

ОСИНА ИРИНА ОЛЕГОВНА

**ФОТОНИКА ВЫСОКОВОЗБУЖДЕННЫХ СИНГЛЕТНЫХ
СОСТОЯНИЙ КОМПЛЕКСОВ ТРИПТОФАНА С ИОНАМИ UO_2^{2+} и Eu^{3+}**

02.00.04 – Физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук



Уфа – 2008

Работа выполнена в Институте органической химии Уфимского научного центра РАН.

Научный руководитель: кандидат химических наук,
старший научный сотрудник
Остахов Сергей Станиславович

Официальные оппоненты: доктор химических наук,
профессор
Фурлей Иван Иванович

доктор химических наук,
профессор
Герчиков Анатолий Яковлевич

Ведущая организация: **Институт физики молекул и кристаллов
УНЦ РАН**

Защита состоится "6" февраля 2009 г. в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 002.004.01 в Институте органической химии УНЦ РАН по адресу: 450054, Башкортостан, г. Уфа, проспект Октября, 71, зал заседаний.

Факс: (347) 235 60 66. E-mail: chemorg@anrb.ru

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Уфимского научного центра РАН.

Автореферат разослан "26" декабря 2008 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор химических наук, профессор



Ф.А. Валеев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Процессы фотоиндуцированного переноса электрона (ФПЭ) и энергии (излучательные и безызлучательные переходы) самые распространенные в природе элементарные акты. Естественно, что изучение условий, закономерностей и механизмов этих явлений давно привлекает внимание многих исследователей и приобретает особую актуальность при изучении фотоники одного из основных хромофоров, определяющего фотохимические реакции белков, незаменимой аминокислоты - триптофана (Trp).

Триптофан - одно из первых органических соединений, для которого было установлено нарушение закона Вавилова о независимости квантового выхода флюоресценции (ФЛ) от частоты возбуждающего света, которое объяснялось конкуренцией сверхбыстрых (не менее 10^{12} c^{-1}) процессов безызлучательной дезактивации и ФПЭ, протекающих в высоковозбужденных синглетных S_n ($n > 1$)-состояниях аминокислоты. Количественные данные о временах жизни высших S_n -состояний стали получать лишь в последние десятилетия. О том, насколько эти исследования актуальны, свидетельствует присуждение нобелевской премии по химии в 1999 г. одному из создателей фемтохимии А. Зевайлу. Однако качественную картину процессов, протекающих в S_n -состояниях можно получить, используя косвенные методы и в первую очередь флюоресценцию.

В то же время, широким многообразием отличается фотоника координационных соединений. Довольно часто оказывается возможным активировать только лиганд, или центральный ион, которые при этом могут изменять свои окислительно-восстановительные свойства. Если лиганд и ион металла обладают флюоресценцией, то это позволяет изучать дезактивационные процессы, обусловленные внутрикомплексным фотоиндуцированным переносом электрона, в условиях их избирательного возбуждения, в том числе и в высших синглетных S_n -состояниях. Этим требованиям удовлетворяют комплексы ярко люминесцирующих уранил-иона и триптофана, фотоника которых в условиях их селективного фотовозбуждения ранее не исследовалась.

Настоящая работа является частью исследований, проводимых в ИОХ УНЦ РАН по темам: «Хемилюминесценция ионов 4f- и 5f- элементов в конденсированной фазе», «Химия возбужденных состояний молекул и комплексов металлов и реакции, сопровождающиеся излучением света» (номера государственной регистрации № 0120.0601534, 0120.0801445) при финансовой поддержке РФФИ (грант № 05-03-32285-а), гранта Президента РФ для поддержки молодых ученых и ведущих научных школ (НШ-5486.2006.3), Федерального агентства по науке и инновациям (госконтракт № 02.513.12.0050).

Цель работы. Исследование сверхбыстрых фотохимических и фотофизических процессов, протекающих в высших возбужденных синглетных S_n -состояниях триптофана в комплексах с Eu (III) и уранил-ионом.

Научная новизна и практическая значимость.

Обнаружен новый механизм фотоокисления триптофана сенсibilизированного уранил-ионом, который протекает по цепной реакции катион-радикалов $\text{Trp}^{\dot{+}}$ с кислородом.

Обнаружена “аномальная” $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ триптофана в водно-этанольных растворах в результате перехода со второго синглетно-возбужденного уровня на основной.

Впервые обнаружено нарушение закона Вавилова для $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ триптофана в водно-этанольных растворах. Показано, что зависимость квантового выхода $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ Trp от частоты возбуждающего света обусловлена конкуренцией фотоиндуцированного переноса электрона в “горячих” колебательных состояниях S_2 -уровня аминокислоты с деградацией энергии электронного возбуждения.

Показано, что “аномальная” $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ триптофана определяется процессами структурообразования водно-этанольных растворов.

Понимание механизмов фотоиндуцированного переноса электрона и энергии практически значимо при исследовании структуры и динамики белковых молекул, аминокислотным остатком которых является ярко люминесцирующее производное индола – триптофан.

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались на: XXII Всероссийской школе-симпозиуме молодых ученых по химической кинетике (Москва, 2005), The 14th International Conference on Luminescence (Beijing, China, 2005), Всероссийском симпозиуме “Эффекты среды и процессы комплексообразования в растворах” (Красноярск, 2006), Конференции “Радиохимия - 2006” (Дубна, 2006), The A.N.Terenin Memorial Symposium on Molecular Photonics (St. Petersburg, 2006), The XXXVIIth International Conference on Coordination Chemistry (Cape Town, South Africa, 2006), XVIII, XIX, XX Всероссийских симпозиумах “Современная химическая физика” (Сочи, 2006, 2007, 2008), VII Voevodsky Conference “Physics and Chemistry of Elementary Chemical Processes” (Chernogolovka, 2007), “Всероссийской школы-конференции для студентов, аспирантов и молодых ученых “Фундаментальная математика и ее приложения в естествознании”. Секция химия (Уфа, 2007, 2008), X, XI молодежных конференциях по органической химии (Уфа, 2007; Екатеринбург, 2008), The 15th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence (Shanghai, China, 2008), The 2nd international workshop on advanced spectroscopy and optical materials (Gdansk, Poland, 2008).

Результаты работы неоднократно отмечались различными премиями и стипендиями: лауреат конкурса работ молодых ученых ИОХ УНЦ РАН (2005, 2006, 2007), лауреат конкурса работ “Всероссийской школы-конференции для студентов, аспирантов и молодых ученых “Фундаментальная математика и ее приложения в естествознании” Секция химия (2007, 2008), Certificate of the International Conference “Molecular and Nanoscale Systems for Energy Conversion” (МЕС-2007), победитель конкурса докладов молодых ученых X Всероссийской конференции по Органической химии (2007), грант РФФИ для участия молодых российских ученых в научных мероприятиях, проводимых за рубежом № 08-03-09262-з, стипендия “Фонда содействия отечественной науке” (Лучшие аспиранты РАН - 2008).

Публикации. Основные научные результаты диссертации опубликованы в 7 статьях в ведущих рецензируемых научных журналах, 3 статьях в сборниках статей по материалам конференций, а также тезисах 23 докладов.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, литературного обзора (глава 1 - 3), экспериментальной части (глава 4), обсуждения результатов (главы 5 - 6), выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 143 страницах текста, включает 52 рисунка и 10 таблиц. Список литературы содержит 174 наименования.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Фотоиндуцированный перенос электрона в комплексах триптофана с уранилом

Фотоника координационных соединений, сформировавшаяся в отдельную область фотохимии, отличается широким многообразием. Довольно часто в зависимости от длины волны возбуждения удается активировать только лиганд, или центральный атом, которые при этом могут изменять свои редокс-свойства.

$$\Delta G = E_{(\text{Trp}^+/\text{Trp})} - E_{(\text{UO}_2^{2+}/\text{UO}_2^+)} \begin{cases} -E_{(\text{UO}_2^{2+})} = -1.57 \text{ эВ} \\ 2.64 \text{ эВ} \\ -E_{(\text{Trp}^*)} = -2.83 \text{ эВ} \\ 3.9 \text{ эВ} \end{cases}$$

1.13 эВ 0.06 эВ

В результате возможно образование комплексов переноса заряда с лиганда на металл либо с металла на лиганд. Если центральный ион металла и лиганд способны люминесцировать, то возможно исследование дезактивационных процессов, которые обусловлены внутрикомплексным ФПЭ в условиях их избирательного возбуждения.

Этим условиям удовлетворяют, образующие устойчивые комплексы и ярко люминесцирующие триптофан и уранил-ион, спектры поглощения которых не перекрываются (рис. 1, 2), что позволяет провести их избирательное фотовозбуждение.

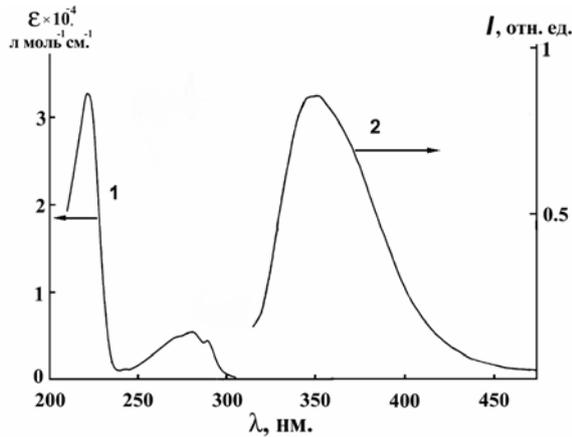


Рис. 1. Спектры поглощения (1) и ФЛ (2) триптофана ($[\text{Trp}] = 10^{-4} \text{ M}$, 0.01 M HClO_4 , $\lambda_{\text{возб.}} = 230 \text{ нм}$, 298 K).

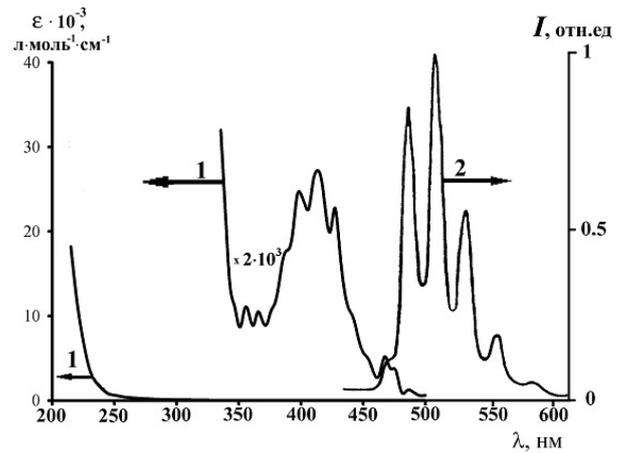


Рис. 2. Спектры поглощения (1) и ФЛ (2) $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($[\text{UO}_2^{2+}] = 10^{-2} \text{ M}$, 0.01 M HClO_4 , $\lambda_{\text{возб.}} = 360 \text{ нм}$, 298 K).

Влияние анионов SO_4^{2-} , NO_3^- и температуры на тушение ФЛ UO_2^{2+} и Trp при их селективном фотовозбуждении

Уменьшение интенсивности (I_0/I) ФЛ при селективном возбуждении акцептора или донора электрона ($\text{UO}_2^{2+}/\text{Trp}$) от концентрации тушителя $[\text{Q}]$ – триптофана/уранила описывается уравнением Штерна-Фольмера $I_0/I - 1 = K[\text{Q}]$, где K – константа тушения.

На статический характер тушения ФЛ $\text{UO}_2^{2+}/\text{Trp}$ по механизму внутри-комплексного ФПЭ указывает неизменность времени жизни уранил-иона в возбужденном состоянии, а также отсутствие сенсibilизированного свечения UO_2^{2+} , несмотря на перекрывание спектров ФЛ аминокислоты (рис. 1) и поглощения уранила (рис. 2). Таким образом, константа тушения Штерна-Фольмера представляет собой эффективную константу образования комплекса $[\text{UO}_2^{2+} \cdots \text{Trp}]$, которая включает в себя константу устойчивости ($K_{\text{уст}}$) и константу скорости переноса электрона ($k_{\text{пэ}}$): $K \sim K_{\text{уст}} \cdot k_{\text{пэ}}$.

Из сравнительного анализа данных, приведенных в табл. 1 и 2 следует, несмотря на то, что при селективном фотовозбуждении в комплексе $[\text{UO}_2^{2+} \cdots \text{Trp}]$ наблюдается один и тот же процесс ФПЭ с триптофана на UO_2^{2+} с образованием катион-радикала $\text{Trp}^{\dot{+}}$ и ураноил-иона, способ возбуждения -

лиганд Trp или центральный ион металла UO_2^{2+} - существенным образом влияет на перенос заряда.

Таблица 1. Влияние анионов и температуры на константу тушения

ФЛ UO_2^{2+} (10^{-2} M) триптофаном ($\lambda_{\text{возб.}} = 415$ нм, 0.01 M $HClO_4$).

T, K	$K(NO_3^-), M^{-1}$	$K(SO_4^{2-}), M^{-1}$
300	3400 ± 300	13200 ± 1300
330	400 ± 40	2400 ± 200

Таблица 2. Влияние анионов и температуры на константу тушения ФЛ

Trp (10^{-4} M) уранил-ионом ($\lambda_{\text{возб.}} = 280$ нм, 0.01 M $HClO_4$).

T, K	$K(NO_3^-), M^{-1}$	$K(SO_4^{2-}), M^{-1}$
295	430 ± 40	370 ± 40
330	590 ± 60	450 ± 40

При избирательном возбуждении UO_2^{2+} (табл. 1) высокая эффективность тушения уранил-сульфата по сравнению с нитратом, может быть объяснена разницей окислительно-восстановительных потенциалов, а значительное уменьшение констант тушения при нагреве, учитывая экзотермичность процесса комплексообразования, понижением устойчивости комплексов и, как следствие, вероятности фотоиндуцированного переноса электрона.

Напротив, тушение ФЛ Trp уранил-ионом (табл. 2) протекает эффективнее не в сульфатных, а в его нитратных комплексах. Константа устойчивости комплексообразования UO_2^{2+} с сульфат-ионом в 300 раз выше, чем с анионом NO_3^- и различия в константах тушения определяется, вероятно, конкуренцией между Trp и анионами за вхождение в координационную сферу уранил-иона. Противоположно также и влияние температуры на внутрикомплексное тушение ФЛ Trp уранил-ионом от процессов протекающих при селективном возбуждении UO_2^{2+} . Увеличение констант тушения при нагреве (табл. 2), по-видимому, может быть объяснено, в соответствии с известными литературными данными

по температурной зависимости квантового выхода фотоионизации Тгр, ростом константы скорости переноса электрона $k_{пэ}$ с Тгр на уранил-ион.

Таким образом, способ возбуждения, триптофан или уранил-ион, существенным образом влияет на тушение их ФЛ, протекающее по механизму внутри-комплексного фотоиндуцированного переноса электрона.

Влияние растворителя на тушение ФЛ UO_2^{2+} и Тгр при их селективном фотовозбуждении. Дуализм природы возбужденного уранила

Известно, что устойчивость координационных соединений уменьшается с ростом диэлектрической проницаемости (ϵ) растворителей, поскольку равновесие определяется конкуренцией процессов сольватации и комплексообразования. Ожидаемо, что следствием перехода от H_2O ($\epsilon = 78.3$) к менее полярному метанолу ($\epsilon = 32.63$) будет увеличение констант внутрикомплексного тушения ФЛ как UO_2^{2+} триптофаном, так и Тгр уранил-нитратом.

Тушение ФЛ Тгр и UO_2^{2+} при избирательном фотовозбуждении в H_2O и CH_3OH удовлетворительно описывается уравнением Штерна-Фольмера. Однако влияние растворителя противоположное (табл. 3).

Таблица 3. Константы тушения ФЛ уранил-иона ($\lambda_{возб.} = 415$ нм) и Тгр ($\lambda_{возб.} = 280$ нм) в H_2O и метаноле ($T = 300$ К).

Реакция	K, M^{-1}	
	H_2O	CH_3OH
$Trp^* + UO_2^{2+} \rightarrow UO_2^+ + Trp^{\bullet+}$	430 ± 40	1000 ± 100
$^*UO_2^{2+} + Trp \rightarrow UO_2^+ + Trp^{\bullet+}$	3400 ± 300	150 ± 15

Константа тушения ФЛ Тгр уранил-ионом, как и ожидалось, вдвое больше в метаноле, чем в воде, что объясняется влиянием полярности растворителя на устойчивость комплексов $[UO_2^{2+} \cdots Trp]$. Напротив тушение ФЛ UO_2^{2+} триптофаном протекает с большей эффективностью в воде, нежели в метаноле ($K(H_2O)/K(CH_3OH) = 23$). Можно предположить, что отмеченные различия обу-

словлены двойственностью реакционной способности уранил-иона в электронно-возбужденном состоянии.

В воде наблюдается только внутрикмплексный ФПЭ от Trp в экваториальной области уранила, в то время как в метаноле конкурирующий с ним межмолекулярный перенос протона от растворителя на «иловый» атом кислорода (рис. 3).

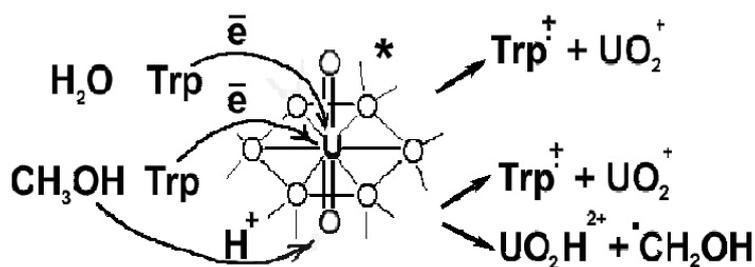
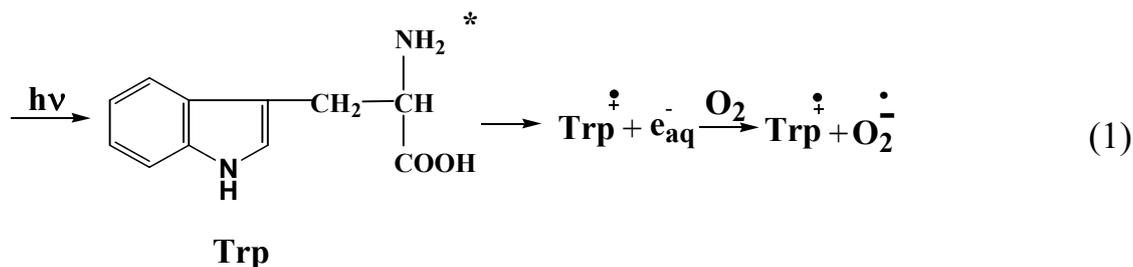


Рис. 3.

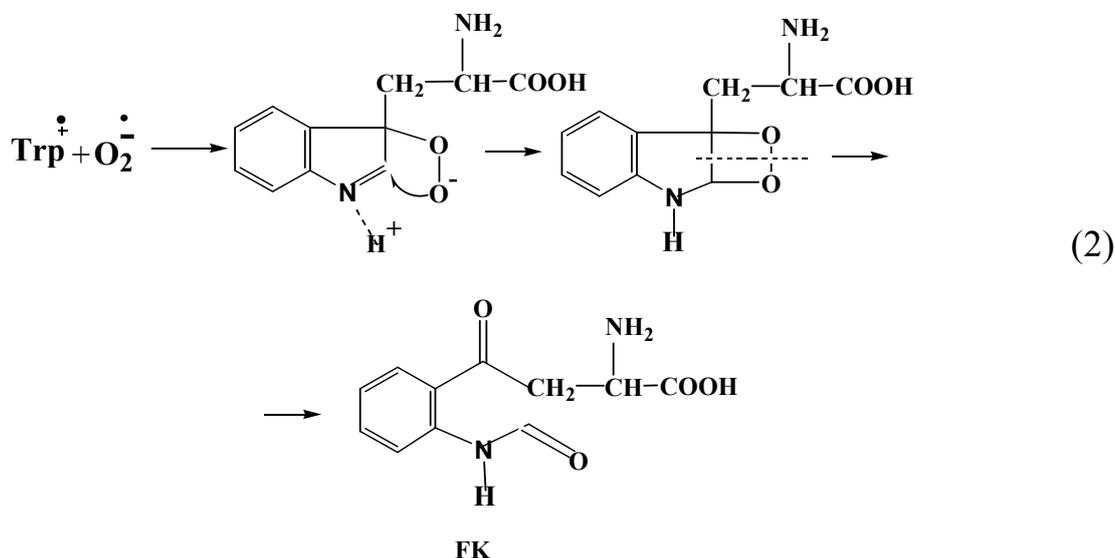
Следует отметить, что организовать конкуренцию этих двух каналов, иллюстрирующую дуализм в реакционной способности фотовозбужденного уранила, удается не часто.

2. Фотосенсибилизированное ионами UO_2^{2+} окисление триптофана

Фотоокислению триптофана уделяли много внимания, поскольку, наряду с другими ароматическими аминокислотами - тирозином и фенилаланином, а также цистином он является основным хромофором, определяющим фотохимические реакции белков. Общепринятый механизм ион-радикального фотоокисления Trp: образование при фотолизе катион-радикала $Trp^{\dot{+}}$ и гидратированного электрона (e_{aq}^-) с последующим его переносом на кислород и образованием супероксид-иона $O_2^{\dot{-}}$ (реакция 1).



При взаимодействии $O_2^{\bullet -}$ с $Trp^{\bullet +}$ через промежуточный диоксетан (D) образуется N-формилкинуренин (FK) (реакция 2), который гидролизуется до кинуренина (K).



Продукты фотоокисления триптофана - FK и K обладают интенсивной ФЛ (рис. 4). Помимо сдвигов в спектрах ФЛ и возбуждения, которые указывают на то, что продукты окисления остаются в координационной сфере уранила, было отмечено увеличение скорости фотоокисления.

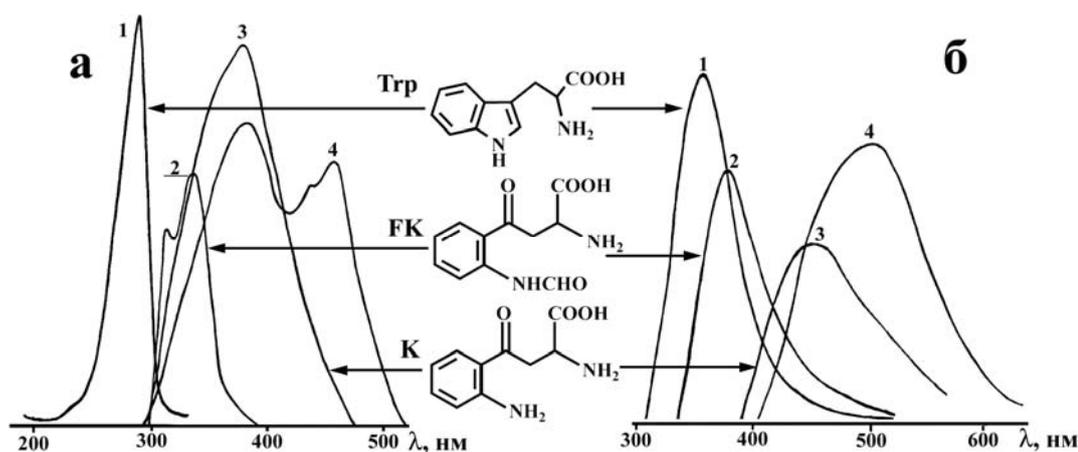
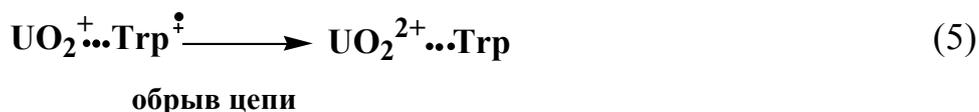
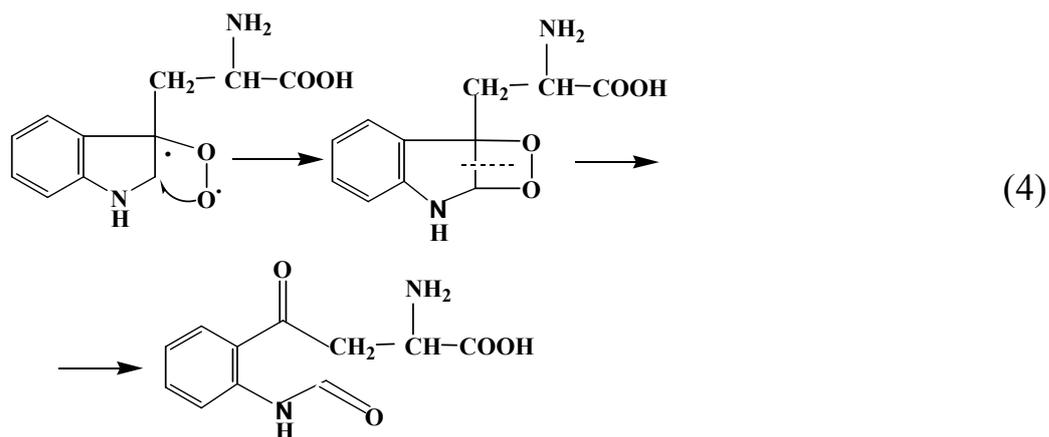
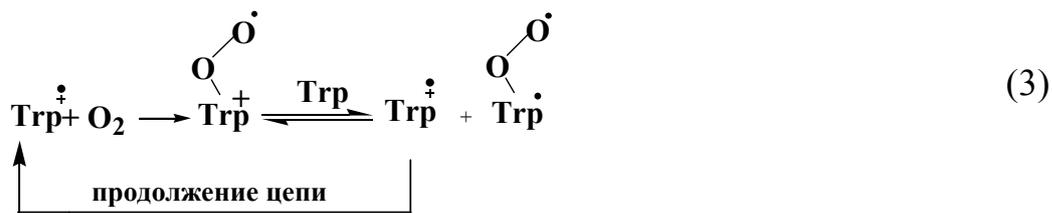


Рис. 4. Спектры возбуждения (а) и ФЛ (б) после 10 мин фотолиза ($\lambda > 340$ нм) раствора $[UO_2^{2+}] = 10^{-2}$ М и $[Trp] = 10^{-2}$ М: 1 - Trp ($\lambda_{изл.} = 350$ нм, $\lambda_{возб.} = 290$ нм); 2 - FK ($\lambda_{изл.} = 380$ нм, $\lambda_{возб.} = 320$ нм); 3 - K ($\lambda_{изл.} = 455$ нм, $\lambda_{возб.} = 360$ нм); 4 - неидентифицированный продукт фотоокисления Trp ($\lambda_{изл.} = 500$ нм, $\lambda_{возб.} = 440$ нм) (0.01 М $HClO_4$, 298 К).

При избирательном возбуждении UO_2^{2+} , квантовый выход фотоокисления триптофана равен 25, что указывает на протекание цепных процессов.



Катион-радикал $\text{Trp}^{\cdot+}$ присоединяет кислород, образуя катион-пероксирадикал $\text{TrpO}_2^{\cdot+}$ (реакция 3). Перокси-бирадикал TrpO_2 возникает в реакции $\text{TrpO}_2^{\cdot+}$ с Trp (реакция 3) и при этом образуется новый катион-радикал $\text{Trp}^{\cdot+}$ (продолжение цепи). Перокси-бирадикал TrpO_2 циклизуется в диоксетан D, распад которого приводит к образованию N-формилкинуренина (реакция 4). Длина цепи, в новом механизме фотоокисления триптофана достигает 25 актов на один поглощенный фотон и это заставляет по-новому взглянуть на процессы фотодеструкции белков, в частности приводящих к такому распространенному заболеванию как катаракта.

Таким образом, в зависимости от того какой из двух компонент в комплексах триптофана с уранил-ионом поглощает свет, меняется механизм фотохимического превращения.

3. Конкуренция ФПЭ с высших синглетных и колебательно-вращательных уровней триптофана на UO_2^{2+} с процессами безызлучательной релаксации

Количественные данные о процессах в высших $S_n (n > 1)$ -синглетных состояниях стали получать лишь в последние десятилетия с развитием фемтосекундной техники. Однако качественную картину можно получить, используя и традиционные спектрально-люминесцентные методы. Нарушение для ряда органических молекул закона Вавилова: обнаружение аномальной ФЛ азулена при переходе с синглетного S_2 -уровня на основной и зависимость квантового выхода (ϕ) ФЛ Trp от длины волны возбуждающего света, вследствие конкуренции ФПЭ с S_2 -уровня с внутренней $S_2 \rightarrow S_1$ конверсией (рис. 5), изменили представления о роли S_n -состояний в фотохимии и фотофизике.

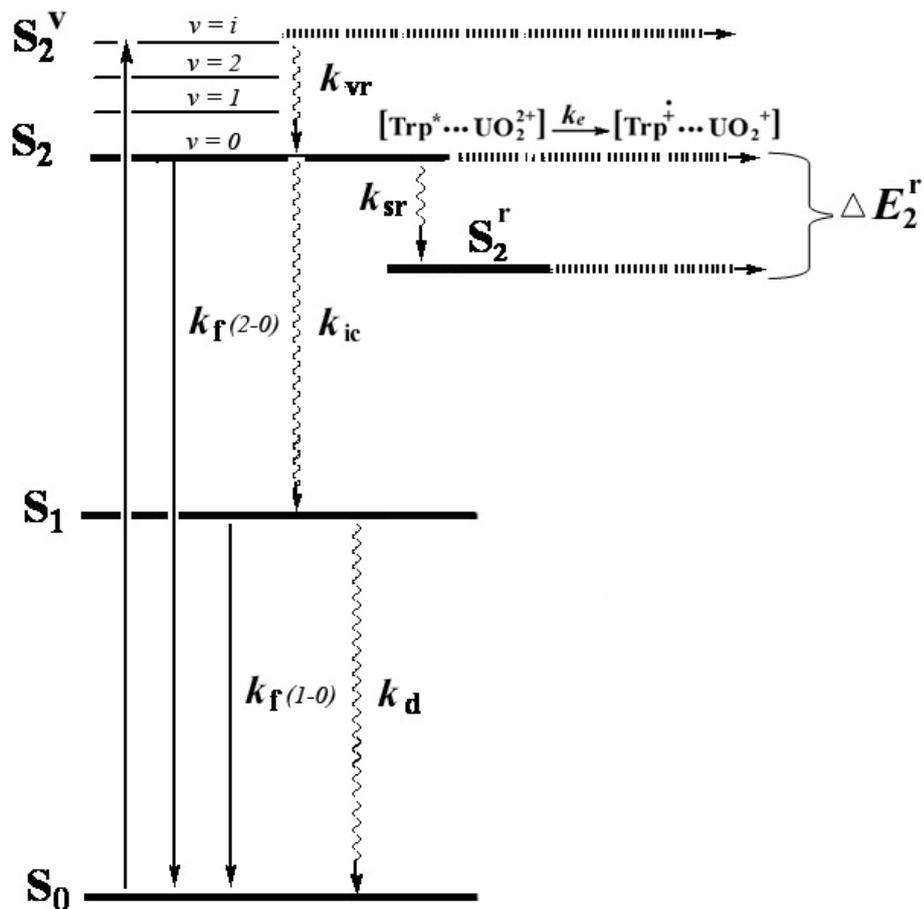


Рис. 5. Схема уровней энергии. $S_n \rightarrow S_{n-1}$ - внутренняя, $S_2^{v(i)} \rightarrow S_2^{v(i-1)}$ - колебательно-вращательная и $S_n \rightarrow S_n^r$ - сольватационная релаксация. Константы скорости: k_f - излучательной; k_d - безызлучательной дезактивации, k_{vr} - колебательно вращательной, k_{ic} - внутренней, k_{sr} - сольватационной релаксации.

Можно было предположить, что зависимость константы внутрикомплексного тушения ФЛ Трп уранил-ионом от частоты возбуждающего света, подобно квантовому выходу ФЛ Трп [Steen H.B. //J. Chem. Phys. 1974. - V. 61. - № 10. - P. 3997-4002], также будет иметь пороговый характер с резким изменением в области S_2 -уровня триптофана (260 – 240 нм). Однако константа тушения ФЛ Трп увеличивается монотонно в интервале длин волн 280 – 230 нм от 430 M^{-1} до 6500 M^{-1} при фотовосстановлении уранил-нитрата и от 370 M^{-1} до 2700 M^{-1} уранил-сульфата триптофаном (рис. 6).

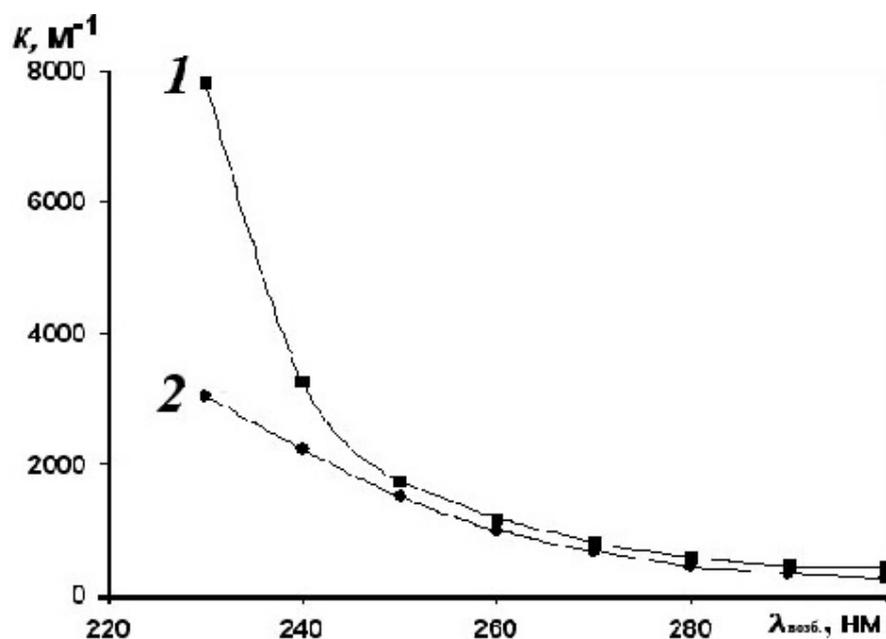


Рис. 6. Зависимость K ФЛ Трп от $\lambda_{\text{возб.}}$:
1- уранил-нитратом;
2- уранил-сульфатом
(333 К, 0.01 М HClO_4).

Монотонный рост константы тушения ФЛ Трп уранил-ионом с уменьшением $\lambda_{\text{возб.}}$ (рис. 6), свидетельствует о том, что внутрикомплексный ФПЭ с возбужденного в высшие синглетные состояния Трп на уранил-ион конкурирует не только с внутренней $S_2 \rightarrow S_1$ - конверсией, но и с внутримолекулярной колебательной $S_2^{v(i)} \rightarrow S_2^{v(i-1)}$ - релаксацией (рис. 5), которая осуществляется со скоростью $> 10^{12} \text{ c}^{-1}$. Однако эти результаты свидетельствуют только в пользу того, что ФПЭ возможен во всех энергетических состояниях аминокислоты, но не дают ответ на их вероятность. Остается невыясненным - неравновесный S_2 -уровень ($v = 0$) или релаксированное к равновесному сольватационному окружению S_2^{T} – состояние (рис. 5) является наиболее фотохимически активным. Решению этого вопроса посвящена следующая глава.

5. О природе экстремумов на зависимости энергии активации температурного тушения ФЛ триптофана и индола от длины волны возбуждающего света

При условии выполнимости закона Вавилова изменение квантового выхода ФЛ с температурой определяется только константой скорости $S_1 \rightarrow S_0$ безызлучательной дезактивации (k_d) (рис. 5) (излучательная константа скорости (k_f), не зависит от температуры), описывается уравнением

$$1/\varphi - 1 = ke^{-E/RT} + K \quad (6)$$

и энергия активации температурного тушения (E) ФЛ не должна зависеть от длины волны возбуждающего света. Основываясь на этом постулате, ранее не ставился вопрос о влиянии $\lambda_{\text{возб.}}$ на E ФЛ органических молекул.

В то же время если фотоионизация хромофора, осуществляющаяся с S_n -уровней, зависит не только от энергии возбуждающего кванта света, но и от того в каком метастабильном состоянии он находится (S_n или S_n^r -состояние (рис. 5)), то можно ожидать немонотонного изменения энергии активации температурного тушения его флюоресценции.

Было изучено влияние $\lambda_{\text{возб.}}$ на температурное тушение родаминовых красителей, для которых выполняется закон Вавилова, а также триптофана и индола (Ind), для которых было обнаружено его нарушение.

В соответствии с законом Вавилова и нашими предположениями, значения E ФЛ родамина-В в этиленгликоле (29.8 кДж/моль) и родамина-С в H_2O (24.5 кДж/моль) не зависят от частоты возбуждающего света (рис. 7).

Напротив, зависимости E ФЛ Трп в H_2O , CH_3OH , C_2H_5OH и Ind в H_2O , CH_3CN , CH_3OH от $\lambda_{\text{возб.}}$ представляют собой кривые с экстремумами. На рисунке 8, приведены только зависимости от длины волны возбуждающего света E ФЛ Трп в C_2H_5OH и Ind в H_2O , CH_3CN , поскольку в других растворителях, отличаясь по величине энергии активации температурного тушения ФЛ, по характеру изменения они идентичны.

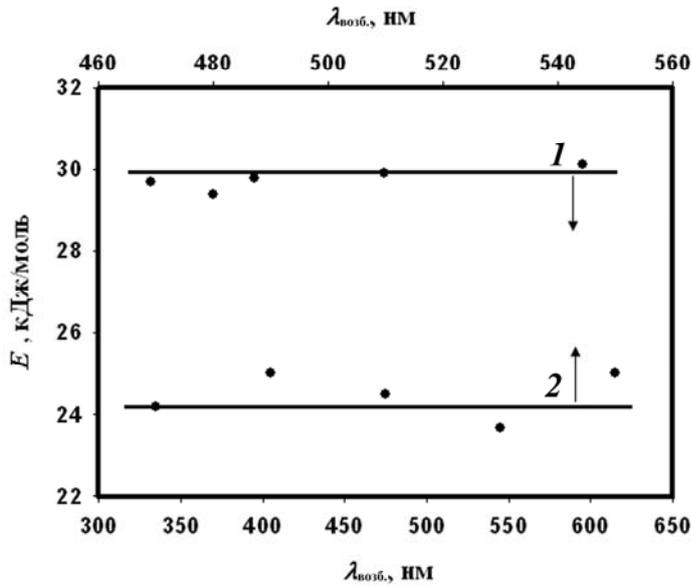


Рис. 7. Зависимость E от $\lambda_{\text{возб.}}$:

1 - родамин-В

(10^{-7} М, этиленгликоль);

2 - родамин-С

(10^{-5} М, H_2O).

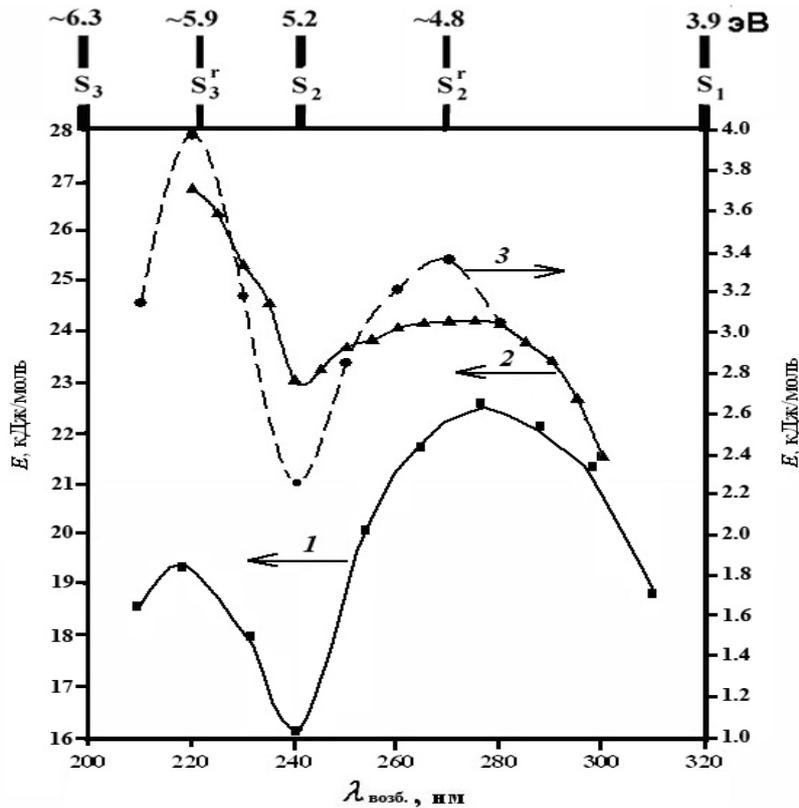


Рис. 8. Зависимости E от

$\lambda_{\text{возб.}}$: ФЛ Trp в $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ –

(1); Ind в H_2O – (2) и CH_3CN

– (3)

($c(\text{Ind}) = 10^{-5}$ М,

$c(\text{Trp}) = 10^{-5}$ М).

На зависимостях, представленных на рис. 8 минимумы при 240 нм (~ 5.2 эВ) совпадают с известными из литературы нерелаксированными S_2 -уровнями Trp и Ind, а максимумы в области 265 - 270 нм (~ 4.8 эВ) были отнесены к их S_2^r -состоянию с равновесным сольватационным окружением (рис. 5). На зависимостях $E - \lambda_{\text{возб.}}$ наблюдается второй коротковолновый максимум ~ 5.9 эВ, который логично отнести к сольватационно-релаксированному S_3^r -состоянию. “Энергетическая щель” между $S_3 - S_3^r$ - и $S_2 - S_2^r$ -уровнями (рис. 8), составляет

~ 0.4 эВ. В литературе энергия предварительной термически активированной реорганизации среды в реакциях ФПЭ в S_1 -состояниях в полярных растворителях ($\epsilon > 15$) оценивается $\Delta E \sim 0.3 - 0.5$ эВ.

Таким образом, исследование влияние частоты возбуждающего света на тушение ФЛ молекул с температурой может быть использовано в качестве метода, позволяющего “сканировать” их высоковозбужденные состояния.

6. “Аномальная” $S_2 \rightarrow S_0$ -флюоресценция триптофана в водно-этанольных растворах. Нарушение закона Вавилова и правила Каша

При исследовании ФЛ Трп в водно-этанольных растворах наряду со значительным стоксовым сдвигом (рис. 9) было отмечено появление плеча в 90% этаноле (рис. 10), которое отсутствует в абсолютизированном C_2H_5OH и в H_2O (рис. 9). Мы предположили, что в водно-спиртовых растворах триптофана, реализуется возможность излучательного перехода с S_2 -уровня на основной (рис. 5). “Аномальная” $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ Трп наблюдается только в интервале концентраций C_2H_5OH от 95 до 50% , достигает максимального значения в 80% спирте и при содержании H_2O более 50% отсутствует.

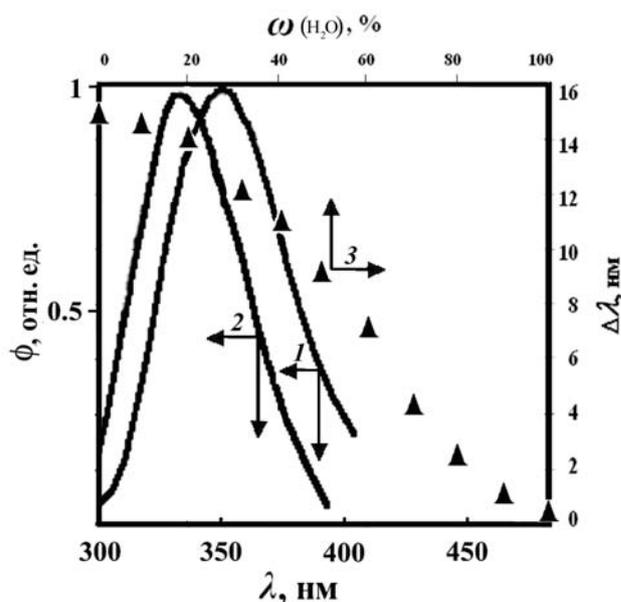


Рис. 9. Спектры ФЛ (1, 2) Трп (10^{-5} М) в H_2O и C_2H_5OH , соответственно ($\lambda_{\text{возб.}} = 220$ нм, 298 К). Зависимость смещения максимума ($\Delta\lambda$) ФЛ Трп (10^{-5} М) от содержания H_2O в C_2H_5OH - (3) ($\lambda_{\text{возб.}} = 280$ нм, 298 К).

Для выделения коротковолновой компоненты использовали тушение ФЛ Трп хлоридом европия. Вследствие значительной разницы во временах жизни S_1 и S_2 синглетных уровней аминокислоты европий тушит только $S_1 \rightarrow S_0$ -ФЛ Трп

(337 нм) и с ростом его концентрации “аномальная” $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ Трп сначала преобразуется в максимум (295 нм), а затем становится основной (рис. 10).

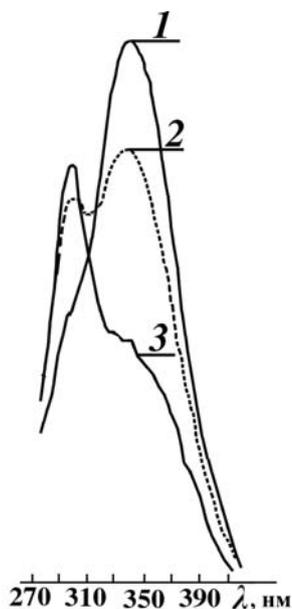


Рис. 10. Спектры ФЛ Трп:

1 – в отсутствии Eu(III);

2 - $c(\text{Eu(III)}) = 10^{-5}$ М;

3 - $c(\text{Eu(III)}) = 6 \cdot 10^{-5}$ М

($\lambda_{\text{возб.}} = 245$ нм, 90% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$,

$c(\text{Trp}) = 10^{-5}$ М, 298 К).

Квантовый выход $\varphi(S_2)$ “аномальной” $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ Трп в водно-этанольных растворах зависит от частоты возбуждающего света (нарушение закона Вавилова для $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ). В диапазоне $\lambda_{\text{возб.}} = 210\text{--}260$ нм происходит перераспределение интенсивностей $S_1 \rightarrow S_0$ (I_{337}) и $S_2 \rightarrow S_0$ (I_{295}) ФЛ триптофана (рис. 11).

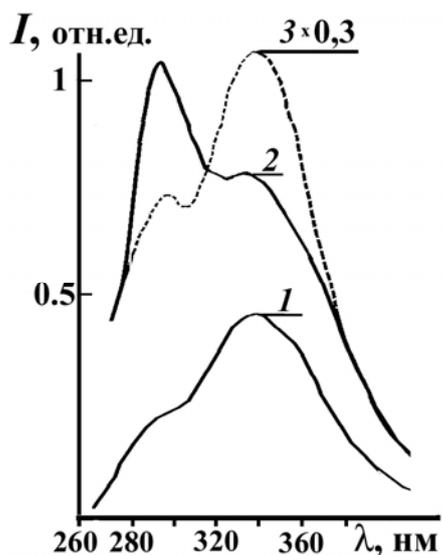


Рис. 11. Спектры ФЛ Трп при $\lambda_{\text{возб.}}$:

1 - 210 нм, 2 - 245 нм, 3 - 260 нм

($c(\text{Trp}) = 10^{-5}$ М,

$c(\text{Eu(III)}) = 6 \cdot 10^{-5}$ М,

90% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, 298 К).

Известно, что европий (III) тушит ФЛ Трп по механизму внутрикомплексного ФПЭ. С другой стороны, как было показано выше, внутрикомплексный ФПЭ с Трп на уранил-ион может конкурировать по скорости не только с внутренней $S_2 \rightarrow S_1$ конверсией, но и с колебательной релаксацией.

Основываясь на этих результатах можно предположить, что зависимость $\varphi(S_2) S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ Трп от $\lambda_{\text{возб.}}$ обусловлена конкуренцией излучательного $S_2 \rightarrow S_0$ перехода с ФПЭ из высоких вибронных состояний S_2 -уровня триптофана и следует ожидать корреляции в изменениях $\varphi(S_2)$ и константы тушения $K S_1 \rightarrow S_0$ ФЛ Трп хлоридом Eu(III) от частоты возбуждающего света.

Действительно, из сравнения зависимостей на рис. 12 следует очевидная корреляция экстремумов отражающая конкуренцию ФПЭ с “аномальной” $S_2 \rightarrow S_0$ ФЛ триптофана. Минимум константы тушения K при 245 нм совпадает с положением неравновесного S_2 -уровня аминокислоты и, в тоже время, с максимумом $\varphi(S_2) S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ ($\varphi(S_2)$ пропорционален $I(295 \text{ нм})/I(337 \text{ нм})$) триптофана. Максимум при 260 нм, который, как было показано выше, соответствует устойчивой конфигурации S_2 -уровня, совпадает с исчезновением $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ триптофана. Рост константы тушения K в интервале $\Delta \lambda_{\text{возб.}} = 245 - 220 \text{ нм}$, на фоне резкого уменьшения $\varphi(S_2)$ ФЛ Трп отражает конкуренцию процессов ФПЭ в “горячих” колебательных состояниях S_2 -уровня аминокислоты и $S_2 \rightarrow S_0$ ФЛ Трп с деградацией энергии электронного возбуждения.

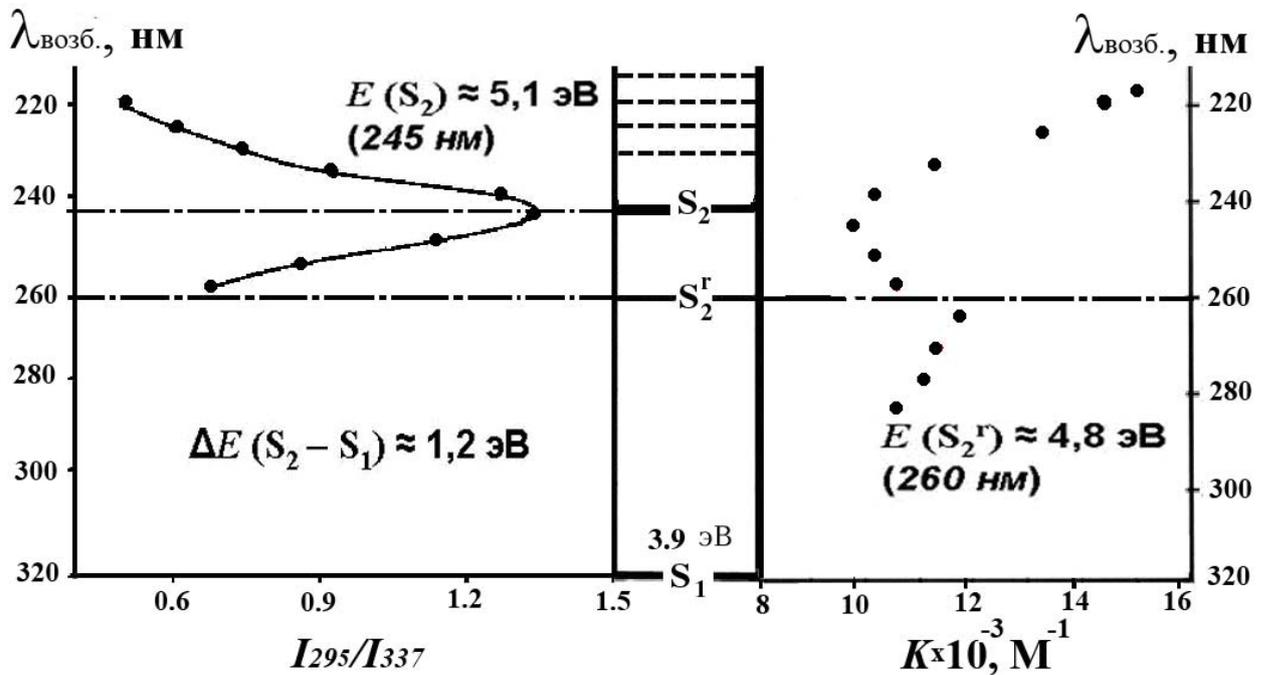


Рис. 12. Зависимости: 1 - $I(295 \text{ нм})/I(337 \text{ нм})$ от $\lambda_{\text{возб.}}$ ($c(\text{Eu(III)}) = 6 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, 90% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$); 2 - константы тушения K ФЛ Трп хлоридом Eu(III) от $\lambda_{\text{возб.}}$ в 95% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ($c(\text{Трп}) = 10^{-5} \text{ М}$, 298 К).

Приведенные результаты являются первым примером, когда фотофизический - “аномальная” $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ Тгр (нарушение правила Каша) и фотохимический - ФПЭ (нарушение закона Вавилова для $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ) процессы осуществляются за времена порядка 10 – 100 фс и конкурируют со сверхбыстрыми безызлучательными переходами между высоковозбужденными S_n - синглетными состояниями.

Принято считать, что определяющую роль в реализации $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ играет величина энергетического зазора между синглетными S_2 и S_1 уровнями (рис. 12). Мы предположили, что на вероятность $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ Тгр влияет также и структура его сольватационного окружения. Это предположение нашло неожиданное подтверждение, когда было обнаружено, что квантовый выход $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ Тгр меняется во времени (рис.12). На динамику изменения квантового выхода значительное влияние оказывают ионы Eu(III) , что указывает на их участие в структурообразовании (рис.13).

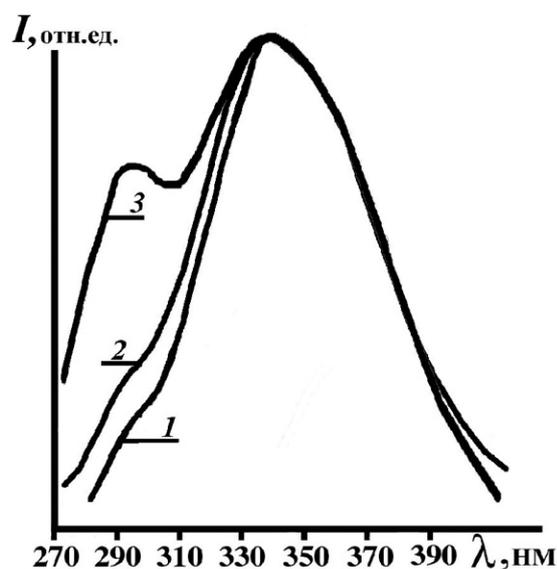


Рис. 12. Спектры ФЛ Тгр (10^{-5} М):
1 – свежеприготовленный раствор;
2 – через два дня;
3 – через 38 дней
(90% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, $\lambda_{\text{возб.}} = 245$ нм, 298 К).

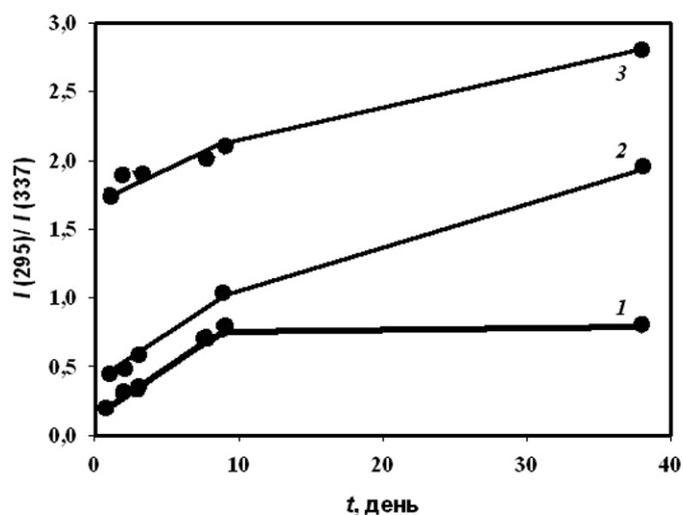


Рис. 13. Зависимость $I(295)/I(337)$ ФЛ Тгр (10^{-5} М) от времени:
1 – в отсутствии $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$;
2 – $c(\text{Eu(III)}) = 10^{-5}$ М;
3 – $c(\text{Eu(III)}) = 6 \cdot 10^{-5}$ М.

Энергии активации температурного тушения $S_1 \rightarrow S_0$ - и $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ триптофана в 80% C_2H_5OH : $E(S_1 \rightarrow S_0) = 34.0 \pm 3$ кДж/моль и $E(S_2 \rightarrow S_0) = 32.5 \pm 3$ кДж/моль, соответственно. Однако изменение квантового выхода $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ Трп с температурой мы связываем не с обратимым фотофизическим процессом, а с разрушением сформировавшихся водно-этанольных структур при нагреве.

Действительно после прогрева раствора при 323 К в течение часа и его охлаждения до 293 К, интенсивность $S_1 \rightarrow S_0$ -ФЛ Трп восстанавливается до первоначальных значений, полученных при той же температуре, а $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ триптофана исчезающе мала (рис. 14).

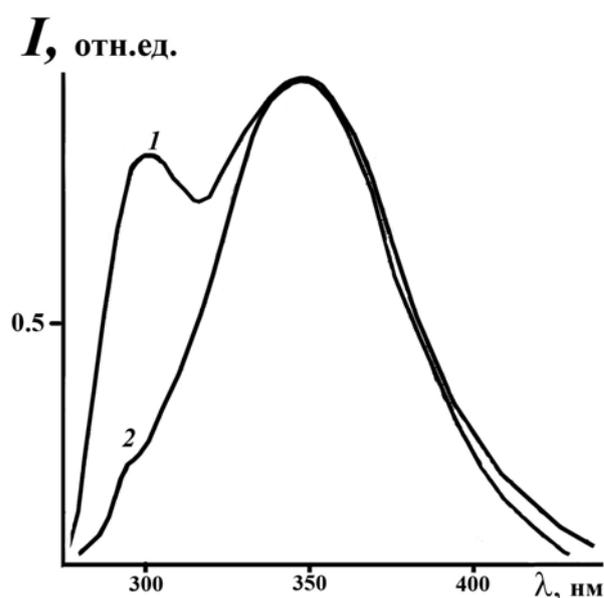


Рис. 14. Спектры ФЛ Трп:

1 – исходный раствор,

2 – после прогрева при 323 К в течение 1 часа.

(293 К, $c(\text{Trp}) = 10^{-5}$ М,

$c(\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}) = 6 \cdot 10^{-4}$ М,

80% C_2H_5OH , $\lambda_{\text{возб.}} = 245$ нм).

Таким образом “аномальная” $S_2 \rightarrow S_0$ -ФЛ триптофана определяется процессами структурообразования водно-этанольных растворов и позволяет в качестве люминесцентного зонда изучать динамику возникновения и разрушения супрамолекулярных ансамблей.

ВЫВОДЫ

1. Обнаружен новый механизм фотоокисления триптофана сенсibilизированного уранил-ионом, который протекает по цепной реакции катион-радикалов триптофана Trp^{\ddagger} с кислородом.
2. Установлено, что внутрикомплексный фотоиндуцированный перенос электрона с триптофана на уранил-ион, возможен не только с высоковозбужденных синглетных S_n ($n > 1$)-уровней, но и с вибронных S_n^v -уровней со скоростью, превышающей скорость колебательно-вращательной и сольватационной релаксации.
3. Обнаружена зависимость энергии активации температурного тушения флюоресценции триптофана в H_2O , CH_3OH , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ и индола в H_2O , CH_3OH , CH_3CN от длины волны возбуждающего света, отражающая вероятность фотоиндуцированного переноса электрона из высоковозбужденных синглетных S_n -состояний хромофоров
4. Установлено нарушение закона Вавилова и правила Каша для флюоресценции триптофана в водно-этанольных растворах. Обнаружена “аномальная” $S_2 \rightarrow S_0$ -флюоресценция триптофана в результате перехода со второго синглетно-возбужденного S_2 -уровня на основной.
5. Впервые обнаружено нарушение закона Вавилова для $S_2 \rightarrow S_0$ -флюоресценции триптофана в водно-этанольных растворах. Показано, что зависимость квантового выхода $S_2 \rightarrow S_0$ -флюоресценции триптофана от длины волны возбуждающего света обусловлена конкуренцией внутрикомплексного фотоиндуцированного переноса электрона в “горячих” колебательных состояниях S_2 -уровня аминокислоты с деградацией энергии электронного возбуждения.
6. Показано, что “аномальная” $S_2 \rightarrow S_0$ -флюоресценция триптофана определяется процессами структурообразования водно-этанольных растворов.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. Казаков В.П., Остахов С.С., Осина И.О., Алябьев А.С., Гайнетдинова С.Г., Ахмадеева Г.Х. Фотоника комплексов UO_2^{2+} с триптофаном. I. Влияние анионов и температуры на внутрикомплексную дезактивацию возбужденных состояний UO_2^{2+} и триптофана // Радиохимия. - 2006. - Т.48. - №5. - С. 399-402.
2. Казаков В.П., Остахов С.С., Осина И.О., Алябьев А.С., Гайнетдинова С.Г., Ахмадеева Г.Х. Фотоника комплексов UO_2^{2+} с триптофаном. II. О конкуренции фотопереноса электрона с высших электронно-возбужденных и колебательно-вращательных уровней триптофана на UO_2^{2+} с процессами безызлучательной релаксации // Радиохимия. - 2006. - Т.48. - №5. - С. 403-405.
3. Казаков В.П., Остахов С.С., Осина И.О., Алябьев А.С., Гайнетдинова С.Г., Ахмадеева Г.Х. Фотоника комплексов UO_2^{2+} с триптофаном. III. Фотокатализированное ионами UO_2^{2+} окисление триптофана // Радиохимия. - 2006. - Т.48. - №5. - С. 406-408.
4. Казаков В.П., Остахов С.С., Алябьев А.С., Осина И.О. Тушение флюоресценции иона уранила адамантилиденадамантаном и продуктами его фотосенсибилизированного окисления // Химия высоких энергий. - 2006. - Т.40. - № 1. - С. 291-294.
5. Остахов С.С., Казаков В.П., Алябьев А.С., Осина И.О. Аномальная $S_2 \rightarrow S_0$ флюоресценция комплексов триптофана с европием (III) в водно-этанольных растворах // ДАН. - 2007. - Т.413. - № 5. - С. 647-650.
6. Остахов С.С., Казаков В.П., Осина И.О. О природе экстремумов на зависимости энергии активации температурного тушения флюоресценции триптофана от длины волны возбуждающего света // ДАН. - 2008. - Т.423. - № 2. - С. 208-211.
7. Остахов С.С., Казаков В.П., Осина И.О. Нарушение закона Вавилова для "аномальной" $S_2 \rightarrow S_0$ флюоресценции триптофана в комплексах с ионом $Eu(III)$ в водно-этанольных растворах // Химия высоких энергий. - 2009. - Т.43. - № 1. - С. 67-68.

8. Osina I.O., Ostakhov S.S., Kazakov V.P. Super-rapid processes from higher excited singlet states of tryptophan. The violation of the Vavilov law // Proceedings of the International Conference “Molecular and Nanoscale Systems for Energy Conversion” (MEC-2007). - Moscow. - Russia. - 2007. - P. 31-36.
9. Осина И.О., Остахов С.С., Казаков В.П. Фотосенсибилизированное уранилием катион-радикальное цепное окисление триптофана // Сборник трудов. “XI Молодежная научная школа-конференция по органической химии”. - Екатеринбург. - Россия. - 2008. - С. 471-473.
10. Kazakov V.P., Ostakhov S.S., Alyab'ev A.S., Osina I.O. Photonics of Complexes of uranyl ion with tryptophan // Abstracts of The A.N.Terenin Memorial Symposium on Molecular Photonics. - St. Peterburg. - Russia. - 2006. - P. 159.
11. Osina I.O., Ostakhov S.S., Kazakov V.P. Anomalous fluorescence from S₂-level of complexes of tryptophan with europium (III) in water-ethanol solution // Book of Abstracts. The Second International Workshop on Advanced Spectroscopy and Optical Materials. - Gdańsk. - Poland. - 2008 - P. 1-P-26.
12. Osina I.O., Ostakhov S.S., Kazakov V.P. Fluorescence from S₂-level of complexes of tryptophan with europium (III) in water-ethanol solution // Abstracts of The 15th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence (15th ISBC), 2008, Shanghai, China. Luminescence. The Journal of Biological and Chemical Luminescence. - 2008. - V.23. - № 2. - P. 87.

Автор выражает глубокую признательность заведующему лабораторией химической физики ИОХ УНЦ РАН чл.-корр. РАН Казакову В.П. за внимание к работе и поддержку.

Соискатель



Осина И.О.