	00	7.1 ^a	23.2	3.1 ^b	5.6

^a – $V=7.9$ см⁻¹ при расчете TD-B3LYP/6-31G(d,p)

^b – $V=3.4$ см⁻¹ при расчете TD-B3LYP/6-31G(d,p)

Из рис. 4.51 следует, что граничные МО полностью локализованы на соответствующих хромофорных фрагментах и орбитальное межфрагментное перекрывание отсутствует. Энергетическая разность ВЗМО и НВМО хромофорных фрагментов **ZnПФ** и **BB** составляет 0.43 и 0.40 эВ. При уменьшении торсионного угла ω до 60° и сохранении плоской конформации мостика ($\varphi=0^\circ$) наблюдается существенное перекрывание и смешивание МО, изначально локализованных только на **ZnПФ** и **BB** (рис. 4.51б). Таким образом, в конформации диады с $\omega=60^\circ$ и $\varphi=0^\circ$ наблюдается формирование набора смешанных МО, которые делокализованы на всей молекуле. Очевидно, что это приводит к общему усилению электронного взаимодействия через мостиковую группировку. В случае, если в указанной конформации происходит разуплощение мостикового хромофора путем ортогонального разворота центрального бензольного кольца ($\omega=60^\circ$ и $\varphi=90^\circ$), это приводит к прерыванию делокализации МО, как показано на рис. 4.51в.

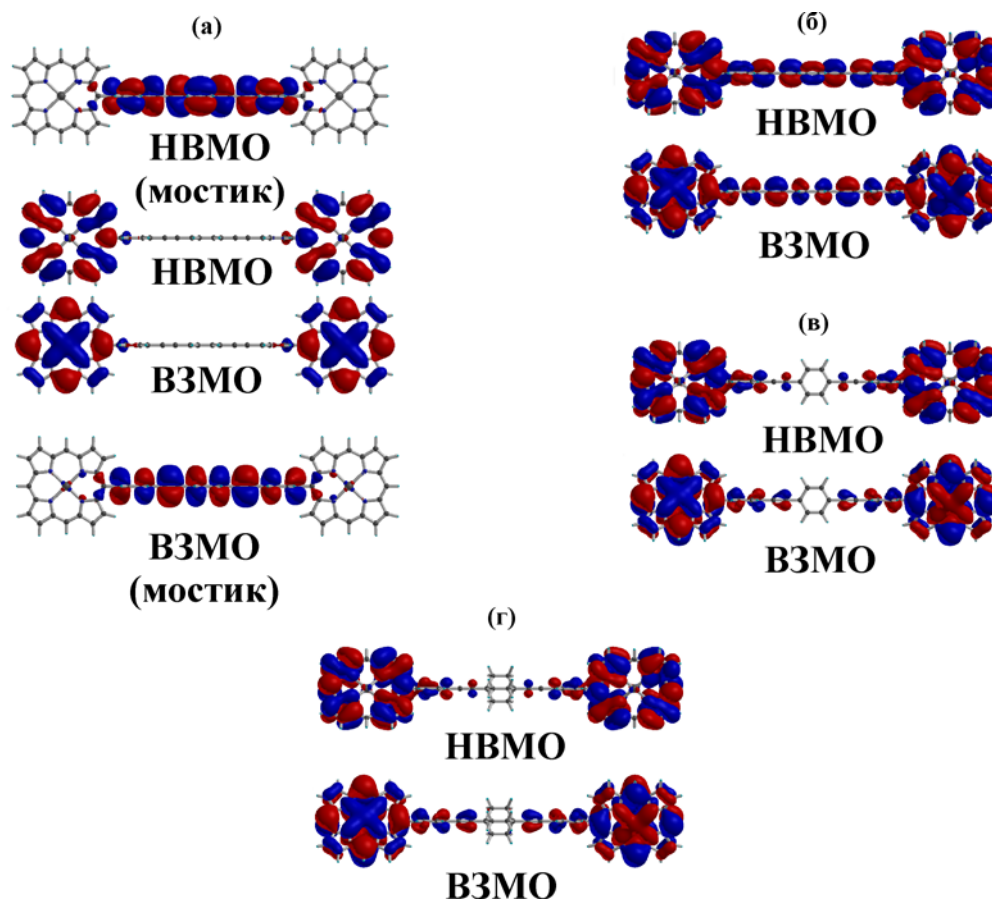


Рис. 4.51 Молекулярные орбитали диад **ZnPPh-BB-ZnPPh** (а-е) и **ZnPPh-OB-ZnPPh** (з) в различных вращательных конформациях.

Следует отметить, что квантово-химический расчет показал, что бицикло-[2.2.2]октановый фрагмент является прерывателем электронного сопряжения через мостиковую молекулу **OB** во всех изученных вращательных конфигурациях диады **ZnPPh-OB-ZnPPh** ($\omega=90^\circ-60^\circ$). Прерывание сопряжения и делокализации МО через мостиковый хромофор в диаде **ZnPPh-OB-ZnPPh** показано на рис. 4.51з для конформации с $\omega=60^\circ$ и $\varphi=0^\circ$.

Проведенный квантово-химический анализ показал, что химическая природа мостикового хромофора определяет характер электронного сопряжения в диадах **ZnPPh-RB-ZnPPh** и **H₂PPh-RB-H₂PPh** в состоянии T_1 . Показано, что несопряженная бицикло[2.2.2]октановая группировка в мостиковом хромофоре **OB** является эффективным прерывателем электронного сопряжения во всей диаде. При этом, π -сопряженные

мостиковый молекулы **ВВ** и **NB** являются проводниками электронного сопряжения, величина которого зависит от ΔE_{DV} и торсионного угла ω порфирина-мостик. Предложенная процедура оценки электронного сопряжения может быть применена для предсказания эффективности дальнего действия ТППЭ для широкого круга систем типа донор-мостик-акцептор.

Выводы к Разделу 4

Спектры высокого разрешения сопряженных органических молекул, изолированных в низкотемпературных кристаллических матрицах инертных газов, имеют сложную форму и содержат суперпозицию полос отдельных примесных центров. Экспериментальная техника низкотемпературной матричной изоляции в сочетании с спектроскопией высокого разрешения (ИК-спектроскопия, спектроскопия селекции сайтов и выжигания провалов) и методами компьютерной химии (молекулярно-динамическое моделирование и квантово-химические расчеты) позволили интерпретировать электронные и колебательный спектры ряда производных и изомеров порфирина в терминах дискретных сайтов включения и сделать следующие выводы:

1. Усовершенствован комбинированный метод молекулярно-динамического/квантово-химического компьютерного моделирования процесса внедрения молекулы “гостя” в низкотемпературную кристаллическую матрицу инертных газов (Ar и Xe), который позволяет (i) воспроизводить динамику напыления матрицы на жесткую подложку и моделировать процесс встраивание молекулы “гостя” в решетку матрицы, (ii) предсказывать число дискретных сайтов и вероятность формирования индивидуального сайта включения, (iii) оценивать расчетным путем влияние матрицы на ИК- и электронный спектр поглощения молекулы “гостя”.

2. Показано, что встраивание молекулы порфирина в кристаллическую матрицу инертного газа определяется химической природой последней. Так, порфирин встраивается в матрицу ксенона преимущественно в виде

одного доминирующего сайта X(111). В кристаллическом аргоне отсутствует какой-либо один доминирующий сайт, вместо этого наблюдается формирование 4-5 равновероятных сайтов. Наличие доминирующего сайта X(111) в ксеноне может быть объяснено оптимальным совпадением размеров молекулы “гостя” и полости включения сайта, чего не наблюдается ни в одном из сайтов в аргоне. Встраивание молекулы порфицена в кристаллические матрицы аргона и ксенона происходит по сходному механизму, а именно, путем формирования набора главных и второстепенных сайтов. Установлена корреляция между структурной гетерогенностью сайтов включения порфирина в твердом аргоне и спектральной гетерогенностью, наблюдаемой в ИК- и электронных спектрах поглощения.

Физико-химические принципы дальнедействующих эффектов, таких как перенос энергии, электрона или заряда, определяют возможности практического применения диад порфирина, в которых 5,15-ди-*мезо*-арил-октаалкил цинк (II) порфирина-донор ковалентно связан с 5,15-ди-*мезо*-арил-октаалкил порфирином-акцептором через мостиковый хромофор, играющий роль медиатора синглет-синглетного (ССПЭ) и триплет-триплетного (ТТПЭ) переноса энергии. По совокупности спектральных данных и результатов квантово-химических расчетов для изученных диад порфиринов сделаны следующие выводы:

3. Показано, что константа скорости СПЭ электронного возбуждения от цинк(II)-порфирина-донора на порфирин-акцептор может быть представлена в виде двух вкладов - универсального диполь-дипольного и обменно-резонансного, параметры последнего определяются строением мостиковой группировки. Для изученных систем перенос энергии по обменно-резонансному механизму играет доминирующую роль, при этом на константу скорости СПЭ влияет величина энергетического зазора донор-мостик ΔE_{DB} , который зависит от химической природы и размеров мостиковой группировки.

Впервые установлено, что для ССПЭ в серии мостиковых хромофоров *пара*-фенилэтинила **nB** аттеньюирующий фактор β равен 0.25 \AA^{-1} .

4. Установлено, что стерически затрудненные 5,15-ди-мезо-арил-октаалкил порфирины и их комплексы с ионами цинка (II) претерпевают конформационную релаксацию в электронно-возбужденном состоянии T_1 , связанную с переходом из конформации с плоским тетрапиррольным макроциклом T_{1A} в разуплощенную седловидную конформацию T_{1B} . Переход $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$ сопровождается стабилизацией формы T_{1B} на 21-28 кДж/моль, что приводит к уменьшению энергетической разности $\Delta E(T_1-S_0)$ с основным состоянием S_0 . Уменьшение $\Delta E(T_1-S_0)$ обуславливает увеличение вероятности безызлучательной дезактивации посредством интеркомбинационной конверсии $T_1 \rightsquigarrow S_0$ и сокращение времени жизни нижнего триплетного состояния T_1 .

5. Впервые показано, что π -сопряженные мостиковые хромофоры **BB** и **NB** являются эффективными медиаторами дальнего действия ТТПЭ между 5,15-ди-мезо-арил-октаалкил цинк (II) порфирином-донором и 5,15-ди-мезо-арил-октаалкил порфирином-акцептором. В случае, мостикового хромофора **OB**, ТТПЭ в диаде не происходит. ТТПЭ является температурно-зависимым, при этом в растворителях с низкой вязкостью ΔG активации равен 4.2-4.6 кДж/моль. Электронное сопряжение (V_{DA}) между донором и акцептором через мостиковый хромофор **NB** в 2.3 раза больше, чем для мостика **BB**, что подтверждает обменно-резонансный механизм ТТПЭ в этих диадах. В растворителях с высокой вязкостью и в полимерных пленках полистирола константа скорости ТТПЭ значительно снижается, что обусловлено уменьшением эффективного π -электронного сопряжения V_{DA} между порфирином-донором и порфирином-акцептором вследствие заторможенного торсионного вращения π -систем донора, мостика и акцептора.

Основные научные результаты, приведенные в Разделе 4, опубликованы в работах [A1, A3, A16, A22-A24, A26-A29, A32, A58-A59, A61-A62].

РАЗДЕЛ 5

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА И СЕРЕБРА

В данном разделе разработано и валидировано ряд моделей силового поля для гибридных органо/неорганических материалов на основе наночастиц золота и серебра, стабилизированных в водном растворе додекантиолом, поливинилпирролидоном, и поливиниловым спиртом. Изучена природа нековалентных взаимодействий на границе неорганическое ядро-органический лиганд. Показано, что предложенные МД модели позволяют прогнозировать строение, состав и физико-химические свойства новых наноматериалов.

5.1. Поверхностно-функционализированные наночастицы золота

5.1.1. Наночастицы золота, функционализированные додекантиолом

Синтез наночастиц золота, стабилизированных монослоем додекантиола (НЧЗ-додекантиол), выполнен по методике [A7]. Распределение синтезированных наночастиц по размеру было получено при помощи анализа ПЭМ изображения. На рис. 5.1 для НЧЗ-додекантиол показана гистограмма статистического распределения диаметра синтезированных сферических наночастиц, имеющих средний размер 1.39 ± 0.48 нм, которое хорошо аппроксимируется функцией Гаусса. По результатам обработки нелинейным МНК, ее максимумом соответствует 1.29 ± 0.57 нм. Известно, что ПЭМ изображения наночастиц благородных металлов предоставляют информацию о размерах их неорганического ядра, однако, в этих данных отсутствует непосредственная информация о строении и упаковке лигандов, образующих монослой вокруг ядра [140, 364, 365]. Поэтому, с целью получения полной картины строения НЧЗ-додекантиола на молекулярном уровне, в рамках

метода классического МД моделирования была разработана соответствующая компьютерная модель НЧЗ-додекантиол [А7].

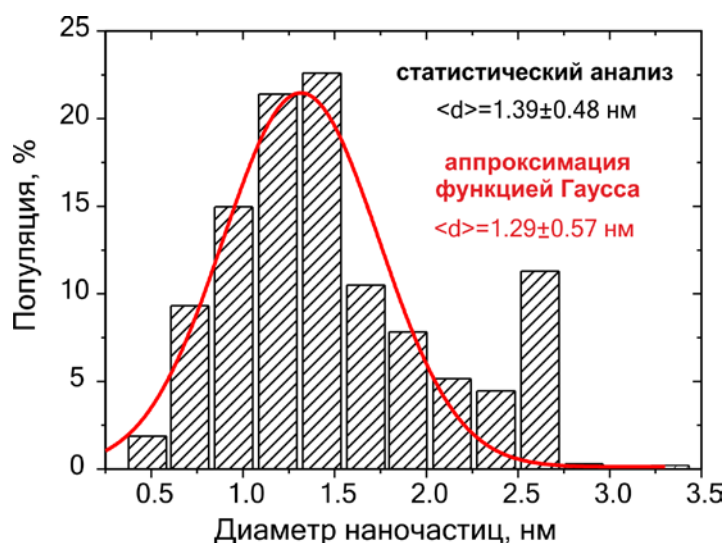


Рис. 5.1 Распределение по размерам синтезированных НЧЗ-додекантиол, полученное анализом ПЭМ изображения.

На рис. 5.2 показана схема построения полноатомной модели НЧЗ-додекантиол. Она основана на неорганическом ядре, которое состоит из атомов Au. Вокруг ядра располагаются конъюгаты додекантиола - Au-S-додецил. На рис. 5.2 (слева) показан конъюгат Au-S-додецил в *анти*-конформации для всех атомов карбона углеводородной цепи. Для описания равновесной геометрии додецильного радикала, длин его ковалентных связей, валентных углов и потенциалов торсионного вращения, была использована параметризация силового поля CHARMM27 [230]. Самосборка НЧЗ-додекантиол выполнялась по следующей процедуре: (1) вначале конструировалась стартовая конфигурация, в которой определенное число конъюгатов Au-S-додецил располагались симметрично вокруг золотого ядра (рис. 5.2 (справа)), (2) стартовая конфигурация подвергалась процедуре минимизации энергии, в процессе которой конъюганты Au-S-додецил притягивались к ядру наночастицы под действием потенциала Леннард-Джонса, и при этом, их додекантиольные радикалы равномерно распределялись вокруг ядра.

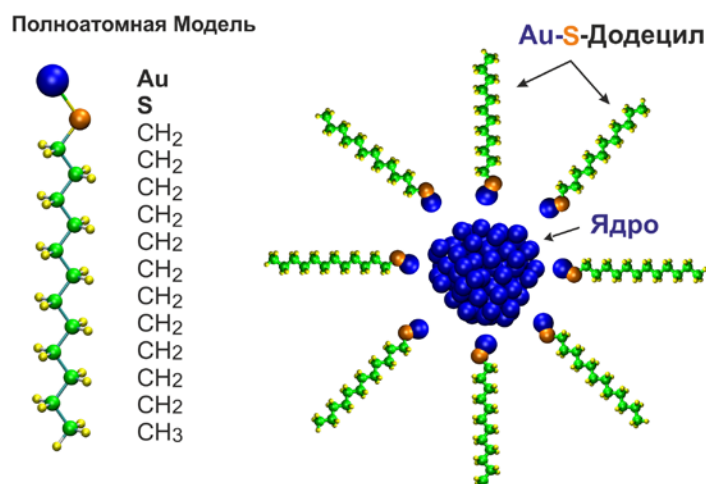


Рис. 5.2 Схема построения полноатомной МД модели для НЧЗ-додекантиол.

Основным критерием при построении и последующей валидации МД модели являлось соответствие между экспериментальным диаметром золотого ядра наночастицы, рассчитанным из данных ПЭМ изображений (рис. 5.1), и соответствующим диаметром, полученным по результатам МД моделирования. Следует отметить, что в процессе МД моделирования, при усреднении диаметра ядра учитывались все атомы золота, т.е. как “свободные атомы”, составляющие металлическую основу ядра, так и атомы Au, входящие в состав конъюгатов Au-S-додецил.

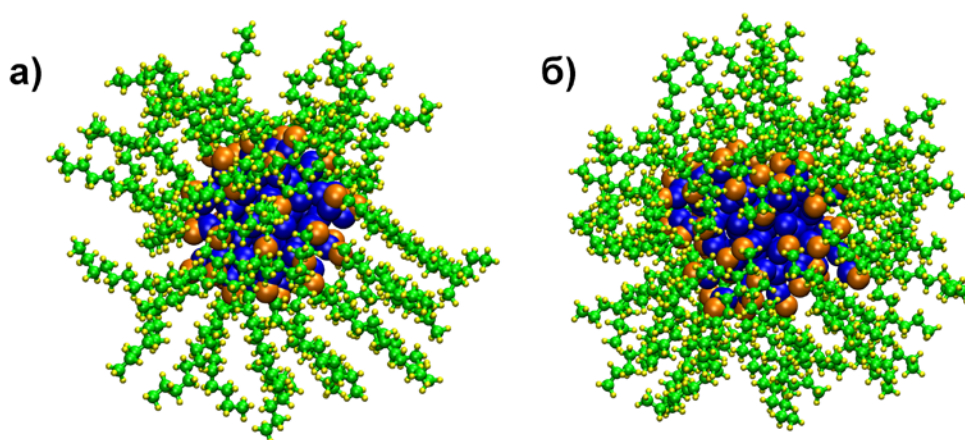


Рис. 5.3 Пример двух стабильных МД конфигураций НЧЗ-додекантиол с различным соотношением Au:Au-S-додецил: (а) 47:38 и (б) 35:50.

Равновесное строение и упаковка монослоя додекантиола, сформированного вокруг ядра НЧЗ, получено при помощи МД моделирования в NTP ансамбле. Рассмотрен набор конфигураций НЧЗ-додекантиол в толуоле, в которых соотношение Au:Au-S-додецил варьировалось в пределах от 60:25 до 25:60. Во всех конфигурациях Au:Au-S-додецил общее число атомов золота составляло 85, что соответствует среднему диаметру золотого ядра 1.4 нм.

Среди полученных моделей, стабильными оказались только конфигурации НЧЗ-додекантиол с соотношением Au:Au-S-додецила в пределах от 47:38 до 35:50. Строение некоторых типичных моделей показано на рис. 5.3.

В тех случаях, если соотношение Au:Au-S-додецил выходило за пределы указанного интервала, наблюдалось неполное покрытие ядра наночастицы монослоем лиганда или упаковка додекантиольных остатков вокруг ядра оказывалась настолько плотной, что это приводило к вытеснению отдельных молекул лиганда за пределы монослоя в раствор. Для стабильных МД конфигураций НЧЗ-додекантиол средний диаметр неорганического ядра наночастицы хорошо со-

гласовался с экспериментальным ПЭМ-диаметром 1.4 нм, как показано на рис. 5.4.

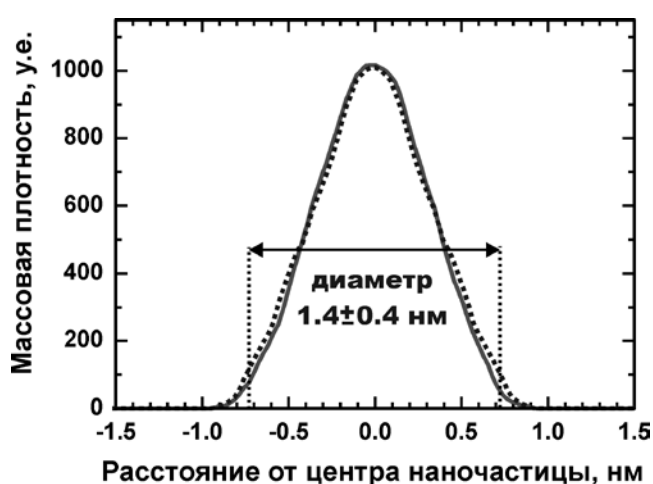


Рис. 5.4 Валидация МД модели НЧЗ-додекантиол. Диаметр, рассчитанный для двух различных конфигураций НЧЗ-додекантиол (47:38 (сплошная линия) и 35:50 (пунктирная линия), см. рис. 5.3)

Синтез наночастиц золота (НЧЗ-додекантиол) более крупного размера (3-4 нм) был также выполнен по методике [А7] [366]. Известно, что с увеличением размеров золотого ядра, в электронных спектрах поглощения растворов наночастиц золота наблюдается появление длинноволновой полосы, обусловленной резонансным плазмонным поглощением [140, 203, 204]. В случае синтезированных НЧЗ, максимум полосы плазмонного поглощения в *n*-гексане проявился при ~516 нм (рис. 5.5). Этот хорошо согласуется с литературными данными для НЧЗ, стабилизированных алкилтиольными лигандами, имеющими диаметр ядра в интервале 3-8 нм [203]. Средний диаметр синтезированных нами подобных наночастиц НЧЗ-додекантиол составил 3.4 нм [А30]. Расчет выполнен по электронному спектру поглощения, при помощи процедуры, описанной в

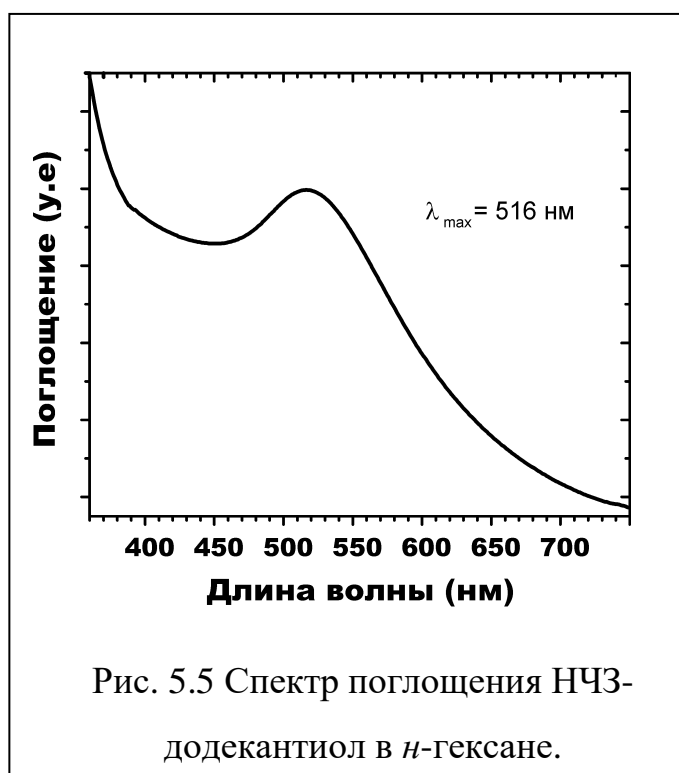


Рис. 5.5 Спектр поглощения НЧЗ-додекантиол в *n*-гексане.

Разделе 2.3. В дополнении к электронным спектрам поглощения, средний диаметр НЧЗ-додекантиол был также определен по ПЭМ снимкам и составил 3.75 ± 0.06 нм (статистическая выборка 1561 НЧЗ) [А30]. Число атомов золота в ядре наночастицы было рассчитано, исходя из ее диаметра по ур. 2.1. Для НЧЗ диаметром 3.75 ± 0.06 нм ядро должно состоять из 1630 ± 80 атомов золота.

Как упоминалось ранее, ПЭМ изображения не содержат прямой информации о структуре стабилизирующего покрытия наночастицы. В ряде работ показано, что при высушивании растворов НЧЗ на графитовой подложке они способны к двумерной 2D-самоассоциации, в процессе которой формируется

монослой из достаточно плотно упакованных наночастиц [367, 368]. Наличие подобных 2D-агрегатов НЧЗ в ПЭМ снимках позволило нам разработать метод оценки толщины и плотности упаковки монослоя, окружающего ядро наночастицы [A30]. Метод основан на оценке расстояния минимального сближения между двумя наночастицами, которое регулируется плотностью упаковки додекантиольных радикалов, а также позволяет прогнозировать усредненную конформацию углеводородных радикалов лиганда. На рис. 5.6 показан снимок ПЭМ, в котором проявляются характерные гептамеры, образованные НЧЗ-додекантиолом. Средний размер гептамера составляет 14.8×13.3 нм, а расстояние минимального сближения между поверхностями ядер соседних наночастиц варьируется в диапазоне от 2 до 3 нм (рис. 5.6). Усреднение по нескольким снимкам позволило рассчитать толщину монослоя додекантиола равную 1.3 нм. Это значение хорошо согласуется с данными квантово-химического расчета, согласно которому длина углеводородного радикала в додекантиоле в полностью-*анти* конформации, рассчитанная как расстояние между атомом сульфура и атомом карбона концевой метильной группы додецильного радикала, составляет 1.5 нм [A30].

Экспериментальные данные о размерах неорганического ядра синтезированных наночастиц и толщине монослоя додекантиольного покрытия взяты за основу при разработке МД модели НЧЗ-додекантиол. При этом принимался во внимание тот факт, что компьютерная модель должна быть масштабируема по размеру и применима к моделированию самоорганизации целого ансамбля наночастиц на поверхности инертной подложки. Разработанная нами ранее полноатомная МД модель НЧЗ-додекантиол в формате силового поля CHARMM27 является довольно громоздкой для этих целей, поэтому, обсуждаемая модель требовала некоторого упрощения, с неизбежной потерей детализации атомно-молекулярной структуры НЧЗ-додекантиол.

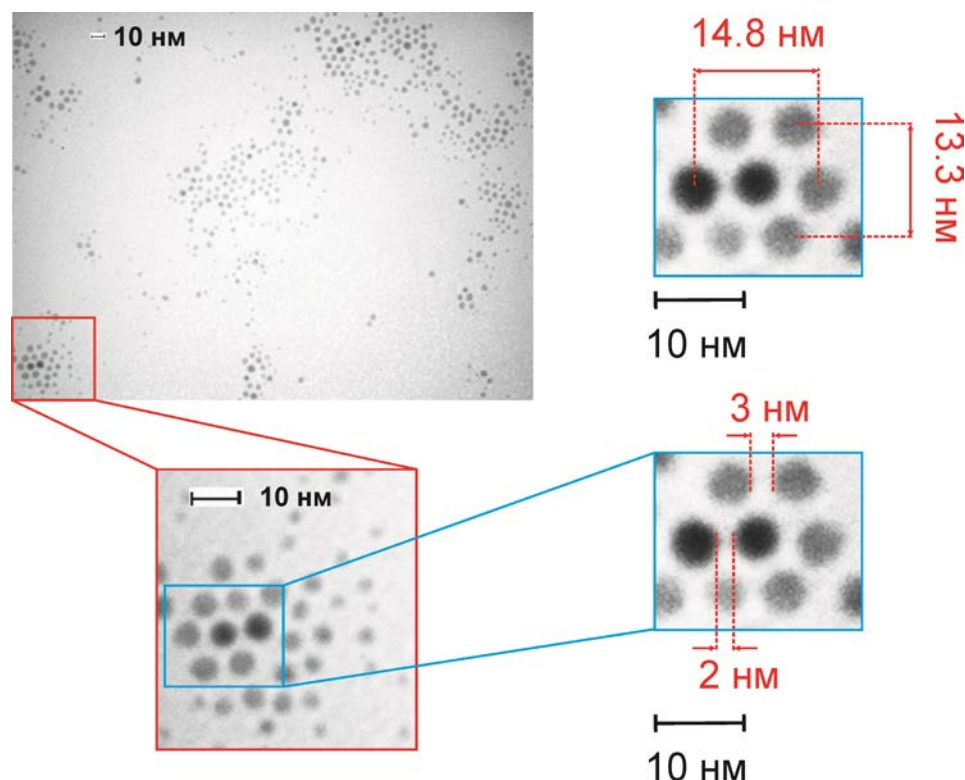


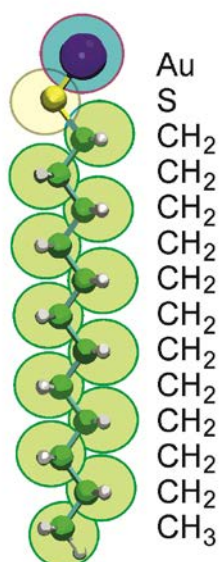
Рис. 5.6 ПЭМ снимок НЧЗ-додекантиол, демонстрирующий образование гептамерных агрегатов из отдельных наночастиц. Увеличенные фрагменты снимка ПЭМ позволяют оценить толщину монослоя додекантиола.

В современных компьютерных методах моделирования наноматериалов широкую популярность приобрел подход, в котором несколько соседних атомов объединяются в новый общий центр взаимодействия, приводя в конечном счете к существенной экономии компьютерных ресурсов. В зависимости от числа атомов, объединяемых в такой общий центр, и степени фрагментированности новообразованных центров взаимодействия, были предложены различные схемы укрупнения “зернистости” системы, получившие в англоязычной литературе название coarse graining [220, 369, 370].

На рис. 5.7 представлена схема построения “среднезернистой” МД модели НЧЗ-додекантиол. В ней группировки атомов CH_2 и CH_3 объединены, каждая в свой отдельный обобщенный “суператом” (как показано на рис. 5.7(слева) в виде прозрачных сфер), который представлял собой отдельный центр нековалентных взаимодействий со своим набором параметров

Леннард-Джонса. Атом S и все атомы Au, как те, которые входят в состав конъюгата Au-S-додецил, так и отдельные атомы Au в составе кристаллического ядра наночастицы, моделировались в атомном приближении. Для описания нековалентных взаимодействий между атомом S, “обобщенными группировками” CH₂ и CH₃ нами использовалась параметризация “среднезернистого” силового поля MARTINI (версия 2.1) [371, 372], в котором для этих группировок выбраны наиболее близкие по химической природе “суператомы” (*от англ. coarse grain beads*).

Среднезернистая Модель Au-S-Додецил



МД Модель НЧЗ-Додекантиол

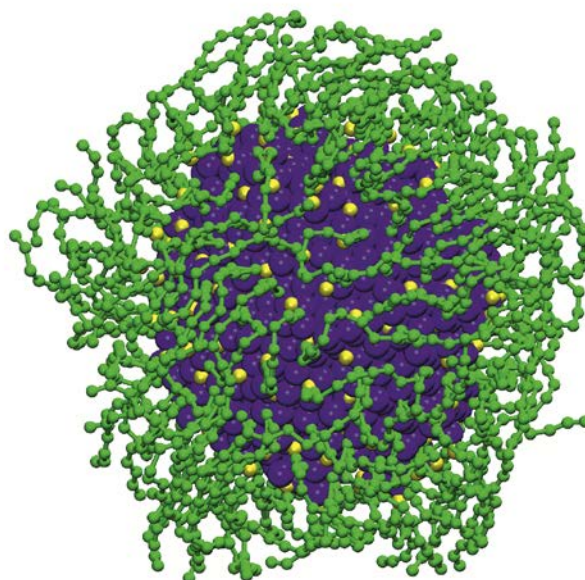


Рис. 5.7 Среднезернистая МД модель конъюгата Au-S-додецила (*слева*) и равновесная конфигурация НЧЗ-додекантиол (*справа*).

Силовое поле MARTINI не содержит параметров для золота, поэтому для межатомного взаимодействия Au-Au нами были разработаны и предложены следующие значения: $\sigma=0.26$ нм и $\epsilon=13.6$ кДж/моль, которые воспроизводят экспериментальное межатомное расстояние Au-Au в кристаллическом золоте, равное 0.288 нм [373]. Параметры ковалентных взаимодействий в Au-S-додециле (длины связей, углы и торсионные потенциалы)

рассчитаны для полноатомной молекулы $\text{Au-S-(CH}_2\text{)}_{11}\text{-CH}_3$ методом функционала электронной плотности B3PW91 с базисным набором ss-pVDZ для всех атомов, кроме Au, в случае которого применялся базисный набор и эффективный псевдопотенциал LANL2DZ [213]. Параметры σ и ϵ , а также силовые константы ковалентного взаимодействия в Au-S-додециле представлены в работе [A30]. Как упоминалось ранее, НЧЗ диаметром 3.75 ± 0.06 нм должна состоять из 1630 ± 80 атомов золота. Поэтому, был сгенерирован ряд начальных конфигураций НЧЗ-додекантиол, в которых общее число атомов Au равнялось 1630, но соотношение атомов Au в ядре и атомов Au, входящих в состав конъюгатов Au-S-додецил, окружающих квазисферическое золотое ядро, варьировалось в диапазоне от 1200:430 до 1550:80 [A30].

Построение начальной конфигурации и ее уравнивание выполнялось согласно процедуре, описанной ранее для полноатомной модели НЧЗ-додекантиол. Учитывая тот факт, что основной целью создания МД модели НЧЗ-додекантиол являлось моделирование самосборки ансамбля НЧЗ на графитовой подложке в режиме экономии вычислительных ресурсов, разработанная модель была оптимизирована для моделирования в отсутствие растворителя. Сгенерированный набор начальных конфигураций НЧЗ-додекантиол моделировался в условиях NPT ансамбля при $T=298$ К на протяжении 100 нс. Результаты моделирования показали, что равновесная конфигурация НЧЗ-додекантиол состоит из 1500 свободных атомов Au, формирующих сферическое ядро, окруженное 130 молекулами конъюгата Au-S-додецила, как показано на рис. 5.7(*справа*). По результатам усреднения МД траектории, средний диаметр золотого ядра составил 3.75 ± 0.12 нм [A30].

На рис. 5.8 показана функция радиального распределения (ФРР) $g(r)$, рассчитанная методом МД моделирования для атомов золота в ядре наночастицы НЧЗ-додекантиол. ФРР характеризует ближний порядок во взаимном расположении атомов золота в ядре. Форма кривой $g(r)$,

показанной на рис. 5.7, а именно, положение пиков, их полуширина и относительная интенсивность, является характерными для кристаллического золота, находящегося в гранецентрированной кубической ячейке [373]. Первый пик в $g(r)$ расположен при $2.88 \pm 0.06 \text{ \AA}$, что соответствует экспериментальному значению [373]. Полученный результат хорошо согласуется с современным представлением о строении ядра наночастиц золота [141] и подтверждает адекватность разработанной нами МД модели.

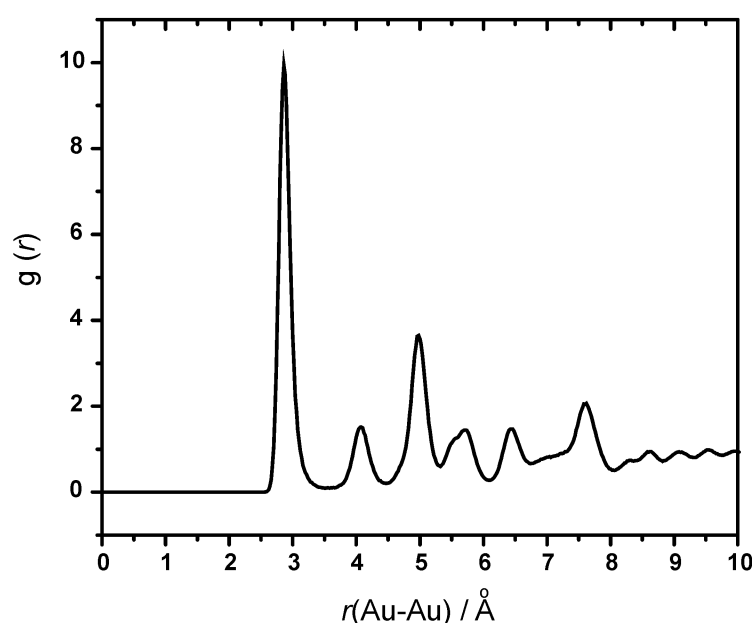


Рис. 5.8 Функция радиального распределения $g(r)$, рассчитанная для расстояния Au-Au в НЧЗ-додекантиол.

МД моделирование самосборки НЧЗ-додекантиол было выполнено на графитовой подложке, которая моделировалась как жесткий монослой графита с гранью (111), в котором выполнено укрупнение “зернистости” по схеме 4:1 (замена 4 соседних углеродных атомов на один обобщенный “суператом”). Общее число графитовых “суператомов” составило 14512. Моделирование самосборки выполнено для ансамбля, состоящего из 14 НЧЗ-додекантиол, расположенных в начальный момент времени на расстоянии 1–3 нм над графитовой подложкой. На рис. 5.9 показаны начальная конфигурация ансамбля НЧЗ-додекантиол (*слева*) и конечная самоорганизованная

2D-упаковка (*справа*), полученная по окончании МД моделирования длительностью 200 нс. В самособранном ансамбле НЧЗ отчетливо проявляются хорошо сформированные гептамеры. В качестве примера, на рис. 5.9 (*справа*) пунктирной линией показан гептамер с размерами 14.7×13.3 нм, которые хорошо согласуются с экспериментальными значениями (рис. 5.6).

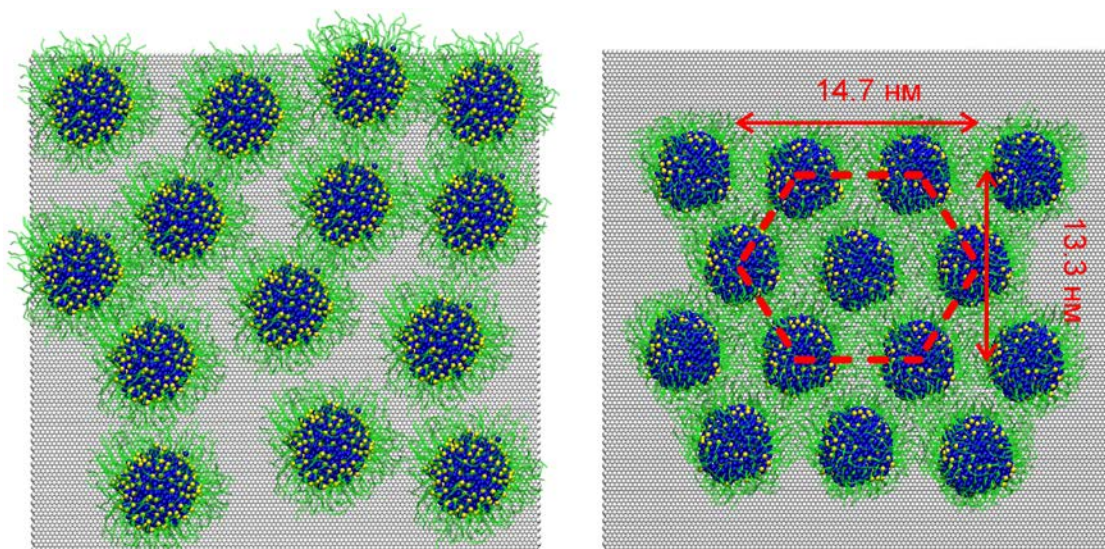


Рис. 5.9 МД моделирование самоорганизации НЧЗ-додекантиол на поверхности графита. (*слева*) Начальная конфигурация. (*справа*) Пример ансамбля НЧЗ-додекантиол после 200 нс.

На рис. 5.10 показано наложение структуры гептамеров НЧЗ-додекантиол, полученных в результате МД моделирования, на экспериментальный ПЭМ снимок. Из рис. 5.10 видно хорошее соответствие самоорганизованных ансамблей НЧЗ-додекантиол, как по форме, так и по размерам, что служит дополнительным свидетельством в пользу того, что в экспериментальных ПЭМ снимках наблюдались монослои наночастиц и отсутствовали агрегаты более сложного состава.

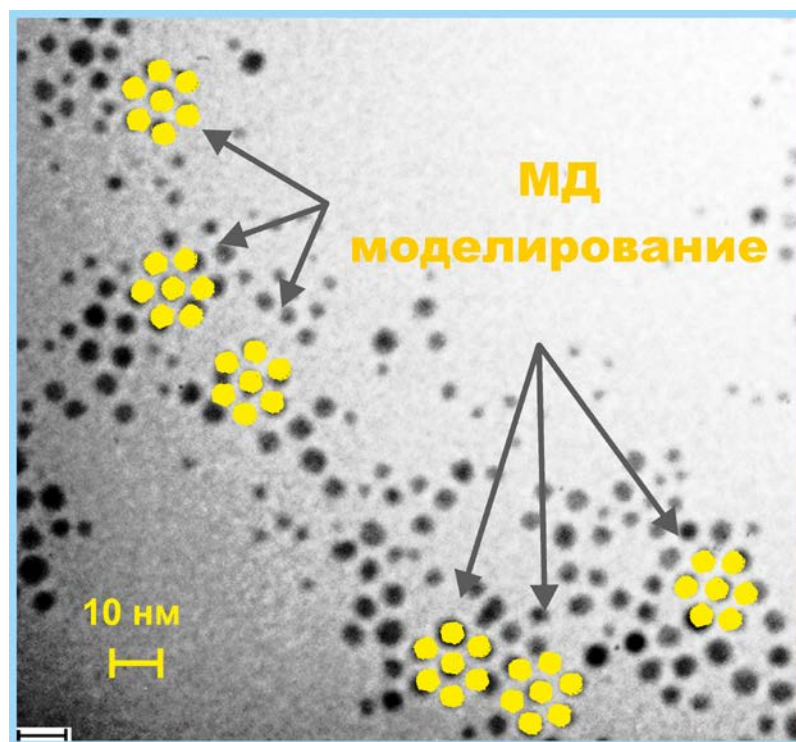


Рис. 5.10 Сравнение структуры самособранных гептамеров НЧЗ-додекантиол, наблюдаемых в ПЭМ изображении и полученных в результате МД моделирования.

В настоящем разделе подробно описана методика параметризации, построения и валидации полноатомной и среднезернистой МД модели для классического МД моделирования НЧЗ-додекантиол. Установлено, что для НЧЗ с диаметром 1.4 нм неорганическое ядро состоит из 85 атомов золота, при этом устойчивые конфигурации НЧЗ-додекантиол соответствуют соотношению $Au:Au-S$ -додецила от 47:38 до 35:50. Для НЧЗ диаметром 3.75 нм ядро содержит 1630 атомов золота, при этом устойчивые конфигурации НЧЗ-додекантиол соответствуют соотношению $Au:Au-S$ -додецила от 1200:430 до 1550:80. Показано, что предложенные МД модели можно использовать для интерпретации ПЭМ снимков, установления строения и морфологии слоев НЧЗ-алкилтиол, адсорбированных на графитовых подложках.

5.1.2 Нанозолото, декорированное пептидом pHILIP

В недавних работах [374-376] предложен новый подход в диагностике изменения кислотного состава клеток *in vivo*, в котором ключевую роль играет 35-аминокислотный фрагмент белка бактериородопсина, обозначаемый как С-спираль. Этот пептид, получивший название pHILIP (*pH (Low) Insertion Peptide*), обнаружил способность к реализации последовательности рН-индуцированных структурных превращений, приводящих к его быстрому встраиванию и фолдингу в липидных мембранах [A36] [377]. Конечной целью этих конформационных переходов является формирование пространственно жесткой α -спирали, пронизывающей насквозь липидный бислой клеточной мембраны. Данный процесс реализуется наиболее эффективно в узком диапазоне рН от 6.5 до 7.4 [378], который является важным с физиологической точки зрения. Последнее обстоятельство позволяет применять пептид pHILIP, как новую платформу при разработке систем адресной доставки лекарственных препаратов [147, 375, 379-381]. В качестве дополнительного преимущества следует отметить то обстоятельство, что встраивание pHILIP в мембрану происходит однонаправленно, а именно, пептид всегда встраивается в липидный бислой своим С-концом. В результате, после встраивания pHILIP в мембрану присоединенные к его N-концу флуоресцентный маркер или наночастица остаются на внешней поверхности и не проникают внутрь клетки, что не вызывает побочных цитотоксичных эффектов [376]. Практическое применение данной биотехнологии было недавно продемонстрировано на примере рН-контролируемой доставки и внедрения наночастицы золота, которая была функционализирована пептидом pHILIP [147, 380, 382-386]. Несмотря на широкую популярность, которую приобрел пептид pHILIP при разработке средств адресной доставки лекарственных наноконъюгатов, их строение и механизм клеточного действия во многих случаях остаются не до конца выясненным [387, 388].

В ряде недавних работ [390-392] показано, что предсказание третичной структуры и фолдинга полипептидов в растворе при помощи методов МД моделирования является нетривиальной задачей, поскольку эти физико-химические свойства могут зависеть от многих факторов, включая параметризацию силового поля биомолекулы и растворителя. В связи с этим, МД параметризация пептида рНLIP была выбрана на основе пяти популярных биомолекулярных полноатомных силовых полей из семейства AMBER, OPLS и CHARMM. Для совместимости с силовым полем GROMOS также была адаптирована параметризация G53A6 (табл. 5.1). Для уравнивания заряда пептида в моделируемом растворе присутствовали ионы фонового электролита NaCl в концентрации 0.1 М.

Таблица 5.1

Параметры МД моделирования НЧЗ-рНLIP

Силовое поле	Число ионов Na ⁺	Число ионов Cl ⁻	Число молекул воды	МД модель воды	Размер МД ячейки (Å)
AMBER03-AA	30	25	13427	TIP4P	75.0×75.0×75.0
OPLS-AA	30	25	13430	TIP3P	75.3×75.3×75.3
CHARMM22*-AA	30	25	13430	TIP3P	75.3×75.3×75.3
CHARMM27-AA	30	25	13430	TIP3P	75.3×75.3×75.3
CHARMM36-AA	30	25	13430	TIP3P	75.3×75.3×75.3
GROMOS G53A6	26	21	11037	SPC	70.8×70.8×70.8

Строение НЧЗ-рНLIP. Динамика взаимодействия пептида рНLIP с ядром НЧЗ, рассчитанная в рамках силовых полей AMBER03 и G53A6, показана на рис. 5.12 и 5.13, соответственно. В начальный момент МД моделирования, пептид находился в развернутой линейной конформации. По мере температурного уравнивания наблюдалась постепенная адсорбция пептидной цепи на поверхности золота (рис. 5.12а и 5.13а). Динамика

адсорбции pHIP может быть прослежена по изменению числа контактов Au-пептид и Au-вода, как показано на рис. 5.12б и 5.13б. Для двух различных силовых полей наблюдалась схожая динамика: в интервале 0-50 нс число контактов Au-пептид возрастало и достигало плато на уровне 183 ± 9 (AMBER03) и 109 ± 8 (G63A6), в этом же временном интервале число контактов Au-вода синхронно уменьшалось, выходя на постоянные значения 435 ± 36 (AMBER03) и 230 ± 60 (G63A6), соответственно.

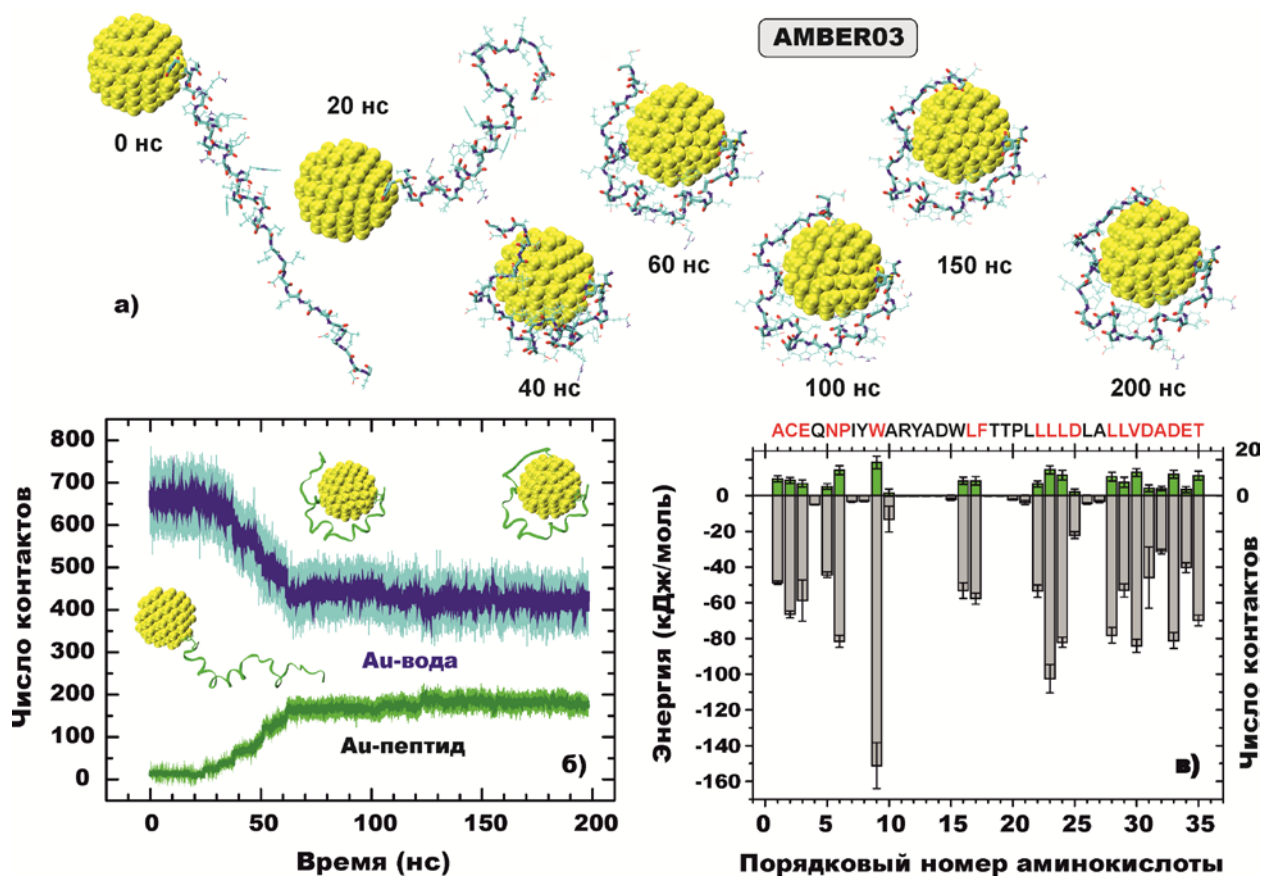


Рис. 5.12 МД моделирование НЧЗ-pHIP в силовом поле AMBER03.

В литературе было показано [393], что адсорбция всего полипептида на поверхности золота обусловлена присутствием в нем определенных аминокислот, обладающих высокой сорбционной способностью, которая в свою очередь, обусловлена наличием функциональных групп $-\text{SH}$, $-\text{OH}$ и т.д. Поэтому, считается, что общая сорбционная активность всего пептида определяется наличием и относительным содержанием таких аминокислот в

его первичной структуре [394]. В современной литературе отсутствует единая общепризнанная шкала сорбционной активности природных аминокислот на поверхности золота. Среди наиболее часто встречаемых функциональных фрагментов, обладающих высокой степенью адсорбции, упоминаются положительно заряженные группы и ароматические кольца в таких аминокислотах как Arg, Trp, Tyr, и His [393, 395, 396]. Эта тенденция подтверждается фактом, что небольшие алифатические и отрицательно заряженные группы обладают слабыми адсорбционными свойствами [395].

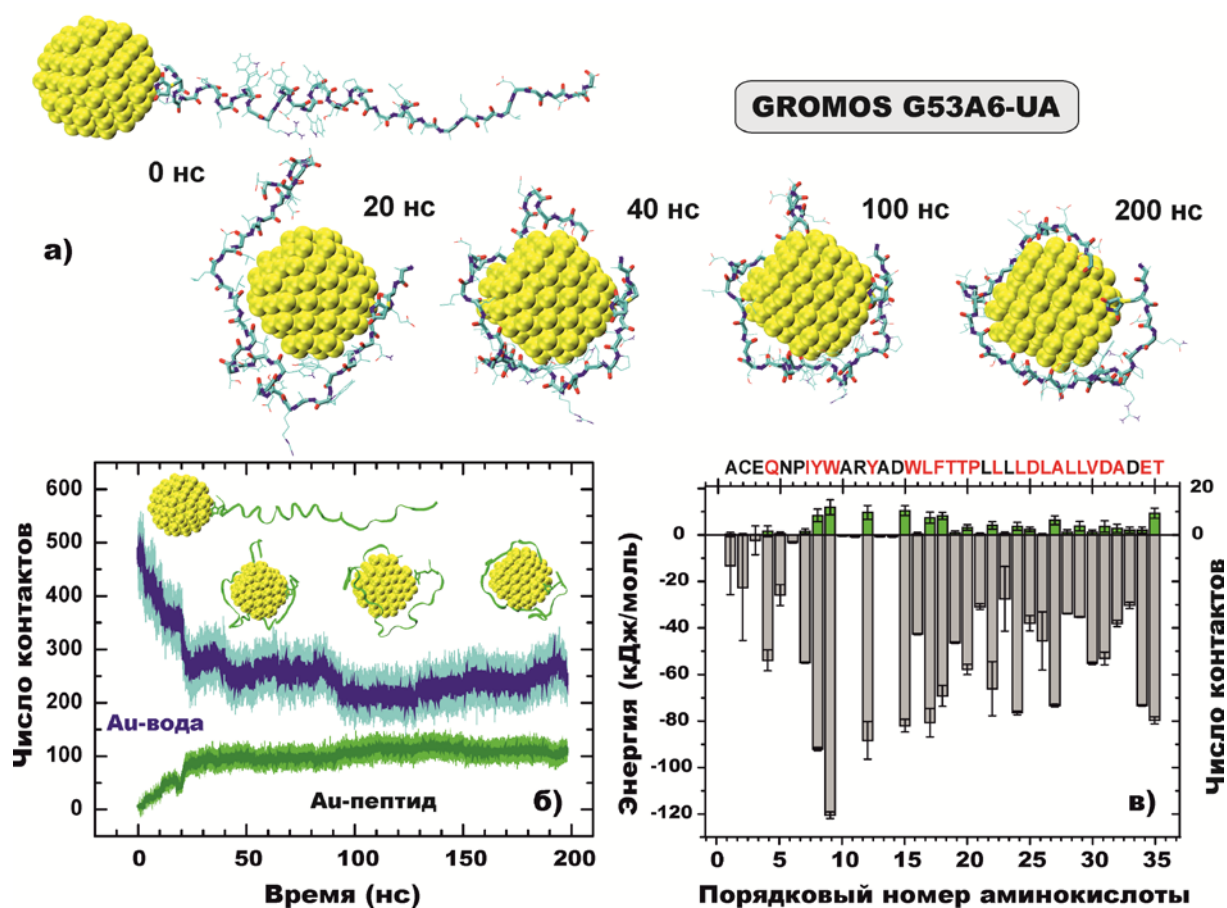


Рис. 5.13 МД моделирование НЧЗ-pHLIP в силовом поле G53A6.

В случае НЧЗ-pHLIP адсорбция пептидной цепи на поверхности золота реализовывалась преимущественно за счет отдельных аминокислотных остатков, которые служили в качестве “якорных” центров (*от англ.* anchoring sites), после чего происходило связывание остальной части пептидной цепи с поверхностью наночастицы (рис. 5.12а и 5.13а). Анализ энергии адсорбции

индивидуальных аминокислотных остатков, рассчитанной для равновесной конфигурации НЧЗ-pHLIP (рис. 5.12*в* и 5.13*в*), подтверждает эту гипотезу. Силовое поле AMBER03 предсказывает, что в качестве “якорных” выступают аминокислотные остатки W9, L23, V30 и D33, соответственно. В силовом поле G53A6 такими остатками являются W9, Y13, и группа остатков Lys и Val в пептидной последовательности от 19 до 27 (рис. 5.13*в*).

Известно, что адсорбционная способность определенного пептида на поверхности золота не может быть оценена, как простая арифметическая сумма адсорбционных вкладов его отдельных аминокислот [153]. Установлено, что существенную роль также играют такие факторы, как первичная и третичная структура, а также конформационная гибкость пептида [397-400]. Дополнительными факторами, влияющими на общую адсорбционную способность пептида, выступают также форма и морфология самой поверхности НЧЗ [397, 401-405]. В ряде работ было показано, что процесс адсорбции пептидов конкурирует с процессами адсорбции молекул растворителя на поверхности НЧЗ, создавая дополнительный энергетический барьер [406].

Сравнительный анализ результатов МД моделирования показывает, что использованные силовые поля можно условно разделить на две группы (рис. 5.14): (i) “гидрофобные” МД поля – G53A6, CHARMM22 и AMBER03, в результате применения которых пептид адсорбируется на поверхность НЧЗ при помощи двух гидрофобных сегментов пептидной цепи 5-9 и 21-35 (рис. 5.11 и 5.14). (ii) “гидрофильные” МД поля – OPLS-AA, CHARMM27 и CHARMM36, в которых пептид адсорбируется на поверхности НЧЗ при помощи только первого гидрофобного сегмента пептидной цепи 5-9, а остальная часть цепи находится в растворе в виде неупорядоченного клубка. В литературе известна подобная классификация силовых полей [392]. Вместе с тем, было отмечено, что силовые поля CHARMM27 и CHARMM36 содержат дополнительную параметризацию для водорастворимых пептидов и

белков, и, следовательно, могут завышать тенденцию нахождения пептида pHLP в водном растворе [392].

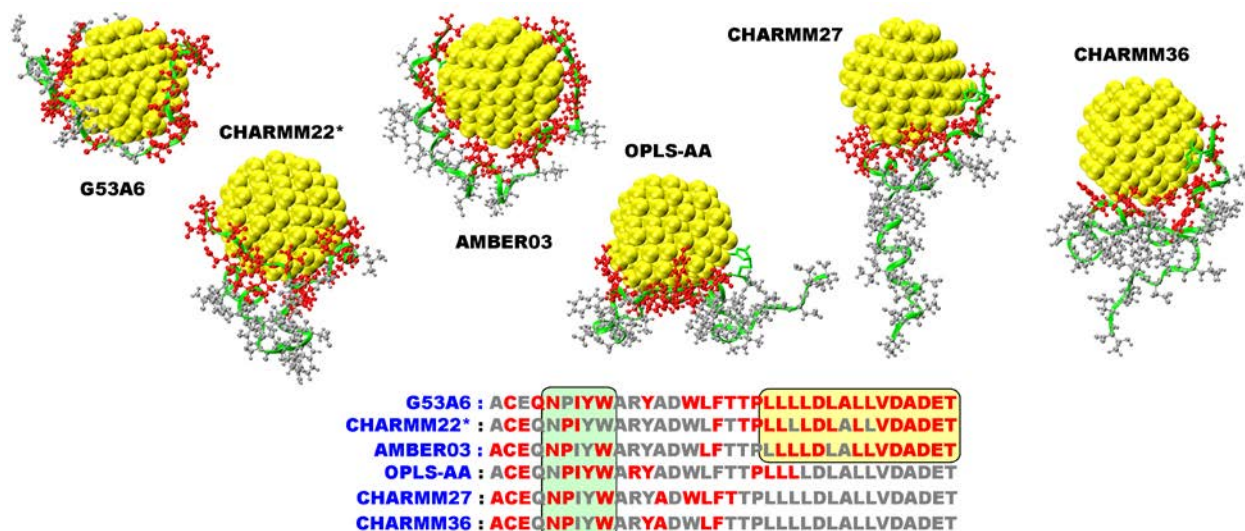


Рис. 5.14 Сравнение адсорбционных центров pHLP на поверхности НЧЗ, полученных в различных силовых полях [A8].

Адсорбция триптофановых остатков на поверхности НЧЗ. Изменение интенсивности триптофановой флуоресценции является удобным аналитическим сигналом, который часто используется для мониторинга фолдинга и агрегации пептидов в растворе [377]. Высокая чувствительность триптофановой флуоресценции к изменению гидрофобности сольватного окружения применяется также для исследования мембранного связывания пептида в нейтральном растворе, а также его последующего встраивания в липидный бислой в кислой среде в диапазоне pH 4-6 [A36] [407, 408]. Использование триптофановой флуоресценции в аналитических целях в случае НЧЗ-pHLP оказалось затруднительным из-за очень низкого квантового выхода, что свидетельствует о значительном тушении золотом возбужденного состояния триптофана [384]. Структура НЧЗ-pHLP в растворе не была изучена, однако было выдвинуто предположение о геометрической близости триптофановых ароматических колец к поверхности золота [384].

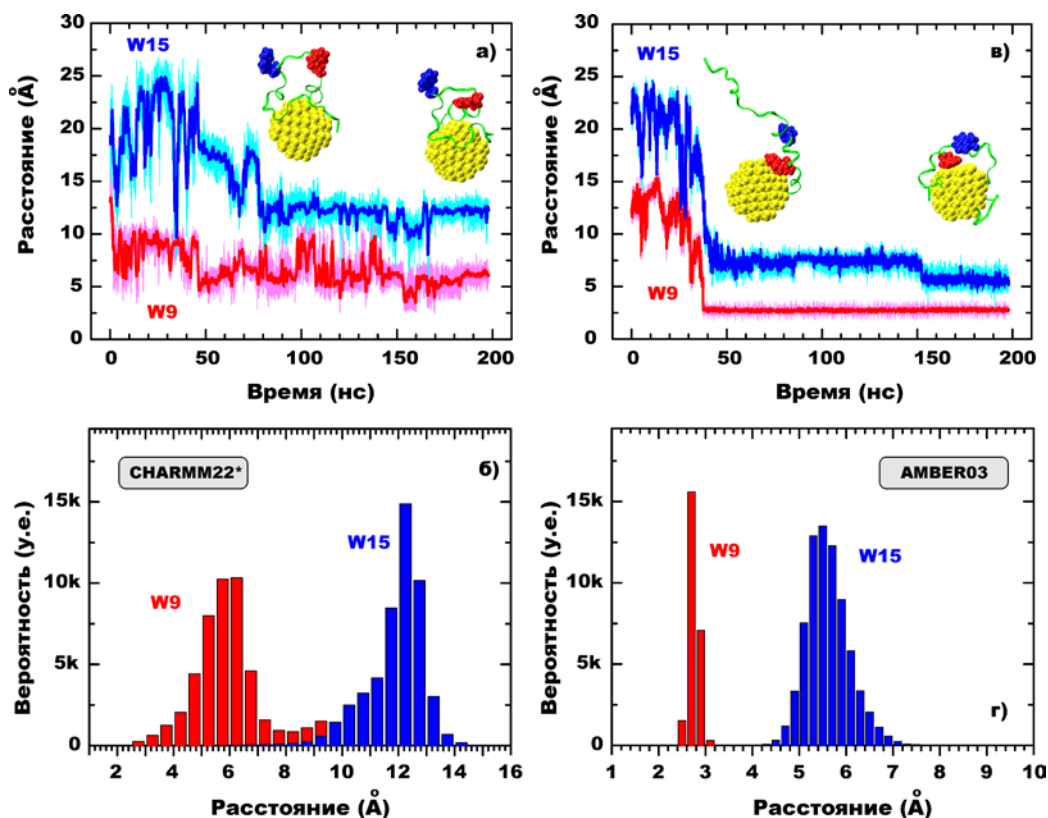


Рис. 5.15 Динамика изменения расстояния триптофановых остатков W9 и W15 (а и в) и гистограмма расстояния флуорофор-золото (б и г) в НЧЗ-rHLIP, рассчитанные в силовых полях CHARMM22* (а-б) и AMBER03 (в-г) [A8].

В связи с вышеупомянутыми наблюдениями была проанализирована динамика изменения расстояния от центра масс ароматической системы триптофана W9 и W15 до поверхности ядра НЧЗ, как показано на рис. 5.15. Динамика изменения расстояния флуорофор-золото, наблюдаемая при МД моделировании НЧЗ-rHLIP в двух различных силовых полях CHARMM22* и AMBER03 (рис. 5.15), показывает общую тенденцию - при сворачивании, фолдинге и последующей адсорбции пептида на ядро наночастицы оба триптофановых остатка W9 и W15 сближаются с поверхностью НЧЗ на расстояния, меньшие, чем 12 Å. В табл. 5.2 обобщены средние расстояния флуорофор-золото для равновесных пространственных конфигураций НЧЗ-rHLIP, полученные по результатам МД моделирования в различных силовых

полях. Согласно этим данным, центр масс триптофанового остатка W9 находятся на расстоянии 3-5 Å от поверхности наночастицы, при этом ароматическое кольцо индола сорбируется на кристаллическую поверхность золота (5.15в). Большинство рассмотренных силовых полей предсказывают, что триптофановый остаток W15 должен находится на расстоянии ~6 Å от поверхности золота (табл. 5.2). Таким образом, *все использованные силовые поля воспроизводят экспериментальный факт близкого контакта триптофановых остатков с ядром НЧЗ* [384].

Таблица 5.2

**Среднее расстояние (Å) от триптофанового остатка в НЧЗ-pPLIP
до поверхности золота**

Силовое поле/Модель воды	W9-Au	W15-Au
AMBER03/TIP4P	2.7±0.2	5.5±0.3
OPLS-AA/TIP3P	2.7±0.1	5.7±0.6
CHARMM22*/TIP3P	6.1±0.3	12.3±0.3
CHARMM27/TIP3P	2.9±0.2	5.9±0.4
CHARMM36/TIP3P	5.5±0.2	5.8±0.3
G53A6/SPC	2.9±0.2	2.7±0.2

В литературе для нанокластеров золота, стабилизированных в растворе белковыми молекулами, также обнаружено существенное тушение флуоресценции триптофановых остатков белка, что позволило оценить расстояние триптофана от центра нанокластера в интервале 23.8 Å - 24.8 Å [409]. Несмотря на тот факт, что в настоящее время в литературе нет единого мнения относительно природы и механизма тушения флуоресценции в таких системах, ряд результатов указывают на то, что флуоресценция триптофановых остатков белков и протеинов существенно тушится при близком (<20 Å) контакте флуорофора с поверхностью наночастицы золота [410].

Перспективные направления в области МД моделирования НЧЗ.

В недавних исследованиях был предложен целый ряд усовершенствованных силовых полей и новых схем учета нековалентных взаимодействий на границе неорганического ядра наночастицы с органическими лигандами или биополимерами, такими как GoIP [411] и GoIP-CHARMM [412, 413]. В указанные силовые поля включены дополнительные параметры, позволяющие учитывать селективную адсорбцию на различные грани кристаллической решетки золота, такие как Au(111) и Au(100). В качестве перспективных направлений рассматривается разработка силовых полей, учитывающих наличие эффективного заряда на атомах золота и поляризуемость всей поверхности наночастицы.

В данном разделе разработана и валидирована атомистическая МД модель НЧЗ-rHLIP в водном растворе, в которой параметризация пептида основана на ряде известных биомолекулярных силовых полей. Показано, что пептид rHLIP адсорбируется на поверхности НЧЗ за счет гидрофобного сегмента пептидной цепи NPIYW (5-9 аминокислотные остатки) в виде неструктурированного неупорядоченного клубка. Триптофановые остатки W9 и W15 имеют наибольшее адсорбционное сродство к поверхности золота и являются “якорными” центрами связывания всего пептида. Установлено, что расстояние от W9 и W15 до поверхности золота $< 6 \text{ \AA}$, что позволяет объяснить сильное тушение триптофановой флуоресценции в конъюгате НЧЗ-rHLIP.

5.2 Поверхностно-функционализированные наночастицы серебра

Наночастицы серебра (НЧС) находят широкое применение в медицине. Известны уникальные антимикробные и противовирусные свойства коллоидного нанодисперсного серебра [414]. Коллоидная устойчивость и физико-химические свойства растворов наночастиц серебра в значительной степени определяются выбором стабилизирующего агента [415]. Несмотря на повышенный интерес к изучению НЧ благородных металлов, в литературе по-прежнему нет единого мнения относительно механизма их бактерицидного действия [416]. Многочисленные исследования были посвящены сравнению антибактериальной эффективности металлического наносеребра и свободных ионов серебра (Ag^+) [415, 417]. Показано, что НЧС обладают высоким бактерицидным действием благодаря своей развитой поверхности и способности к медленному окислению растворенным кислородом, что может приводить к высвобождению свободных ионов Ag^+ в водный раствор [414, 418]. В ряде работ также было показано, что кислотность среды может влиять на скорость окислительного растворения НЧС [417-421].

5.2.1 Наночастицы серебра с покрытием поливинилпирролидона

Поливинилпирролидон (ПВП, рис. 5.16) известен как стабилизирующий агент в синтезе наночастиц благородных металлов [422]. Введение в реакцию ПВП с различной структурой (линейный или разветвленный полимер) и длиной полимерной цепи дает возможность управлять синтезом наночастиц, позволяя получать нанообъекты с заданной формы и морфологии [140, 423]. Несмотря на широкий спектр применения ПВП, его стабилизирующая роль в синтезе новых наноматериалов остается не до конца выясненной [424].

Для установления стабилизирующей роли полимера, было выполнено МД моделирование НЧС в водном растворе в присутствии ПВП [А6]. Задачей исследования являлось установление взаимосвязи между длиной

полимерной цепи и эффективностью адсорбции полимера на серебряном ядре наночастицы, с последующим экранированием последнего от контактов с молекулами воды. Для этих целей было рассмотрено три системы, в основе которых лежит квазисферическое серебряное ядро диаметра 4.5 нм, представленное на рис. 5.16 в виде усеченного полиэдра, на которое адсорбируется ПВП полимер разной длины и строения.

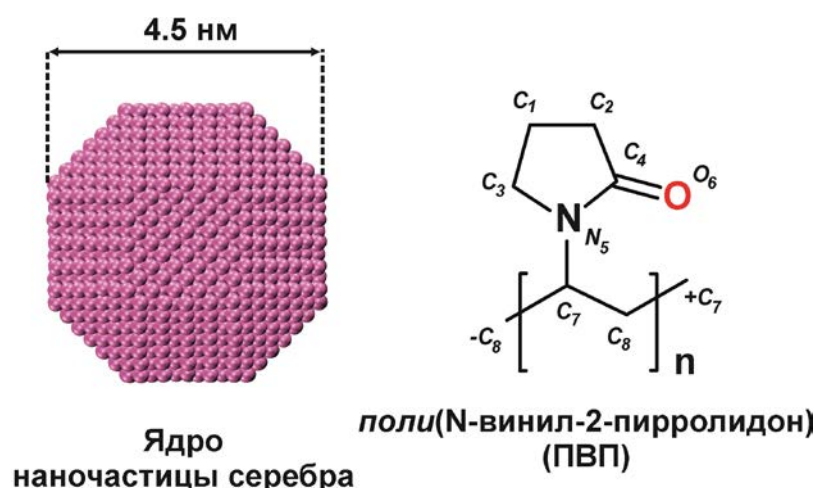


Рис. 5.16 Квазисферическое ядро НЧС, состоящее из 3871 атомов. Строение мономерного звена и обозначение атомов в ПВП.

Система № 1, обозначенная как НЧС-ПВП₆₈₀, состояла из смеси низкомолекулярных олигомеров – 44 олигомера ПВП₁₀ и 12 олигомеров ПВП₂₀, в которой суммарное число мономерных звеньев составляет 680; Система № 2, обозначенная как НЧС-ПВП₈₁₆, состояла из одного линейного неразветвленного полимера ПВП₈₁₆; Система № 3, обозначенная как НЧС-ПВП₁₄₄₀, состояла из одного линейного неразветвленного полимера ПВП₁₄₄₀. Состав и обозначение выбранных систем представлены в табл. 5.3.

Мгновенные конфигурации системы НЧС-ПВП₆₈₀, соответствующие состоянию системы в (а) начальный момент времени и (б) по окончании МД моделирования длительностью 300 нс показаны на рис. 5.17 (для улучшения восприятия рисунка молекулы воды не показаны). В исходной конфигурации олигомеры ПВП были распределены вокруг ядра случайным образом (рис.

5.17а). В процессе МД моделирования наблюдалась диффузия олигомеров в водном растворе и их последующая абсорбция на поверхность ядра серебра [А6]. Для повышения статистической устойчивости результатов, МД моделирование было выполнено параллельно для пяти различных начальных конфигураций. Во всех параллельных МД сериях, по прошествии 200-250 нс, наблюдалась практически полная адсорбция ПВП на неорганическое ядро [А6].

Таблица 5.3

Состав моделируемых систем НЧС-ПВП^а

Система	число ПВП олигомеров	общее число ВП мономеров	число молекул воды	размер МД ячейки (Å)
НЧС в воде	-	-	5010	60.0×60.0×60.0
НЧС-ПВП ₆₈₀	44 ПВП ₁₀ + 12 ПВП ₂₀	680	8100-8200	84.5×84.5×84.5
НЧС-ПВП ₈₁₆	1 ПВП ₈₁₆	816	18000-20000	95.0×95.0×95.0
НЧС-ПВП ₁₄₄₀	1 ПВП ₁₄₄₀	1440	35000-38000	105.0×125.0×105.0

^а во всех моделируемых системах ядро серебра состояло из фиксированного числа атомов (3871).

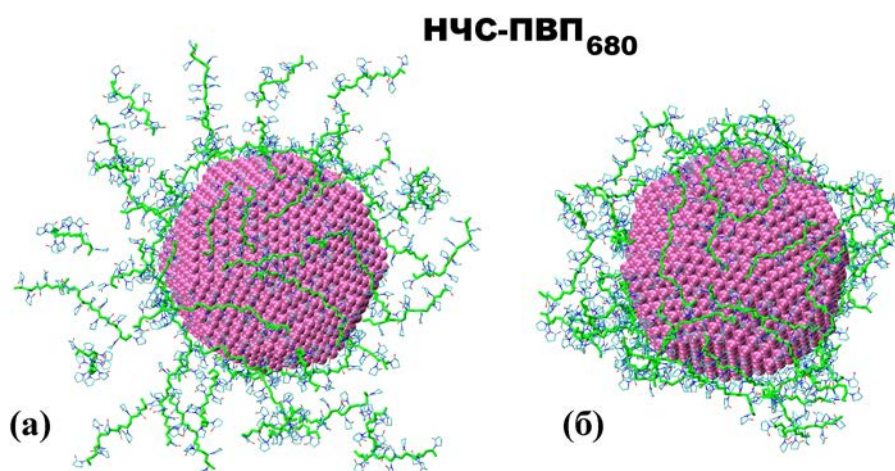


Рис. 5.17 Мгновенные конфигурации НЧС-ПВП₆₈₀: (а) в начальный период 0 нс, (б) после 300 нс.

МД моделирование было выполнено для НЧС, в которых на ядро с тем же диаметром 4.5 нм, адсорбировался один линейный неразветвленный полимер ПВП₈₁₆ или ПВП₁₄₄₀, как показано на рис. 5.18. В исходной геометрии, пространственная конфигурация ПВП соответствовала полимерному клубку, который окутывает серебряное ядро случайным образом (*от англ. random coil*). При этом, полимерная цепь находилась на расстоянии до поверхности ядра не ближе чем 5 Å [А6].

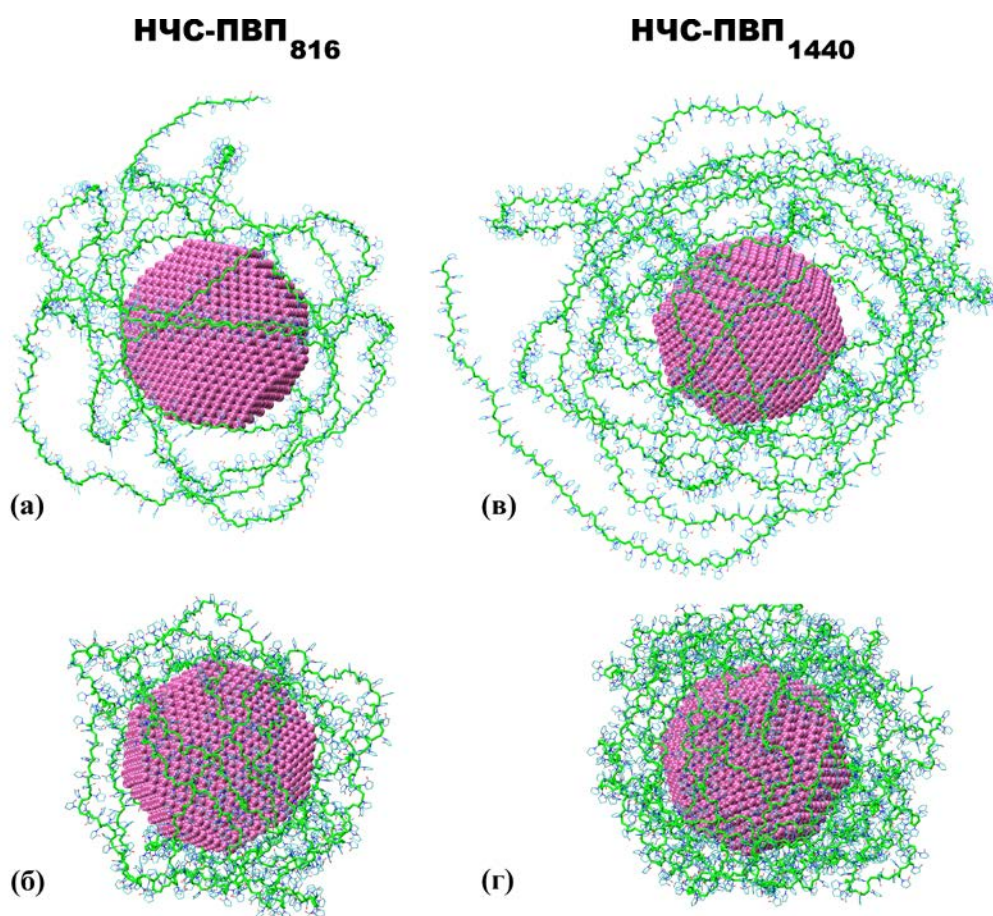


Рис. 5.18 Мгновенные конфигурации (*слева*) НЧС-ПВП₈₁₆ (а) 0 нс и (б) после 300 нс: (*справа*) НЧС-ПВП₁₄₄₀ (в) 0 нс и (г) после 300 нс.

Для указанных систем также выполнено параллельное моделирование пяти различных начальных конфигураций, во время которого наблюдалась медленная адсорбция ПВП на поверхности ядра, приводящая к формированию плотной глобулярной структуры (рис. 5.18б и г). Эта глобулярная

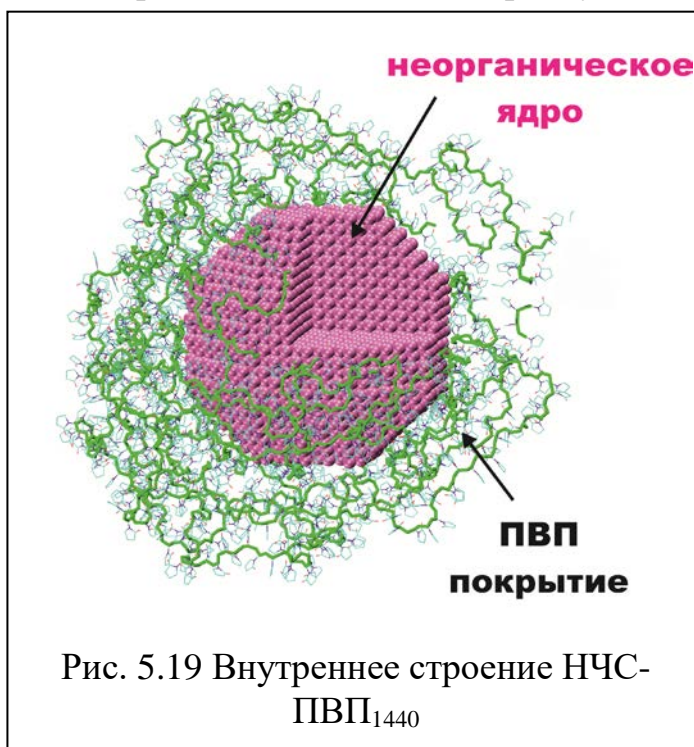
конформация характеризуется многослойной упаковкой полимерной цепи вокруг ядра, сформированной за счет нековалентных взаимодействий звеньев полимера из соседних витков цепи.

Структура ПВП покрытия. По результатам МД моделирования получена структура НЧС-ПВП, состоящая из неорганического ядра серебра, находящегося в кристаллическом состоянии (кубическая гранецентрированная решетка) и адсорбированным на него плотным многослойным покрытием, состоящим из органического полимера ПВП (рис. 5.19). На рис. 5.20а показано сечение НЧС-ПВП₁₄₄₀ и приведено обозначение радиуса $R_{\text{НЧС-ПВП}}$.

Гидродинамический радиус наночастицы был рассчитан из распределения массовой плотности ПВП вокруг ядра и для НЧС-ПВП₈₁₆ и НЧС-ПВП₁₄₄₀ составил 2.9 и 3.2 нм, что соответствует диаметру 5.8 и 6.4 нм, соответственно [А6]. Важным параметром в определении коллоидной стабильности серебра является толщина стабилизационного полимерного слоя [425].

Учитывая, что радиус серебряного ядра $R_{\text{НЧС}}$ равен $4.5 \text{ нм}/2 = 2.25 \text{ нм}$, толщина ПВП слоя, рассчитанная как $R_{\text{НЧС-ПВП}} - R_{\text{НЧС}}$, для НЧС-ПВП₈₁₆ и НЧС-ПВП₁₄₄₀ составила 0.65 и 0.95 нм, соответственно.

Дополнительным параметром, который позволяет оценить структуру ПВП покрытия наночастицы, является функция радиального распределения (ФРР). На рис. 5.19в показана кривая ФРР, рассчитанная между центром масс серебряного ядра и атомами ПВП. Для трех систем НЧС-ПВП₆₈₀, НЧС-



ПВП₈₁₆ и НЧС-ПВП₁₄₄₀, первый пик на кривой ФРР располагался на 2.67, 2.70, и 2.73 нм, соответственно. Эта область ФРР характеризует образование первого адсорбированного слоя ПВП. Для этих же систем, второй, менее выраженный пик на кривой ФРР фиксировался на 3.15, 3.30, и 3.41 нм, соответственно. Для системы НЧС-ПВП₆₈₀, наблюдается широкая, слабо выраженная область повышенной плотности с максимумом при 3.65 нм, которая также заметна на кривых ФРР для НЧС-ПВП₈₁₆ и НЧС-ПВП₁₄₄₀ в области 3.5-4.0 нм (рис. 5.20в). Таким образом, указанные дополнительные экстремальные зоны в ФРР были нами связаны с образованием второго и третьего слоев ПВП вокруг ядра наночастицы серебра.

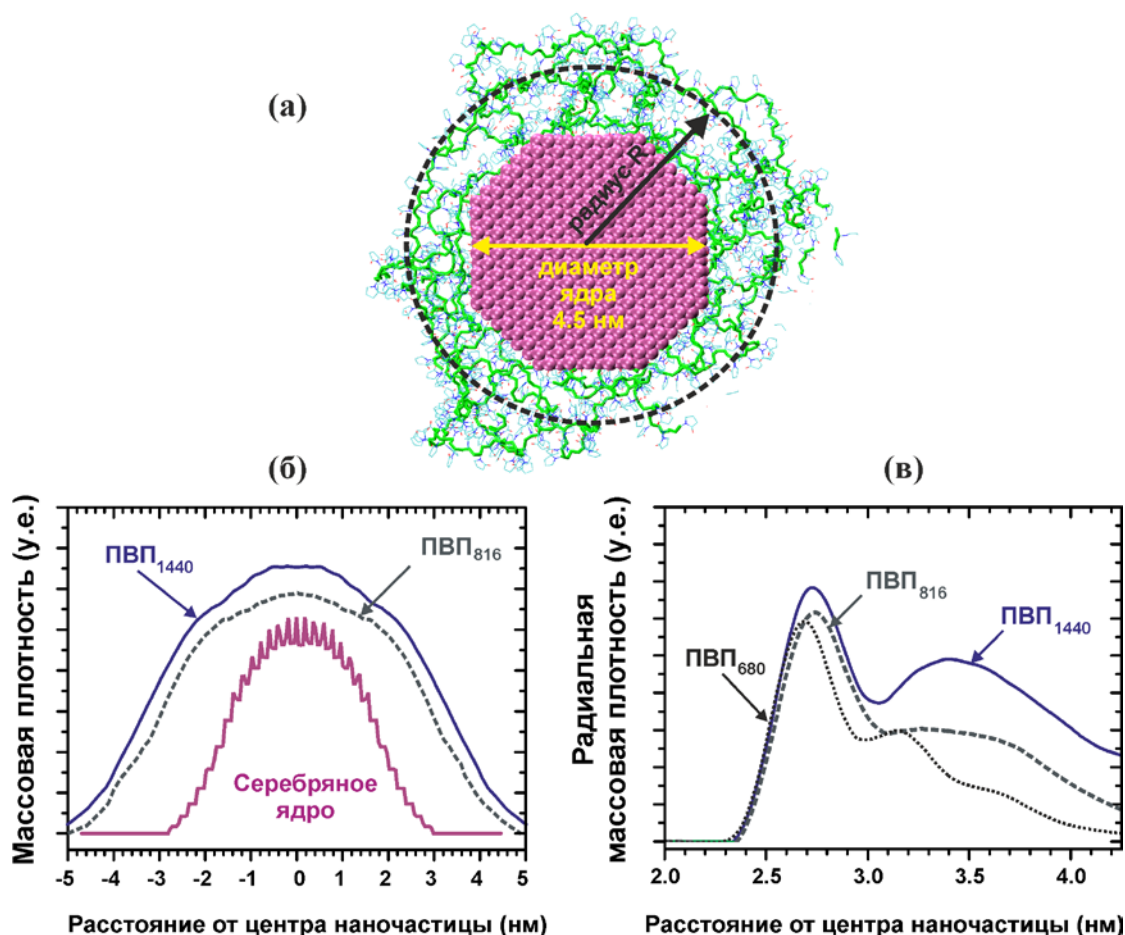


Рис. 5.20 (а) Обозначение радиуса НЧС-ПВП. (б) Распределение массовой плотности атомов серебра и ПВП. (в) Функция радиального распределения массовой плотности ПВП.

Центры связывания ПВП с поверхностью серебра. Анализ кривых ФРР позволяет также изучить механизм адсорбции ПВП на поверхности серебра, как показано на рис. 5.21 для ФРР, рассчитанных между атомами серебра и центрами адсорбции ПВП, такими как атомы кислорода и азота (Об и N5 на рис. 5.16б). Первый пик на кривой ФРР для $g(r)_{\text{Ag-O}}$ и $g(r)_{\text{Ag-N}}$ расположен при 3.02 и 3.06 Å, соответственно. Пик $g(r)_{\text{Ag-O}}$ характеризуется высокой интенсивностью и небольшой полушириной (0.2-0.3 Å), что указывает на сильное связывание атома кислорода с поверхностью серебра. Следует также отметить, что кривая $g(r)_{\text{Ag-N}}$ характеризуется слабовыраженными и плохо структурированными пиками, что свидетельствует о слабой сорбционной способности атома азота, входящего в состав пирролидинового цикла. На рис. 5.21 также приведена кривая ФРР, рассчитанная для атомов серебра и атомов кислорода молекул воды ($g(r)_{\text{Ag-OW}}$), в которой наблюдается явно выраженный первый пик при 3.28 Å.

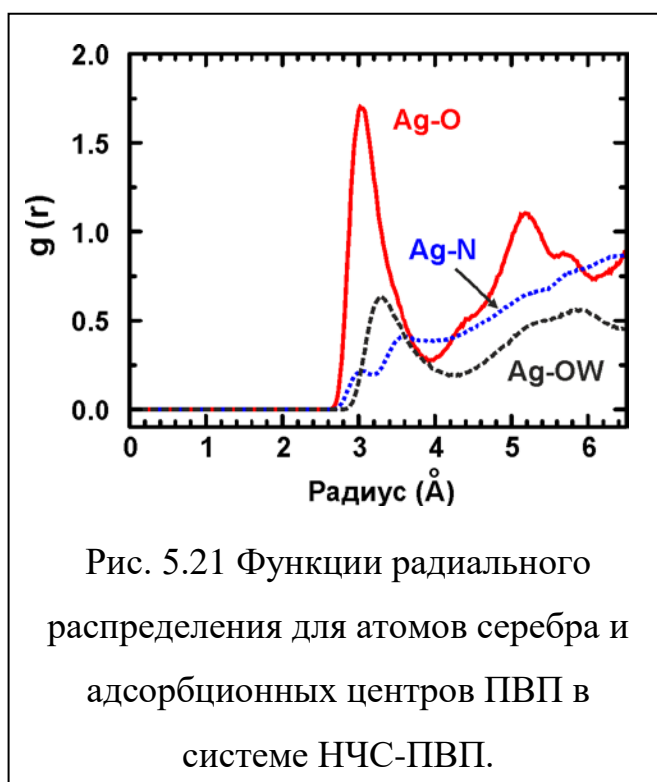


Рис. 5.21 Функции радиального распределения для атомов серебра и адсорбционных центров ПВП в системе НЧС-ПВП.

Особый интерес вызывает конформационное поведение и гибкость полимерной цепи ПВП, сорбированной на поверхности наночастицы (рис. 5.22). Видно, что ПВП плотно фиксируется на поверхности, повторяя контуры ядра наночастицы. Кислородный атом ПВП является устойчивым центром адсорбции, на что указывает соответствующий экстремум ФРР, рис. 5.21. Этот результат также хорошо согласуется с данными, опубликованными

ми в ранних работах по МД моделированию, а также и с недавними расчетами в рамках метода теории функционала электронной плотности [426-429].

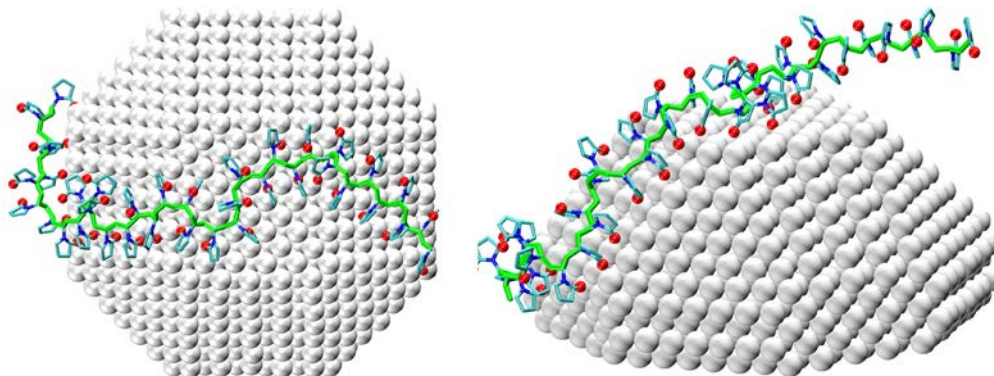


Рис. 5.22 Адсорбционные центры ПВП на поверхности НЧС.

Для оценки адсорбционной способности ПВП, для трех изученных систем НЧС-ПВП была рассчитана фракция звеньев цепи ПВП, связанных с поверхностью серебра. Звено ПВП считалось связанным с поверхностью, если расстояние Ag-O было меньше радиуса отсечения 3.5 Å, который, в свою очередь, был определен на основании кривой ФРП $g(r)_{\text{Ag-O}}$, рис. 5.21. Усреднение результатов по последним 100 нс МД моделирования показало, что среднее число контактов Ag-O равно 475 ± 17 , 516 ± 26 , и 673 ± 30 для НЧС-ПВП₆₈₀, НЧС-ПВП₈₁₆ и НЧС-ПВП₁₄₄₀, что соответствует фракции адсорбированных ПВП звеньев 69, 62, и 46%, соответственно. Эти результаты указывают на то, что с ростом длины цепи ПВП доля адсорбированных ПВП звеньев постепенно уменьшается. Очевидно, что этот эффект может быть связан с формированием многослойного ПВП покрытия вокруг ядра наночастицы.

Водородная связь ПВП-Н₂О. При адсорбции ПВП на поверхности наночастицы серебра наблюдается конкуренция между двумя процессами: (i) адсорбция ПВП на поверхности наночастиц серебра, при которой происходит вытеснение молекул воды, изначально сорбированных на металлической поверхности; (ii) потеря сольватной оболочки (десольватация) полимера, соп-

ровождающаяся разрывом водородных связей (ВС) между ПВП и молекулами воды. В обоих этих процессах принимает участие карбонильный атом кислорода ПВП, который способен выступать акцептором ВС, как показано схематически на рис. 5.23а. Поэтому в процессе анализа МД траекторий нами был исследован характер изменения водородных связей ПВП-Н₂О, происходящих при сорбции полимера на ядро наночастицы [Аб].

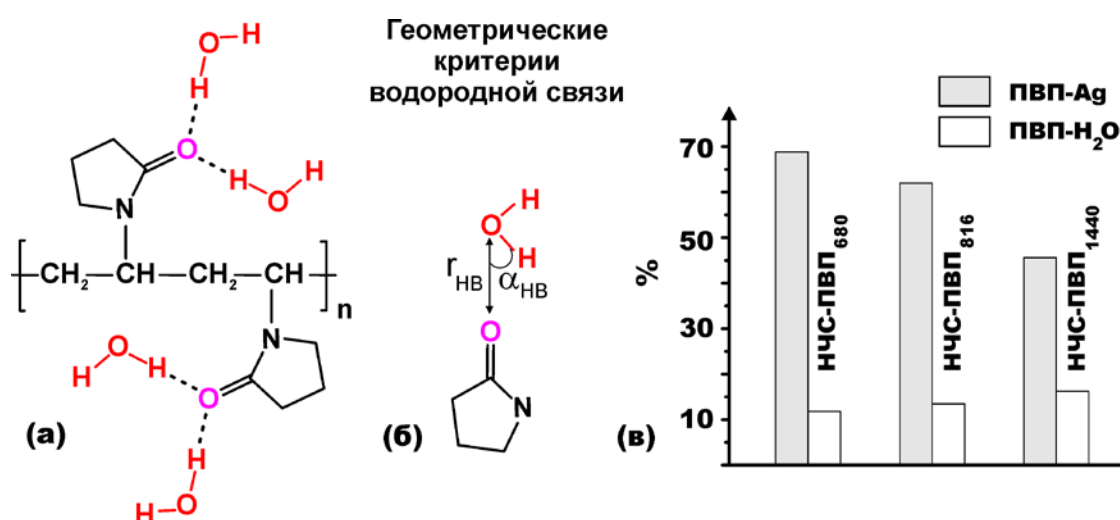


Рис. 5.23 (а) Схема водородных связей ПВП с молекулами воды. (б) Геометрические критерии водородной связи. (в) Сравнение фракции звеньев ПВП, сорбированных на поверхность серебра или образующих ВС с молекулами воды.

При анализе ВС применены следующие геометрические критерии $r_i \leq r_{HB} = 3.5 \text{ \AA}$ и $\alpha_i \leq \alpha_{HB} = 0 \pm 30^\circ$, указанные схематически на рис. 5.23б. Для равновесных конфигураций НЧС-ПВП₆₈₀, НЧС-ПВП₈₁₆ и НЧС-ПВП₁₄₄₀ среднее число ВС ПВП-Н₂О составило 162 ± 24 , 196 ± 25 , and 460 ± 32 , соответственно. Учитывая тот факт, что каждый карбонильный атом кислорода ПВП способен образовывать две ВС с молекулами воды (5.23а) процент звеньев ПВП, участвующих в образовании ВС составляет 12, 13, и 16%, соответственно. На рис. 5.23в приведен сравнительный анализ этих данных, из которого следует, что основная фракция звеньев ПВП связана с поверхностью

ными атомами ядра наночастицы, и только внешний слой полимера участвует в образовании ВС с молекулами воды.

Защитный эффект ПВП. Анализ числа контактов молекул воды с ядром наночастицы показывает, что увеличение длины полимерной цепи ПВП приводит к закономерному уменьшению числа контактов $\text{Ag-H}_2\text{O}$, и, следовательно, к увеличению степени экранирования ядра. В ряду НЧС-ПВП₆₈₀, НЧС-ПВП₈₁₆ и НЧС-ПВП₁₄₄₀ степень экранирования увеличивается от 55 ± 8 % к 69 ± 8 %, и до 94 ± 9 %, соответственно. Эти данные показывают, что в этом ряду, несмотря на увеличение степени экранирования серебряного ядра, в системе НЧС-ПВП₁₄₄₀ незначительная фракция молекул воды (~5%) все же способна проникать к поверхности ядра сквозь гидрофобный слой лиганда. В недавних работах по МД моделированию структурно-динамических свойств наночастиц золота, которые стабилизированы молекулами алкилтиолов с различной длиной углеводородной цепи, также было показано, что несмотря на высокую плотность упаковки углеводородных остатков на поверхности наночастицы, тем не менее, молекулы воды были способны проникать сквозь “гидрофобную рубашку” вглубь к неорганическому ядру наночастицы [A7] и [430].

Одной из основных научных задач по МД моделированию систем НЧС-ПВП является нахождение взаимосвязи между степенью экранирования неорганического ядра серебра диаметром 4.5 нм и длиной цепи ПВП. Возможность теоретического прогнозирования числа звеньев ПВП, способных полностью экранировать ядро наночастицы, является актуальным вопросом в синтезе новых наноматериалов [431]. Преимуществом МД моделирования является то, что такое прогнозирование возможно с учетом целого набора факторов, таких как пространственная структура и упаковка полимера, форма, кривизна и морфология поверхности наночастицы. При адсорбции ПВП на поверхности наночастицы серебра происходит взаимодействие

между адсорбатом (звено винилпирролидона) и активным центром адсорбента (поверхность серебра). Поэтому адсорбцию ПВП можно рассматривать в рамках адсорбционной теории Ленгмюра [432].

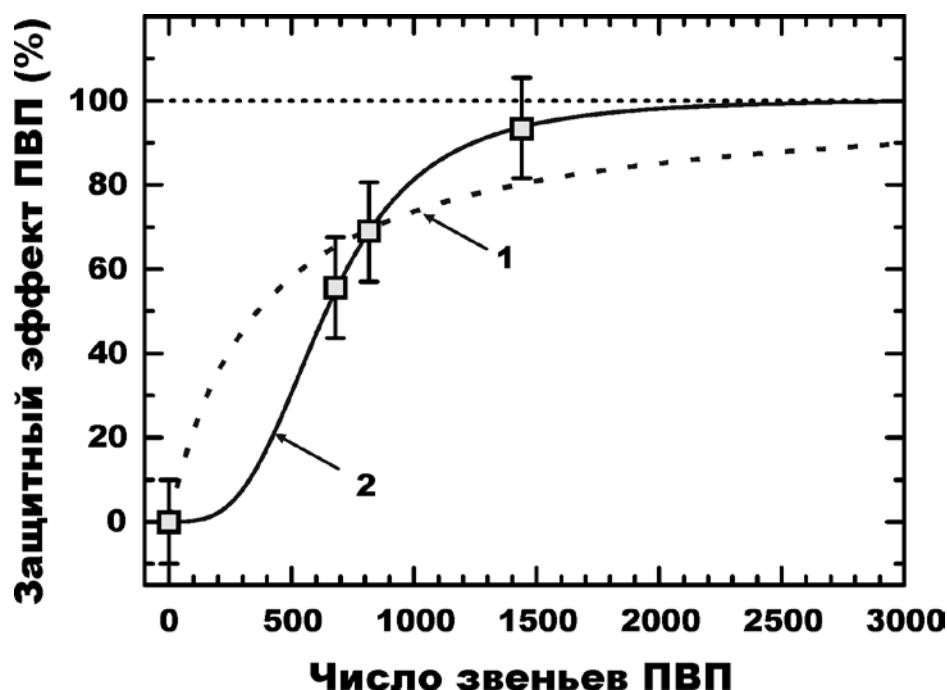


Рис. 5.24 Анализ адсорбции полимера ПВП на ядро серебра с помощью изотерм: (1) - Ленгмюра и (2) - Ленгмюра-Фрейндлиха [А6].

На рис 5.24 показана зависимость усредненной степени экранирования ядра серебра от числа элементарных звеньев ПВП цепи. Попытка описать МД данные по экранированию наночастицы при помощи изотермы Ленгмюра (как показано на рис. 5.24 пунктирной линией) оказалась неудачной (ур. 5.3, в котором, K – константа адсорбции, $N_{\text{ПВП}}$ – число элементарных звеньев).

$$\frac{S}{S_{\max}} = \frac{KN_{\text{ПВП}}}{1 + KN_{\text{ПВП}}} \quad (5.3)$$

Более адекватная аппроксимация результатов была получена при помощи изотермы Ленгмюра-Фрейндлиха, как показано сплошной кривой на рис. 5.24 (ур. 5.4, в котором, K – константа адсорбции, $N_{\text{ПВП}}$ – число элемен-

тарных звеньев, n – параметр, учитывающий химическую природу адсорбированного полимера [433-435]).

$$\frac{S}{S_{\max}} = \frac{KN_{\text{ПВП}}^{1/n}}{1 + KN_{\text{ПВП}}^{1/n}} \quad (5.4)$$

Экстраполяция изотермы Ленгмюра-Фрейндлиха показывает, что полное экранирование ядра наночастицы будет наблюдаться при достижении числа элементарных звеньев ПВП, равного 2600-2800 (рис. 5.24).

Для развития общей теории адсорбции ПВП на ядре серебра произвольного диаметра и форм-фактора, необходимо рассмотреть химическую природу дополнительного параметра n , который появляется в изотерме Ленгмюра-Фрейндлиха (ур. 5.4). Основным постулатом теории адсорбции Ленгмюра является то, что адсорбат и адсорбент являются эквивалентными, и, следовательно, на однородной поверхности адсорбция является монослойной [432]. Изотерма Ленгмюра является частным случаем изотермы Ленгмюра-Фрейндлиха при $n=1$. Параметр n характеризует отклонение наблюдаемой изотермы от уравнение Ленгмюра, и, поэтому, отличие этого параметра от 1 указывает на формирование многослойного ПВП покрытия. На рис 5.24 нелинейный МНК анализ приводит к $n=0.306$. Как показано, в предыдущем параграфе, фракция сорбционных центров ПВП, связанных с поверхностью серебра, уменьшается по мере увеличения длины полимерной цепи в следующем порядке 0.689 (НЧС-ПВП₆₈₀), 0.623 (НЧС-ПВП₈₁₆) и 0.458 (НЧС-ПВП₁₄₄₀). В этом контексте, параметр $n=0.306$ был нами интерпретирован, как экстраполированное значение фракции связанных центров ПВП в условиях максимальной сорбции [А6].

5.2.2 Наночастицы серебра с покрытием поливинилового спирта

Для получения нанокомпозитов серебра, обладающих рядом практически важных свойств, большой интерес представляют работы по использованию водорастворимых полимеров, например, таких как поливиниловый спирт (ПВС) [142, 143]. Для выяснения стабилизирующей роли ПВС в синтезе НЧС с заданными характеристиками требуется учет сил нековалентного взаимодействия, возникающих на границе между неорганическим ядром наночастицы и органическим полимером [140, 141]. Кроме этого, при выборе стабилизирующего агента необходимо учитывать размеры и морфологию поверхности наночастицы [436]. В этой связи, нами была поставлена и решена научная задача - разработка атомистической МД модели силового поля наночастицы серебра, стабилизированной ПВС в водном растворе, которая позволяет моделировать физико-химические процессы, проводящие к формированию полимерного покрытия на поверхности неорганического ядра наночастицы.

Построение МД модели. Валидация МД модели силового поля НЧС-ПВС была выполнена для системы, состоящей из квазисферической наночастицы диаметром 3.9 нм и линейного полимера, состоящего из 880 элементарных звеньев ВП [A40]. Для изучения физико-химических процессов, протекающих при формировании полимерного покрытия наночастицы, было проведено моделирование динамики самоорганизации ПВС вокруг наночастицы серебра в водном растворе. В отсутствие надежных экспериментальных данных о строении полимерного покрытия наночастицы [136], в качестве валидируемого свойства была выбрана способность адсорбированного ПВС экранировать наночастицу от контакта с водой.

Стартовая конфигурация системы задавалась следующим образом: неорганическое ядро помещалось в центр кубической ячейки размером 80.9 Å. На первом этапе, ПВС полимер помещался в МД ячейку в конформации неупо-

рядоченного клубка, огибающего случайным образом неорганическое ядро наночастицы. На втором этапе, ячейка равномерно заполнялась молекулами воды. Заполнение ячейки производилось таким образом, чтобы плотность воды соответствовала экспериментальному значению, а расстояние между молекулами воды, ПВС и атомами серебра было не меньше чем 3.5 Å. В заполненной ячейке число молекул воды было равно 14253. После заполнения ячейки водой, для всей системы НЧС-ПВС₈₈₀-вода было выполнено уравнивание длительностью 5 нс. Начальные скорости на всех атомах инициализировались с помощью встроенного в пакет GROMACS генератора случайных чисел, и удовлетворяли распределению Максвелла при T=303 К. На рис. 5.25 приведен пример МД ячейки, содержащей НЧС-ПВС₈₈₀ [A40].

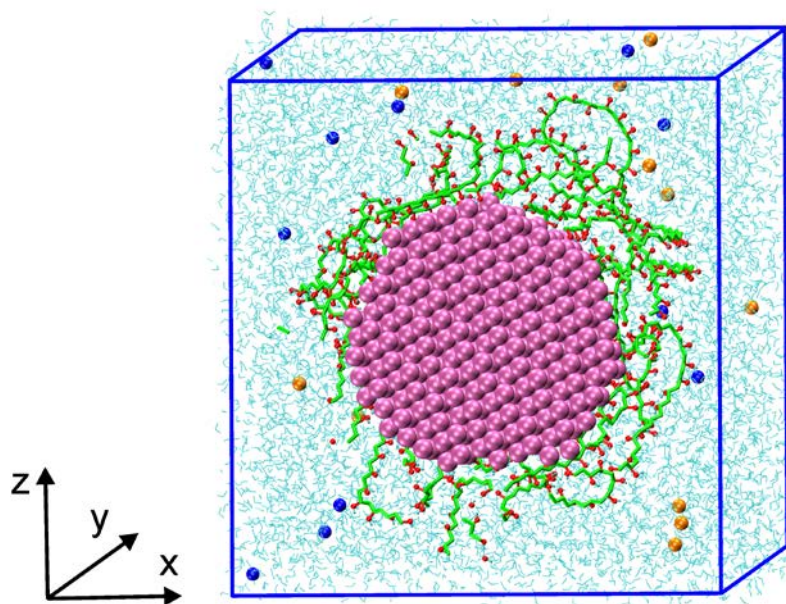


Рис. 5.25 Мгновенная конфигурация МД ячейки, содержащей НЧС-ПВС₈₈₀ в водном растворе. Для улучшения восприятия, через центр ячейки проведена секущая плоскость xz . Ионы Na^+ и Cl^- показаны в виде сфер.

МД моделирование НЧС-ПВС. На рис. 5.26 показаны мгновенные конфигурации НЧС-ПВС₈₈₀ в начальный момент времени, после 50 нс и 250 нс МД моделирования. В процессе адсорбции ПВС, наблюдалось связывание

полимерной цепи с НЧС, в результате которого формировалась полимерная матрица, экранирующая ядро от контакта с молекулами воды (рис. 5.26). Было установлено, что на начальном этапе формируется первый слой ПВС, основные характеристики которого регулируются нековалентными взаимодействиями между молекулой полимера и атомами серебра, а остальные, внешние полимерные слои, формируются посредством образования водородных связей между гидроксильными группами полимерной цепи ПВС [A40].

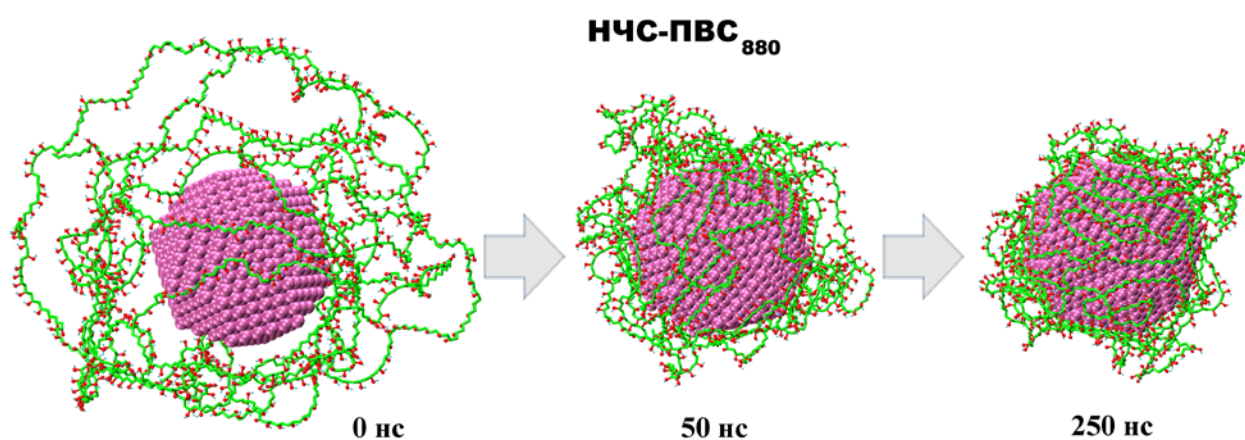


Рис. 5.26 Мгновенные конфигурации наночастицы серебра, демонстрирующие динамику формирования оболочки ПВС₈₈₀.

На рис. 5.27 представлена схема конкурирующих атомно-молекулярных взаимодействий, которые возникают между поверхностью наночастицы серебра и ПВС, а также молекулами растворителя. При расчете межатомных контактов между атомами серебра, полимером или молекулами воды были использованы следующие критерии [A6, A40]: при расчете контактов Ag-ПВС и Ag-вода (межмолекулярные взаимодействия 1 и 2 на рис. 5.27) радиус отсечения был принят равным 3.5 Å. При расчете внутри- и межмолекулярных водородных связей между ПВС и молекулами воды, в дополнение к указанному радиусу, учитывалось предельно допустимое отклонение в 30° от идеальной линейной водородной связи O···H–O [A6].

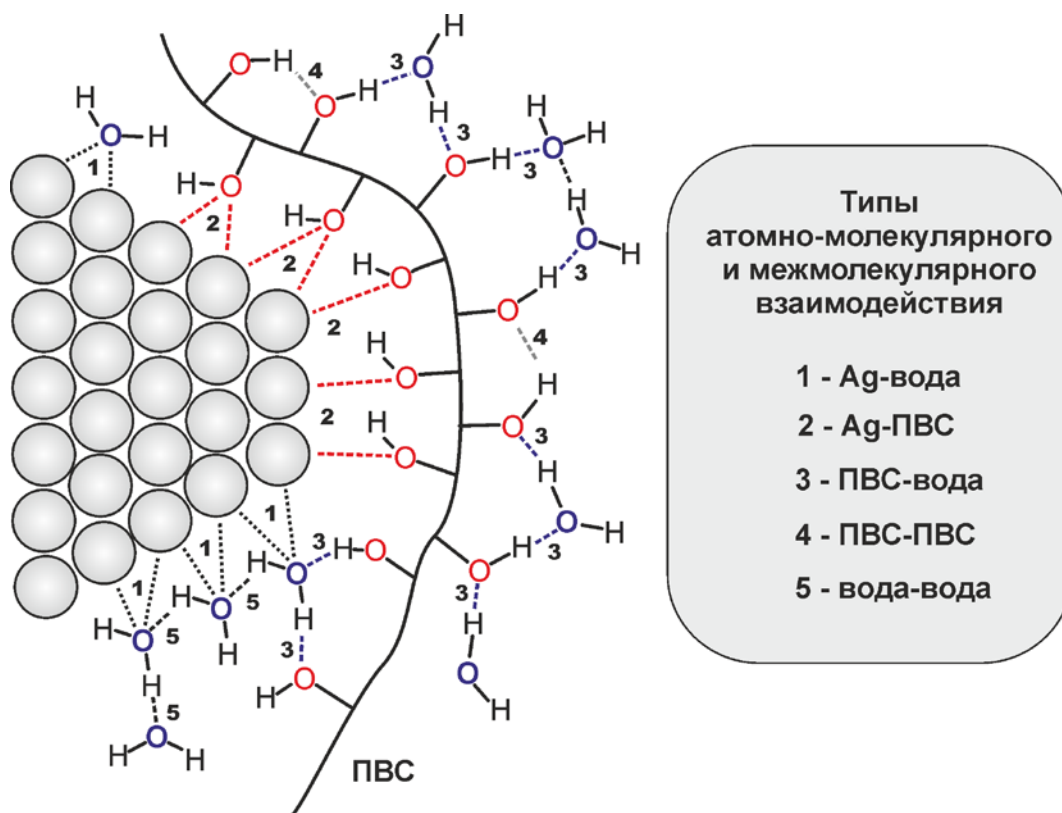


Рис. 5.27 Схема атомно-молекулярных взаимодействий между поверхностью серебра, ПВС и молекулами воды.

Защитный эффект ПВС. МД моделирование системы НЧС-ПВС позволило оценить защитный эффект поливинилового спирта В первые 100 нс МД моделирования, в процессе сорбции ПВС₈₈₀ на поверхности наночастицы серебра наблюдалось уменьшение числа контактов Ag-вода, которое сопровождалось одновременным увеличением числа контактов Ag-ПВС (рис. 5.28). Очевидно, что обсуждаемые изменения связаны с замещением на поверхности серебра изначально сорбированных молекул воды на полимер. В интервале 200-250 нс, число контактов Ag-вода и Ag-ПВС достигло равновесного распределения вокруг средних значений 399 ± 28 и 1024 ± 29 , соответственно. Одновременно с уменьшением числа контактов Ag-вода и Ag-ПВС, во временном интервале 0-70 нс наблюдалось уменьшение числа межмолекулярных водородных связей ПВС-вода (рис. 5.28), которое сопровождалось незначительным увеличением числа внутримолекулярных водородных свя-

зей ПВС-ПВС с участием гидроксильных групп соседних, а также достаточно удаленных друг от друга фрагментов полимерной цепи. Среднее значение числа водородных связей ПВС-ПВС и ПВС-вода составляло 408 ± 12 и 733 ± 21 , соответственно.

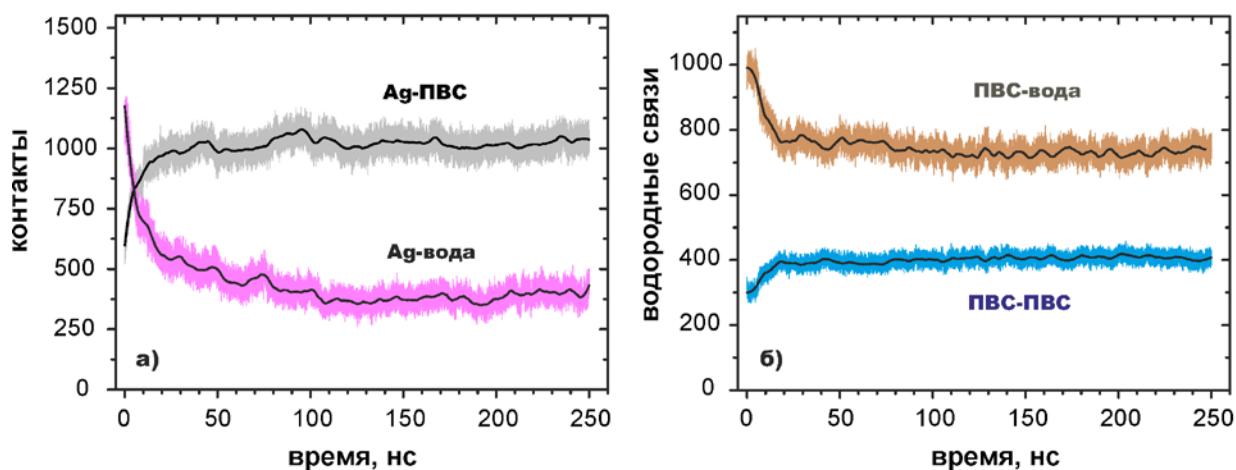


Рис. 5.28 Динамика адсорбции полимера ПВС₈₈₀ на НЧС в водном растворе. (а) изменение числа контактов Ag-ПВС и Ag-H₂O. (б) изменение числа водородных связей ПВС-ПВС и ПВС-H₂O.

Роль ПВС как стабилизирующего агента в синтезе наночастиц благородных металлов состоит в создании защитного органического покрытия, которое экранирует неорганическое ядро от контакта с водной средой. Это в свою очередь, снижает вероятность агломерации наночастиц и повышает коллоидную стабильность их водных растворов. Защитный эффект ПВС в системе НЧС-ПВС₈₈₀ оценен по степени замещения молекул воды, адсорбированных на неорганическом ядре, по следующей процедуре: МД моделирование наночастицы серебра в водном растворе, не содержащем ПВС, позволило рассчитать максимально возможное число контактов Ag-вода, которое для наночастицы указанного диаметра составило 2563 ± 58 . Учитывая тот факт, что в равновесной системе НЧС-ПВС₈₈₀ число контактов Ag-вода уменьшилось до 399 ± 28 , защитный эффект ПВС покрытия от контакта НЧС с водой составил 84 % [A40].

Адсорбционные центры ПВС. С целью выяснения природы сорбционных процессов на молекулярном уровне был проведен расчет функции радиального распределения $g(r)$ между атомами серебра и атомами ПВС, такими как кислород гидроксильной группы и углеродные атомы полимерной цепи (CH , CH_2), как показано на рис. 5.29. На кривой $g(r)_{\text{Ag-O}}$ наблюдается четко выраженный максимум при 3.22 \AA , что указывает на наличие устойчивых нековалентных взаимодействий. Вместе с тем, соответствующие кривые ФРР Ag-CH и Ag-CH_2 имеют диффузный характер и смещены в область больших расстояний (положение первого экстремума $g(r)_{\text{Ag-CH}} = 3.74 \text{ \AA}$ и $g(r)_{\text{Ag-CH}_2} = 4.22 \text{ \AA}$, соответственно). Анализ этих данных показывает, что сорбция ПВС на поверхности серебра происходит преимущественно за счет нековалентных взаимодействий между атомами серебра и атомами кислорода гидроксильных групп ПВС. Этот вывод хорошо согласуется с недавними работами: При изучении взаимодействия нановолокон ПВС с НЧС был сделан аналогичный вывод о том, что адсорбция ПВС происходит за счет атомов кислорода гидроксильных групп [437, 438]. Вывод авторов основан на хорошем соответствии экспериментальных спектров адсорбированного ПВС, измеренных методом поверхностно-усиленной Рамановской

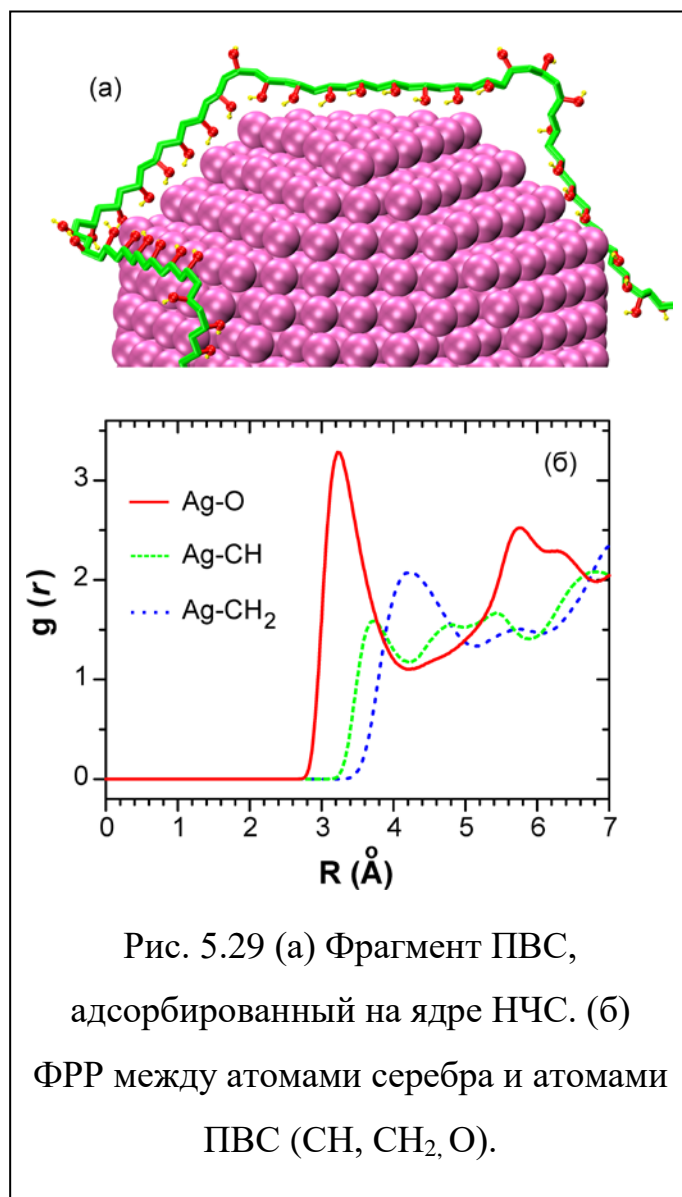


Рис. 5.29 (а) Фрагмент ПВС, адсорбированный на ядре НЧС. (б) ФРР между атомами серебра и атомами ПВС (CH , CH_2 , O).

При изучении взаимодействия нановолокон ПВС с НЧС был сделан аналогичный вывод о том, что адсорбция ПВС происходит за счет атомов кислорода гидроксильных групп [437, 438]. Вывод авторов основан на хорошем соответствии экспериментальных спектров адсорбированного ПВС, измеренных методом поверхностно-усиленной Рамановской

спектроскопии (*от* англ. surface-enhanced Raman scattering или SERS) и рассчитанных при помощи метода DFT [437].

Таким образом, в этом разделе изучен механизм стабилизации наночастиц серебра поливиниловым спиртом (ПВС) в водном растворе методом классического МД моделирования. В ходе работы была впервые разработана МД модель силового поля НЧС, стабилизированной ПВС с различной степенью полимеризации. Отличительной особенностью разработанного подхода было объединение в рамках одной МД модели литературных данных по параметризации Леннард-Джонса для серебра [А6] [221] с одним из предложенных силовых полей для ПВС, основанном на стандартном биомолекулярном силовом поле GROMOS G45a4 [217]. Предложенная МД модель НЧС-ПВС была апробирована для системы, состоящей из полимерной цепи ПВС₈₈₀, стабилизирующей наночастицу серебра квазисферической формы диаметром 3.9 нм. Установлено, что адсорбция и самоорганизация полимера вокруг неорганического ядра серебра происходит в интервале времени 50-150 нс. Анализ межатомных контактов и функций радиального распределения показал, что ПВС адсорбируется на поверхности серебра преимущественно за счет нековалентных взаимодействий гидроксильных групп. Показано, что при адсорбции на неорганическое ядро указанного диаметра, ПВС₈₈₀ экранирует наночастицу от контакта с водной средой на 84 %.

Выводы к Разделу 5

Комплексное применение компьютерных методов для установления строения и механизма образования полимерного покрытия наночастиц золота и серебра обеспечивает теоретическое обоснование синтеза новых наноматериалов, обладающих прогнозируемыми физико-химическими свойствами. По результатам молекулярно-динамического моделирования было установлено, что:

1. Для наночастицы золота диаметром 1.4 нм, стабилизированной додекантиолом (НЧЗ-додекантиол), соотношение несвязанных атомов золота входящих в состав неорганического ядра и связанных с органическим лигандом находится в диапазоне от 47:38 до 35:50. В наночастице золота диаметром 3.75 нм, ядро которой содержит 1630 атомов, соотношение несвязанных и связанных атомов золота находится в пределах от 1200:430 до 1550:80. При анализе данных просвечивающей электронной микроскопии показано, что разработанные МД модели НЧЗ-додекантиол можно использовать для установления структуры и упаковки этих наночастиц, адсорбированных на графитовой подложке.

2. Химическая модификация наночастицы золота (НЧЗ) за счет ковалентного связывания с рН-чувствительным пептидом рНЛР позволяет повысить растворимость нанозолота. Закономерности строения НЧЗ-рНЛР, установленные с применением нескольких различных силовых полей, позволили интерпретировать экспериментальные данные о фолдинге пептида и тушении его триптофановой флуоресценции при адсорбции на поверхности золота.

3. При помощи молекулярно-динамического моделирования исследовано взаимодействие наночастиц серебра (НЧС) с поливинилпирролидоном (ПВП) в водном растворе. Изучено строение НЧС-ПВП в зависимости от степени полимеризации ПВП. Зависимость между длиной полимерной цепи

и экранирующим эффектом полимерного слоя, который защищает неорганическое ядро от контакта с водой, хорошо описывается изотермой Ленгмюра-Фрейндлиха, что позволяет заранее прогнозировать физико-химические параметры продуктов синтеза поверхностно-стабилизированных наночастиц серебра.

4. Разработана молекулярно-динамическая модель наночастицы серебра, которая стабилизирована поливиниловым спиртом (ПВС) с разной длиной полимерной цепи. Установлено, что адсорбция ПВС на ядро наночастицы происходит за счет нековалентного взаимодействия атомов серебра с атомами кислорода гидроксильных групп полимера.

Основные научные результаты, приведенные в разделе 5, были опубликованы в следующих работах [А6-А8, А30, А40-А41, А44, А47-А48].

РАЗДЕЛ 6

ФОТОНИКА И КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССОВ В БИОЛИГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

6.1 Локализация флуоресцентных зондов в липидном бислое

Флуоресцентные маркеры и зонды благодаря их высокой чувствительности к изменению физико-химических параметров изучаемой системы широко применяются в различных областях мембранной биохимии и биофизики [A2]. Одной из основных проблем, возникающих при применении таких зондов, является отсутствие надежных экспериментальных методов определения области локализации флуорофора в мембране, что зачастую затрудняет интерпретацию результатов флуоресцентных измерений.

В этом разделе предложено решение научной проблемы установления области локализации флуоресцентных зондов и маркеров в липидных мембранах при помощи комбинированного подхода, основанного на применении флуоресцентной спектроскопии (стационарная и время-разрешенная флуоресценция, тушение флуоресценции парамагнитными органическими соединениями) и компьютерной химии. На примере зондов, флуоресцентный сигнал которых чувствителен к образованию ВС с молекулами растворителя, при помощи МД моделирования, основанного на двух независимых подходах, уточнена область их нахождения в липидном бислое: (1) изучено равновесное распределение зонда в системе вода/липидный бислой, (2) рассчитан потенциал средней силы, позволяющий оценить профиль энергии Гиббса при прохождении зонда через бислой. Впервые разработана атомистическая МД модель флуоресцентных липидных маркеров *TOE*, *NBD-PE* и *Родамина-ФЭ* и установлена взаимосвязь между их строением и локализацией в липидном бислое.

6.1.1 2-[2'-(4',6'-диметил-пиримидил)]индол и 2-(2'-пиридил)-5-метилиндол

В протонных растворителях флуоресценция соед. **3.4** и **6.1** ((2-(2'-пиридил)-5-метилиндол, который является метилзамещенным производным соед. **3.1**, изученного в разделе 3) характеризуются очень низким квантовым выходом (табл. 6.1). При переходе от полярного апротонного ацетонитрила к 1-пропанолу квантовый выход флуоресценции ($\Phi_{\text{фл}}$) соед. **3.4** и **6.1** уменьшается в 35 раз (табл. 6.1). В разделе 3.1 подробно изучен механизм тушения этих соединений в протонных растворителях и показано, что ключевую роль в тушении флуоресценции играет образование ММВС с молекулами растворителя [A13]. При переходе от 1-пропанола к водным растворам (50 мМ фосфатный буфер, pH 8) максимум спектра флуоресценции обоих соединений дополнительно смещается в длинноволновую область спектра (418-422 нм), при этом наблюдается дальнейшее уменьшение квантового выхода флуоресценции (табл. 6.1) [A9].

Таблица 6.1

Положение максимума ($\lambda_{\text{фл}}$) и квантовый выход флуоресценции ($\Phi_{\text{фл}}$) зондов **6.1 и **3.4** в различных средах**

растворитель	соед. 6.1		соед. 3.4	
	$\lambda_{\text{фл}}$ (нм)	$\Phi_{\text{фл}}$	$\lambda_{\text{фл}}$ (нм)	$\Phi_{\text{фл}}$
<i>n</i> -гексан	366	0.44	364	0.62
ацетонитрил	381	0.52	380	0.70
1-пропанол	402	0.15	388	0.02
буферный раствор ^а	418	0.01	421	0.005
буферный раствор+БУВ-ФХ ^б	382	0.40	383	0.45

^а - 50 мМ фосфатный буферный раствор, pH 8

^б - 50 мМ фосфатный буферный раствор, pH 8, в присутствии 4 мМ БУВ-ФХ

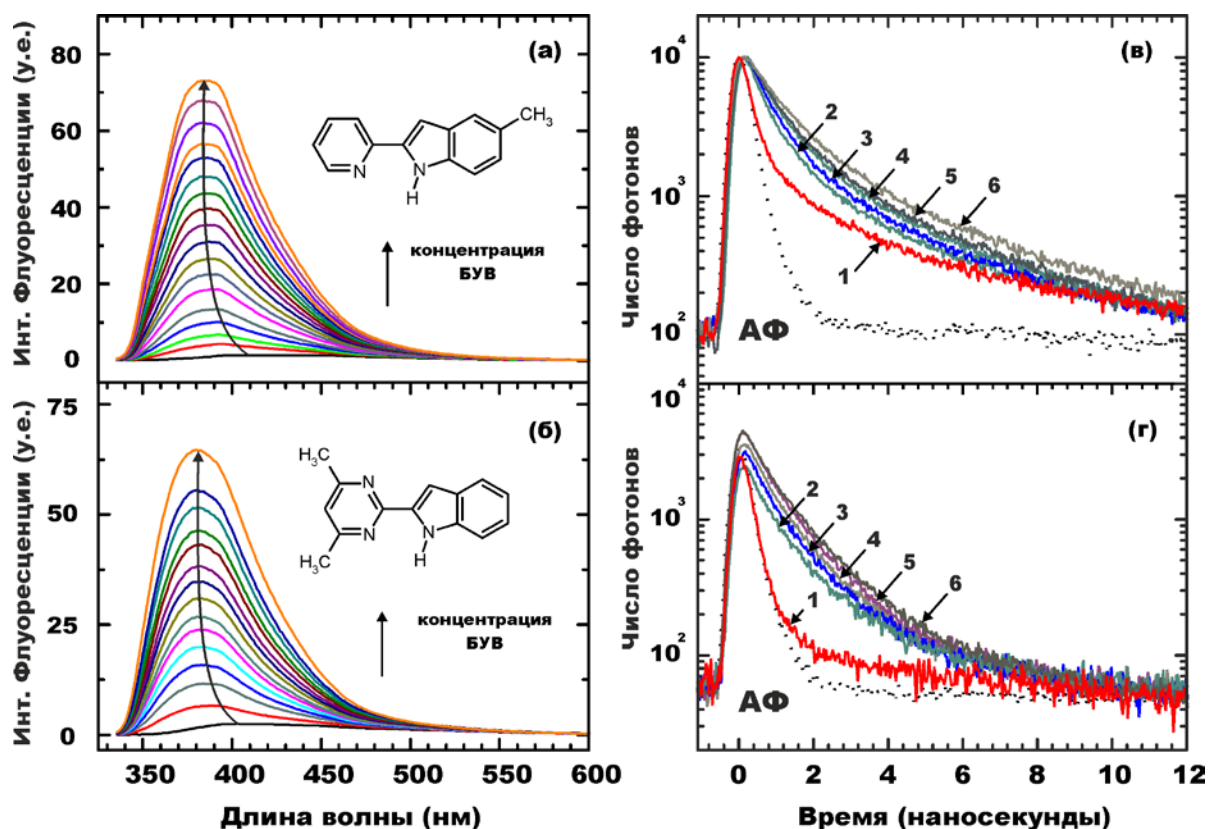


Рис. 6.1 Флуориметрическое титрование соед. **6.1** (2-(2'-пиридил)-5-метилиндол) (а и в) и **3.4** (б и г) липидными везикулами БУВ 25ФХ/75ФГ (C=0-2 mM) [A9].

Добавление БУВ-ФХ в водный раствор соед. **3.4** и **6.1** вызывало увеличение $\phi_{\text{фл}}$ в 40-45 раз (табл. 6.1), что указывает на их взаимодействие с БУВ - проникновение вглубь гидрофобной области липидного бислоя. Указанное увеличение $\phi_{\text{фл}}$ могло быть вызвано несколькими факторами: (i) уменьшением фракции молекул **3.4** и **6.1**, способных образовывать ВС с молекулами воды, и (ii) увеличением вязкости среды, которое обуславливает уменьшение конформационной лабильности хромофора. Для количественного изучения этого процесса выполнено флуоресцентное титрование в стационарном ($\lambda_{\text{возб}}$ 313 нм) и время-разрешенном (TCSPC, 10 МГц, $\lambda_{\text{возб}}$ 310 нм, $\lambda_{\text{набл}}$ 385 нм) режимах путем добавления БУВ 25ФХ/75ФГ в раствор соед. **3.4** и **6.1** (концентрация зондов равнялась $5-7 \times 10^{-6}$ М), рис. 6.1. Для обоих соед. **3.4** и **6.1** наблюдалась похожая картина: при добавлении БУВ в раствор

происходило последовательное увеличение интенсивности флуоресценции, которое сопровождалось гипсохромным сдвигом спектра (рис. 6.1*а* и *б*). Одновременно с нарастанием интенсивности стационарной флуоресценции происходило увеличение времени жизни возбужденного состояния, что связано с возрастанием вклада долгоживущей компоненты в мультиэкспоненциальной кинетике затухания флуоресценции зонда (рис. 6.1*а* и *б*) (подробный кинетический анализ представлен в [A9]).

Флуоресцентное титрование зонда БУВ. На рис. 6.2 показана зависимость изменения относительной интенсивности флуоресценции зондов **3.4** и **6.1** от концентрации БУВ следующего липидного состава: чистый ФХ, 70ФХ:30ХЛ (70 молярных % фосфатидилхолина и 30 молярных % холестерина), 75ФХ:25ФГ (75 молярных % ФХ и 25 молярных % фосфатидилглицерола (ФГ)) и 25ФХ:75ФГ, соответственно. Как видно из рис. 6.2, все кривые имеют сходную форму, характерную для изотерм адсорбции с насыщением, и слабо зависят от состава БУВ. Константа распределения (K_p) и энергия Гиббса (ΔG), рассчитанная для распределения зондов **3.4** и **6.1** между буферным раствором и БУВ по ур. 2.2-2.3 и методике, описанной в разделе 2.5, обобщены в табл. 6.1.

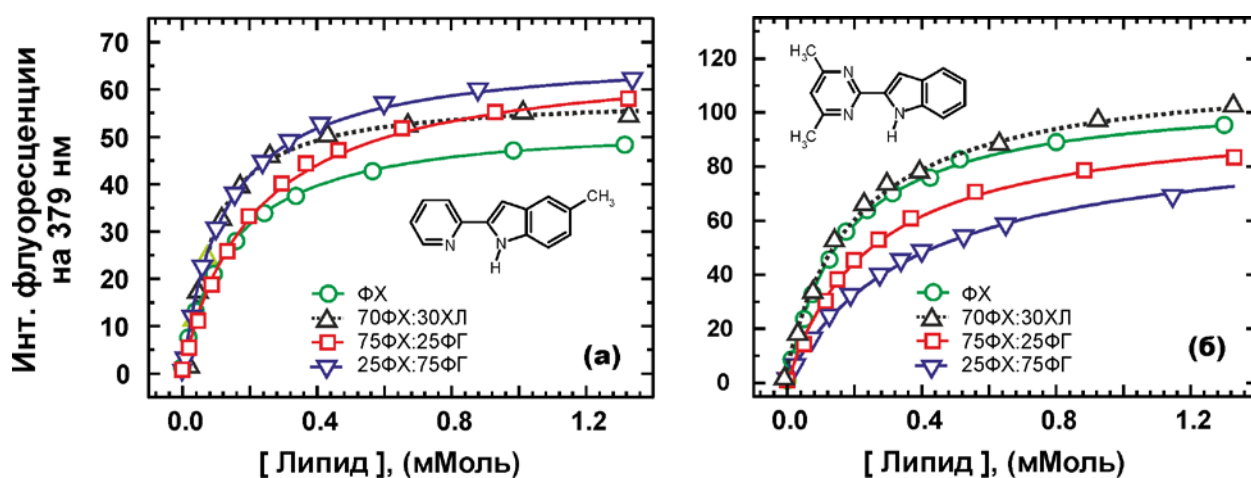


Рис. 6.2 Зависимость относительной интенсивности флуоресценции соед. **6.1** (а) и **3.4** (б) от концентрации БУВ.

Анализ термодинамических параметров, приведенных в табл. 6.2, показывает, что систематическое увеличение доли полярного липида ФГ в составе БУВ (от 0 мол. % в ФХ до 75 мол. % в 75ФХ:25ФГ), которое сопровождалось увеличением электростатического потенциала БУВ, не оказывают существенного влияния на константу распределения и ΔG процесса. Следовательно, при взаимодействии изучаемых зондов с БУВ доминирующими являются гидрофобные взаимодействия, на что также указывает довольно высокая величина ΔG , составляющая порядка -30...-31 кДж/моль (табл. 6.2).

Таблица 6.2

Константа распределения зонда между БУВ и водной фазой (K_p) и соответствующая ей свободная энергия Гиббса (ΔG) для зондов 3.4 и 6.1 в фосфатном буферном растворе^a

Состав БУВ	соед. 6.1		соед. 3.4	
	$K_p \times 10^{-4}$	ΔG , кДж/моль	$K_p \times 10^{-4}$	ΔG , кДж/моль
ФХ	43.4±1.5	-32.2±0.1	32.4±0.8	-31.4±0.1
70ФХ:30ХЛ	77.1±1.5	-33.4±0.1	27.6±1.1	-30.9±0.1
75ФХ:25ФГ	43.5±2.1	-32.2±0.1	21.7±0.9	-30.5±0.1
25ФХ:75ФГ	25.4±0.8	-30.9±0.1	16.2±0.3	-29.7±0.1

^a - 50 мМ фосфатный буферный раствор pH 8 и T=298 К.

МД моделирование взаимодействия зонда с бислоем. Для уточнения физико-химических закономерностей, определяющих флуоресцентные свойства молекул зондов 3.4 и 6.1 в системе БУВ/вода, нами было выполнено МД моделирование (NPT ансамбль) равновесного распределения нескольких молекул зонда между водной фазой и модельным липидным бислоем ФХ, как показано на рис. 6.3. Подробное описание параметров силового поля зондов и бислоя ФХ представлено в оригинальной работе [A9]. В начальный момент времени $t=0$ нс, 8 молекул зонда 6.1 были помещены в расчетную МД ячейку

на расстоянии 5-12 Å от поверхности бислоя. По прошествии 20 нс, в течение которых происходила свободная диффузия зонда в растворе, наблюдалась постепенная адсорбция всех 8 молекул на поверхность бислоя с последующим их проникновением в область, расположенную ниже фосфатных остатков ФХ (*атомы фосфора показаны в виде сфер*) (рис. 6.3 *центр*). В интервале 20-50 нс наблюдалось установление равновесного распределения молекул зонда в системе, при котором происходила незначительная его миграция внутри бислоя. Для 8 изученных молекул имела место существенная неоднородность в их ориентации и положении внутри бислоя, тем не менее, все они преимущественно находились в области, содержащей гидрофобные ацильные радикалы липидов (рис. 6.3 *справа*). Аналогичная картина также наблюдалась в МД моделировании распределения зонда **3.4** в системе бислоем/вода [A9].

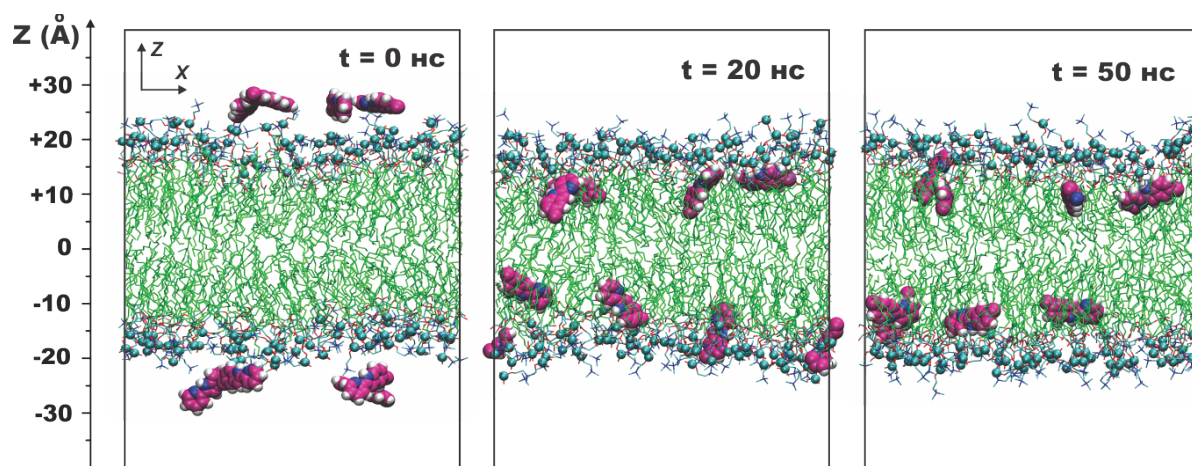


Рис. 6.3 Динамика распределения молекул зонда **6.1** в системе вода/липидный бислой по результатам МД моделирования. (Для упрощения молекулы воды не показаны).

Водородная связь зонд-вода. Для проверки гипотезы, выдвинутой нами в Разделе 3 о том, что тушение флуоресценции указанных зондов в водном растворе происходит за счет образования ММВС с молекулами воды, а также для подтверждения нашего предположения, что возгорание флуоресценции,

наблюдаемое при проникновении молекул зонда вглубь липидного бислоя, обусловлено уменьшением роли Н-связывания, нами был выполнен анализ характера ВС между зондом и молекулам воды. На рис. 6.4 показана динамика изменения вероятности образования ВС между донорными и акцепторными центрами зонда и молекулами воды, рассчитанные по всему периоду МД моделирования (рис. 6.3), который включает адсорбцию зонда на поверхность (0-10 нс) и его последующее внедрение в гидрофобную область бислоя (10-25 нс). Как следует из рисунка, для обоих зондов **6.1** и **3.4** вероятность образования ВС уменьшается от 100% в водном растворе ($t=0$ нс) до 5-7% по прошествии 20-25 нс [A9]. Таким образом, из результатов МД моделирования следует, что *при адсорбции и внедрении зондов 6.1 и 3.4 в липидный бислой вероятность образования ВС с молекулами воды уменьшается до 5-7%, что позволяет объяснить возгорание сигнала их флуоресценции при взаимодействии с БУВ.*

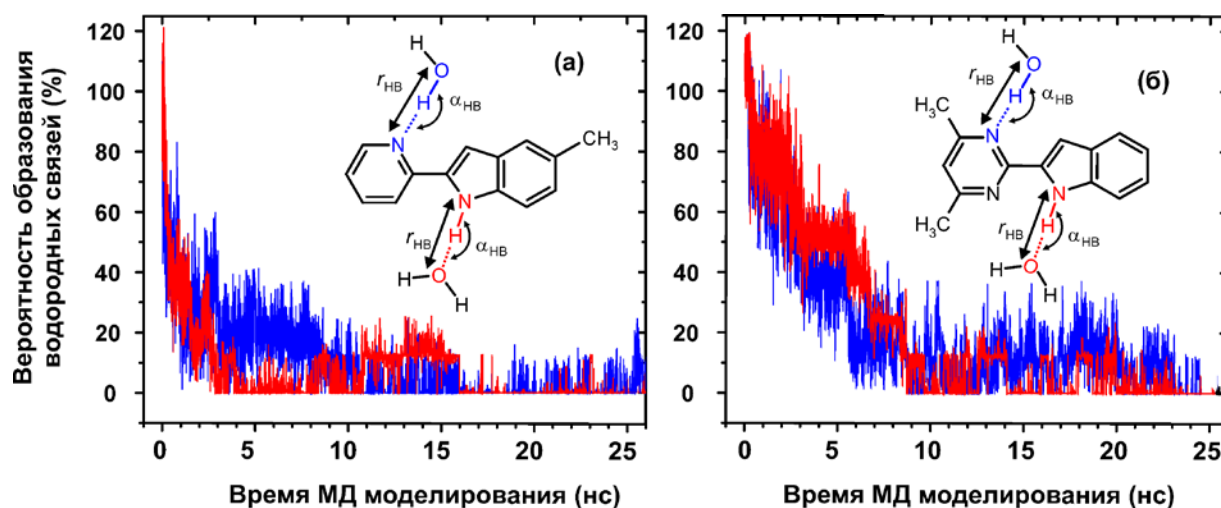


Рис. 6.4 МД моделирование вероятности образования ММВС зондов **6.1** (а) и **3.4** (б) с молекулами воды по мере их внедрения в липидный бислой ФХ.

Локализация зонда в бислое. Количественная оценка области локализации зондов **6.1** и **3.4** в липидном бислое ФХ была проведена путем усреднения массы всех тяжелых атомов в системе, и для удобства, показана на рис 6.5 для отдельных групп атомов в молекуле липида, а также всего бислоя, всех молекул воды, и 8 молекул зонда (для улучшения визуального восприятия рисунка плотность зонда умножена на 10). Заштрихованная область на рис. 6.5 показывает предпочтительную область локализации зондов **6.1** и **3.4** при их равновесном распределении в системе вода/бислой. Как видно, оба зонда имеют довольно широкое распределение внутри бислоя (зонд **6.1** от 7 до 22 Å, зонд **3.4** от 6 до 25 Å), при этом они оба преимущественно локализуются в области алкильных остатков липида (область под кривой 1 на рис. 6.5). Максимум на кривой распределения указывает на то, что зонды **6.1** и **3.4** большую часть времени находятся на расстоянии 12.2 и 13.1 Å от центра бислоя. Таким образом, с учетом диффузии, вероятная область локализации зондов **6.1** и **3.4** относительно центра бислоя соответствует 12.2 ± 7.0 и 13.1 ± 7.4 Å.

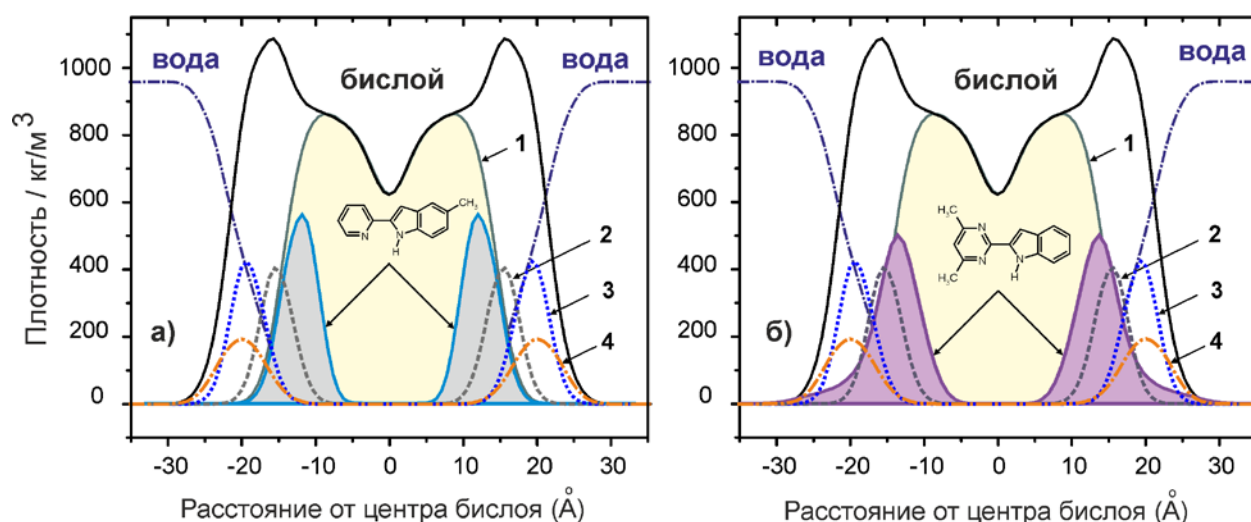


Рис. 6.5 Область локализации зондов **6.1** (а) и **3.4** (б) в системе вода/липидный бислой по результатам МД моделирования. Для сравнения показаны положения отдельных компонентов бислоя (1 – алкильные радикалы, 2 – карбонильная группа, 3 – холиновый остаток, 4 – фосфатная группа).

Традиционным недостатком МД моделирования равновесного межфазного распределения молекул зонда является необходимость накопления большого статистического набора данных (число МД конфигураций 10^8 - 10^{10}), что неизбежно связано с существенными временными затратами на выполнение необходимых расчетов, которое, однако, не гарантирует, что за этот период система достигает истинного равновесия [A25] [183, 439]. Поэтому, альтернативным подходом является МД моделирование прохождения зонда сквозь бислой, рассчитываемое по методу потенциала средней силы (ПСС), что в итоге позволяет оценить профиль свободной энергии Гиббса зонда на различных расстояниях от центра бислоя, [440-442].

Профили ПСС для зондов **6.1** и **3.4** в липидном бислое ФХ, в которых за начало отсчета принята энергия Гиббса зонда в водной фазе ($\Delta G=0$ кДж/моль), показаны на рис. 6.6. В обоих случаях ПСС характеризуется глубоким минимумом, который находится между водной фазой и центром бислоя. Сопоставление кривой ПСС со структурой бислоя, показывает, что минимум расположен в области между липидными головками и гидрофобными радикалами ФХ. Характерной особенностью ПСС зонда **3.4** является наличие локального минимума в центре бислоя, что указывает на вероятность его кратковременного пребывания в этой области. В случае зонда **6.1** глобальный минимум ПСС соответствует -36.0 кДж/моль и находится на расстоянии 9.7 Å от центра бислоя. Второй, локальный минимум имеет $\Delta G=-33.0$ кДж/моль и располо-

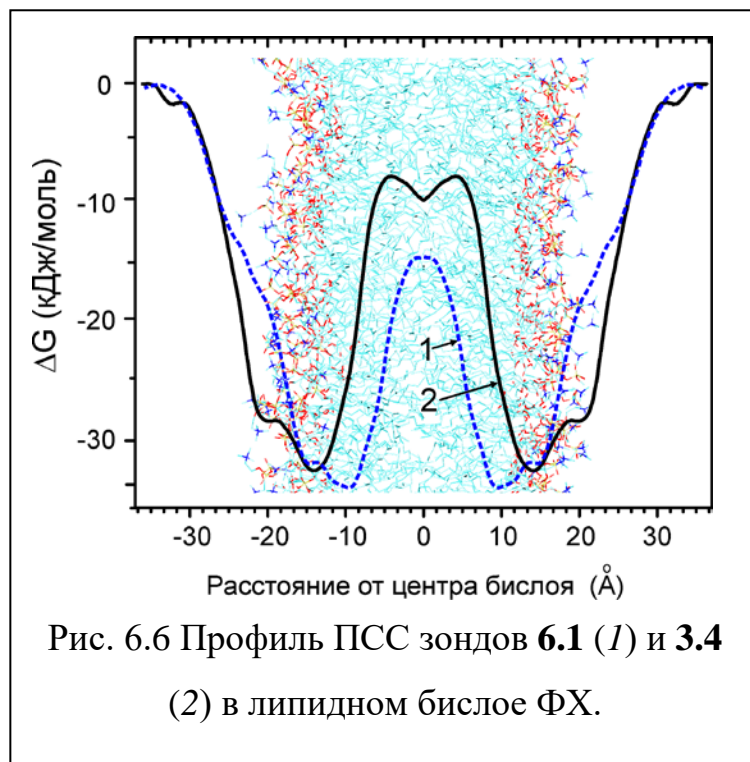


Рис. 6.6 Профиль ПСС зондов **6.1** (1) и **3.4** (2) в липидном бислое ФХ.

нута в центре бислоя, что указывает на вероятность его кратковременного пребывания в этой области. В случае зонда **6.1** глобальный минимум ПСС соответствует -36.0 кДж/моль и находится на расстоянии 9.7 Å от центра бислоя. Второй, локальный минимум имеет $\Delta G=-33.0$ кДж/моль и располо-

жен на расстоянии 14.6 Å (рис. 6.6). В случае зонда **3.4** минимумы ПСС соответствуют -33.9 и -29.7 кДж/моль и расположены на расстояниях 14.1 и 19.0 Å от центра. Обращает на себя внимание тот факт, что для обоих зондов профиль ПСС не имеет энергетического барьера при переходе из водной фазы в бислою (область 25-35 Å от центра бислоя), который связан с дегидратацией молекулы и характерен для сильно полярных и заряженных зондов [440].

Рассчитанные параметры ПСС хорошо согласуются как с экспериментальными значениями ΔG , характеризующими распределение зондов **6.1** и **3.4** в системе вода/БУВ-ФХ (табл. 6.2), так и с областью локализации, рассчитанной методом равновесного МД распределения (рис. 6.5). Для зондов **6.1** и **3.4**, ошибка определения ΔG по методу ПСС не превышает 12% и 8%, соответственно.

*Комплексное применение метода флуориметрического титрования и МД моделирования флуоресцентных зондов **3.4** и **6.1**, чувствительных к образованию ММВС с молекулами воды, позволило с общих позиций установить их эффективное связывание и проникновение в липидный бислой БУВ, на что указывает высокие значения константы ($K_p=17-77 \times 10^4$) и свободной энергии (ΔG от -29.7 до -33.4 кДж/моль) процесса распределения зонд-БУВ. На основании флуоресцентных данных и МД моделирования равновесного распределения, а также неравновесного сканирования положения молекулы в бислое, показано, что зонды **3.4** и **6.1** проникают глубоко в гидрофобную область липидного бислоя, в которую затруднено попадание молекул воды. Впервые показано, что положение зондов **3.4** и **6.1** в бислое характеризуется широким распределением 14-15 Å по глубине проникновения, при этом наиболее вероятной областью локализации является расстояние 12-13 Å от центра бислоя.*

6.1.2 2,6-Бис(1*H*-бензимидазол-2-ил)пиридин

Производные 2,6-бис-замещенного пиридина с индольными, бензимидазольными и триазольными группами находят широкое применение в качестве флуоресцентных зондов на ионы тяжелых металлов, хемосенсоров на некоторые низкомолекулярные соединения и в качестве интеркаляторов при установлении конформации двойной спирали ДНК [443, 444]. Их спектрально-флуоресцентные свойства демонстрируют высокую чувствительность к изменению полярности и протолитических характеристик среды, что позволяет применять их в качестве зондов на присутствие следовых количеств воды в организованных средах, микроэмульсиях и мицеллах [240-242].

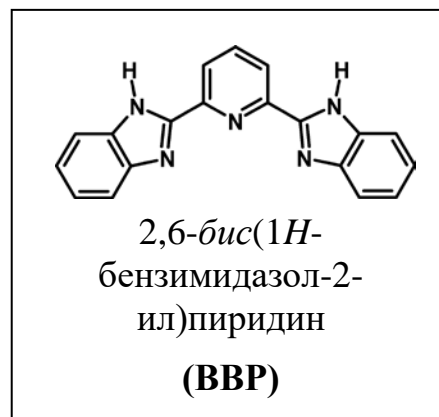


Таблица 6.3

Максимум спектра поглощения ($\lambda_{\text{погл}}$) и флуоресценции ($\lambda_{\text{фл}}$), квантовый выход флуоресценции ($\Phi_{\text{фл}}$) зонда BBP

Растворитель	$\lambda_{\text{погл}}$ (нм)	$\lambda_{\text{фл}}$ (нм)	$\Phi_{\text{фл}}$
<i>n</i> -октан	334	367	0.22
толуол	333	370	0.37
этилацетат	328	374	0.46
ацетонитрил	327	378	0.74
этанол	338	375	0.48
50 мМ фосфатный буфер pH 8	342	395	0.005
50 мМ фосфатный буфер pH 8 в присутствии 2 мМ БУВ-ФХ	339	379	0.31

Спектрально-флуоресцентные свойства. 2,6-бис(1*H*-бензимидазол-2-ил)пиридин (**ВВР**) характеризуется тушением флуоресценции в водных растворах, что не наблюдается для него ни в полярных апротонных растворителях, таких как ацетонитрил, ни в спиртах (табл. 6.3). При переходе от ацетонитрила в раствор фосфатного буфера рН 8 $\phi_{\text{фл}}$ уменьшается в 148 раз. Добавление в буферный раствор БУВ приводит к восстановлению величины $\phi_{\text{фл}}$ до 0.31 – значения, характерного для **ВВР** в апротонных растворителях низкой полярности, как, например, толуол (табл. 6.3). Таким образом соедин. **ВВР** является удобной моделью для апробации и усовершенствования описанного ранее комбинированного экспериментально/расчетного подхода для определения термодинамических параметров и области локализации зонда в липидном бислое.

Пример флуориметрического титрования зонда **ВВР** ($C=2 \cdot 10^{-6}$ М) в фосфатном буфере (рН 8) большими униламилярными везикулами фосфатидилхолина (БУВ-ФХ) показан на рис. 6.7*а*. Добавление БУВ-ФХ в буферный раствор приводило к 50-кратному усилению флуоресцентного сигнала **ВВР** на фиксированной $\lambda=379$ нм и гипсохромному смещению максимума спектра $\Delta\lambda_{\text{фл}}$ на 16 нм. Увеличение доли полярного липида фосфатидилглицерола (ФГ) в составе БУВ (от 0% в ФХ до 75 % в 75ФХ:25ФГ) приводило к систематическому понижению интенсивности флуоресценции **ВВР**, что также наблюдалось и при добавлении 10% холестерина (ХЛ) в БУВ-ФХ (рис. 6.7*б*). Константа (K_p) и энергия Гиббса (ΔG) для распределения зонда **ВВР** между буферным раствором и БУВ, рассчитанные по ур. 2.2-2.3, обобщены в табл. 6.4. Как следует из табл. 6.4, ΔG находится в узком диапазоне значений -27.2...-29.3 кДж/моль. Полученные данные указывают на сильное взаимодействие **ВВР** с БУВ и абсорбцию зонда в гидрофобную часть бислоя, в которую затруднено проникновение полярных молекул воды. Однако, эти спектральные данные не дают прямого ответа на вопрос относительно области локализации **ВВР** в БУВ.

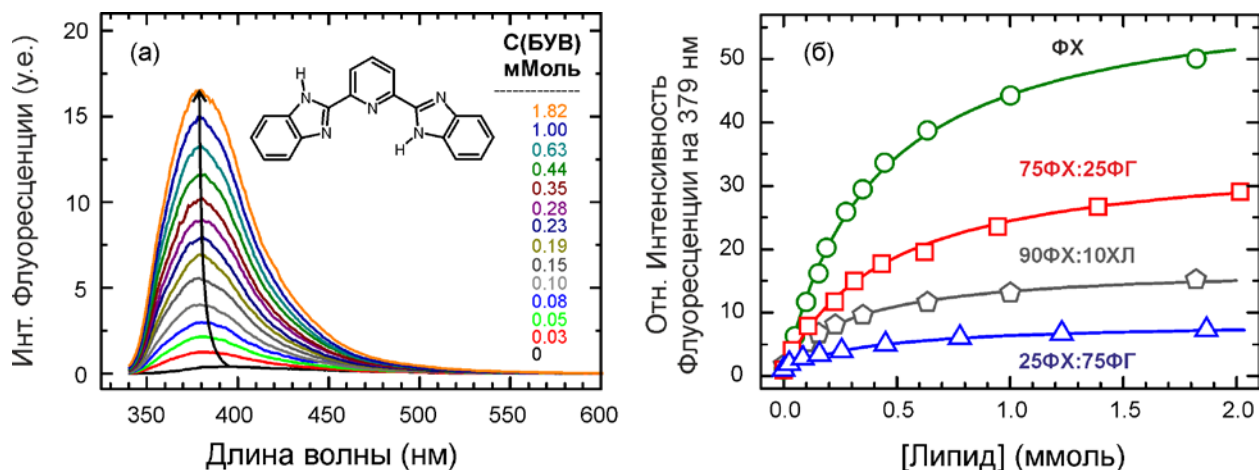


Рис. 6.7 (а) Флуориметрическое титрование зонда **ВВР** БУВ-ФХ. (б) Зависимость относительной интенсивности флуоресценции **ВВР** от общей концентрации липида для БУВ различного состава [A15].

Таблица 6.4

Термодинамические параметры взаимодействия **ВВР** с БУВ^а

Состав БУВ	$K_p \times 10^{-4}$	ΔG , кДж/моль
ФХ	15.4 ± 1.1	-29.3 ± 0.4
75ФХ:25ФГ	14.1 ± 1.2	-28.8 ± 0.4
90ФХ:10ХЛ	16.3 ± 0.8	-29.7 ± 0.4
25ФХ:75ФГ	6.3 ± 1.5	-27.2 ± 0.4

^а Измерения выполнены в фосфатном буфере (50 мМ, рН 8, T=298 К).

Тушение флуоресценции ВВР ионами Co^{2+} . Относительная глубина погружения **ВВР** в БУВ была определена методом тушения флуоресценции парамагнитными ионами Co^{2+} [445, 446]. Количественно, диффузионное тушение флуоресценции в растворе описывается линейной зависимостью Штерна-Фольмера (ур. 6.1).

$$\frac{F_0}{F_i} = 1 + K_{sv} [Q] \quad (6.1)$$

Как показано на рис. 6.8, флуоресценция **ВВР** в растворе эффективно тушится в присутствии ионов Co^{2+} . После инкубации зонда **ВВР** в растворе, содержащем 2 мМ БУВ, тушение флуоресценции практически не наблюда-

лось. Это может быть связано с тем, что положительно заряженный ион Co^{2+} не проникает в гидрофобную часть бислоя, где может локализоваться **ВВР**. В фосфатном буфере в отсутствии БУВ, K_{sv} составляет $42 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$. В присутствии БУВ-ФХ, 90ФХ:10ХЛ и 25ФХ:75ФГ K_{sv} уменьшается до 0.8×10^5 , 1.1×10^5 , and $1.4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, соответственно. Уменьшение K_{sv} в 38-40 раз указывает на то, что зонд **ВВР** проникает глубоко внутрь липидного бислоя и становится недоступным для заряженного парамагнитного тушителя Co^{2+} [A15].

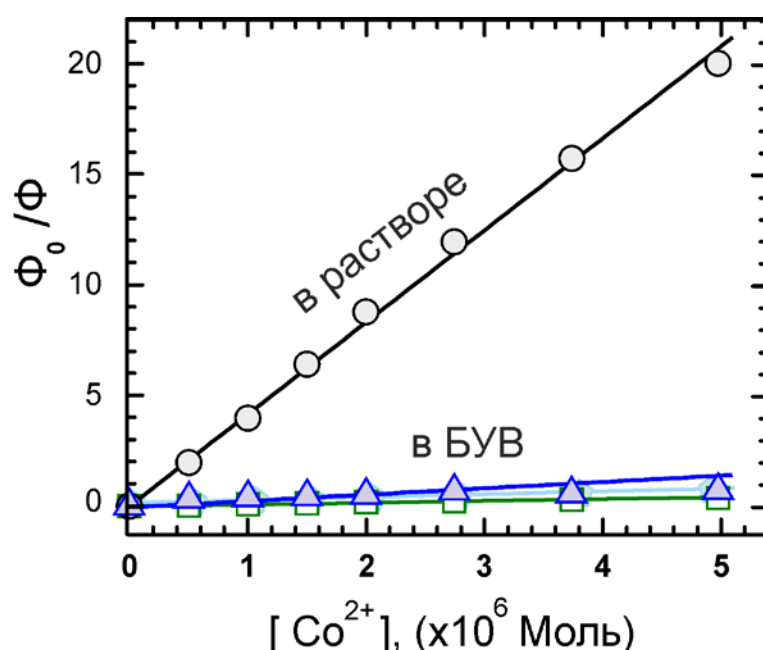


Рис. 6.8 Штенф-Фольмеровская зависимость тушения флуоресценции **ВВР** ионами Co^{2+} в фосфатном буфере в отсутствии (\circ) и в присутствии БУВ различного состава (Δ - ФХ, \blacktriangledown - 90ФХ:10ХЛ, \square - 25ФХ:75ФГ).

МД моделирование локализации ВВР в бислое. Для установления области локализации зонда **ВВР** в БУВ была применена комбинированная процедура, включающая различные протоколы МД моделирования: (1) - традиционное моделирование равновесного распределения зонда между водной фазой и липидным бислоем, (2) усовершенствованная процедура расчета профиля ПСС, учитывающая одновременное сканирование двух молекул зонда вдоль нормали к бислою (раздел 2.7.4).

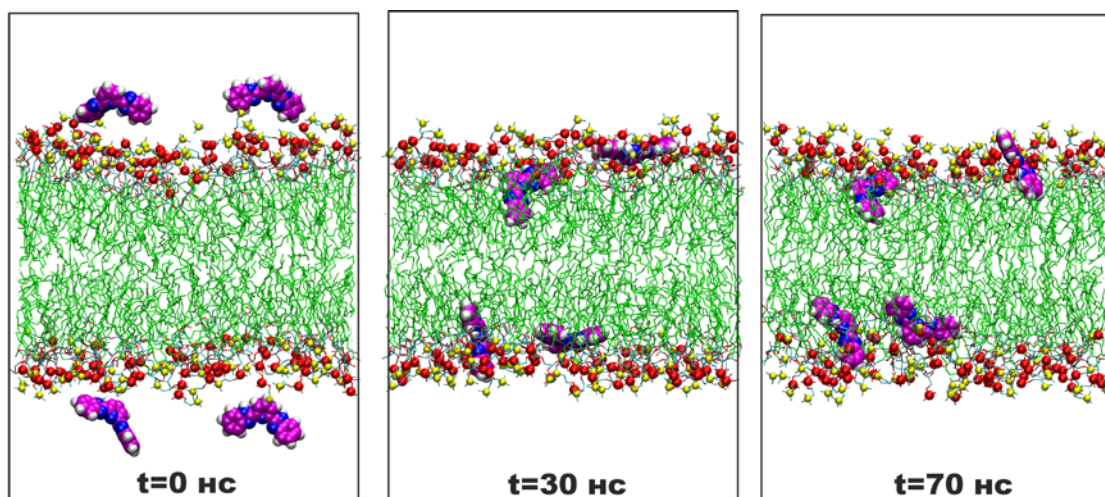


Рис. 6.9 МД моделирование равновесного распределения четырех молекул зонда **VPP** в системе вода/липидный бислой ФХ (для упрощения молекулы воды не показаны).

На первом этапе было проведено МД моделирование равновесного распределения четырех молекул зонда **VPP**, изначально равномерно расположенных между верхним и нижним монослоем ФХ (рис. 6.9). Процедура и параметры МД моделирования были аналогичны ранее описанным для зондов **6.1** и **3.4**. Подробное описание силового поля и МД параметров **VPP** и бислоя ФХ представлено в оригинальной работе [A15]. Как следует из рис. 6.9, по прошествии 30 нс все четыре молекулы **VPP** диффундируют в поверхностный слой и локализуются вблизи его поверхности. На протяжении следующих 40 нс молекулы зонда погружаются в область глицериновых остатков бислоя, при этом их проникновение в более глубокую область не наблюдается.

Для оценки области локализации зонда в бислое для всех четырех его молекул было усреднено положение центра масс **VPP** относительно центра бислоя (учитывались последние 40 нс продуктивного МД прогона). Среднее положение центра масс **VPP** хорошо описывалось распределением Гаусса с максимумом 16 ± 6 Å от центра, что, поэтому, можно принять за предпочтительную область локализации **VPP** в бислое ФХ [A15].

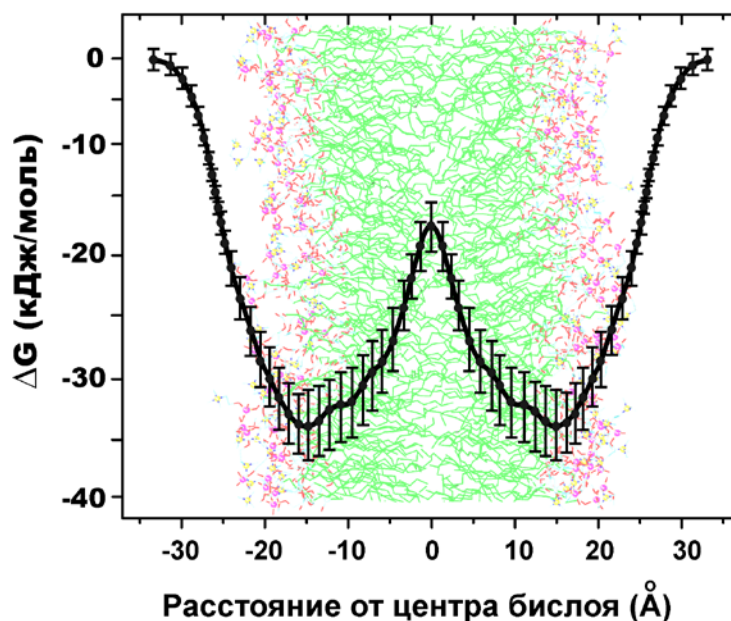
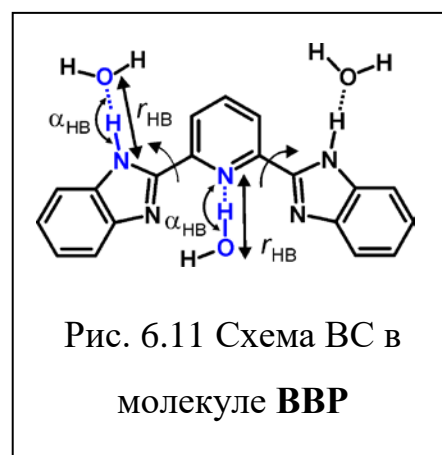


Рис. 6.10 МД моделирование профиля ПСС для проникновения **ВВР** через липидный бислой ФХ.

На втором этапе был проведен расчет профиля ПСС для проникновения **ВВР** сквозь липидный бислой ФХ. Для улучшения сходимости МД расчета ПСС был выполнен одновременный скан двух молекул зонда (в начальной момент расчета ПСС одна из них находилась в центре бислоя, а вторая - в водной фазе), перемещаемых синхронно перпендикулярно бислою. Скан ПСС выполнен для 33 точек (рис. 6.10). Улучшенная процедура скана ПСС позволила оценить обратимость процесса и рассчитать систематическое отклонение ΔG в каждой точке скана. Как следует из рис. 6.10, профиль ПСС имеет четкий минимум $\Delta G = -33.9$ кДж/моль в области 15-16 Å от центра бислоя [A15]. При этом в центре бислоя имеется энергетический барьер ~18 кДж/моль, который не позволяет молекуле зонда диффундировать из одного монослоя, сквозь центр, в противоположный монослой. Рассчитанная величина ΔG (рис. 6.10) хорошо согласуется (систематическое отклонение не более 9%) с экспериментальным значением -29.3 кДж/моль, полученным ранее по результатам флуоресцентного титрования (табл. 6.4).

Водородная связь ВВР-вода. Как было показано в начале раздела, тушение флуоресценции зонда **ВВР** в водном растворе (табл. 6.3) обусловлено образованием ММВС с молекулами воды. **ВВР** может выступать как донором Н-связи, образуя две ВС за счет бензимидазольных групп N-H, так и акцептором ВС по атому азота пиридинового и бензимидазольного циклов (ВС по бензимидазольному атому азота традиционно намного слабее ВС по пиридиновому атому азота и поэтому была нами исключена из рассмотрения).

Схема возможных ВС в молекуле **ВВР** показана на рис. 6.11. При локализации **ВВР** в гидрофобном слое ФХ, в который не проникают полярные молекулы воды, зонд не должен образовывать ВС, и, следовательно, его флуоресценция должна усиливаться. Для проверки этой гипотезы, был выполнен МД расчет вероятности образования ВС между **ВВР** и молекулами воды (геометрические критерии ВС показаны на рис. 6.11). При расчете ВС использована МД траектория скана профиля ПСС. Таким образом, вероятность образования ВС была оценена в 33 точках, расположенных на разном расстоянии вдоль нормали



к поверхности бислоя, начиная от его центра, заканчивая внешней границей и водной фазой, как схематически показано на рис. 6.12a. Вероятность образования ВС принималась равной 100%, если **ВВР** образовывал одновременно 3 ВС, показанные на рис. 6.11. Как видно из рис. 6.12a, в водной фазе (30-35 Å от центра бислоя) вероятность образования ММВС между **ВВР** и молекулами воды составляет порядка 95 %. При сближении зонда с бислоем эта вероятность резко уменьшается, достигая 15-17 % на самой его поверхности (15-20 Å). При проникновении **ВВР** в гидрофобную область бислоя (0-15 Å) вероятность образования ММВС снижается до 3-7%.

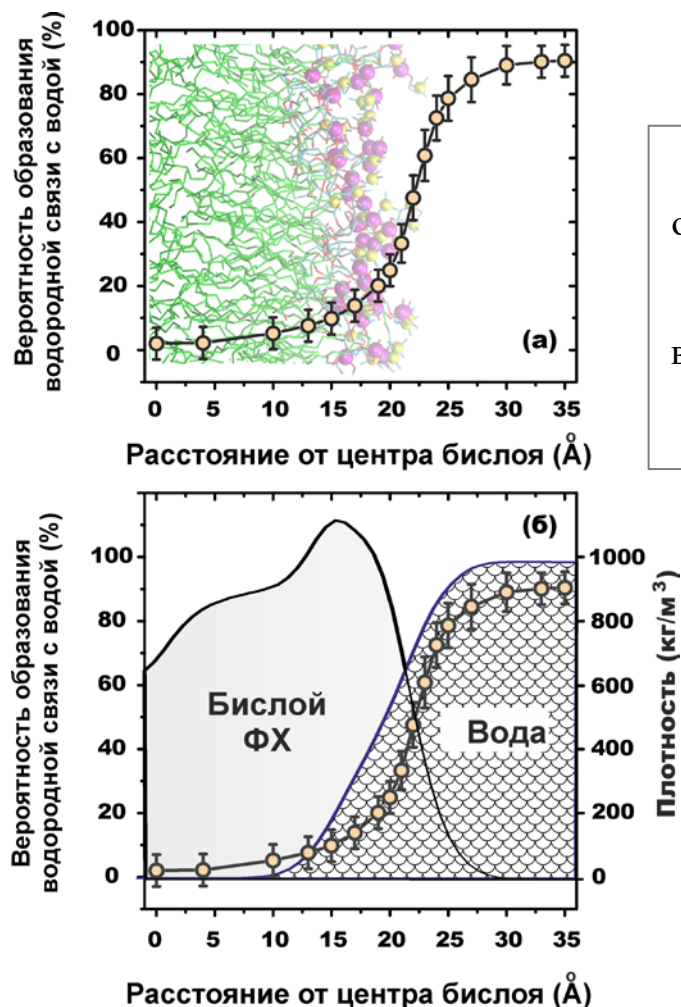
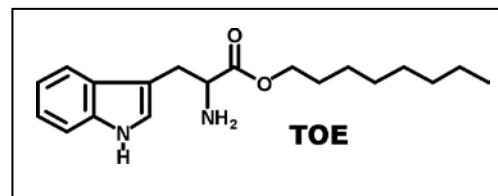


Рис. 6.12 Вероятность образования ММВС между **ВВР** и молекулами воды, рассчитанная вдоль профиля ПСС на различном расстоянии от центра бислоя.

По результатам МД моделирования впервые показано, что *ненулевая вероятность образования ММВС зонда ВВР с молекулами воды, при его нахождении в центре бислоя, связана с существованием устойчивых Н-комплексов ВВР с водой, которые образуются еще в водном растворе и проникают внутрь бислоя без их разрушения* [A15]. Усовершенствованный метод расчета ПСС, моделирующий прохождение зонда сквозь липидный бислой, который включает одновременный скан двух молекул зонда, имеет ряд очевидных преимуществ по сравнению с традиционным одномерным сканом одной молекулы, к которым следует отнести одновременную оценку погрешности профиля ПСС и гистерезиса системы. Предлагаемый метод расчета ПСС позволяет прогнозировать термодинамику распределения в системе вода/бислой широкого ряда небольших органических и биологических молекул, лекарственных и фармацевтических препаратов.

6.1.3 Октиловый эстер аминокислоты триптофан

Октиловый эстер аминокислоты триптофан (*от англ.* L-Tryptophan Octyl Ester, **ТОЕ**), является удобной моделью для изучения триптофановой флуоресценции в пептидах и белках. Однако, высокая степень спектрально-флуоресцентной гетерогенности **ТОЕ**, наблюдаемая при нахождении зонда в модельных и биологических мембранах свидетельствует о его неоднородном распределении в липидном бислое [169].



В этом подразделе предложено решение актуальной научной задачи – *установления структурно-динамических и физико-химических аспектов взаимодействия **ТОЕ** с модельным липидным бислоем ФХ при помощи МД моделирования равновесного распределения 8 молекул зонда между бислоем ФХ и окружающей его водной фазой. Для ее решения на основе силового поля CHARMM22 была разработана и валидирована полноатомная МД модель **ТОЕ** и оценена локализация триптофанового остатка в бислое.*

Силовое поле и МД модель. Геометрия, МД модель и параметры силового поля **ТОЕ** были основаны на топологической модели триптофанового остатка, доступного в биомолекулярной версии силового поля CHARMM22 [229] и CHARMM27 [447], как подробно описано в оригинальной работе [A5]. Фосфолипидный бислой ФХ был построен из 280 молекул липида, для которых была задействована стандартная параметризация CHARMM27. В начальной конфигурации системы, восемь молекул **ТОЕ** были помещены в поверхностный слой таким образом, чтобы октильные цепи были погружены вглубь, в область липидных радикалов, с пространственной ориентацией триптофанового флуорофора перпендикулярно поверхности бислоя. Одновременное моделирование 8 молекул зонда позволило улучшить статистику. Из соображений симметрии 8 молекул **ТОЕ** были распределены по четыре молекулы в каждый монослой. МД моделиро-

вание (NVT, 298 K) выполнялось в прямоугольной ячейке $100 \times 100 \times 72$ Å, сольватированной 7296 молекулами воды (топологическая модель TIP3 [448]), с применением периодических граничных условий. В моделируемой системе концентрация **ТОЕ** составляла 1.2 мол. % [A5].

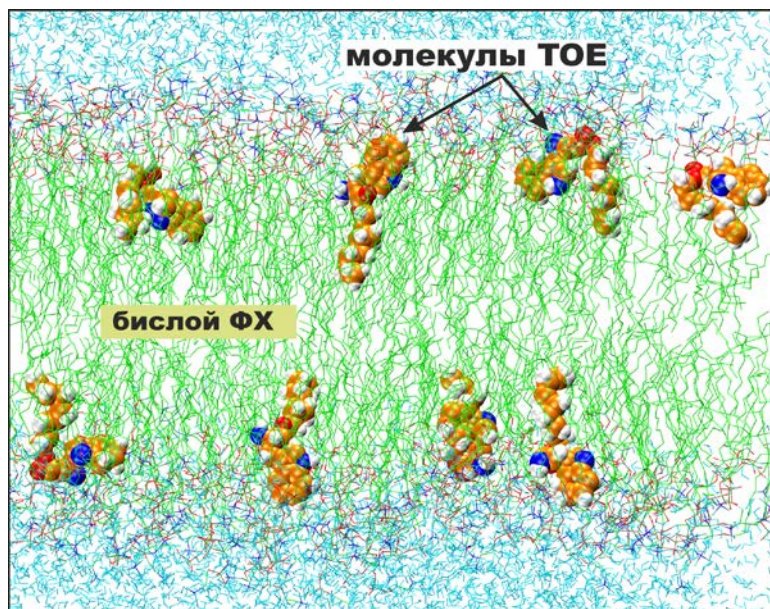


Рис. 6.13 Мгновенная МД конфигурация **ТОЕ** в липидном бислое **ФХ**.

На рис. 6.13 показана мгновенная МД конфигурации системы по прошествии 100 нс равновесного МД моделирования. В процессе уравнивания и распределения молекул зонда в бислой наблюдалось концентрирование триптофановых фрагментов **ТОЕ** в приповерхностной области. В силу низкого энергетического барьера, конформация октилового фрагмента **ТОЕ** характеризовалась существенной неоднородностью (рис. 6.13).

Количественная оценка распределения усредненной плотности масс **ТОЕ** и компонентов бислоя приведена на рис. 6.14б. Для триптофанового флуорофора **ТОЕ** зафиксирован максимум при 13.3 ± 0.6 Å от центра бислоя с полушириной функции распределения 9.1 Å, которая имеет ассиметричную форму с характерным уширением в область полярных групп **ФХ**, таких как карбонильные группы, глицериновый остаток и фосфатная группа **ФХ**.

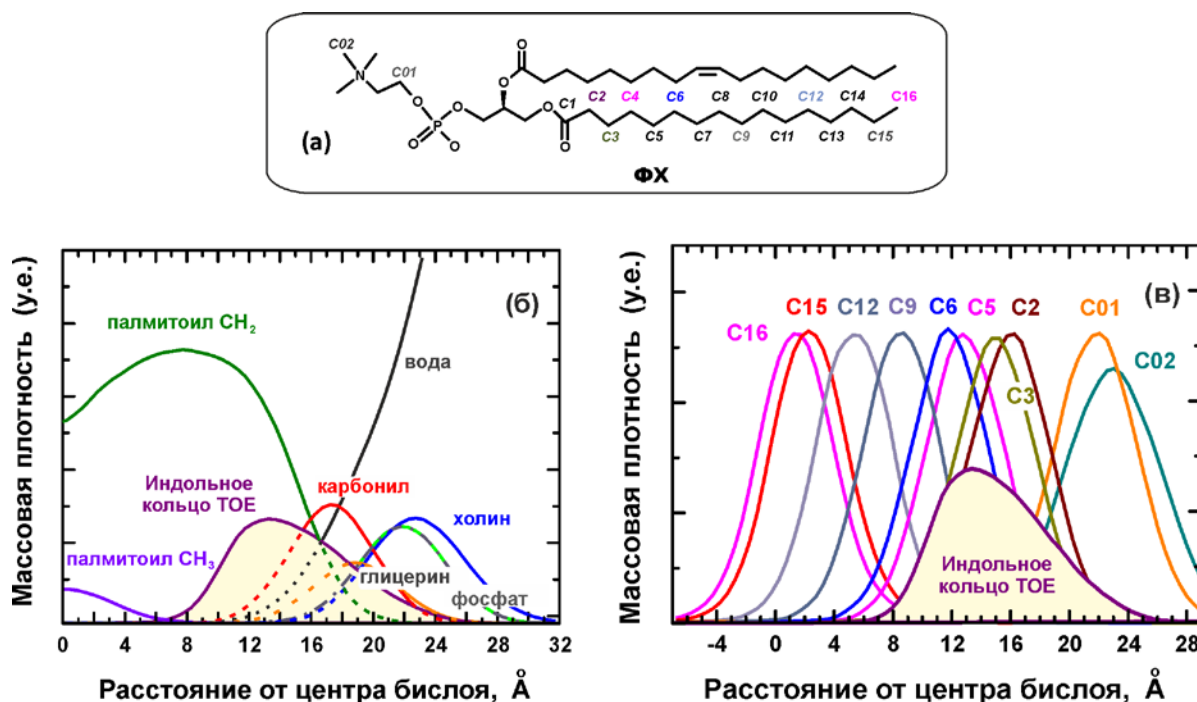


Рис. 6.14 (а) Структура и обозначение атомов в молекуле ФХ. (б) Распределение массовой плотности **ТОЕ** и отдельных компонентов бислоя. (в) Положение индольного кольца **ТОЕ** относительно углеродных атомов пальмитиновой цепи ФХ.

С учетом асимметрии кривой распределения, альтернативной оценкой области локализации триптофанового флуорофора является центр масс площади фигуры под кривой, который находится при 14.8 ± 0.6 Å от центра бислоя. Предпочтительная область локализации **ТОЕ** соответствует положению пятого (C5) углеродного атома пальмитиновой цепи ФХ (рис. 6.14а и в). Литературное значение глубины погружения триптофанового флуорофора **ТОЕ** в бислой, рассчитанное по глубинно-зависимому тушению бромолипидами, составляет 11.3 Å от центра бислоя [166]. Вместе с тем в некоторых публикациях с аналогичными экспериментами по глубинно-зависимому тушению парамагнитными липидными тушителями глубина погружения оценена в 13.5 Å [181]. Следует также отметить, что в ряде работ по МД моделированию незамещенной аминокислоты триптофана в липидном бислое приводятся глубины погружения в диапазоне 11-13 Å [449-451].

Глубина погружения зондов **6.1** и **3.4**, содержащих триптофановый фрагмент и изученных в разделе 6.1.1, была оценена в 12-13 Å от центра бислоя [A9].

Таким образом, можно сделать вывод о том, что *предложенная нами компьютерная МД модель **ТОЕ** в бислое ФХ адекватно описывает основные физико-химические параметры распределения зонда и предсказывает область локализации триптофанового флуорофора на глубине 13.3 ± 0.6 Å от центра бислоя. По совокупности результатов МД моделирования и сравнения с литературными данными сделан вывод о том, что наличие октильного заместителя в молекуле зонда **ТОЕ** не оказывает существенного влияния на локализацию и область распределения флуорофора в липидном бислое по сравнению с незамещенной молекулой триптофана и его структурными аналогами.*

6.1.4 Родамин-ФЭ

Фосфолипиды, меченные флуоресцентным зондом или маркером, находят широкое применение в биохимии, мембранной биологии и биофизике [170-173]. Благодаря высокому квантовому выходу флуоресценции липидные маркеры на основе родамина и сульфородамина применяются для изучения микровязкости, латеральной диффузии и фазовых переходов в модельных и природных мембранах при помощи различных флуоресцентных методов, таких как метод отслеживания одиночных частиц, ФКС, конфокальная флуоресцентная микроскопия [452, 453]. Однако, отсутствие надежных данных о положении флуорофора в мембране затрудняет, и во многих случаях даже делает невозможным корректную интерпретацию экспериментальных данных. В этом разделе решена актуальная научная задача – *при помощи методов классического МД моделирования предложена атомистическая МД модель, описано строение и установлена область локализации популярного флуоресцентного маркера **Родамин-ФЭ** в липидном бислое ФХ (рис. 6.15).*

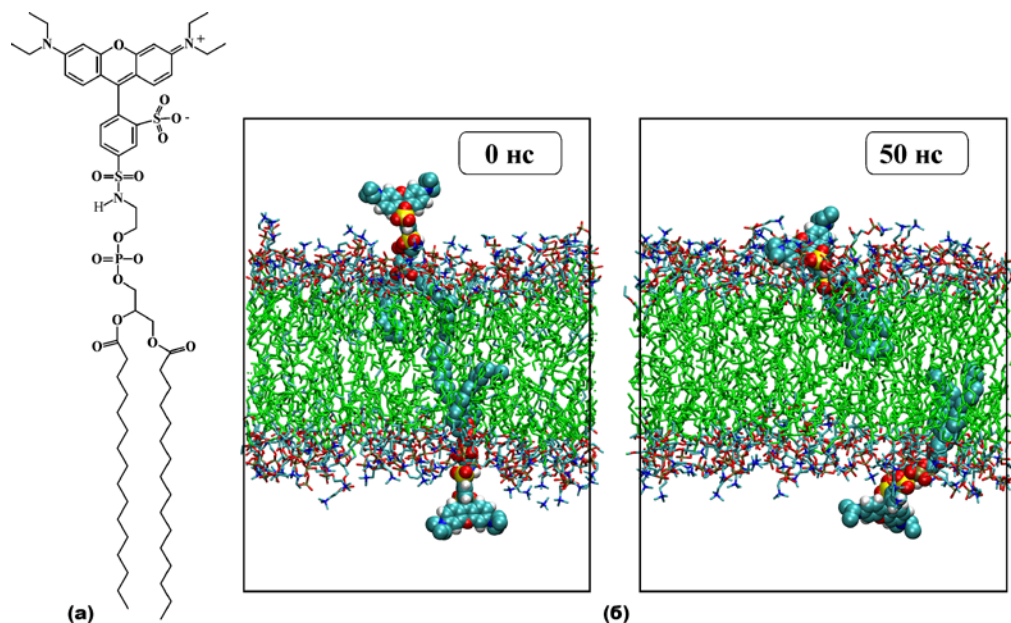


Рис. 6.15 (а) Строение молекулы липидного флуоресцентного маркера, меченного сульфородамином (1,2-дипальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфоэтанол-амин-*N*-сульфородамин-В, **Родамин-ФЭ**). (б) МД моделирование расположения **Родамин-ФЭ** в липидном бислое ФХ в начальный и конечный момент МД расчета [A11].

Параметры силового поля флуоресцентного маркера **Родамин-ФЭ** (рис. 6.15а) и липидного бислоя ФХ детально описаны в оригинальной работе [A11]. Исходный липидный бислой был построен из 64 молекул ФХ, в котором две молекулы ФХ заменены на две молекулы флуоресцентного маркера **Родамин-ФЭ** (рис. 6.15б). МД ячейка заполнена 7485 молекулами воды. МД моделирование уравнивания системы и продуктивного прогона выполнено в NPT-ансамбле при $T=323$ К.

Область локализации хромофорного фрагмента в **Родамин-ФЭ** рассчитана путем усреднения массовой плотности родамина относительно центра бислоя (рис. 6.16а). В начальной МД конфигурации флуорофор находился на расстоянии 26-28 Å от центра бислоя. После 50 нс продуктивного МД прогона, центр распределения массовой плотности роданинового фрагмента незначительно переместился ближе к поверхностному

слою ФХ, в область холиновых и фосфатных остатков нахождения (21-23 Å на рис. 6.16а). Усредненное расположение **Родамина-ФЭ** в бислое ФХ показано на рис. 6.16б. Сульфородаминовый флуорофор обращен в водную фазу, при этом плоскость молекулы наклонена под углом $44^\circ \pm 8^\circ$ к нормали бислоя [A11].

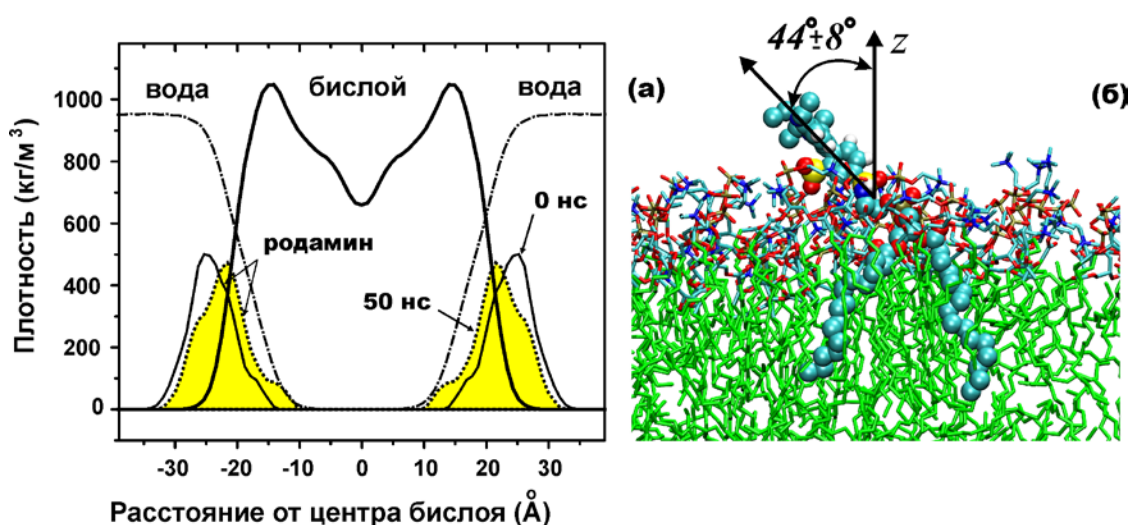


Рис. 6.16 МД моделирование **Родамин-ФЭ** в липидном бислое ФХ. (а) Распределение массовой плотности бислоя, воды, и **Родамина-ФЭ** (распределение хромофора показано в начале и конце МД расчета). (б) Усредненное расположение **Родамин-ФЭ** в бислое ФХ.

По результатам МД моделирования впервые показано, что флуоресцентный липидный маркер **Родамин-ФЭ** встраивается в фосфолипидный бислой с сохранением конформации, в которой хромофорный фрагмент сульфородамина обращен в водную фазу и его центр масс расположен на расстоянии 26-28 Å от центра бислоя. Средний угол отклонения плоскости родамина от нормали к бислою составляет $44^\circ \pm 8^\circ$. Показано, что в молекуле **Родамина-ФЭ** липидный фрагмент **ФЭ** является эффективным “якорем”, фиксирующим и удерживающим сульфородаминовую группу во внешней поверхностной зоне бислоя.

6.2 МД моделирование парамагнитных фосфолипидных тушителей в липидном бислое

Фосфолипиды, меченные парамагнитными спиновыми метками, такими как нитроксильные радикалы, широко применяются в экспериментах по глубинно-зависимому тушению флуоресценции пептидов и белковых молекул [186]. Основным ограничением указанного метода является отсутствие надежных экспериментальных данных о положении самой спиновой метки в липидном бислое [454]. Методы определения глубины погружения метки в бислой, основанные на технике ЭПР, электронной дифракции или кристаллографического анализа имеют ряд ограничений, связанных в первую очередь с необходимостью проводить измерения в замороженных растворах или в твердом состоянии [455, 456], в то время, как большинство экспериментов в медико-биологических исследованиях выполняются при комнатных температурах. Анализ литературных данных показывает, что работы по МД моделированию спиновых меток в мембранах практически отсутствуют [457]. В связи с этим, в данном разделе ставится и решается актуальная научная задача – для ряда из шести фосфолипидов, меченных спиновыми метками *ТЕМПО* (2,2,6,6-тетраметил-пиперидин-1-оксил) или *Доксил*, в которых положение парамагнитной метки варьируется, начиная от полярной головки липида и систематически смещаясь вдоль стеариновой цепи к его хвосту (от C5 к C14, рис. 6.15), при помощи МД моделирования установить положение спиновой метки в бислое. Предложенный ряд спиновых липидных тушителей, при внедрении их в липидный бислой, перекрывает весь возможный диапазон положений флуоресцентного зонда в бислое, и, т.о., является калибровочным для установления глубины погружения зонда по методу глубинно-зависимого тушения.

Выбор ряда парамагнитных липидных тушителей **ТЕМПО-ФХ** и ***n*-Доксил-ФХ** (рис. 6.17), обусловлен тем, что они являются популярными,

коммерчески доступными спиновыми зондами, которые широко используются в биофизических исследованиях [A2, A33, A34, A44] и [186, 189].

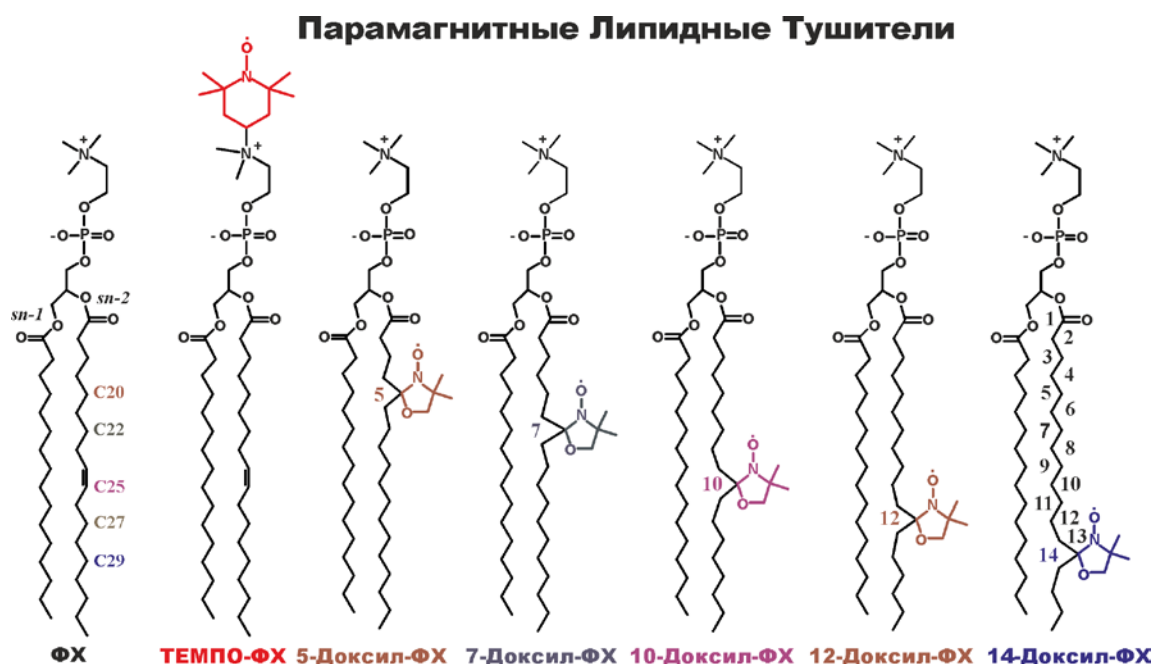


Рис. 6.17 Фосфолипиды, меченные парамагнитными метками **ТЕМПО-ФХ** и *n*-Доксил-ФХ (где, $n = 5, 7, 10, 12$ и 14 – положение метки в стеариновой цепи ФХ).

Силовое поле метки и построение МД модели меченного липида. Параметризация силового поля парамагнитных меток ТЕМПО и Доксил основана на геометрии и зарядовом распределении, рассчитанных в приближении UB3LYP/сс-pVDZ. Построение МД модели меченных ФХ описано в оригинальной работе [A4]. За основу их силового поля была взята параметризация молекулы немеченого ФХ (рис. 6.17), в которой отредактированы соответствующие структурные параметры. Силовое поле бислюа ФХ было аналогично описанному ранее [A9, A14, A15]. МД моделирование сольватированного бислюа (128 ФХ, 4217 молекул воды) выполнено в NPT ансамбле ($P=1$ атм, $T=303.15$ K). В немеченом бислюе ФХ случайным образом выбирались 12 или 34 молекулы ФХ для замещения на соответствующие меченные аналоги, что соответствует концентрации 11 или 29 мольных

процентов (мол. %) спиновой метки в бислое. Этот концентрационный диапазон является типичным в экспериментах по глубинно-зависимому тушению [180, 181, 186, 188].

МД моделирование *n*-Доксил-ФХ в бислое ФХ. МД моделирование было выполнено для пяти систем, в каждой из которых липидный бислой состоял из 116 молекул немеченого ФХ и 12 молекул меченого липида *n*-Доксил-ФХ (116:12 ФХ:*n*-Доксил-ФХ, концентрация 11 мол. %), распределенного равномерно между двумя монослоями. В начальный момент времени спиновые метки располагались в бислое возле положений соответствующих атомов в немеченом ФХ, с которым они ковалентно связаны через четвертичный углеродный атом. Для установления равновесного положения спиновых меток в бислое каждая система подвергалась уравниванию и полезному МД прогону длительностью 100 нс.

На рис. 6.18 показаны типичные мгновенные МД конфигурации ячейки, полученные после полного уравнивания системы и содержащие бислой ФХ, в котором жирным цветом выделены молекулы *n*-Доксил-ФХ. Обращает на себя внимание тот факт, что несмотря на ковалентное связывание парамагнитной метки со стеариновой цепью липида, во всех системах наблюдается существенная структурная гетерогенность положения метки Доксил внутри бислоя (рис. 6.18). В случае **12-Доксил-ФХ** и **14-Доксил-ФХ**, за счет конформационной лабильности стеариновой цепи, спиновая метка может находиться как в приповерхностной области, так и глубоко в центре бислоя ФХ. Этот факт хорошо согласуется с экспериментальными данными ЭПР, полученными для этих же систем в температурном диапазоне 270-305 К, которые показывают аномальное уширение сигнала, и из которых следует, что полуширина функции распределения положения метки в бислое может достигать 12 Å [454, 458, 459]. В литературе, по данным нейтронного рассеивания и МД моделирования, показана высокая конформационная

мобильность стеариновых и пальмитиновых хвостов липидных молекул, из которых построен бислой ФХ. Показано, что концевая метильная группа стеариновых/пальмитиновых остатков может с ненулевой вероятностью находиться в интервале от 0-18 Å от центра бислоя [460].

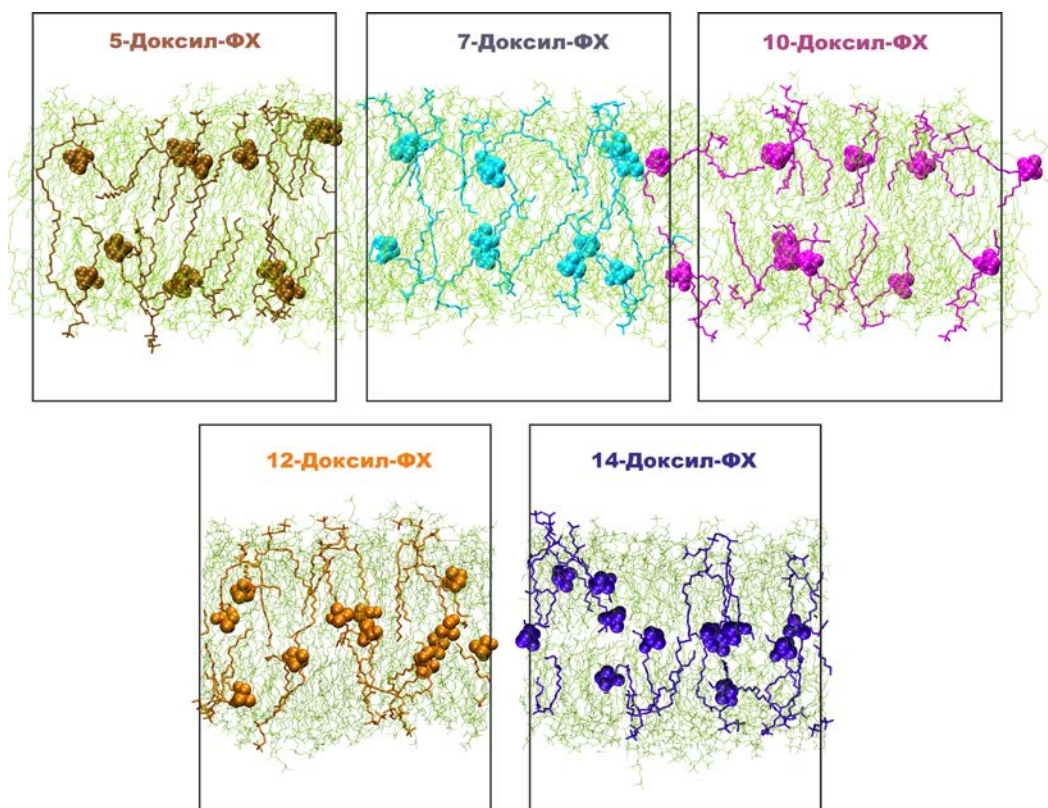


Рис. 6.18 Мгновенные МД конфигурации липидных спиновых меток *n*-Доксил-ФХ (11 мол. %) в бислое ФХ после релаксации в течение 100 нс.

В литературе, среди возможных причин невоспроизводимых и противоречивых результатов по глубинно-зависимому тушению принято считать использование широкого диапазона концентраций спиновой метки в бислое, варьирующихся от 5 до 40 %, что могло вызывать нарушение в структуре меченного бислоя [189]. Анализ МД результатов показал, что физико-химические параметры липидного бислоя ФХ (толщина, плотность, упаковка липидных хвостов), до и после добавления в него 11 мол % *n*-Доксил-ФХ не претерпевали существенных изменений [A4]. Поэтому, было выполнено

контрольное МД моделирование бислоя, содержащего увеличенную концентрацию 29 мол. % **5-Доксил-ФХ** (94:34 **ФХ**:**5-Доксил-ФХ**) (рис. 6.19а).

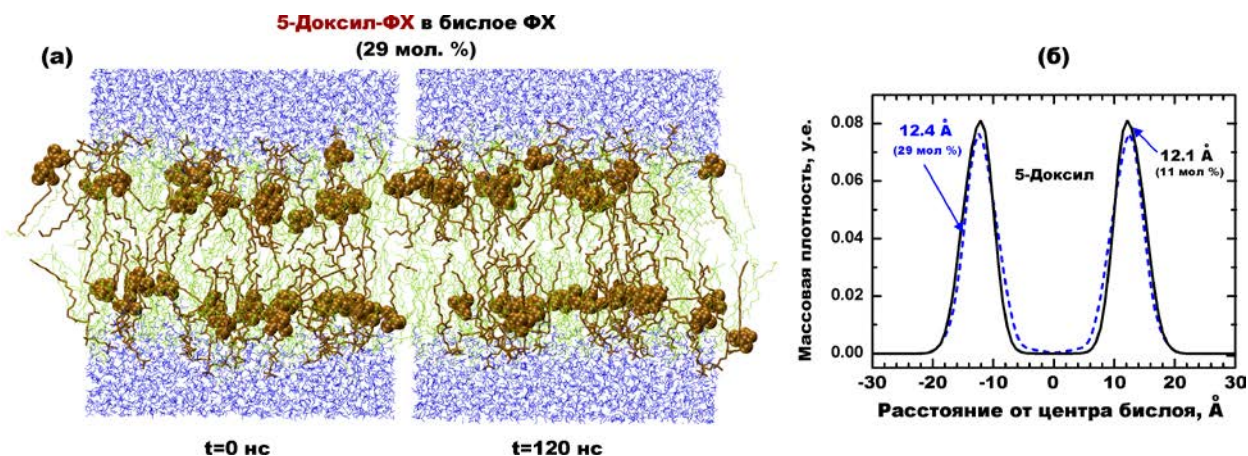


Рис. 6.19 (а) МД моделирование **5-Доксил-ФХ** в бислое **ФХ** при высокой концентрации 29 мол. %. (б) Сравнение положения спиновой метки в бислое при двух концентрациях **5-Доксил-ФХ** 11 мол. % и 29 мол. %.

Оценка глубины погружения спиновой метки в бислой **ФХ** выполнена при помощи усреднения положения ее центра масс по всем мгновенным конфигурациям (2.5×10^6), полученным за последние 50 нс МД прогона. С учетом симметрии системы было выполнено также усреднение плотности масс метки, встроенной в каждый из двух монослоев. Полученное для **5-Доксил** распределение показано на рис. 6.19б. По форме оно хорошо описывается функцией Гаусса, поэтому ее максимум и полуширина являются удобными параметрами для описания локализации и глубины погружения метки в бислой. Для **5-Доксил-ФХ** в концентрации 11 мол. % и 29 мол. % распределение спиновой метки в бислое существенно не изменяется и ее положение находится при 12.1 и 12.4 Å от центра бислоя. На основании этих результатов, основная часть МД моделирования выполнена для концентрации спиновой метки равной 11 мол. %. Для остальной серии **n-Доксил-ФХ** распределение массовой плотности спиновой метки в бислое показано на рис. 6.20.

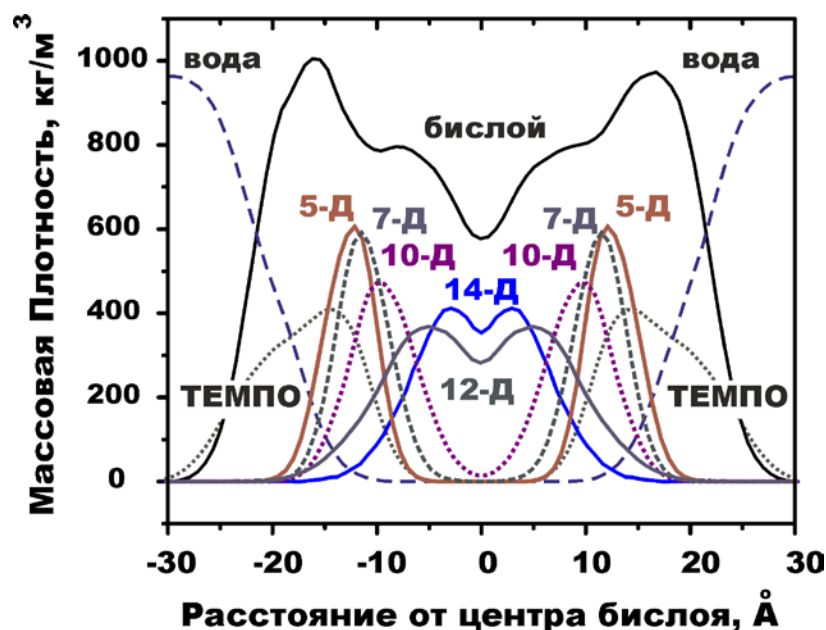


Рис. 6.20 Распределения массовой плотности спиновых меток ТЕМПО и Доксил для ТЕМПО-ФХ и *n*-Доксил-ФХ (*n*-Д) в липидном бислое ФХ по результатам МД моделирования.

Таким образом, исследованная серия липидов *n*-Доксил-ФХ является систематическим рядом, и как будет показано в следующих подразделах, в этом ряду глубина погружения парамагнитной метки в бислой формирует единую шкалу от 12.1 Å (5-Доксил) до 2.9 Å (14-Доксил).

МД моделирование ТЕМПО-ФХ в бислое ФХ. МД моделирование ТЕМПО-ФХ было выполнено для двух концентраций 11 мол. % (116:12 ФХ:ТЕМПО-ФХ) и 28 мол. % (96:32 ФХ:ТЕМПО-ФХ), соответственно. В этих системах ТЕМПО-ФХ распределен равномерно между обоими монослоями, как показано на рис. 6.21. Процедура задания начальной конфигурации меченного бислоя была аналогична процедуре, описанной нами ранее, а именно, в немеченом бислое случайным образом выбирались 12 или 32 липида, которые трансформировались в ТЕМПО-ФХ. В результате, в начальный момент МД моделирования ($t=0$ нс) в большинстве молекул ТЕМПО-ФХ спиновые метки были обращены в сторону водной фазы (рис. 6.21).

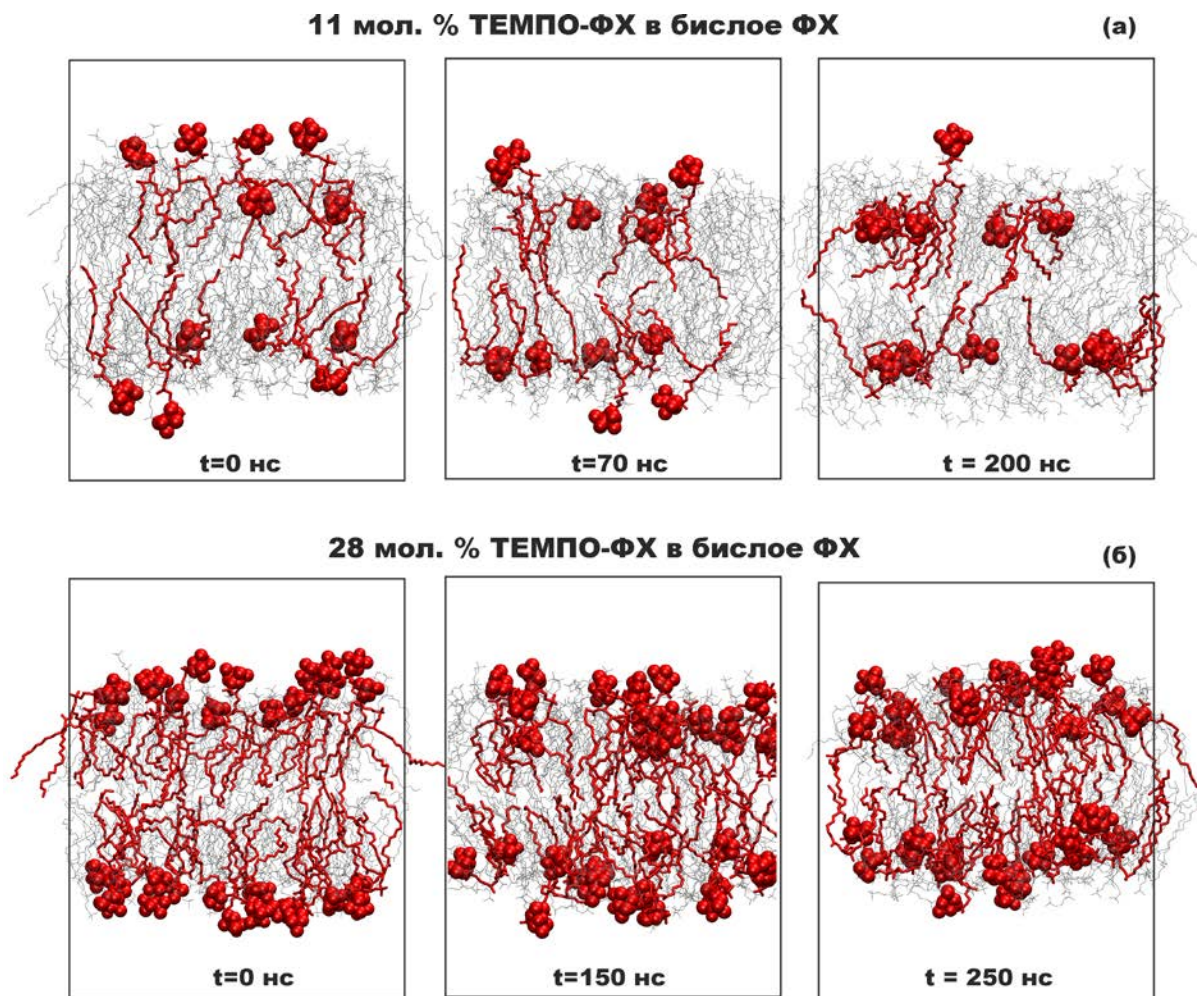


Рис. 6.21 МД моделирование **ТЕМПО-ФХ** в бислое ФХ при двух концентрациях 11 мол. % (а) и 28 мол. % (б) [А4].

МД моделирование показало, что вследствие низкой полярности и гидрофобного характера спиновой метки **ТЕМПО** (рис. 6.17), ее нахождение в водной фазе является термодинамически невыгодным. В результате в процессе моделирования наблюдалась тенденция к перераспределению метки **ТЕМПО** из водной фазы в поверхностный слой ФХ (рис. 6.21). Равновесное распределение **ТЕМПО** в бислое удалось достичь только после 200-250 нс. В равновесном меченном бислое ФХ, для высокой концентрации **ТЕМПО-ФХ** (28 мол. %), наблюдалось нарушение структуры и толщины бислоя, что согласуется с многочисленными предположениями, выдвигавшимся в литературе [176, 177, 189, 190]. В результате, распределение массовой плотности **ТЕМПО** существенно зависело от концентрации метки и не

описывалось функцией распределения Гаусса (рис. 6.22). Для 11 мол. % и 28 мол. % **ТЕМПО-ФХ** в бислое ФХ область локализации спиновой метки находилась при 14.4 и 18.2 Å, соответственно [A4].

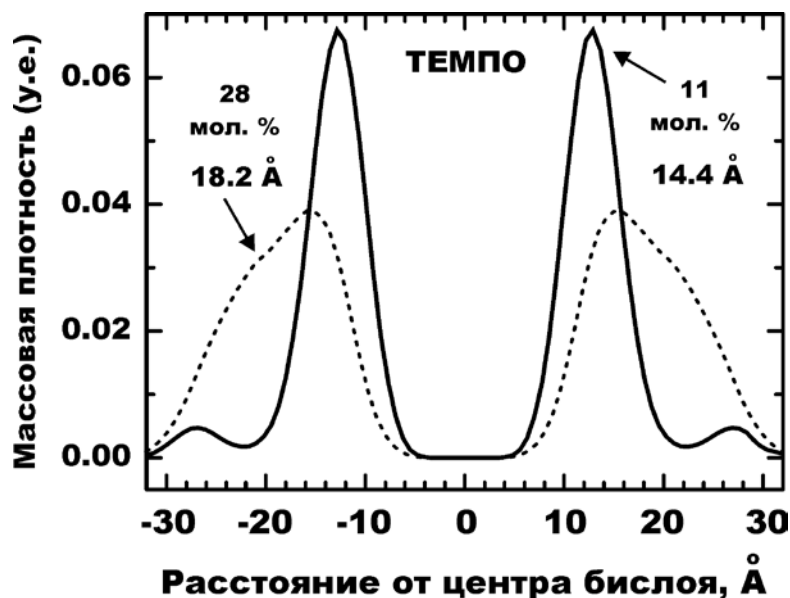


Рис. 6.22 Распределение глубины погружения спиновой метки **ТЕМПО** при двух концентрациях **ТЕМПО-ФХ** в бислой ФХ, равных 11 и 28 мол. %, по результатам МД моделирования. Усреднение выполнено для последних 100 нс МД прогона.

Диффузия и подвижность спиновой метки в бислой. Предпочтительная локализация зонда или метки в заданной области бислоя определяется ее локальными физико-химическими свойствами, такими как полярность, плотность, микровязкость и свободный объем [461]. Известно, что коэффициент диффузии имеет существенно разные значения в поверхностном слое и во внутренней гидрофобной области, а также зависит от направления диффузии в липидном бислойе (латеральная или перпендикулярная) [462]. Поэтому для оценки локальной подвижности метки Доксил в меченных липидах по ур. Грина-Кубо (6.2) [463] был вычислен ее коэффициент диффузии посредством расчета автокорреляционной функции среднеквадратичного смещения центра масс метки во времени:

$$D_A = \frac{1}{3} \int_0^\infty \langle \mathbf{v}_i(t) \cdot \mathbf{v}_i(0) \rangle_{i \in A} dt \quad (6.2)$$

здесь, v_i – вектор среднеквадратичного смещения вдоль выбранного направления x, y или z [222]. В случае диффузии метки в липидном бислое вычислялся коэффициент анизотропной диффузии в двух направлениях относительно плоскости бислоя ФХ: (1) параллельном D_{xy} (латеральная диффузия) и (2) перпендикулярном D_z . Коэффициенты анизотропной диффузии D_{xy} и D_z для метки Доксил в серии меченных липидов ***n*-Доксил-ФХ** обобщены в табл. 6.5. Обращает на себя внимание то, что для изученных меток величина D_{xy} и D_z существенно отличаются, при этом во всех случаях латеральная компонента имеет большее значение. Таким образом, диффузия метки в направлении Z т.е. перпендикулярно бислою, происходит медленнее (в диапазоне от 0.03×10^{-7} до 0.32×10^{-7} см²/с) и существенно зависит от положения метки на стеариновой цепи липида. Метка Доксил, ковалентно связанная с С-12 и С-14 стеариновой цепи имеет более высокую подвижность (табл. 6.5). Это можно объяснить, тем что, как следует из данных, представленных на рис. 6.20, от поверхности к центру бислоя его локальная плотность уменьшается. Высокая подвижность меток Доксил-12 и Доксил-14 также хорошо согласуется с уширенным распределением их массовой плотности (рис. 6.20) [A4].

Рассчитанные коэффициенты анизотропной диффузии хорошо согласуются с экспериментальными данными: для ***n*-Доксил-ФХ** в бислое ФХ коэффициент D_{xy} , определенный техникой восстановления флуоресценции после фотовыжигания (*от англ.* fluorescence recovery after photobleaching) для флуоресцентного липидного зонда **NBD-PE** [464] и методом отслеживания флуоресценции одиночных частиц (*от англ.* single molecule fluorescence tracking) [465], составляет от 0.5×10^{-7} до 1.5×10^{-7} см²/с. Хорошее соответствие экспериментальных коэффициентов диффузии и вычисленных по результатам МД моделирования для ряда Доксил-меченных жирных кислот в бислое

[466] является дополнительной валидацией [467] разработанной нами МД параметризации силового поля.

Тушение электронно-возбужденного состояния флуорофора парамагнитным липидным тушителем в липидной мембране является динамическим процессом, который индуцируется диффузионно-контролируемыми столкновениями между тушителем и флуорофором в течение времени жизни электронно-возбужденного состояния последнего [110, 361]. Поэтому, на тушение флуоресценции зонда влияет не только диффузия парамагнитной метки, но и ее собственная вращательная и колебательная релаксация, которая может быть напрямую связана с такой экспериментально измеряемой ЭПР характеристикой, как время вращательной релаксации метки.

Таблица 6.5

Коэффициент анизотропной диффузии спиновой метки для *n*-Доксил-ФХ в липидном бислое ФХ по результатам МД моделирования

Спиновая метка	$D_{xy} (\times 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с})$	$D_z (\times 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с})$
5-Доксил	0.350	0.030
7-Доксил	0.440	0.115
10-Доксил	0.495	0.190
12-Доксил	0.560	0.240
14-Доксил	0.680	0.320

Время вращательной релаксации метки рассчитано из вращательной автокорреляционной функции (АКФ) (*от англ.* rotation autocorrelation function) $\langle C_2(t) \rangle$ по ур. 6.3 [468]:

$$\langle C_2(t) \rangle = \frac{2}{5} \left\langle \frac{3 \cdot \cos^2(\cos(\Theta(t)) - 1)}{2} \right\rangle \quad (6.3)$$

в котором $\theta(t)$ – угол между вектором, ориентированным перпендикулярно плоскости метки, рассчитанный в начальный период t и через временной интервал $t + \Delta t$, соответственно.

На рис. 6.23 показана вращательная АКФ для ТЕМПО- и Доксил-меченных ФХ в бислое. Все кривые АКФ имели сложный характер затухания и аппроксимировались двухэкспоненциальной зависимостью (ур. 6.4), в которой быстрая и медленная компоненты традиционно приписываются вращательной и трансляционной релаксации метки в бислое [469]:

$$y=y_0+A_1\cdot\exp(-x/\tau_1)+A_2\cdot\exp(-x/\tau_2) \quad (6.4)$$

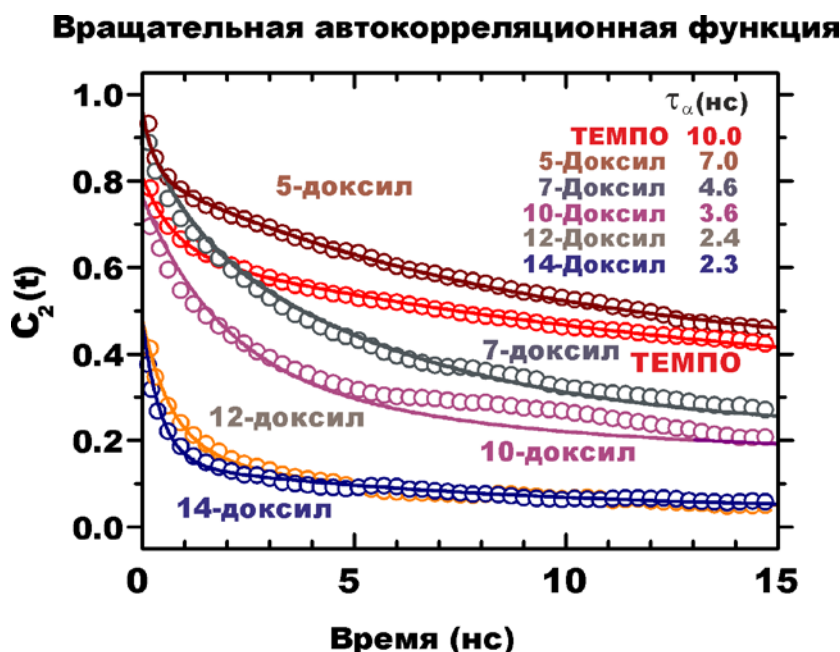


Рис. 6.23 Вращательная АКФ и время вращательной релаксации (τ_α) парамагнитной метки в меченных липидах **ТЕМПО-ФХ** и ***n*-Доксил-ФХ** в бислое ФХ по результатам МД моделирования.

Время релаксации τ_α рассчитано как среднее значение τ_1 и τ_2 с учетом амплитудных вкладов [A4]. Как видно из рис. 6.23, вращательно-колебательная релаксация спиновой метки в бислое происходит в наносекундной шкале. Время релаксации метки систематически уменьшается от 5-Доксил (7 нс) к 14-Доксил (2.3 нс), что согласуется с глубиной погружения метки в бислои. Эти данные указывают на то, что, по мере перемещения метки вглубь к центру бислоя, ее подвижность увеличивается, что соответствует увеличению коэффициента диффузии (табл. 6.6). Наносекундная временная

шкала релаксации метки, предсказываемая по результатам МД моделирования, хорошо согласуется с экспериментальными данными. Например, по результатам время-разрешенного ЭПР для **14-Доксил-ФХ** в бислое димиристоил-ФХ время релаксации парамагнитной метки составило 1.5 нс [470]. Полученные нами данные также хорошо согласуются с результатами МД моделирования ряда стеариновых кислот, меченных нитроксильным радикалом в разных положениях вдоль углеродной цепи, которые также показали уменьшение времени вращательной релаксации по мере увеличения глубины погружения метки в бислой [471].

МД-усовершенствованная шкала положения спиновых меток в бислое. В литературе предложено несколько спектроскопических шкал, основанных на глубине погружения парамагнитной метки меченных липидов в липидный бислой. Калибровка указанных шкал выполнена различными экспериментальными методами, такими как флуоресцентная спектроскопия [167, 180, 189, 191], ЭПР [472, 473] или ЯМР [474], поэтому, глубина погружения одного и того же зонда в различных шкалах существенно различается. Отсутствие единой шкалы затрудняет применение парамагнитных меток в качестве глубинно-зависимых липидных тушителей флуоресценции в медико-биологических исследованиях [186].

В табл. 6.6 приведены обобщенные результаты МД моделирования глубины погружения спиновых меток **ТЕМПО-ФХ** и **n-Доксил-ФХ**, а также известные экспериментальные шкалы [A4]. На рис. 6.24 для **n-Доксил-ФХ** проведено сравнение глубины погружения метки n-Доксил в липидный бислой, оцененной как по результатам МД моделирования, так и из экспериментальных данных.

Таблица 6.6

**Глубина погружения спиновой метки (Å) в липидный бислой для
ТЕМПО-ФХ и *n*-Доксил-ФХ по результатам МД моделирования и
экспериментальным данным**

	ТЕМПО- ФХ	5- Доксил- ФХ	7- Доксил- ФХ	10- Доксил- ФХ	12- Доксил- ФХ	14- Доксил- ФХ
МД моделирование (среднее положение ± ширина распределения)						
Нитроксильная группа ^а	18.2±4.9	12.1±3.0	11.5±3.0	10.1±3.8	6.4±4.7	2.9±4.8
группа N-O	17.4±4.4	12.8±2.9	11.9±2.9	10.0±3.4	6.2±4.1	3.0±4.2
четвертичный- углеродный атом ФХ	-	12.1±2.5	10.4±2.6	9.3±2.8	5.5±3.6	3.8±3.4
углеродный атом в стеариновом радикале в немеченом ФХ	-	12.1±2.6	10.5±2.6	7.5±2.9	5.8±2.9	3.6±3.4
углеродный атом в пальмитиновом радикале в немеченом ФХ	-	11.4±2.6	9.9±2.6	7.0±2.8	4.8±2.9	2.6±3.2
Экспериментальные данные						
РСА [475] ^б	11.1-13.1	11.0	8.6	4.6	2.1	0.1
РСА с учетом данных ² H ЯМР [472]	11.1-13.1	11.0	8.6	5.1	3.1	1.8
твёрдотельный ЯМР [474]	-	12.4	-	10.7	-	7.0
Метод параллакса [180] ^в	19.5	12.15	-	7.65	5.85	-

^а – ширина распределения (±) рассчитана как на половине высоты для соответствующей функции распределения метки (рис. 6.20)

^б – глубина углеродного атома во “все-анти” конформации в стеариновом радикале в немеченом димиристоил-ФХ в твердом состоянии

^в – шкала, предложенная проф. Э. Лондоном, для глубинно-зависимого тушения флуоресценции. Положение спиновой метки в бислое определено косвенным методом по тушению флуоресценции набора флуоресцентных липидных зондов

Следует отметить, что в популярной шкале, основанной на данных РСА [475], которые впоследствии были дополнительно скорректированы на результаты ^2H ЯМР спектроскопии [455], в качестве глубины погружения метки было принято считать глубину погружения не самой метки, а соответствующего немеченого углеродного атома в липиде (табл. 6.6). При этом при разработке шкалы положение углеродных атомов рассчитано для “все-анти” конформации стеариновой цепи и выдвинуто предположение, что парамагнитная метка является химически инертной и, поэтому, она не взаимодействует с бислоем и не вызывает изменений конформационного поведения фосфолипида.



Рис. 6.24 Сравнение глубины погружения метки Доксил в липидный бислой, оцененной по результатам МД моделирования и по экспериментальным данным для подобных систем.

Сравнение глубины погружения метки Доксил, оцененной по результатам МД моделирования, показывает, что для положения С–5 и С–14 такое предположение действительно оправдано, в то же время наблюдаются систематическое отклонение значений для С–7, С–10, и С–12 (рис. 6.24) [А4]. Обращает на себя внимание, что наблюдается хорошее соответствие глубины погружения 5-Доксил и 10-Доксил для предсказываемых результатов МД

моделирования с опубликованными недавно результатами исследований твердотельного ЯМР [474]. С другой стороны, соответствие между результатами МД/РСА и ЯМР менее выражено для метки 14-Доксил.

В литературе нет прямых экспериментальных данных о глубине погружения парамагнитной метки ТЕМПО при встраивании **ТЕМПО-ФХ** в бислой ФХ. Традиционно в качестве положения метки ТЕМПО принимается положение атома азота холиновой группы $-N^+(CH_3)$ в немеченом ФХ, которое находится на расстоянии 11.1–13.1 Å от центра бислоя (табл. 6.6). Эта глубина хорошо согласуется со значением 12.9 Å (максимум распределения), полученным нами по результатам МД моделирования **ТЕМПО-ФХ** при концентрации 11 мол. % (рис. 6.22). Согласно данным глубинно-зависимого тушения ряда поверхностных флуоресцентных зондов в липидном бислое, положение метки ТЕМПО соответствует 19.5 Å (табл. 6.6), что является максимальным известным литературным значением, при котором метка должна находиться на внешней поверхности бислоя [181]. В экспериментах по глубинно-зависимому тушению типичная концентрация **ТЕМПО-ФХ** в бислое составляет от 10 % до 40 % [188], что действительно могло приводить к смещению метки в поверхностный слой. В связи с этим, при составлении МД-шкалы положения парамагнитной метки ТЕМПО следует учитывать ее глубину погружения 18.2 Å, рассчитанную для концентрации 29 мол. % (табл. 6.6).

*МД моделирование парамагнитных фосфолипидных тушителей **ТЕМПО-ФХ** и серии **n-Доксил-ФХ** (где $n = 5, 7, 10, 12, 14$ – положение метки в стеариновой цепи), встроенных в фосфолипидный бислой ФХ, позволило с единых позиций прогнозировать глубину погружения спиновой метки. По результатам МД моделирования была усовершенствована шкала глубины погружения парамагнитных меток ТЕМПО и Доксил, которая служит теоретической основой интерпретации результатов глубинно-зависимого тушения флуоресценции в бислое.*

6.3 Калибровка глубинно-зависимого тушения флуоресценции **NBD-PE** в липидном бислое парамагнитными фосфолипидными тушителями

Фосфолипиды, меченные флуоресцентным зондом **NBD**, широко применяются в качестве аналогов природных липидов при изучении полярности [476, 477], микровязкости [478], водородных связей [479], латеральной диффузии [480], структурной гетерогенности [481-483] и морфологии липидных доменов и рафтов (*от англ. raft*) [484] в модельных и биологических мембранах. **NBD**-меченный фосфолипид **NBD-PE** (рис. 6.23а) используется для определения относительного расположения других флуорофоров по методу переноса энергии электронного возбуждения [485-487]. Несмотря на популярность этого зонда и широкий диапазон задач, решаемых с его помощью, в литературе встречаются противоречивые данные о строении и конформации **NBD-PE**, при этом данные о глубине погружения флуорофора **NBD** в липидную мембрану варьируются от 14.2 Å до 20.3 Å [177, 180-182, 488, 489].

В данном разделе, применение метода распределительного анализа (РА) для глубинно-зависимого тушения стационарной и время-разрешенной флуоресценции липидного зонда **NBD-PE**, встроенного в БУВ поочередно с одним из представителей серии парамагнитных липидных тушителей, позволило уточнить область локализации **NBD**-флуорофора на глубине 14.7 Å от центра бислоя. Поверхностная локализация **NBD**-зонда в фосфолипидном бислое хорошо воспроизводится независимым МД моделированием равновесного распределения молекул **NBD-PE** в бислое ФХ, которое предсказывает положение центра масс **NBD** на расстоянии 14.4 Å. Хорошее соответствие между результатами флуоресцентной спектроскопии и МД моделирования в сочетании с применением МД-усовершенствованной шкалы глубины погружения парамагнитной метки **ТЕМПО** и **Доксил**, предложенной

в разделе 6.2, служит теоретической основой для применения метода РА и новой калибровочной шкалы глубинно-зависимого тушения для решения широкого ряда задач в медико-биологических исследованиях.

Глубинно-зависимое тушение NBD-РЕ. Внедрение **NBD-РЕ** в БУВ было выполнено совместно с парамагнитным липидным тушителем на этапе формирования БУВ-ФХ. Для этих целей, 1 мол. % **NBD-РЕ**, заданный мол. % (7.5, 15 или 30 %) парамагнитного липида (**ТЕМПО-ФХ** или ***n*-Доксил-ФХ** (где $n = 5, 7, 10, 12, 14$)) и соответствующее количество немеченого ФХ растворялись в хлороформе. После вакуумной сушки (12 часов) и удаления хлороформа из полученной смеси меченных и немеченых фосфолипидов были приготовлены БУВ размером 0.1 мкм в растворе 50 мМ фосфатного буфера рН 8 по стандартной процедуре путем экструзии через карбонатную мембрану [A33].

На рис. 6.25 приведено сравнение тушения стационарной и время-разрешенной флуоресценции зонда **NBD-РЕ** парамагнитными тушителями **ТЕМПО-ФХ** или **12-Доксил-ФХ**. В изученных образцах концентрация **NBD-РЕ** была фиксирована (1 мол. %), а концентрация парамагнитного тушителя (Q) последовательно увеличивалась от 0 до 7.5, 15 и 30 мол. %, соответственно. Как следует из рис. 6.25б-д при увеличении концентрации **ТЕМПО-ФХ** или **12-Доксил-ФХ** в БУВ-ФХ наблюдается систематическое уменьшение интенсивности и ускорение кинетики затухания флуоресценции зонда NBD. При заданной концентрации Q , эффективность тушения **ТЕМПО-ФХ** всегда больше, чем в случае **12-Доксил-ФХ**, что очевидно связано с разной глубиной погружения парамагнитной метки и зонда в бислой. Известно, что флуоресценция NBD является чувствительной к изменению полярности и вязкости среды, поэтому в гетерогенной среде липидного бислоя его кинетика затухания имеет сложный мультиэкспоненциальный характер [178, 182, 479, 486]. В связи с этим, количественная оценка тушения

с использованием кинетики затухания флуоресценции NBD была проведена по уменьшению амплитудно-усредненного времени (τ_a) [486] и приведена на рис. 6.25*в* и *д*. Например, для **NBD-PE** в отсутствие тушителя $\tau_a = 5.37$ нс, при этом добавление 30 мол. % **ТЕМПО-ФХ** и **12-Доксил-ФХ** в БУВ-ФХ приводило к сокращению τ_a до 2.86 и 3.25 нс, соответственно. При этих же концентрациях парамагнитного тушителя, относительная интенсивность флуоресценции уменьшается от 1.0 до 0.36 и 0.57 (рис. 6.25*б* и *г*) соответственно.

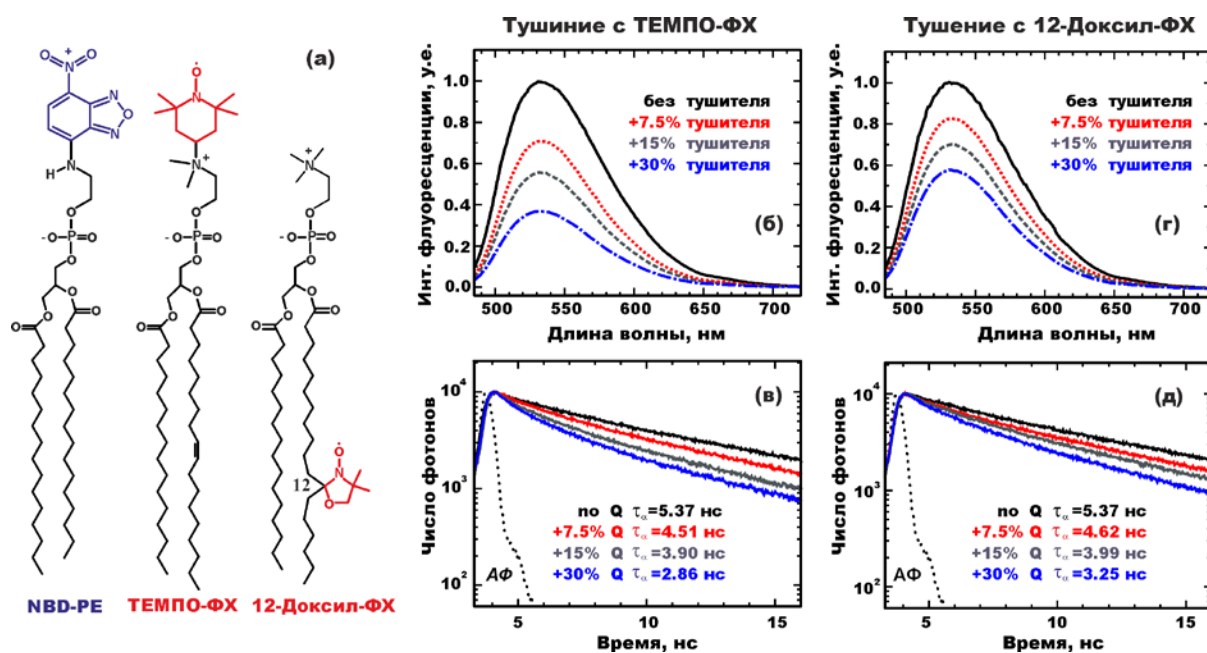


Рис. 6.25 (а) Строение флуоресцентного зонда **NBD-PE** и парамагнитных липидных тушителей **ТЕМПО-ФХ** и **12-Доксил-ФХ**. Тушение стационарной (б и г) и время-разрешенной (в и д) флуоресценции **NBD-PE** в БУВ спиновыми тушителями **ТЕМПО-ФХ**, локализованном на поверхности мембраны и **12-Доксил-ФХ**, локализованном в центральной области бислоя [A10].

Штерн-Фольмеровское тушение флуоресценции NBD-PE. Данные на рис. 6.25 указывают на то, что тушение флуоресценции **NBD-PE** в БУВ реализуется по механизму статического и динамического тушения (т.о. возможен смешанный статико-динамический механизм). Количественная оценка эффективности тушения выполнена по ур. Штерна-Фольмера (ур. 6.1 и 6.5).

$$\frac{\tau_0}{\tau_i} = 1 + K_{SV(\text{динамическое})}[Q] \quad (6.5)$$

На рис. 6.26 приведены результаты линейной аппроксимации данных по тушению **NBD-PE** в шкале интенсивности ($F_0/F-1$) и времени жизни ($\tau_0/\tau-1$) от мольной доли парамагнитного тушителя **ТЕМПО-ФХ** и **n-Доксил-ФХ** ($n=5, 7$ и 12). Константа тушения Штерна-Фольмера K_{SV} , рассчитанная по ур. 6.1 и 6.5, а также обобщенные данные по тушению **NBD-PE** приведены в табл. 6.7.

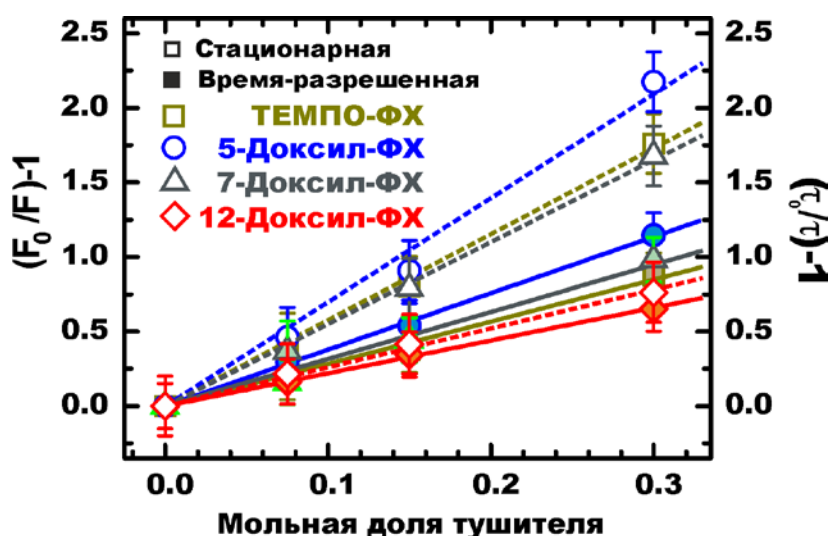


Рис. 6.26 Штерн-Фольмеровское тушение стационарной и время-разрешенной флуоресценции **NBD-PE** в БУВ-ФХ серией парамагнитных липидных тушителей.

Величина K_{SV} была рассчитанная из общего тушения $K_{SV(\text{общее})}$ и по тушению времени жизни $K_{SV(\text{динамическое})}$ флуоресценции **NBD**.[♦] Как видно из рис.

♦ В случае смешанного статико-динамического механизма тушения флуоресценции величина кажущейся K_{SV} описывается модифицированной формой ур. Штерна-Фольмера, которая представляет собой уравнение второго порядка относительно $[Q]$:

$$\frac{\varphi_0}{\varphi_i} = \left((1 + K_{SV}[Q]) \right) \left((1 + k_q \tau_0 [Q]) \right)$$

Характерная особенность графика Штерна-Фольмера в таких случаях – нелинейность отклонение вверх и вогнутость по отношению к оси y , чего не наблюдалось на рис. 6.26. Поэтому, при анализе глубинно-зависимого тушения нами была использована линейная форма ур. Штерна-Фольмера первого порядка.

6.24 и табл. 6.7, в случае поверхностного тушителя **ТЕМПО-ФХ** вклады статического и динамического тушения в общее тушение **NBD-PE** практически одинаковы: $K_{SV(\text{статическое})}=5.8-2.8=3.0$ 1/М. Для глубоко расположенной метки **12-Доксил-ФХ**, вклад тушения **NBD-PE** по статическому механизму минимален, а преобладает вклад динамического тушения: $K_{SV(\text{статическое})}=2.6-2.2=0.4$ 1/М. Эти данные хорошо согласуются с результатами МД моделирования обсуждаемых меток в липидном бислое, согласно которым подвижность **12-Доксил-ФХ** существенно выше, чем **ТЕМПО-ФХ**, на что указывает соответствующее время вращательной релаксации метки (рис. 6.23).

Таблица 6.7

**Изменение интенсивности и времени жизни NBD-PE в БУВ-ФХ,
содержащих различную мольную долю парамагнитного липидного
тушителя**

Тушитель	Общее тушение, $(F_0/F)-1$				Тушение времени жизни, $(\tau_0/\tau)-1$			
	мольная доля тушителя			K_{SV}	мольная доля тушителя			K_{SV} (дин)
	0.075	0.15	0.30		0.075	0.15	0.30	
ТЕМПО-ФХ	0.423	0.805	1.762	5.8	0.193	0.377	0.878	2.8
5-Доксил-ФХ	0.462	0.909	2.176	7.0	0.294	0.539	1.148	3.8
7-Доксил-ФХ	0.370	0.791	1.678	5.5	0.160	0.444	0.982	3.2
10-Доксил-ФХ	0.352	0.731	1.450	4.8	0.155	0.436	0.925	3.0
12-Доксил-ФХ	0.216	0.415	0.763	2.6	0.152	0.346	0.652	2.2
14-Доксил-ФХ	0.202	0.346	0.681	2.3	0.135	0.303	0.619	2.0

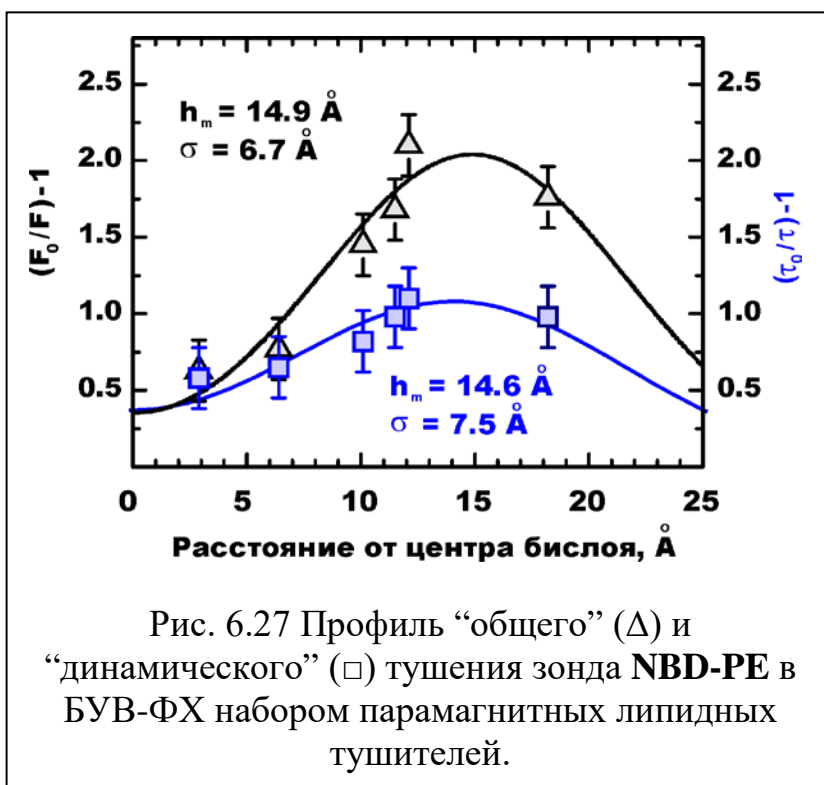
Оценка профиля статического тушения (I_{static}), которое определяется взаимным статическим распределением зонда NBD и парамагнитной метки в бислое, и которое менее подвержено изменениям за счет диффузии зонда и

метки на протяжении времени жизни возбужденного состояния NBD может быть выполнена по ур. 6.6.

$$I_{\text{static}} = [(F_0/F_i)-1] - [(\tau_0/\tau_i)-1] \quad (6.6)$$

Распределительный анализ глубинно-зависимого тушения NBD-РЕ.

Анализ глубинно-зависимого тушения NBD-РЕ, выполненный по ур. Штерна-Фольмера (ур. 6.1 и 6.5) не позволяет рассчитать глубину погружения зонда NBD в бислой. Для этих целей был применен метод РА (раздел. 2.6, ур. 2.4), в основу которого взята МД-усовершенствованная шкала глубины погружения парамагнитной метки в бислой [A4]. На рис. 6.27 показаны данные по тушению интенсивности и времени жизни флуоресценции NBD-РЕ в БУВ-ФХ серией из 6 парамагнитных тушителей (ТЕМПО-ФХ и **n**-Доксил-ФХ (n=5, 7, 10, 12, 14)) при их концентрации 30 мол. %.



Результирующий профиль глубинно-зависимого тушения, рассчитанный по ур. 2.4 с применением нелинейного МНК, показан сплошной линией. Для тушения, оцениваемого по изменению интенсивности стационарной флуоресценции ($F_0/F-1$), РА предсказывает положение зонда NBD h_m при 14.9 Å, при этом полуширина профиля тушения σ составляет 6.7 Å, что свидетельствует о достаточно широкой функции распределения зонда в бислое. Для

динамического тушения, рассчитываемого по уменьшению времени жизни зонда NBD, эти параметры равны $h_m=14.6 \text{ \AA}$ и $\sigma=7.5 \text{ \AA}$, соответственно.

Как указано в предыдущем подразделе по Штерн-Фольмеровскому тушению, профиль глубинно-зависимого тушения зонда NBD, рассчитываемый по изменению интенсивности флуоресценции при стационарном возбуждении, содержит вклады как статического, так и динамического тушения (ур. 6.6) [A10, A33]. Первый вклад определяется “мгновенным” распределением (по всему ансамблю, по взаимной ориентации и расстоянию между зондом и парамагнитной меткой), установившимся в момент фотовозбуждения флуорофора. Второй вклад, в дополнение к вышеперечисленному, учитывает тепловое движение

как самого бислая, так и зонда, а также метки, успевающее произойти за время жизни электронно-возбужденного состояния флуорофора, что в совокупности может приводить к “размытию” мгновенного стационарного распределения, и, следовательно, к уширению профиля общего глубинно-зависимого тушения. Динамическое тушение определяется природой флуоресцентного зон-

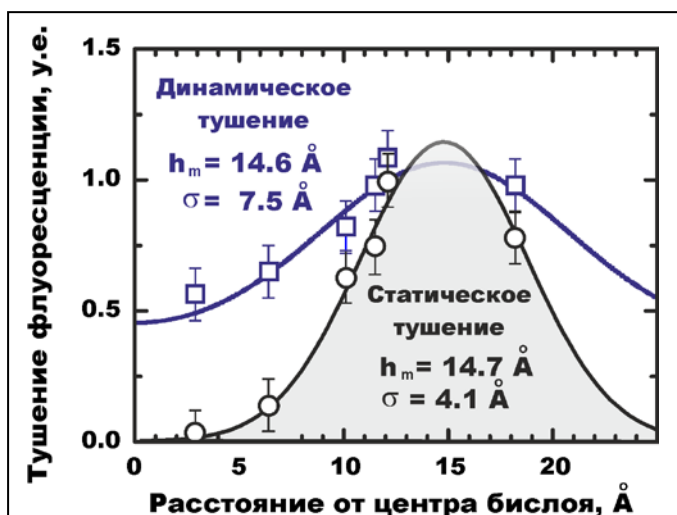


Рис. 6.28 Пример профиля динамического тушения и реконструированный профиль статического (о) тушения зонда **NBD-PE** в БУВ-ФХ набором парамагнитных липидных тушителей.

Таким образом, впервые показано, что одновременное измерение профилей общего статико-динамического ($F_0/F-1$) и чисто динамического ($\tau_0/\tau-1$) тушения позволяет учесть вклад динамической компоненты и реконструировать профиль статического глубинно-зависимого тушения зонда по ур. 6.6, что, в свою очередь, позволяет существенно сузить область вероятной локализации зонда в бислое.

Пример реконструкции профиля статического глубинно-зависимого тушения **NBD-PE** приведен на рис. 6.28. Профиль динамического тушения (\square) **NBD-PE** для концентрации тушителя 30 мол. %, рассчитанный как $(\tau_0/\tau-1)$ и аппроксимированный ур. 2.4, имеет максимум при 14.6 Å и полуширину 7.5 Å. Профиль статического тушения (\circ) **NBD-PE**, рассчитанный по ур. 6.6 путем вычитания динамической вклада из общего статико-динамического тушения имеет максимум $h_m=14.7$ Å, при этом полуширина профиля существенно меньше и составляет 4.1 Å.

Предложенная процедура учета вклада динамического тушения в комбинации с усовершенствованным методом РА для глубинно-зависимого тушения флуоресцентного зонда **NBD-PE** позволила установить для флуорофора **NBD** глубину погружения 14.7 Å от центра липидного бислоя ФХ.

МД моделирование NBD-PE в бислое-ФХ. С целью валидации вышеописанного подхода, предложенного для вычисления области локализации **NBD**-зонда по профилю его глубинно-зависимого статического тушения, было проведено МД моделирование **NBD-PE** в модельном бислое ФХ, которое максимально воспроизводит физико-химическое поведение экспериментальной системы. В основу МД модели липидного бислоя положена топологическая модель липидного бислоя ФХ, состоящая из 128 молекул липида и апробированная в наших работах [A9, A14-A15, A25]. Силовое поле **NBD-PE** основано на топологической модели ФХ, в которой была модифицирована холиновая группа. Геометрия и распределение эффективного

заряда на атомах NBD рассчитаны методом UB3LYP/сс-pVDZ. Детальное описание параметров силового поля, и процедура построения МД модели **NBD-PE** приведено в оригинальной работе [A33]. В равновесной структуре бислоя ФХ, четыре случайно выбранных молекулы липида были трансформированы в молекулы зонда **NBD-PE** (рис. 6.29а). МД моделирование было выполнено с применением стандартного протокола (NPT ансамбль, $T=303.15$ К, $P=1$ атм, радиус отсечения нековалентных взаимодействий 1.4 нм) [A33].

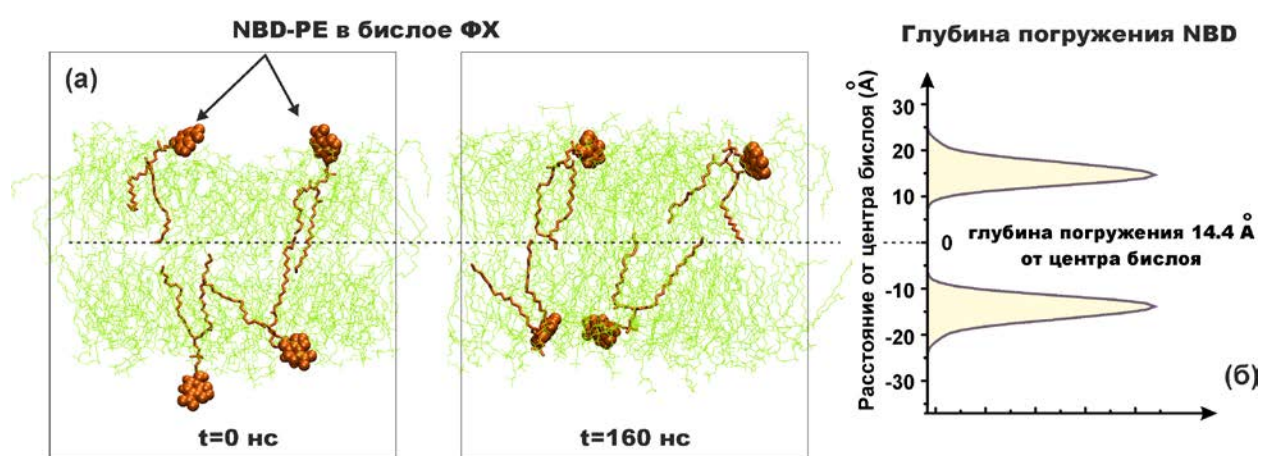


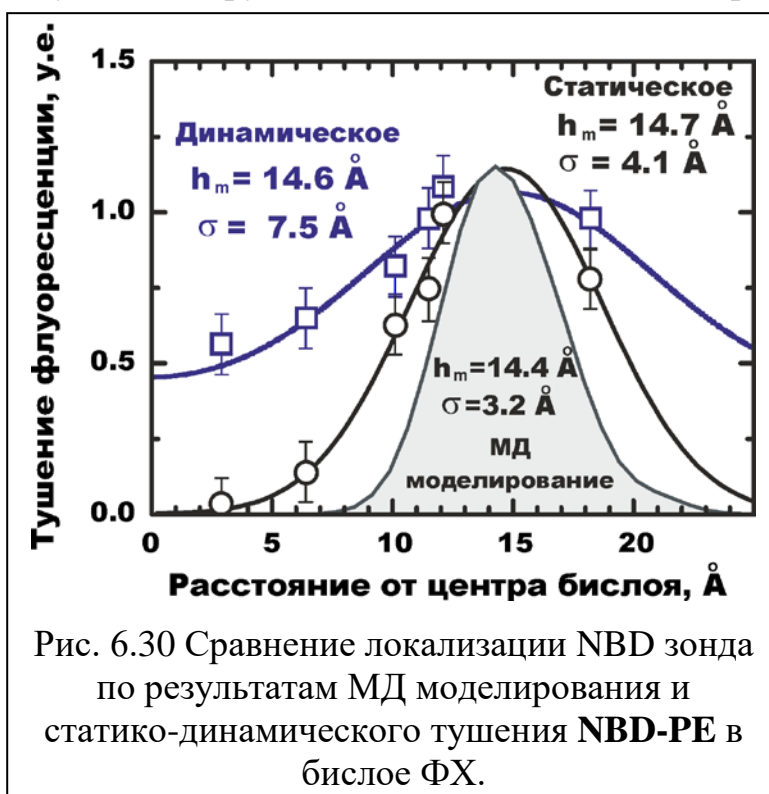
Рис. 6.29 МД моделирование **NBD-PE** в липидном бислое ФХ. (а) Мгновенная конфигурация начального (0 нс) и конечного (160 нс) распределения четырех молекул зонда в бислое. (б) Распределение массовой плотности флуорофора NBD от центра бислоя, усредненное за последние 50 нс.

Структура и конформационное поведение **NBD-PE** в бислое ФХ моделировались путем равновесного МД расчета длительностью 160 нс (рис. 6.29а). Критерием полного уравнивания системы считалось отсутствие систематического смещение центра масс NBD относительно центра бислоя, которое выходило на плато после 100-120 нс [A33]. В течение этого периода наблюдалось медленное перемещение флуорофора NBD из водной фазы, в которой зонд находился в начальной конфигурации, в поверхностную область бислоя. Усреднение центра масс NBD, выполненное для последних 50 нс МД моделирования, характеризует наиболее вероятную область его лока-

лизации в мембране, как показано на рис. 6.29б. Максимум и полуширина распределения массовой плотности NBD соответствует 14.4 \AA и 3.2 \AA , соответственно. В ряде работ по МД моделированию NBD-меченных жирных кислот и производных холестерина в липидных бислоях различного состава [478, 490, 491] глубина погружения метки NBD была оценена в диапазоне от 13.1 до 14.5 \AA , что хорошо согласуется с полученным нами результатом.

Результаты глубинно-зависимого тушения флуоресценции **NBD-PE** в БУВ, измеренного при стационарном и импульсном возбуждении, в сочетании с результатами МД моделирования позволяют с единых позиций оценить вероятную область локализации NBD-зонда в липидном бислое, как показано на рис. 6.30: (i) Глубина погружения NBD-зонда в БУВ, рас-

считанная по методу РА для глубинно-зависимого динамического тушения, составляет 14.6 \AA от центра бислоя, при этом распределение зонда характеризуется неоднородным уширением с полушириной 7.5 \AA , что обусловлено диффузией бислоя, NBD-зонда и парамагнитных тушителей. (ii) Деконволюция профиля глубинно-



но-зависимого статического тушения **NBD-PE** позволяет исключить диффузионные эффекты и уточнить вероятную область локализации NBD-зонда 14.7 \AA и значительно сузить полуширину распределения до 4.1 \AA . (iii) Равновесное МД моделирование **NBD-PE** в модельном бислое ФХ, которое является независимой оценкой результатов анализа спектрально-флуорес-

центных данных по тушению флуоресценции, предсказывает глубину NBD-зонда в бислое на уровне 14.4 Å, что хорошо согласуется как с экспериментальными данными, так и результатами моделирования для структурно подобных систем. При этом, по результатам моделирования полуширина функции распределения локализации NBD в бислое составляет всего 3.2 Å, что очевидно является нижней границей, близкой к физическим размерам этого флуорофора, и эта величина меньше, чем полученная из профиля статического тушения, т.к. последний неявно включает в себя также и физические размеры парамагнитного тушителя.

6.4 Мембранная топология транслокационного домена дифтерийного токсина

Уникальной особенностью транслокационного домена дифтерийного токсина (ТДДТ) является способность к рН-зависимой конформационной перестройке и самопроизвольному встраиванию в липидную мембрану (рис. 6.31): в нейтральной среде белок находится в водорастворимой форме (W-состояние), понижение рН до 5-6 приводит к рефолдингу (*от англ. refolding*) (W⁺-состояние) [A37], которое запускает каскадный процесс связывания (I-состояние) и последующего встраивания (Т-состояние) белка в мембрану [A39], при котором гидрофобные α-спирали ТДДТ пронизывают липидный бислой [492-494]. В то время как структура водорастворимой формы [A35, A39] довольно хорошо изучена [495], фолдинг [A39] и топология мембранного Т-состояния остаются изученными недостаточно [494, 496].

В этом разделе *глубинно-зависимое тушение ряда точечных цистеиновых мутантов^{‡‡} ТДДТ, сайт-селективно меченых NBD-флюо-*

^{‡‡} Точечная мутация белка – единственная замена (клонирование) аминокислотного остатка в белковой последовательности, при которой происходит замена одного аминокислотного остатка на другой. В случае цистеиновой мутации замена происходит на остаток цистеина, содержащий активную функциональную группу SH.

рофором, было применено для установления трансмембранной топологии α -спиралей TH8-TH9 в мембранно-встроенном состоянии.

Клонирование цистеиновых мутантов ТДДТ N366C и P378C и их последующее сайт-селективное мечение NBD-флуорофором описано в работах [A34] и [497]. Выбор указанных мутантов обусловлен тем, что, исходя из РСА структуры нативной формы белка, аминокислотные остатки N366 и P378 входят в состав α -спирали TH9, которая после встраивания в мембрану образует трансмембранный сегмент, при этом в этих двух NBD-меченных мутантах флуоресцентный зонд должен находиться на разной глубине относительно центра бислоя: **P378C-NBD** в поверхностном слое, а **N366C-NBD** в центре липидного бислоя [A33, A38, A39]. Однако, традиционные флуоресцентные методы, основанные на различиях в положении спектра флуоресценции зонда при попадании в разные области бислоя, не дают детальной топологической модели встраивания α -спирали TH9 [A46, A48-A49].

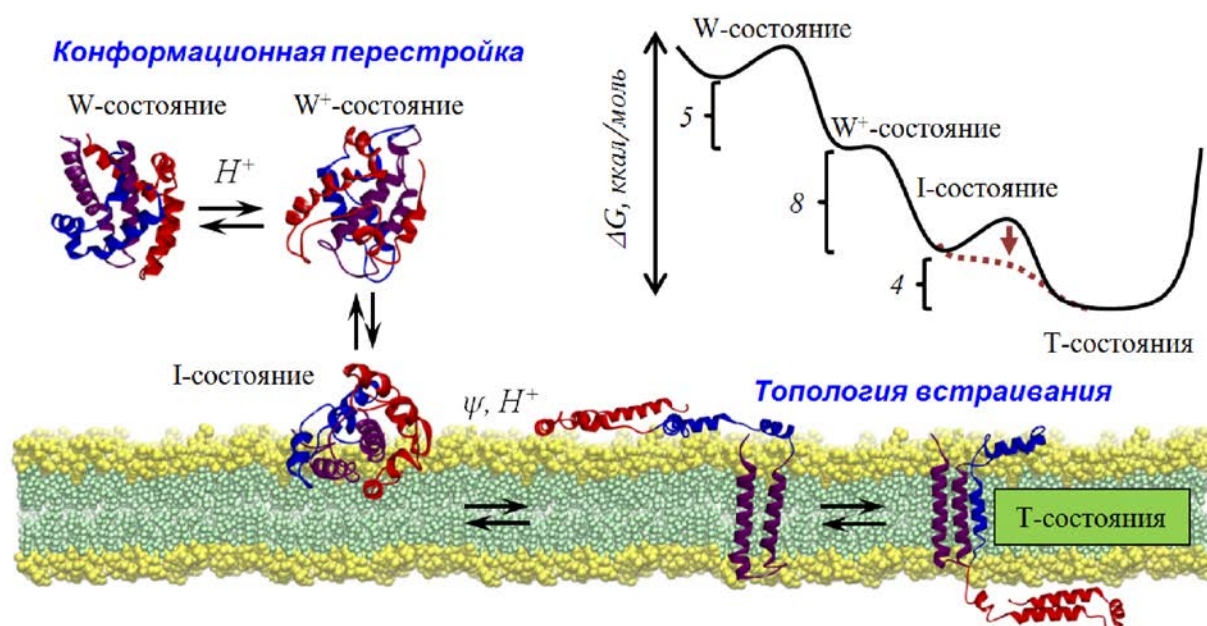


Рис. 6.31 Схема рН-зависимого мембранного взаимодействия ТДДТ.

Поэтому, для мутантов **N366C-NBD** и **P378C-NBD** глубина погружения NBD-зонда в бислой определена методом глубинно-зависимого тушения

парамагнитными липидными тушителями **ТЕМПО-ФХ** и *n*-**Доксил-ФХ** ($n=5, 7, 10, 12$ и 14). Тушение флуоресценции NBD измерено после 2 часов инкубации в 50 мМ фосфатном буфере при pH 4.5 для образцов, содержащих 1 мкМ меченного ТДДТ и 1 мМ БУВ 25ФХ:75ФГ с добавкой 30 мол. % парамагнитного липидного тушителя. Для установления глубины погружения зонда NBD в бислой тушение флуоресценции, измеренной при стационарном $(F_0/F)-1$ и импульсном $(\tau_0/\tau)-1$ возбуждении, показано как функция глубины парамагнитной метки (рис. 6.32а и б). Для оценки положения парамагнитной метки в бислое применена МД-усовершенствованная шкала, показавшая ранее свои преимущества при калибровке по зонду **NBD-PE** [A4].

Количественная оценка глубины погружения NBD-зонда выполнена с применением метода распределительного анализа (РА) профиля глубинно-зависимого тушения. На рис. 6.32а и б показан результат обработки данных по тушению согласно ур. 2.4 с применением двух функций Гаусса, которые расположены в обоих монослоях мембраны (Раздел 2.6). Для учета неоднородного уширения профиля тушения за счет термической диффузии в течении времени жизни возбужденного состояния флуорофора, выполнена реконструкция профиля статического тушения путем вычитания динамической компоненты тушения $(\tau_0/\tau)-1$ из профиля общего тушения $(F_0/F)-1$ по ур. 6.7 [A10], как показано на рис. 6.32в и г. Как видно, вычитание динамической компоненты позволило несколько сузить область распределения функции статического тушения зонда в бислое. Процедура РА предсказывает, что для двух мутантов **P378C-NBD** и **N366C-NBD** флуоресцентная метка находится на расстоянии от h_m 14.2 ± 0.7 Å и 6.9 ± 0.6 Å от центра бислоя (рис. 6.32в и г). При этом, полуширина профиля тушения σ в обоих случаях составила 6.2 Å, что, очевидно, определяются физическими размерами флуорофора [A33].

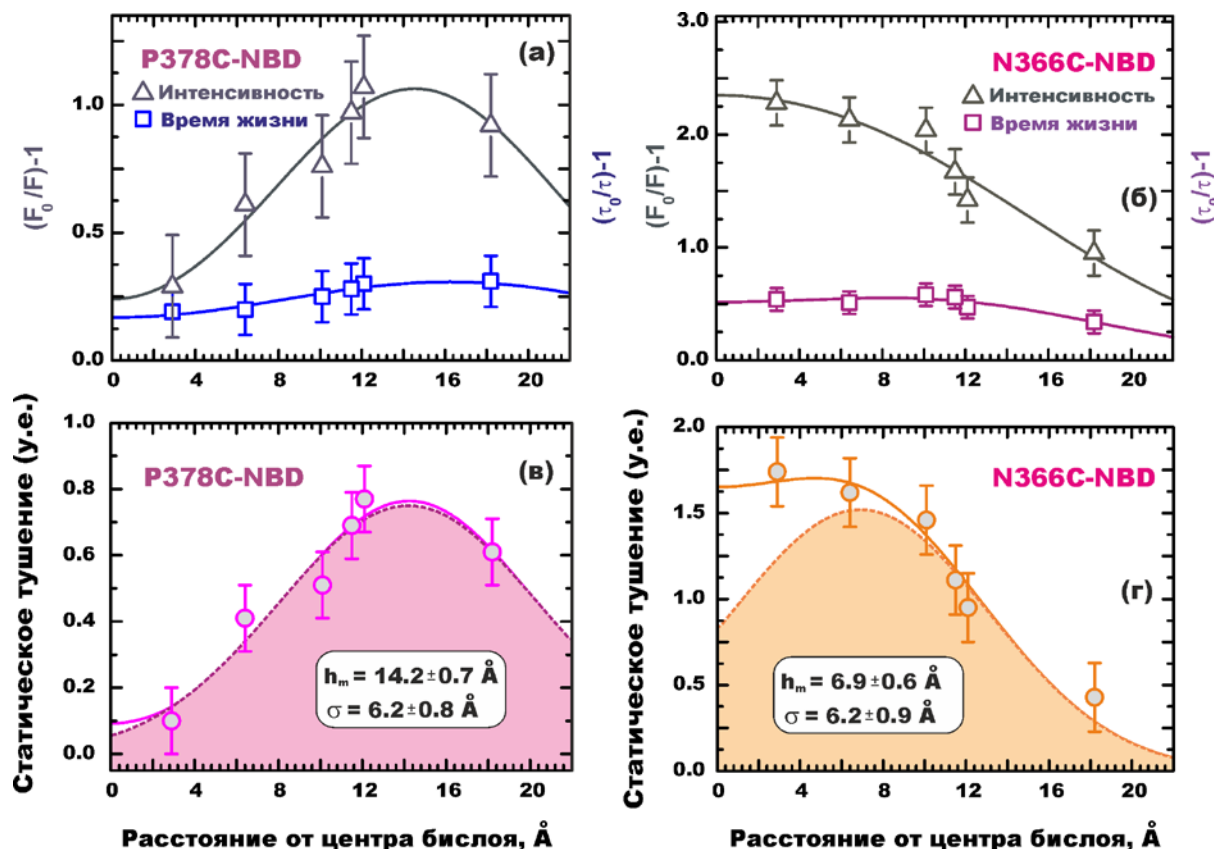
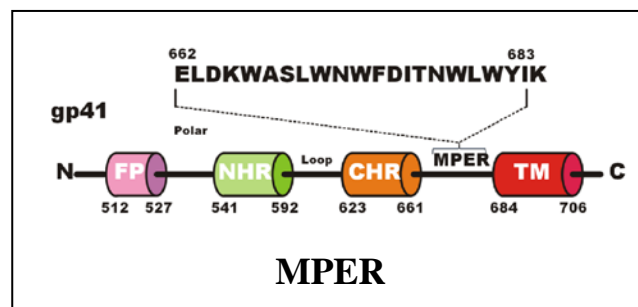


Рис. 6.32 Применение РА для глубинно-зависимого тушения двух мутантов ТДДТ **P378C-NBD** (а) и **N366C-NBD** (б), встроенных в БУВ 25ФХ:75ФГ серией парамагнитных липидных тушителей **ТЕМПО-ФХ** и **n-Доксил-ФХ** (n=5, 7, 10, 12 и 14). (в-г) Реконструкция кривой статического тушения флуоресценции (●) вычислена по ур. 6.6 как разность между кривой общего тушения (Δ) и вкладом динамической (□) компоненты [A33].

Применение методики глубинно-зависимого тушения флуоресценции для мутантов **P378C-NBD** и **N366C-NBD** при взаимодействии с БУВ в буфере с низким рН (4.5-5.0), с учетом реконструкции профиля статического тушения NBD-зонда, который, в свою очередь, рассчитан на основании МД-усовершенствованной шкалы глубины погружения парамагнитных липидных тушителей, позволило подтвердить трансмембранную топологическую модель встраивания α-спирали ТН9 в липидный бислой и впервые показать, что при встраивании аминокислотные остатки P378 и N366 находятся на расстоянии 14.2 Å и 6.9 Å от центра бислоя.

6.5 Мембранная топология домена гликопротеина gp41 вируса иммунодефицита человека

Гидрофобный домен гликопротеина gp41, включающий остатки 662-683 и обозначаемый как **MPER** (раздел 1.6.2), является ключевым элементом при избирательном связывании ВИЧ-1-антител. Поэтому, информация о мембранной топологии **MPER** позволяет улучшить поиск новых специфичных ВИЧ-антител.



Для спектроскопических исследований был выбран пептид **MPER** со следующей последовательностью Ацетил-ELDKWASLWNWFDITNWLWY-ИК-Амид. Целью исследования являлась проверка гипотезы о поверхностной локализации этого пептида в мембране, выдвинутой в недавней работе [196] по результатам спектроскопических исследований топологии встраивания **MPER** в мицеллу ФХ. Поверхностная локализация **MPER** предполагает принципиально иной механизм физиологического действия антител ВИЧ-1 [198, 498].

Спектроскопия мембранного взаимодействия MPER. Пептид **MPER** содержит пять остатков триптофана (W666, W670, W672, W678, W680), которые служат в качестве внутренних флуоресцентных маркеров для спектральных исследований. На рис. 6.33 показан

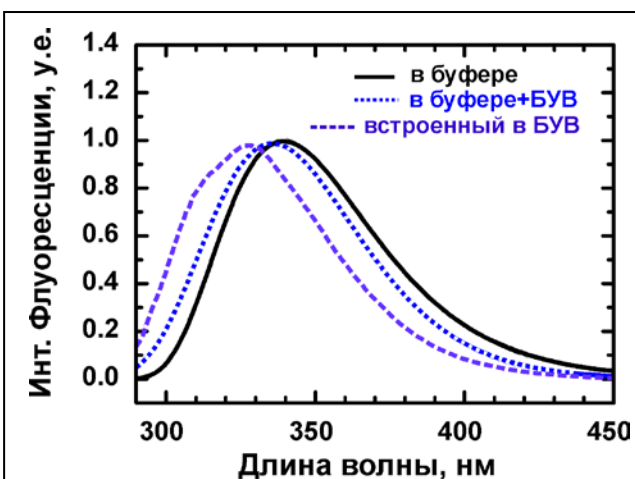


Рис. 6.33 Спектры флуоресценции триптофановых остатков **MPER** в фосфатном буфере и в присутствии БУВ-ФХ.

спектр флуоресценции **MPER** в фосфатном буфере pH 8 (λ_{\max} =339 нм). При добавлении 2 мМ БУФ-ФХ в раствор, содержащий 1 мкМ **MPER**, и

последующем инкубировании системы (**MPER**+БУВ-ФХ) в течении 4 часов, спектр флуоресценции **MPER** демонстрировал гипсохромное смещение ($\lambda_{\text{max}}=335$ нм), указывающее на формирование мембранно-связанной формы пептида (рис. 6.33). В альтернативном эксперименте, **MPER** был внедрен в БУВ-ФХ методом солюбилизации пептида липидом ФХ и последующей экструзии **MPER**/БУВ-ФХ [A34]. В солюбизированной системе **MPER**/БУВ-ФХ спектр триптофановой флуоресценции показал еще большее гипсохромное смещение ($\lambda_{\text{max}}=325$ нм). Таким образом, **MPER** демонстрирует топологическое разнообразие в зависимости от способа его внедрения в БУВ-ФХ. В присутствии БУВ-ФХ, триптофановые остатки **MPER** находятся в гидрофобном окружении липидного бислоя, на что указывает коротковолновое положение $\lambda_{\text{max}} \sim 321\text{-}331$ нм [499-501]. Таким образом, эти данные не согласуются с гипотезой о его поверхностной локализации, выдвинутой в работе [196]. С другой стороны, согласно расчетам ΔG для распределения **MPER** в системе вода/БУВ-ФХ, выполненным в популярной гидрофобной шкале Виммли-Вайта [502], показано, что трансмембранная форма пептида является термодинамически более выгодной на 10 кДж/моль по сравнению с его поверхностной формой [A34].

Для двух систем **MPER**+БУВ-ФХ и **MPER**/БУВ-ФХ, спектры

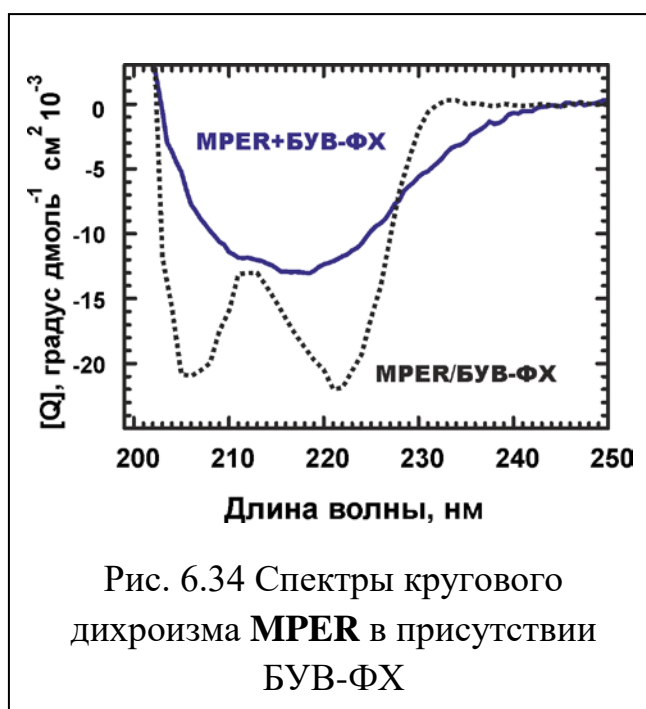


Рис. 6.34 Спектры кругового дихроизма **MPER** в присутствии БУВ-ФХ

кругового дихроизма (КД) показывают существенно разную форму (рис. 6.34). В случае **MPER**+БУВ-ФХ, т.е. при добавлении БУВ-ФХ к растворенному **MPER**, спектр КД представлен широкой бесструктурной полосой с минимумом при 215 нм, что характерно для неупорядоченной полипептидной

цепи [503]. С другой стороны, солюбилизированная форма **MPER**/БУВ-ФХ имеет двухполосный спектр (209 и 218 нм), структура которого является характерной для полипептидной цепи в форме α -спирали [504].

Таким образом, по результатам измерения спектров флуоресценции и КД сделан вывод о том, что в системе **MPER**+БУВ-ФХ пептид находится в виде поверхностно-связанной формы с неупорядоченной полипептидной структурой. Впервые показано, что в солюбилизированной форме **MPER**/БУВ-ФХ пептид проникает глубоко в БУВ и формирует транс-мембранную α -спираль.

МД моделирование MPER в бислое ФХ. Для оценки принципиальной возможности существования **MPER** в трансмембранной конформации выполнено МД моделирование в полноатомном силовом поле CHARMM (**MPER** – CHARMM22 [505], 72 молекулы ФХ – CHARMM36 [231], 2730 молекул воды – TIP3P [448]). В начальном приближении **MPER** был встроен в липидный бислой ФХ в виде идеальной α -спирали, зафиксированной перпендикулярно поверхности. После 10 нс уравнивания при фиксированной геометрии пептида, свободное равновесное МД моделирование в NPT ансамбле (T=303 K) показало сохранение фракции α -спиралевидной конформации **MPER** в пределах 95%, при этом отклонение угла наклона α -спирали от нормали к поверхности бислоя изменялось от начального 0° до равновесного значения 20-25° (рис. 6.36) [A34].

Дальнейшая проверка термодинамической стабильности трансмембранной конфигурации **MPER** в виде α -спирали, выполненная при помощи МД моделирования при высокой температуре 393 K, показала сохранение трансмембранной конфигурации с незначительным снижением вклада α -спиралевидной конформации до 90-92 % (рис. 6.36). Следовательно, проведенное МД моделирование показало, что пептид **MPER** может существовать в виде устойчивой трансмембранной α -спирали.

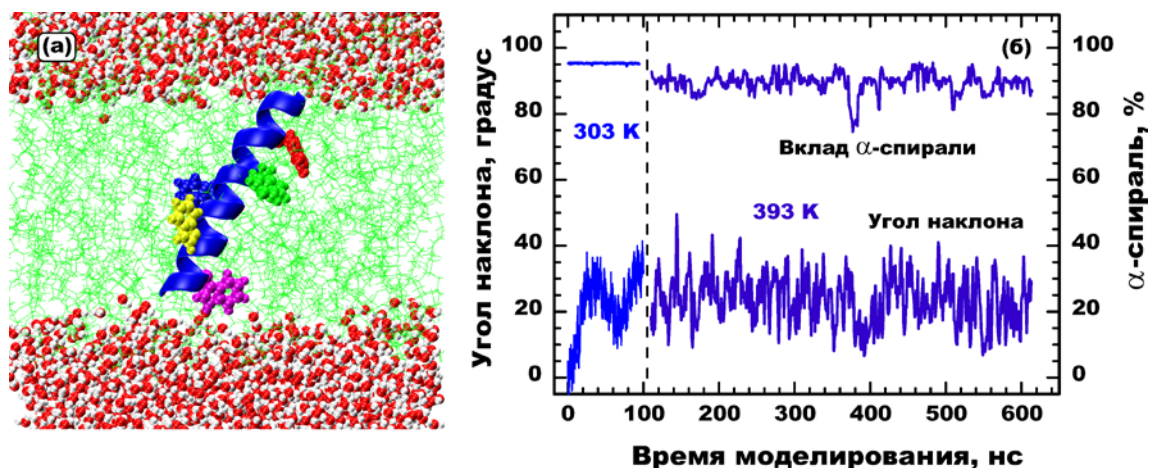


Рис. 6.36 МД моделирование **MPER** в липидном бислое ФХ. (а) Равновесная трансмембранная α -спираль с указанием положения отдельных остатков триптофана. (б) МД траектория отклонения угла наклона оси α -спирали от нормали к поверхности бислоя и вклад α -спирали в общую структуру пептида.

Глубинно-зависимое тушение MPER-W666C-NBD. Установление мембранной топологии немеченого **MPER** по методу глубинно-зависимого тушения триптофановой флуоресценции имеет ряд экспериментальных ограничений, в частности, связанных с низкой аппаратной чувствительностью, и, как результат, невозможностью точного определения времени жизни. Поэтому, для этих целей была выполнена сайт-селективная цистеиновая мутация W666C и последующее мечение **MPER** при помощи флуорофора NBD (**MPER-W666C-NBD**). Флуориметрическое титрование показало, что NBD-меченный **MPER** демонстрирует такое же высокое сродство к БУВ-ФХ, как и немеченый пептид (рис. 6.37). Добавление БУВ-ФХ вызывало усиление как триптофановой флуоресценции **MPER**, так и сигнала флуоресценции NBD. При этом, в обоих случаях, ΔG связывания **MPER** с БУВ-ФХ была достаточно высокой -33.9...-34.7 кДж/моль и различие в ΔG находилось в пределах погрешности метода. Следовательно, ковалентное присоединение флуорофора NBD не оказывает существенного влияния на термодинамику мембранного взаимодействия **MPER**.

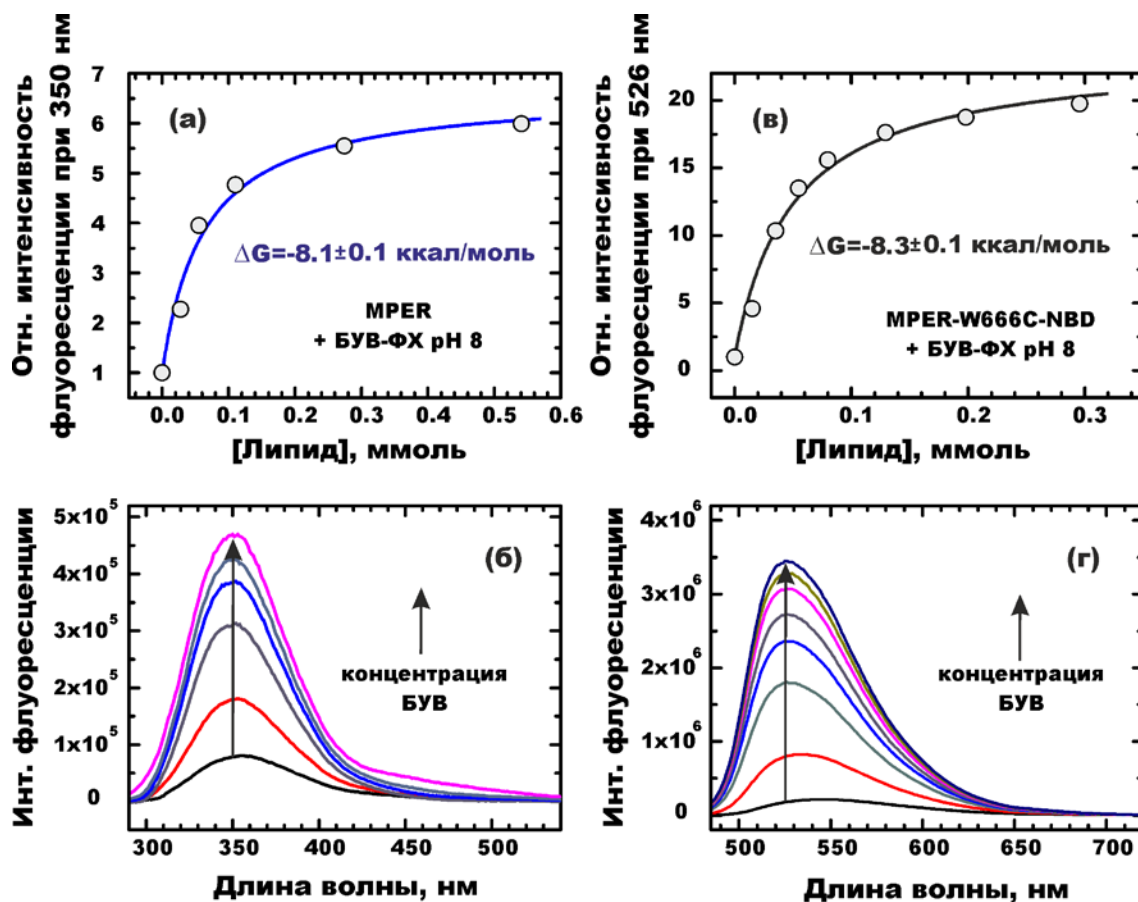


Рис. 6.37 Флуоресцентное титрование немеченного **MPER** (а-б) и NBD-меченного мутанта **MPER-W666C-NBD** (в-г) БУВ-ФХ [A34].

Глубинно-зависимое тушение по кинетике флуоресценции NBD выполнено для мутанта **MPER-W666C-NBD** (1 мол. %), солюбилизованного чистым ФХ (69 мол. %) и *n*-Доскил-ФХ для $n=5, 7, 10, 12$ и 14 (30 мол. %). Результат деконволюции кинетики затухания флуоресценции NBD двухэкспоненциальной функцией с показателями экспоненты τ_1 и τ_2 , а также амплитудо-усредненное значение τ_a представлены в табл. 6.8. Как видно, максимальное тушение **MPER-W666C-NBD** наблюдается для **10-Доксил-ФХ**. Применение метода РА (раздел. 2.6, ур. 2.4) для набора данных τ_a из табл. 6.8, с использованием двух функций Гаусса, показанных пунктирной линией на рис. 6.38, позволяет оценить глубину погружения фрагмента **W666C-NBD** в $h_m = 6.1$ Å от центра бислоя. Эта глубина хорошо согласуется с результатами МД моделирования немеченого **MPER** в бислое ФХ, согласно

которым функция распределение W666 имеет максимум при 7.5 Å от центра бислоя (рис. 6.38б).

Таблица 6.8

Глубинно-зависимое тушение парамагнитными липидными тушителями по кинетике флуоресценции NBD-меченного мутанта W666C MPER

Тушитель	τ_1 (нс)	α_1	τ_2 (нс)	α_2	τ_a (нс)
Без тушителя	4.32	0.36	0.60	0.64	1.94
5-Доксил-ФХ	3.04	0.42	0.63	0.58	1.64
7-Доксил-ФХ	2.86	0.44	0.45	0.56	1.51
10-Доксил-ФХ	2.63	0.51	0.26	0.49	1.47
12-Доксил-ФХ	2.79	0.45	0.43	0.55	1.49
14-Доксил-ФХ	2.94	0.43	0.43	0.57	1.51

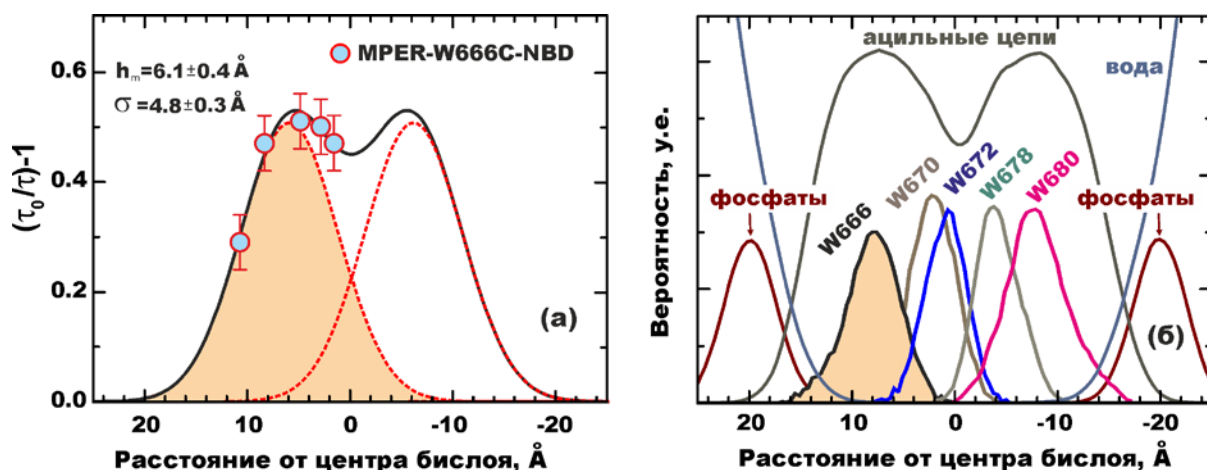


Рис. 6.38 (а) Применение РА для глубинно-зависимого тушения **MPER-W666C-NBD** в БУВ-ФХ. (б) МД моделирование глубины погружения триптофановых остатков немеченного **MPER** в бислой ФХ.

Применение методов флуоресцентной спектроскопии при стационарном и импульсном возбуждении в сочетании с глубинно-зависимым тушением флуоресценции парамагнитными тушителями и

компьютерным МД моделированием позволили впервые установить для гидрофобного домена **MPER** гликопротеина gr41 при его взаимодействии с липидной мембраной ФХ наличие поверхностной и трансмембранной форм. С использованием глубинно-зависимого тушения флуоресценции мутанта **MPER-W666C-NBD** показано, что в трансмембранной форме пептид **MPER** существует в виде α -спирали, что подтверждено спектрами КД и МД моделированием немодифицированного пептида **MPER** в липидном бислое ФХ. Вывод о встраивании **MPER** в липидный бислой в виде трансмембранной α -спирали позволяет уточнить существующую схему мембранной топологии всего гликопротеина gr41 (рис. 1.25), в которой домен **MPER** 662-683 является продолжением ранее установленной трансмембранной конфигурации всего гидрофобного домена gr41 на участке 684-705.

Выводы к Разделу 6

Комплексное применение флуоресцентной спектроскопии при стационарном и импульсном возбуждении в сочетании с компьютерным МД моделированием позволило с единых позиций исследовать динамику, физико-химические и термодинамические параметры взаимодействия флуоресцентных зондов, липидных маркеров и парамагнитных спиновых меток с липидным бислоем БУВ и установить следующее:

1) *Впервые показано*, что зонды **3.4** и **6.1** имеют высокое сродство к БУВ и проникают глубоко в липидный бислой, в область в которую затруднено проникновение молекул воды, на что указывают высокие значения свободной энергии мембранного связывания (ΔG от -29.7 до -33.4 кДж/моль). На основании МД моделирования равновесного распределения и неравновесного сканирования ПСС, впервые показано, что зонды **3.4** и **6.1** характеризуются наиболее вероятной областью локализации на расстоянии 12-13 Å от центра бислоя.

2) На примере флуоресцентного зонда **ВРР**, *усовершенствован метод молекулярно-динамического расчета* ПСС для проникновения зонда сквозь липидный бислой, включающий одновременный скан двух его молекул, обладающий преимуществом в оценке гистерезиса системы и погрешности энергетического профиля ПСС, что позволяет прогнозировать термодинамику распределения (ΔG) в клеточных мембранах широкого ряда небольших органических и биологических молекул, лекарственных и фармацевтических препаратов.

3) МД моделирование флуоресцентных липидных маркеров и зондов в липидном бислое позволило *сделать следующие выводы*:

- наличие октильного радикала в молекуле флуоресцентного зонда **ТОЕ** не оказывает существенного влияния на локализацию его флуорофора в липидном бислое по сравнению с незамещенной молекулой триптофана и его структурных аналогов.

- липидный фрагмент **ФЭ** в молекуле зонда **Родамин-ФЭ** является эффективным “якорем”, фиксирующим и удерживающим сульфородаминую группу во внешней поверхностной зоне бислоя. **Родамин-ФЭ** встраивается в фосфолипидный бислой в конформации, в которой хромофорный фрагмент сульфородамина обращен в водную фазу и его центр масс расположен на расстоянии 26-28 Å от центра бислоя. Средний угол отклонения плоскости родамина от нормали к поверхности бислоя составляет $44^\circ \pm 8^\circ$.

4) МД моделирование парамагнитных фосфолипидных тушителей **ТЕМПО-ФХ** и серии **n-Доксил-ФХ** (где n = 5, 7, 10, 12, 14 – положение метки в стеариновом остатке), встроенных в фосфолипидный бислой **ФХ**, *позволило усовершенствовать экспериментальную шкалу* глубины погружения парамагнитных меток ТЕМПО и доксил, которая служит теоретической основой для интерпретации результатов глубинно-зависимого тушения флуоресценции в биофизических исследованиях.

5) На примере липидного зонда **NBD-PE**, *впервые разработан* метод реконструкции профиля статического глубинно-зависимого тушения зонда, свободного от вклада диффузионно-контролируемой динамической компоненты, что позволяет существенно сузить область вероятной локализации зонда в бислое.

6) Усовершенствованная нами шкала глубины погружения парамагнитной метки в липидный бислой в сочетании с предложенной процедурой реконструкции профиля статического тушения *позволила* установить следующее:

– *уточнена* топологическая модель мембранного встраивания ТДДТ и доказана трансмембранная конфигурация α -спиралей TH8-TH9 в мембранно-встроенном состоянии.

- при взаимодействии гидрофобного домена **MPER** гликопротеина gp41 с липидной мембраной ФХ *впервые доказано* формирование трансмембранной формы, в которой **MPER** существует в виде α -спирали.

Основные научные результаты, приведенные в разделе 6, опубликованы в [A2, A4, A5, A9-A11, A14, A15, A25, A31, A33-A39, A42-A43, A45-A46, A48-A55].

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

В диссертационной работе предложено решение актуальной научной проблемы - установления электронного строения и внутримолекулярных электронных процессов в ряду азотсодержащих гетероциклических полиядерных систем на основе пиррола, индола, пиридина, хинолина, порфирина и его металлокомплексов, с целью анализа с единых позиций фотофизических и фотохимических процессов переноса протона с участием молекул протонного растворителя, а также дальнедействующего синглет-синглетного и триплет-триплетного переноса энергии электронного возбуждения в диадах порфирина, медиатором которого выступает мостиковый хромофор.

1) При помощи электронной и флуоресцентной спектроскопии при стационарном и импульсном возбуждении *впервые показано*, что тушение флуоресценции ряда производных 2-(2'-пиридил)индола и 1*H*-пирроло[3,2-*h*]хинолина в спиртовых и водных растворах сопровождается появлением новой длинноволновой полосы испускания, обусловленной реакцией фотоиндуцированного переноса протона от группы N-H пиррольного цикла на хинолиновый атом нитрогена, который становится возможным в циклическом водородосвязанном комплексе (ВСК) 1*H*-пирроло[3,2-*h*]хинолина и его структурных аналогов с одной молекулой воды, которая формирует мостик между пиррольным и хинолиновым циклами. С применением техники вакуумной изоляции в молекулярном сверхзвуковом пучке в комбинации с время-пролетной масс-спектрометрией и фемтосекундной ИК-УФ спектроскопией, в сочетании с результатами квантово-химических расчетов и молекулярно-динамического моделирования *установлено*, что для 1*H*-пирроло[3,2-*h*]хинолина циклический ВСК является устойчивым в основном электронном состоянии S_0 , в результате чего перенос протона по цепочке ВС не требует существенной перестройки сольватной оболочки, слабо зависит от вязкости растворителя и наблюдается при сверхнизких температурах. По

результатам флуориметрического титрования показана возможность применения 2-[2'-(4',6'-диметилпиримидил)]-индола в качестве зонда для флуориметрического определения критической концентрации мицеллообразования неионогенных ПАВ.

2) С использованием методов флуоресцентной спектроскопии и кинетики наведенного триплет-триплетного поглощения, *выполнен* анализ эффективности первичных фотофизических и фотохимических процессов, *рассчитаны* константы скорости синглет-синглетного и триплет-триплетного переноса энергии электронного возбуждения в диадах порфирина Д-М-А, состоящих из 5,15-ди-мезо-арилоктаалкилцинк (II) порфирина-донора (Д), связанного ковалентно с 5,15-ди-мезо-арил-октаалкил порфирином-акцептором (А) через мостиковый хромофор (М), выполняющий роль медиатора переноса энергии, а также *показано*, что:

- константа скорости синглет-синглетного переноса энергии (ССПЭ) электронного возбуждения с цинк(II)-порфирина-донора на порфирин-акцептор может быть представлена в виде двух вкладов - универсального диполь-дипольного (ферстеровского) и обменно-резонансного, параметры последнего определяются химической природой и размерами мостиковой группировки, а также, величиной энергетического зазора донор-мостик $\Delta E_{ДВ}$. *Впервые установлено*, что в серии диад Д-М-А с мостиковым хромофором пара-фениленэтинил аттенюирующий фактор СППЭ β равен 0.25 \AA^{-1} .

- π -сопряженные мостиковые хромофоры являются эффективными медиаторами дальнего триплет-триплетного переноса энергии (ТТПЭ), при отсутствии π -электронного сопряжения в мостиковом хромофоре ТТПЭ в диаде не происходит.

3) *Установлено*, что аномально короткое время жизни ($< 80 \text{ нс}$) нижнего электронно-возбужденного триплетного состояния T_1 стерически затрудненного 5,15-ди-мезо-арил-октаалкил порфирина и его комплекса с ионами цин-

ка (II) вызвано конформационной релаксацией тетрапиррольного макроцикла, приводящей к переходу из плоской конформации T_{1A} в разуплощённую седловидную конформацию T_{1B} . Переход $T_{1A} \rightarrow T_{1B}$ сопровождается стабилизацией формы T_{1B} на 21-28 кДж/моль, что приводит к уменьшению энергетической разности $\Delta E(T_1-S_0)$ с основным состоянием S_0 . Это в свою очередь, вызывает увеличение вероятности безызлучательной дезактивации посредством интеркомбинационной конверсии $T_1 \rightsquigarrow S_0$ и сокращение времени жизни состояния T_1 .

4) Комплексное использование техники низкотемпературной изоляции в матрице инертного газа в сочетании со спектроскопией высокого разрешения (ИК-спектроскопия, метод селекции сайтов и выжигания спектральных провалов) позволило *выяснить* природу тонкоструктурных электронных и колебательных спектров порфирина, порфицена и 2,7,12,17-тетра-*трет*-бутилпорфицена в матрицах аргона и ксенона при температуре 10-60 К в терминах формирования набора дискретных сайтов включения. *Установлено*, что встраивание молекулы порфирина в матрицу инертного газа зависит от ее природы: в ксеноновой матрице преимущественно формируется один доминирующий сайт X(111), что может быть объяснено совпадением размеров молекулы “гостя” и полости сайта включения. В аргоновой матрице наблюдается формирование 4-5 равновероятных сайтов. *Показано*, что встраивание молекулы порфицена в матрицу аргона или ксенона происходит путем формирования набора главных и второстепенных сайтов.

5) *Разработана* методология компьютерного прогнозирования на основе комбинированного молекулярно-динамического/квантово-химического моделирования физико-химических процессов встраивания молекулы “гостя” в низкотемпературную кристаллическую матрицу аргона и ксенона, которая позволяет (i) *воспроизводить* динамику напыления матрицы на кристаллическую подложку и моделировать процесс встраивание молекулы “гостя” в

решетку матрицы, (ii) *предсказывать* число дискретных сайтов и вероятность формирования индивидуального сайта включения, (iii) *оценивать* расчетным путем влияние матрицы на ИК- и электронный спектр поглощения молекулы “гостя”.

6) Результаты молекулярно-динамического моделирования додекантиол-стабилизированных наночастиц золота (НЧЗ) *показали*, что в наночастице диаметром 1.4 нм соотношение несвязанных атомов металла, входящих в состав неорганического ядра, и связанных с органическим лигандом находится в диапазоне от 47:38 до 35:50. При увеличении диаметра наночастицы до 3.75 нм это соотношение соответствует диапазону от 1200:430 до 1550:80. *Установлено*, что в НЧЗ, функционализированных рН-чувствительным пептидом рНЛIP, пептид сорбируется на поверхность наночастицы в неупорядоченной конформации, при этом, образование короткодействующих контактов триптофановых остатков пептида с поверхностью золота *объясняет* наблюдаемое тушение флуоресценции. *Установлено*, что в поверхностно-стабилизированной наночастице серебра зависимость между экранирующим эффектом поливинилпирролидона и длиной его полимерной цепи может быть описана изотермой адсорбции Ленгмюра-Фрейндлиха, что *позволяет прогнозировать* физико-химические параметры синтезируемых наночастиц серебра, стабилизированных органическими лигандами.

7) Комплексное применение флуоресцентной спектроскопии при стационарном и импульсном возбуждении в сочетании с компьютерным МД моделированием *позволило* с единых позиций описать динамику, физико-химические и термодинамические параметры взаимодействия органических флуоресцентных зондов, липидных маркеров и парамагнитных спиновых меток с фосфолипидными везикулами и *установить* следующее:

- зонды 2-[2'-(4',6'-диметил-пиримидил)]индол и 2-(2'-пиридил)-5-метил-индол характеризуются высоким сродством к липидным везикулам и

проникают глубоко в липидный бислой, на что указывает высокие значения константы распределения ($K_p=17-77 \times 10^4$) и свободной энергии (ΔG от -29.7 до -33.4 кДж/моль). На основании МД моделирования равновесного распределения и неравновесного сканирования потенциала средней силы *установлено*, что с наибольшей вероятностью исследованные зонды локализуются в мембране на расстоянии 12-13 Å от центра бислоя.

- зонд ВРР (2,6-бис(1*H*-бензимидазол-2-ил)пиридин) использован для *усовершенствования* процедуры МД моделирования потенциала средней силы для процесса проникновения зонда сквозь липидный бислой, которая обеспечивает улучшенную оценку области погрешности и гистерезиса системы, что позволяет прогнозировать термодинамику распределения в системе вода/липидный бислой для широкого ряда небольших органических и биологических молекул, лекарственных и фармацевтических препаратов.

8) По результатам МД моделирования флуоресцентного липидного зонда ТОЕ (октиловый эстер триптофана) в липидном бислое *доказано*, что октильный радикал не оказывает существенного влияния на локализацию флуорофора (12-13 Å от центра бислоя) по сравнению с незамещенной молекулой триптофана и его структурными аналогами. В молекуле липидного флуоресцентного маркера Родамин-ФЭ (1,2-дипальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфоэтаноламин-*N*-сульфородамин-В) липидная группировка дипальмитоилфосфоэтаноламина (ФЭ) является эффективным “якорем”, фиксирующим и удерживающим сульфородаминовый флуорофор на расстоянии 26-28 Å от центра бислоя.

9) При помощи МД моделирования парамагнитного фосфолипидного тушителя ТЕМПО-ФХ и серии тушителей *n*-доксил-ФХ (где $n=5, 7, 10, 12, 14$ – положение метки в стеариновом радикале), встроенных в фосфолипидный бислой ФХ, *усовершенствована экспериментальная шкала* глубины погружения парамагнитной метки, которая служит теоретической основой для

интерпретации результатов глубинно-зависимого тушения флуоресценции в биофизических исследованиях. На примере липидного зонда NBD-PE применение усовершенствованной шкалы *позволило разработать* метод реконструкции профиля статического глубинно-зависимого тушения зонда, свободного от вклада дифузионно-контролируемой динамической компоненты, тем самым существенно повысить точность определения локализации зонда в липидном бислое.

СПИСОК АВТОРСКИХ ПУБЛИКАЦИЙ

(в тексте отмечены буквой «А», например, [А1] и т.д.)

Статьи в профильных научных изданиях по теме диссертации:

- A1. **Kyrychenko A.** Studies of photoinduced NH-tautomerism by stationary and time-resolved fluorescence techniques / A. Kyrychenko, J. Herbich, J. Waluk // *Tautomerism: Methods and Theories* [eds. by L. Antonov] – Berlin: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, 2014 – P. 49-78. (*Систематизация собственных результатов и обобщение литературных первоисточников, написание литературного обзора*).
- A2. **Kyrychenko A.** Using fluorescence for studies of biological membranes: A Review / A. Kyrychenko // *Methods and Applications in Fluorescence* — 2015. — Vol. 3, № 4. — P. 042003/1-19.
- A3. **Kyrychenko A.** From the gas phase to a lipid membrane environment: DFT and MD simulations of structure and dynamics of hydrogen-bonded solvates of bifunctional heteroazaaromatic compounds / A. Kyrychenko, J. Waluk // *Kinetics and Dynamics: from Nano- to Bio-Scale* – New York: Springer Science+Business Media B.V., 2010 – P. 35-75. (*Анализ и систематизация собственных результатов, написание обзора*).
- A4. **Kyrychenko A.** Molecular dynamics simulations of depth distribution of spin-labeled phospholipids within lipid bilayer / A. Kyrychenko, A. S. Ladokhin // *Journal of Physical Chemistry B.* – 2013. – Vol. 117. – P. 5875-5885. (*Идея работы, разработка методики и выполнение МД моделирования, интерпретация результатов, написание статьи*).
- A5. **Kyrychenko A.** Validation of depth-dependent fluorescence quenching in membranes by molecular dynamics simulation of tryptophan octyl ester in POPC bilayer / A. Kyrychenko, D. J. Tobias, A. S. Ladokhin // *Journal of Physical Chemistry B.* – 2013. – Vol. 117. – P. 4770–4778. (*Постановка*

задачи, разработка методики и выполнение МД моделирования, интерпретация результатов, написание статьи).

- A6. Atomistic simulations of coating of silver nanoparticles with poly(vinylpyrrolidone) oligomers: Effect of oligomer chain length / **A. Kyrychenko**, O. M. Korsun, I. I. Gubin, S. M. Kovalenko, O. N. Kalugin // Journal of Physical Chemistry C. — 2015. — Vol. 119 — P. 7888-7899. *(Постановка задачи, разработка методики и выполнение МД моделирования, интерпретация результатов, написание статьи).*
- A7. Fluorescence probing of thiol-functionalized gold nanoparticles: Is alkylthiol coating of a nanoparticle as hydrophobic as expected? / **A. Kyrychenko**, G. V. Karpushina, D. Svechkarev, D. Kolodezny, S. I. Bogatyrenko, A. P. Kryshtal, A. O. Doroshenko // Journal of Physical Chemistry C. — 2012. — Vol. 116. — P. 21059–21068. *(Постановка задачи, участие в выполнении эксперимента и интерпретации результатов, выполнение МД моделирования, написание статьи).*
- A8. **Kyrychenko A.** NANOGOLD decorated by pHLIP peptide: Comparative force field study / A. Kyrychenko // Physical Chemistry Chemical Physics. — 2015. — Vol. 17. № 19. — P. 12648-12660.
- A9. Partitioning and localization of environment-sensitive 2-(2'-pyridyl)- and 2-(2'-pyrimidyl)-indoles in lipid membranes: A joint refinement using fluorescence measurements and molecular dynamics simulations / **A. Kyrychenko**, F. Wu, R. T. Thummel, J. Waluk, A. S. Ladokhin // Journal of Physical Chemistry B. — 2010. — Vol. 114. — P. 13574-13584. *(Идея работы, выполнение эксперимента и МД моделирования, интерпретация результатов, написание статьи) .*
- A10. **Kyrychenko A.** Refining membrane penetration by a combination of steady-state and time-resolved depth-dependent fluorescence quenching / A. Kyrychenko, A. S. Ladokhin // Analytical Biochemistry. — 2014. — V. 446. —

- Р. 19-21. (*Идея работы, разработка методики, выполнение эксперимента и интерпретация результатов, написание статьи*).
- A11. **Kyrychenko A.** A molecular dynamics model of rhodamine-labeled phospholipid incorporated into a lipid bilayer // *Chemical Physics Letters*. – 2010. – Vol. 485. – P. 95-99.
- A12. **Kyrychenko A.** Excited-state proton transfer through water bridges and structure of hydrogen-bonded complexes in 1*H*-pyrrolo[3,2-*h*]quinoline: Adiabatic time-dependent density functional theory study / A. Kyrychenko, J. Waluk // *Journal of Physical Chemistry A*. – 2006. – Vol. 110. – P. 11958-11967. (*Постановка задачи, выполнение квантово-химических расчетов, интерпретация результатов, написание статьи*).
- A13. **Kyrychenko A.** Molecular dynamics and DFT studies of intermolecular hydrogen bonds between bifunctional heteroazaaromatic molecules and hydroxylic solvents / A. Kyrychenko, Y. Stepanenko, J. Waluk // *Journal of Physical Chemistry A*. – 2000. – Vol. 104. – P. 9542-9555. (*Постановка задачи, выполнение эксперимента, выполнение квантово-химического и МД моделирования, интерпретация результатов, написание статьи*).
- A14. Posokhov Y. O. Effect of acetone accumulation on structure and dynamics of lipid membranes studied by molecular dynamics simulations / Y. O. Posokhov, **A. Kyrychenko**, // *Computational Biology and Chemistry*. – 2013. – Vol. 46. – P. 23–31. (*Постановка задачи, выполнение МД моделирования, интерпретация результатов, написание статьи*).
- A15. Partitioning of 2,6-bis(1*H*-benzimidazol-2-yl)pyridine fluorophore into a phospholipid bilayer: Complementary use of fluorescence quenching studies and molecular dynamics simulations / **A. Kyrychenko**, I. Y. Sevriukov, Z. A. Syzova, A. S. Ladokhin, A. O. Doroshenko // *Biophysical Chemistry*. – 2011. – Vol. 154. – P. 8-17. (*Постановка задачи, выполнение эксперимента*).

та, участие в обсуждении и интерпретация результатов, выполнение МД моделирования, написание статьи).

- A16. Singlet energy transfer in porphyrin-based donor-bridge-acceptor systems: Interaction between bridge length and bridge energy / K. Pettersson, **A. Kyrychenko**, E. Rönnow, T. Ljungdahl, J. Mårtensson, B. Albinsson // Journal of Physical Chemistry A. – 2006. – Vol. 110. – P. 310-318. (*Постановка задачи, участие в выполнении эксперимента, участие в обсуждении и интерпретации результатов, написание статьи*).
- A17. Detection and structural characterization of clusters with ultrashort-lived electronically excited states: IR absorption detected by femtosecond / Y. Nosenko, M. Kunitski, R. P. Thummel, **A. Kyrychenko**, J. Herbich, J. Waluk, C. Riehn, B. Brutschy // Journal of the American Chemical Society. – 2006. – Vol. 128. – P. 10000-10001. (*Постановка задачи, участие в выполнении эксперимента, выполнение квантово-химических расчетов, участие в обсуждении и интерпретации результатов, написание статьи*).
- A18. Fluorescence quenching in cyclic hydrogen-bonded complexes of 1H-pyrrolo[3,2-h]quinoline with methanol: Cluster size effect / Y. Nosenko, **A. Kyrychenko**, R. P. Thummel, J. Waluk, B. Brutschy, J. Herbich // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2007. – Vol. 9. – P. 3276-3285. (*Постановка задачи, участие в выполнении эксперимента, выполнение квантово-химических расчетов, участие в обсуждении и интерпретации результатов, написание статьи*).
- A19. Solvent-induced *syn-anti* rotamerization of 2-(2'-pyridyl)indole and the structure of its alcohol complexes / **A. Kyrychenko**, J. Herbich, F. Wu, R. P. Thummel, J. Waluk // Journal of the American Chemical Society. – 2000. – Vol. 122. – P. 2818-2827. (*Постановка задачи, участие в выполнении*

эксперимента, в обсуждении и интерпретации результатов, в написании статьи).

- A20. Role of ground state structure in photoinduced tautomerization in bifunctional proton donor-acceptor molecules: 1H-pyrrolo[3,2-h]quinoline and related compounds / **A. Kyrychenko**, J. Herbich, M. Izydorzak, F. Wu, R. P. Thummel, J. Waluk // Journal of the American Chemical Society. – 1999. – Vol. 121. – P. 11179-11188. (*Постановка задачи, участие в выполнении эксперимента, в обсуждении и интерпретации результатов, в написании статьи).*
- A21. Separation of different hydrogen-bonded clusters by femtosecond UV-ionization-detected infrared spectroscopy: 1H-pyrrolo[3,2-h]quinoline:(H₂O)_{n=1,2} complexes / Y. Nosenko, M. Kunitski, C. Riehn, R. P. Thummel, **A. Kyrychenko**, J. Herbich, J. Waluk, B. Brutschy // Journal of Physical Chemistry A. – 2008. – Vol. 112. – P. 1150-1156. (*Постановка задачи, участие в выполнении эксперимента, выполнение квантово-химических расчетов, участие в обсуждении и интерпретации результатов, в написании статьи).*
- A22. **Kyrychenko A.** Conformer-dependent electronic coupling for long-range triplet energy transfer in donor-bridge-acceptor porphyrin dimers / **A. Kyrychenko**, B. Albinsson // Chemical Physics Letters. – 2002. – Vol. 366. – P. 291-299. (*Постановка задачи, выполнение квантово-химических расчетов, интерпретация результатов, аписание статьи).*
- A23. Sterically induced conformational relaxation and structure of meso-diaryloctaalkyl porphyrins in the excited triplet state: Experimental and DFT studies / **A. Kyrychenko**, J. Andreasson, J. Mårtensson, B. Albinsson // Journal of Physical Chemistry B. – 2002. – Vol. 106. – P. 12613-12622. (*Постановка задачи, участие в выполнении эксперимента, в обсуждении и интерпретации результатов, написание статьи).*

- A24. Temperature and viscosity dependence of the triplet energy transfer process in porphyrin dimers / J. Andreasson, **A. Kyrychenko**, J. Mårtensson, B. Albinsson // Photochemical and Photobiological Sciences. – 2002. – Vol. 1. – P. 111-119. (*Постановка задачи, участие в выполнении эксперимента, выполнение квантово-химических расчетов, участие в обсуждении и интерпретации результатов, в написании статьи*).
- A25. **Kyrychenko A.** Distribution and favorable binding sites of pyrroloquinolines and its analogues in a lipid bilayer studied by molecular dynamics simulations / A. Kyrychenko, J. Waluk // Biophysical Chemistry. – 2008. – Vol. 136. – P. 128-135. (*Идея работы, выполнение МД моделирования, интерпретация результатов, написание статьи*).
- A26. **Kyrychenko A.** Molecular dynamics simulations of matrix deposition. I. Site structure analysis for porphyrin in argon and xenon / A. Kyrychenko, J. Waluk // Journal of Chemical Physics. – 2003. – Vol. 119. – P. 7318-7327. (*Постановка задачи, выполнение эксперимента и МД моделирования, интерпретация результатов, написание статьи*).
- A27. Molecular dynamics and DFT simulations of matrix deposition. II. Absolute site structure assignment for porphyrin in xenon / **A. Kyrychenko**, A. Gorski, J. Waluk // Journal of Chemical Physics. – 2004. – Vol. 121. – P. 12017-12025. (*Постановка задачи, участие в выполнении эксперимента, выполнение МД моделирования, интерпретация результатов, написание статьи*).
- A28. **Kyrychenko A.** Molecular dynamics simulations of matrix deposition. III. Site structure analysis for porphycene in argon and xenon / **A. Kyrychenko**, J. Waluk // Journal of Chemical Physics. – 2005. – Vol. 123. – P. 064706-1/064706-10. (*Постановка задачи, участие в выполнении эксперимента, участие в обсуждении и интерпретации результатов, написание статьи*).

- A29. Matrix isolation spectroscopy and molecular dynamics simulations for 2,7,12,17-tetra-*tert*-butylporphycene in argon and xenon / **A. Kyrychenko**, S. Gawinkowski, N. Urbańska, M. Pietraszkiewicz, J. Waluk // Journal of Chemical Physics. – 2007. – Vol. 127. – P. 134501-1/134501-12. (*Постановка задачи, выполнение эксперимента и МД моделирования, интерпретация результатов, написание статьи*).
- A30. Preparation, structure, and a coarse-grained molecular dynamics model for dodecanethiol-stabilized gold nanoparticles / **A. Kyrychenko**, G. V. Karpushina, S. I. Bogatyrenko, A. P. Kryshtal, A. O. Doroshenko // Computational and Theoretical Chemistry. – 2011. – Vol. 977. – P. 34–39. (*Постановка задачи, участие в выполнении эксперимента, в обсуждении и интерпретации результатов, выполнение МД моделирования, написание статьи*).
- A31. pH-Triggered conformational switching of the diphtheria toxin T-domain: The roles of N-terminal histidines / I. V. Kurnikov, **A. Kyrychenko**, J. C. Flores-Canales, M. V. Rodnin, N. Simakov, M. Vargas-Uribe, Y. O. Posokhov, M. Kurnikova, A. S. Ladokhin // Journal of Molecular Biology. – 2013. – Vol. 425. – P. 2752–2764. (*Участие в постановке задачи, участие в выполнении эксперимента и МД моделирования, участие в обсуждении и интерпретации результатов, написание статьи*).
- A32. Photoinduced double proton transfer: Inter- and intramolecular cases / **A. Kyrychenko**, J. Herbich, M. Izydorzak, M. Gil, J. Dobkowski, F. Wu, R. P. Thummel, J. Waluk // Israel Journal of Chemistry. – 1999. – Vol. 39. – P. 309-318. (*Постановка задачи, участие в выполнении эксперимента, в обсуждении и интерпретации результатов, в написании статьи*).
- A33. **Kyrychenko A.** Calibration of distribution analysis of the depth of membrane penetration using simulations and depth-dependent fluorescence quenching. / A. Kyrychenko, M. V. Rodnin, A. S. Ladokhin // Journal of

- Membrane Biology. — 2015. — Vol. 248. — P. 583-594. (*Разработка методики спектральных измерений, выполнение МД моделирования, интерпретация результатов, написание статьи*).
- A34. Structural plasticity in the topology of the membrane-interacting domain of HIV-1 gp41 / **A. Kyrychenko**, A. J. Freitas, J. He, D. J. Tobias, W. C. Wimley, A. S. Ladokhin // Biophysical Journal. — 2014. — Vol. 106. — P. 610-620. (*Участие в постановке задачи, выполнение эксперимента и МД моделирования, участие в обсуждении и интерпретации результатов, в написании статьи*).
- A35. Folding of diphtheria toxin T-domain in the presence of amphipols and fluorinated surfactants: Toward thermodynamic measurements of membrane protein folding / **A. Kyrychenko**, M.V. Rodnin, M. Vargas-Uribe, S. K. Sharma, G. Durand, B. Pucci, J.-L. Popot, A. S. Ladokhin // Biochimica et Biophysica Acta. — 2012. — Vol. 1818. — P. 1006-1012. (*Участие в постановке задачи, участие в выполнении эксперимента, в обсуждении и интерпретации результатов, в написании статьи*).
- A36. Lipid Headgroups Modulate Membrane Insertion of pHILIP Peptide / **A. Kyrychenko**, V. Vasquez-Montes, M. B. Ulmschneider, A. S. Ladokhin // Biophysical Journal. — 2015. — Vol. 108. — P. 791-794. (*Участие в выполнении эксперимента, в обсуждении и интерпретации результатов*).
- A37. Conformational switching of the diphtheria toxin T domain / M.V. Rodnin, **A. Kyrychenko**, P. Kienker, O. Sharma, Y. O. Posokhov, R. J. Collier, A. Finkelstein, A. S. Ladokhin // Journal of Molecular Biology. — 2010. — Vol. 402. — P. 1–7. (*Участие в постановке задачи, в разработке методики спектральных измерений, в выполнении эксперимента и интерпретации результатов, в написании статьи*).

- A38. Replacement of C-terminal histidines uncouples membrane insertion and translocation in diphtheria toxin T-domain / M.V. Rodnin, **A. Kyrychenko**, P. Kienker, O. Sharma, M. Vargas-Uribe, R. J. Collier, A. Finkelstein, A. S. Ladokhin // Biophysical Journal. – 2011. – Vol. 101. – P. L41-L437. (*Участие в постановке задачи, в разработке методики спектральных измерений, в выполнении эксперимента и интерпретации результатов, в написании статьи*).
- A39. Thermodynamics of membrane insertion and refolding of the diphtheria toxin T-domain / Vargas-Uribe M., Rodnin M. V., Öjemalm K., Holgado A., **Kyrychenko A.**, Nilsson I., Posokhov Y. O., Makhatadze G., Heijne G. von, Ladokhin A. S. // Journal of Membrane Biology. — 2015. — Vol. 248. — P. 383-394. (*Выполнение спектральных измерений, участие в интерпретации результатов*).
- A40. Пасько, Д. А. Молекулярно-динамическое моделирование взаимодействия поливинилового спирта с наночастицей серебра. / Д. А. Пасько, А. В. Кириченко // Вісник Харківського національного університету. Серія "Хімія" — 2015. — № 48. — P. 29-38. (*Участие в постановке задачи, разработка методики МД моделирования, интерпретация результатов*).

Тезиси докладов на научных конференциях по теме диссертации:

- A41. Kyrychenko A. V. Molecular dynamics simulations of water-protecting effect of poly(vinyl alcohol) on a silver nanoparticle / A. V. Kyrychenko, D. A. Pasko, O. N. Kalugin // 7-th International Conference "Physics of Liquid Matter: Modern Problems" (PLMMP-2016). 27–30 травня 2016 року, м. Київ, Україна: Тези Доповідей, 2016.– С. 125.
- A42. Interplay between hydrophobic and electrostatic interactions in protonation-dependent insertion of transmembrane helices / V. Vasquez-Montes, **A. Kyrychenko**, M. V. Rodnin, S. H. White, M. B. Ulmschneider, A. S. Ladokhin // The Biophysical Society 60th Annual Meeting, 27 February – 2 March, 2016: Book of Abstracts. – Los Angeles, California, USA, 2016. – 2833-Pos.
- A43. Moving along the free energy landscape of membrane insertion of the diphtheria toxin translocation domain / M. Vargas-Urbe, M. V. Rodnin, **A. Kyrychenko**, A. S. Ladokhin // The Biophysical Society 59th Annual Meeting, 7-11 February, 2015: CD of Abstracts. – Baltimore, Maryland, USA, 2015. – 2509-Plat.
- A44. Molecular dynamics simulations of silver nanoparticles coated with polyvinylpyrrolidone / **A. V. Kyrychenko**, O. M. Korsun, I. I. Gubin, S. M. Kovalenko, O. N. Kalugin // XIX Українська конференція з неорганічної хімії. 7 – 11 вересня 2014 року, м. Одеса, Україна: Тези Доповідей, 2014.– С. 114.
- A45. Thermodynamics landscape along the membrane insertion and refolding pathway of the diphtheria toxin T domain / M. Vargas-Urbe, M. V. Rodnin, **A. Kyrychenko**, G. Makhatadze, A. S. Ladokhin // The 28th Annual Gibbs Conference on Biothermodynamics, 20-23 September, 2014, – Southern

- Illinois University, Carbondale, Illinois, USA, Book of Abstracts, 2014. – P. 25.
- A46. Refining analysis of membrane penetration with depth-dependent fluorescence quenching and molecular dynamics simulations / **A. Kyrychenko**, M. V. Rodnin, D. J. Tobias, A. S. Ladokhin // The Biophysical Society 58th Annual Meeting, 15-19 February, 2014: Book of Abstracts. – San Francisco, California, USA, 2014. – 2569-Pos.
- A47. Изучение характера взаимодействия 3-гидроксихромо́на с додекантиол-стабилизированными наночастицами золота / Д. Ю. Колодезний, Д. А. Свечкарев, **А. В. Кириченко**, А.О. Дорошенко // Хімічні Каразінські читання – 2013: V Всеукраїнська наукова конференція студентів та аспірантів, 22 – 25 квітня 2013 р.: тези доповідей – Харків. – 2013. – С. 252-253.
- A48. Molecular dynamics simulations of silver nanoparticles interacting with PVP: Force field model development / O. M. Korsun, **A. V. Kyrychenko**, I. I. Gubin, S. N. Kovalenko, O. N. Kalugin // Methods and applications of computational chemistry: 5th International Symposium, 1–5 September, 2013: Book of Abstracts. – Kharkiv, Ukraine, 2013. – P. 122.
- A49. pH-Dependent interfacial refolding and transmembrane insertion of proteins / **A. Kyrychenko**, M. V. Rodnin, C. Field, A. S. Ladokhin // 245th American Chemical Society National Meeting, 7-11 April, 2013: Book of Abstracts. – New Orleans, Louisiana, USA, 2013. – 216-Oral.
- A50. Replacement of C-terminal histidines uncouples membrane insertion and translocation in diphtheria toxin T-domain / M. Vargas-Urbe, M. V. Rodnin, **A. Kyrychenko**, P. Kienker., O. Sharma, R. J. Collier, A. Finkelstein, A. S. Ladokhin // The Biophysical Society 56th Annual Meeting, 25-29 February, 2012: CD of Abstracts. – San Diego, California, USA, 2012. – 1237-Pos.

- A51. Mechanism of the pH-triggered formation of membrane competent state of the diphtheria toxin translocation domain revealed by simulations and experiment / J. C. Flores-Canales, I. Kurnikov, N. Simakov, M. V. Rodnin, **A. Kyrychenko**, A. S. Ladokhin, M. Kurnikova // The Biophysical Society 55th Annual Meeting, March 5-9, 2011: CD of Abstracts. – Baltimore, Maryland, USA, 2011. – 1124-Pos.
- A52. Kinetic and thermodynamic studies of pH-triggered membrane insertion of diphtheria toxin T-domain / **A. Kyrychenko**, M. V. Rodnin, Y. O. Posokhov, A. Thoma, J. Brettmann, A. S. Ladokhin // The Biophysical Society 54th Annual Meeting, 20-24 February, 2010: Book of Abstracts. – San Francisco, California, USA, 2010. – 2513-Pos.
- A53. Interaction of bifunctional hydrogen bond donor-acceptor azaaromatics with a lipid membrane: A Fluorescence quenching study and molecular dynamics simulation / **A. Kyrychenko**, R. P. Thummel, J. Waluk // Международная конференция по современным проблемам физической химии и электрохимии растворов, 1-4 декабря 2009: тезисы докладов. – Харьков, Украина, 2009. – P. 61.
- A54. pH-Triggered membrane insertion pathway of the diphtheria toxin T-domain: 2. Role of histidines / M. V. Rodnin, **A. Kyrychenko**, Y. O. Posokhov, A. Thoma, A. S. Ladokhin // The Biophysical Society 53rd Annual Meeting, February 28 – March 4, 2009: Book of Abstracts. – Boston, Massachusetts, USA, 2009. – 2232-Pos.
- A55. Role of histidine protonation in the pH-triggered membrane insertion of diphtheria toxin T-domain / M. V. Rodnin, J. Brettmann, **A. Kyrychenko**, A. S. Palchevskyy, A. S. Ladokhin // The Biophysical Society 52nd Annual Meeting and 16th IUPAB International Biophysical Congress, 2-6 February, 2008: Book of Abstracts. – Long Beach, California, USA, 2008. – 39-Plat. – P. 11.

- A56. **Kyrychenko A.** Favorable binding sites and localization of pyrroloquinoline analogues in a DPPC bilayer from molecular dynamics simulations / A. Kyrychenko, J. Waluk // Modern Physical Chemistry for Advanced Materials. The 100th Anniversary of the birth of Prof. Nikolai Izmailov, 26-30 June, 2007: Book of Abstracts. – Kharkiv, Ukraine, 2007. – P. 257.
- A57. Excited state intramolecular proton transfer in 2-(2'-pyridyl)pyrrole / M. Kijak, J. Herbich, **A. Kyrychenko**, R. P. Thummel, J. Waluk // XX IUPAC Symposium on Photochemistry, 17-22 July, 2004: Book of Abstracts. – Granada, Spain, USA, 2004. – P. 365.
- A58. **Kyrychenko A.** Tautomerization as a tool for matrix site assignments / A. Kyrychenko, A. Gorski, J. Waluk // Photoinduced charge (Electron and Proton) Migration Workshop, May 30 – June 6, 2004: Book of Abstracts. – Wdzydze, Poland, 2004. – P. 3(6).
- A59. **Kyrychenko A.** Molecular dynamics simulations of site structure for porphyrin and porphycene in solid rare gases / A. Kyrychenko, J. Waluk // XXVII European Congress on Molecular Spectroscopy, 5-10 October, 2004: Book of Abstracts. – Krakow, Poland, 2004. – P. 172.
- A60. Solvent-induced *syn-anti* rotamerization in homologues of 2-(2'-pyridyl)indole – photophysical investigations and molecular dynamics simulations / M. Kijak, **A. Kyrychenko**, J. Herbich, M. Toczek, R. P. Thummel, J. Waluk // XVth International Conference on Horizons in Hydrogen Bond Research, 16-21 September, 2003: Book of Abstracts. – Berlin, Germany, 2003. – P. 3P08.
- A61. Environment-induced spectral and photophysical changes / **A. Kyrychenko**, J. Herbich, M. Kijak, J. Waluk // Supramolecular Chemistry and New Materials Workshop, May 31 – June 6, 2003: Book of Abstracts. – Białowieża, Poland, 2003. – P. 22.

- A62. Media and temperature dependence of triplet-triplet energy transfer in porphyrin dimers / **A. Kyrychenko**, J. Andréasson, J. Mårtensson, B. Albinsson // XX International Conference on Photochemistry, July 30 – August 4, 2001: Book of Abstracts. – Moscow, Russia, 2001. – P. 256-257.
- A63. Spectral and theoretical studies of intermolecular hydrogen bonds between alcohols and heteroaromatic molecules / **A. Kyrychenko**, J. Herbich, Y. Stepanenko, R. P. Thummel, J. Waluk // XIII Conference-Workshop on Horizons in Hydrogen Bond Research, 2-9 September, 1999: Book of Abstracts. – Wrocław, Poland, 1999. – P. 176.
- A64. Laser jet spectroscopy of 2-(2'-pyridyl)indole and related compounds / Y. Stepanenko, E. Nosenko, **A. Kyrychenko**, J. Waluk, R. P. Thummel, A. Mordzinski // XVIII International Symposium on Molecular Beams, May 30 – June 4, 1999: Book of Abstracts. – Ameland, the Netherlands, 1999. – P. 187-188.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ЛИТЕРАТУРНЫХ ПЕРВОИСТОЧНИКОВ

1. Waluk J. Hydrogen-bonding-induced phenomena in bifunctional heteroaza-aromatics / J. Waluk // *Acc. Chem. Res.* — 2003. — Vol. 36, N 11. — P. 832-838.
2. Mechanisms of fluorescence quenching by hydrogen bonding in various aza aromatics / J. Herbich, J. Waluk, R. P. Thummel, C.-Y. Hung // *J. Photochem. Photobiol., A.* — 1994. — Vol. 80, N 1-3. — P. 157-160.
3. Femtosecond-picosecond laser photolysis studies on the mechanisms of fluorescence quenching induced by hydrogen-bonding interactions - 1-pyrenol-pyridine systems / H. Miyasaka, A. Tabata, S. Ojima [et al.] // *J. Phys. Chem.* — 1993. — Vol. 97, N 31. — P. 8222-8228.
4. Chou P.-T. The host/guest type of excited-state proton transfer; A general review / P.-T. Chou // *J. Chin. Chem. Soc.* — 2001. — Vol. 48, — P. 651-682.
5. C.-C. Hsieh, C.-M. Jiang, P.-T. Chou, Excited-state proton transfer via hydrogen-bonded dimers and complexes in condensed phase, in *Hydrogen Bonding and Transfer in the Excited State*, Ed. K.-L. Han and G.-J. Zhao, 2010, John Wiley & Sons, Ltd. p. 555-578.
6. Quenching of fluorescence of 2-(2'-pyridyl) indoles upon complexation with alcohols / J. Herbich, W. Rettig, R. P. Thummel, J. Waluk // *Chem. Phys. Lett.* — 1992. — Vol. 195, N 5-6. — P. 556-562.
7. Solvent-controlled excited state behavior: 2-(2'-pyridyl)indoles in alcohols / J. Herbich, C.-Y. Hung, R. P. Thummel, J. Waluk // *J. Am. Chem. Soc.* — 1996. — Vol. 118, N 14. — P. 3508-3518.
8. Diversity of excited state deactivation paths in heteroazaaromatics with multiple intermolecular hydrogen bonds / J. Dobkowski, J. Herbich, V. Galievsky [et al.] // *Berichte der Bunsengesellschaft für Physikalische Chemie.* — 1998. — Vol. 102, N 3. — P. 469-475.
9. Fluorescence quenching by pyridine and derivatives induced by intermolecular hydrogen bonding to pyrrole-containing heteroaromatics / J. Herbich, M. Kijak, A. Zielińska [et al.] // *J. Phys. Chem. A.* — 2002. — Vol. 106, N 10. — P. 2158-2163.
10. Taylor C. A. Excited-state two-proton tautomerism in hydrogen-bonded *N*-heterocyclic base pairs / C. A. Taylor, M. A. El-Bayoumi, M. Kasha // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 1969. — Vol. 63, N 2. — P. 253-260.

11. Red edge excitation study of cooperative double proton transfer in 7-azaindole / J. Waluk, H. Bulska, B. Pakula, J. Sepiol // *J. Luminesc.* — 1981. — Vol. 24-25, N 2. — P. 519-522.
12. Spectroscopy of doubly hydrogen-bonded 7-azaindole. Reinvestigation of the excited state reaction / H. Bulska, A. Grabowska, B. Pakula [et al.] // *J. Luminesc.* — 1984. — Vol. 29, N 5-6. — P. 65-81.
13. Herbich J. Determination of the energy barrier origin of the excited state double proton transfer in 7-azaindole: Alcohol complexes / J. Herbich, J. Sepiol, J. Waluk // *J. Mol. Struct.* — 1984. — Vol. 114, — P. 329-332.
14. Viscosity vs. temperature effects in excited-state double proton transfer. Comparison of 1-azacarbazole with 7-azaindole / J. Waluk, A. Grabowska, B. Pakula, J. Sepiol // *J. Phys. Chem.* — 1984. — Vol. 88, N 6. — P. 1160-1162.
15. Chapman C. F. Excited-state tautomerization of 7-azaindole in water / C. F. Chapman, M. Maroncelli // *J. Phys. Chem.* — 1992. — Vol. 96, N 21. — P. 8430-8441.
16. Photophysics and biological applications of 7-azaindole and its analogs / A. V. Smirnov, D. S. English, R. L. Rich [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* — 1997. — Vol. 101, N 15. — P. 2758-2769.
17. Ingham K. Photoinduced double proton transfer in a model hydrogen bonded base pair. Effects of temperature and deuterium substitution / K. Ingham, M. A. El-Bayoumi // *J. Am. Chem. Soc.* — 1974. — Vol. 96, N 6. — P. 1674-1682.
18. H-bonded N-heterocyclic base-pair phototautomerizational potential barrier and mechanism: The 7-azaindole dimer / J. Catalán, P. Pérez, J. C. del Valle [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2004. — Vol. 101, N 2. — P. 419-422.
19. Excited state proton transfer in 3-methyl-7-azaindole dimer. Symmetry control / J. Catalán, C. Díaz, P. Pérez, J. L. G. de Paz // *J. Phys. Chem. A.* — 2006. — Vol. 110, N 29. — P. 9116-9122.
20. Kwon O.-H. Double proton transfer dynamics of model DNA base pairs in the condensed phase / O.-H. Kwon, A. H. Zewail // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2007. — Vol. 104, N 21. — P. 8703-8708.
21. Takeuchi S. The answer to concerted versus step-wise controversy for the double proton transfer mechanism of 7-azaindole dimer in solution / S.

- Takeuchi, T. Tahara // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2007. — Vol. 104, N 13. — P. 5285-5290.
22. On the concerted mechanism of photo-induced biprotonic transfer in C_{2h} 7-azaindole dimer / J. Catalán // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2008. — Vol. 105, N 45. — P. E78-E78.
23. Фемтохимия / О. М. Саркисов, С. Я. Уманский // *Успехи химии.* — 2001. — Vol. 70, № 6. — P. 515-538.
24. Ground and excited-state acetic acid catalyzed double proton transfer in 2-aminopyridine / F.-T. Hung, W.-P. Hu, T.-H. Li [et al.] // *J. Phys. Chem. A.* — 2003. — Vol. 107, N 18. — P. 3244-3253.
25. Ishikawa H. Picosecond dynamics of stepwise double proton-transfer reaction in the excited state of the 2-aminopyridine/acetic acid system / H. Ishikawa, K. Iwata, H.-O. Hamaguchi // *J. Phys. Chem. A.* — 2002. — Vol. 106, N 10. — P. 2305-2312.
26. Photoinduced amino-imino tautomerization reaction in 2-aminopyrimidine and its methyl derivatives with acetic acid / T. Kitamura, A. Hikita, H. Ishikawa, A. Fujimoto // *Spectrochim. Acta, Part A.* — 2005. — Vol. 62, N 4-5. — P. 1157-1164.
27. The hydrogen bonding and amino-imino tautomerization of the alkoxy-aminopyridines and amino-methoxypyrimidines with acetic acid: The effects of the methoxy group / T. Kitamura, N. Mochida, M. Okita [et al.] // *Spectrochim. Acta, Part A.* — 2007. — Vol. 68, N 3. — P. 979-991.
28. Amino-imino tautomerization reaction of the 4-aminopyrimidine/acetic acid system / T. Kitamura, M. Okita, Y. Sasaki [et al.] // *Spectrochim. Acta A: Molec. Biomolec. Spectr.* — 2008. — Vol. 69, N 2. — P. 350-360.
29. Amino-imino tautomerism in derivatives of cytosine: Effect on hydrogen-bonding and stacking properties / M. Rueda, F. J. Luque, J. M. López, M. Orozco // *J. Phys. Chem. A.* — 2001. — Vol. 105, N 26. — P. 6575-6580.
30. Excited-state amino-imino double-proton tautomerism in adenine nucleotide analogues catalyzed by carboxylic acids / P.-T. Chou, Y.-C. Chen, C.-Y. Wei, W.-S. Chen // *J. Am. Chem. Soc.* — 2000. — Vol. 122, N 38. — P. 9322-9323.
31. Catalán J. Feasibility of adenine photoinduced mispairing of the watson-crick pairing in DNA / J. Catalán // *J. Phys. Chem. B.* — 2002. — Vol. 106, N 43. — P. 11384-11390.

32. Tautomerization of adenine facilitated by water: Computational study of microsolvation / H.-S. Kim, D.-S. Ahn, S.-Y. Chung [et al.] // *J. Phys. Chem. A.* — 2007. — Vol. 111, N 32. — P. 8007-8012.
33. Probing water micro-solvation in proteins by water catalysed proton-transfer tautomerism / J.-Y. Shen, W.-C. Chao, C. Liu [et al.] // *Nature Commun.* — 2013. — Vol. 4, — P.
34. Ground state spectroscopy of hydroxyquinolines: evidence for the formation of protonated species in water-rich dioxane-water mixtures / O. K. Abou-Zied, J. Husband, N. Al-Lawatia, T. B. Steinbrecher // *Phys. Chem. Chem. Phys.* — 2014. — Vol. 16, N 1. — P. 61-70.
35. 7-Hydroxyquinoline-8-carbaldehydes. 1. Ground- and excited-state long-range prototropic tautomerization / V. Vetokhina, J. Nowacki, M. Pietrzak [et al.] // *J. Phys. Chem. A.* — 2013. — Vol. 117, N 38. — P. 9127-9146.
36. Tautomerism in 7-hydroxyquinoline: A combined experimental and theoretical study in water / N. Al-Lawatia, J. Husband, T. Steinbrecher, O. K. Abou-Zied // *J. Phys. Chem. A.* — 2011. — Vol. 115, N 17. — P. 4195-4201.
37. C. T. Manca, C. Tanner, S. Leutwyler, Controlling Excited-State H-Atom Transfer along Hydrogen-Bonded Wires, in *Hydrogen Bonding and Transfer in the Excited State*, Eds.: K.-L. Han, G.-J. Zhao, 2010, John Wiley & Sons, Ltd. — P. 525-554.
38. Fang W.-H. Ab initio study of the triple-proton-transfer reactions of ground and excited states of 7-hydroxyquinoline in methanol solution / W.-H. Fang // *J. Am. Chem. Soc.* — 1998. — Vol. 120, N 30. — P. 7568-7576.
39. Matsumoto Y. Structure and photoinduced excited state keto–enol tautomerization of 7-hydroxyquinoline-(CH₃OH)_n clusters / Y. Matsumoto, T. Ebata, N. Mikami // *J. Phys. Chem. A.* — 2002. — Vol. 106, N 23. — P. 5591-5599.
40. Meuwly M. Grotthus-type and diffusive proton transfer in 7-hydroxyquinoline-(NH₃)_n clusters / M. Meuwly, A. Bach, S. Leutwyler // *J. Am. Chem. Soc.* — 2001. — Vol. 123, N 46. — P. 11446-11453.
41. Liu Y.-H. Excited-state proton transfer via hydrogen-bonded acetic acid (AcOH) wire for 6-hydroxyquinoline / Y.-H. Liu, M. S. Mehata, J.-Y. Liu // *J. Phys. Chem. A.* — 2011. — Vol. 115, N 1. — P. 19-24.
42. Механизм таутомеризации 7-гидроксиизофлавонов в возбужденном состоянии / М. И. Львовская, А. Д. Рошаль, А. В. Кириченко [и др.] //

Вісник Харківського національного університету. Серія "Хімія". — 2005. — Vol. 669, № 13(69). — P. 32-39.

43. Waluk J. Luminescence of hydrogen-bonded 2-aminopyridine dimers / J. Waluk // J. Mol. Struct. — 1988. — Vol. 177, — P. 415-419.
44. Excited-state double-proton transfer of pyrimidines mediated by hydrogen-bonded complexes / M. A. El-Kemary, H. S. El-Gezawy, H. Y. El-Baradie, R. M. Issa // Chem. Phys. — 2001. — Vol. 265, N 2. — P. 233-242.
45. Chang C. Excited-state double proton transfer in 1-azacarbazole hydrogen-bonded dimers / C. Chang, N. Shabestary, M. A. El-Bayoumi // Chem. Phys. Lett. — 1980. — Vol. 75, N 1. — P. 107-109.
46. Excited-state double proton transfer in the solid state: the dimers of 1-azacarbazole / J. Waluk, J. Herbich, D. Oelkrug, S. Uhl // J. Phys. Chem. — 1986. — Vol. 90, N 17. — P. 3866-3868.
47. Catalán J. Photophysics of 1-azacarbazole dimers: A Reappraisal / J. Catalán // J. Phys. Chem. A. — 2007. — Vol. 111, N 36. — P. 8774-8779.
48. Excited-state double proton transfer in 1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]quinoline dimers / J. S. d. Klerk, A. N. Bader, S. Zapotoczny [et al.] // J. Phys. Chem. A. — 2009. — Vol. 113, N 18. — P. 5273-5279.
49. Excited-state double proton transfer in model base pairs: The stepwise reaction on the heterodimer of 7-azaindole analogues / W.-T. Hsieh, C.-C. Hsieh, C.-H. Lai [et al.] // ChemPhysChem. — 2008. — Vol. 9, N 2. — P. 293-299.
50. Phototautomerism of lumichromes and alloxazines / P.-S. Song, M. Sun, A. Koziolowa, J. Koziol // J. Am. Chem. Soc. — 1974. — Vol. 96, N 13. — P. 4319-4323.
51. Choi J. D. Nanosecond time-resolved fluorescence of phototautomeric lumichrome / J. D. Choi, R. D. Fugate, P.-S. Song // J. Am. Chem. Soc. — 1980. — Vol. 102, N 16. — P. 5293-5297.
52. Moyon N. S. Fluorescence solvatochromism in lumichrome and excited-state tautomerization: A combined experimental and DFT study / N. S. Moyon, S. Mitra // J. Phys. Chem. A. — 2011. — Vol. 115, N 12. — P. 2456-2464.
53. Beyond 7-azaindole: Conjugation effects on intermolecular double hydrogen-atom transfer reactions / C. R. Baiz, S. J. Ledford, K. J. Kubarych, B. D. Dunietz // J. Phys. Chem. A. — 2009. — Vol. 113, N 17. — P. 4862-4867.

54. Observation of three behaviors in confined liquid water within a nanopool hosting proton-transfer reactions / A. Douhal, G. Angulo, M. Gil [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* — 2007. — Vol. 111, N 19. — P. 5487-5493.
55. Biphasic tautomerization dynamics of excited 7-hydroxyquinoline in reverse micelles / O.-H. Kwon, T. G. Kim, Y.-S. Lee, D.-J. Jang // *J. Phys. Chem. B.* — 2006. — Vol. 110, N 24. — P. 11997-12004.
56. Ethylene glycol modified 2-(2'-aminophenyl)benzothiazoles at the amino site: the excited-state N-H proton transfer reactions in aqueous solution, micelles and potential application in live-cell imaging / L. Bo-Qing, C. Yi-Ting, C. Yu-Wei [et al.] // *Methods Appl. Fluoresc.* — 2016. — Vol. 4, N 1. — P. 014004.
57. Excited-state tautomerization dynamics of 7-hydroxyquinoline in β -cyclodextrin / H. J. Park, O.-H. Kwon, C. S. Ah, D.-J. Jang // *J. Phys. Chem. B.* — 2005. — Vol. 109, N 9. — P. 3938-3943.
58. Modulation of protonation–deprotonation processes of 2-(4'-pyridyl)benzimidazole in its inclusion complexes with cyclodextrins / V. Khorwal, B. Sadhu, A. Dey [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* — 2013. — Vol. 117, N 28. — P. 8603-8610.
59. Structural basis for dual excitation and photoisomerization of the *Aequorea victoria* green fluorescent protein / K. Brejc, T. K. Sixma, P. A. Kitts [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 1997. — Vol. 94, N 6. — P. 2306-2311.
60. V. Helms, W. Gu, Proton Travel in Green Fluorescent Protein, *Fluorescent Proteins I*, Ed.: G. Jung, 2012, Springer Berlin Heidelberg. — P. 171-181.
61. The structural basis for spectral variations in green fluorescent protein / G. J. Palm, A. Zdanov, G. A. Gaitanaris [et al.] // *Nat. Struct. Mol. Biol.* — 1997. — Vol. 4, N 5. — P. 361-365.
62. Structure and excited-state proton transfer in the GFP S205A mutant / Y. Erez, R. Gepshtein, I. Presiado [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* — 2011. — Vol. 115, N 41. — P. 11776-11785.
63. Role of internal water molecules in bacteriorhodopsin / K. Hideki // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2000. — Vol. 1460, N 1. — P. 177-191.
64. Long-distance proton transfer with a break in the bacteriorhodopsin active site / P. Phatak, J. S. Frähmcke, M. Wanko [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* — 2009. — Vol. 131, N 20. — P. 7064-7078.

65. Freier E. Proton transfer via a transient linear water-molecule chain in a membrane protein / E. Freier, S. Wolf, K. Gerwert // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2011. — Vol. 108, N 28. — P. 11435-11439.
66. Wolf S. How does a membrane protein achieve a vectorial proton transfer via water molecules? / S. Wolf, E. Freier, K. Gerwert // *ChemPhysChem.* — 2008. — Vol. 9, N 18. — P. 2772-2778.
67. Knight C. The curious case of the hydrated proton / C. Knight, G. A. Voth // *Acc. Chem. Res.* — 2012. — Vol. 45, N 1. — P. 101-109.
68. Isaev A. N. Quantum-chemical calculations of a long proton wire. Application of a harmonic model to analysis of the structure of an ionic defect in a water chain with an excess proton / A. N. Isaev // *J. Phys. Chem. A.* — 2010. — Vol. 114, N 5. — P. 2201-2212.
69. “Proton holes” in long-range proton transfer reactions in solution and enzymes: A theoretical analysis / D. Riccardi, P. König, X. Prat-Resina [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* — 2006. — Vol. 128, N 50. — P. 16302-16311.
70. Hydrogen-bond relays in concerted proton–electron transfers / J. Bonin, C. Costentin, M. Robert [et al.] // *Acc. Chem. Res.* — 2012. — Vol. 45, N 3. — P. 372-381.
71. Chemistry and physics of matrix-isolated species. / L. Andrews, M. Moskovits — North-Holland Amsterdam-Oxford-New-York-Tokyo: WILEY-VCH Verlag, 1989. — P. 950.
72. T. Bally, Matrix Isolation, in *Reactive Intermediate Chemistry*. 2004, John Wiley & Sons, Inc. — P. 795-845.
73. Apkarian V. A. Molecular photodynamics in rare gas solids / V. A. Apkarian, N. Schwentner // *Chem. Rev.* — 1999. — Vol. 99, N 6. — P. 1481-1514.
74. Radziszewski J. G. Site-population conserving and site-population altering photo-orientation of matrix-isolated free-base porphine by double proton transfer: IR dichroism and vibrational symmetry assignments / J. G. Radziszewski, J. Waluk, J. Michl // *Chem. Phys.* — 1989. — Vol. 136, N 2. — P. 165-180.
75. Time-resolved fluorescence studies of porphycene isolated in low-temperature gas matrices / J. Dobkowski, V. Galievsky, M. Gil, J. Waluk // *Chem Phys. Lett.* — 2004. — Vol. 394, N 4–6. — P. 410-414.

76. Whittle E. Matrix isolation method for the experimental study of unstable species / E. Whittle, D. A. Dows, G. C. Pimentel // *J. Chem. Phys.* — 1954. — Vol. 22, N 11. — P. 1943-1943.
77. Low-temperature experimental studies in molecular biophysics: a review / Y. P. Blagoi, G. G. Sheina, A. Y. Ivanov [et al.] // *Low Temp. Phys.* — 1999. — Vol. 25, N 10. — P. 747-759.
78. Haas Y. Reactions in rare gas matrices - Matrix and site effects / Y. Haas, U. Samuni // *Progress in Reaction Kinetics.* — 1998. — Vol. 23, — P. 211-280.
79. Investigation of matrix-isolated species: spectroscopy and molecular modelling / A. V. Nemukhin, L. Y. Khriachtchev, B. L. Grigorenko [et al.] // *Russ. Chem. Rev.* — 2007. — Vol. 76, N 12. — P. 1085-1092.
80. From synchronous to sequential double proton transfer: Quantum dynamics simulations for the model porphine / A. Accardi, I. Barth, O. Kühn, J. R. Manz // *J. Phys. Chem. A.* — 2010. — Vol. 114, N 42. — P. 11252-11262.
81. Theoretical study of the inner hydrogen migration in the β -substituted 5,10,15,20-tetraphenylporphyrins / X. Lu, Y. He, J. Chen [et al.] // *J. Phys. Chem. A.* — 2010. — Vol. 114, N 48. — P. 12731-12738.
82. J. Waluk, *Tautomerization in Porphycenes, Hydrogen-Transfer Reactions.* 2006, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. — P. 245-271.
83. Tautomerism in porphycenes: Analysis of rate-affecting factors / P. Ciąćka, P. Fita, A. Listkowski [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* — 2015. — Vol. 119, N 6. — P. 2292-2301.
84. Calculations of mode-specific tunneling of double-hydrogen transfer in porphycene agree with and illuminate experiment / Z. Homayoon, J. M. Bowman, F. A. Evangelista // *J. Phys. Chem. Lett.* — 2014. — Vol. 5, N 15. — P. 2723-2727.
85. Vibrations and hydrogen bonding in porphycene / S. Gawinkowski, L. Walewski, A. Vdovin [et al.] // *Phys. Chem. Chem. Phys.* — 2012. — Vol. 14, N 16. — P. 5489-5503.
86. Spectroscopic study of jet-cooled deuterated porphycenes: Unusual isotopic effects on proton tunneling / E. T. Mengesha, A. Zehnacker-Rentien, J. Sepioł [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* — 2015. — Vol. 119, N 6. — P. 2193-2203.
87. Unusual, solvent viscosity-controlled tautomerism and photophysics: Meso-alkylated porphycenes / M. Gil, J. Dobkowski, G. Wiosna-Sałyga [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* — 2010. — Vol. 132, N 38. — P. 13472-13485.

88. Arresting tautomerization in a single molecule by the surrounding polymer: 2,7,12,17-tetraphenyl porphycene / H. Piwoński, A. Sokołowski, M. Kijak [et al.] // *J. Phys. Chem. Lett.* — 2013. — Vol. 4, N 22. — P. 3967-3971.
89. Photodynamic therapy / T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson [et al.] // *J. National Cancer Institute.* — 1998. — Vol. 90, N 12. — P. 889-905.
90. A. J. Downs, *Spectroscopy of Matrix Isolated Molecules. 1. Principles, Procedures and Pitfalls, Low Temperature Molecular Spectroscopy*, Ed.: R. Fausto, 1996, Springer Netherlands. — P. 1-43.
91. Бикчантаев И. И. Спектроскопия и физико-химические свойства ароматических углеводородов, изолированных в матрицах инертных газов и N-алканов: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. хим. наук: спец. 02.00.04 "Физическая химия" / И. И. Бикчантаев. — Казань, 2001, — 20 с.
92. Free base tetraazaporphine isolated in inert gas hosts: Matrix influence on its spectroscopic and photochemical properties / C. Henchy, J. G. McCaffrey, S. Arabei [et al.] // *J. Chem. Phys.* — 2014. — Vol. 141, N 12. — P. 124303.
93. Pimental G. C. Infrared spectral perturbations in matrix experiments / G. C. Pimental, S. W. Charles // *Pure Appl. Chem.* — 1963. — Vol. 7, N 1. — P. 111-124.
94. Abbate A. D. Intramolecular vibrational relaxation of a polyatomic in the solid state. I. DCN in Xe / A. D. Abbate, C. B. Moore // *J. Chem. Phys.* — 1985. — Vol. 82, N 3. — P. 1263-1270.
95. Friedmann H. Theory of shifts of vibration-rotation lines of diatomic molecules in noble-gas matrices. Intermolecular forces in crystals / H. Friedmann, S. Kimel // *J. Chem. Phys.* — 1965. — Vol. 43, N 11. — P. 3925-3939.
96. Khriachtchev L. Matrix-isolation studies of noncovalent interactions: More sophisticated approaches / L. Khriachtchev // *J. Phys. Chem. A.* — 2015. — Vol. 119, N 12. — P. 2735-2746.
97. Modeling of HXeBr in CO₂ and Xe environments: Structure, energetics and vibrational spectra / A. Cohen, M. Tsuge, L. Khriachtchev [et al.] // *Chem Phys. Lett.* — 2014. — Vol. 594, — P. 18-22.
98. Morse P. M. Diatomic molecules according to the wave mechanics. II. Vibrational levels / P. M. Morse // *Phys. Rev.* — 1929. — Vol. 34, N 1. — P. 57-64.

99. Warshel A. Consistent force field calculations. II. Crystal structures, sublimation energies, molecular and lattice vibrations, molecular conformations, and enthalpies of alkanes / A. Warshel, S. Lifson // *J. Chem. Phys.* — 1970. — Vol. 53, N 2. — P. 582-594.
100. Gunde R. Consistent force field model treatment of the normal coordinate problem of matrix isolated molecules / R. Gunde, P. Felder, H. H. Günthard // *Chem. Phys.* — 1982. — Vol. 64, N 3. — P. 313-332.
101. Fraenkel R. Trapping of guests in rare gas matrices: Simulation and experiment / R. Fraenkel, S. Kahana, Y. Haas // *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* — 1995. — Vol. 99, N 3. — P. 412-416.
102. Fraenkel R. Molecular dynamics simulations of rare gas matrix deposition / R. Fraenkel, Y. Haas // *Chem. Phys.* — 1994. — Vol. 186, N 2-3. — P. 185-204.
103. Григоренко Б. Л., Развитие методов моделирования молекулярных явлений в конденсированных средах: автореф. дис. на соискание ученой степени доктора физ.-мат. наук: спец. 02.00.17 "Математическая и квантовая химия" / Б. Л.Григоренко. — Москва, 2004— 40 с.
104. Molecular dynamics simulations of site geometries of anthracene in an argon matrix / R. Fraenkel, D. Schweke, Y. Haas [et al.] // *J. Phys. Chem. A.* — 2000. — Vol. 104, N 16. — P. 3786-3791.
105. Schweke D. Photophysics of phenylpyrrole derivatives and their acetonitrile clusters in the gas phase and in argon matrixes: Simulations of structure and reactivity / D. Schweke, Y. Haas, B. Dick // *J. Phys. Chem. A.* — 2005. — Vol. 109, N 17. — P. 3830-3842.
106. Schweke D. The fluorescence of N-phenylpyrrole in an argon/acetonitrile matrix / D. Schweke, Y. Haas // *J. Phys. Chem. A.* — 2003. — Vol. 107, N 45. — P. 9554-9560.
107. Fraenkel R. Trapping of guests in a rare gas matrix: A molecular dynamics simulation / R. Fraenkel, Y. Haas // *J. Chem. Phys.* — 1994. — Vol. 100, N 6. — P. 4324-4328.
108. V. May, O. Kühn, Excitation Energy Transfer, Charge and Energy Transfer Dynamics in Molecular Systems. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. — 2011, — P. 467-558.

109. V. May, O. Kühn, *Electron Transfer, Charge and Energy Transfer Dynamics in Molecular Systems*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. — 2011, — P. 309-433.
110. *Principles of Fluorescence Spectroscopy* / J. R. Lakowicz — New York: Springer, — 2006. — 954.
111. P. J. Walla, *Optical Properties of Biomolecules*, in *Modern Biophysical Chemistry*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. — 2014, — P. 41-60.
112. Lindsey J. S. *Molecules for charge-based information storage* / J. S. Lindsey, D. F. Bocian // *Acc. Chem. Res.* — 2011. — Vol. 44, N 8. — P. 638-650.
113. Albinsson B. *Excitation energy transfer in donor-bridge-acceptor systems* / B. Albinsson, J. Martensson // *Phys. Chem. Chem. Phys.* — 2010. — Vol. 12, N 27. — P. 7338-7351.
114. Wasielewski M. R. *Self-assembly strategies for integrating light harvesting and charge separation in artificial photosynthetic systems* / M. R. Wasielewski // *Acc. Chem. Res.* — 2009. — Vol. 42, N 12. — P. 1910-1921.
115. Förster T. *Zwischenmolekulare energiewanderung und fluoreszenz* / T. Förster // *Annalen der Physik.* — 1948. — Vol. 437, N 1-2. — P. 55-75.
116. Ермолаев В. Л. *Индуктивно-резонансный механизм безызлучательных переходов в ионах и молекулах в конденсированной фазе* / В. Л. Ермолаев, Е. Б. Свешникова, Е. Н. Бодунов // *Успехи физ. наук.* — 1996. — Vol. 166, № 3. — P. 279-302.
117. В. Л. Ермолаев, А. Н. Теренин, *Сенсибилизированная фосфоресценция органических соединений при низкой температуре*, Памяти С. И. Вавилова. — Москва, — 1952, — С. 137-146.
118. Dexter D. L. *A theory of sensitized luminescence in solids* / D. L. Dexter // *J. Chem. Phys.* — 1953. — Vol. 21, N 5. — P. 836-850.
119. Chenu A. *Coherence in energy transfer and photosynthesis* / A. Chenu, G. D. Scholes // *Ann. Rev. Phys. Chem.* — 2015. — Vol. 66, N 1. — P. 69-96.
120. Scholes G. D. *Long-range resonance energy transfer in molecular systems* / G.D. Scholes // *Ann. Rev. Phys. Chem.* — 2003. — Vol. 54, N 1. — P. 57-87.
121. *Soluble synthetic multiporphyrin arrays. 2. Photodynamics of energy-transfer processes* / J.-S. Hsiao, B. P. Krueger, R. W. Wagner [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* — 1996. — Vol. 118, N 45. — P. 11181-11193.

122. Superexchange-mediated electronic energy transfer in a model dyad / C. Curutchet, F. A. Feist, B. V. Averbeke [et al.] // *Phys. Chem. Chem. Phys.* — 2010. — Vol. 12, N 27. — P. 7378-7385.
123. B. Albinsson, M. P. Eng, J. Mårtensson, *Tunneling through Conjugated Bridges in Designed Donor–Bridge–Acceptor Molecules, Charge and Exciton Transport through Molecular Wires*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: — Weinheim, — 2011, — P. 93-132.
124. Very fast singlet and triplet energy transfers in a tri-chromophoric porphyrin dyad aided by the truxene platform / A. Langlois, H.-J. Xu, P.-L. Karsenti [et al.] // *J. Porphyrins Phthalocyanines*. — 2015. — Vol. 19, N 01-03. — P. 427-441.
125. Andreasson J. Molecules with a sense of logic: a progress report / J. Andreasson, U. Pischel // *Chem. Soc. Rev.* — 2015. — Vol. 44, N 5. — P. 1053-1069.
126. Nagata N. Energy transfer among light-harvesting macrorings incorporated into a bilayer membrane / N. Nagata, Y. Kuramochi, Y. Kobuke // *J. Am. Chem. Soc.* — 2009. — Vol. 131, N 1. — P. 10-11.
127. A porphyrin-based molecular tweezer: Guest-induced switching of forward and backward photoinduced energy transfer / H. Yoon, J. M. Lim, H.-C. Gee [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* — 2014. — Vol. 136, N 4. — P. 1672-1679.
128. Tamaki T. Synthesis of a series of zinc(II)/freebase porphyrin dimers and trimers with programmable sequences from a common key molecule / T. Tamaki, T. Nosaka, T. Ogawa // *J. Org. Chem.* — 2014. — Vol. 79, N 22. — P. 11029-11038.
129. Photoinduced conductivity of a porphyrin–gold composite nanowire / D. S. Kilin, K. L. Tsemekhman, S. V. Kilina [et al.] // *J. Phys. Chem. A*. — 2009. — Vol. 113, N 16. — P. 4549-4556.
130. Porphyrins at interfaces / W. Auwärter, D. Eciija, F. Klappenberger, J. V. Barth // *Nature Chemistry*. — 2015. — Vol. 7, N 2. — P. 105-120.
131. Organo-soluble porphyrin mixed monolayer-protected gold nanorods with intercalated fullerenes / C. Xue, Y. Xu, Y. Pang [et al.] // *Langmuir*. — 2012. — Vol. 28, N 14. — P. 5956-5963.
132. Uji H. Anodic photocurrent generation by porphyrin-terminated helical peptide monolayers on gold / H. Uji, Y. Yatsunami, S. Kimura // *J. Phys. Chem. C*. — 2015. — Vol. 119, N 15. — P. 8054-8061.

133. Uji H. O₂-Triggered directional switching of photocurrent in self-assembled monolayer composed of porphyrin- and fullerene-terminated helical peptides on gold / H. Uji, K. Tanaka, S. Kimura // *J. Phys. Chem. C*. — 2016. — Vol. 120, N 7. — P. 3684-3689.
134. Long-range electron tunnelling in oligo-porphyrin molecular wires / G. Sedghi, V. M. Garcia-Suarez, L. J. Esdaile [et al.] // *Nature Nanotechnology*. — 2011. — Vol. 6, N 8. — P. 517-523.
135. Sharma V. K. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities / V. K. Sharma, R. A. Yngard, Y. Lin // *Adv. Colloid Interface Sci.* — 2009. — Vol. 145, N 1–2. — P. 83-96.
136. Nanobio silver: Its interactions with peptides and bacteria, and its uses in medicine / S. Eckhardt, P. S. Brunetto, J. Gagnon [et al.] // *Chem. Rev.* — 2013. — Vol. 113, N 7. — P. 4708-4754.
137. Lohse S. E. Applications of colloidal inorganic nanoparticles: From medicine to energy / S. E. Lohse, C. J. Murphy // *J. Am. Chem. Soc.* — 2012. — Vol. 134, N 38. — P. 15607-15620.
138. Functionalizing nanoparticles with biological molecules: Developing chemistries that facilitate nanotechnology / K. E. Sapsford, W. R. Algar, L. Berti [et al.] // *Chem. Rev.* — 2013. — Vol. 113, N 3. — P. 1904-2074.
139. Нанохімія, наносистеми, наноматеріали / С. В. Волков, Є. П. Ковальчук, В. М. Огненко, О. В. Решетняк — Київ: Наукова думка, 2008. — 426 с.
140. Tao A. R. Shape control of colloidal metal nanocrystals / A. R. Tao, S. Habas, P. Yang // *Small*. — 2008. — Vol. 4, N 3. — P. 310-325.
141. Shape-controlled synthesis of metal nanocrystals: Simple chemistry meets complex physics? / Y. Xia, Y. Xiong, B. Lim, S. E. Skrabalak // *Angew. Chem., Int. Ed.* — 2009. — Vol. 48, N 1. — P. 60-103.
142. Imparting chemical stability in nanoparticulate silver via a conjugated polymer casing approach / M. Chang, T. Kim, H.-W. Park [et al.] // *ACS Appl. Mater. Interf.* — 2012. — Vol. 4, N 8. — P. 4357-4365.
143. Engineering nanomaterials for biomedical applications requires understanding the nano-bio Interface: A perspective / J. E. Gagner, S. Shrivastava, X. Qian [et al.] // *J. Phys. Chem. Lett.* — 2012. — Vol. 3, N 21. — P. 3149-3158.
144. Пичугина Д. А. Индивидуальные кластеры золота, стабилизированные лигандами: строение, синтез и применение / Д. А. Пичугина, Н. Е.

- Кузьменко, А. Ф. Шестаков // Успехи химии. — 2015. — Vol. 84, N 11. — С. 1114-1144.
145. Dreaden E. C. Detecting and destroying cancer cells in more than one way with noble metals and different confinement properties on the nanoscale / E. C. Dreaden, M. A. El-Sayed // Acc. Chem. Res. — 2012. — Vol. 45, N 11. — P. 1854-1865.
146. Акчурин Г. Г. ИК лазерная инактивация клеток и фотоповреждение биотканей, сенсibilизированных плазмонно-резонансными золотыми наночастицами и красителями: автореф. дис. для присужд. учен. степени канд. физ.-мат. наук: спец. 03.00.02 „Биофизика" / Г. Г. Акчурин, — Саратов, 2009. — 20 с.
147. Multifunctional nanoparticles: Cost versus benefit of adding targeting and imaging capabilities / Z. Cheng, A. Al Zaki, J. Z. Hui [et al.] // Science. — 2012. — Vol. 338, N 6109. — P. 903-910.
148. The golden age: Gold nanoparticles for biomedicine / E. C. Dreaden, A. M. Alkilany, X. Huang [et al.] // Chem. Soc. Rev. — 2012. — Vol. 41, N 7. — P. 2740-2779.
149. Gold nanoparticles in radiation research: Potential applications for imaging and radiosensitization / J. F. Dorsey, L. Sun, D. Y. Joh [et al.] // Translational Cancer Research. — 2013. — Vol. 2, N 4. — P. 280-291.
150. Kang B. Nuclear targeting of gold nanoparticles in cancer cells induces DNA damage, causing cytokinesis arrest and apoptosis / B. Kang, M. A. Mackey, M. A. El-Sayed // J. Am. Chem. Soc. — 2010. — Vol. 132, N 5. — P. 1517-1519.
151. A simulation study on nanoscale holes generated by gold nanoparticles on negative lipid bilayers / J.-Q. Lin, Y.-G. Zheng, H.-W. Zhang, Z. Chen // Langmuir. — 2011. — Vol. 27, N 13. — P. 8323-8332.
152. Polymer-nanoparticle interfacial behavior revisited: A molecular dynamics study / J. Liu, Y. Wu, J. Shen [et al.] // Phys. Chem. Chem. Phys. — 2011. — Vol. 13, N 28. — P. 13058-13069.
153. Sequence-dependent structure/function relationships of catalytic peptide-enabled gold nanoparticles generated under ambient synthetic conditions / N. M. Bedford, Z. E. Hughes, Z. Tang [et al.] // J. Am. Chem. Soc. — 2016. — Vol. 138, N 2. — P. 540-548.

154. Structure of rigid polymers confined to nanoparticles: Molecular dynamics simulations insight / S. Maskey, J. M. D. Lane, D. Perahia, G. S. Grest // *Langmuir*. — 2016. — Vol. 32, N 8. — P. 2102-2109.
155. Bolintineanu D. S. Effects of functional groups and ionization on the structure of alkanethiol-coated gold nanoparticles / D. S. Bolintineanu, J. M. D. Lane, G. S. Grest // *Langmuir*. — 2014. — Vol. 30, N 37. — P. 11075-11085.
156. Ghorai P. K. Molecular dynamics simulation study of self-assembled monolayers of alkanethiol surfactants on spherical gold nanoparticles / P. K. Ghorai, S. C. Glotzer // *J. Phys. Chem. C*. — 2007. — Vol. 111, N 43. — P. 15857-15862.
157. Guberman-Pfeffer M. J. Connectivity-based biocompatible force field for thiolated gold nanoclusters / M. J. Guberman-Pfeffer, J. Ulcickas, J. A. Gascón // *J. Phys. Chem. C*. — 2015. — Vol. 119, N 49. — P. 27804-27812.
158. Gold nanoparticle/polymer interfaces: All atom structures from molecular dynamics simulations / G. Milano, G. Santangelo, F. Ragone [et al.] // *J. Phys. Chem. C*. — 2011. — Vol. 115, N 31. — P. 15154-15163.
159. Zhang L. Designing nanoparticle translocation through cell membranes by varying amphiphilic polymer coatings / L. Zhang, M. Becton, X. Wang // *J. Phys. Chem. B*. — 2015. — Vol. 119, N 9. — P. 3786-3794.
160. Internal structure of nanoparticle dimers linked by DNA / C. Chi, F. Vargas-Lara, A. V. Tkachenko [et al.] // *ACS Nano*. — 2012. — Vol. 6, N 8. — P. 6793-6802.
161. Ordered nanoparticle arrays interconnected by molecular linkers: electronic and optoelectronic properties / J. Liao, S. Blok, S. J. van der Molen [et al.] // *Chem. Soc. Rev.* — 2015. — Vol. 44, N 4. — P. 999-1014.
162. Lee O.-S. Using DNA to link gold nanoparticles, polymers, and molecules: A theoretical perspective / O.-S. Lee, T. R. Prytkova, G. C. Schatz // *J. Phys. Chem. Lett.* — 2010. — Vol. 1, N 12. — P. 1781-1788.
163. Lee O.-S. Molecular dynamics simulation of DNA-functionalized gold nanoparticles / O.-S. Lee, G. C. Schatz // *J. Phys. Chem. C*. — 2009. — Vol. 113, N 6. — P. 2316-2321.
164. Toward larger DNA origami / A. N. Marchi, I. Saaem, B. N. Vogen [et al.] // *Nano Lett.* — 2014. — Vol. 14, N 10. — P. 5740-5747.
165. Peng Z. Bottom-up nanofabrication using DNA nanostructures / Z. Peng, H. Liu // *Chemistry of Materials*. — 2016. — Vol. 28, N 4. — P. 1012-1021.

166. Ladokhin A. S. Fluorescence of membrane-bound tryptophan octyl ester: a model for studying intrinsic fluorescence of protein-membrane interactions / A. S. Ladokhin, P. W. Holloway // *Biophys. J.* — 1995. — Vol. 69, N 2. — P. 506-517.
167. Ladokhin A. S. Distribution analysis of membrane penetration of proteins by depth-dependent fluorescence quenching / A. S. Ladokhin, P. W. Holloway, E. G. Kostrzhevskaya // *J. Fluoresc.* — 1993. — Vol. 3, N 3. — P. 195-197.
168. H. Raghuraman, D. A. Kelkar, A. Chattopadhyay, Novel Insights Into Protein Structure and Dynamics Utilizing the Red Edge Excitation Shift Approach, *Reviews in Fluorescence 2005*, Eds: C.D. Geddes, J.R. Lakowicz, Springer US: — Boston, MA. — 2005, — P. 199-222.
169. Ionization, partitioning, and dynamics of tryptophan octyl ester: implications for membrane-bound tryptophan residues / A. Chattopadhyay, S. Mukherjee, R. Rukmini [et al.] // *Biophys. J.* — 1997. — Vol. 73, N 2. — P. 839-849.
170. Maier O. Fluorescent lipid probes: some properties and applications (a review) / O. Maier, V. Oberle, D. Hoekstra // *Chem. Phys. Lipids.* — 2002. — Vol. 116, N 1-2. — P. 3-18.
171. Devaux P. F. Investigation on lipid asymmetry using lipid probes: Comparison between spin-labeled lipids and fluorescent lipids / P. F. Devaux, P. Fellmann, P. Hervé // *Chem. Phys. Lipids.* — 2002. — Vol. 116, N 1-2. — P. 115-134.
172. Fluorescent lipid probes in the study of viral membrane fusion / R. Blumenthal, S. A. Gallo, M. Viard [et al.] // *Chem. Phys. Lipids.* — 2002. — Vol. 116, N 1-2. — P. 39-55.
173. Fluorescent lipids: Functional parts of fusogenic liposomes and tools for cell membrane labeling and visualization / C. Kleusch, N. Hersch, B. Hoffmann [et al.] // *Molecules.* — 2012. — Vol. 17, N 1. — P. 1055-1073.
174. Демченко О. П. Сучасні уявлення про структуру і динаміку біологічних мембран / О. П. Демченко // *Biopolymers & Cell.* — 2012. — Vol. 28, № 1. — P. 24-38.
175. R. Šachl, L. B. Å. Johansson, Heterogeneous Lipid Distributions in Membranes as Revealed by Electronic Energy Transfer, *Reviews in Fluorescence 2015*, Ed: C.D. Geddes, — Springer International Publishing. — 2016, — P. 171-187.

176. Asuncion-Punzalan E. Control of the depth of molecules within membranes by polar groups: Determination of the location of anthracene-labeled probes in model membranes by parallax analysis of nitroxide-labeled phospholipid induced fluorescence quenching / E. Asuncion-Punzalan, E. London // *Biochemistry*. — 1995. — Vol. 34, N 36. — P. 11460-11466.
177. Kachel K. The location of fluorescence probes with charged groups in model membranes / K. Kachel, E. Asuncion-Punzalan, E. London // *Biochim. Biophys. Acta*. — 1998. — Vol. 1374, N 1–2. — P. 63-76.
178. Loura L.M.S. Location and dynamics of acyl chain NBD-labeled phosphatidylcholine (NBD-PC) in DPPC bilayers. A molecular dynamics and time-resolved fluorescence anisotropy study / L.M.S. Loura, J. P. P. Ramalho // *Biochim. Biophys. Acta*. — 2007. — Vol. 1768, N 3. — P. 467-478.
179. Loura L. Fluorescent membrane probes' behavior in lipid bilayers: insights from molecular dynamics simulations / L. Loura, J. Prates Ramalho // *Biophys. Rev.* — 2009. — Vol. 1, N 3. — P. 141-148.
180. Chattopadhyay A. Parallax method for direct measurement of membrane penetration depth utilizing fluorescence quenching by spin-labeled phospholipids / A. Chattopadhyay, E. London // *Biochemistry*. — 1987. — Vol. 26, N 1. — P. 39-45.
181. Abrams F. S. Extension of the parallax analysis of membrane penetration depth to the polar region of model membranes: Use of fluorescence quenching by a spin-label attached to the phospholipid polar headgroup / F. S. Abrams, E. London // *Biochemistry*. — 1993. — Vol. 32, N 40. — P. 10826-10831.
182. Organization and dynamics of N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)-labeled lipids: a fluorescence approach / S. Mukherjee, H. Raghuraman, S. Dasgupta, A. Chattopadhyay // *Chem. Phys. Lipids*. — 2004. — Vol. 127, N 1. — P. 91-101.
183. Loura L. M. S. Recent developments in molecular dynamics simulations of fluorescent membrane probes / L. M. S. Loura, J. P. Prates Ramalho // *Molecules*. — 2011. — Vol. 16, — P. 5437-5452.
184. Marrink S. J. Lipids on the move: Simulations of membrane pores, domains, stalks and curves / S. J. Marrink, A. H. de Vries, D. P. Tieleman // *Biochim Biophys Acta Biomembranes*. — 2009. — Vol. 1788, N 1. — P. 149-168.
185. Faller R. Molecular modeling of lipid probes and their influence on the membrane / R. Faller // *Biochim. Biophys. Acta - Biomembranes* — 2016. — Vol. 1858, N 10. — P. 2353–2361.

186. Ladokhin A. S. Measuring membrane penetration with depth-dependent fluorescence quenching: Distribution analysis is coming of age / A. S. Ladokhin // *Biochim. Biophys. Acta - Biomembranes*. — 2014. — Vol. 1838, N 9. — P. 2289-2295.
187. Bolen E. J. Quenching of tryptophan fluorescence by brominated phospholipid / E. J. Bolen, P. W. Holloway // *Biochemistry*. — 1990. — Vol. 29, N 41. — P. 9638-9643.
188. Abrams F. S. Calibration of the parallax fluorescence quenching method for determination of membrane penetration depth: refinement and comparison of quenching by spin-labeled and brominated lipids / F. S. Abrams, E. London // *Biochemistry*. — 1992. — Vol. 31, N 23. — P. 5312-5322.
189. E. London, A. S. Ladokhin, Measuring the depth of amino acid residues in membrane-inserted peptides by fluorescence quenching, *Peptide-Lipid Interactions*. Eds: S.A. Simon, T.J. McIntosh, Elsevier: — Amsterdam, — 2002, — P. 89-115.
190. A. S. Ladokhin, Distribution analysis of depth-dependent fluorescence quenching in membranes: A practical guide, *Methods in Enzymology*, M.L.J. Ludwig Brand, Editor. Academic Press: — New York. — 1997, — P. 462-473.
191. Ladokhin A. S. Analysis of protein and peptide penetration into membranes by depth-dependent fluorescence quenching: Theoretical considerations / A. S. Ladokhin // *Biophys. J.* — 1999. — Vol. 76, — P. 946-955.
192. Steckbeck J.D. C-Terminal tail of human immunodeficiency virus gp41: functionally rich and structurally enigmatic / J. D. Steckbeck, A. S. Kuhlmann, R. C. Montelaro // *J. Gen. Virology*. — 2013. — Vol. 94, N 1. — P. 1-19.
193. Highly conserved structural properties of the C-terminal tail of HIV-1 gp41 protein despite substantial sequence variation among diverse clades: implications for functions in viral replication / J. D. Steckbeck, J. K. Craigo, C. O. Barnes, R. C. Montelaro // *J. Biol. Chem.* — 2011. — Vol. 286, N 31. — P. 27156-2766.
194. Topology of the C-terminal tail of HIV-1 gp41: differential exposure of the Kennedy epitope on cell and viral membranes / J. D. Steckbeck, C. Sun, T. J. Sturgeon, R. C. Montelaro // *PloS One*. — 2010. — Vol. 5, N 12. — P. e15261.
195. Hollier M. J. The C-terminal tail of the gp41 transmembrane envelope glycoprotein of HIV-1 clades A, B, C, and D may exist in two conformations:

- an analysis of sequence, structure, and function / M. J. Hollier, N. J. Dimmock // *Virology*. — 2005. — Vol. 337, N 2. — P. 284-296.
196. HIV-1 broadly neutralizing antibody extracts its epitope from a Kinked gp41 ectodomain region on the viral membrane / Z.-Y. J. Sun, K. J. Oh, M. Kim [et al.] // *Immunity*. — 2008. — Vol. 28, N 1. — P. 52-63.
 197. Broadly neutralizing anti-HIV-1 antibodies disrupt a hinge-related function of gp41 at the membrane interface / L. Song, Z. Y. Sun, K. E. Coleman [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2009. — Vol. 106, N 22. — P. 9057-9062.
 198. Membrane-proximal external HIV-1 gp41 motif adapted for destabilizing the highly rigid viral envelope / B. Apellaniz, A. Ivankin, S. Nir [et al.] // *Biophys. J.* — 2011. — Vol. 101, N 10. — P. 2426-2435.
 199. Wu F. Preparation and study of tautomers derived from 2-(2'-Pyridyl)indole and related compounds / F. Wu, J. Hardesty, R. P. Thummel // *J. Org. Chem.* — 1998. — Vol. 63, N 12. — P. 4055-4061.
 200. Wu F. Bidentate ligands that contain pyrrole in place of pyridine / F. Wu, C. M. Chamchoumis, R. P. Thummel // *Inorg. Chem.* — 2000. — Vol. 39, N 3. — P. 584-590.
 201. Time-Correlated Single-Photon Counting / D. V. O'Connor, D. Phillips — London and New York: — Academic Press, — 1984. — P. 680.
 202. Interactions of fluorinated surfactants with diphtheria toxin T-domain: Testing new media for studies of membrane proteins / M. V. Rodnin, Y. O. Posokhov, C. Contino-Pepin [et al.] // *Biophys. J.* — 2008. — Vol. 94, N 11. — P. 4348-4357.
 203. Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-Vis spectra / W. Haiss, N. T. K. Thanh, J. Aveyard, D. G. Fernig // *Analyt. Chem.* — 2007. — Vol. 79, N 11. — P. 4215-4221.
 204. Simple spectrophotometric method for quantitative determination of gold in nanoparticles / J. Tournebize, A. Sapin-Minet, R. Schneider [et al.] // *Talanta*. — 2011. — Vol. 83, N 5. — P. 1780-1783.
 205. Ladokhin A. S. How to measure and analyze tryptophan fluorescence in membranes properly, and why bother? / A. S. Ladokhin, S. Jayasinghe, S. H. White // *Anal. Biochem.* — 2000. — Vol. 285, — P. 235-245.
 206. Gaussian 03, Revision C.02 / M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel [et al.] — Wallingford CT: Gaussian, Inc., — 2003.

207. Gaussian 09, Revision B.01 / M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel [et al.] — Wallingford CT: Gaussian, Inc., — 2009.
208. Furche F. Adiabatic time-dependent density functional methods for excited state properties / F. Furche, R. Ahlrichs // J. Chem. Phys. — 2002. — Vol. 117, N 16. — P. 7433-7447.
209. Hättig C. Transition moments and excited-state first-order properties in the coupled-cluster model CC2 using the resolution-of-the-identity approximation / C. Hättig, A. Köhn // J. Chem. Phys. — 2002. — Vol. 117, N 15. — P. 6939-6951.
210. Hättig C. CC2 excitation energy calculations on large molecules using the resolution of the identity approximation / C. Hättig, F. Weigend // J. Chem. Phys. — 2000. — Vol. 113, N 13. — P. 5154-5161.
211. Electronic structure calculations on workstation computers: The program system TURBOMOLE / R. Ahlrichs, M. Bär, M. Häser [et al.] // Chem. Phys. Lett. — 1989. — Vol. 162, N 3. — P. 165-169.
212. General atomic and molecular electronic structure system / M. W. Schmidt, K. K. Baldridge, J. A. Boatz [et al.] // J. Comput. Chem. — 1993. — Vol. 14, N 11. — P. 1347-1363.
213. Hay P. J. *Ab Initio* effective core potentials for molecular calculations. Potentials for K to Au including the outermost core orbitals / P. J. Hay, W. R. Wadt // J. Chem. Phys. — 1985. — Vol. 82, N 1. — P. 299-310.
214. Chiessi E. Water and polymer dynamics in chemically cross-linked hydrogels of poly(vinyl alcohol): A molecular dynamics simulation study / E. Chiessi, F. Cavalieri, G. Paradossi // J. Phys. Chem. B. — 2007. — Vol. 111, N 11. — P. 2820-2827.
215. Properties of polyvinyl alcohol oligomers: A molecular dynamics study / E. Rossinsky, K. B. Tarmyshov, M. C. Böhm, F. Müller-Plathe // Macromol. Theor. Simulations. — 2009. — Vol. 18, N 9. — P. 545-552.
216. Wu C. Cooperative behavior of poly(vinyl alcohol) and water as revealed by molecular dynamics simulations / C. Wu // Polymer. — 2010. — Vol. 51, N 19. — P. 4452-4460.
217. Tesei G. Poly(vinyl alcohol) oligomer in dilute aqueous solution: A comparative molecular dynamics simulation study / G. Tesei, G. Paradossi, E. Chiessi // J. Phys. Chem. B. — 2012. — Vol. 116, N 33. — P. 10008-10019.

218. Simulating synthesis of metal nanorods, nanoplates, and nanoframes by self-assembly of nanoparticle building blocks / D. Cheng, W. Wang, D. Cao, S. Huang // *J. Phys. Chem. C*. — 2009. — Vol. 113, N 10. — P. 3986-3997.
219. Angulo A. M. Atomic structure of small and intermediate-size silver nanoclusters / A. M. Angulo, C. Noguez // *J. Phys. Chem. A*. — 2008. — Vol. 112, N 26. — P. 5834-5838.
220. D. T. Lussier, N. M. P. Kakalis, Y. Ventikos, *Molecular Dynamics Modeling of Nanodroplets and Nanoparticles, Multiscale Modeling of Particle Interactions*. John Wiley & Sons, Inc. — 2010, — P. 151-183.
221. Accurate simulation of surfaces and interfaces of face-centered cubic metals using 12-6 and 9-6 Lennard-Jones potentials / H. Heinz, R. A. Vaia, B. L. Farmer, R. R. Naik // *J. Phys. Chem. C*. — 2008. — Vol. 112, N 44. — P. 17281-17290.
222. GROMACS: Fast, flexible, and free / D. Van Der Spoel, E. Lindahl, B. Hess [et al.] // *J. Comput. Chem.* — 2005. — Vol. 26, N 16. — P. 1701-1718.
223. Molecular dynamics with coupling to an external bath / H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren [et al.] // *J. Chem. Phys.* — 1984. — Vol. 81, N 8. — P. 3684-3690.
224. A consistent empirical potential for water-protein interactions / J. Hermans, H. J. C. Berendsen, W. F. Van Gunsteren, J. P. M. Postma // *Biopolymers*. — 1984. — Vol. 23, N 8. — P. 1513-1518.
225. Humphrey W. VMD: Visual molecular dynamics / W. Humphrey, A. Dalke, K. Schulten // *J. Mol. Graphics*. — 1996. — Vol. 14, N 1. — P. 33-38.
226. A point-charge force field for molecular mechanics simulations of proteins based on condensed-phase quantum mechanical calculations / Y. Duan, C. Wu, S. Chowdhury [et al.] // *J. Comput. Chem.* — 2003. — Vol. 24, N 16. — P. 1999-2012.
227. Jorgensen W. L. Development and testing of the OPLS all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids / W. L. Jorgensen, D. S. Maxwell, J. Tirado-Rives // *J. Am. Chem. Soc.* — 1996. — Vol. 118, N 45. — P. 11225-11236.
228. Implementation of the CHARMM Force Field in GROMACS: Analysis of Protein Stability Effects from Correction Maps, Virtual Interaction Sites, and Water Models / P. r. Bjelkmar, P. Larsson, M. A. Cuendet [et al.] // *J. Chem. Theory Comput.* — 2010. — Vol. 6, N 2. — P. 459-466.

229. All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins / A. D. MacKerell, D. Bashford, Bellott [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* — 1998. — Vol. 102, N 18. — P. 3586-3616.
230. Mackerell A. D. Extending the treatment of backbone energetics in protein force fields: Limitations of gas-phase quantum mechanics in reproducing protein conformational distributions in molecular dynamics simulations / A. D. Mackerell, M. Feig, C. L. Brooks // *J. Comput. Chem.* — 2004. — Vol. 25, N 11. — P. 1400-1415.
231. Huang J. CHARMM36 all-atom additive protein force field: Validation based on comparison to NMR data / J. Huang, A. D. MacKerell // *J. Comput. Chem.* — 2013. — Vol. 34, N 25. — P. 2135-2145.
232. A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: The GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6 / C. Oostenbrink, A. Villa, A. E. Mark, W. F. Van Gunsteren // *J. Comput. Chem.* — 2004. — Vol. 25, N 13. — P. 1656-1676.
233. The weighted histogram analysis method for free-energy calculations on biomolecules. I. The method / S. Kumar, J. M. Rosenberg, D. Bouzida [et al.] // *J. Comput. Chem.* — 1992. — Vol. 13, N 8. — P. 1011-1021.
234. C.-C. Hsieh, M.-L. Ho, P.-T. Chou, Organic Dyes with Excited-State Transformations (Electron, Charge, and Proton Transfers), in *Advanced Fluorescence Reporters in Chemistry and Biology I*, Ed: A.P. Demchenko, Springer, — Berlin Heidelberg. — 2010, — P. 225-266.
235. D. Reyman, C. Díaz-Oliva, Excited-state double hydrogen bonding induced by charge transfer in isomeric bifunctional azaaromatic compounds, in *Hydrogen Bonding and Transfer in the Excited State*, Eds: K.-L. Han, G.-J. Zhao, John Wiley & Sons, Ltd. — 2010, — P. 661-709.
236. Intermolecular excited state double proton transfer in dipyrido-carbazole:alcohol complexes / J. Herbich, J. Dobkowski, R. P. Thummel [et al.] // *J. Phys. Chem. A.* — 1997. — Vol. 101, N 33. — P. 5839-5845.
237. Photoinduced double proton transfer in water complexes of 1H-pyrrolo[3,2-h]quinoline and dipyrido[2,3-a:3',2'-i]carbazole / M. Kijak, A. Zielinska, R. P. Thummel [et al.] // *Chem. Phys. Lett.* — 2002. — Vol. 366, N 3-4. — P. 329-335.
238. M. K. Shukla, J. Leszczynski, Electronic-Excited-State Structures and Properties of Hydrated DNA Bases and Base Pairs, in *Hydrogen Bonding and*

Transfer in the Excited State, K.-L. Han, G.-J. Zhao, Editors. John Wiley & Sons, Ltd. — 2010, — P. 125-147.

239. Grabowski Z.R. Generalized Förster cycle applied to coordination compounds / Z.R. Grabowski // *J. Luminesc.* — 1981. — Vol. 24–25, Part 2, — P. 559-562.
240. ESPT of 2-(2'-pyridyl)benzimidazole at the micelle-water interface: Selective enhancement and slow dynamics with sodium dodecyl sulfate / T. K. Mukherjee, P. Ahuja, A. L. Koner, A. Datta // *J. Phys. Chem. B.* — 2005. — Vol. 109, N 25. — P. 12567-12573.
241. Mukherjee T. K. Regulation of the extent and dynamics of excited-state proton transfer in 2-(2'-pyridyl)benzimidazole in nafion membranes by cation exchange / T. K. Mukherjee, A. Datta // *J. Phys. Chem. B.* — 2006. — Vol. 110, N 6. — P. 2611-2617.
242. Mukherjee T. K. Excited-state proton transfer of 2-(2'-pyridyl)benzimidazole in microemulsions: Selective enhancement and slow dynamics in Aerosol OT reverse micelles with an aqueous core / T. K. Mukherjee, D. Panda, A. Datta // *J. Phys. Chem. B.* — 2005. — Vol. 109, N 40. — P. 18895-18901.
243. Kwon O.-H. Proton transfer of excited 7-azaindole in reverse-micellar methanol nanopools: Even faster than in bulk methanol / O.-H. Kwon, D.-J. Jang // *J. Phys. Chem. B.* — 2005. — Vol. 109, N 16. — P. 8049-8052.
244. Micellar solubilization of polynuclear aromatic hydrocarbons in coal tar-contaminated soils / I. T. Yeom, M. M. Ghosh, C. D. Cox, K. G. Robinson // *Environ. Sci. Technol.* — 1995. — Vol. 29, N 12. — P. 3015-3021.
245. Near-infrared hydrophobic probes as molecular light switch for cmc determination of triton X-100 solution / C.-Q. Zhu, H. Zheng, D.-H. Li [et al.] // *Chinese J. Chem.* — 2004. — Vol. 22, N 11. — P. 1319-1324.
246. Hait S. Determination of critical micelle concentration (CMC) of nonionic surfactants by donor-acceptor interaction with Iodine and correlation of CMC with hydrophile-lipophile balance and other parameters of the surfactants / S. Hait, S. Moulik // *J. Surfact. Deterg.* — 2001. — Vol. 4, N 3. — P. 303-309.
247. (Sub)picosecond fluorescence upconversion studies of intermolecular proton transfer of dipyrido[2,3-a:3',2'-i]carbazole and related compounds / D. Marks, H. Zhang, P. Borowicz [et al.] // *J. Phys. Chem. A.* — 2000. — Vol. 104, N 31. — P. 7167-7175.

248. Carlos del Valle J. Competition between dipolar relaxation and double proton transfer in the electronic spectroscopy of pyrroloquinolines / J. Carlos del Valle, E. Domínguez, M. Kasha // J. Phys. Chem. A. — 1999. — Vol. 103, N 14. — P. 2467-2475.
249. Mente S. Solvation and the excited-state tautomerization of 7-azaindole and 1-azacarbazole: Computer simulations in water and alcohol solvents / S. Mente, M. Maroncelli // J. Phys. Chem. A. — 1998. — Vol. 102, N 22. — P. 3860-3876.
250. 7-Azaindole-assisted lactam-lactim tautomerization via excited-state double proton transfer / P.-T. Chou, C.-Y. Wei, C.-P. Chang, C.-H. Chiu // — 1995. — Vol. 117, N 27. — P. 7259-7260.
251. Dynamics of the water-catalyzed phototautomerization of 7-azaindole / A. Fernandez-Ramos, Z. Smedarchina, W. Siebrand, M. Z. Zgierski // J. Chem. Phys. — 2001. — Vol. 114, N 17. — P. 7518-7526.
252. Water-catalyzed excited-state proton-transfer reactions in 7-azaindole and its analogues / Y.-S. Wu, H.-C. Huang, J.-Y. Shen [et al.] // J. Phys. Chem. B. — 2015. — Vol. 119, N 6. — P. 2302-2309.
253. Structure of 1*H*-pyrrolo[3, 2-*h*]quinoline / S. N. Krasnokutskii, L. N. Kurbovskaya, T. A. Shibanova, V. P. Shabunova // J. Struct. Chem. — 1991. — Vol. 32, N 1. — P. 106-110.
254. In search for phototautomerization in solid dipyrido[2,3-*a*:3',2'-*i*]carbazole / J. Herbich, M. Kijak, R. Luboradzki [et al.] // J. Photochem. Photobiol., A. — 2002. — Vol. 154, N 1. — P. 61-68.
255. Polymorphism, hydrogen bond properties, and vibrational structure of 1*H*-pyrrolo[3,2-*h*]quinoline dimers / A. Gorski, S. Gawinkowski, R. Luboradzki [et al.] // J. Atom. Molec. Opt. Phys. — 2012. — Vol. 2012, — P. 236793-1/236793-11.
256. Photophysics of three pyridylbenzimidazoles in solution / R. G. Brown, N. Entwistle, J. D. Hepworth [et al.] // J. Phys. Chem. — 1982. — Vol. 86, N 13. — P. 2418-2420.
257. On the origin of fluorescence quenching of pyridylindoles by hydroxylic solvents / V. Vetokhina, M. Kijak, G. Wiosna-Salyga [et al.] // Photochem. Photobiol. Sci. — 2010. — Vol. 9, N 7. — P. 923-930.

258. V. May, O. Kühn, Proton Transfer, in Charge and Energy Transfer Dynamics in Molecular Systems. — Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. — 2011, — P. 435-466.
259. D. Pines, E. Pines, Solvent Assisted Photoacidity, in Hydrogen-Transfer Reactions. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. — 2006, — P. 377-415.
260. Förster T. Elektrolytische dissoziation angeregter moleküle / T. Förster // Z. Elektrochem. Ber. Bunsenges. Physik. Chem. — 1950. — Vol. 54, N 1. — P. 42-46.
261. Mudadu M. S. Preparation and study of 1,8-di(pyrid-2'-yl)carbazoles / M. S. Mudadu, A. N. Singh, R. P. Thummel // J. Org. Chem. — 2008. — Vol. 73, N 17. — P. 6513-6520.
262. Brutschy B. The structure of microsolvated benzene derivatives and the role of aromatic substituents / B. Brutschy // Chem. Rev. — 2000. — Vol. 100, N 11. — P. 3891-3920.
263. Neumark D. M. Time-resolved photoelectron spectroscopy of molecules and clusters / D. M. Neumark // Annu. Rev. Phys. Chem. — 2001. — Vol. 52, N 1. — P. 255-277.
264. Применение МАЛДИ времяпролетной масс-спектрометрии для идентификации микроорганизмов / Е. А. Демидов, К. В. Старостин, В. М. Попик, С. Е. Пельтек // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2013. — Vol. 17, № 4. — P. 758-764.
265. Structure and hydrogen-bond vibrations of water complexes of azaaromatic compounds: 7-(3'-pyridyl)indole / G. Wiosna-Sałyga, Y. Nosenko, M. Kijak [et al.] // J. Phys. Chem. A. — 2010. — Vol. 114, N 9. — P. 3270-3279.
266. Excited-state triple-proton transfer in 7-azaindole(H₂O)₂ and reaction path studied by electronic spectroscopy in the gas phase and quantum chemical calculations / K. Sakota, C. Jouvét, C. Dedonder [et al.] // J. Phys. Chem. A. — 2010. — Vol. 114, N 42. — P. 11161-11166.
267. Structure of hydrogen-bonded clusters of 7-azaindole studied by IR Dip spectroscopy and *ab initio* molecular orbital calculation / H. Yokoyama, H. Watanabe, T. Omi [et al.] // J. Phys. Chem. A. — 2001. — Vol. 105, N 41. — P. 9366-9374.
268. Catalán J. Resolution of concerted versus sequential mechanisms in photo-induced double-proton transfer reaction in 7-azaindole H-bonded dimer / J.

- Catalán, J. C. del Valle, M. Kasha // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. — 1999. — Vol. 96, N 15. — P. 8338-8343.
269. Infrared depletion spectra of 2-aminopyridine-2-pyridone, a Watson–Crick mimic of adenine·uracil / J. A. Frey, A. Müller, H.-M. Frey, S. Leutwyler // J. Chem. Phys. — 2004. — Vol. 121, N 17. — P. 8237-8245.
270. Laser spectroscopic investigation of salicylic acids hydrogen bonded with water in supersonic jets: Microsolvation effects for excited state proton dislocation / E. A. E.-H. Abou El-Nasr, A. Fujii, T. Yahagi [et al.] // J. Phys. Chem. A. — 2005. — Vol. 109, N 11. — P. 2498-2504.
271. Fayer M. D. Dynamics of water interacting with interfaces, molecules, and ions / M. D. Fayer // Acc. Chem. Res. — 2012. — Vol. 45, N 1. — P. 3-14.
272. Douhal A. Femtosecond molecular dynamics of tautomerization in model base pairs / A. Douhal, S. K. Kim, A. H. Zewail // Nature. — 1995. — Vol. 378, — P. 260-263.
273. Theoretical study of molecular dynamics in model base pairs / A. Douhal, V. Guallar, M. Moreno, J. M. Lluch // Chem. Phys. Lett. — 1996. — Vol. 256, — P. 370-376.
274. Arresting intermediate states in a chemical reaction on a femtosecond time scale: Proton transfer in model base pairs / D. E. Folmer, L. Poth, E. S. Wisniewski, A. W. Castleman Jr. // Chem. Phys. Lett. — 1998. — Vol. 287, — P. 1-7.
275. Femtosecond cluster studies of the solvated 7-azaindole excited state double-proton transfer / D. E. Folmer, E. S. Wisniewski, S. M. Hurley, A. W. Castleman Jr. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. — 1999. — Vol. 96, N 23. — P. 12980-12986.
276. *Ab initio* based exploration of the potential energy surface for the double proton transfer in the first excited singlet electronic state of the 7-azaindole dimer / M. Moreno, A. Douhal, J. M. Lluch [et al.] // J. Phys. Chem. A. — 2001. — Vol. 105, N 15. — P. 3887-3893.
277. Yu X.-F. Concerted or stepwise mechanism? CASPT2 and LC-TDDFT study of the excited-state double proton transfer in the 7-azaindole dimer / X.-F. Yu, S. Yamazaki, T. Taketsugu // J. Chem. Theory Comput. — 2011. — Vol. 7, N 4. — P. 1006-1015.
278. Yu X.-F. Theoretical study on water-mediated excited-state multiple proton transfer in 7-azaindole: Significance of hydrogen bond rearrangement / X.-F.

- Yu, S. Yamazaki, T. Taketsugu // J. Phys. Chem. A. — 2012. — Vol. 116, N 43. — P. 10566-10573.
279. Fang H. Excited-state tautomerization of 7-azaindole in nonpolar solution: A theoretical study based on liquid-phase potential surfaces of mean force / H. Fang, Y. Kim // J. Chem. Theory Comput. — 2013. — Vol. 9, N 8. — P. 3557-3566.
280. Dynamics simulations of excited-state triple proton transfer in 7-azaindole complexes with water, water-methanol and methanol / R. Daengngern, K. Kerdpol, N. Kungwan [et al.] // J. Photochem. Photobiol., A. — 2013. — Vol. 266, N 0. — P. 28-36.
281. The concerted mechanism of photo-induced biprotonic transfer in 7-azaindole dimers: Structure, quantum-theoretical analysis, and simultaneity principles / J. Catalán, P. Pérez, J. C. del Valle [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. — 2002. — Vol. 99, N 9. — P. 5793-5798.
282. Serrano-Andrés L. Theoretical study of the absorption and emission spectra of indole in the gas phase and in a solvent / L. Serrano-Andrés, B. O. Roos // J. Am. Chem. Soc. — 1996. — Vol. 118, N 1. — P. 185-195.
283. Sobolewski A. L. *Ab initio* investigations on the photophysics of indole / A. L. Sobolewski, W. Domcke // Chem. Phys. Lett. — 1999. — Vol. 315, N 3-4. — P. 293-298.
284. Спектроскопия порфиринов: колебательные состояния / К. Н. Соловьев, Л. Л. Гладков, А. С. Старухин, С. Ф. Шкирман — Минск: Наука и техника, — 1985. — 415 с.
285. Data storage studies on nanowire transistors with self-assembled porphyrin molecules / C. Li, J. Ly, B. Lei [et al.] // J. Phys. Chem. B. — 2004. — Vol. 108, N 28. — P. 9646-9649.
286. Single molecule conductance of porphyrin wires with ultralow attenuation / G. Sedghi, K. Sawada, L. J. Esdaile [et al.] // J. Am. Chem. Soc. — 2008. — Vol. 130, N 27. — P. 8582-8583.
287. Sandwich-type mixed tetrapyrrole rare-earth triple-decker compounds. Effect of the coordination geometry on the single-molecule-magnet nature / J. Kan, H. Wang, W. Sun [et al.] // Inorg. Chem. — 2013. — Vol. 52, N 15. — P. 8505-8510.
288. Photoinduced charge and energy transfer in molecular wires / M. Gilbert, B. Albinsson // Chem. Soc. Rev. — 2015. — Vol. 44, N 4. — P. 845-862.

289. Гуринович Г. П. Спектроскопия порфиринов / Г. П. Гуринович, А. Н. Севченко, К. Н. Соловьев // Успехи физических наук. — 1968. — Т. LXXIX, № 2. — Р. 173-234.
290. Gust D. Mimicking photosynthetic solar energy transduction / D. Gust, T. A. Moore, A. L. Moore // Acc. Chem. Res. — 2001. — Vol. 34, N 1. — P. 40-48.
291. A surface-anchored molecular four-level conductance switch based on single proton transfer / W. Auwarter, K. Seufert, F. Bischoff [et al.] // Nature Nanotechnology. — 2012. — Vol. 7, N 1. — P. 41-46.
292. Возникновение тонкой структуры в спектрах флуоресценции сложных молекул при лазерном возбуждении / Р. И. Персонов, Е. И. Альшиц, Л. А. Быковская // ЖЭТФ — 1972. — Т. 15, № 10. — Р. 609-612.
293. Алексеев В. И. Селективная лазерная спектроскопия порфиринов в низкотемпературных неоднородных матрицах: автореф. дис. на соискание учен. степени канд. физ.-мат. наук: спец. 01.04.07 „Физика твердого тела” / —Москва, 1984, — 20 с.
294. Элементарная теория колебательной структуры спектров примесных центров кристаллов / К. К. Ребане — Москва: Наука, 1968. — 232 с.
295. Stable ‘gap’ in absorption spectra of solid solutions of organic molecules by laser irradiation / B. M. Kharlamov, R. I. Personov, L. A. Bykovskaya // Opt. Commun. — 1974. — Vol. 12, N 2. — P. 191-193.
296. Radziszewski J. G. FT visible absorption spectroscopy of porphine in noble gas matrices / J. G. Radziszewski, J. Waluk, J. Michl // J. Mol. Spectrosc. — 1990. — Vol. 140, N 2. — P. 373-389.
297. Nguyen K. A. Photoinduced hydrogen atom transfer of free-base porphin / K. A. Nguyen, R. Pachter // J. Phys. Chem. A. — 2000. — Vol. 104, N 19. — P. 4549-4552.
298. Walewski Ł. Car-Parrinello molecular dynamics study of the intramolecular vibrational mode-sensitive double proton-transfer mechanisms in porphycene / Ł. Walewski, J. Waluk, B. Lesyng // J. Phys. Chem. A. — 2010. — Vol. 114, N 6. — P. 2313-2318.
299. Waluk J. Ground- and excited-state tautomerism in porphycenes / J. Waluk // Acc. Chem. Res. — 2006. — Vol. 39, N 12. — P. 945-952.

300. Starukhin A. Electronic spectra of porphycenes in rare gas and nitrogen matrices / A. Starukhin, E. Vogel, J. Waluk // J. Phys. Chem. A. — 1998. — Vol. 102, N 49. — P. 9999-10006.
301. Evidence for two forms, double hydrogen tunneling, and proximity of excited states in bridge-substituted porphycenes: Supersonic jet studies / A. Vdovin, J. Sepioł, N. Urbańska [et al.] // J. Am. Chem. Soc. — 2006. — Vol. 128, N 8. — P. 2577-2586.
302. Völker S. Laser-induced photochemical isomerization of free base porphyrin in an *n*-octane crystal at 4.2 K / S. Völker, J. H. van der Waals // Mol. Phys. — 1976. — Vol. 32, N 6. — P. 1703-1718.
303. Fourier transform fluorescence and phosphorescence of porphine in rare gas matrixes / J. G. Radziszewski, J. Waluk, M. Nepras, J. Michl // J. Phys. Chem. — 1991. — Vol. 95, N 5. — P. 1963-1969.
304. Malsch K. The force field of porphycene: A theoretical and experimental approach / K. Malsch, G. Hohlneicher // J. Phys. Chem. A. — 1997. — Vol. 101, N 45. — P. 8409-8416.
305. Персонов Р. И. Природа размытых полос электронных спектров растворов органических соединений и методы выявления в них скрытой линейчатой структуры / Р. И. Персонов // Изв. АН СССР. Сер. физ. — 1978. — Т. 42, № 2. — P. 242-252.
306. Cruz A. J. The dynamics of matrix trapping. I. Deposition of a pure argon matrix / A. J. Cruz, G. E. López // J. Chem. Phys. — 1996. — Vol. 104, N 11. — P. 4294-4300.
307. Cruz A. J. The dynamics of matrix trapping. II. Simple spherical species trapped in an argon matrix / A. J. Cruz, G. E. López // J. Chem. Phys. — 1996. — Vol. 104, N 11. — P. 4301-4308.
308. Peterson O. G. Measurements of X-ray lattice constant, thermal expansivity, and isothermal compressibility of argon crystals / O. G. Peterson, D. N. Batchelder, R. O. Simmons // Phys. Rev. — 1966. — Vol. 150, N 2. — P. 703-711.
309. Molnár F. MD-simulation of site geometries and photoinduced site interconversion of diphenylacetylene (Tolan) in an argon matrix / F. Molnár, B. Dick // Ber. Bunsenges. Phys. Chem. — 1995. — Vol. 99, N 3. — P. 422-428.
310. Sears D. R. Density and expansivity of solid xenon / D. R. Sears, H. P. Klug // J. Chem. Phys. — 1962. — Vol. 37, N 12. — P. 3002-3006.

311. Li X. Y. Porphine force field: in-plane normal modes of free-base porphine; comparison with metalloporphines and structural implications / X. Y. Li, M. Z. Zgierski // *J. Phys. Chem.* — 1991. — Vol. 95, N 11. — P. 4268-4287.
312. Waluk J. Tautomerization in condensed phases and in isolated molecules / J. Waluk // *Israel J. Chem.* — 2009. — Vol. 49, N 2. — P. 175-185.
313. Красильников П. М. Экситонное взаимодействие хромофоров — инструмент тонкой настройки механизма нефотохимического тушения фикобилисом у цианобактерий / П. М. Красильников, Д. В. Зленко, И. Н. Стадничук // *Компьютерные исследования и моделирование.* — 2015. — Т. 7, № 1. — P. 125-144.
314. Albinsson B. Long-range electron and excitation energy transfer in donor-bridge-acceptor systems / B. Albinsson, J. Mårtensson // *J. Photochem. Photobiol. C.* — 2008. — Vol. 9, N 3. — P. 138-155.
315. Artificial photosynthesis: Where are we now? Where can we go? / R. L. House, N. Y. M. Iha, R. L. Coppo [et al.] // *J. Photochem. Photobiol. C.* — 2015. — Vol. 25, — P. 32-45.
316. Mediated energy transfer in covalently linked porphyrin dimers / K. K. Jensen, S. B. van Berlekom, J. Kajanus [et al.] // *J. Phys. Chem. A.* — 1997. — Vol. 101, N 12. — P. 2218-2220.
317. Mediated electronic coupling: Singlet energy transfer in porphyrin dimers enhanced by the bridging chromophore / K. Kilså, J. Kajanus, J. Mårtensson, B. Albinsson // *J. Phys. Chem. B.* — 1999. — Vol. 103, N 34. — P. 7329-7339.
318. Steps to demarcate the effects of chromophore aggregation and planarization in poly(phenyleneethynylene)s. 1. Rotationally interrupted conjugation in the excited states of 1,4-bis(phenylethynyl)benzene / M. Levitus, K. Schmieder, H. Ricks [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* — 2001. — Vol. 123, N 18. — P. 4259-4265.
319. Förster T. Energy migration and fluorescence / T. Förster // *Naturwissenschaften.* — 1946. — Vol. 33, — P. 166-175.
320. McConnell H. M. Intramolecular charge transfer in aromatic free radicals / H. M. McConnell // *J. Chem. Phys.* — 1961. — Vol. 35, N 2. — P. 508-515.
321. Newton M. D. Quantum chemical probes of electron-transfer kinetics: the nature of donor-acceptor interactions / M. D. Newton // *Chem. Rev.* — 1991. — Vol. 91, N 5. — P. 767-792.

322. Photonic wires of nanometric dimensions. Electronic energy transfer in rigid rodlike $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ -(ph)_n- $\text{Os}(\text{bpy})_3^{2+}$ compounds (ph=1,4-Phenylene; n=3, 5, 7) / B. Schlicke, P. Belser, L. De Cola [et al.] // J. Am. Chem. Soc. — 1999. — Vol. 121, N 17. — P. 4207-4214.
323. Energy transfer in rigid Ru(II)/Os(II) dinuclear complexes with biscyclo-metalating bridging ligands containing a variable number of phenylene units / F. Barigelletti, L. Flamigni, M. Guardigli [et al.] // Inorg. Chem. — 1996. — Vol. 35, N 1. — P. 136-142.
324. Making photoactive molecular-scale wires / A. Harriman, R. Ziessel // Chem. Commun. — 1996. N 15. — P. 1707-1716.
325. An unusually shallow distance-dependence for triplet-energy transfer / A. Harriman, A. Khatyr, R. Ziessel, A. C. Benniston // Angew. Chem. Int. Ed. — 2000. — Vol. 39, N 23. — P. 4287-4290.
326. Larsson S. Electron transfer in chemical and biological systems. Orbital rules for nonadiabatic transfer / S. Larsson // J. Am. Chem. Soc. — 1981. — Vol. 103, N 14. — P. 4034-4040.
327. Theory and calculation for the electronic coupling in excitation energy transfer / Z.-Q. You, C.-P. Hsu // Int. J. Quantum Chem. — 2014. — Vol. 114, N 2. — P. 102-115.
328. Theoretical investigation of electronic excitation energy transfer in bichromophoric assemblies / B. Fückel, A. Köhn, M. E. Harding [et al.] // J. Chem. Phys. — 2008. — Vol. 128, N 7. — P. 074505.
329. Through-bond and through-space coupling in photoinduced electron and energy transfer: An *ab initio* and semiempirical study / A. H. A. Clayton, G. D. Scholes, K. P. Ghiggino, M. N. Paddon-Row // J. Phys. Chem. — 1996. — Vol. 100, N 26. — P. 10912-10918.
330. Yamaguchi Y. Strong coupling of the single excitations in the Q-like bands of phenylene-linked free-base and zinc bacteriochlorin dimers: A time-dependent density functional theory study / Y. Yamaguchi, S. Yokoyama, S. Mashiko // J. Chem. Phys. — 2002. — Vol. 116, N 15. — P. 6541-6548.
331. Давыдов А. С. Теория молекулярных экситонов / А. С. Давыдов — Москва: Наука, 1968. — 296 с.
332. Johansson L.B.A. Energy migration and rotational motion within bichromophoric molecules. II. A derivation of the fluorescence anisotropy / L.

- B. A. Johansson, P. Edman, P. O. Westlund // *J. Chem. Phys.* — 1996. — Vol. 105, N 24. — P. 10896-10904.
333. 1,32-Dihydroxy-dotriacontane-bis(Rhodamine) 101 ester: A lipid membrane spanning bichromophoric molecule as revealed by intramolecular donor-donor energy migration (DDEM) / S.-T. Bogen, J. Karolin, J. G. Molotkovsky, L. B-A. Johansson // *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* — 1998. — Vol. 94, N 16. — P. 2435-2440.
334. Donor-donor energy migration for determining intramolecular distances in proteins: I. Application of a model to the latent plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) / J. Karolin, M. Fa, M. Wilczynska [et al.] // *Biophys. J.* — 1998. — Vol. 74, N 1. — P. 11-21.
335. Kalinin S. V. Partial donor-donor energy migration (PDDEM) as a fluorescence spectroscopic tool for measuring distances in biomacromolecules / S. V. Kalinin, J. G. Molotkovsky, L. B. Johansson // *Spectrochim. Acta A.* — 2002. — Vol. 58, N 5. — P. 1087-1097.
336. Electron and energy transfer in donor-acceptor systems with conjugated molecular bridges / B. Albinsson, M. P. Eng, K. Pettersson, M. U. Winters // *Phys. Chem. Chem. Phys.* — 2007. — Vol. 9, N 44. — P. 5847-5864.
337. Kawatsu T. Sequentially coupled hole–electron transfer pathways for bridge-mediated triplet excitation energy transfer / T. Kawatsu, J.-Y. Hasegawa // *J. Phys. Chem. C.* — 2012. — Vol. 116, N 44. — P. 23252-23256.
338. Determination of long-distance intramolecular triplet energy-transfer rates. Quantitative comparison with electron transfer / G. L. Closs, P. Piotrowiak, J. M. MacInnis, G. R. Fleming // *J. Am. Chem. Soc.* — 1988. — Vol. 110, N 8. — P. 2652-2653.
339. A connection between intramolecular long-range electron, hole, and triplet energy transfers / G. L. Closs, M. D. Johnson, J. R. Miller, P. Piotrowiak // *J. Am. Chem. Soc.* — 1989. — Vol. 111, N 10. — P. 3751-3753.
340. Lambert C. J. Basic concepts of quantum interference and electron transport in single-molecule electronics / C. J. Lambert // *Chem. Soc. Rev.* — 2015. — Vol. 44, N 4. — P. 875-888.
341. Perrin M. L. Single-molecule transistors / M. L. Perrin, E. Burzuri, H. S. J. van der Zant // *Chem. Soc. Rev.* — 2015. — Vol. 44, N 4. — P. 902-919.

342. Molecular wires - impact of π -conjugation and implementation of molecular bottlenecks / C. Schubert, J. T. Margraf, T. Clark, D. M. Guldi // Chem. Soc. Rev. — 2015. — Vol. 44, N 4. — P. 988-998.
343. Triplet energy transfer in porphyrin dimers: Comparison between π - and σ -chromophore bridged systems / J. Andréasson, J. Kajanus, J. Mårtensson, B. Albinsson // J. Am. Chem. Soc. — 2000. — Vol. 122, N 40. — P. 9844-9845.
344. Efficient non-radiative deactivation and conformational flexibility of *meso*-diaryloctaalkylporphyrins in the excited triplet state / J. Andréasson, H. Zetterqvist, J. Kajanus [et al.] // J. Phys. Chem. A. — 2000. — Vol. 104, N 41. — P. 9307-9314.
345. Relaxation processes with participation of excited S_1 and T_1 states of spatially distorted *meso*-phenyl-substituted octamethylporphyrins / E. I. Sagun, E. I. Zenkevich, V. N. Knyukshto [et al.] // Optics and Spectrosc. (Engl. Ed.). — 2012. — Vol. 113, N 4. — P. 388-400.
346. Unusual dynamic relaxation of triplet-excited *meso*-phenyl-substituted porphyrins and their chemical dimers at room temperatures / V. Knyukshto, E. Zenkevich, E. Sagun [et al.] // Chem. Phys. Lett. — 1998. — Vol. 297, N 1-2. — P. 97-108.
347. Quantum-chemical investigation of the conformational dynamics of mono-*meso*-phenyl-substituted octaalkylporphyrins in the triplet excited state / I. V. Avilov, E. I. Zenkevich, E. I. Sagun, I. V. Filatov // J. Phys. Chem. A. — 2004. — Vol. 108, N 26. — P. 5684-5691.
348. Щупак Е.Е. Конформационная динамика и спин-орбитальные взаимодействия у ряда стерически затрудненных порфиринов в нижнем триплетном состоянии / Е. Е. Щупак, Н. В. Ивашин, Е. И. Сагун // Оптика и спектроскопия. — 2013. — Т. 115, № 1. — P. 43-54.
349. Theoretical study of triplet state properties of free-base porphin / O. Loboda, I. Tunell, B. Minaev, H. Ågren // Chem. Phys. — 2005. — Vol. 312, N 1-3. — P. 299-309.
350. Minaev B. Theoretical DFT study of phosphorescence from porphyrins / B. Minaev, H. Ågren // Chem. Phys. — 2005. — Vol. 315, N 3. — P. 215-239.
351. F. Furche, D. Rappoport, III. Density functional methods for excited States: Equilibrium structure and electronic spectra, Theoretical and Computational Chemistry, M. Olivucci, Editor. — Elsevier. 2005, — P. 93-128.

352. Effects of halogenation on the ionized and excited states of free-base and zinc porphyrins / K. A. Nguyen, P. N. Day, R. Pachter // J. Chem. Phys. — 1999. — Vol. 110, N 18. — P. 9135-9144.
353. Kay C. W. M. The electronic structure of the photoexcited triplet state of free-base (tetraphenyl)porphyrin by time-resolved electron–nuclear double resonance and density functional theory / C. W. M. Kay // J. Am. Chem. Soc. — 2003. — Vol. 125, N 45. — P. 13861-13867.
354. Perun S. Singlet and triplet excited states and intersystem crossing in free-base porphyrin: TDDFT and DFT/MRCI study / S. Perun, J. Tatchen, C. M. Marian // ChemPhysChem. — 2008. — Vol. 9, N 2. — P. 282-292.
355. The triplet state decay kinetics and deactivation funnel geometry of a series of nonplanar saddle-shaped porphyrins / V. S. Chirvony, I. V. Avilov, A. Y. Panarin [et al.] // Chem. Phys. Lett. — 2007. — Vol. 434, N 1–3. — P. 116-120.
356. Зенькевич Э. И. Структурная динамика и релаксационные процессы с участием возбужденных синглетных и триплетных состояний в стерически затрудненных порфиринах и их химических димерах / Э. И. Зенькевич // Макрогетероциклы. — 2014. — Т. 7, № 2. — P. 103-121.
357. Shchupak E. E. Conformational dynamics and spin-orbit interactions in a series of sterically hindered porphyrins in the lowest triplet state / E. E. Shchupak, N. V. Ivashin, E. I. Sagun // Optics and Spectroscopy. — 2013. — Vol. 115, N 1. — P. 37-47.
358. Фотофизические свойства порфиринов со стерически искаженным и частично экранированным макроциклом / Н. В. Ивашин, Е. Е. Щупак, А. Ю. Панарин, Е. И. Сагун // Оптика и спектроскопия. — 2015. — Т. 118, № 6. — P. 913-923.
359. Unusual pathways of triplet state dynamic relaxation in *meso*-aryl-substituted porphyrins and their chemical dimers at 295 K / V. N. Knyukshto, E. I. Zenkevich, E. I. Sagun [et al.] // J. Fluoresc. — 2000. — Vol. 10, N 1. — P. 55-68.
360. EPR spectroscopy and photophysics of the lowest photoactivated triplet state of a series of highly conjugated (porphinato)Zn arrays / P. J. Angiolillo, V. S. Y. Lin, J. M. Vanderkooi, M. J. Therien // J. Am. Chem. Soc. — 1995. — Vol. 117, N 50. — P. 12514-12527.
361. Photophysics of aromatic molecules / J. B. Birks — London and New York: Wiley-Interscience, 1970. — 518.

362. Релаксационные процессы с участием возбужденных S_0 - и T_1 -состояний пространственно искаженных мезо-фенилзамещенных октаметилпорфиринов / Е. И. Сагун, Э. И. Зенькевич, В. Н. Кньюкшто [et al.] // Оптика и спектроскопия. — 2012. — Т. 113, № 4. — С. 431-443.
363. Triplet energy transfer through the walls of hemicarcerands: Temperature dependence and the role of internal reorganization energy / I. Place, A. Farran, K. Deshayes, P. Piotrowiak // J. Am. Chem. Soc. — 1998. — Vol. 120, N 48. — P. 12626-12633.
364. Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology / J. C. Love, L. A. Estroff, J. K. Kriebel [et al.] // Chem. Rev. — 2005. — Vol. 105, N 4. — P. 1103-1170.
365. Quan Z. High-index faceted noble metal nanocrystals / Z. Quan, Y. Wang, J. Fang // Acc. Chem. Res. — 2013. — Vol. 46, N 2. — P. 191-202.
366. Fluorescent monolayer protected gold nanoparticles – Preparation and structure elucidation / P. Angelova, N. Kuchukova, G. M. Dobrikov [et al.] // — 2011. — Vol. 993, N 1–3. — P. 185-192.
367. Thiol-induced assembly of Au nanoparticles into chainlike structures and their fixing by encapsulation in silica shells or gelatin microspheres / E. C. Cho, S.-W. Choi, P. H. C. Camargo, Y. Xia // Langmuir. — 2010. — Vol. 26, N 12. — P. 10005-10012.
368. Self-assembling of gold nanoparticles in one, two, and three dimensions / C. Gutiérrez-Wing, P. Santiago, J. A. Ascencio [et al.] // Appl. Phys. A: Mater. Sci. Processing. — 2000. — Vol. 71, N 3. — P. 237-243.
369. Tian P. Molecular dynamics simulations of nanoparticles / P. Tian // Ann Rep Sect C: Phys. Chem. — 2008. — Vol. 104, — P. 142-164.
370. Makarucha A. Nanomaterials in biological environment: A review of computer modelling studies / A. Makarucha, N. Todorova, I. Yarovsky // Europ. Biophys. J. — 2011. — Vol. 40, N 2. — P. 103-115.
371. The MARTINI force field: Coarse grained model for biomolecular simulations / S. J. Marrink, H. J. Risselada, S. Yefimov [et al.] // J. Phys. Chem. B. — 2007. — Vol. 111, N 27. — P. 7812-7824.
372. Martini coarse-grained force field: Extension to carbohydrates / C. A. López, A. J. Rzepiela, A. H. de Vries [et al.] // J. Chem. Theory Comput. — 2009. — Vol. 5, N 12. — P. 3195-3210.

373. Gold is smaller than silver. Crystal structures of [bis(trimesitylphosphine)gold(I)] and [bis(trimesitylphosphine)silver(I)] tetrafluoroborate / A. Bayler, A. Schier, G. A. Bowmaker, H. Schmidbaur // J. Am. Chem. Soc. — 1996. — Vol. 118, N 29. — P. 7006-7007.
374. Mechanism and uses of a membrane peptide that targets tumors and other acidic tissues *in vivo* / O. A. Andreev, A. D. Dupuy, M. Segala [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. — 2007. — Vol. 104, N 19. — P. 7893-7898.
375. Andreev O. A. Targeting diseased tissues by pHLIP insertion at low cell surface pH / O. A. Andreev, D. M. Engelman, Y. K. Reshetnyak // Frontiers in Physiology. — 2014. — Vol. 5, — P. 1-7.
376. Targeting acidity in diseased tissues: Mechanism and applications of the membrane-inserting peptide, pHLIP / J. C. Deacon, D. M. Engelman, F. N. Barrera // Archiv. Biochem. Biophys. — 2015. — Vol. 565, — P. 40-48.
377. A monomeric membrane peptide that lives in three worlds: In solution, attached to, and inserted across lipid bilayers / Y. K. Reshetnyak, M. Segala, O. A. Andreev, D. M. Engelman // Biophys. J. — 2007. — Vol. 93, N 7. — P. 2363-2372.
378. Zoonens M. Bilayer interactions of pHLIP, a peptide that can deliver drugs and target tumors / M. Zoonens, Y. K. Reshetnyak, D. M. Engelman // Biophys. J. — 2008. — Vol. 95, N 1. — P. 225-235.
379. pH-Controlled delivery of luminescent europium coated nanoparticles into platelets / A. Davies, D. J. Lewis, S. P. Watson [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. — 2012. — Vol. 109, N 6. — P. 1862-1867.
380. pH-Controlled delivery of nanoparticles into tumor cells / L. Han, H. Ma, Y. Guo [et al.] // Adv. Healthcare Materials. — 2013. — Vol. 2, N 11. — P. 1435-1439.
381. Lewis D. J. Lanthanide-coated gold nanoparticles for biomedical applications / D. J. Lewis, Z. Pikramenou // Coord. Chem. Rev. — 2014. — Vol. 273-274, — P. 213-225.
382. pH (low) insertion peptide (pHLIP) targets ischemic myocardium / E. A. Sosunov, E. P. Anyukhovskiy, A. A. Sosunov [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. — 2013. — Vol. 110, N 1. — P. 82-86.
383. pH Dependent transfer of nano-pores into membrane of cancer cells to induce apoptosis / D. Wijesinghe, M. C. M. Arachchige, A. Lu [et al.] // Scientific Reports. — 2013. — Vol. 3, — P. 3560-1/3560-7.

384. pHLIP Peptide targets nanogold particles to tumors / L. Yao, J. Daniels, A. Moshnikova [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2013. — Vol. 110, N 2. — P. 465-470.
385. Thévenin D. pHLIP-Mediated translocation of membrane-impermeable molecules into cells / D. Thévenin, M. An, D. M. Engelman // *Chem. Biol.* — 2009. — Vol. 16, N 7. — P. 754-762.
386. Enhancement of radiation effect on cancer cells by gold-pHLIP / M. P. Antosh, D. D. Wijesinghe, S. Shrestha [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2015. — Vol. 112, N 17. — P. 5372-5376.
387. A controlled-release nanocarrier with extracellular pH value driven tumor targeting and translocation for drug delivery / Z. Zhao, H. Meng, N. Wang [et al.] // *Angew. Chem., Int. Ed.* — 2013. — Vol. 52, N 29. — P. 7487-7491.
388. Noncanonical amino acids to improve the pH response of pHLIP insertion at tumor acidity / J. O. Onyango, M. S. Chung, C.-H. Eng [et al.] // *Angew. Chem., Int. Ed.* — 2015. — Vol. 54, N 12. — P. 3658-3663.
389. Hainfeld J. F. New frontiers in gold labeling / J. F. Hainfeld, R. D. Powell // *J. Histochem. Cytochem.* — 2000. — Vol. 48, N 4. — P. 471-480.
390. Vymětal J. Critical assessment of current force fields. Short peptide test case / J. Vymětal, J. Vondrášek // *J. Chem. Theory Comput.* — 2013. — Vol. 9, N 1. — P. 441-451.
391. Jiang F. Folding of fourteen small proteins with a residue-specific force field and replica-exchange molecular dynamics / F. Jiang, Y.-D. Wu // *J. Am. Chem. Soc.* — 2014. — Vol. 136, N 27. — P. 9536-9539.
392. Nawrocki G. Aqueous amino acids and proteins near the surface of gold in hydrophilic and hydrophobic force fields / G. Nawrocki, M. Cieplak // *J. Phys. Chem. C.* — 2014. — Vol. 118, N 24. — P. 12929-12943.
393. Differential adhesion of amino acids to inorganic surfaces / R. L. Willett, K. W. Baldwin, K. W. West, L. N. Pfeiffer // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2005. — Vol. 102, N 22. — P. 7817-7822.
394. Conformational behavior of genetically-engineered dodecapeptides as a determinant of binding affinity for gold / S. Corni, M. Hnilova, C. Tamerler, M. Sarikaya // *J. Phys. Chem. C.* — 2013. — Vol. 117, N 33. — P. 16990-17003.

395. A quantitative, real-time assessment of binding of peptides and proteins to gold surfaces / O. Cohavi, D. Reichmann, R. Abramovich [et al.] // *Chem. European J.* — 2011. — Vol. 17, N 4. — P. 1327-1336.
396. Design criteria for engineering inorganic material-specific peptides / B. R. Peelle, E. M. Krauland, K. D. Wittrup, A. M. Belcher // *Langmuir.* — 2005. — Vol. 21, N 15. — P. 6929-6933.
397. Yu J. A molecular dynamics simulation of the stability-limited growth mechanism of peptide-mediated gold-nanoparticle synthesis / J. Yu, M. L. Becker, G. A. Carri // *Small.* — 2010. — Vol. 6, N 20. — P. 2242-2245.
398. Biomolecular recognition principles for bionanocombinatorics: An integrated approach to elucidate enthalpic and entropic factors / Z. Tang, J. P. Palafox-Hernandez, W.-C. Law [et al.] // *ACS Nano.* — 2013. — Vol. 7, N 11. — P. 9632-9646.
399. Comparative study of materials-binding peptide interactions with gold and silver surfaces and nanostructures: A thermodynamic basis for biological selectivity of inorganic materials / J. P. Palafox-Hernandez, Z. Tang, Z. E. Hughes [et al.] // *Chem. Mater.* — 2014. — Vol. 26, N 17. — P. 4960-4969.
400. Competing adsorption between hydrated peptides and water onto metal surfaces: From electronic to conformational properties / L. M. Ghiringhelli, B. Hess, N. F. A. van der Vegt, L. Delle Site // *J. Am. Chem. Soc.* — 2008. — Vol. 130, N 40. — P. 13460-13464.
401. Materials specificity and directed assembly of a gold-binding peptide / C. Tamerler, M. Duman, E. E. Oren [et al.] // *Small.* — 2006. — Vol. 2, N 11. — P. 1372-1378.
402. Influence of the shape of nanostructured metal surfaces on adsorption of single peptide molecules in aqueous solution / J. Feng, J. M. Slocik, M. Sarikaya [et al.] // *Small.* — 2012. — Vol. 8, N 7. — P. 1049-1059.
403. Crystallographic recognition controls peptide binding for bio-based nanomaterials / R. Coppage, J. M. Slocik, B. D. Briggs [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* — 2011. — Vol. 133, N 32. — P. 12346-12349.
404. Interaction of amino acids with the Au(111) surface: Adsorption free energies from molecular dynamics simulations / M. Hoefling, F. Iori, S. Corni, K.-E. Gottschalk // *Langmuir.* — 2010. — Vol. 26, N 11. — P. 8347-8351.

405. Yu J. The influence of amino acid sequence and functionality on the binding process of peptides onto gold surfaces / J. Yu, M. L. Becker, G. A. Carri // *Langmuir*. — 2012. — Vol. 28, N 2. — P. 1408-1417.
406. Verde A. V. Investigating the specificity of peptide adsorption on gold using molecular dynamics simulations / A. V. Verde, J. M. Acres, J. K. Maranas // *Biomacromolecules*. — 2009. — Vol. 10, N 8. — P. 2118-2128.
407. Energetics of peptide (pHLIP) binding to and folding across a lipid bilayer membrane / Y. K. Reshetnyak, O. A. Andreev, M. Segala [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2008. — Vol. 105, N 40. — P. 15340-15345.
408. pH (low) insertion peptide (pHLIP) inserts across a lipid bilayer as a helix and exits by a different path / O. A. Andreev, A. G. Karabadzha, D. Weerakkody [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2010. — Vol. 107, N 9. — P. 4081-4086.
409. Evidence of energy transfer from tryptophan to BSA/HSA protected gold nanoclusters / R. Sangam, C. Rahul, B. Susan [et al.] // *Methods Appl. Fluoresc.* — 2014. — Vol. 2, N 3. — P. 035004.
410. Spectroscopic investigation of the interactions between gold nanoparticles and bovine serum albumin / X. J. Shi, D. Li, J. Xie [et al.] // *Chin. Sci. Bull.* — 2012. — Vol. 57, N 10. — P. 1109-1115.
411. GoIP: An atomistic force-field to describe the interaction of proteins with Au(111) surfaces in water / F. Iori, R. Di Felice, E. Molinari, S. Corni // *J. Comput. Chem.* — 2009. — Vol. 30, N 9. — P. 1465-1476.
412. GoIP-CHARMM: First-principles based force fields for the interaction of proteins with Au(111) and Au(100) / L. B. Wright, P. M. Rodger, S. Corni, T. R. Walsh // *J. Chem. Theory Comput.* — 2013. — Vol. 9, N 3. — P. 1616-1630.
413. First-principles-based force field for the interaction of proteins with Au(100)(5 × 1): An extension of GoIP-CHARMM / L. B. Wright, P. M. Rodger, T. R. Walsh, S. Corni // *J. Phys. Chem. C*. — 2013. — Vol. 117, N 46. — P. 24292-24306.
414. Sotiriou G. A. Antibacterial activity of nanosilver ions and particles / G. A. Sotiriou, S. E. Pratsinis // *Environ. Sci. Technol.* — 2010. — Vol. 44, N 14. — P. 5649-5654.

415. Controlled release of biologically active silver from nanosilver surfaces / J. Liu, D. A. Sonshine, S. Shervani, R. H. Hurt // *ACS Nano*. — 2010. — Vol. 4, N 11. — P. 6903-6913.
416. Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities / C.-N. Lok, C.-M. Ho, R. Chen [et al.] // *J. Biol. Inorg. Chem.* — 2007. — Vol. 12, N 4. — P. 527-534.
417. Toxicity of silver nanoparticles increases during storage because of slow dissolution under release of silver ions / S. Kittler, C. Greulich, J. Diendorf [et al.] // *Chem. Mater.* — 2010. — Vol. 22, N 16. — P. 4548-4554.
418. Quantifying the origin of released Ag^+ ions from nanosilver / G. A. Sotiriou, A. Meyer, J. T. N. Knijnenburg [et al.] // *Langmuir*. — 2012. — Vol. 28, N 45. — P. 15929-15936.
419. Peretyazhko T. S. Size-controlled dissolution of silver nanoparticles at neutral and acidic pH conditions: Kinetics and size changes / T. S. Peretyazhko, Q. Zhang, V. L. Colvin // *Environ. Sci. Technol.* — 2014. — Vol. 48, N 20. — P. 11954-11961.
420. Molleman B. Surface structure of silver nanoparticles as a model for understanding the oxidative dissolution of silver ions / B. Molleman, T. Hiemstra // *Langmuir*. — 2015. — Vol. 31, N 49. — P. 13361-13372.
421. Fujiwara K. Enhanced Ag^+ ion release from aqueous nanosilver suspensions by absorption of ambient CO_2 / K. Fujiwara, G. A. Sotiriou, S. E. Pratsinis // *Langmuir*. — 2015. — Vol. 31, N 19. — P. 5284-5290.
422. Polyvinylpyrrolidone (PVP) in nanoparticle synthesis / K. M. Koczur, S. Mourdikoudis, L. Polavarapu, S. E. Skrabalak // *Dalton Trans.* — 2015. — Vol. 44, N 41. — P. 17883-17905.
423. New insights into the side-face structure, growth aspects, and reactivity of Ag_n nanoprisms / A. Le Beulze, E. Duguet, S. Mornet [et al.] // *Langmuir*. — 2014. — Vol. 30, N 5. — P. 1424-1434.
424. Rich capping ligand–Ag colloid interactions / M. Ren, Y. Jin, W. Chen, W. Huang // *J. Phys. Chem. C*. — 2015. — Vol. 119, N 49. — P. 27588-27593.
425. Nanoparticle ζ -potentials / T. L. Doane, C.-H. Chuang, R. J. Hill, C. Burda // *Acc. Chem. Res.* — 2012. — Vol. 45, N 3. — P. 317-326.
426. Al-Saidi W. A. Adsorption of polyvinylpyrrolidone on Ag surfaces: Insight into a structure-directing agent / W. A. Al-Saidi, H. Feng, K. A. Fichthorn // *Nano Lett.* — 2012. — Vol. 12, N 2. — P. 997-1001.

427. Saidi W. A. Binding of polyvinylpyrrolidone to Ag surfaces: Insight into a structure-directing agent from dispersion-corrected density functional theory / W. A. Saidi, H. Feng, K. A. Fichthorn // *J. Phys. Chem. C*. — 2013. — Vol. 117, N 2. — P. 1163-1171.
428. Surface enhanced raman spectroscopy (SERS) and density functional theory (DFT) study for understanding the regioselective adsorption of pyrrolidinone on the surface of silver and gold colloids / P. S. Mdluli, N. M. Sosibo, N. Revaprasadu [et al.] // *J. Mol. Struct.* — 2009. — Vol. 935, N 1–3. — P. 32-38.
429. Selective adsorption of PVP on the surface of silver nanoparticles: A molecular dynamics study / P. S. Mdluli, N. M. Sosibo, P. N. Mashazi [et al.] // *J. Mol. Struct.* — 2011. — Vol. 1004, N 1–3. — P. 131-137.
430. Structural and dynamic properties of water near monolayer-protected gold clusters with various alkanethiol tail groups / A.-C. Yang, C.-I. Weng // *J. Phys. Chem. C*. — 2010. — Vol. 114, N 19. — P. 8697-8709.
431. Prospects of nanoscience with nanocrystals / M. V. Kovalenko, L. Manna, A. Cabot [et al.] // *ACS Nano*. — 2015. — Vol. 9, N 2. — P. 1012-1057.
432. Langmuir I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum / I. Langmuir // *J. Am. Chem. Soc.* — 1918. — Vol. 40, N 9. — P. 1361-1403.
433. Adsorption of BSA on highly carboxylated microspheres - Quantitative effects of surface functional groups and interaction forces / J.-Y. Yoon, H.-Y. Park, J.-H. Kim, W.-S. Kim // *J. Colloid Interface Sci.* — 1996. — Vol. 177, N 2. — P. 613-620.
434. Yoon J.-Y. Interpretation of protein adsorption phenomena onto functional microspheres / J.-Y. Yoon, J.-H. Kim, W.-S. Kim // *Colloids Surf., B*. — 1998. — Vol. 12, N 1. — P. 15-22.
435. PVA/Gluten hybrid nanofibers for removal of nanoparticles from water / B. Dhandayuthapani, R. Mallampati, D. Sriramulu [et al.] // *ACS Sustainable Chem. Eng.* — 2014. — Vol. 2, N 4. — P. 1014-1021.
436. K. Jiang, A. O. Pinchuk, Noble Metal Nanomaterials: Synthetic Routes, Fundamental Properties, and Promising Applications, Solid State Physics, Eds: E.C. Robert, L.S. Robert, — Academic Press. 2015, — P. 131-211.

437. Interactions between silver nanoparticles and polyvinyl alcohol nanofibers / H. L. Chou, C. M. Wu, F. D. Lin, J. Rick // AIP Advances. — 2014. — Vol. 4, N 8. — P. 087111.
438. Surface-enhanced Raman scattering study of human serum on PVA-Ag nanofilm prepared by using electrostatic self-assembly / R. Liu, X. Zi, Y. Kang [et al.] // J. Raman Spectrosc. — 2011. — Vol. 42, N 2. — P. 137-144.
439. Tieleman D. P. Computer simulations of transport through membranes: Passive diffusion, pores, channels and transporters / D. P. Tieleman // Proc. Australian Physiol. Soc. — 2006. — Vol. 37, — P. 15-27.
440. Meng F. Drug permeability prediction using PMF method / F. Meng, W. Xu // J Mol Model. — 2013. — Vol. 19, N 3. — P. 991-997.
441. Benchmarking of force fields for molecule–membrane interactions / M. Paloncýová, G. Fabre, R. H. DeVane [et al.] // J. Chem. Theory Comput. — 2014. — Vol. 10, N 9. — P. 4143-4151.
442. Loverde S. M. Molecular simulation of the transport of drugs across model membranes / S. M. Loverde // J. Phys. Chem. Lett. — 2014. — Vol. 5, N 10. — P. 1659-1665.
443. 2,6-Bis(2-benzimidazolyl)pyridine receptor for urea recognition / B. Chetia, P. K. Iyer // Tetrahedron Lett. — 2006. — Vol. 47, N 46. — P. 8115-8117.
444. Chetia B. Utilization of 2,6-bis(2-benzimidazolyl)pyridine to detect toxic benzene metabolites / B. Chetia, P. K. Iyer // Tetrahedron Lett. — 2007. — Vol. 48, N 1. — P. 47-50.
445. Preferential distribution of the fluorescent phospholipid probes NBD-phosphatidylcholine and rhodamine-phosphatidylethanolamine in the exofacial leaflet of acetylcholine receptor-rich membranes from torpedo marmorata / C. Gutierrez-Merino, I. C. B. de Romanelli, L. I. Pietrasanta, F. J. Barrantes // Biochemistry. — 1995. — Vol. 34, N 14. — P. 4846-4855.
446. Caputo G.A. Using a novel dual fluorescence quenching assay for measurement of tryptophan depth within lipid bilayers to determine hydrophobic α -helix locations within membranes / G. A. Caputo, E. London // Biochemistry. — 2003. — Vol. 42, N 11. — P. 3265-3274.
447. Feller S. E. An improved empirical potential energy function for molecular simulations of phospholipids / S. E. Feller, A. D. MacKerell // J. Phys. Chem. B. — 2000. — Vol. 104, N 31. — P. 7510-7515.

448. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water / W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura [et al.] // *J. Chem. Phys.* — 1983. — Vol. 79, N 2. — P. 926-935.
449. MacCallum J. L. Distribution of amino acids in a lipid bilayer from computer simulations / J. L. MacCallum, W. F. D. Bennett, D. P. Tieleman // *Biophys. J.* — 2008. — Vol. 94, N 9. — P. 3393-3404.
450. Norman K. E. Indole localization in lipid membranes revealed by molecular simulation / K. E. Norman, H. Nymeyer // *Biophys. J.* — 2006. — Vol. 91, N 6. — P. 2046-2054.
451. Grossfield A. Interaction of tryptophan analogs with POPC lipid bilayers investigated by molecular dynamics calculations / A. Grossfield, T. B. Woolf // *Langmuir*. — 2002. — Vol. 18, N 1. — P. 198-210.
452. Molecular diffusion measurement in lipid bilayers over wide concentration ranges: A comparative study / L. Guo, J. Y. Har, J. Sankaran [et al.] // *ChemPhysChem*. — 2008. — Vol. 9, N 5. — P. 721-728.
453. Yano Y. Measurement of thermodynamic parameters for hydrophobic mismatch 2: intermembrane transfer of a transmembrane helix / Y. Yano, M. Ogura, K. Matsuzaki // *Biochemistry*. — 2006. — Vol. 45, N 10. — P. 3379-3385.
454. Vogel A. The distribution of lipid attached spin probes in bilayers: Application to membrane protein topology / A. Vogel, H. A. Scheidt, D. Huster // *Biophys. J.* — 2003. — Vol. 85, N 3. — P. 1691-1701.
455. Seelig J. Lipid conformation in model membranes and biological membranes / J. Seelig, A. Seelig // *Q. Rev. Biophys.* — 1980. — Vol. 13, N 01. — P. 19-61.
456. Wiener M. C. Structure of a fluid dioleoylphosphatidylcholine bilayer determined by joint refinement of x-ray and neutron diffraction data. III. Complete structure / M. C. Wiener, S. H. White // *Biophys. J.* — 1992. — Vol. 61, N 2. — P. 434-447.
457. Kemmerer S. Molecular dynamics simulation of dipalmitoylphosphatidylcholine modified with a MTSL nitroxide spin label in a lipid membrane / S. Kemmerer, J. C. Voss, R. Faller // *Biochim. Biophys. Acta Biomembranes*. — 2013. — Vol. 1828, N 11. — P. 2770-2777.

458. Hubbell W. L. Orientation and motion of amphiphilic spin labels in membranes / W. L. Hubbell, H. M. McConnell // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* — 1969. — Vol. 64, N 1. — P. 20-27.
459. Acyl-chain methyl distributions of liquid-ordered and -disordered membranes / M. Mihailescu, Rishi G. Vaswani, E. Jardón-Valadez [et al.] // *Biophys. J.* — 2011. — Vol. 100, N 6. — P. 1455-1462.
460. Scattering density profile model of POPG bilayers as determined by molecular dynamics simulations and small-angle neutron and X-ray scattering experiments / N. Kučerka, B. W. Holland, C. G. Gray [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* — 2011. — Vol. 116, N 1. — P. 232-239.
461. Orsi M. Permeability of small molecules through a lipid bilayer: A multiscale simulation study / M. Orsi, W. E. Sanderson, J. W. Essex // *J. Phys. Chem. B.* — 2009. — Vol. 113, N 35. — P. 12019-12029.
462. Xiang T. X. Translational diffusion in lipid bilayers: Dynamic free-volume theory and molecular dynamics simulation / T. X. Xiang // *J. Phys. Chem. B.* — 1998. — Vol. 103, N 2. — P. 385-394.
463. *Computer Simulations of Liquids* / M. P. Allen, D. J. Tildesley — Oxford: Clarendon Press, 1991. — 395.
464. Vaz W. L. C. Translational diffusion of lipids in liquid crystalline phase phosphatidylcholine multibilayers. A comparison of experiment with theory / W. L. C. Vaz, R. M. Clegg, D. Hallmann // *Biochemistry.* — 1985. — Vol. 24, N 3. — P. 781-786.
465. Schwille P. Fluorescence correlation spectroscopy with single-molecule sensitivity on cell and model membranes / P. Schwille, J. Korlach, W. W. Webb // *Cytometry.* — 1999. — Vol. 36, N 3. — P. 176-182.
466. Jójárt B. Performance of the general amber force field in modeling aqueous POPC membrane bilayers / B. Jójárt, T. A. Martinek // *J. Comput. Chem.* — 2007. — Vol. 28, N 12. — P. 2051-2058.
467. Müller T.J. Determining the local shear viscosity of a lipid bilayer system by reverse non-equilibrium molecular dynamics simulations / T. J. Müller, F. Müller-Plathe // *ChemPhysChem.* — 2009. — Vol. 10, N 13. — P. 2305-2315.
468. A direct simulation of EPR slow-motion spectra of spin labelled phospholipids in liquid crystalline bilayers based on a molecular dynamics simulation of the lipid dynamics / P. Hakansson, P. O. Westlund, E. Lindahl,

- O. Edholm // *Phys. Chem. Chem. Phys.* — 2001. — Vol. 3, N 23. — P. 5311-5319.
469. Bemporad D. Computer simulation of small molecule permeation across a lipid bilayer: Dependence on bilayer properties and solute volume, size, and cross-sectional area / D. Bemporad, C. Luttmann, J. W. Essex // *Biophys. J.* — 2004. — Vol. 87, N 1. — P. 1-13.
470. Gaffney B. J. High-frequency, spin-label EPR of nonaxial lipid ordering and motion in cholesterol-containing membranes / B. J. Gaffney, D. Marsh // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* — 1998. — Vol. 95, N 22. — P. 12940-12943.
471. Spin-labeled alkylphospholipids in a dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer: Molecular dynamics simulations / J. Mravljak, J. Konc, M. Hodošček [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* — 2006. — Vol. 110, N 51. — P. 25559-25561.
472. Dalton L. A. Distance estimate of the active center of D- β -hydroxybutyrate dehydrogenase from the membrane surface / L. A. Dalton, J. O. McIntyre, S. Fleischer // *Biochemistry.* — 1987. — Vol. 26, N 8. — P. 2117-2130.
473. A ruler for determining the position of proteins in membranes / R. D. Nielsen, K. Che, M. H. Gelb, B. H. Robinson // *J. Am. Chem. Soc.* — 2005. — Vol. 127, N 17. — P. 6430-6442.
474. Solid-state NMR paramagnetic relaxation enhancement immersion depth studies in phospholipid bilayers / S. Chu, S. Maltsev, A. H. Emwas, G. A. Lorigan // *J. Magnetic Reson.* — 2010. — Vol. 207, N 1. — P. 89-94.
475. Pearson R. H. The molecular structure of lecithin dihydrate. / R. H. Pearson, I. Pascher // *Nature.* — 1979. — Vol. 281, — P. 499-501.
476. Chattopadhyay A. Spectroscopic and ionization properties of N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)-labeled lipids in model membranes / A. Chattopadhyay, E. London // *Biochim. Biophys. Acta - Biomembranes.* — 1988. — Vol. 938, N 1. — P. 24-34.
477. Chattopadhyay A. Depth-dependent solvent relaxation in membranes: Wavelength-selective fluorescence as a membrane dipstick / A. Chattopadhyay, S. Mukherjee // *Langmuir.* — 1999. — Vol. 15, N 6. — P. 2142-2148.
478. Fluorescence of nitrobenzoxadiazole (NBD)-labeled lipids in model membranes is connected not to lipid mobility but to probe location / M. Amaro, H. A. L. Filipe, J. P. Prates Ramalho [et al.] // *Phys. Chem. Chem. Phys.* — 2016. — Vol. 18, N 10. — P. 7042-7054.

479. Effect of hydrogen bonding on the rotational and translational dynamics of a headgroup-bound chromophore in bilayer lipid membranes / A. J. Greiner, H. A. Pillman, R. M. Worden [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* — 2009. — Vol. 113, N 40. — P. 13263-13268.
480. Shrive J. D. A. Influence of structural heterogeneity on the fluorimetric response characteristics of lipid membranes containing nitrobenzoxadiazolyl-dipalmitoyl-phosphatidylethanolamine / J. D. A. Shrive, S. Kanagalingam, U. J. Krull // *Langmuir.* — 1996. — Vol. 12, N 20. — P. 4921-4928.
481. Rapid flip-flop in polyunsaturated (docosahexaenoate) phospholipid membranes / V. T. Armstrong, M. R. Brzustowicz, S. R. Wassall [et al.] // *Archiv. Biochem. Biophys.* — 2003. — Vol. 414, N 1. — P. 74-82.
482. Pucadyil T. J. Organization and dynamics of NBD-labeled lipids in membranes analyzed by fluorescence recovery after photobleaching / T. J. Pucadyil, S. Mukherjee, A. Chattopadhyay // *J. Phys. Chem. B.* — 2007. — Vol. 111, N 8. — P. 1975-1983.
483. Vaish V. Non steroidal anti-inflammatory drugs modulate the physico-chemical properties of plasma membrane in experimental colorectal cancer: a fluorescence spectroscopic study / V. Vaish, S. Sanyal // *Mol. Cell. Biochem.* — 2011. — Vol. 358, N 1. — P. 161-171.
484. On the use of N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)phosphatidylethanolamine in the study of lipid polymorphism / C. D. Stubbs, B. W. Williams, L. T. Boni [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta - Biomembranes.* — 1989. — Vol. 986, N 1. — P. 89-96.
485. Feigenson G. W. Partitioning of a fluorescent phospholipid between fluid bilayers: dependence on host lipid acyl chains / G. W. Feigenson // *Biophys. J.* — 1997. — Vol. 73, N 6. — P. 3112-3121.
486. Posokhov Y. O. Lifetime fluorescence method for determining membrane topology of proteins / Y. O. Posokhov, A. S. Ladokhin // *Anal. Biochem.* — 2006. — Vol. 348, N 1. — P. 87-93.
487. Loura L. M. S. Simple estimation of Forster resonance energy transfer (FRET) orientation factor distribution in membranes / L. M. S. Loura // *Intern. J. Mol. Sci.* — 2012. — Vol. 13, N 11. — P. 15252-15270.
488. 7-Nitrobenz-2-oxa-1,3-diazole-4-yl-labeled phospholipids in lipid membranes: differences in fluorescence behavior / S. Mazères, V. Schram, J. F. Tocanne, A. Lopez // *Biophys. J.* — 1996. — Vol. 71, N 1. — P. 327-335.

489. Dynamics of lipid chain attached fluorophore 7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl (NBD) in negatively charged membranes determined by NMR spectroscopy / D. Huster, P. Müller, K. Arnold, A. Herrmann // *Eur. Biophys. J.* — 2003. — Vol. 32, N 1. — P. 47-54.
490. Effects of fluorescent probe NBD-PC on the structure, dynamics and phase transition of DPPC. A molecular dynamics and differential scanning calorimetry study / L. M. S. Loura, F. Fernandes, A. C. Fernandes, J. P. P. Ramalho // — 2008. — Vol. 1778, N 2. — P. 491-501.
491. Behaviour of NBD-head group labelled phosphatidylethanolamines in POPC bilayers: a molecular dynamics study / H. A. L. Filipe, L. S. Santos, J. P. Prates Ramalho [et al.] // *Phys. Chem. Chem. Phys.* — 2015. — Vol. 17, N 31. — P. 20066-20079.
492. Reversible refolding of the diphtheria toxin T-domain on lipid membranes / A. S. Ladokhin, R. Legmann, R. J. Collier, S. H. White // *Biochemistry.* — 2004. — Vol. 43, N 23. — P. 7451-7458.
493. Chaperoning of insertion of membrane proteins into lipid bilayers by hemifluorinated surfactants: Application to diphtheria toxin / S. S. Palchevskyy, Y. O. Posokhov, B. Olivier [et al.] // *Biochemistry.* — 2006. — Vol. 45, N 8. — P. 2629-2635.
494. Ladokhin A. pH-Triggered conformational switching along the membrane insertion pathway of the diphtheria toxin T-domain / A. Ladokhin // *Toxins.* — 2013. — Vol. 5, N 8. — P. 1362-1380.
495. Bennett M. J. Refined structure of monomelic diphtheria toxin at 2.3 Å resolution / M. J. Bennett, D. Eisenberg // *Protein Science.* — 1994. — Vol. 3, N 9. — P. 1464-1475.
496. Посохов Э. А. Физико-химические аспекты взаимодействия с липидными мембранами и фотоника биологически ориентированных соединений, исследованные методами оптической спектроскопии: дисс. на соиск. уч. степ. докт. хим. наук: спец. 02.00.04 - "физическая химия". Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина / Э. А. Посохов: — Харьков. — 2014, — С. 370.
497. Kinetic intermediate reveals staggered pH-dependent transitions along the membrane insertion pathway of the diphtheria toxin T-domain / A. Kyrichenko, Y. O. Posokhov, M. V. Rodnin, A. S. Ladokhin // *Biochemistry.* — 2009. — Vol. 48, N 32. — P. 7584-7594.

498. Mechanism of membrane perturbation by the HIV-1 gp41 membrane-proximal external region and its modulation by cholesterol / A. Ivankin, B. Apellaniz, D. Gidalevitz, J. L. Nieva // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2012. — Vol. 1818, N 11. — P. 2521-2528.
499. Burstein E. A. Fluorescence and the location of tryptophan residues in protein molecules / E. A. Burstein, N. S. Vedenkina, M. N. Ivkova // *Photochem. Photobiol.* — 1973. — Vol. 18, — P. 263-279.
500. Reshetnyak Y. K. Decomposition of protein tryptophan fluorescence spectra into log-normal components. II. The statistical proof of discreteness of tryptophan classes in proteins / Y. K. Reshetnyak, E. A. Burstein // *Biophys. J.* — 2001. — Vol. 81, — P. 1710-1734.
501. Reshetnyak Y. K. Decomposition of protein tryptophan fluorescence spectra into log-normal components. III. Correlation between fluorescence and microenvironment parameters of individual tryptophan residues / Y. K. Reshetnyak, Y. Koshevnik, E. A. Burstein // *Biophys. J.* — 2001. — Vol. 81, — P. 1735-1758.
502. Wimley W. C. Experimentally determined hydrophobicity scale for proteins at membrane interfaces / W. C. Wimley, S. H. White // *Nature Struct. Biol.* — 1996. — Vol. 3, N 10. — P. 842-848.
503. White S. H. Membrane protein folding and stability: Physical principles / S. H. White, W. C. Wimley // *Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* — 1999. — Vol. 28, N 1. — P. 319-365.
504. Krauson A. J. Gain-of-function analogues of the pore-forming peptide melittin selected by orthogonal high-throughput screening / A. J. Krauson, J. He, W. C. Wimley // *J. Am. Chem. Soc.* — 2012. — Vol. 134, N 30. — P. 12732-12741.
505. MacKerell A. D. Development and current status of the CHARMM force field for nucleic acids / A. D. MacKerell, N. Banavali, N. Foloppe // *Biopolymers.* — 2001. — Vol. 56, N 4. — P. 257-265.