

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр  
Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН)  
Институт физики им. Л.В. Киренского Сибирского отделения Российской  
академии наук – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН (ИФ СО РАН)

На правах рукописи



Томилин Феликс Николаевич

## **ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ НА ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ И МАГНИТНЫЕ СВОЙСТВА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ**

1.3.8. Физика конденсированного состояния

1.3.12. Физика магнитных явлений

Диссертация на соискание учёной степени  
доктора физико-математических наук

Научные консультанты:

д.ф.-м.н., профессор С.Г. Овчинников,

д.ф.-м.н., П.В. Аврамов

Красноярск – 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	<b>5</b>
<b>ГЛАВА 1. КВАНТОВОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ И ПОДХОДЫ</b>	<b>15</b>
§1.1. Первопринципные методы	15
§1.2. Полуэмпирические методы	16
§1.3. Методы молекулярной механики	18
§1.4. Теория функционала плотности	18
§1.5. Расчёт электронных спектров поглощения и потенциальных поверхностей возбуждённых состояний	23
§1.6. Характеристики электронных спектров	26
§1.7. Модель поляризованного континуума и сольватационная модель	27
§1.8. Влияние времени релаксации растворителя на спектры поглощения и люминесценции	30
§1.9. Базисы	31
§1.10. Методология и идеология расчётных методов квантовой химии	33
§1.11. Программное обеспечение и оборудование	35
§1.12. Рекомендуемая литература к данному разделу	36
<b>ГЛАВА 2. ФЛУОРЕСЦЕИНОВЫЕ И ФЛУОРЕНОВЫЕ КРАСИТЕЛИ</b>	<b>38</b>
§2.1. Флуоресцеиновые красители	38
§2.2. Квантовохимические расчёты таутомерных форм флуоресцеина	48
§2.3. Спектральные свойства ионных форм эозина и эритрозина	58
§2.4. Исследование влияния сопряжения в цепи молекул сополифлуорена на спектральные свойства	66
§2.5. Выводы	73
<b>ГЛАВА 3. НАНОСТРУКТУРЫ НА ОСНОВЕ УГЛЕРОДА</b>	<b>76</b>
§3.1. Открытие фуллеренов	76
§3.2. Водорастворимые формы фуллеренов – фуллеренолы	77
§3.3. Водорастворимые окси-полигидрокси фуллерены $C_{60}(OH)_xO_y$	83

§3.4. Расчёт эндодральных комплексов металлофуллеренолов $Gd@C_{82}O_xH_y$	88
§3.5. Анализ электронных структур фуллеренолов	95
§3.6. ИК-спектры $Gd@C_{82}O_x(OH)_y$ и $C_{82}O_x(OH)_y$	99
§3.7. Атомная и электронная структуры валентных изомеров фуллеренолов – фумеролов	101
§3.8. ИК-спектры фумеролов $Gd@C_{82}O_{24}H_{12}$	106
§3.9. Выводы	108
<b>ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ПОВЕДЕНИЯ ЛЕСНЫХ НАСЕКОМЫХ ЧЕРЕЗ КВАНТОВОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОЛЕКУЛ ФЕРОМОНОВ</b>	<b>109</b>
§4.1. Феромоны чешуекрылых и жёсткокрылых насекомых	109
§4.2. Оценка устойчивости феромонов чешуекрылых насекомых к различным факторам среды	118
§4.3. Оценка устойчивости феромонов жёсткокрылых насекомых к факторам среды	131
§4.4. Расчёт путей реакций молекул феромонов в основном и возбуждённом состояниях	138
§4.5. ВЫВОДЫ	143
<b>ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ КВАНТОВОХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ</b>	<b>145</b>
§5.1. Исследование процессов биолюминесценции $Ca^{2+}$ -регулируемого фотопротеина обелина	145
§5.2. Исследование состояния молекулы целентерамида в активном центре фотопротеина обелина	150
§5.3. Моделирование путей химических реакций образования активной формы $Ca^{2+}$ -регулируемого фотопротеина	159
§5.4. Спектральные свойства целентерамида	166
§5.5. Выводы	173

<b>ГЛАВА 6. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОПОЛИМЕРОВ НА ОСНОВЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ</b>	<b>175</b>
§6.1. Аптамеры и их особенности строения	175
§6.2. Аптамер RE-31	181
§6.3. Исследование структурных особенностей арабиногалактана	190
§6.4. Арабиногалактан как конъюгат для аптамера и магнитной наночастицы	195
§6.5. Выводы	201
<b>ГЛАВА 7. ИССЛЕДОВАНИЕ МАГНИТНЫХ МАХ МАТЕРИАЛОВ</b>	<b>203</b>
§7.1. МАХ-материалы вида $M_2AX$	203
§7.2. Гибридные слоистые материалы	214
§7.3. Выводы	224
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b>	<b>227</b>
<b>СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ</b>	<b>231</b>
<b>СПИСОК ЦИТИРОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ</b>	<b>243</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### Общая характеристика работы

Создание новых функциональных материалов с заданными свойствами является приоритетной и важной задачей физики конденсированного состояния. Интерес связан с новыми фундаментальными научными проблемами и физическими явлениями, а также с перспективами создания как оптических устройств, так и устройств электроники и спинтроники. Функциональные материалы обладают широким спектром уникальных оптических и светоизлучающих, магнитных и электрических, химических и биологических свойств. Структура материала определяется составом, условиями получения и, в свою очередь, определяет физико-химические свойства. Фундаментальное исследование атомной и электронной структуры функциональных материалов позволяет разобраться с природой наблюдаемых в них физических явлений, и, на следующем этапе, перейти к созданию материалов с заданными свойствами. В современных условиях, в связи с возросшей производительностью компьютеров, для моделирования свойств имеющихся и новых материалов применяются методы на основе теории функционала плотности. Данные методы позволяют получать, на фундаментальном уровне, информацию об атомной структуре, электронном строении, фотофизических состояниях, химических свойствах и т.д.

В работе исследованы функциональные материалы для оптоэлектроники, биомедицинских и магнитных применений и показано, что применение теории функционала плотности для моделирования структуры и свойств материалов позволяет описывать с хорошей или высокой точностью их основные свойства. Часто новые физические свойства возникают в результате изменения структуры соединений, при этом возможно последовательно рассматривать эффект структуры на различные свойства и предсказывать новое применение уже существующим материалам после соответствующей модификации. Почти всегда интерпретация полученных расчётных данных ведёт к новому пониманию свойств функциональных материалов.

### **Актуальность темы исследования**

«Функциональные материалы» должны иметь конкретные, желательно настраиваемые, физические и химические свойства для того, чтобы находить своё применение в науке и технике. К таким материалам можно отнести композиты, сплавы, гибридные структуры, синтетические, биополимерные соединения, конъюгаты и т.д. При создании веществ с новыми свойствами иногда требуется усиление или, наоборот, подавления каких-либо имеющихся свойств в материале т.е. доработка (улучшение, тюнинг) материала. При этом в последнее время получают широкое распространение так называемые гибридные функциональные материалы – сочетающие в себе свойства других (двух или более) материалов. Для понимания процессов, приводящих к появлению тех или иных свойств материала, надо знать его атомную и электронную структуру, Имея данную информацию возможно ускоренно и целенаправленно менять свойства материала.

Для получения информации о структуре вещества обширно используются такие экспериментальные подходы как дифракционные методы, оптическая спектроскопия, и другие. Несмотря на то, что экспериментальные методы хорошо развиты, обойтись без привлечения теоретических представлений, как правило, не удаётся. Более того, теоретические методы дают возможность «предсказывать» изменение структуры и свойств вещества, при изменении внешних условий или при замещении какого-либо элемента. Определение пространственных структур с помощью дифракционных методов обеспечивает значительный прогресс в понимании механизмов формирования свойств новых функциональных материалов с широким спектром применений в физике химии и биологии, но пространственная структура обеспечивает информацию только о статическом состоянии материала. Основная проблема большинства экспериментальных методов заключается в том, что проводимые исследования атомной и электронной структур не дают прямой информации об объекте, поскольку условия измерения параметров очень часто отличаются от нормальных условий в основном состоянии. Восполнить этот пробел позволяют современные методы и подходы, основанные на теории функционала плотности, которые, в настоящее время, широко

применяются для решения задач подобного уровня. А если говорить об исследованиях возбуждённых состояниях, то применение расчётных методов становится необходимым для понимания сути происходящих процессов. При этом часто бывает так что открываются новые интерпретации и появляются неожиданные сферы применения уже имеющихся материалов только на основе теоретических расчётов.

В работе изучены различные функциональные материалы: это и наноструктуры на основе углерода; органические красители и органические светоизлучающие полимеры; органические молекулы, выступающие в качестве коммуникации насекомых; фотопротеины; биополимеры на основе нуклеиновых кислот; магнитные MAX фазы; плоские структуры, состоящие из биграфена и  $g-C_3N_4$ . Все эти материалы имеют широкое применение в электронике, спинтронике, в магнитных приложениях, в качестве красителей лазеров, OLED, катализе, в экологии, медицине, био- и наносенсорике и т.д.

Работа нацелена на выявлении имеющихся и прогнозировании новых, прежде всего, фотофизических и магнитных свойств посредством изменения структуры функциональных материалов. При исследовании данных материалов приходилось решать разнообразные задачи с помощью методов, основанных на теории функционала плотности.

### **Цель и задачи диссертационной работы**

Целью диссертационной работы является выявление влияния структуры функциональных материалов на оптические, магнитные и физические свойства с помощью метода функционала плотности.

Для достижения поставленной цели ставились следующие задачи:

1. выяснить магнитные и антиоксидантные свойства эндоэдральных комплексов Gd с фуллеренолами на основе  $C_{82}$  при взаимодействии их с активными формами кислорода для применения в медицинских приложениях;
2. разработать теоретико-экспериментальный подход позволяющий расшифровывать сложный контур в оптических спектрах красителей с

- множеством ионных форм в протонных растворителях;
3. выявить влияние замещения в цепи сополифлуорена на оптические свойства для того, чтобы выработать рекомендации для синтеза органических светоизлучающих молекул;
  4. исследовать процесс флуоресценции целентерамида в зависимости от окружения для выработки рекомендаций по созданию фотопротеинов с заданными свойствами;
  5. рассчитать фотофизические характеристики феромонных молекул и провести анализ структурных изменений в возбуждённом состоянии для оценки их устойчивости к излучению с использованием DFT расчётов;
  6. разработать теоретико-экспериментальную методику для получения атомной и электронной структуры биополимеров как первый шаг для разработки новых функциональных терапевтических материалов;
  7. предсказать новые магнитные и физико-химические свойства структур на основе МАХ фаз, биграфена,  $g\text{-C}_3\text{N}_4$  с различными металлами на поверхности и гибридных кристаллов для более глубокого применения данных материалов.

### **Научная новизна**

- ❖ Разработан теоретико-экспериментальный подход позволяющий расшифровать сложный контур в оптических спектрах красителей с множеством возможных ионных форм в протонных растворителях. Для этого подготовлена и апробирована методика расчёта с применением гибридного функционала плотности B3LYP, в комбинации с базисом, учитывающим диффузные и поляризационные функции и моделью континуального растворителя с учётом неравновесной релаксации растворителя.
- ❖ Исследовано влияние структурных особенностей в цепи сополифлуорена на уменьшение ширины щели, что открывает возможности по созданию органических светоизлучающих молекул с заданными оптическими характеристиками.
- ❖ Была предложена методика для анализа антиоксидантных свойств молекул

фуллеренолов. Для этого использовали данные о дипольных моментах, потенциале ионизации и сродства электронов, энергетических данных о граничных молекулярных орбиталях и химических индексов.

- ❖ Была обнаружена и изучена сложная флуоресценция целентерамида состоящая из флуоресценции в ближней УФ-области и сине-зелёной области.
- ❖ Теоретическое исследование атомной и электронной структуры молекул феромонов в основном и возбуждённом состояниях позволило выявить их фотофизических характеристики и оценить устойчивость при различных факторах среды.
- ❖ Разработан подход для получения трёхмерной атомной структуры молекул аптамеров. Данный подход является универсальным для расшифровки данных малоуглового рентгеновского рассеяния синхротронного излучения для малых наночастиц в растворах и позволяет в будущем значительно упростить создание новых функциональных молекул.
- ❖ Предложено усовершенствование имеющихся магнитных МАХ материалов посредством формирования биграфена и  $g-C_3N_4$  с различными металлами на поверхности МАХ фаз.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

- ❖ Информация об антиоксидантных свойствах эндоэдральных комплексов Gd с фуллеренолами на основе  $C_{82}$  позволяет видеть перспективу применения данных соединений наноматериалов в медицине и в практике магнитно-резистивной томографии.
- ❖ Результаты изучения систем с сополимерами показали, что поиск новых улучшенных для практики оптоэлектронных свойств в данных материалах можно успешно моделировать перед синтезом.
- ❖ Универсальный подход для изучения устойчивости молекул феромонов с помощью методов функционала плотности позволяет получить основные физические характеристики молекул и оценить их устойчивость к различным факторам среды.

- ❖ Методика по расчётам фотопротеинов и субстратов к ним, полученная в ходе исследования, может быть востребована для дальнейших работ в этой области. На данный момент не все белки поддаются кристаллизации и расчёты помогают разобраться с природой влияния аминокислотного окружения на свойства эмиттеров, что в свою очередь позволяет, путём замещения аминокислот, создавать новые мутантные формы протеинов с заданными свойствами.
- ❖ Разработан подход для получения молекулярной структуры аптамеров в комбинации малоуглового рентгеновского рассеяния и теоретического моделирования. Данный подход оригинален и технологичен, что открывает большие возможности по широкому применению данной методики для подбора новых функциональных аптамеров под конкретные задачи.
- ❖ Полученные расчёты показали, что гибридные структуры, состоящие из MAX фаз, биграфена и  $g\text{-C}_3\text{N}_4$  и т.д. с различными металлами на поверхности имеют многообещающее применение в спинтронике и сенсорике.

### **Основные научные положения, выносимые на защиту**

1. Эндоэдральные комплексы  $\text{Gd}@C_{82}O_xH_y$  имеют сложную структуру с различными функциональными группами, такими как карбокси-, гидроксид- и кислородных мостиков на углеродном каркасе что подтверждается сопоставлением теоретических и экспериментальных данных. При этом данные комплексы обладают благоприятными антиоксидантными свойствами для биомедицинских применений.
2. Рассчитаны спектры поглощения и испускания материалов для оптоэлектроники на основе флуоресцеина, эозина и эритрозина с помощью теории функционала плотности. В комбинации с экспериментальными данными, развит подход, который позволяет расшифровать сложный контур в спектрах систем с множеством таутомерных форм. Показано, что несмотря на схожий набор ионных и молекулярных форм, спектральные свойства исследованных флуоресцеиновых красителей существенно зависят от типа замещающего галогена, влияющего на хромофорную группу.

3. Влияние пути сопряжения на оптические характеристики сополифлуорена неоднозначно, и зависит от того, какая хромофорная группа включена в цепь. наличие слабополярного растворителя приводит к незначительному батохромному сдвигу спектров поглощения для светоизлучающих сополимеров.
4. Результаты моделирования структурных и электронных свойств таких функциональных молекул как феромонов в основном и возбуждённом состоянии показывают наличие взаимосвязи между структурными характеристиками молекул и механизмами коммуникации насекомых.
5. Построена модель фотофизических процессов фотопротеина обелина на основе расчётов методом функционала плотности. Показано, что экспериментально наблюдаемая длина волны излучения соответствует процессам «с переносом протона» между эмиттером и функциональными группами в активном центре. Показана роль заместителей активного центра на формирование фотофизических свойств. Фотовозбуждение в верхние электронно-возбуждённые для молекулы целентерамида в состоянии на 260–300 нм вызывает дополнительную, к синезелёной, флуоресценцию в ближней УФ-области.
6. Разработан подход для восстановления молекулярной структуры молекул аптамеров в сочетании малоуглового рассеяния рентгеновских лучей и теоретического моделирования. Получена количественная картина связывания конъюгатов аптамера с помощью анализа разложения энергии парного взаимодействия, тем самым, создана основу для целенаправленного синтеза или улучшения имеющейся технологии синтеза конъюгатов аптамеров с магнитными наночастицами.
7. Моделирование магнитных МАХ фаз, с различным уровнем замещения, показывает перспективу их для применения в спинтронике и в медицинских приложениях. В качестве совершенствования данных материалов предлагается использовать гибридные структуры, состоящие из МАХ материалов, биграфена и  $g-C_xN_y$  с различными переходными металлами на поверхности. Уникальная атомная и электронная структура и спиновые свойства нанопоровых двумерных гетероструктур Металл/биграфена и Металл/ $g-C_3N_4$  перспективны для

приложений в спинтронике и в качестве сенсоров.

### **Личный вклад автора**

Все результаты, представленные в диссертации, получены автором, либо при его непосредственном участии. Автор ставил цели и задачи, проводил анализ экспериментальных данных, создавал методики расчётов, строил модели, выполнял расчёты, обеспечивал выполнение задач, предлагал физическую интерпретацию полученных результатов и участвовал в обсуждении результатов. Автор благодарен своим учителям проф. С.Г. Овчинникову и П.В. Аврамову за многолетнее успешное сотрудничество и консультирование на всех этапах подготовки работы.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность данных, полученных в представленной диссертации, обеспечена применением стандартных методов расчётов и базисов волновой функции с использованием стандартных и широко известных программ для квантовохимических расчётов. Результаты, полученные для верификации новых методик, совпадали с известными литературными данными. Все полученные результаты расчётов воспроизводимы и повторяемы.

Основные результаты диссертационной работы представлялись и обсуждались на следующих конференциях, симпозиумах, совещаниях:

- на семинарах, коллоквиумах, открытых лекциях Института физики СО РАН им. Киренского (Красноярск), Сибирского федерального университета, Института катализа СО РАН им. Борескова (Новосибирск), National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (Цукуба, Япония), Института теоретической химии им. Фукуя университета Киото (Киото, Япония), Государственный Университет Нагой (Нагойя, Япония);

Представлялись в качестве стендовых, устных и приглашённых докладов на следующих международных конференциях:

- Functional Materials – ICFM-2021, Alushta, Crimea, 2021; 2nd FunMAX Workshop, Красноярск-2021; XVIII молодёжной конференции с международным участием по люминесценции и лазерной физике. Иркутск-2021; 15th International Conference on Pulse Lasers and Laser Applications – AMPL-2021; 14th International Conference on Pulse Lasers and Laser Applications – AMPL-2019; XXV Всероссийской научной конференции студентов-физиков и молодых учёных (ВНКСФ-25, Крым) 2019; 1st International Conference “Aptamers in Russia 2019”; XIX симпозиума «Сложные системы в экстремальных условиях». Российской академии наук». Красноярск, 2018; XVI Международная молодёжная конференция по люминесценции и лазерной физике, посвящённая 100-летию Иркутского государственного университета. Иркутск-2018; Четвёртый междисциплинарный научный форум с международным участием "Новые материалы и перспективные технологии". Санкт-Петербург-2018; 14-я Российская школа-симпозиум «Фундаментальные основы атомистического многомасштабного моделирования». Новый Афон, Абхазия-2017; X юбилейной Межрегиональной научно-практической конференции, посвящённой 85-летию КГПУ им. В.П. Астафьева. Красноярск-2017; «Физика — наукам о жизни» Санкт-Петербург-2016; XVIII Всероссийского симпозиума с международным участием. Красноярск-2016; XV Международная молодёжная конференция по люминесценции и лазерной физике. Иркутск-2016; Ecological Modelling for Ecosystem Sustainability in the context of Global Change (ISEM 2013); XIII Международную конференцию по люминесценции и лазерной физике. Иркутск-2012; 17th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence. Гуэльф, Канада-2012; Международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Экология. Человек. Общество», Украина, Киев-2012; 7th European Conference on Ecological Modeling – ЕСЕМ 2011, (Trento, Italy); VI Съезда российского фотобиологического общества, пос. Шепси-2011; 16th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence., г. Лион, Франция-2010; Международной школы-конференции для студентов, аспирантов и молодых учёных «Фундаментальная математика и её приложения в естествознании» года, Уфа-2010;

15th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence (15th ISBC) Shanghai, China-2008; The scientific conference of student of physics, Krasnoyarsk-2007; The Chemistry and chemical technology in XXI century, Tomsk-2007.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 31 статья в рецензируемых журналах из списка включённых ВАК РФ в Перечень ведущих рецензируемых научных изданий для публикации результатов диссертаций на соискание учёной степени доктора наук, 2 монографии, одна глава в монографии и 41 тезисов докладов.

### **Структура диссертации**

Диссертация состоит из введения, семи глав, заключения и списка цитируемой литературы. Общий объём составляет 274 страницы, включая 81 рисунок и 17 таблиц. Список цитированной литературы состоит из 360 наименований.

### **Благодарности фондам**

Работа выполнена при финансовой поддержке фондов: РФФИ (гранты: 07-04-96802-р\_енисей\_a; 08-04-05003-б; 09-04-00412-а; 07-04-00930-а; 09-02-92107-ЯФ\_a; 09-04-12022-офи\_m; 13-04-00375-а; 15-03-06786; **16-04-00132-А**; 18-29-19003-мк; 18-44-242002-р\_мк; 19-02-00450-А; 19-54-53004-ГФЕН\_a); Правительства Красноярского края и Красноярского краевого фондом поддержки научной и научно-технической деятельности №16-44-243019); СФУ (Молодёжный грант 2008 г; Государственное задание № 16.1455.2017/ПЧ (СФУ – ГЗ-14)); Сибирского отделения РАН и Китайской АН, (2009-2011, проект №2); ФЦП «Кадры» (2010-2012 № П333); Госпрограммы Правительства России (№ 11. G34.31.058); Госпрограммы Президента России «Научная школа» (№ 1044.2012.2.); Мегагранта Правительства России (075-15-2019-1886). Работы выполнялись при технической поддержке: Межведомственного суперкомпьютерного центра Российской академии наук (МВС-100К и МВС-10П); Сибирского Суперкомпьютерного Центра СОРАН, ИВМиМГ, г Новосибирск; суперкомпьютерного комплекса МГУ – СКИФ МГУ «Чебышёв».

## ГЛАВА 1. КВАНТОВОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ И ПОДХОДЫ

### §1.1. ПЕРВОПРИНЦИПНЫЕ МЕТОДЫ

Квантовая химия давно превратилась в инструмент, используемый широким кругом физиков, химиков, материаловедов и биологов практически во всех областях химии: органической, неорганической, биохимии, электрохимии, химии твёрдого тела, молекулярной спектроскопии и так далее. Широкое распространение получили программные комплексы, благодаря их ориентированию на широкий круг пользователей и повсеместному использованию компьютеров. Более того, за последнее время существенно вырос арсенал вычислительных методов квантовой химии. В этой связи необходимо иметь чёткое представление о задачах, для решения которых предназначены те или иные методы, и уметь выбрать те из них, которые необходимы и/или достаточны для достижения цели. В этой главе изложены основные квантовохимические методы, используемые в работе. Основную информацию по формализму, методам, подходам и базисам полезно смотреть в соответствующей литературе [указана в конце данной главы], здесь же будет изложена краткая информация с акцентом на применение.

Начать надо с *ab initio* методов. В переводе с латинского *ab initio* означает «из первых принципов». К данной группе относятся методы, в соответствии с которыми вычисление проводится исключительно на теоретической базе, то есть без введения в расчётную схему каких-либо параметров, полученных экспериментальным путём. При расчёте все величины имеют конкретный физический смысл. Такими методами являются: метод Хартри-Фока-Рутаана, разнообразные вариации конфигурационного взаимодействия, методы теории возмущения, а также метод объединённых кластеров. К преимуществу данного подхода следует отнести приемлемую точность расчёта, относительную универсальность. Недостатком же является ресурсоёмкость процедуры, поэтому группа *ab initio* методов стала применяться химиками позднее методов полуэмпирических (находили применение, лишь к простейшим системам).

Для учёта электронной корреляции часто используют теорию возмущения Мёллера-Плессе (MP), она позволяет с приемлемой точностью и временными

затратами получать хорошие результаты. Сама теория возмущения применялась и раньше физиками и математиками, однако к задачам квантовой химии она была адаптирована в 1934 году (в форме концепции), реализована позднее метода Хартри-Фока-Рутаана. Суть подхода заключается в том, что система делится на две части. Первая, упрощённая, точно решается, тогда как вторая рассматривается в виде возмущения первой. Существенным достоинством данной теории является то, что поправки к полной энергии системы, вычисленные в приближении Хартри-Фока, находятся неитерационным способом, то есть отсутствует необходимость многократного повторения большого объёма расчётов для достижения самосогласованного решения. Дальнейшее развитие теории продолжалось на протяжении второй половины XX века и шло в направлении более полного учёта корреляционной энергии. Так основные работы по теории возмущения второго порядка (MP2), учитывающей 60 — 90 % корреляционной энергии, относятся к 70-м годам прошлого века.

## §1.2. ПОЛУЭМПИРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Разработка и развитие полуэмпирических методов расчёта молекулярных структур составляет неотъемлемую часть квантовой химии. Эти методы используют как средство для расчёта свойств молекул, так и для построения молекулярных моделей. При удачном выборе модели можно объяснять и предсказывать свойства и их изменения в рядах химических соединений. Более того, появляется возможность интерпретации свойств на основе относительно простых качественных концепций. В методе Паризера-Парра-Попла (PPP), предназначенном для расчёта молекул органических соединений было использовано  $\pi$ -электронное приближение, но с включением параметров, описывающих электрон-электронное взаимодействие в явном виде, в одноэлектронный гамильтониан. Этот метод стал первым в ряду методов, основанных на уравнениях Хартри-Фока-Ругана и включающих приближение нулевого дифференциального перекрытия (Neglect of Differential

Overlap — NDO), таких как CNDO (Complete Neglect of Differential Overlap), INDO (Intermediate Neglect of Differential Overlap), MINDO (Modified Intermediate Neglect of Differential Overlap), MNDO (Modified Neglect of Differential Overlap) и др. Метод CNDO (Дж. Попл, Д. Сэнтри, Г. Сигал, 1965) открыл период разработки методов расчёта в полном валентном базисе, который фактически продолжается и в настоящее время. Этот метод впервые позволил проводить расчёты любых соединений лёгких элементов и составил серьёзную конкуренцию методам, основанным на построении модельных гамильтонианов (таких как расширенный метод Хюккеля, который используется в данное время в основном для получения стартовых орбиталей в неэмпирических расчётах).

Методы, основанные на приближении NDO, используют сейчас, главным образом, для исследования биологических объектов, а также электронных спектров органических соединений и комплексов переходных металлов. Дж. Дж. Стюартом (J.J. Stewart) в 1989 г. был разработан с применением новых принципов оценки параметров метод PM3 [1] (Parametric Method Number 3). В первых вариантах метода NDO параметры или определяли из свойств атомов, или даже рассчитывали. В последующем (особенно при получении параметров, описывающих отталкивание атомных остовов) широко использовали чисто молекулярные характеристики. Дж. Дж. Стюарт предложил полностью перейти на параметризацию, опираясь на экспериментальные данные о свойствах молекул: теплоте образования, дипольных моментах, потенциалах ионизации, геометрических параметрах. Была разработана методика, позволяющая автоматизировать поиск оптимальных значений параметров, базирующаяся на минимизации разности между экспериментальными и рассчитанными значениями некоторой функции, суммирующей данные по опорным величинам. Число параметров возросло до восемнадцати (одиннадцати для атома водорода): и шесть параметров функций отталкивания остовов. В настоящее время метод параметризован практически для всех атомов Периодической системы, причём число реперных соединений в некоторых работах достигает 657. Метод характеризуется большой надёжностью и может применяться для решения широкого круга химических задач. При этом, метод не стоит на месте и, примерно, каждые два-

три года выходит новая версия метода (на 2021 г. известна версия PM7 [2]) которая реализована в свободно распространяемой программе MOPAC [2].

### §1.3. МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕХАНИКИ

К полуэмпирическим методам примыкает метод молекулярной механики, предполагающий, что для атомов в молекулах существуют некоторые типичные длины связей с окружающими атомами, валентные и торсионные углы, определяемые состоянием гибридизации данного атома и атомов, непосредственно связанных с ним. Зависимости энергии от отклонения внутренних координат от равновесных значений могут быть описаны параметрами силового поля; кроме того, принимают во внимание ван-дер-ваальсовы и электростатические взаимодействия. Параметры силового поля выбирают таким образом, чтобы они передавали известные из эксперимента свойства набора реперных соединений (геометрические характеристики, колебательные частоты). Метод позволяет определять равновесные геометрии, переходные состояния, выполнять конформационный анализ, оценивать относительные энергии различных изомерных структур, планировать синтез. Поскольку состояние электронной системы не принимается во внимание, методика не может быть использована для рассмотрения возбуждённых состояний и вообще тех явлений, которые определяются электронной структурой молекул. Наибольшее применение метод получил в органической химии и биохимии.

### §1.4. ТЕОРИЯ ФУНКЦИОНАЛА ПЛОТНОСТИ

Каждый из описанных выше подходов был ориентирован либо на скорость (полуэмпирические методы), либо на точность (*ab initio* методы) расчётов. Во многом благодаря развитию химии высокомолекулярных соединений и биохимии объект вычислений — молекула — неуклонно рос в размерах, а методов, способных

моделировать большие молекулярные структуры с высокой точностью не было. Нужны были нестандартные решения, делающие задачу выполнимой не за счёт совершенствования собственно вычислительной процедуры, а за счёт радикального упрощения самой математической модели. В этой связи, в 60-е годы, начались работы по изучению электронной плотности и её применению для расчётов. Какие же самые привлекательные стороны у этого подхода? Во-первых, она физически определена и измеряема в отличие от волновой функции, не имеющей физического смысла. Во-вторых, получение полной волновой функции электронов — задача, соответствующая  $3n$ -измерениям (или даже  $4n$ , если принимать во внимание спин), где  $n$ -полное число электронов, тогда как электронная плотность есть функция от трех координат независимо от числа электронов в молекуле. Здесь основная сложность заключается в том, существует ли взаимосвязь между электронной плотностью и энергией, и какова форма зависимости, если она существует? Все началось с работ П. Хоэнберга и В. Кона, которые доказали теорему о свойствах электронной плотности («Негомогенный электронный газ», 1964 год). Согласно теореме, энергия основного состояния молекулы является функционалом электронной плотности и энергия минимальна, если она (электронная плотность) является точной для основного состояния (функционал — соответствие числового ряда функции, которая, в свою очередь сопоставлена другому числовому ряду). Следует отметить, что теорема, являя строгое доказательство связи полной энергии с электронной плотностью, не даёт никакого правила в построении этого же функционала (что является главным недостатком теории). Нет и строгого универсального способа вычисления средних значений операторов физических величин с помощью  $\rho(r)$ , подобного методам расчёта для волновых функций. Поскольку вид функционала неизвестен, для его описания используются приближенные методы.

Методы теории функционала плотности стали использоваться после внедрения в расчётную схему орбиталей, предложенных У. Коном и Л. Дж. Шемом (КШ) в 1965 году (работа называлась «Самосогласованные уравнения, включающие обменные и корреляционные эффекты»). Основная идея теории состоит в разделении функционала кинетической энергии на две части, первая вычисляется точно с использованием

формально построенных орбиталей, отвечающих системе невзаимодействующих электронов, вторая представляет собой поправку. Таким образом, описание молекулярной системы практически полностью соответствует хартри-фоковскому (что, несомненно, следует отнести к достоинству). Но не стоит забывать, что данные орбитали сконструированы лишь так, чтобы давать наилучшее описание электронной плотности, и имеют мало общего с истинными хартри-фоковскими орбиталями. Спустя некоторое время (конец 70-х годов) было разработано приближение локальной плотности — простейшая форма теории. Это приближение основывается на том, в каждой точке молекулы с характерной для неё электронной плотностью свойства те же, что и в однородном электронном газе с той же плотностью. Общим случаем локальной плотности является приближение локальной спиновой плотности (LSDA — Local Spin Density Approximation). Точность методов, основанных на LSDA, сопоставима с методами Хартри-Фока. Все приближения метода КШ связаны со способами аппроксимации обменно-корреляционного потенциала. Отсутствие регулярного подхода к построению функционалов — главный недостаток DFT.

Другим более совершенным является приближение градиентной коррекции (GGA — Generalized Gradient Approximation). В данном случае корреляционный и обменный потенциалы, образующие функционал, связаны не только с электронной плотностью, но и с первой и второй производной от неё. Вначале было предложено несколько функциональных зависимостей в виде поправок к LSDA (например, обменная поправка Бекке, 1988 год). Практически в то же время был предложен ряд функционалов с градиентной коррекцией в чистом виде. Один из наиболее удачных функционалов данной группы был предложен К. Ли, В. Янгом и Р. Г. Паром (LYP, 1988 год) [3]. Общее выражение для обменно-корреляционной энергии в этом приближении можно записать следующим образом:  $\varepsilon_i^{GGA}[\rho] = \varepsilon_i^{LSDA}[\rho] + \Delta\varepsilon_i(\rho, \nabla\rho, \nabla^2\rho, \dots)$ ,  $i = x, c.$ , где  $x$  — «обмен»,  $c$  — «корреляция». Здесь уместно упомянуть, что единого и последовательного способа ввода поправки  $\Delta\varepsilon_i$  не существует; предложены её различные приближённые формы. Параметры всех этих моделей найдены стандартным образом, принятым в DFT: проводится неэмпирический расчёт атомов благородных элементов в орбитальном

приближении с максимально полным учётом обмена и корреляции (например, методом связанных кластеров в широком базисе), затем выделяются члены, связанные с обменной и корреляционной энергиями, и под них «подгоняются» приближенные выражения для  $\epsilon_x[\rho]$  и  $\epsilon_c[\rho]$ .

Третью и более совершенную форму являет группа гибридных методов. Они вобрали в себя лучшее из приближений локальной плотности и градиентной коррекции и получили широкое распространение благодаря феноменально низким временным затратам в сочетании с точностью, которая сопоставима с точностью лучших *ab initio* методов (MP4(SDQ), QCISD и CCSD). Один из наиболее широко используемых гибридных GGA корреляционных функционалов в мире – функционал Lee, Yang и Parr (LYP). Он приводит к известному акрониму B3LYP [4]. Так как функционал LYP содержит и локальный, и нелокальный члены, то корреляционно-обменный функционал метода B3LYP в действительности имеет вид:  $E_{xc}^{B3LYP} = (1 - a)E_x^{LSDA} + aE_x^{HF} + b\Delta E_x^{B88} + (1 - c)E_c^{VWN} + cE_c^{LYP}$ , где  $a, b, c$  – константы, которые были подобраны Бекке с использованием надёжных экспериментальных данных для репрезентативного набора сравнительно простых химических соединений (так называемый *GI*-набор),  $E_x^{LSDA}$  – обменная энергия локальной спиновой плотности,  $E_x^{HF}$  – хартифокковская обменная энергия,  $\Delta E_x^{B88}$  – обменная поправка Бекке,  $E_c^{VWN}$  – корреляционная энергия однородного электронного газа,  $E_c^{LYP}$  – корреляционный функционал Ли, Янга и Парра.

В целом можно сказать, что волновая функция в методе Кона-Шэма аппроксимируется единственным детерминантом Слейтера, а кинетическая энергия записывается в предположении, что электроны не взаимодействуют. В этом отношении метод Кона-Шэма напоминает метод Хартри-Фока, уравнения которого получают из первых принципов на основании физически обоснованных приближений. С другой стороны, функционалы, описывающие обмен и корреляцию, часто содержат подгоночные параметры. Поэтому, строго говоря, метод КШ не является эмпирическим методом квантовой химии. В то же время, он допускает последовательные модификации за счёт использования все более точных

функционалов энергии, основанных на последовательной теории, как это имеет место в неэмпирической квантовой химии. По этой причине существует великое множество функционалов (рисунок 1.1), которые имеют свои границы применимости и выбор подходящего функционала порой может вызывать известные трудности.

Available density functionals	
<b>Rung 1</b> Local spin-density approximation (LSDA)	<b>Exchange:</b> Slater, SR_LSDA <b>Correlation:</b> PW92, VWN5, srVWN, Liu-Parr, PK09, PW92RPA, srPW92, PZ81, VWN1, VWN1RPA, VWN2, VWN3, VWN4, Wigner <b>Exchange-correlation:</b> SPW92, LDA, SVWN5
<b>Rung 2</b> Generalized gradient approximation (GGA)	<b>Exchange:</b> PBE, B88, revPBE, AK13, B86, G96, mB86, mPW91, $\mu$ B88, $\mu$ PBE, srPBE, optB88, OPTX, PBEsol, PW86, PW91, RPBE, rPW86, SOGGA, $\omega$ PBE <b>Correlation:</b> PBE, LYP, P86, P86VWN5, PBEloc, PBEsol, srPBE, PW91, regTPSS <b>Exchange-correlation:</b> B97-D3(0), B97-D, PBE, BLYP, revPBE, BEEF-vdW, BOP, BP86, BP86VWN, BPBE, EDF1, EDF2, GAM, HCTH/93, HCTH/120, HCTH/147, HCTH/407, HLE16, KT1, KT2, KT3, mPW91, N12, OLYP, PBEOP, PBEsol, PW91, RPBE, rVV10, SOGGA, SOGGA11, VV10
<b>Rung 3</b> Meta-GGA	<b>Exchange:</b> TPSS, revTPSS, BLOC, modTPSS, oTPSS, PBE-GX, PKZB, regTPSS, SCAN, TM <b>Correlation:</b> TPSS, revTPSS, B95, oTPSS, PK06, PKZB, SCAN, TM, TPSSloc <b>Exchange-correlation:</b> B97M-V, B97M-rV, M06-L, TPSS, revTPSS, BLOC, M11-L, mBEEF, MGGA_MS0, MGGA_MS1, MGGA_MS2, MGGA_MVS, MN12-L, MN15-L, oTPSS, PKZB, revM06-L, SCAN, $\tau$ -HCTH, TM, VSXC
<b>Rung 4</b> Global hybrid GGA functionals	B3LYP, PBE0, revPBE0, B97, B1LYP, B1PW91, B3LYP5, B3P86, B1LYP, B1PW91, B3LYP5, B3P86, B3PW91, B5050LYP, B97-1, B97-2, B97-3, B97-K, BHHLYP, HFLYP, MPW1K, MPW1LYP, MPW1PBE, MPW1PW91, O3LYP, PBEh-3c, PBE50, SOGGA11-X, WC04, WP04, X3LYP
<b>Rung 4</b> Global hybrid meta-GGA functionals	M06-2X, M08-HX, TPSSh, revTPSSh, B1B95, B3TLAP, BB1K, BMK, dIDF, M05, M05-2X, M06, M06-HF, M08-SO, MGGA_MS2h, MGGA_MVSh, MN15, MPW1B95, MPWB1K, PW6B95, PWB6K, revM06, SCAN0, $\tau$ -HCTHh, TPSS0
<b>Rung 4</b> Range-separated hybrid GGA functionals	$\omega$ B97X-V, $\omega$ B97X-D3, $\omega$ B97X-D, CAM-B3LYP, CAM-QTP00, CAM-QTP01, HSE-HJS, LC-rVV10, LC-VV10, LC- $\omega$ PBE08, LRC- $\mu$ BOP, LRC- $\omega$ PBE, LRC- $\omega$ PBEh, N12-SX, rCAM-B3LYP, $\omega$ B97, $\omega$ B97X, $\omega$ B97X-rV
<b>Rung 4</b> Range-separated hybrid meta-GGA functionals	$\omega$ B97M-V, M06-SX, M11, MN12-SX, revM11, $\omega$ B97M-rV, $\omega$ M05-D, $\omega$ M06-D3
<b>Rung 5</b> Double hybrid GGA functionals	DSD-PBEPBE-D3, $\omega$ B97X-2(LP), $\omega$ B97X-2(TQZ), XYG3, XYGJ-OS, B2PLYP, B2GPPLYP, DSD-PBEP86-D3, LS1DH-PBE, PBE-QIDH, PBE0-2, PBE0-DH
<b>Rung 5</b> Double hybrid meta-GGA functionals	$\omega$ B97M(2), PTPSS-D3, DSD-PBEP95-D3, PWPB95-D3
Specialized density functionals	SRC1-R1, SRC1-R2, SRC2-R1, SRC2-R2, BR89, B94, B94hyb, BR89B94h, BRSC, MB05, B05, BM05(XC), PSTS, MCY2

Рисунок 1.1. Пример доступных для расчёта функционалов (около 200) в программе Q-CHEM (2021 г)

В заключение можно отметить, что методы теории функционала плотности позволили получить ряд электрофизических характеристик (дипольные моменты молекул и внешние электростатические поля), прогнозы спектров в диапазоне от далёкой ИК-области до УФ, изучение путей химических реакций с высокой степенью точности. За столь впечатляющие результаты в 1998 году Нобелевскую премию разделили Джон Попл «за развитие вычислительных методов в квантовой химии» и Волтер Кон «за развитие теории функционала плотности».

## **§1.5. РАСЧЁТ ЭЛЕКТРОННЫХ СПЕКТРОВ ПОГЛОЩЕНИЯ И ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПОВЕРХНОСТЕЙ ВОЗБУЖДЁННЫХ СОСТОЯНИЙ**

При изучении фотохимического поведения молекул и расчёте их электронных спектров обычно необходимо получить данные не для одного, а для целого набора низших возбуждённых состояний. При этом существенна одинаковая точность расчёта для всех состояний, в частности должна быть обеспечена одинаковая степень учёта корреляционных эффектов. Это предъявляет весьма высокие требования к выбору метода расчёта, структуры активного пространства, атомного базиса. Кроме того, необходимо иметь в виду, что изучение потенциальных кривых, а тем более потенциальных поверхностей, требует выполнения большого числа расчётов, что подразумевает ещё одно требование к методу — его экономичность. Особые сложности возникают при изучении возбуждённых состояний соединений переходных металлов, например металлоорганических соединений, которым в настоящее время уделяется огромное внимание. Для них характерна высокая плотность возбуждённых состояний, причём в одной и той же энергетической области могут лежать состояния, относящиеся к разнообразным типам возбуждений: состояния с переносом заряда с металла или с  $\sigma$ -связи на лиганд, с лиганда на металл, внутрилигандные возбуждения,  $d-d$  переходы. Возбуждение может сопровождаться фотохимическими процессами различного типа: переносом заряда или энергии,

разрывом или образованием новых химических связей, изомеризацией, образованием радикалов, безызлучательными переходами в основное состояние.

Форма потенциальных кривых определяет временные характеристики существования систем в возбуждённых состояниях и характер протекающих процессов. Если энергия быстро уменьшается при увеличении межатомного расстояния металл-лиганд (потенциальная кривая имеет отталкивательный характер), то происходит быстрый отрыв этого лиганда. В то же время во многих случаях возбуждение приводит к переходу в состояния с относительно большими временами жизни и определенной структурой. Энергии этих состояний лежат в ограниченной области, что приводит к появлению псевдопересечений потенциальных поверхностей, седловых точек, конических пересечений. Это проявляется как в изменении формы спектров, так и в химических последствиях возбуждения.

Практика показала, что прямой расчёт методом конфигурационного взаимодействия не позволяет достаточно хорошо передать характеристики возбуждённых состояний, что связано прежде всего с использованием орбиталей, полученных в приближении ССП, которые оптимальны лишь для основного состояния. Это наводит на мысль использовать для расчёта много-конфигурационный метод самосогласованного поля. Современные программы позволяют выполнять расчёт с оптимизацией МО для каждого отдельно взятого состояния. Это гарантирует, что для данного состояния будут получены наилучшие орбитали и оптимальная энергия. Такой подход требует тщательного выбора активного пространства. Чтобы обеспечить одинаковое качество расчёта для всех состояний и ограничить объем вычислительной работы, обычно применяют своего рода компромисс: проводят усреднение матрицы плотности с указанием весового вклада каждого состояния.

Наконец, в последние годы разработан вариант метода функционала плотности для расчёта возбуждённых состояний — нестационарная теория функционала плотности [5,6] (Time Dependent Density Functional Theory — TDDFT). Эта теория была разработана для изучения тех явлений, для которых необходимо рассматривать отклик системы на меняющееся во времени внешнее возбуждение. Именно к этому классу явлений относится поглощение света молекулярными системами. Вероятность

поглощения определяется мнимой компонентой динамической поляризуемости системы, которая в свою очередь связана с реакцией (откликом) электронной плотности на внешнее возмущение. Полюса функции отклика плотности совпадают с энергиями переходов в возбуждённые состояния. Полюса находят путём диагонализации матрицы специально сконструированного функционала. По своему смыслу эта теория близка к методу CI в приближении однократных возбуждений. По-видимому, метод даёт лучшие результаты в случае, если электронные переходы могут рассматриваться как «чистые» (или «почти чистые») переходы между двумя орбиталями.

Особые трудности возникают при изучении высоковозбужденных состояний. Это связано с тем, что наиболее сильный отклик на внешнее поле наблюдается в той области, где электронная плотность наиболее диффузна, т. е. на периферии молекулы. Между тем многие из известных обменно-корреляционных функционалов имеют неправильное асимптотическое поведение. Следствием является занижение рассчитанного порога ионизации и большие ошибки для состояний с высокой энергией. Большим преимуществом метода TDDFT является то, что в отличие от методов, основанных на разложении по конфигурациям, он практически не ограничен размерами системы; кроме того, начиная с некоторого уровня результаты также перестают зависеть от атомного базиса. Расчёты методом TDDFT вполне конкурентоспособны с гораздо более трудоёмким методом CASPT2. Широкое распространение метода TDDFT обусловлено тем, что данный подход требует относительно небольшие затраты вычислительных ресурсов, обеспечивая при этом достаточно высокую точность. Энергетические характеристики возбуждённых состояний для биологических молекул, рассчитанные методом TDDFT, показывают хорошее согласие с экспериментальными данными [7]

## §1.6. ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭЛЕКТРОННЫХ СПЕКТРОВ

Электронные молекулярные спектры возникают при изменении электронной энергии молекул, если при этом не меняются колебательные и вращательные энергии. Электронные молекулярные спектры наблюдаются как в поглощении (спектры поглощения), так и в испускании (спектры люминесценции). При электронных переходах обычно изменяется электрический дипольный момент молекулы. Электрический дипольный переход между электронными состояниями молекулы типа симметрии  $\Gamma'$  и  $\Gamma''$  разрешён, если прямое произведение  $\Gamma' \times \Gamma''$  содержит тип симметрии, по крайней мере, одной из компонент вектора дипольного момента  $d$ . В спектрах поглощения обычно наблюдают переходы из основного (полносимметричного) электронного состояния в возбуждённые электронные состояния. Очевидно, что для осуществления такого перехода типы симметрии возбуждённого состояния и дипольного момента должны совпадать. Так как электрический дипольный момент не зависит от спина, то при электронном переходе спин должен сохраняться, т.е. разрешены только переходы между состояниями с одинаковой мультиплетностью (интеркомбинационный запрет). Это правило, однако, нарушается для молекул с сильным спин-орбитальным взаимодействием, что приводит к интеркомбинационным квантовым переходам. В результате таких переходов возникают, например, спектры фосфоресценции, которые соответствуют переходам из возбуждённого триплетного состояния в основное синглетное состояние [8].

Молекулы в различных электронных состояниях часто имеют разную симметрию. В таких случаях условие  $\Gamma' \times \Gamma'' \subset \Gamma_d$  должно выполняться для точечной группы низкосимметричной конфигурации. Однако при использовании перестановочно-инверсионной (ПИ) группы такая проблема не возникает, так как ПИ группа для всех состояний может быть выбрана одинаковой. Для линейных молекул симметрии  $C_{xy}$  тип симметрии дипольного момента  $\Gamma_d = \Sigma^+(d_z) + \Pi(d_x, d_y)$ , поэтому для них разрешены только переходы  $\Sigma^+ - \Sigma^+$ ,  $\Sigma^- - \Sigma^-$ ,  $\Pi - \Pi$  и т. д. с дипольным моментом перехода, направленным по оси молекулы, и переходы  $\Sigma^+ - \Pi$ ,  $\Pi - \Delta$  и т. д.

с моментом перехода, направленным перпендикулярно оси молекулы. Вероятность  $B$  электрического дипольного перехода с электронного уровня  $m$  на электронный уровень  $n$ , просуммированная по всем колебательно-вращательным уровням

электронного уровня  $m$ , определяется формулой:  $B_{mn} = \frac{8\pi^3}{3h^2c} |M_{mn}|^2$ , где

$|M_{mn}| = \int \varphi_{en}^* d\varphi_{em} d\tau_e = \langle \varphi_{em} | d | \varphi_{en} \rangle$  – матричный элемент дипольного момента для перехода  $n - m$ ,  $\varphi_{en}$  и  $\varphi_{em}$  – волновые функции электронов. Интегральный

коэффициент поглощения, который можно измерить экспериментально,

определяется выражением:  $\int K_\nu d\nu = N_m B_{mn} h \nu_{nm} = \frac{8\pi^3}{3hc} N_m \nu_{nm} |M_{mn}|^2$ , где  $N_m$  – число

молекул в начальном состоянии  $m$ ,  $\nu_{nm}$  – частота перехода  $m \rightarrow n$ . Часто

электронные переходы характеризуются силой осциллятора:  $f_{nm} = \frac{m_e h c^2 \nu_{nm}}{\pi e^3} B_{mn}$  где

$e$  и  $m_e$  – заряд и масса электрона. Для интенсивных переходов  $f_{nm} \sim 1$ . Среднее время

жизни возбуждённого состояния:  $\tau_n = \frac{1}{8\pi h c \nu_{nm}^3} B_{mn}$ . Эти формулы справедливы

также и для колебательных и вращательных переходов (в этом случае следует переопределить матричные элементы дипольного момента). Для разрешённых

электронных переходов обычно коэффициент поглощения на несколько порядков больше, чем для колебательных и вращательных переходов. Иногда коэффициент

поглощения достигает величины  $\sim 10^3 - 10^4 \text{ см}^{-1} \text{ атм}^{-1}$ , т.е. электронные полосы наблюдаются при очень низких давлениях ( $\sim 10^{-3} - 10^{-4}$  мм рт. ст.) и малых толщинах ( $\sim 10 - 100$  см) слоя вещества [8].

## §1.7. МОДЕЛЬ ПОЛЯРИЗОВАННОГО КОНТИНУУМА И СОЛЬВАТАЦИОННАЯ МОДЕЛЬ

Модель поляризованного континуума – РСМ (Polarized Continuum Model) [9] представляет собой точное решение электростатической задачи об определении

энергии взаимодействия точечных зарядов с окружающим их однородным непрерывным диэлектриком с заданной диэлектрической проницаемостью  $\epsilon$ . В этом методе вместо решения уравнения Пуассона в трёхмерном пространстве надо решить соответствующие уравнения на ограничивающей растворитель поверхности – поверхность исключённого из растворителя объёма; объём, занимаемый растворителем, лежит вне объёма, ограниченного этой поверхностью, а сам субстрат полностью лежит внутри этого объёма [10]. Модель основана на разделении растворенного вещества и растворителя, в виде бесструктурного бесконечного континуума, главной характеристикой, которой является диэлектрическая проницаемость и плотность. Вокруг молекулы растворенного вещества строится замкнутая поверхность, которая является границей между растворенным веществом и растворителем. Внутри полости, заключённой поверхностью, диэлектрическая проницаемость равна 1 (как в вакууме), за её пределами значение величины равно рассматриваемому растворителю (например, 78,4 для воды при 25° С). При динамических процессах, описание модели растворителя изменяется. Тем не менее, общий физический подход, содержится как в статических, так и в динамических случаях. На растворенных атомах или атомных группах, строится полость в виде огибающей сферы. Это необходимо для того, чтобы имитировать форму молекулы реально растворенного вещества. Для выравнивания поверхности могут быть добавлены другие сферы, в приближении так называемого растворителя, исключаяющего поверхность. Процедура формирования полости может постоянно уточняться. Радиусы атомных сфер являются важными параметрами: они оптимизированы обеспечить сольватационные свободные энергии близкие к экспериментальным данным для большого набора неорганических и органических молекул. Как правило, в стационарных условиях для диэлектрической проницаемости используется значения, которые зависят только от температуры и давления. Тем не менее, при изучении динамических процессов, необходимо учитывать время релаксации поляризации растворителя. Тогда при характеристическом времени меньше, чем время релаксации растворителя, наблюдается задержка в отклике растворителя.

Расширенный и дополненный метод PCM получил название метода сольватационной модели [11] (SMD, Density-based Solvation Model), основанной на анализе электронной плотности растворенной молекулы, взаимодействующей со средой растворителя. Данная модель не предполагает использование растворителя в явном виде, а только в виде диэлектрической среды с поверхностным натяжением на границе растворитель/растворенное вещество. Как известно, метод SMD включает поправки, связанные с кавитацией растворителя, дисперсией и возможными изменениями в структуре локального растворителя, и поэтому даёт более точные энергии сольватации по сравнению с моделью поляризуемого континуума (PCM). Универсальность заключается в применении этой модели к любому заряженному или незаряженному растворенному веществу в растворителе, для которого известны немного дескрипторов, таких как: диэлектрическая константа, коэффициент преломления, величина поверхностного натяжения и параметры кислотности или основности [11].

В данной модели наблюдаемая свободная энергия сольватации представлена выражением:  $\Delta G_S^0 = \Delta G_{ENP} + \Delta G_{CDS} + \Delta G_{conc}^0$ , где  $E$  обозначает электронную,  $N$  — ядерную,  $P$  — поляризационную составляющую. Ядерная составляющая отвечает за разность полной энергии равновесной системы в газовой и жидкой среде. Если геометрии считать одинаковыми, то вместо  $ENP$  компоненты останется только  $EP$ . Аббревиатура  $CDS$  указывает на изменение энергии, связанное с кавитацией растворимого вещества ( $C$ ), с изменением в дисперсионной энергии ( $D$ ) и локальными изменениями структуры растворимого вещества ( $S$ ). Последнее слагаемое учитывает изменение концентрации между стандартным газовым и стандартным жидким состоянием. Если они одинаковы, то это слагаемое предполагается равным 0.

## §1.8. ВЛИЯНИЕ ВРЕМЕНИ РЕЛАКСАЦИИ РАСТВОРИТЕЛЯ НА СПЕКТРЫ ПОГЛОЩЕНИЯ И ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

Как правило, в стационарных условиях для  $\varepsilon$  используются значения, которые зависят только от температуры и давления. Однако, когда изучаются динамические процессы, необходимо учитывать время релаксации поляризации растворителя. Если изучаемый процесс имеет характеристическое время меньше, чем время релаксации растворителя, то наблюдается задержка в отклике растворителя. Это может быть описано термином «быстрой» диэлектрической постоянной —  $\varepsilon_f$ , которая находится в равновесии с растворенным веществом, в то время как остальная часть задерживается или даже замораживается, если электронная плотность растворенного вещества меняется очень быстро. «Быстрая» диэлектрическая постоянная зависит от релаксационного механизма растворителя (переориентации молекул, колебаний атомов, электронной поляризации, и т.д.).

Она определяется как:  $\varepsilon_f(\omega) = \varepsilon_\infty + (\varepsilon - \varepsilon_\infty) \sum_k \frac{g_k}{1 - \omega^2 \tau_k^2}$ , где  $\tau_k$  характеристическое время релаксации  $k$ -го механизма,  $\varepsilon_\infty$  предел диэлектрической постоянной для бесконечно быстрых процессов,  $\{g_k\}$  относительный вес  $k$ -го механизма такой, что  $\sum_k g_k = 1$ ;  $\{g_k\}$  и  $\{\tau_k\}$  известны экспериментально для многих широко используемых растворителей.

В случае поглощения или излучения фотонов, с последующим электронным переходом, когда электронная плотность зарядов растворенного вещества меняется быстро, то можно предположить, что  $\varepsilon_f = \varepsilon_{opt} = n^2$ , где  $n$  — показатель преломления растворителя,  $\varepsilon_{opt}$  — оптическая диэлектрическая постоянная. Это означает, что только электроны растворителя, способны передвигаться для того, чтобы оставаться в равновесии с растворенным веществом, в то время как молекулярные движения растворителя заморожены в ходе процесса. При расчётах с использованием TD-DFT для исследования вертикальных электронных переходов в стандартных методиках полагают, что  $\varepsilon_f = \varepsilon_{opt}$ .

С другой стороны, можно разделить заряд растворителя на быструю и медленную компоненты, чтобы воспроизвести часть сольватационного реакционного поля, которое всегда находится в равновесии с растворенным веществом и замороженной частью, соответственно. Они связаны отношением с общим зарядом сольватации:  $\sigma'_{fast}(s) = \frac{\epsilon_f - 1}{\epsilon - 1} \sigma'(s)$ ,  $\sigma'_{slow}(s) = \frac{\epsilon - \epsilon_f}{\epsilon - 1} \sigma'(s)$ , где  $\sigma(s)$  зарядовая плотность молекулы растворителя. Данный подход получил название расчёт TD-DFT с учётом неравновесной сольватации [12].

## §1.9. БАЗИСЫ

При выборе методики решения уравнения Шрёдингера, важно учитывать форму волновой функции. Волновую функцию было принято рассматривать в качестве линейной комбинации достаточно простых функций (например, функции Гаусса), называемой базисом или базисным набором. Каждая функция характеризуется некоторым числом подгоночных коэффициентов, обеспечивающих гибкость базиса. В соответствии с вариационным принципом, чем больше базисных функций, тем более точные решения могут быть получены. Но не стоит забывать о временных затратах: чем больше базисных функций (чем более гибкий базисный набор), тем больше времени потребуется для решения уравнения Шрёдингера.

Одним из первых появился минимальный базисный набор. Он был разработан под началом Р. Ф. Стюарта и Джона Попла в 1969 году. В данном базисе осуществляется представление атомных орбиталей слетеровского типа в виде комбинации гауссовых функций. Наиболее популярным в своё время был минимальный базисный набор STO-3G. Данный базис достаточно экономичен, но обладает одним существенным недостатком — он очень жёсткий, не способен подстраивать свой размер в зависимости от окружения атома, и характеризуется практически сферическим распределением заряда. В свете последнего, погрешность расчёта закономерно увеличивается с усложнением электронной структуры.

Более совершенными являются валентно-расщеплённые базисные наборы. Они представляют атомную орбиталь в виде двухвалентных функций одинаковой симметрии. Одна из них является более сжатой, а другая — диффузной. Наиболее распространёнными базисами этого типа являются 3-21G и 6-31G. Валентно-расщеплённые базисные наборы были описаны в Работе Дж. С. Бинкли, Джона Попла и В. Дж. Гера 1980 года «Базисные наборы малого валентного расщепления для элементов второго периода».

Дальнейшим усовершенствованием базисных наборов было введение поляризационных базисных функций. Причиной этого послужил недостаток, присущий предыдущей группе базисов и заключающийся в том, что центр тяжести отрицательного заряда совпадает с ядром атома, но это не всегда так. Среди поляризационных базисных наборов получил распространение 6-31G(d, p). Базисный набор 6-31G\*\*[13] (или 6-31G(d, p)) – это валентно-расщеплённый базис, в котором атомные орбитали внутренней оболочки представлены шестью гауссовыми функциями, валентные атомные орбитали состоят из двух базисных функций каждая: первая из которых представляет собой линейную комбинацию трёх простых гауссовых функций, а вторая – одну простую гауссову функцию. Для учёта эффекта смещения «центра тяжести» отрицательного заряда атомных орбиталей относительно ядра, что наиболее характерно для высоко полярных молекул и малых циклов, в базисный набор включены функции более высокого побочного квантового числа: *d*-типа для тяжёлых атомов и *p*-типа для водорода. Введение поляризационных наборов *d*-типа в валентные *s*- и *p*-функции обозначается знаком «\*» или буквой (*d*). Добавление поляризационных наборов *p*-типа к атомным орбиталям водородных атомов обозначаются либо вторым знаком «\*», либо буквой (*p*). Базис 6-31G\*\* позволяет корректно описывать энергетические и геометрические характеристики органических соединений: длины связей, валентные углы, дипольный момент, распределение электронной плотности и прочее. Наиболее эффективно использование данного базиса для молекул среднего размера, до 100-150 атомов.

Базис *cc-pVDZ* относится к корреляционно-согласованным базисным наборам [14] серии *cc-pvXz*, где *X* – число базисных функций валентной *sp*-группы (*X* = 2,3,4 или, иначе, D,T,Q). Функции *sp*-группы берутся из расчётов методом самосогласованного поля, а экспоненциальные параметры поляризующих функций оптимизируются в расчётах методом конфигурационного взаимодействия. Для лучшей передачи корреляционных эффектов существенно включение в базис диффузных *sp*-функций. Базисный набор *cc-pVDZ* позволяет корректно описывать длины связей, валентные углы, дипольный момент, распределение электронной плотности и прочие структурные и спектральные характеристики органических молекул [15,16]. Базисные наборы хорошо моделируют электронейтральные системы. В анионах, когда электрон слабо связан с ядром, в базисный набор включают диффузные функции *s*- и *p*-типа с малыми значениями экспоненциальных коэффициентов, что определяет большой размер и удалённость этих функций от ядра. Такие функции обозначают символом «+».

## **§1.10. МЕТОДОЛОГИЯ И ИДЕОЛОГИЯ РАСЧЁТНЫХ МЕТОДОВ КВАНТОВОЙ ХИМИИ**

В принципе, приближенное решение электронного уравнения Шрёдингера молекулы может быть получено методом Хартри-Фока, Кона-Шэма или любым методом, учитывающим электронную корреляцию. На практике поступают следующим образом (рисунок 1.2). Начинается с того, что задаётся приблизительная геометрия молекулы или кристалла в виде координат ядер. Затем, как правило, в рамках МО ЛКАО выбирают базис. В принципе, на этом этапе, исходная информация и ограничивается. Далее проводится последовательный самосогласованный квантовохимический расчёт с вычислением всех необходимых интегралов; если возможно, учитывается симметрия молекулы, что ускоряет расчёт.

Строгость расчёта и, как следствие, его сложность, может быть различной. На расчёты в значительной степени влияет размер системы, а также базис, и, в итоге,

доступность вычислительных ресурсов. Как правило относительно имеющихся ресурсов и корректируется постановка задачи и используемые методы. Очевидно, что чем более высокого уровня расчёт, тем больше можно доверять полученным данным. Пропорционально уровню расчёта растут и финансовые и временные затраты. Ранжировать методы можно в следующем порядке повышения точности расчёта энергии: HF~PBE<PBE0~V3LYP~MN15~MP2<MP4~CISD<CCSD(T)...

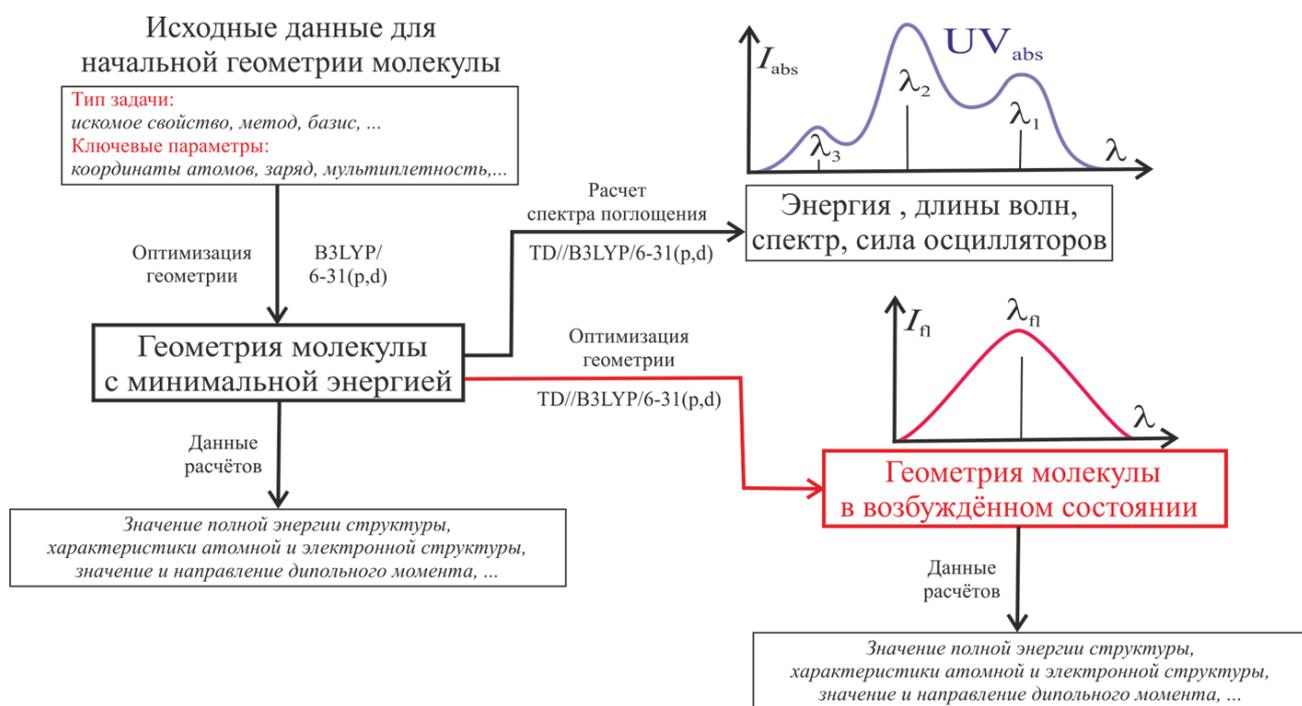


Рисунок 1.2. Схема расчётов

В то же время, для многих целей, в практике химических исследований достаточно ограничиться весьма умеренным уровнем расчёта. Более того, в случаях, когда исследуются ряды соединений и важны лишь относительные, а не абсолютные значения энергии и других характеристик, можно не вычислять интегралы, возникающие в схеме расчёта, а оценивать их значения на основании некоторой экспериментальной информации. При этом оказывается, что значительную часть интегралов, считая их малыми, можно приравнять нулю, соответствующим образом эффективно изменив величины параметров. Такие методы называются полуэмпирическими: расчёт с их помощью значительно проще и быстрее неэмпирических методов; подчас он даёт и лучшие результаты. Это достигается за счёт удачной параметризации и одновременно выявляет основной недостаток

полуэмпирических методов — плохую переносимость параметров от одного класса соединений к другому.

### **§1.11. ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ И ОБОРУДОВАНИЕ**

Современные квантовохимические методы реализованы в нескольких компьютерных программах, это, прежде всего, GAMESS [17,18], TURBOMOL, QCHEM, GAUSSIAN, VASP [19], CRYSTAL [20,21], SPARTAN, ADF, и т.д [22]. Они, как правило, работают на современных суперкомпьютерах под управлением ОС LINUX, в разных вариациях. Программы находят равновесную геометрию молекул, в том числе в условиях растворителя, и твёрдых тел, рассчитывают энергетические характеристики в основном и возбуждённом состоянии находят дипольный момент, электростатический потенциал, электронную плотность и т.д. Программы могут считать с учётом электронной корреляции на основе теории возмущений, конфигурационного взаимодействия, связанных кластеров и функционала плотности. Дополнительно программные комплексы позволяют проводить моделирование химических реакций. В зависимости от поставленной задачи, программы позволяют использовать различные подходы с разной степенью точности и вычислительной нагрузкой.

Для построения начальной геометрии и визуализации рассчитанных структур в работе использовался молекулярный редактор Avogadro [23]. Это расширенный молекулярный редактор, разработанный для использования на нескольких платформах, в частности на ОС Windows, применяемый в вычислительной химии, молекулярном моделировании. Avogadro – бесплатная система проектирования и моделирования, которая подходит как для небольших молекул, так и для биомолекул, содержащих в структуре несколько тысяч атомов.

**§1.12. РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА К ДАННОМУ РАЗДЕЛУ**

1. Абаренков И.В. Начала квантовой химии / И.В. Абаренков, В.Ф. Братцев, А.В. Тулуб. — М.: Высш, шк., 1989.
2. Базилевский М. В. Метод молекулярных орбит и реакционная способность органических молекул / М. В. Базилевский. — М.: Химия, 1969.
3. Бандура А. В. Неэмпирические расчёты кристаллов в атомном базисе с использованием интернет-сайтов и параллельных вычислений / А. В. Бандура, Р.А. Эварестов. — СПб.: Изд-во СПбГУ, 2004.
4. Берсукер И.Б. Электронное строение и свойства координационных соединений. Л: Химия, 1986. 348 с.
5. Блохинцев Д. И. Основы квантовой механики / Д. И. Блохинцев. — М.: Лань, 2004.
6. Буркерт У. Молекулярная механика / У. Буркерт, Н. Элинджер. — М.: Мир, 1986.
7. Грибов Л.А., Муштакова СП. Квантовая химия. М.: Гардарики. 1999. 389 с.
8. Дмитриев И. С. Квантовая химия — её прошлое и настоящее / И. С. Дмитриев, С. Г. Семенов. — М.: Атомиздат, 1980.
9. Дмитриев И. С. Электрон глазами химика / И. С. Дмитриев. — Л.: Химия, 1983.
10. Жидомиров ГМ. Прикладная квантовая химия / Г.М. Жидомиров, А.А. Багатурьянц, И.А. Абронин. — М.: Химия, 1979.
11. Заградник Р. Основы квантовой химии / Р. Заградник, Р. Полак. — М.: Мир, 1990.
12. Майер И. Избранные главы квантовой химии. Доказательства теорем и вывод формул / И. Майер. — М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2006.
13. Мелешина А. М. Курс квантовой механики для химиков / А. М. Мелешина. — М.: Высш, шк., 1980.
14. Минкин В. И. Квантовая химия органических соединений. Механизмы реакций / В. И. Минкин, Б.Я. Симкин, Р.М. Миняев. — М.: Химия, 1986.
15. Минкин В. И. Теория строения молекул / В. И. Минкин, Б.Я.Симкин, Р.М.Миняев. — Ростов н/Д Феникс, 1997.

16. Немухин А. В. Молекулярное моделирование с программой PC GAMESS: от двухатомных молекул до ферментов / А. В. Немухин, Б. Л. Григоренко, А. А. Грановский // Вести. Москов. ун-та. Сер. 2. Химия. — 2004. - Т. 45. - № 2. - С. 75-102.
17. Полуэмпирические методы расчёта электронной структуры: в 2 т. / под ред. Дж. Сигала. — М.: Мир, 1980.
18. Степанов Н. Ф. Квантовая механика и квантовая химия / Н. Ф. Степанов. — М.: Мир, 2001
19. Сыркин Я. К. Химическая связь и строение молекул / Я.К. Сыркин, М.Е. Дяткина. — М.; Л.: Госхимиздат, 1946.
20. Уилсон У. Электронные корреляции в молекулах / У. Уилсон. — М.: Мир, 1987.
21. Физические методы исследования неорганических веществ / [Т.Г. Баличева и др.]; под ред. А. Б. Никольского. — М.: Издательский центр «Академия», 2006.
22. Фларри Р. Группы симметрии. Теория и химические приложения / Р. Фларри. — М.: Мир, 1983.
23. Фларри Р. Квантовая химия / Р. Фларри. — М.: Мир, 1985.
24. Фудзинага С. Метод молекулярных орбиталей / С. Фудзинага. — М.: Мир, 1983.
25. Цирельсон В. Г., Бобров М. Ф. Квантовая химия молекул. М.: РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2001. 110 с.
26. Цирельсон В. Г. Квантовая химия. Молекулы, молекулярные системы и твёрдые тела. БИНОМ., 2012. 496 с.
27. Цюлике Л. Квантовая химия: Т. 1. Основы и общие методы / Л. Цюлике. — М.: Мир, 1976.
28. Jensen F. Introduction to computational chemistry, 2nd ed. Chichester: John Wiley & Sons. 2007. 599 p.
29. Handbook of Theoretical and Computational Nanotechnology / Eds. M. Rieth, W. Schommers. American Scientific Publishers, 2006.
30. Levine I. N. Quantum Chemistry. Boston: Allyn and Bacon, Inc., 2000. 751 p.

## ГЛАВА 2. ФЛУОРЕСЦЕИНОВЫЕ И ФЛУОРЕНОВЫЕ КРАСИТЕЛИ

### §2.1. ФЛУОРЕСЦЕИНОВЫЕ КРАСИТЕЛИ

Флуоресцеиновые красители представляют собой гомологичный ряд соединений на основе флуоресцеина с постепенным замещением атомов водорода атомами галогенов (бром, йод). Красители многоступенчато диссоциируют, это приводит к разнообразию их ионных и таутомерных форм в широком интервале рН, вследствие этого их широко применяют для различных приложений. Флуоресцеин и его производные - хорошо известные флуоресцентные зонды [24–27]. Благодаря высокой поглощающей способности, квантовому выходу и фотостабильности красители на основе флуоресцеина используются в качестве флуоресцентных сенсоров для маркировки и визуализации бесцветных систем (живых клеток [25–27], систем доставки лекарств [28]), ферменты [29], белки [30], мицеллы [31], углеродные нанотрубки [32]), сенсоры на основе FRET [33,34], а также спектральные индикаторы рН [25,27,29,32–36], вязкость [36] и давление [37] изменяются в локальной среде. Из-за изменений в структуре хромофора при протонировании флуоресцеин может быть использован для изучения ионной связи в протонодонорных биологических макромолекулах и полимерах [38].

Благодаря протеканию трёхступенчатой диссоциации в водных растворах флуоресцеиновые красители (эозин, эритрозин) могут пребывать в дианионной, моноанионной, нейтральной и катионной формах и дополнительно иметь ряд таутомеров одного и того же ионного состояния. Из-за того, что протонирование/депротонирование зачастую происходит в хромофорной группе, подобные изменения самым радикальным образом сказываются на спектрах поглощения и испускания. В отличие от хорошо изученных спектров поглощения, спектры испускания не до конца понятны из-за их сильного перекрытия, а также переноса протона в электронно-возбуждённых состояниях. Наименее изученными являются флуоресцентные свойства красителей (эозин, эритрозин), содержащих тяжёлые атомы (Br, I), у которых определенными считаются только характеристики дианионной формы. По мере уменьшения рН уменьшается

амплитуда спектра, происходит его батохромный сдвиг. Это связано с увеличением доли анионов, спектр которых смещён в красную область и имеет меньшую амплитуду по сравнению с дианионной формой. Один из способов изучения энергетической структуры молекул, когда экспериментальное исследование затруднено – квантовохимический расчёт.

Красителями или красящими веществами называют интенсивно окрашенные органические соединения, обладающие способностью придавать окраску различного рода материалам. Наибольшее применение красители находят для украшения волокнистых материалов растительного и животного происхождения (хлопок, шерсть, шёлк, лен, кожа, бумага), регенерированной целлюлозы, искусственных и синтетических волокон. Они применяются для окрашивания резины, пластических масс, жиров, восков, мыла, в производстве карандашей, полиграфических красок, лакокрасочных материалов, для получения чернил, туши, в производстве материалов для цветных фотографий и т.д. Из органических красящих веществ в лакокрасочном производстве используются главным образом окрашенные соединения, нерастворимые в воде и в связующих веществах, а также водорастворимые красители, предварительно переведённые в нерастворимые окрашенные соли. Все эти нерастворимые красящие вещества органического происхождения называются органическими пигментами [39–44].

От характера преобразования поглощённой энергии зависит специфика практического использования красителей. Красители, преобразующие поглощённую световую энергию в тепловую и передающие её в окружающую среду в виде тепла, используются именно как красители (в узком смысле этого слова). Красители, преобразующие поглощённую световую энергию в энергию химического процесса превращения веществ (например, галогенидов серебра в фотоэмульсии), используются в производстве кинофотоматериалов в качестве оптических сенсibilизаторов — веществ, повышающих чувствительность фотоплёнки к световым лучам определенной части спектра. Красители, преобразующие частично поглощённую световую энергию в тепловую, а частично

излучающие её в виде световых лучей иной (большей) длины волны, используются в качестве люминофоров и флуоресцентных (оптических) отбеливателей [39–44].

Флуоресценция – люминесценция, затухающая в течении короткого времени после прекращения возбуждения. Более длительная люминесценция называется фосфоресценцией; такое разделение люминесценции устарело и приобрело условный смысл качественных характеристики её длительности. Флуоресценция, как правило, – результат спонтанных квантовых переходов, поэтому её длительность определяется временем жизни возбуждённого состояния. Флуоресценция наблюдается в атомных и молекулярных газах. Многие органические вещества обладают флуоресценцией в жидких и твёрдых растворах, а также в кристаллическом состоянии. В общем случае флуоресценцией называют разрешённый по спину излучательный переход между двумя состояниями одинаковой мультиплетности: между синглетными уровнями  $S_1 \rightarrow S_0$  или триплетными  $T_1 \rightarrow T_2$ . Типичное время жизни такого возбуждённого состояния составляет  $10^{-11}$ – $10^{-6}$  с. Время жизни – это средний период времени, в течение которого флуорофор находится в возбуждённом состоянии. Флуоресцентные спектральные данные обычно представляют в виде спектров испускания. Спектр испускания флуоресценции – это зависимость интенсивности флуоресценции от длин волн (нм) или волновых чисел ( $\text{см}^{-1}$ ). Основное, первое и второе электронные состояния обозначают  $S_0$ ,  $S_1$  и  $S_2$  соответственно. Поглощение и испускание света хорошо иллюстрирует диаграмма Яблонского. Такое представление используется, чтобы наглядно показать мгновенную природу поглощения света. Этот процесс происходит примерно за  $10^{-15}$  с, время, слишком короткое для заметного смещения ядер (принцип Франка-Кондона). За поглощением света обычно следует несколько других процессов. Возбуждение флуорофора, как правило, происходит до некоторого высшего колебательного уровня состояний ( $S_1$  либо  $S_2$ ). За некоторыми редкими исключениями, для молекул в конденсированной фазе характерна быстрая релаксация на самый нижний колебательный уровень состояния  $S_1$ . Этот процесс называется внутренней конверсией и происходит большей частью за  $10^{-12}$  с. Поскольку типичные времена затухания флуоресценции близки к  $10^{-8}$  с, внутренняя

конверсия обычно полностью заканчивается до процесса испускания. Следовательно, испускание флуоресценции чаще всего осуществляется из термически равновесного возбуждённого состояния. Аналогично поглощению обратный переход электронов на самый нижний электронный уровень также приводит к колебательно возбуждённому состоянию [39–44].

Для явления флуоресценции известно несколько основных характеристик. Существуют и исключения, но они редки. Если какая-либо из перечисленных характеристик отсутствует у данного флуорофора, можно сделать вывод о некоторых особых свойствах этого соединения. Как правило, всегда наблюдается сдвиг (стоксов сдвиг) испускания относительно поглощения в сторону больших длин волн, т.е. потеря энергии (исключение — атомы в газовой фазе). Потери энергии между возбуждением и испусканием неизменно наблюдаются для флуоресцирующих молекул в растворах. Одной из основных причин возникновения стоксова сдвига является быстрая релаксация на нижний колебательный уровень состояния  $S_1$ . К тому же обычно происходит переход на возбуждённые колебательные уровни состояния  $S_0$ , что приводит к дополнительной потере колебательной энергии. Вдобавок к этому стоксов сдвиг может быть ещё более увеличен благодаря влияниям растворителя на флуорофоры и реакциям в возбуждённых состояниях. В газовой фазе у атомов и молекул не всегда имеется стоксов сдвиг. Испускание без сдвига наблюдают тогда, когда концентрации газа достаточно малы для того, чтобы возбуждённые молекулы не претерпевали столкновений с другими молекулами до процесса испускания. Такие столкновения приводят к релаксации. В жидкой фазе процессы соударения происходят непрерывно. Спектр испускания флуоресценции обычно не зависит от длины волны возбуждения. При возбуждении на высшие электронные и колебательные уровни избыток энергии быстро расходуется, переводя флуорофор на самый нижний колебательный уровень состояния  $S_1$ . Эта релаксация происходит за время порядка  $10^{-12}$  с и является, по-видимому, результатом сильного перекрытия множества состояний с примерно равными энергиями.

Благодаря такой быстрой релаксации длина волны возбуждения обычно не влияет на спектр испускания [39–44].

Обычно спектр испускания флуоресценции представляет собой зеркальное отражение спектра поглощения (правило Лёвшина), точнее, того поглощения, которое соответствует переходу из  $S_0$  в  $S_1$ . Симметричная природа этих спектров определяется тем, что и поглощение, и испускание обусловлены одними и теми же переходами, а также сходством колебательных энергетических уровней состояний  $S_0$  и  $S_1$ . Для многих молекул различное распределение электронов в состояниях  $S_0$  в  $S_1$  существенно не влияет на эти уровни энергии. Согласно принципу Франка — Кондона, все электронные переходы происходят без изменения межъядерного расстояния. В результате, если данная вероятность перехода (фактор Франка — Кондона) между нулевым и вторым колебательными уровнями максимальна при поглощении, соответствующий переход будет наиболее вероятен также и в испускании. Квантовый выход люминесценции не зависит от длины волны возбуждения (закон Вавилова) [39–44].

В 1871 году знаменитый немецкий химик Адольф Байер сообщил о синтезе интенсивно флуоресцирующего красителя, названного флуоресцеином. Галогенпроизводные гомологи флуоресцеина — эозин, эритрозин. и другие красители также хорошо распространены из-за своих люминесцентных свойств, однако при введении в молекулу тяжёлых атомов, это приводит к снижению квантового выхода флуоресценции двухзарядных анионов  $R^{2-}$  этих соединений. «Дигидроксиксантеновые красители получают из ж-дигидроксипроизводных ароматического ряда». Одним из ярчайших представителей предоставленного ароматического ряда считается флуоресцеин. Эозин (тетрабромфлуоресцеин) является ярким розовым красителем. Его получают при бромировании флуоресцеина в спиртовой среде, в присутствии окислителей ( $NaClO_3$ ) и при кипении для того, чтобы уменьшить расход брома. Окраски на шёлке обладают красивой яркой жёлтой флуоресценцией. Эритрозин (тетрайодфлуоресцеин) является ярким красным красителем. Его получают подобным способом, используют йод, а в качестве окислителя — йодат калия. По сравнению с

флуоресцеином, устойчивость окрасок этих красителей выше, однако не сильно. «Поэтому главные области их применения — производство чернил, художественных красок (в виде лаков, точнее солей с металлами), губной помады и румян, крашение бумаги и пищевых продуктов, а также в качестве сенсбилизаторов в фотографии, в производстве цветных карандашей» [39–44].

В зависимости от pH растворителя флуоресцеин проявляет многообразие протолитических и таутомерных форм (рисунок 2.1), отличающихся структурой хромофора и спектральными свойствами. Именно поэтому флуоресцеин хорошо подходит для исследований, связанных с детектированием макро- и микроскопических изменений кислотности [35,45] в том числе при ионном связывании с положительно заряженными биологическими макромолекулами и полимерами. За исключением экстремально кислых и щелочных сред диссоциация флуоресцеина ( $R$ ) в водных растворах протекает в три ступени [46]:



где константа  $K_{a(1-z)}$  отвечает равновесию  $H_iR^z \leftrightarrow H_{i-1}R^{z-1} + H^+$ .

Моделирование структуры, электронных и колебательных спектров дианионов ( $R^{2-}$ ) и других протолитических форм флуоресцеина в разных растворителях широко представлено в литературе [47,48,57–62,49–56]. Симметрия молекулы является важной характеристикой при моделировании спектральных свойств. Например, для дианиона флуоресцеина интенсивная флуоресценция связана с его симметрией [59], а протонирование уменьшает симметрию молекулы, что увеличивает число разрешённых электронных состояний и вероятность безызлучательных процессов.

Ранее расчёты флуоресцеина проводились как полуэмпирическими методами (ZINDO [47], INDO/S [48]), так и с помощью DFT методов [49,50,59–62,51–58]. В последнем случае использовались различные функционалы (B3PW91 [59], BP86 [55], B3LYP [53]), базисы (6-31G\*\* [55], 6-311G\*\* [58], 6-311G\*\*++ [48], LANI2DZ

[53]) и способы учёта растворителя в неявном (SCRF-PCM [55], IEF-PCM [48] [53]) и явном виде [48]. Результаты расчётов основной полосы поглощения дианиона флуоресцеина (в зависимости от функционала, базиса и модели учёта растворителя) лежат в пределах от 421-453 нм для газовой фазы, 441-470 нм в воде (экспериментальное значение максимума поглощения составляет 490 нм). Учёт растворителя по сравнению с газовой фазой даёт красный сдвиг до 10 нм. Увеличение базисного набора через добавление гауссовых и диффузных функций позволяет улучшить результат на 10-15 нм. В итоге все манипуляции с базисами и моделями растворителя суммарно дают сдвиг до 25 нм относительно газовой фазы, это, тем не менее, нельзя считать удовлетворительным при сопоставлении с экспериментальными данными, если стоит задача расшифровать сложный контур в спектрах поглощения и флуоресценции.

Спектры поглощения и испускания флуоресцеина в широком интервале pH в видимой области могут быть легко измерены или взяты, например, из работ [63] [64] [46]. Однако корректное сопоставление этих результатов с теоретическими связано с преодолением ряда проблем: широкие и зачастую перекрывающиеся вибронные полосы поглощения и испускания различных протолитических и таутомерных форм (рисунок 2.1) затрудняют соотнесение экспериментальных и теоретических данных для чисто электронных переходов; различные протолитические и таутомерные формы могут присутствовать в растворе одновременно с различным вкладом [46,63]; конкуренция излучательного процесса и переноса протона в возбуждённом состоянии может приводить к тому, что поглощает одна протолитическая форма, а излучает – другая [46,63,64].

Для преодоления указанных трудностей и повышения информативности совместного использования спектральных и теоретических методов приходится использовать новые подходы. В данной работе найден оптимальный по результативности квантовохимический способ расчёта молекулы флуоресцеина. Для определения количества флуоресцирующих ионных форм использован анализ распределения положения электронного перехода в широком диапазоне pH. Метод линейной регрессии положения максимумов поглощения и испускания

экспериментальных и рассчитанных электронных переходов использован для выбора реализуемых экспериментально наборов таутомерных форм.

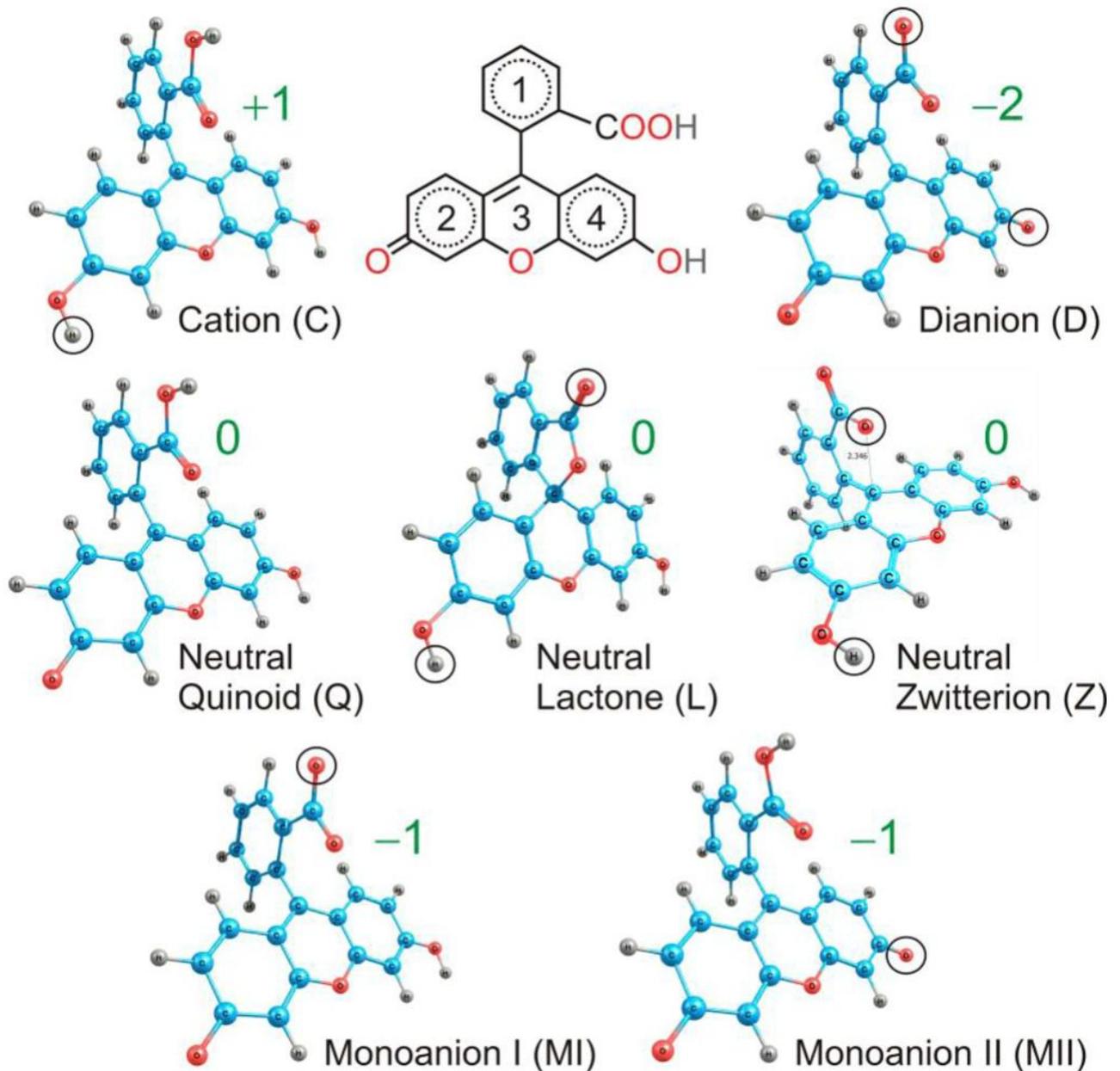


Рисунок 2.1. Структура ионных форм флуоресцеина. Окружностью обведены отличающиеся части протонированных форм от хиноидной формы

При вариации pH флуоресцеин изменяет свою ионную форму в соответствии со значением протолитических констант равновесия (2.1) - (2.3). Учитывая значения констант, а также результатов работы [46] можно выделить четыре значения pH (10.5, 5, 3, 0.5), при которых в основном состоянии формируется преимущественно та или иная ионная форма. Спектры поглощения при данных pH представлены на рисунок 2.2 a-d. Наличие нескольких максимумов и/или плеч в

одном контуре может свидетельствовать: 1) о присутствии колебательной структуры рассматриваемого электронно-колебательного состояния; 2) об одновременном существовании нескольких ионных и/или таутомерных форм с характерными максимумами; 3) о наложении высоковозбужденных электронно-колебательных состояний. В работе ограничились анализом первых полос поглощения  $S_0 \rightarrow S_1$  выше 370 нм, так как анализ высоковозбужденных состояний  $S_0 \rightarrow S_n$  сопряжён с проблемой их однозначного соотнесения с уровнем возбуждения.

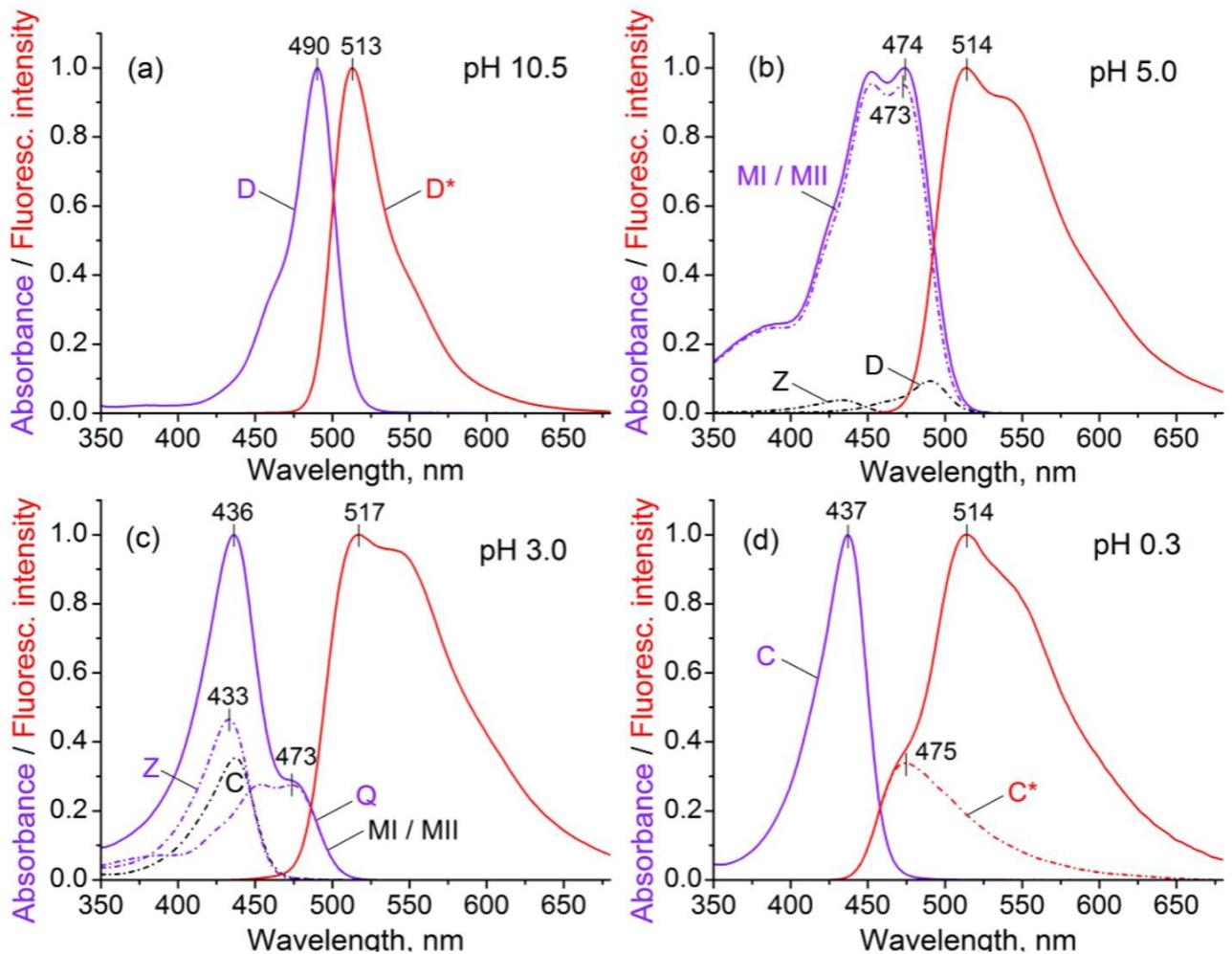


Рисунок 2.2. Экспериментальные спектры поглощения и испускания флуоресцеина при различных значениях pH. Фиолетовая линия – спектры поглощения, красная – флуоресценция. Теоретическое разложение комплексного спектра на индивидуальные таутомерные формы – пунктирные линии

При анализе спектров поглощения различных ионных можно опираться на оригинальные данные, а также на данные работы [46], где использован метод глобального анализа формы контуров флуоресцеина при различных рН. При рН 10.5 (рисунок 2.2 а) флуоресцеин находится в форме дианиона (D) с максимумом 490 нм. Коротковолновое плечо в области 465 нм в спектрах поглощения D, имеет, согласно устоявшемуся мнению, колебательную природу и проявляется зеркально симметричных спектрах испускания D. При рН около 5 (рисунок 2.2 б) флуоресцеин имеет два максимума (452 и 474 нм), однако именно длинноволновый пик соотносят с основным поглощением моноанионной формы. Плечо на 385 нм, по-видимому, принадлежит одному из высоковозбужденных состояний. При рН 3 (рисунок 2.2 с) флуоресцеин находится в нейтральной форме, которая может быть представлена несколькими таутомерами (L, Z, Q), при этом отчётливо выделяются длины волн 436 и 477 нм. Результаты [46] позволили соотнести коротковолновый пик с Z формой, а длинноволновый с Q формой (лактонная форма бесцветна). Катионная форма (C) при рН 0.5 имеет максимум на 437 нм (рисунок 2.2 d). Дополнительно к нашим результатам в работе [46] было показано, что спектр цвиттериона близок к спектру катиона, но сдвинут в синюю область на 3 нм, а хиноидная форма близка к моноанионной. Кроме того, нейтральная форма представлена смесью L (70%), Z (15%) и Q (15%) нейтральных форм.

Ситуацию с соотношением пиков испускании к различным ионным состояниям осложняет конкуренция излучательного процесса и переноса протона в возбуждённом состоянии, которая может приводить к тому, что поглощает одна протолитическая форма, а излучает – другая. В литературе нет единого мнения по поводу числа флуоресцирующих форм. Так автор [63] полагает, что испускают только катионная, моноанионная и дианионная формы (нейтральная форма в возбуждённом состоянии переходит в моноанионную). Авторы работ [46] [64] утверждают, что моноанионная хиноидная форма флуоресцеина также флуоресцирует, следовательно, излучают четыре ионных формы.

Не вызывает сомнения положение максимума испускания дианиона на 513 нм. Спектр испускания катиона также может быть получен в «чистом» виде в более

кислых растворах, чем рН 0.5, где пик катиона проявляется в виде плеча в районе 470 нм [63]. Максимум испускания для остальных ионных форм находится в районе 515-517 нм (рисунок 2.2, b-d), однако сам контур значительно уширен по сравнению с контуром дианиона. Например, при рН 5 наблюдается уширение контура вблизи 494 нм и появление плеча в районе 550 нм, которое при уменьшении рН постепенно исчезает. Такая близость значений максимума для ионных форм, кроме D и C, может быть связана с тем, что широкий спектр испускания представляется собой совокупность спектров испускания нескольких ионных форм с различным квантовым выходом [63], из которых дианионная имеет максимальное значение.

## **§2.2. КВАНТОВОХИМИЧЕСКИЕ РАСЧЁТЫ ТАУТОМЕРНЫХ ФОРМ ФЛУОРЕСЦЕИНА**

Для разработки общего подхода к моделированию различных протолитических форм флуоресцеина были проведено сравнение результативности использования различных базисов и способа учёта растворителя на примере дианиона флуоресцеина, т.к. данная ионная форма может быть получена экспериментально в «чистом» виде. Квантовохимические расчёты ионных форм флуоресцеина проводились с помощью метода функционала плотности B3LYP. Для вычисления длин волн использовали метод TDDFT. Для учёта влияния растворителя (воды) использовали модель поляризованного континуума (PCM) Томаса, были проведены расчёты спектров как с учётом равновесной сольватации (PCM), так и без (PCM\* – см. главу 1).

Расчёты проводились следующим образом. Атомная структура дианиона флуоресцеина была полностью оптимизирована для основного состояния в симметрии  $C_1$  с использованием B3LYP функционала как в газовой фазе, так и с учётом растворителя. Затем на основании данной геометрии рассчитывались спектры поглощения с помощью TD. Для PCM геометрии в основном состоянии

проведены расчёты спектров, как с учётом равновесной сольватации (PCM), так и без (PCM\*) (рисунок 2.3 а). Далее на основании полученных геометрий из основного состояния осуществляли полную оптимизацию структуры в возбуждённом состоянии в симметрии  $C_1$  с использованием B3LYP функционала в газовой фазе. При учёте воды отдельно искали геометрию при равновесной сольватации (PCM), так и без (PCM\*). Всё это проводил последовательно в 6-31(p,d), 6-311(p,d), 6-311(p,d)++, cc-pVDZ, aug-cc-pVDZ базисах (рисунок 2.3 б).

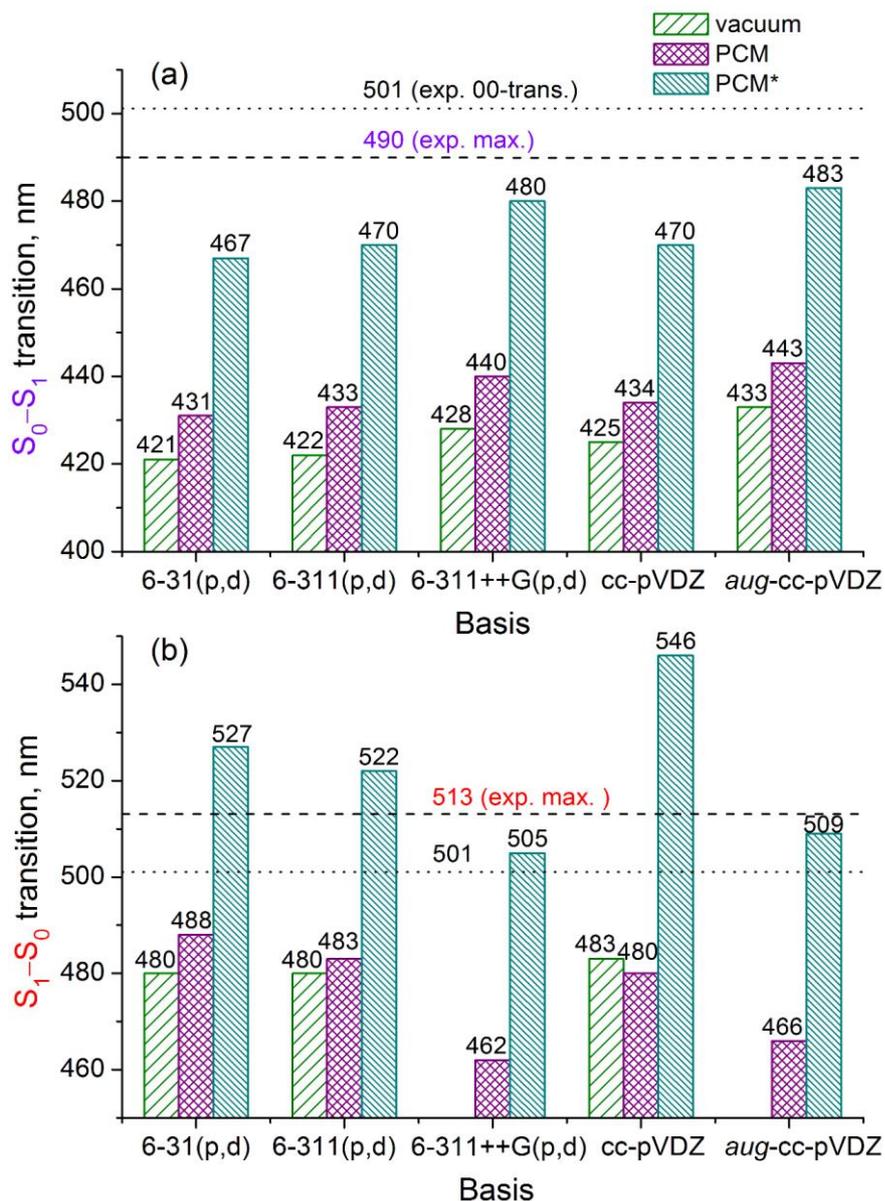


Рисунок 2.3. Результаты расчёта положения перехода  $S_0 \rightarrow S_1$  (а) и  $S_1 \rightarrow S_0$  (б) дианиона флуоресцеина в различных базисах с учётом растворителя методом B3LYP. Экспериментальные значения соответствуют максимумам в спектрах поглощения и испускания

С ростом базисного набора для каждого типа расчёта полученная длина волны перехода  $S_0 \rightarrow S_1$  увеличивается и приближается к экспериментально наблюдаемой величине (рисунок 2.3 а). Аналогичная тенденция наблюдается и при переходе от вакуума к РСМ моделям. При этом резкий скачок расчётных величин (до 40 нм) и их приближение к экспериментальным данным происходит в случае применения адиабатического приближения. Расчёты показывают важность учёта «диффузных» функций, которые используют при моделировании анионов, возбуждённых состояний и слабых взаимодействий. Этот эффект для молекулы дианиона флуоресцеина особенно хорошо виден при переходе от базиса 6-311(p,d) к 6-311(p,d)++: приближение к экспериментальному значению на 6, 7, 10 нм для вакуума, РСМ и РСМ\* соответственно, а при переходе от базиса cc-pVDZ к aug-cc-pVDZ: приближение к экспериментальному значению на 8, 7, 13 нм для вакуума, РСМ и РСМ\* соответственно (рисунок 2.3 а). При этом простое увеличение базисных функций (от 6-31(p,d) до 6-311(p,d)) практически не приводит к улучшению результата расчёта. Таким образом, по результатам расчёта длины волны перехода  $S_0 \rightarrow S_1$  флуоресцеина лучшим базисом для дианиона является aug-cc-pVDZ в приближении РСМ\*. Для других ионных форм флуоресцеина (с зарядом  $-1 e^-$  и тем более нейтральных молекул и катионов) преимущество aug-cc-pVDZ и 6-311(p,d)++ над базисом 6-31(p,d) будет небольшим. В целом все результаты предсказуемо улучшаются при росте базисных наборов. Отдельно был произведён расчёт в базисе РСМ\*/B3LYP/aug-cc-pVTZ в геометрии, полученной в базисе aug-cc-pVDZ. Различие по всем длинам волнам между этими базисами составляет не более 2 нм, что может говорить о насыщении базисного набора.

При расчёте переходов с переносом заряда хорошо себя зарекомендовали LC-функционалы (LC-BOP, CAM-B3LYP [4]). Для дианиона флуоресцеина была сделана проверка на основе этих функционалов, они неизменно показывали результаты, худшие по сравнению с B3LYP. Подобная ситуация наблюдается в работе Zhou [52], где был использован функционал CAM-B3LYP, который дал величину перехода  $S_0 \rightarrow S_1$  в 439 нм (2.83 eV), при этом отстройка от эксперимента составила 0.31 eV (2.52 eV из эксперимента [25]). Дополнительно были выполнены

расчёты для ионной формы МI с использованием CAM-B3LYP, где также результаты оказались хуже по сравнению с B3LYP на 0,3 eV. Для переходов с переносом заряда также существует параметр  $\Lambda$  [65], который является критерием для разделения валентных состояний от переходов с переносом заряда и ридберговских переходов. Локальные возбуждения имеют относительно большое перекрытие,  $0,45 < \Lambda < 0,89$ , что указывает на то, что занятые и виртуальные орбитали, участвующие в возбуждении, занимают аналогичные области пространства. Для все рассчитанных переходов  $0,50 < \Lambda < 0,75$ , что говорит о том, что перенос заряда не играет существенной роли в молекуле флуоресцеина при поглощении или излучении. Это находит подтверждение в работе Zhang [66], где экспериментально показано, что фотоиндуцированный перенос заряда для флуоресцеина играет наименьшую роль из всего ряда ксантеновых красителей.

Таким образом, для основного состояния поиск геометрии таутомерных форм флуоресцеина в симметрии  $C_1$  в дальнейшем осуществлялся с помощью PCM/B3LYP/aug-cc-pVDZ, при этом длину волны перехода  $S_0 \rightarrow S_1$  и силы осцилляторов всех ионных форм получали с помощью TD/PCM\*/B3LYP/aug-cc-pVDZ. Для возбуждённого состояния флуоресцеина геометрию искали с помощью PCM\*/B3LYP/aug-cc-pVDZ, при этом длину волны перехода  $S_1 \rightarrow S_0$  с помощью TD/PCM\*/B3LYP/aug-cc-pVDZ.

Изменение зарядового состояния флуоресцеина приводит к перераспределению частичных зарядов атомов всей молекулы. Из-за большого объёма данных удобнее рассматривать заряды не на отдельных атомах, а на группах атомов. Для анализа распределения зарядов в структуре красителя выбрали четыре цикла: 1, 2, 3, 4 (рисунок в табл. 2.1). Общий заряд цикла получали путём сложения частичных зарядов (по Лёвдину) атомов углерода и кислорода (цикла 3), входящих в данный цикл (табл. 2.1). Исходя из распределения зарядов по циклам можно найти общие черты, по которым ионные формы флуоресцеина можно разбить на четыре группы (табл. 2.1). К первой группе мы отнесли формы D и MII, у которых наблюдается большой отрицательный заряд на трицикле ( $-1,1 \div -1,2 e^-$ ). Ко второй группе можно отнести MI и Q формы, у которых значения зарядов

на циклах 2-4 близки ( $-0,1 \div -0,2 e^-$ ). К третьей группе – Z и C, где наблюдается большой положительный заряд на трицикле. Лактонная форма представлена распределением зарядов на трициклах, отличающихся от остальных ионных форм, близким к нулю. Обнаруженные закономерности распределения зарядов на трицикле предположительно должны проявиться в сходстве/различии спектров поглощения различных ионных форм.

Таблица 2.1. Распределение зарядов ( $e^-$ ) на циклах по Лёвдину в структурах ионных форм флуоресцеина в основном состоянии, PCM/B3LYP/*aug-cc-pVDZ*

	Группа	Ионная форма	Заряд				
			Трицикл	Цикл			
				2+3+4	1	2	3
1	D (2-)	D (2-)	-1,16	-0,85	-0,38	-0,40	-0,38
		МП (1-)	-1,07	0,07	-0,34	-0,39	-0,34
2	MI (1-)	MI (1-)	-0,21	-0,79	0,31	-0,29	-0,23
		Q (0)	-0,11	0,11	0,33	-0,27	-0,17
3	C (1+)	C (1+)	0,89	0,11	0,31	0,27	0,31
		Z (0)	0,61	-0,61	0,40	-0,20	0,41
4	L (0)	L (0)	0,07	-0,07	0,25	-0,43	0,25

Молекулярные орбитали, участвующие в переходах, показаны на рисунке 2.4. Формы D и МП (группа 1) имеют схожие занятые и виртуальные орбитали, локализованные на тройном хромоформном кольце. То же самое верно для форм MI и Q (группа 2), а также для формы C (группа 3). Локализация участвующих в возбуждении орбиталей на хромофоре приводит к большим значениям силы осцилляторов (от 0,84 до 1,16) для этих форм. Напротив, в Z-форме (группа 3) только виртуальная орбиталь центрируется на хромофоре, в то время как занятая орбиталь расположена в основном на кольце 1, производя гораздо меньшие значения силы осциллятора 0,18. Наконец, занятые и виртуальные орбитали L-формы (группа 4) полностью локализованы на хромофоре и кольце 1 соответственно. Такая локализация даёт очень маленькие силы осциллятора – 0,09. Существует корреляция между силами осцилляторов и экспериментальными

коэффициентами экстинкции, за исключением хиноидной Q-формы (таблица 2.2).

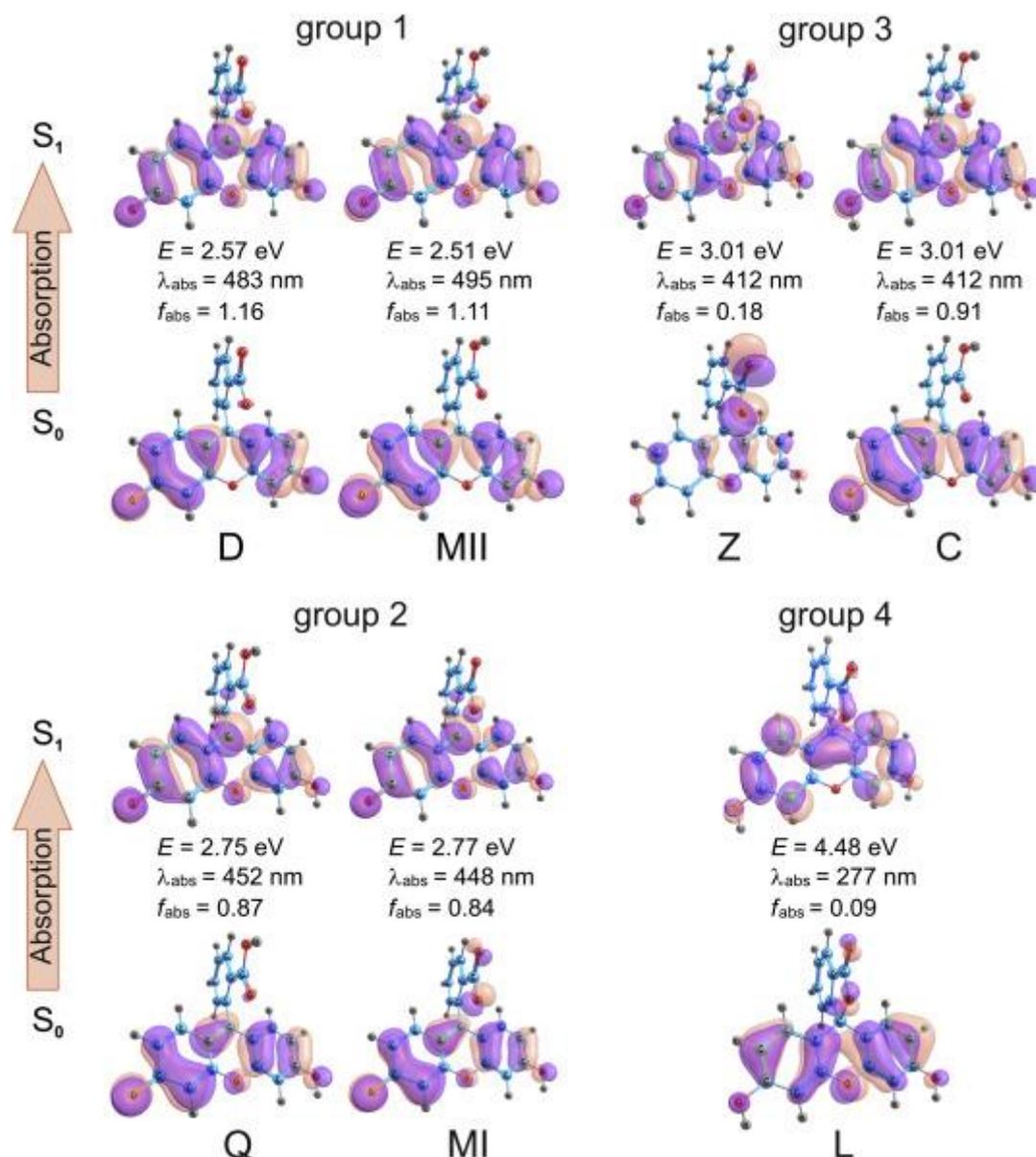


Рисунок 2.4 Пары занятых и виртуальных молекулярных орбиталей, участвующие в возбуждениях при геометрии основного состояния. Показаны энергии возбуждения ( $E$ ), соответствующие длины волн поглощения ( $\lambda_{abs}$ ) и силы осцилляторов ( $f_{abs}$ )

Электронное возбуждение приводит к искажению геометрии основного состояния, в основном влияя на несколько двугранных углов во всех протолитических / таутомерных формах. В возбуждённом состоянии формы Q и MI являются наиболее искажёнными, что объясняет их большой стоксов сдвиг (103 и 131 нм) по сравнению с другими формами (26–55 нм), как видно из рассчитанных длин волн в таблице 1. А значительный стоксов сдвиг в форме Q

согласуется с более ранними предсказаниями расчётов LR-PCM/TD-B3LYP (130 нм) [52].

Результаты квантовохимических расчётов синглетных электронных переходов  $S_0 \rightarrow S_1$  и  $S_1 \rightarrow S_0$  были сопоставлены с максимумами длин волн спектров поглощения и испускания разных ионных форм флуоресцеина. Соответствующие параметры были суммированы в таблице 2.2.

Таблица 2.2. Теоретические и экспериментальные оптические свойства ионных форм флуоресцеина

Форма	Заряд	Поглощение					Флуоресценция		
		Теория <sup>a</sup>			Эксп. <sup>b</sup>		Теория <sup>a</sup>		Эксп. <sup>b</sup>
		Группа (заряд) <sup>c</sup>	$\lambda_{\text{abs}}$ , нм	$f_{\text{abs}}$	$\lambda_{\text{abs\_max}}$ , нм	$\epsilon_{\text{max}}$ , $10^4 \text{ мол л}^{-1} \text{ см}^{-1}$	$\lambda_{\text{fl}}$ , нм	$f_{\text{fl}}$	$\lambda_{\text{fl\_max}}$ , нм
D	-2	1 (-1.16)	483	1.16	490	8.0	509	1.05	513
MI	-1	2 (-0.21)	448	0.84	474	2.9	483	0.69	? <sup>d</sup>
MP	-1	1 (-1.07)	495	1.11			626	0.35	—
L	0	4 (0.07)	277	0.09	—	—	284	0.14	—
Z	0	3 (0.61)	412	0.18	436	1.3	467	0.06	? <sup>d</sup>
Q	0	2 (-0.11)	452	0.87	477	0.4	555	0.57	? <sup>d</sup>
C	+1	3 (0.89)	412	0.91	437	5.3	453	0.14	473 <sup>e</sup>

<sup>a</sup>B3LYP/aug-cc-pVDZ/PCM\*,  $\lambda_{\text{abs}}$  и  $f_{\text{abs}}$  длина волны поглощения (abs) и сила осциллятора перехода  $S_0 \rightarrow S_1$ , соответственно;  $\lambda_{\text{fl}}$  и  $f_{\text{fl}}$  длина волны флуоресценции (fl) и сила осциллятора перехода  $S_1 \rightarrow S_0$  соответственно. <sup>b</sup>В данной работе измерено:  $\lambda_{\text{abs\_max}}$  и  $\lambda_{\text{fl\_max}}$  - максимальные длины волн в спектрах поглощения и флуоресценции, соответственно;  $\epsilon_{\text{max}}$  - молярный коэффициент экстинкции при  $\lambda_{\text{abs\_max}}$ . <sup>c</sup>Протолитические формы сгруппированы в соответствии с зарядом по Лёвдину на трицикле в основном состоянии. <sup>d</sup>Значения  $\lambda_{\text{fl\_max}}$  для моноанионной, хиноидной и цвиттерионной форм, отмеченные знаком «?» не может быть определен однозначно. <sup>e</sup>Взято из [63].

В спектрах поглощения наблюдается однозначное соотнесение результатов расчёта и эксперимента во всех случаях, за исключением лактонной формы. Полосы поглощения лактонной формы флуоресцеина расположены в УФ области, где также лежат высоковозбужденные состояния красителей, поэтому сопоставить теорию с экспериментом не представляется возможным. Для моноанионной формы

таутомерам MI и MII была предположительно сопоставлена одна и та же длина волны. В спектрах испускания однозначное соответствие экспериментальных и теоретических результатов было установлено для дианионной и катионной форм. Для моноанионной, хиноидной и цвитерионной форм экспериментальные значения длин волн испускания обозначены «?» (таблица 2.2).

Для поиска ответственных форм в экспериментальном контуре флуоресценции был применён подход, который используют для верификации методов в теории функционала плотности. На рисунке 2.5 приведена зависимость экспериментальных длин волн поглощения D, MI, Q, Z, C и испускания D, C от расчётных, которая оказалась линейной с высоким линейным коэффициентом корреляции  $R = 0.986$ . Найденная линейная регрессия говорит о корректности единого теоретического подхода при описании различных ионных форм флуоресцеина.

Одинаковые спектральные свойства в поглощении для Z и C форм обнаружены как в расчёте (412 нм), так и в эксперименте (436, 437 нм). Близкие спектральные свойства в поглощении показывают MI и Q формы: 448, 452 нм – расчёт (разница 4 нм), 474 и 477 нм – эксперимент (разница 3 нм), соответственно. Подобная разница (около 2 нм) была обнаружена в положении 00-перехода между моноанионной и нейтральной формами при совместном анализе спектров поглощения и испускания (рисунок 2.5). Полученное согласие между электронной структурой, рассчитанными спектральными характеристиками и экспериментальными данными говорит об адекватности теоретического подхода.

Найденные совпадения спектральных свойств MI и Q форм, а также C и Z форм соответствуют группам 2 и 3 (таблица 2.1) по заряду на трицикле. Совпадение в расчётах заряда на трицикле наблюдается у D и MII (группа 1, таблица 2.1), что соответствует близким длинам волн в расчётах (483, 495 нм, соответственно). Обнаруженные закономерности говорят о том, что именно трицикл флуоресцеина является хромофором. Найденная линейная регрессия может быть использована для прояснения «спорных» моментов, касающихся выбора таутомерных форм и экспериментальных значений электронных переходов. Например, как было

показано [64] при равновесии (2) из двух таутомерных форм моноаниона (MI, MII) экспериментально реализуется MI форма с длиной волны 474 нм. Точка, соответствующая форме MI, ложится на линию регрессии, что является дополнительным аргументом в пользу существования данной таутомерной формы. MII выпадает из найденной линейной зависимости (рисунок 2.5).

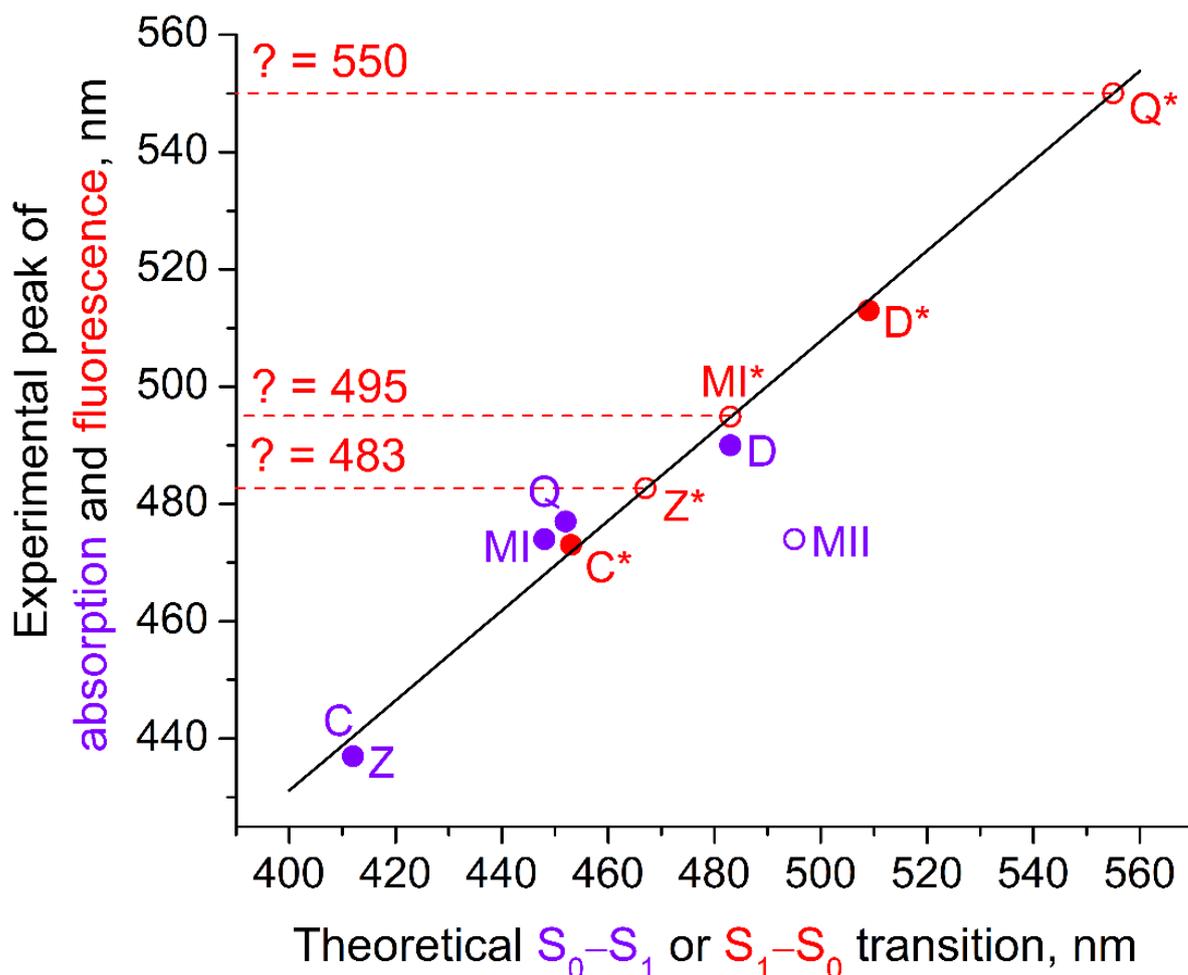


Рисунок 2.5. Корреляция между расчётными и экспериментальными длинами волн в спектрах поглощения (тёмные фиолетовые кружки) и флуоресценции (закрашенные красные кружки) различных протолитических и таутомерных форм. Пустые кружки (обсуждаемые результаты) показывают теоретические прогнозы для случаев, когда экспериментальные значения недоступны (флуоресценция для ионных форм MI\*, Q\* и Z\*)

С использованием полученной линейной корреляции было предложено решение для определения экспериментального значения длин волн испускания MI, Q и Z («?» в таблице 2.2). Определенные методом экстраполяции линейной

зависимости длины волн испускания хиноида, моноаниона и цвиттериона составляют 549, 494 и 482 нм, соответственно. Линии 549 и 494 нм действительно присутствуют в сложном контуре испускания (рисунок 2.6). Вклад полосы цвиттериона на 482 нм незначителен. Это совпадает с мнением авторов [46,64], которые полагают, что испускание цвиттериона нельзя наблюдать из-за перехода этой формы в возбуждённом состоянии в катионную и моноанионную.

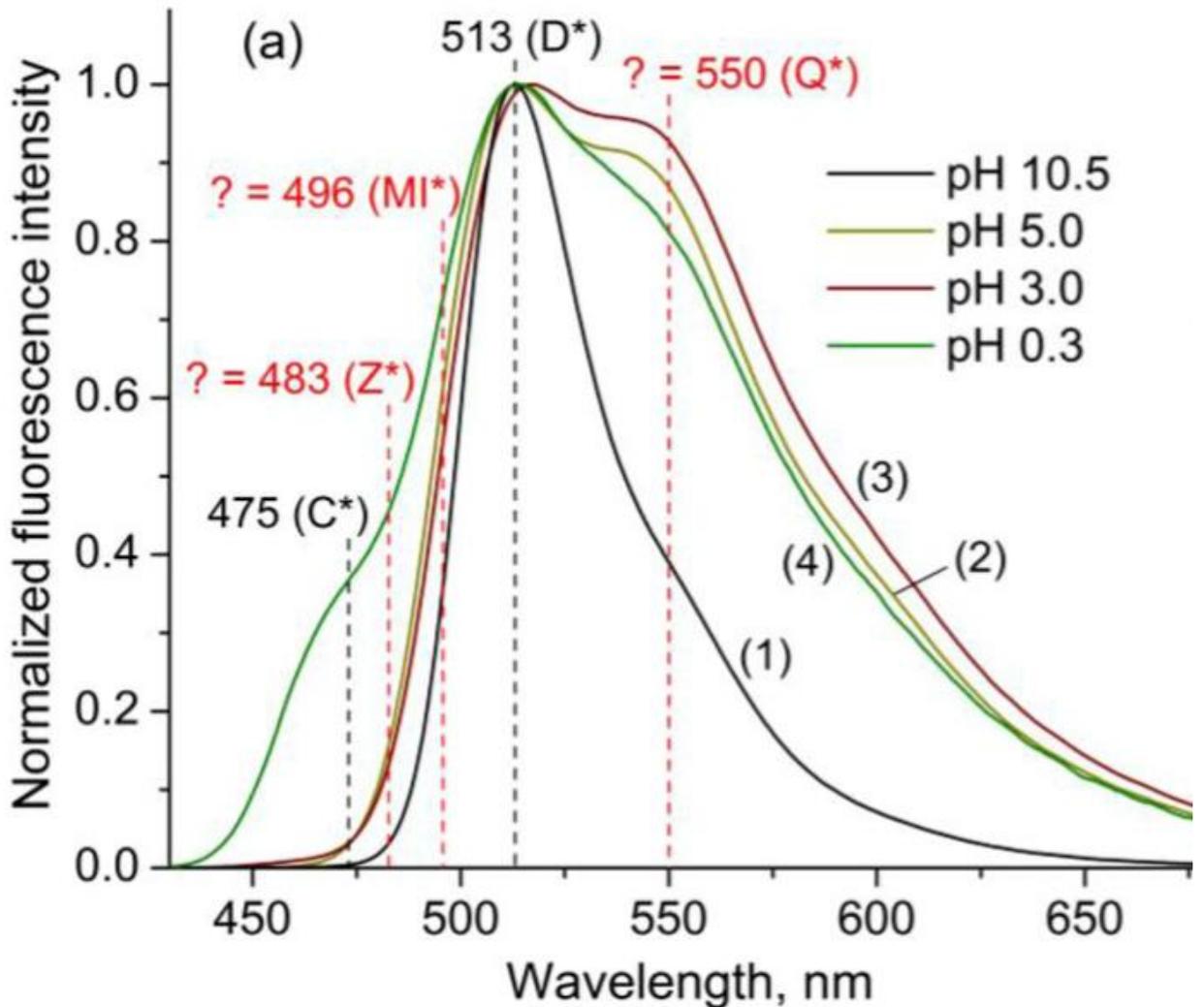


Рисунок 2.6 Наложение предсказанных (рисунок 2.5) длин волн для MI, Z, Q на экспериментальные спектры испускания флуоресцеина при разных рН. Пики для форм MI\*, Z\* и Q\* определяются с использованием линейной регрессии

Резюмируя, можно сказать, что при  $0,5 < \text{pH} < 6$ , форму контура испускания можно интерпретировать как результат испускания различных ионных форм, сформировавшихся как в результате прямого возбуждения, так и в результате переноса протона во флуоресцентном состоянии флуоресцеина. Так, уширение в

области 495 нм можно отнести к присутствию MI формы. Пик в районе 550 нм можно соотнести с появлением хиноидной формы, а пик 474 нм при низких рН ( $\text{pH} < 0,5$ ) с катионной формой. При этом доминирующей флуоресцентной формой в широком интервале рН остаётся дианионная форма с испусканием на 513 нм, положение которой во многом определяет максимум испускания смеси ионных форм.

### **§2.3. СПЕКТРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ИОННЫХ ФОРМ ЭОЗИНА И ЭРИТРОЗИНА**

Важным фактором влияния электронодонорных и электроноакцепторных заместителей на электронный спектр поглощения и вероятность электронных переходов является снятие запретов по симметрии. Введение заместителей в общем случае снимает запрет и увеличивает интенсивность поглощения света, что наблюдается при галогензамещении водорода на бром и йод для флуоресцеиновых красителей. В зависимости от рН флуоресцеин и его галогензамещённые гомологи в основном состоянии в водном растворе могут существовать в четырёх различных ионных формах: дианион при  $14 > \text{pH} > 4,0-4,5$ , моноанион при  $8,5-9,0 > \text{pH} > 2,0-2,5$ , нейтральная молекула при  $6,0-6,5 > \text{pH} > 0-0,5$  и катион при  $4,0-4,5 > \text{pH} > 0$  (таблица 2.3). Только для двух форм флуоресцентных красителей (дианион и катион) можно измерить спектр поглощения отдельной ионной формы: при очень щелочных и очень кислых условиях. Для моноанионных и нейтральных частиц можно выбрать рН, при котором данная форма будет преобладать. При рН 3,0 нейтральная форма представляет основную вклад (82–85%), в то время как моноанионная и катионная формы составляют 3–4% и 11–14% соответственно. При рН 0,3 преобладает катион (> 98–99%). При рН 5,0 флуоресцеин в основном существует в виде моноаниона (81–83%), а остальные доли нейтральных молекул (13–14%) и дианиона (3%) довольно низки. При рН 3,0 нейтральная форма

представляет основную вклад (82–85%), в то время как моноанионная и катионная формы составляют 3–4% и 11–14% соответственно [67,68].

При расчёте спектральных характеристик важно знать, сопровождаются ли оптические переходы переносом заряда, что в свою очередь влияет на выбор вида функционала. Критерием для разделения локальных переходов от переходов с переносом заряда и ридберговских переходов является анализ так называемого  $\Lambda$ -параметра (см. выше). Анализировался  $\Lambda$ -параметр, который является критерием для разделения локальных переходов от переходов с переносом заряда и от ридберговских переходов. Для всех рассчитанных структур «лямбда-параметр» был в пределах  $0,51 < \Lambda < 0,71$ , это означает что перенос заряда не играет существенной роли в данных молекулах при поглощении и излучении.

Таблица 2.3. Спектральные теоретические и экспериментальные характеристики эозина и эритрозина в воде

Протолитические формы	Поглощение				Испускание		Стоксов сдвиг
	Расчёт		Эксперимент		Расчёт		Расчёт
	$^a\lambda_{S_0 \rightarrow S_1}$ , нм	$^b f_{S_0 \rightarrow S_1}$	$^c \lambda_{\text{макс}}$ , нм	$d_{\epsilon}^{\text{макс}}$ , $10^3$ ЛМОНЬ <sup>-1</sup> . СМ <sup>-1</sup>	$^e \lambda_{S_1 \rightarrow S_0}$ , нм	$^f f_{S_1 \rightarrow S_0}$	$^g \tilde{\nu}$ , СМ <sup>-1</sup>
Эозин							
D	493	1,20	515	96,7	510	1,17	680
MI	471	0,76	517-519	81,9	518	0,33	1930
MP	507	1,24			576	0,83	2360
L	288	0,11	480-485	8,5	295	0,07	820
Q	478	0,77			584	0,47	3800
Z	–	–			–	–	–
C	442	0,89	453-455	44,5	461	0,80	930
Эритрозин							
D	498	1,21	525	94,6	522	1,13	920
MI	477	0,75	530	91,9	526	0,57	1950
MP	512	1,25			596	0,76	2750
L	279	0,90	500	11,4	290	0,79	1360
Q	491	0,70			556	0,38	2380
Z	–	–			–	–	–
C	469	0,82	462	45,2	487	0,70	790

где  $^a \lambda_{S_0 \rightarrow S_1}$  и  $^b f_{S_0 \rightarrow S_1}$  длина волны поглощения и сила осциллятора перехода  $S_0 \rightarrow S_1$  соответственно;  $^c \lambda_{\text{макс}}$  экспериментальная длина волны поглощения;  $d_{\epsilon}^{\text{макс}}$  – в  $^e \lambda_{S_1 \rightarrow S_0}$ , and  $^f f_{S_1 \rightarrow S_0}$  длина волны флуоресценции и сила осциллятора перехода  $S_1 \rightarrow S_0$  соответственно

Дианионная форма D в возбуждённом состоянии, которая преобладает при pH 10,5, излучает при 513 нм. При pH 0,3 видимое плечо в области 470–480 нм относится к форме C\*. В очень кислых условиях (5–10 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> или HCl) это плечо становится доминирующим пиком при 475 нм). Максимумы флуоресценции в диапазоне 0,3 < pH < 5,0 лежат около 514–517 нм, при этом спектры значительно уширены относительно спектра дианиона. Например, при pH 5,0 наблюдается уширение около 480–500 нм и плечо около 550 нм, которое постепенно исчезает при уменьшении pH. Эти тенденции указывают на то, что при промежуточном значении pH спектр флуоресценции флуоресцеина содержит вклады нескольких ионных форм.

Нет экспериментальных данных для лактонной формы (поглощает в УФ-диапазоне), и измеренный спектр моноаниона не даёт возможности различить таутомеры M<sup>I</sup> и M<sup>II</sup>. Для спектров флуоресценции однозначное соответствие экспериментальных и теоретических результатов может быть установлено только для дианионной и катионной форм. Наличие нескольких максимумов и плеч в этих спектрах может свидетельствовать: а) о наличии колебаний, б) о сосуществовании нескольких таутомерных форм с различными характеристическими максимумами и в) о суперпозиции переходов с высших электронных состояний.

Сравнение результатов расчёта спектров поглощения с результатами эксперимента представлено на рисунках 2.7 и 2.8. Нейтральные формы соединений, экспериментально представлены в виде равновесной смеси хиноида и бесцветного лактона. Из рисунков 2.7 и 2.8 видно, что все положения измеренных спектров (формы D, M, Q и C) хорошо коррелируют с рассчитанными спектрами поглощения, а также для флуоресценции (формы D\*) для эозина и эритрозина. Как видно из рисунков 2.7 и 2.8, точка M<sup>II</sup> лежит рядом с линией регрессии – признак того, что форма M<sup>II</sup> присутствует в растворе, тогда как точка M<sup>I</sup> выпадает из регрессии, как для эозина, так и для эритрозина. Длина волны поглощения для нейтральной группы судя по расчётам подходит форма хиноида Q.

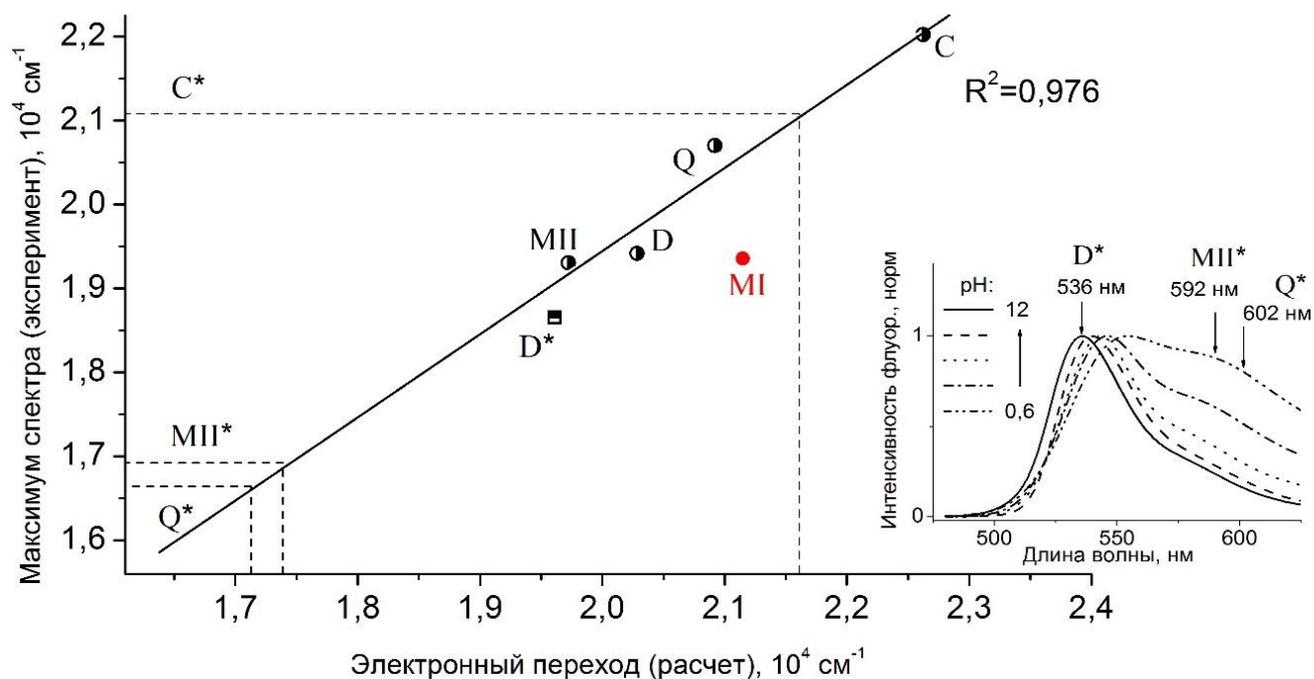


Рисунок 2.7. Корреляция между расчётной и экспериментальной длинами волн в спектрах поглощения (для D, MII, Q, C-форм) и испускания (D\*) эозина. Теоретические прогнозы для случаев, когда экспериментальные значения не доступны (испускание форм MII \*, Q \* и C\*). На вставке – положение пика дианиона и ряда предсказанных форм в спектрах флуоресценции

Рассчитанные коэффициенты корреляции  $R$  для длин волн и частот переходов составляют 0,972 и 0,963 для эозина и эритрозина, соответственно. Таким образом, данный способ можно использовать для идентификации других протолитических форм в спектрах поглощения и флуоресценции. Линейная регрессия может быть использована для уточнения назначения таутомерных форм в экспериментальных спектрах. Полученную линейную регрессию для расчётных и экспериментальных энергий переходов по D, D\*, MII, Q и C-формам можно использовать для прогнозирования спектров флуоресценции ионных и молекулярных форм, экспериментальное определение которых невозможно. Для этого по найденным уравнениям регрессии с учётом рассчитанных энергий испускания были определены значения максимумов в спектрах флуоресценции.

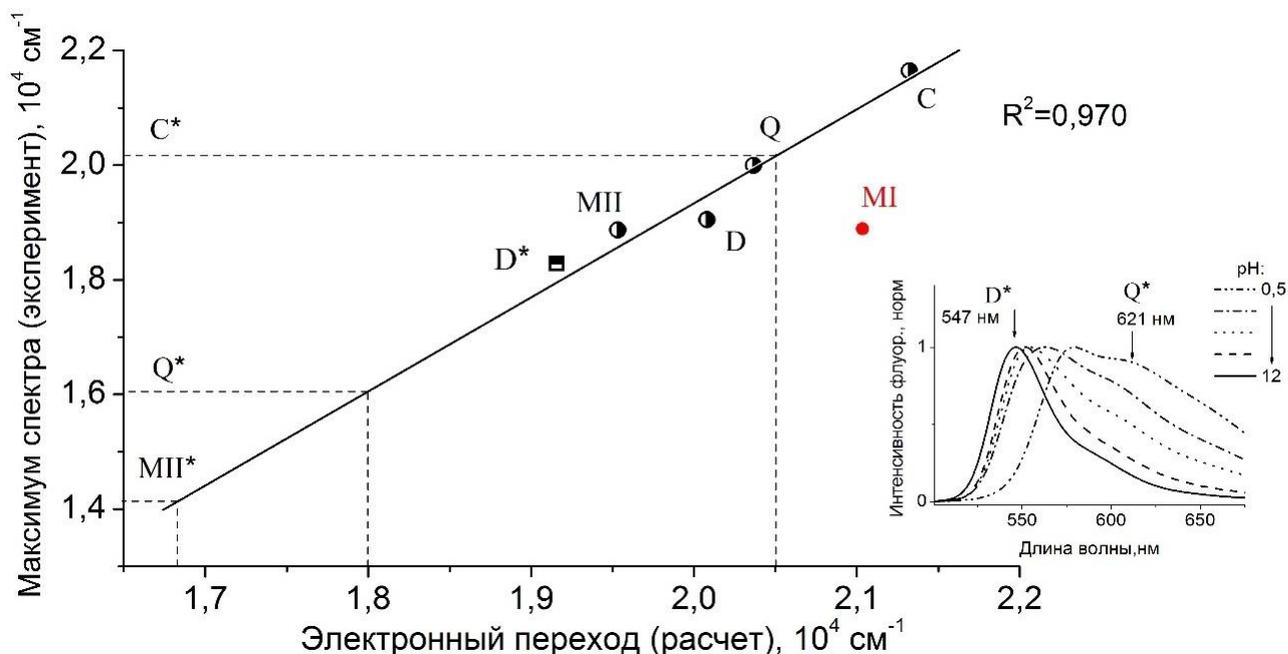


Рисунок 2.8. Корреляция между расчётной и экспериментальной длинами волн в спектрах поглощения (для D, MII, Q, C-форм) и испускания (D\*) эритрозина. Теоретические прогнозы для случаев, когда экспериментальные значения не доступны (испускание форм MII \*, Q \* и C\*). На вставке – положение пика дианиона и ряда предсказанных форм в спектрах флуоресценции

Для эозина и эритрозина они составили соответственно 614 и 613 нм для Q\*-формы, 473 и 494 нм для C\*-формы, 604 и 690 нм для MII\*-формы. Черты этих пиков прослеживаются в сложных контурах флуоресценции красителей в кислой среде, которые представляют собой смесь различных ионных и/или молекулярных форм. Самые коротковолновые переходы соответствуют катионной C\*-форме красителей и не обнаруживаются в спектрах флуоресценции вплоть до pH 0,5-0,6. Как было показано в работе [42], константа катион-нейтрального равновесия составляет около -2 для эозина и -2,4 для эритрозина, что указывает на область существования этой формы за пределами исследованного диапазона кислотности растворителя.

Обращает на себя внимание высокое значение стоксова сдвига для моноанионной и нейтральной хиноидной форм красителя, достигая максимального значения для хиноида эозина 3820 см<sup>-1</sup> (106 нм). Большая разница между энергией поглощения и испускания может быть обсуждена в терминах существенного

изменения геометрии молекул вследствие возбуждения и последующей релаксации в равновесное возбуждённое состояние.

Причина изменения энергетической структуры и спектральных характеристик молекул красителей является изменение пространственной структуры и распределение зарядов. Вычисленные силы осцилляторов переходов (таблица 2.4) в поглощении ( $f_{abs}$ ) подтвердили существование интенсивных полос. Значения сил осцилляторов для длинноволновых переходов в спектрах поглощения эритрозина и эозина равны или близки к 1. При излучении наблюдается «красный» сдвиг для таких протолитических форм, как хиноид и моноанион 2. Спектры поглощения этих форм также сдвинуты в красную область, что и для эритрозина и эозина. Наименьший пик спектра поглощения и излучения имеет лактон (279 нм, 290 нм для эритрозина, 288 нм, 295 нм для эозина). Длина волны поглощения для дианиона, моноаниона, нейтральной формы и катиона находится в хорошем согласии с экспериментом. Видно, что у нейтральных (хиноида) и моноанионной молекулы по сравнению с другими ионными состояниями наблюдается самый большой стоксов сдвиг (50-77 нм), что может быть связано с существенными изменениями геометрии красителей при возбуждении (таблица 2.4).

Таблица 2.4. Изменение геометрии эритрозина и эозина при электронном возбуждении

Эозин							
Угол, град.	D	MI	MP	Q	Z	L	C
$\alpha_1^a$	0,9	0,7	5,7	4,1	-	0,2	2,6
$\alpha_2^a$	1,1	2,3	4,1	2,9	-	0,3	1,8
$\Delta\beta^b$	8,1	14,7	26,2	18,4	-	0,5	12,2
$\Delta\gamma_1^c$	0,2	0,5	2,6	2,8	-	1,5	1,4
$\Delta\gamma_2^c$	0,8	1,6	3,1	3,3	-	1,7	0,8
Эритрозин							
$\alpha_1^a$	1,4	0,67	6,9	5,2	-	0,3	0,5
$\alpha_2^a$	1,8	3,4	4,6	5,7	-	0,8	1,5
$\Delta\beta^b$	10,4	18,1	29,3	28,2	-	0,8	2,8
$\Delta\gamma_1^c$	0,8	0,15	1,9	0,3	-	1,6	0,5
$\Delta\gamma_2^c$	0,5	0,17	2,7	0,6	-	1,7	1,4

Где  $\alpha_1^a = \angle(O_{\text{кольцо 4\_основное состояние}} - O_{\text{кольцо 3}} - O_{\text{кольцо 4\_возбужденное состояние}})$  и  $\alpha_2 = \angle(O_{\text{кольцо 2\_основное состояние}} - O_{\text{кольцо 3}} - O_{\text{кольцо 2\_возбужденное состояние}})$  являются двугранными углами, отражающими вращение плоскости трицикла.  $\Delta\beta = \beta(\text{основное}) - \beta(\text{возбужд.})$ , где  $\beta$  двугранный угол между плоскостями кольца 1 и кольца тройного хромофора 2-4.  $\Delta\gamma = \gamma(\text{возбужд.}) - \gamma(\text{основное})$ , где  $\gamma_1$  и  $\gamma_2$  показывают искажение плоскости трицикла.

Расчёт показывает, что атомы трицикла не лежат в одной плоскости, поэтому для описания изменения геометрии эозина и эритрозина при электронном возбуждении использовали двугранные углы  $\alpha_1$  и  $\alpha_2$ , отражающие вращение плоскости трицикла в основном и возбуждённом состояниях. Угол  $\Delta\gamma$  показывает искажение плоскости трицикла, а  $\Delta\beta$  двугранный угол показывает разность между плоскостями кольца 1 и кольца тройного хромофора 2-4 в основном и возбуждённом состояниях (рисунок 2.9). При этом для хиноидной формы эритрозина наблюдается уменьшение стоксового сдвига почти в два раза, что находит своё отражение в том, что длина волны испускания становится меньше, чем у эозина ( $\lambda_{\text{пл}} = 584$  нм для эозина и 556 нм для эритрозина, таблица 2.4). Искражение плоскости трицикла для хиноидной формы эозина составляет  $\Delta\gamma_1 = 2,8$  и  $\Delta\gamma_2 = 3,3$ , а для хиноидной формы эритрозина составляет  $\Delta\gamma_1 = 0,3$  и  $\Delta\gamma_2 = 0,6$  при этом стоксов сдвиг составляет 106 и 65 нм соответственно. Этот факт можно объяснить особенностями структуры – наличием водорода у одного из кислородов трицикла и тем, что атомы йода достаточно тяжёлые и малоподвижные, что в свою очередь влияет на релаксацию хромофорного трицикла (таблица 2.4).

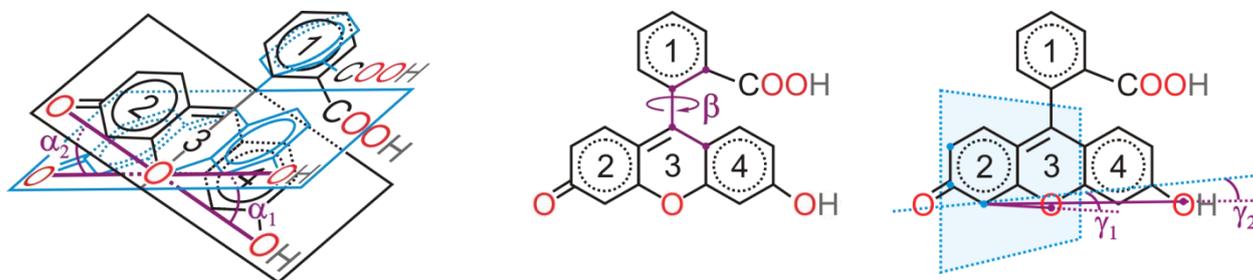


Рисунок 2.9. Углы, характеризующие изменение пространственной структуры красителей при возбуждении. Пояснение углов дано в таблице 2.4

В ряду форм лактона и катиона для эозина не наблюдается сильное изменение углов. Поэтому искажения геометрии, связанные с переходом в возбуждённое состояние, как для эритрозина, так и для эозина в форме лактона меньше, чем в остальных протолитических формах красителя. Получается, что при незначительном изменении геометрии после возбуждения форма лактона имеет наименьшее смещение пиков спектров поглощения и излучения. Расчёт показал, что для эозина и эритрозина заряженные ионные формы сильнее подвержены

структурным изменениям (моноанион II, дианион). Так, для моноаниона II эритрозина  $\Delta\beta = 29,3$ , а для хиноидной формы  $\Delta\beta = 28,2$ , что находит своё отражение наибольшим стоковым сдвигом относительно других протолитических форм (таблица 2.4).

На рисунке 2.10 представлены НОМО орбитали для дианиона, катиона, хиноида и моноаниона рассчитанных структур эритрозина для основного состояния ( $S_0$ ) с которых происходит поглощения кванта. И LUMO орбитали для флуоресцентного состояния ( $S_1^*$ ) из которого молекулы излучают. Так как эозин и эритрозин проявляют близкие спектральные свойства, то и расположение НОМО и LUMO орбиталей одинаково. Из рисунка молекулярных орбиталей, видно, что НОМО орбитали имеют  $\pi$  характер связывания для атомов углерода и несвязывающий характер для атомов кислорода и галогенов. LUMO орбитали также расположены на трицикле и имеют такую же природу.

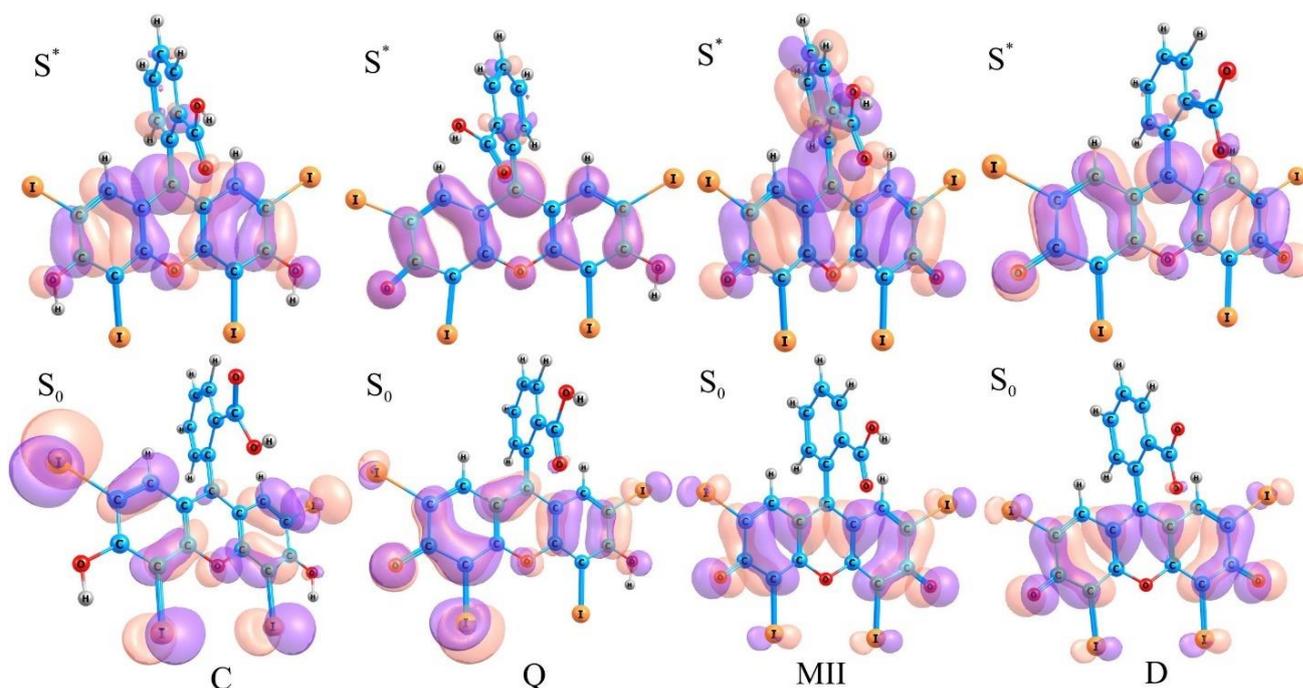


Рисунок 2.10. Занятые и виртуальные молекулярных орбитали, участвующих в процессах возбуждениях и флуоресценции.  $S_0$  – геометрия в основном состоянии  $S^*$  - геометрия в возбуждённом состоянии.  $S_0$  и  $S_1^*$  соответствуют равновесному основному состоянию и равновесному возбуждённому состоянию, соответственно. C – катион, Q – хиноид, MII – моноанион II, D – дианион

Для дианиона при переходе с НОМО на LUMO орбиталь не происходит перемещение электронной плотности, а значит, не наблюдаются процессы с переносом заряда. Моноанион II и дианион имеют высокую силу осциллятора (больше 1) что также говорит о локальности оптических переходов и о потенциальном высоком квантовом выходе. Все рассчитанные структуры меняют атомную структуру при переходе в равновесное возбуждённое состояние. Наибольшая разница между геометрией молекулы в основном и возбуждённом состоянии заметна у хиноида и моноаниона II у которых происходит поворот карбоксильной группы относительно моноцикла 1, при этом моноцикл 1 поворачивается относительно трицикла. Это может быть объяснением того, что моноанион II и хиноид красителей имеют самую длинноволновую флуоресценцию.

## **§2.4. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОПРЯЖЕНИЯ В ЦЕПИ МОЛЕКУЛ СОПОЛИФЛУОРЕНА НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА**

Сополифлуорены относятся к классу полимерных материалов. Они сочетают в себе важные полупроводниковые свойства, такие как люминесценция, электропроводность с привлекательными свойствами полимеров – эластичность, простота изготовления. Их оптоэлектронные свойства зависят от хромофорных компонентов, обладающих расширенными возможностями по сопряжению. Структура производных сополифлуорена основывается на характере и свойствах их мономеров. Изделия на их основе перспективны и активно внедряются в микроэлектронике [69], в органических светоизлучающих диодах (OLED) [70], полевых транзисторах [71] и пластиковых солнечных элементах [72]. Для получения высокоэффективного OLED-устройства необходим тщательный подбор материалов каждого из слоёв структуры, его толщины и состава, проведение многократных итераций технологического процесса, исследования электрофизических свойств и математического моделирования [73]. Спектральный состав электролюминесценции, определяющий цвет свечения OLED, зависит от

материала или нескольких составляющих активного слоя структуры. Структуры сополифлуоренов, которые должны излучать белый свет, очень сложны, они включают много компонентов (зелёный, синий и красный люминофоры). Чтобы обеспечить высокую интенсивность белой электролюминесценции, содержание в сополимере люминофоров должно быть подобрано и выдерживаться с точностью до десятых долей процента [74]. Это с точки зрения химического синтеза представляет сложную задачу, но квантово-химические расчёты позволят выявить степень влияния различных факторов на оптические свойства полимера, и способствовать целенаправленному синтезу полимеров.

Флуорен является основной повторяющейся частью в производных полифлуорена. Он был выведен из каменноугольной смолы, его обнаружил Marcellin Berthelot в 1883 году [75]. Название флуорен возникло из-за его интересной флуоресценции, он стал объектом для вариации химической структуры, так как от этого зависит цвет излучения в видимой части спектра. Необходимо было понять какие части молекулы были химически активными, и как заменить эти части, чтобы оказать влияние на цвет. Например, путём добавления донорных и акцепторных функциональных групп в флуорен, исследователи смогли изменить цвет молекулы [76]. Физические свойства молекулы флуорена изучались для создания полимеров. Ещё в 70-е годы учёные начали объединять эти части в полимеры. Было показано, что полимер плоской формы, содержащий жёсткий флуорен, обладает повышенной термомеханической стабильностью. Однако более перспективным решением оказалась интеграция оптоэлектронных свойств флуорена в полимер. Полифлуорены представляют собой важный класс полимеров, которые имеют возможность выступать в качестве электроактивных и фотоактивных материалов. Отчасти это происходит из-за формы флуорена. Молекула флуорена в основном плоская,  $p$ -орбиталь перекрывает связь между двумя бензольными кольцами и в результате вся молекула становится сопряжённой [77]. Это в свою очередь приводит к уменьшению ширины запрещённой зоны, так как в возбуждённом состоянии молекулярные орбитали, являются делокализованными. Так как степень делокализации и пространственное

расположение орбиталей в молекуле зависит от донорных или акцепторных свойств заместителей, и ширина запрещённой зоны может быть различна [78]. Такой химический контроль над шириной запрещённой зоны непосредственно влияет на цвет молекулы, это достигается путём ограничения энергии света, которое молекула поглощает [79]. Молекулы флуорена чаще всего соединяются в положениях 7,2 и 3,6 для образования производных полифлуорена (рисунок 2.11).

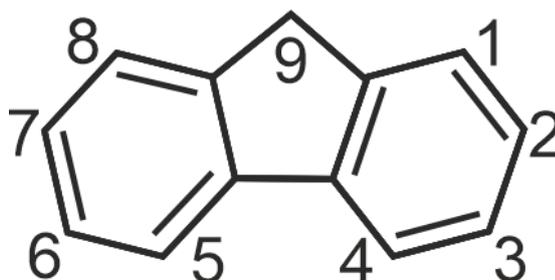


Рисунок 2.11. Молекула флуорена. Цифры показывают нумерацию атомов

Интерес к производным полифлуорена вырос из-за высокой квантовой эффективности люминесценции, термической стабильности и возможности регулировать цвет, все это достигается путём внедрения сопряжённых мономеров с небольшой шириной запрещённой зоны [80]. Число исследований в этой области значительно возросло, из-за возможного применения сополифлуоренов в органических светоизлучающих диодах. Для органических диодов предпочтительнее всего использовать полифлуорены, потому – что они являются единственным классом сопряжённых полимеров, которые могут излучать цвета, охватывающие всю видимую часть спектра, также они обладают высокой эффективностью и низким рабочим напряжением [80]. Кроме того, сополифлуорены относительно растворимы в большинстве растворителей, что делает их удобными для общего применения [81].

Полифлуорен часто представляют как эксимер, то есть возбуждённый димер, образующийся при термическом отжиге или при пропускании тока через полимер [82]. Образование эксимера включает в себя димеризацию структурных единиц полимера, которые излучают свет при более низких энергиях, чем сам полимер. Это препятствует использованию полифлуоренов во многих устройствах, включая светоизлучающие диоды (LED) [79]. Образование эксимера приводит к

уменьшению эффективности светодиода, и к уменьшению рекомбинации носителей заряда, также это вызывает сдвиг в красную зону спектра излучения [83]. Предпринималась попытка устранить образование эксимеров и улучшить эффективность сополифлуоренов, путём сополимеризации полифлуорена с антраценом и большими концевыми группами, что могло стерически препятствовать образованию эксимеров [84]. Также, были совершены попытки улучшить светодиоды, путём синтеза флуорен-триариламин (fluorene-triarylamine) сополимеров, и других многослойных устройств на основе полифлуоренов. Было обнаружено, что такие полифлуорены обладают более яркой флуоресценцией и приемлемой эффективностью [85].

Другая проблема, с которой чаще всего сталкиваются полифлуорены это зелёное паразитное излучение, которое уменьшает чистоту цвета и эффективность необходимую для органических светодиодов [86]. Сначала это приписывали эмиссии эксимера, но затем выяснили, что это зелёное излучение происходит из-за образования кетона, то есть из-за окисления мономера, находящегося в девятой позиции флуорена. Это происходит из-за неполного замещения в девятой позиции флуорена. Способы борьбы с этим заключаются в обеспечение полного замещения активной части мономера, или включением ароматических заместителей [87]. Данные решения представляют собой структуру с недостаточным оптимальным размером или её трудно синтезировать [88].

Таким образом стоит актуальная задача в исследовании оптических свойств эффективно люминесцирующих сопряжённых сополимеров на основе флуорена, а также влияние растворителя и места присоединения мономеров флуорен (F) – карбазол (Kz) (рисунок 2.12, А и Б) на спектры поглощения и люминесценции. Поэтому на первом этапе происходило построение различных конформеров F-2Kz7-F и F-3Kz6-F структур (отличие между структурами состоит в месте присоединения и показано на рисунке 2.12 А и Б).

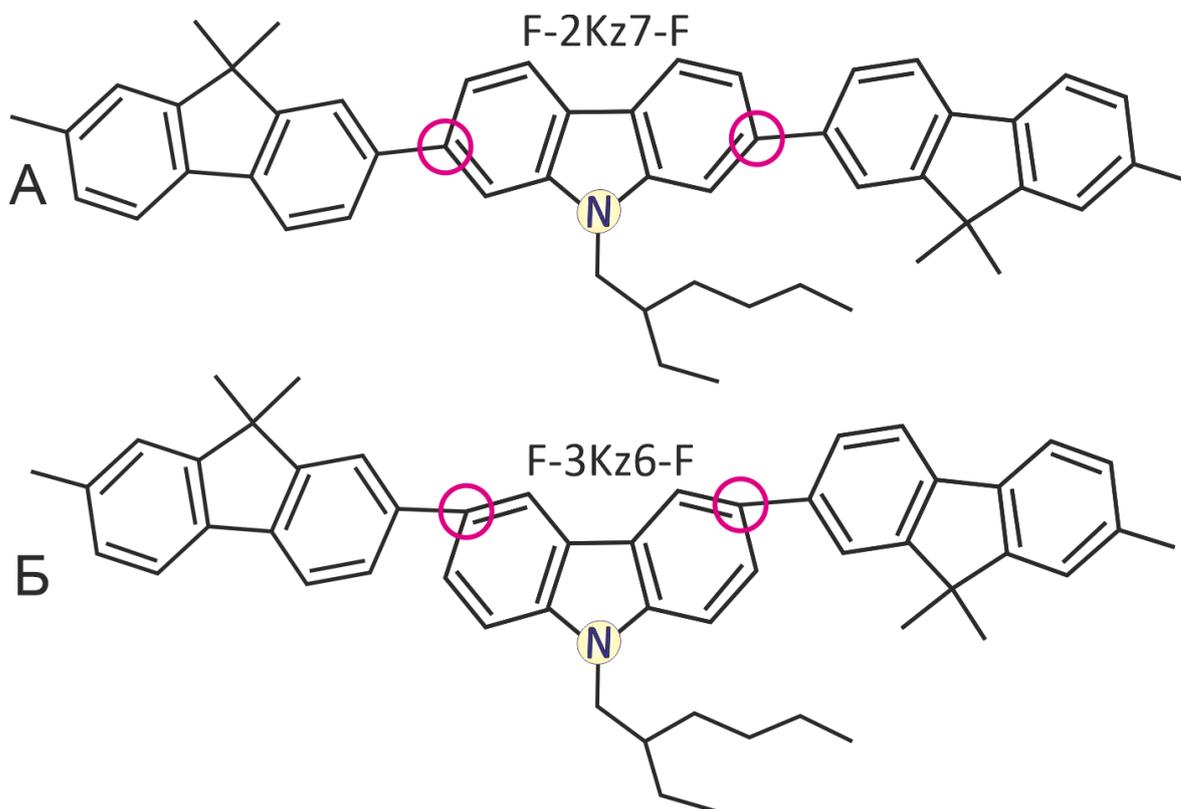


Рисунок 2.12. Структурные формулы сополифлуоренов. Флуорен – F; карбазол – Kz. А – место присоединения 2,7. Б – место присоединения 3,6

В дальнейшем полученные структуры оптимизировали с использованием V3LYP в базисе 6-31(p,d). Далее спектр поглощения был рассчитан при помощи метода TD с использованием базиса 6-31(p,d). Для расчёта длины волны излучения была оптимизирована геометрия молекулы в возбуждённом состоянии, а затем была рассчитана разница между основным и возбуждённым состоянием для данной атомной структуры, что, по сути, является длиной волны люминесценции. Расчёты проводили по схеме, представленной на рисунке 1.2

Для того чтобы прогнозировать, как различное положение присоединения карбазола к флуорену влияет на оптические характеристики полимера, в работе строились ВЗМО и НВМО (рисунок 2.13). В молекуле F-3Kz6-F электронная плотность ВЗМО локализуется в основном на карбазоле, однако в образование НВМО основной вклад вносят электроны атомов флуорена, и лишь в незначительной степени хромофора, при этом электроны азота практически не участвуют в образовании НВМО (рисунок 2.13, А).

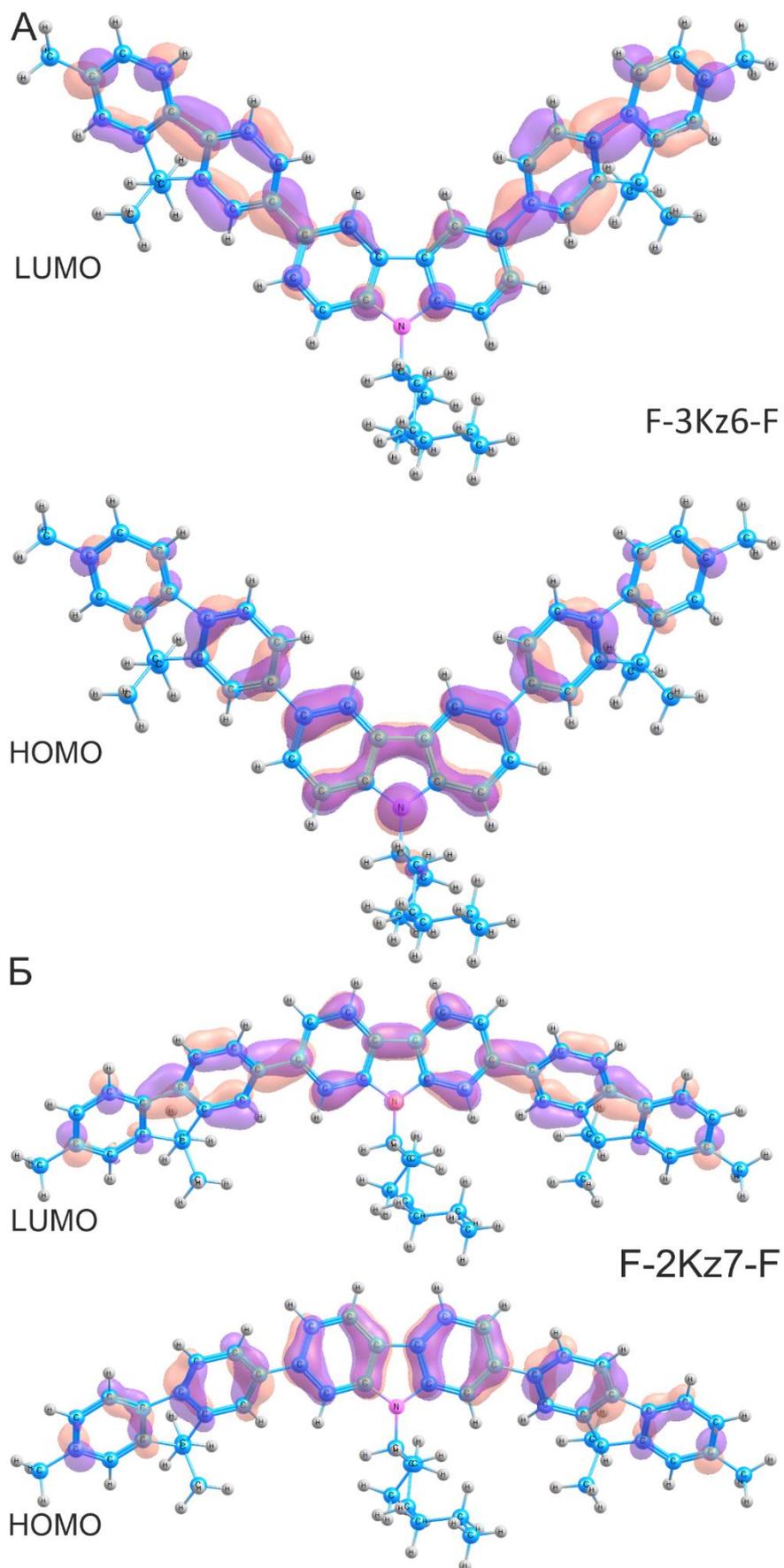


Рисунок 2.13. Вид граничных (HOMO и LUMO) молекулярных орбиталей молекул F-3Kz6-F (А) и F-2Kz7-F (Б)

У молекулы F-2Kz7-F в образовании ВЗМО в равной степени участвуют электроны атомов карбазола и флуорена. При образовании НВМО изменяется лишь характер связывания орбиталей. При таком распределении электронной плотности увеличено число подвижных носителей заряда, по сравнению с молекулой F-3Kz6-F, что приводит к снижению барьера для переброса электронов на низшую вакантную молекулярную орбиталь. Такое распределение приводит к понижению энергии как НВМО с -0,80 до -1,16 эВ, так и энергии ВЗМО с -4,83 до -4,96 эВ (таблица 2.5). При таком строении молекулы достигается наименьшая ширина энергетической щели 3,80 эВ.

Таблица 2.5. Значения энергии ВЗМО и НВМО и ширина энергетической щели для F-3Kz6-F и F-2Kz7-F. Расчёт для Газовой фазы (ГФ) и толуола (Т)

МО	F-3Kz6-F (ГФ)	F-2Kz7-F(ГФ)	F-3Kz6-F (Т)	F-2Kz7-F (Т)
НВМО, эВ	-0,80	-1,16	-0,89	-1,23
ВЗМО, эВ	-4,83	-4,96	-4,90	-5,04
$\Delta E$ , эВ	4,02	3,80	4,01	3,79

Далее были рассчитаны спектры поглощения и люминесценции сополифлуоренов в вакууме и в присутствии растворителя – толуола (рисунок 2.14). Расчёты показали, что в молекуле с местом присоединения 3 и 6 максимум поглощения приходится 347 нм в вакууме, а в присутствии растворителя пик сдвигается на 6 нм. При этом интенсивность полос поглощения увеличивается в присутствии толуола. Длина волны люминесценции молекулы составила 395 нм. Для сополифлуорена с местом присоединения карбазола в положении 2 и 7 максимум поглощения составил 366 нм в вакууме и 373 нм в толуоле (сдвиг пика на 7 нм), при этом интенсивность пиков так же возросла. Длина волны излучения в вакууме составила 431 нм. Сравнение спектров поглощения сополифлуоренов в вакууме и в растворителе показали, что для обеих молекул наблюдался незначительный батохромный сдвиг пиков поглощения.

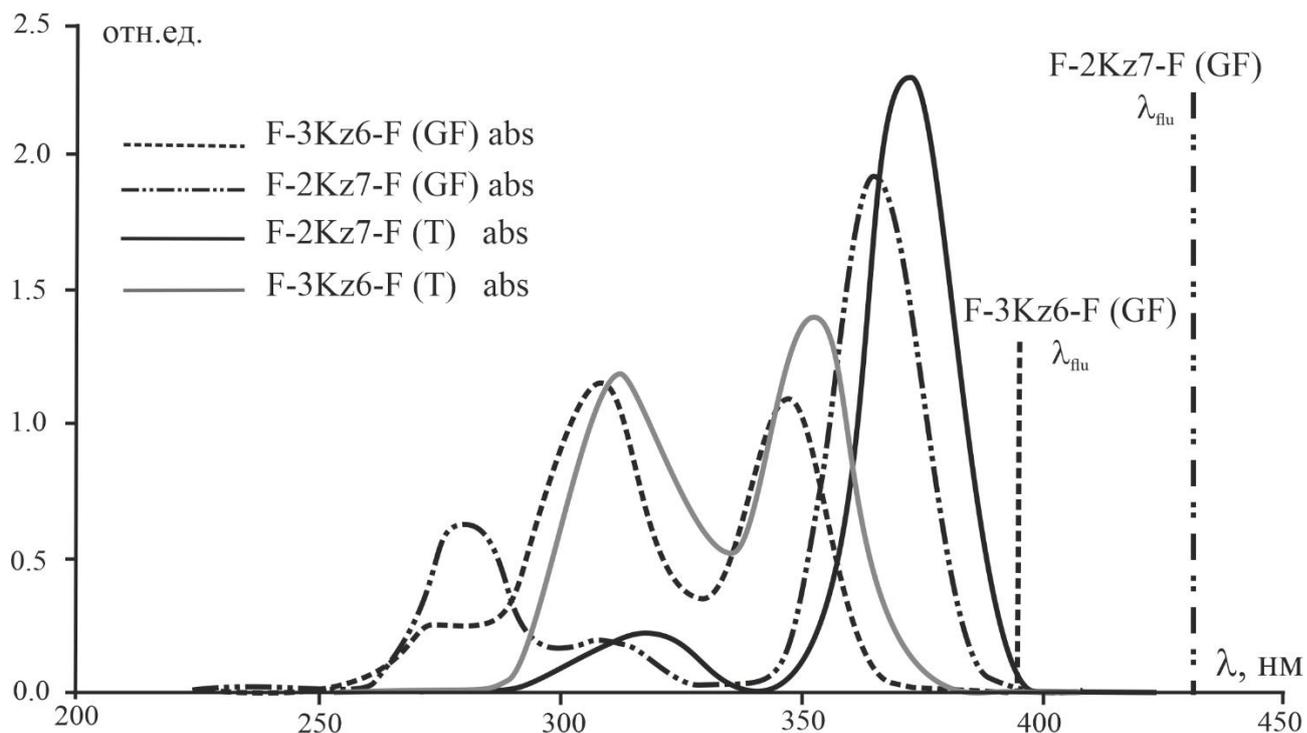


Рисунок 2.14. Спектры поглощения (abs) и длина волны люминесценции ( $\lambda_{flu}$ ) молекул F-2Kz7-F и F-3Kz6-F в газовой фазе (GF) и в толуоле (T)

Это связано с тем, что взаимодействие растворителя и растворенного вещества, прежде всего, изменяет разность энергий между основным и возбуждённым состоянием. Для полимера F-3Kz6-F энергия НВМО понизилась на 0,09 эВ, а энергия ВЗМО понизилась на 0,07 эВ. При этом ширина оптической щели практически не изменилась (-4,01 эВ). Такое же изменение энергий ВЗМО и НВМО наблюдается и для молекулы F-2Kz7-F. Энергия ВЗМО понизилась на 0,02 эВ, а энергия НВМО на 0,08 эВ. При этом ширина щели составила 3,79 эВ.

## §2.5. ВЫВОДЫ

Новые подходы к интерпретации экспериментальных результатов и прогресс вычислительной техники позволили провести анализ ионных состояний флуоресцеина в широком интервале pH. На примере дианиона флуоресцеина была найдена наиболее результативная комбинация функционала B3LYP, базиса aug-cc-pVDZ, модели растворителя, что позволило приблизиться к экспериментальным

результатам. Обнаруженная линейная регрессия между рассчитанными и экспериментальными электронными переходами поглощения и испускания была использована для определения экспериментально реализуемого таутомера моноаниона MI и нахождения значения длин волн испускания MI (494 нм) и Q (550 нм). Формальный анализ зависимости чисто электронного перехода  $\tilde{\nu}_{00}$  в диапазоне pH 0.5-12 позволил определить четыре типа флуоресцирующих состояний флуоресцеина, которые с помощью рассчитанных спектральных характеристик были отнесены к D, MI, Q, C форме таутомеров.

Исследование галогензамещённых форм флуоресцеина показало, что в зависимости от pH в растворе присутствуют различные ионные формы эозина и эритрозина. Дианионная форма присутствует в растворе при pH от 14 до 4,0; моноанионная форма при pH  $8,5 \div 2,0$ ; нейтральная при pH  $6,0 \div 0,5$  и катионная форма при pH  $4,0 \div 0,0$ . Рассчитаны спектры поглощения и испускания ионных форм эозина и эритрозина с помощью квантовохимических методов. В комбинации с экспериментальными данными, развит подход, который позволяет расшифровать сложный контур в спектрах систем с множеством таутомерных форм. В результате найденной линейной регрессии между расчётными и экспериментальными данными были объяснены положения пиков флуоресценции таутомерных форм эозина и эритрозина. Найдено, что для катионной формы это 473 и 494 нм при pH=4,0; для моноанионной – 604 и 690 нм при pH=8,5; для нейтральной хиноидной формы – 614 и 613 нм) при pH=6,0.

Были использованы квантовохимические расчёты для исследования оптических свойств сополифлуоренов. Показано, что наименьшее значение энергетической щели достигается при присоединении флуорена к карбазолу в положении 2,7, поскольку электронная плотность равномерно делокализуется на всей сопряжённой части полимера, и число подвижных  $\pi$ -электронов увеличено, что приводит к снижению барьера для переноса электронов на низшую вакантную молекулярную орбиталь. Также показано, что наличие растворителя приводит к незначительному батохромному сдвигу спектров поглощения.

В работе принимали участие И.А. Щугорева, А.В. Рогова, Е.Ю. Маляр, С.А. Варганов, Д.Г. Фёдоров, А.А. Кузубов, П.В. Аврамов, С.Г. Овчинников. Эксперимент для флуоресцеина и его аналогов был проведён сотрудниками Сибирского федерального университета на Базовой кафедре фотоники и лазерных технологий под руководством Е.А. Слюсаревой и М.А. Герасимовой. Для органических полимеров эксперимент проводился в Институте высокомолекулярных соединений РАН (г. С.-Петербург) под общим руководством А.В. Якиманского, Г.В. Носовой и Р.Ю. Смыслова.

## ГЛАВА 3. НАНОСТРУКТУРЫ НА ОСНОВЕ УГЛЕРОДА

### §3.1. ОТКРЫТИЕ ФУЛЛЕРЕНОВ

Долгие годы считалось, что самый изучаемый элемент — элементарный углерод может образовывать только две кристаллические структуры — алмаз и графит. В 60<sup>х</sup> гг. появились сообщения о существовании модификации углерода, которая представляет собой упаковку одномерных (линейных) цепочек углеродных атомов. Такая модификация получила название карбин. Карбин представляет собой линейную структуру — сшитые или двойными связями, или чередующимися одинарными — тройными связями цепочки из атомов углерода. Алмаз имеет пространственную структуру, в которой атомы углерода, образующие между собой сильные химические связи, ориентированы относительно друг друга не в плоскости, а в пространстве. Длина связи углерод-углерод в алмазе равна 0,142 нм. Структура графита слоистая. Каждый атом образует сильные химические связи с другими атомами, расположенными в одной плоскости, на расстоянии 0,140 нм, т.е. химическая связь в графите сильнее, чем в алмазе, в то время как сами плоскости находятся друг от друга на расстоянии — 0,335 нм и связаны слабыми ван-дер-ваальсовыми связями. Склонность углерода к образованию различных поверхностей в ещё большей степени проявилась в новом классе молекул — фуллеренах и нанотрубках [89,90]. В 1985 г группой Крото была сгенерирована молекула  $C_{60}$  лазерной возгонкой, которая представляет собой замкнутую поверхность [89], образованную многоугольниками. В настоящий момент известно существование ряда молекул фуллеренов —  $C_{36}$  [91],  $C_{60}$ ,  $C_{70}$ ,... [92–99]. Создание в 90<sup>х</sup> гг. эффективной технологии синтеза [99,100] привлекло к изучению фуллеренов специалистами в области физики, химии, материаловедении и биологии [101,102].

Интересно проследить открытие знаменитой молекулы фуллерена  $C_{60}$ . В 1966 г научный обозреватель Джонс предположил, что при высокотемпературном синтезе графита за счёт введения атомов или фрагментов, заставляющих графитовую поверхность отклоняться от плоскости, могут образовываться углеродные сфероиды, полые внутри [103]. В 1970 г И. Осава в Японии

теоретически построил молекулу  $C_{60}$  в виде усечённого икосаэдра и предсказал её высокую стабильность [104]. И, наконец, в 1973 г советские химики Бочвар и Гальперн [105] провели квантово-химический расчёт замкнутого полиэдра  $C_{60}$ , который показал, что подобная структура углерода имеет закрытую электронную оболочку и высокую энергию стабилизации. Все эти работы были неизвестны широкому кругу учёных вплоть до второй половины 80<sup>х</sup> гг, пока фуллерены не были получены экспериментально.

В настоящее время, исследование углеродных форм превратилось в отдельную ветвь науки, и уже не ограничивается изучением только фуллеренов и их производных. Сейчас известно множество структур углерода, имеющих характерные размеры от единиц до сотен нанометров. Наиболее полно, на настоящий момент, изучена атомная и электронная структура молекулы  $C_{60}$ . Молекула имеет симметрию  $I_h$ , все атомы углерода находятся в эквивалентных положениях. Связи в молекуле  $C_{60}$  делятся на два типа, в зависимости от того являются ли они общими рёбрами двух шестиугольников или пятиугольника и шестиугольника, длина связей  $0,139 \pm 0,01$  нм, и  $0,144 \pm 0,01$  нм соответственно [106,107]. При такой структуре система  $C_{60}$  является молекулой, а не кластером, что кардинальным образом влияет на её основные физические и химические свойства [101]. Для теоретического исследования электронной структуры фуллеренов и их производных применялись различные расчётные схемы [108,109]. Во всех случаях было получено хорошее соответствие экспериментальных и теоретических данных, что говорит о том, что квантовохимические методы могут на хорошем уровне количественно описывать электронные состояния.

### **§3.2. ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ФОРМЫ ФУЛЛЕРЕНОВ – ФУЛЛЕРЕНОЛЫ**

Существует большой интерес к определению антиоксидантной активности лекарственных форм, биологически активных веществ и пищевых продуктов. Это связано с тем, что одной из основных причин наиболее опасных заболеваний

является накопление свободных радикалов в организме человека, которые приводят к различным клеточным повреждениям. Концентрация таких свободных радикалов, как супероксидный радикал, пероксид водорода, гидроксил радикал и др., возрастает за счёт снижения активности естественной антиоксидантной системы человека, что связано, в основном, с неблагоприятными условиями. Вредное воздействие на организм свободных радикалов можно уменьшить за счёт систематического употребления некоторых лекарственных растительных препаратов, обладающих хорошей антиоксидантной активностью. Антиоксиданты защищают клеточные структуры от повреждения свободными радикалами, что предохраняет организм человека от болезней.

Изучение свойств фуллеренов и их производных позволило определить области их практического применения, включая различные биомедицинские приложения. Отличительной особенностью фуллеренов и большинства производных на их основе является низкая токсичность и способность выводиться из организма. Следует также отметить, что благодаря своей геометрии и электронной структуре, фуллерены способны образовывать соединения, содержащие в своём составе различные фармакофорные группы, способные легко переходить в возбуждённое состояние под действием различных физических и химических факторов и заключать внутри своей углеродной сферы атомы металлов – эндоэдральные металлофуллерены. Данные структуры обладают такими свойствами, как химическая стабильность, парамагнетизм, большая площадь поверхности, которую легко функционализировать и ненасыщенные двойные связи. К молекуле фуллерена можно присоединять различные функциональные группы, что позволяет получать растворимые в воде производные фуллеренов. Благодаря гидрофильным свойствам и способности связывать свободные радикалы фуллеренолы способны создать альтернативу используемым препаратам в области химиотерапии, лечения нейродегенеративных заболеваний, радиологии.

Полигидроксилированные фуллерены (фуллеренолы) занимают особое место в относительно небольшой группе водорастворимых производных фуллеренов [110]. Фуллеренолы имеют относительно простую структуру, и их

растворимость можно изменить от почти нуля до примерно 60 г/л при комнатной температуре, увеличив число гидроксильных групп. Они характеризуются высокой адгезией к металлам и полупроводникам, образуют тонкие плёнки на их поверхностях и поэтому могут быть использованы в микро- и оптоэлектронике. С другой стороны, фуллеренолы улучшают механические свойства материалов и применяются в качестве модификаторов бетонов и красок. Наиболее важными, вероятно, являются медицинские применения фуллеренолов. Их антиоксидантные свойства и эффекты удаления свободных радикалов известны уже более двадцати лет. Антиоксиданты защищают клеточные структуры от повреждения их свободными радикалами, это предохраняет организм человека от болезней. Также существует предположение, что некоторые фуллерены, растворенные в оливковом масле, способны встраиваться в двухслойные липидные мембраны клеток и митохондрий и действовать как многоазовый антиоксидант [110].

Различные производные фуллеренов являются эффективными средствами в лечении вируса иммунодефицита человека: белок, ответственный за проникновение вируса в кровяные клетки – ВИЧ-1-протеаза, – обладает сферической полостью диаметром 10 Å, форма которой остаётся постоянной при всех мутациях. Данный размер совпадает с диаметром молекулы фуллерена. Синтезировано производное фуллерена, способное растворяться в воде, блокирующее активный центр ВИЧ-протеазы, без которой невозможно образование новой вирусной частицы [111].

В живых организмах непрерывно протекают реакции одноэлектронного восстановления, приводящего к формированию промежуточных продуктов восстановления молекулы кислорода. Образующиеся таким образом химические соединения относятся к различным группам веществ как нерадикальной, так и радикальной природы, общим характерным свойством которых является высокая реакционная способность, вследствие чего они получили обобщённое название – активные формы кислорода (АФК или ROC) [112]. Они представляют собой серию промежуточных продуктов, которые образуются в процессе восстановления  $O_2^{\cdot-}$ ,  $^{\cdot}OH$  и  $H_2O_2$ , являясь сильными окислителями. Окисление и антиокисление живых

организмов поддерживают динамическое равновесие, тогда как организмы подвергаются воздействию экзогенных материалов, равновесие нарушается и образуется избыточное количество АФК. Они способны атаковать почти все биологические молекулы, включая ДНК, что приводит к серьёзным повреждениям организмов, таким как старение, рак, сердечно-сосудистые заболевания, нейродегенеративные заболевания и т.д. Поэтому в биомедицине, особенно для химиотерапии рака, важно развивать химические вещества, которые смогут потенциально уничтожить АФК [113].

Некоторые производные фуллеренов, которые в основном включают трисманонил  $C_{60}(C_3)$  и полигидроксифуллерен (фуллеренолы), обладают превосходной антиоксидантной активностью благодаря удалению свободных радикалов. Фуллеренолы, с присоединёнными гидроксильными группами ( $-OH$ ) на клетках фуллеренов, имеют умеренную растворимость в воде и биосовместимость. Чианг впервые обнаружил, что фуллеренолы обладают потенциальными свойствами, благодаря которым они могут поглощать анионы супероксидных радикалов ( $O_2^{\cdot-}$ ), вырабатываемые ксантиновой и ксантиноксидазной системами [110]. Это особенно верно для  $C_{60}(OH)_{22}$ , который может поглощать  $^1O_2$ ,  $O_2^{\cdot-}$  и  $\cdot OH$ . Исследования показали, что фуллеренолы могут защищать клетки от окислительного стресса, вызванного  $H_2O_2$  и супероксиддисмутазой (СОД), предотвращают дегенерацию межпозвоночного диска и окисление глутатиона, уменьшают перекисное окисление липидов в печени и ингибируют апоптоз, вызванный ионизирующим излучением. Таким образом, фуллеренолы можно использовать в качестве лекарственного средства для лечения заболеваний [110,114].

Фуллерены и их производные обладают антиоксидантной активностью, при этом, способны легко выводиться из организма, что позволяет использовать металлофуллеренолы, содержащие гадолиний, в качестве контрастного агента в магнитно-резонансной томографии, например, для выявления рака на ранней стадии. Для применения в качестве медицинских препаратов необходимо, чтобы изучать их химические свойства. В настоящее время на этом этапе часто

применяются теоретические подходы, позволяющие глубже изучить атомную и электронную структуры, предсказать возможные каталитические свойства.

Водорастворимые производные металлофуллеренов, содержащие гадолиний, являются отличными кандидатами для новых контрастных агентов, используемых в магнитно-резонансной томографии для выявления рака на ранней стадии, из-за их высокой релаксирующей способности и характерной инкапсуляции ионов лантаноидов ( $Gd^{3+}$ ), предотвращающей их высвобождение в биоокружение. Из-за сложной методики синтеза фуллеренолов с атомом гадолиния внутри углеродного каркаса применение данных соединений всё ещё ограничено. Тем не менее,  $Gd@C_{82}O_x(OH)_y$  потенциально хороший кандидат для применения в качестве медицинских препаратов, так как обладает хорошей растворимостью в биологических средах.

Поиск перспективного антиоксидантного материала для биологических процессов на основе фуллеренолов  $C_{82}O_xH_y$  является актуальной задачей. Для этого в работе находили равновесную геометрию фуллеренолов с атомом гадолиния внутри с высоким спином и разным количеством функциональных групп на поверхности. Исследовали электронную структуру, рассчитывали ИК-спектр и сравнивали его с экспериментом. Далее оценивали данные структуры с позиции реакционной способности, для чего рассчитывали химические индексы, взаимодействие с активными формами кислорода и возможным перспективным применением в магнитно-резонансной томографии.

Модель фуллеренола представлена на рисунке 3.1. Получение фуллеренолов проводят при относительно агрессивных условиях в присутствии разбавленной серной кислоты, гидроксида натрия, перекиси водорода и так далее [115]. На данный момент, максимально подтверждённым количеством присоединённых OH-групп является 40, такой фуллеренол образуется в присутствии перекиси водорода и при нагревании. По данным pH измерений, фуллеренолы проявляют свойства слабых кислот [116]. Важнейшим свойством гидроксильированных фуллеренов является их антиоксидантная активность, так, например, они чаще и эффективнее используются в медицине по сравнению с такими антиоксидантами, как витамины

*C* и *E*. В отличие от фуллеренов, фуллеренолы растворимы в воде, спирте, других полярных растворителях и частично в жирах (оливковом, миндальном масле), что делает их более перспективными для применения в фармацевтических и косметических препаратах, чем фуллерены. Фуллеренолы способны выступать в качестве «радикальных ловушек», то есть способны нейтрализовать одной молекулой более 20 свободных радикалов. В настоящее время все известные антиоксиданты уступают фуллеренолам по эффективности, примерно в 100 раз. Относительно токсичности фуллеренолов, последние выполненные тесты показали отрицательные результаты, таким образом, они не несут отрицательного воздействия на организм.

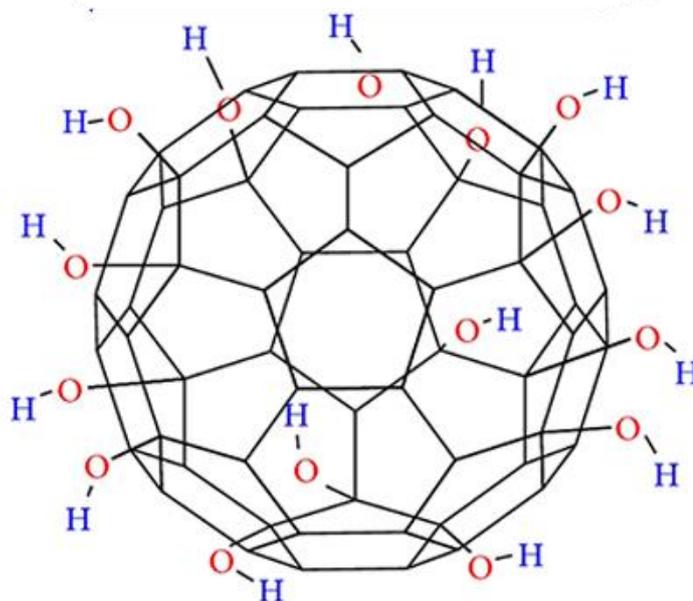


Рисунок 3.1. Модель молекулы гидроксильного фуллерена  $C_{60}$

Стабильными считаются те фуллеренолы, в которых гидроксильные группы локализованы в «экваториальной области» молекулы  $C_{2v}$ . Поскольку длина связи С–С в экваториальной области молекулы фуллерена больше, чем в других областях молекулы. Следовательно, гидроксильные группы испытывают меньшее взаимное отталкивание, что и обуславливает большую стабильность. Таким образом, относительная стабильность фуллеренолов возрастает при увеличении числа гидроксильных групп в экваториальной области молекулы  $C_{2v}$ , а также, при уменьшении числа гидроксильных групп выше и ниже экваториальной области молекулы  $C_{2v}$  [117].

### §3.3. ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ОКСИ-ПОЛИГИДРОКСИ ФУЛЛЕРЕНЫ



В исследованиях биологической активности фуллеренолов с различным числом гидроксильных групп ( $C_{60}(OH)_{12-14}$ ,  $C_{60}(OH)_{18-24}$ ,  $C_{60}(OH)_{30-38}$ ) показано, что растворимость фуллеренолов коррелирует с числом гидроксильных групп, фуллеренолы  $C_{60}(OH)_{18-24}$  и  $C_{60}(OH)_{30-38}$  не оказывает токсического эффекта на клеточные культуры, а фуллеренол  $C_{60}(OH)_{18-24}$  проявляет максимальную биологическую активность [125,126]. Обнаружено, что фуллеренол  $C_{60}$  проявляет антиоксидантную активность и способен утилизировать почти все активные формы кислорода и азота [127,128], а также, при значительных концентрациях,  $C_{60}$  фуллеренол проявляет прооксидантную активность и сам является источником активных частиц. При синтезе фуллеренола может быть получено большое количество изомеров и молекул с разным количеством гидроксильных и карбонильных групп, и соответственно, с разной растворимостью и биофункциональностью.

В этой части работы рассматривалась стабильность самых широко используемых фуллеренолов вида  $C_{60}OH_nO_2$  ( $n=24, 36, 48$ ) и электронные свойства фуллеренола с наибольшей биологической активностью –  $C_{60}(OH)_{24}O_2$  – в реакции с адреналином. Также приводятся результаты экспериментального исследования оксидантной активности фуллеренола  $C_{60}$  в реакции автоокисления адреналина. Квантово-химические расчёты характеристик фуллеренолов проводились с помощью метода функционала плотности B3LYP [129,130] в базисе 6-31(p,d) программы GAMESS [123]. Предварительно, для ускорения расчётов, геометрию молекул оптимизировали с помощью полуэмпирического метода PM7 программы MORAC2012 [124].

Проведено исследование влияния фуллеренолов на реакцию автоокисления адреналина. На рисунке 3.2 представлены результаты экспериментального исследования оксидантной активности фуллеренола  $C_{60}(OH)_{24}$ .

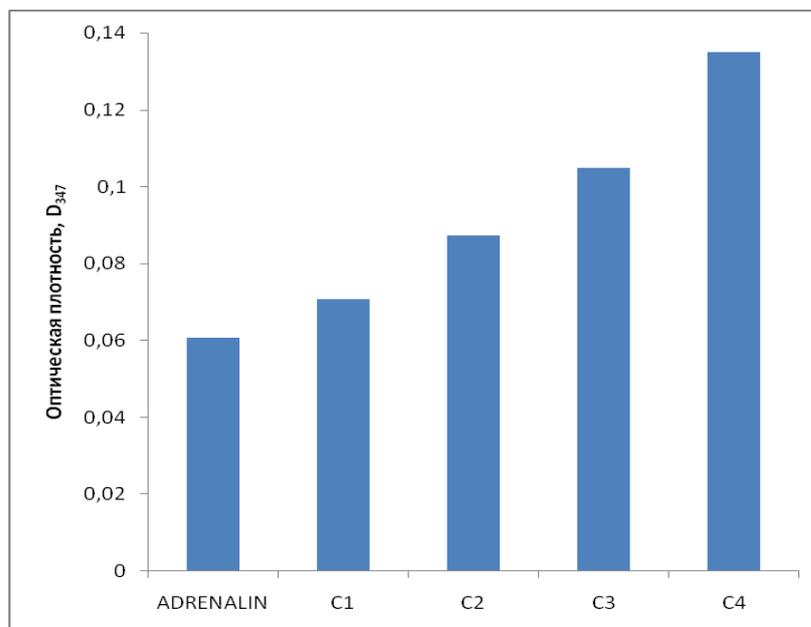


Рисунок 3.2. Гистограмма зависимости оптической плотности раствора адреналина в зависимости от концентрации фуллеренола  $C_{60}$

Как видно из диаграммы, увеличение концентрации фуллеренола вызывает увеличение оптической плотности раствора, что вызвано увеличением накопления продуктов окисления адреналина. Таким образом, фуллеренол в указанных концентрациях проявляет прооксидантную активность и ускоряет реакцию автоокисления адреналина.

Для проверки эксперимента были проведены квантовохимические расчёты всех предполагаемых участников реакции автоокисления. В качестве объектов были выбраны фуллеренолы с двумя атомами кислорода и 24, 36, 48 группами -ОН. В настоящее время не установлено, какой конкретно изомер или группа изомеров получаются в ходе синтеза. В работе [125] рассчитаны различные изомеры и показано что экспериментально трудно отдать предпочтение какому-либо изомеру, так как они мало отличаются по своим свойствам. Поэтому в работе рассмотрены три крайних случая (рисунок 3.3). Были построены изомеры фуллеренола таким образом, чтобы -ОН группы располагались либо на одной полусфере фуллерена, либо на двух противоположных сторонах, либо равномерно по сфере. Атомы кислорода старались располагать максимально далеко друг от друга и от -ОН групп. На рисунок 3.3 представлены три изомера фуллеренола с 24 -ОН группами

и по одному наиболее энергетически выгодному изомеру с 36 и 48 -ОН группами. Наличие гидроксидных групп сильно меняет симметричную форму фуллерена.

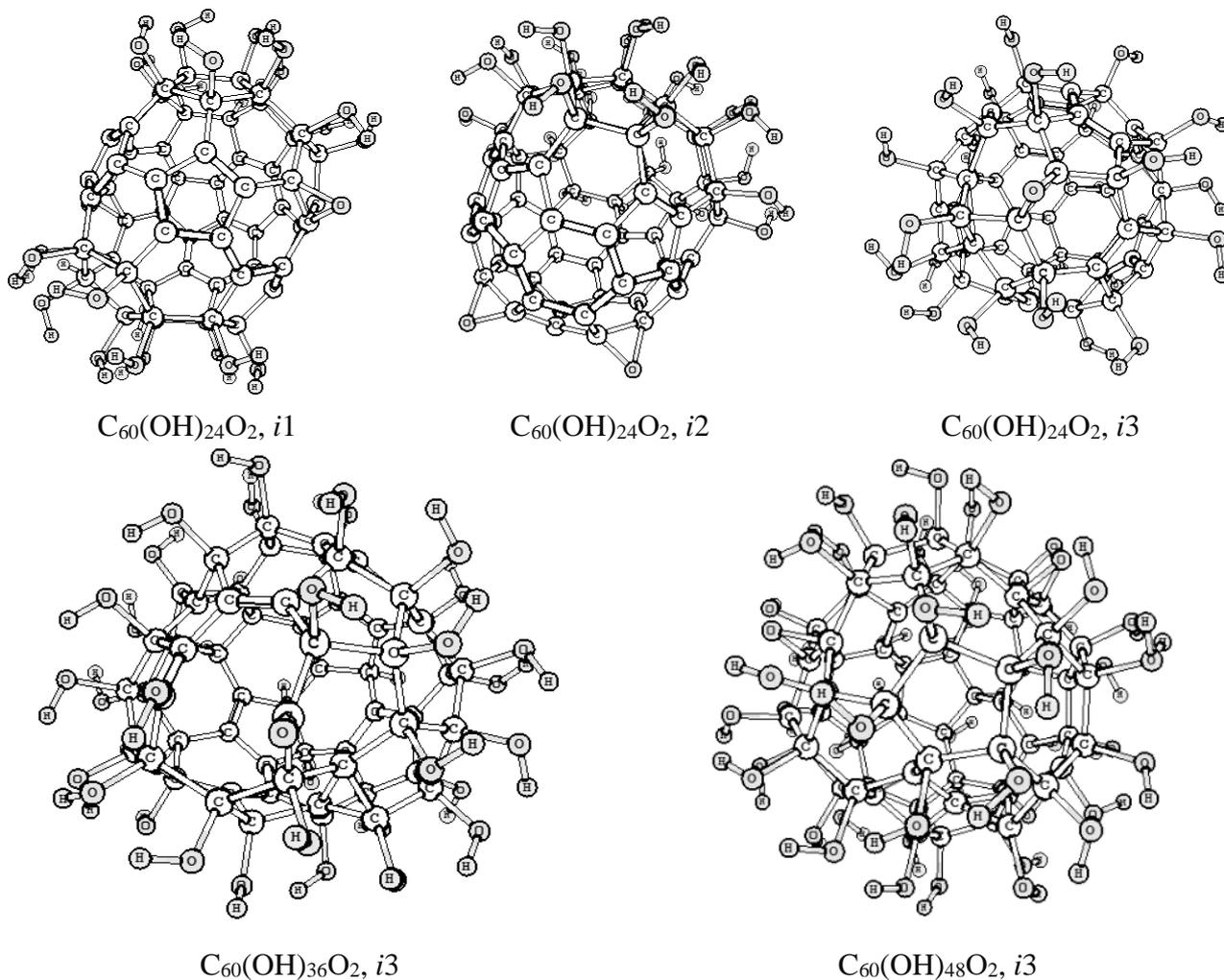
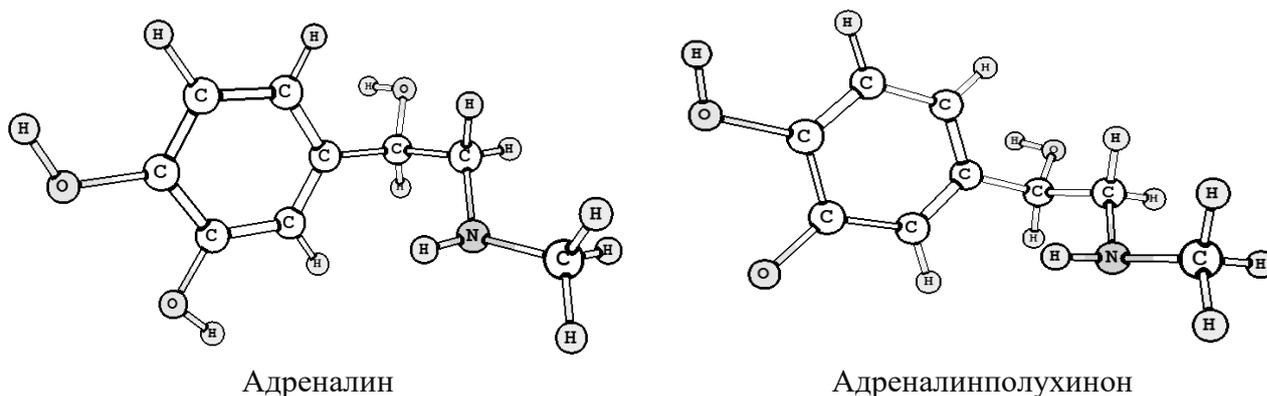


Рисунок 3.3. Фуллеренолы общей формулы  $C_{60}(OH)_{24}O_2$  с различным расположением -ОН и О групп по сфере фуллерена  $C_{60}$  и фуллеренолы с разным количеством -ОН групп

Молекула адреналина была рассчитана в двух формах – нейтральной и с зарядом  $-1e^-$  (рисунок 3.4). Рассчитывались различные конформеры адреналина, отличающиеся расположением водорода в ОН группах. Энергетическая разница между конформерами составила не более 10 кДж/моль. В дальнейшем приведены данные для энергетически эффективного конформера. Также для анализа реакции была рассчитана молекула кислорода в триплетном состоянии.



Адреналин

Адреналинполухинон

Рисунок 3.4. Геометрия нейтральной и анионной полухинонной формы молекулы адреналина

На рисунке 3.5 представлены энергии верхних занятых молекулярных орбиталей (ВЗМО) и нижних вакантных (НВМО) орбиталей. Видно, что изомер *i3*, имеет самую маленькую энергетическую щель между ВЗМО и НВМО, что говорит о большей, по сравнению с изомерами *i1* и *i2*, химической активности. Согласно химической структуре и, соответственно своим свойствам, адреналин является донором электронов, и эта его функция реализуется именно в процессе хиноидного окисления [126]. В итоге все расчётные данные для анализа реакции каталитического окисления адреналина и получение анион радикала молекулы кислорода в присутствии молекул фуллеренолов представлены на рисунке 3.5. На рисунке приведены энергии ВЗМО и НВМО орбиталей трёх изомеров фуллеренола с двадцатью четырьмя группами ОН в синглетном состоянии, фуллеренол с зарядом  $-1 e^-$  в дублетном состоянии, адреналин, адреналинполухинон с зарядом  $-1 e^-$  и молекула кислорода в триплетном состоянии соответственно.

Было показано, что в присутствии фуллеренолов реакция идёт по пути А. Разница между уровнями ВЗМО адреналина и НВМО фуллеренола составляет 1,35 эВ в отличие от ВЗМО и НВМО адреналина, где энергетическая щель составляет 5,70 эВ. Очевидно, что требуются заметно более мягкие условия для реализации данного пути. Фуллеренол, с зарядом  $-1$  становится энергетически невыгодным по сравнению с нейтральным и будет возвращаться в исходное состояние. Всё это создаёт предпосылки для передачи электрона по двум каналам: или обратно на адреналин, или на кислород, который всегда присутствует в растворе.

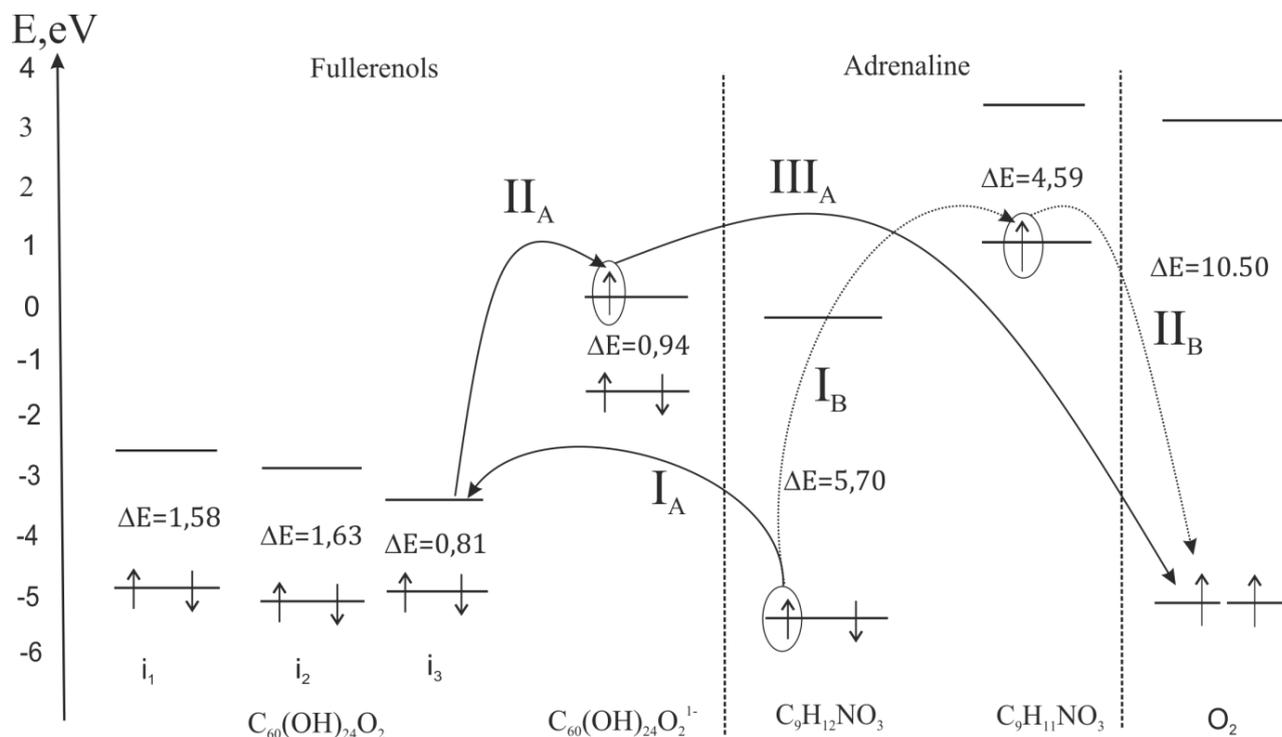


Рисунок 3.5. Схема уровней молекулярных орбиталей и возможная схема реакции окисления адреналина. А – реакция с участием фуллеренола, В – без фуллеренола

По схеме видно, что заряженному фуллеренолу выгоднее отдавать электрон на молекулу кислорода и тем самым получить активную форму кислорода. По схеме видно, что путь В требует больших энергетических затрат по сравнению с путём А. По данному пути система может идти, например, в присутствии основания, когда водород отнимается от адреналина и он переходит в адреналинополухинон. Расчёты показывают, что фуллеренол может проявлять каталитическую прооксидантную активность и ускорять реакцию автоокисления адреналина. Это объясняется энергетической выгодой при переносе электрона с молекулы адреналина на молекулу фуллеренола. Фуллеренол, при этом, может служить «контейнером» электронов и, тем самым, ускорять реакцию автоокисления.

### §3.4. РАСЧЁТ ЭНДОЭДРАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ МЕТАЛЛОФУЛЛЕРЕНОЛОВ $Gd@C_{82}O_xH_y$

Функционалом в расчётах для кластеров  $Gd@C_{82}O_xH_y$  служил мета-гибридный обменно-корреляционный функционал MN15 [127]. Эти функционалы основаны на приближении мета-GGA, то есть они включают члены, которые зависят от плотности кинетической энергии, и все они основаны на сложных функциональных формах, параметризованных в высококачественных базах данных эталонных тестов. Эти функционалы можно использовать для традиционных расчётов квантовой химии и физики твёрдого тела. В функционале MN15 используется несепарабельная (N в MN) функциональная форма с целью обеспечить сбалансированную производительность, как для химии, так и для физики твёрдого тела. Функционал MN15 имеет более широкую точность, чем любые потенциалы DFT, для воспроизведения энергий связи, энергий атомизации, потенциалов ионизации, сродства к электрону, сродства к протону, высоты реакционного барьера, нековалентных взаимодействий, термохимии углеводородов, энергий изомеризации, энергии электронного возбуждения, абсолютных энергий атомов, и молекулярные структуры. В частности, он обеспечивает очень точные результаты для много-, одноконфигурационных и нековалентных систем со средней ошибкой (MUE) 4,75, 1,85 и 0,25 ккал/моль<sup>-1</sup> соответственно, что в несколько раз меньше, чем MUE обычных потенциалы DFT [127]. Базовый набор def(2)-SVP представляет собой сбалансированный базовый набор для обеспечения качества расщеплённой валентности, тройной дзета-валентности и четвертной дзета-валентности для H-Rn, что позволяет правильно описывать энергии атомизации, дипольные моменты и параметры структуры с использованием теории функционала плотности [128].

Положение молекулярных орбиталей рассматривается на основании квантово-механических расчётов. Наиболее важными для рассмотрения являются нижняя вакантная молекулярная орбиталь (НВМО) и высшая занятая молекулярная орбиталь (ВЗМО). На ВЗМО размещены электроны самых высоких энергий,

которые легко взаимодействуют с электронами других молекул, а молекула будет переходить в ионизированное состояние или видоизменяться вследствие разрушения одних или образования других связей. НВМО является следующей после ВЗМО по шкале энергий и является вакантной молекулярной орбиталью. В результате рассмотрения ВЗМО-НВМО можно судить о реакционной способности исследуемых структур [129]. Главным инструментом исследования различных систем при квантово-механическом моделировании является вычислительный комплекс, с программами для расчётов с использованием методов квантовой химии. На данный момент доступно несколько программных пакетов, наиболее популярными являются GAMESS и Gaussian [130], позволяющие производить геометрическую оптимизацию молекул, рассчитывать энергии и другие различные характеристики. Полученные результаты для обеих программ аналогичны. Расчёты проводились согласно схеме, представленной на рисунке 3.6.

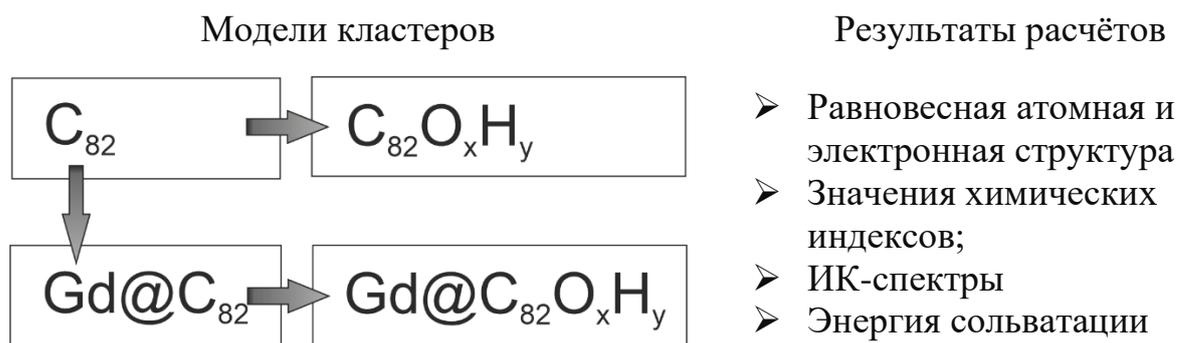


Рисунок 3.6. Схема расчёта исследуемых структур

В работе рассчитаны молекулярные структуры фуллерена  $C_{82}$ , эндоэдрального комплекса  $Gd@C_{82}$  и молекул фуллеренолов  $Gd@C_{82}O_xH_y$ . Так же для оценки антиоксидантных свойств фуллеренолов были рассчитаны электронные характеристики молекулы кислорода с разными мультиплетностями  $-m$  и зарядами  $-z$  ( $O_2^-$   $m=2$ ,  $z=-1$ ;  $O_2^0$   $m=1$ ,  $z=0$ ;  $O_2^0$   $m=3$ ,  $z=0$ ); молекулы пероксида водорода ( $H_2O_2$   $m=1$ ,  $z=0$ ;  $HO_2^-$   $m=2$ ,  $z=-1$ ). Модели молекул фуллеренов и их производных были сконструированы в симметрии  $C_1$  и  $C_{2v}$  (рисунки 3.7 и 3.8) и оптимизированы в рамках MN15 и базисных наборов def(2)-SVP для атомов углерода (C), кислорода (O), водорода (H) и def(2)-SVP\_ECP для атома гадолиния (Gd) [131] в программе GAUSSIAN. Расчёты проводили в рамках ограниченного

метода Хартри-Фока с открытой оболочкой (ROHF) в газовой среде и с учётом растворителя, где в качестве модели воды использовали подход SMD [11].

Структуры металлофуллеренолов представлены двух видов: одни структуры ( $C_{2v}$ ) обладают целым, закрытым углеродным каркасом, на который прикреплены гидрокси- и эпокси-группы (рисунок 3.7, а); другие структуры ( $C_1$ ) представлены с различными функциональными группами (карбоксо-, гидроксо-группы и кислородный мостик), которые разрушают целостность углеродного каркаса (рисунок 3.7, б).

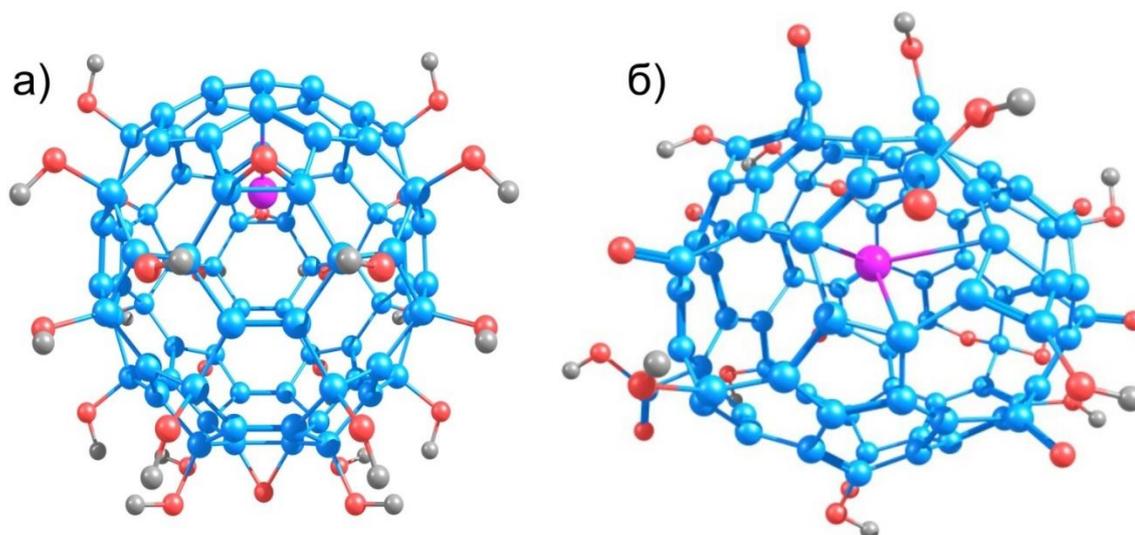


Рисунок 3.7. Структуры эндоэдральных комплексов металлофуллеренов  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_x\text{H}_y$ . а)  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_3(\text{OH})_{24}$  и б)  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_{24}\text{H}_{12}$ . Атомы углерода, гадолиния, кислорода и водорода обозначены голубым, фиуксией, красным и серым, соответственно

Внутри молекулы  $\text{C}_{82}$  поместили атом гадолиния и рассчитали структуру  $\text{Gd@C}_{82}$  в симметрии  $C_{2v}$ , в которой атом Gd расположен на оси  $C_2$  (рисунки 3.8, а-б). Оптимизация для этого эндоэдрального металлофуллерена  $\text{Gd@C}_{82}$  проводилась со спином  $S=7/2$ , что соответствует конфигурации  $4f^7$  иона  $\text{Gd}^{+3}$ . Далее симметрично распределяли 8, 16, 24, 36 и 44 гидроксильные группы на молекуле  $\text{Gd@C}_{82}$  и рассчитывали структуры (рисунки 3.8, в). Также оптимизацию геометрии проводили для структур фуллеренолов с тремя эпоксидными группами с максимально возможной симметрией  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_3(\text{OH})_y$  ( $y=8, 16, 24, 36, 44$ ,

рисунки 3.8, г). При построении молекулярных структур гидроксильные группы и эпоксидные группы располагали равномерно по углеродному каркасу фуллерена для того, чтобы уменьшить число возможных внутримолекулярных взаимодействий.

Для оценки реакционной способности фуллеренолов и эндоэдральных комплексов были рассчитаны химические индексы. Индекс электрофильности –  $\omega = \chi^2/2\eta$  (где  $\eta = -(I+A)/2$ , где  $I$  – энергия НОМО орбитали,  $A$  – энергия LUMO орбитали) – служит показателем склонности молекулы к атаке нуклеофила, а абсолютная электроотрицательность –  $\chi = (I+A)/2$  характеризует реакционную способность [129]. При изучении структур проводился анализ электронной структуры, рассчитывали ИК-спектр и сравнивали его с экспериментом. Далее оценивали взаимодействие структур с активными формами кислорода и возможным перспективным применением в магнитно-резонансной томографии [132].

Молекула  $Gd@C_{82}$  имеет геометрическую структуру, в которой атом Gd расположен над центром шестиугольника на оси  $C_2$  в молекуле  $C_{82}$  ( $C_{2v}$ ), [111]. Электронная конфигурация изолированного атома Gd равна  $4f^75d^16s^2$  и это указывает на то, что электроны Gd  $5d$ - и  $6s$ - в основном перенесены на углеродную сферу, что говорит о важности ионного взаимодействия между Gd и  $C_{82}$ . Этот вывод хорошо согласуется с ионной моделью  $Gd^{3+}@C_{82}^{3-}$  [133]. Основное спиновое состояние  $Gd@C_{82}$  является результатом антиферромагнитного внутримолекулярного обмена связи между атомом гадолиния со спином  $S_{Gd}=7/2$  и  $S_{C_{82}}=1/2$  и с общим спином комплекса  $S_{Gd@C_{82}}=6/2$ .

Молекула фуллерена  $C_{82}$  с симметрией  $C_{2v}$  состоит из 12 пентагонов и 32 гексагонов (рисунок 3.8, а), в вершинах которых расположены атомы углерода, таким образом, в молекуле  $C_{82}$  ( $C_{2v}$ ) имеется система сопряжённых связей ( $\pi$ -система).

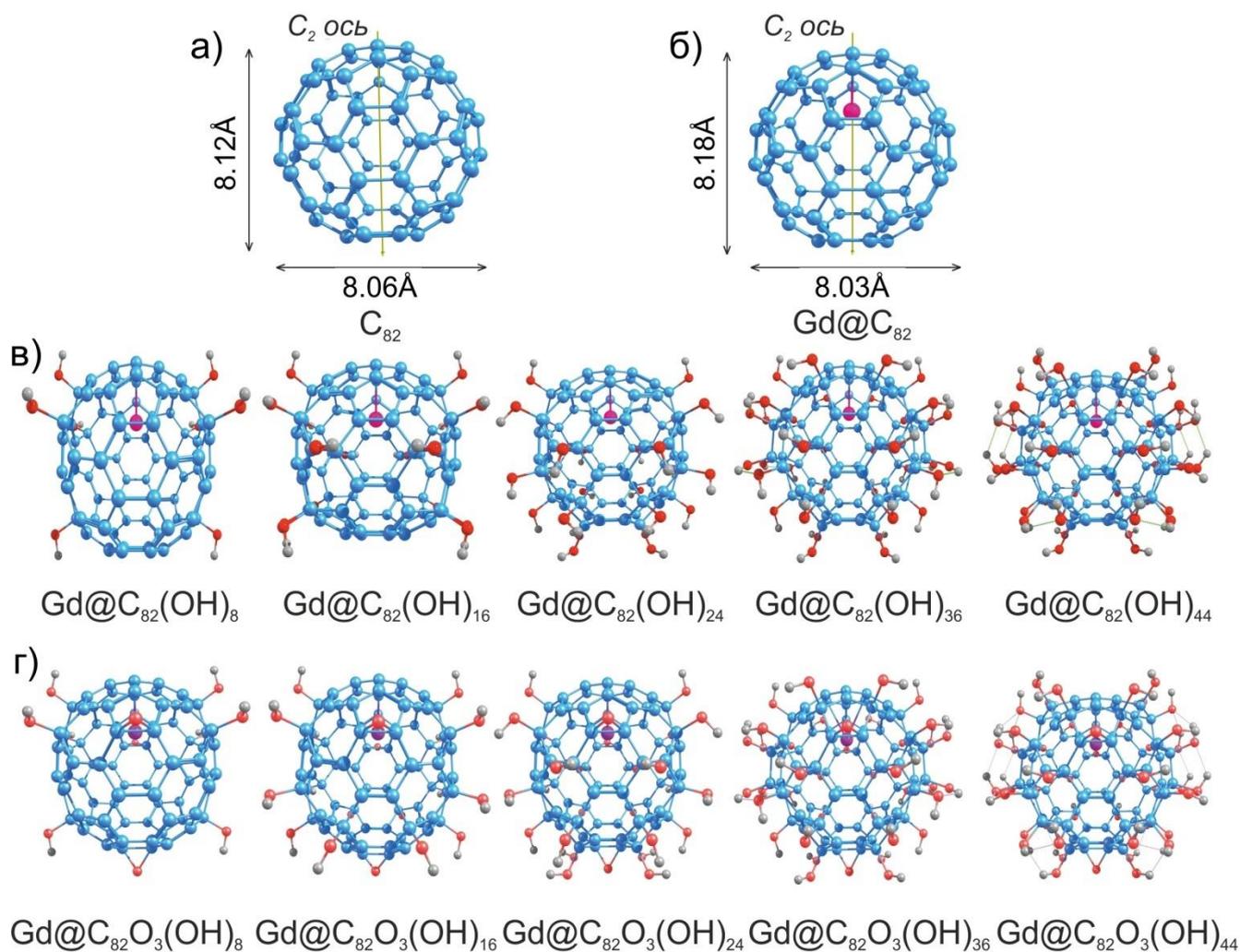


Рисунок 3.8. Структуры рассчитанных молекул. а)  $C_{82}$ , б)  $Gd@C_{82}$ , в)  $C_{82}O_x(OH)_y$  и г)  $Gd@C_{82}O_x(OH)_y$  (где  $x = 0, 3$ ;  $y = 8, 16, 24, 36, 44$ ) в симметрии  $C_{2v}$ . Цвета атомов как на рисунке 3.7. Длина молекулы указана в Å.

Когда в молекулу фуллерена  $C_{82}$  поместили атом гадолиния, длина связи между атомами увеличилась с 1,42-1,43 на 1,44-1,45 Å ( $\Delta l = 0,02$  Å). При этом на длину связи практически не влияет нахождение гидроксильных групп (8, 16 и 24) на молекуле фуллерена ( $l = 1,38-1,42$  Å), по сравнению с фуллереном (рисунок 3.8, а). Однако, увеличение гидроксильных групп до 36-и и 44-х значительно изменяет длину связи, за счёт чего происходит разрушение  $\pi$ -системы, и длина одинарной связи увеличивается от 1,41-1,42 до 1,51-1,53 Å ( $\Delta l = 0,10-0,12$  Å), а длина двойной связи уменьшается от 1,38-1,41 до 1,33-1,35 Å ( $\Delta l = 0,06-0,08$  Å) (рисунок 3.8, б). Помимо длины связи также изменяются и углы между атомами в углеродном шестиугольнике, в котором расположен атом гадолиния (рисунок 3.9).

Присутствие иона гадолиния, также как и атомов кислорода и гидроксильных групп (8, 16 и 24), в структуре фуллерена  $C_{82}$  практически не изменяет углы связи между атомами (рисунок 3.9, а). При этом большее количество гидроксильных групп увеличивает угол  $\angle C_{1-2-3}$  на 2-4 градуса ( $\angle C_{1-2-3}$  изменяется от 120 до 124 градусов),  $\angle C_{1-2-4}$  увеличивается на 3-4 градуса (от 109 до 112-113 градусов),  $\angle C_{3-2-4}$  уменьшается на 3-4 градуса для структур с 36-ю гидроксильными группами (от 122-125 до 118-119 градусов). Однако для структур с 44-я гидроксильными группами углы увеличиваются на 3-4 градуса, относительно структуры с 36-ю гидроксильными группами (от 118-119 до 121-122 градусов) (рисунок 3.9, б). В целом можно заключить, что для структур  $C_{82}O_x(OH)_y$  и  $Gd@C_{82}O_x(OH)_y$  (где  $x = 0, 3$ ;  $y = 8, 16, 24, 36, 44$ ) наблюдается разделение на две условные группы: в первую группу входят структуры  $C_{82}O_x(OH)_y$  и  $Gd@C_{82}O_x(OH)_y$  (где  $x = 0, 3$ ;  $y = 8, 16, 24$ ), во вторую  $C_{82}O_x(OH)_y$  и  $Gd@C_{82}O_x(OH)_y$  (где  $x = 0, 3$ ;  $y = 36, 44$ ). Так для первой группы  $\pi$ -система сохраняется даже в присутствии иона гадолиния в углеродном каркасе, что можно наблюдать по изменению угла шестиугольника, в центр которого расположен атом гадолиния, для структур фуллеренолов. Однако при увеличении количества гидроксильных групп можно наблюдать, как резко изменяется угол связи и природа химической связи, т.е. происходит разрушение  $\pi$ -системы, и полуторная связь сменяется на одинарную и двойную, что приводит к резкому изменению геометрии углеродного каркаса. Присутствие 8, 16 и 24 гидроксильных групп на углеродном каркасе  $C_{82}$  не приводит к их существенному взаимодействию (рисунок 3.9, а). Увеличение гидроксильных групп (до 36 и 44 групп) приводит к тому, что они располагаются близко друг к другу, из-за этого они начинают взаимодействовать и образуют систему водородных связей (рисунок 3.9, б). Расстояние между атомами кислорода одной гидроксильной группы и водорода другой гидроксильной группы находится в интервале от 1,89 до 1,97 Å (рисунок 3.9, б).

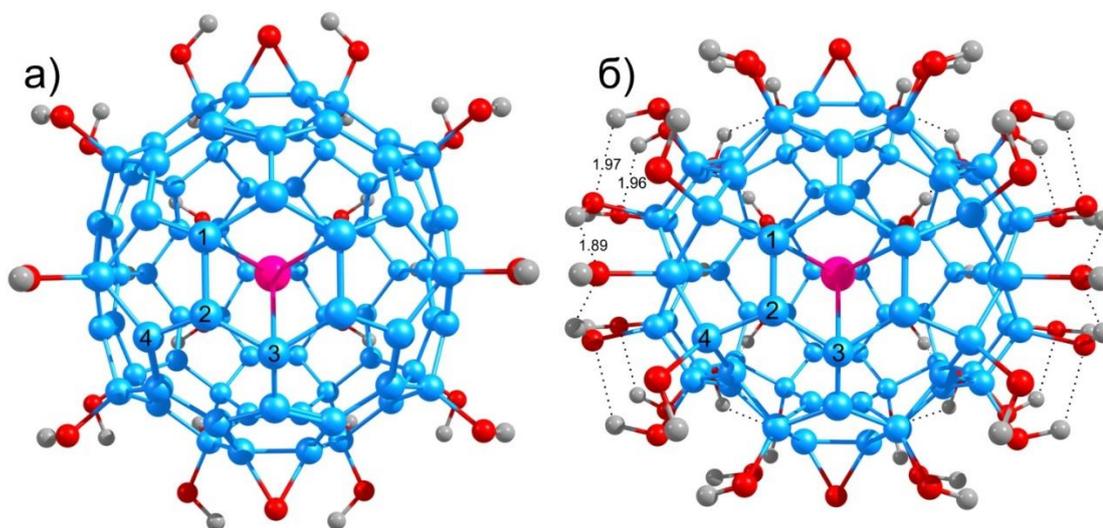


Рисунок 3.9. Атомные структуры молекул (а)  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_3(\text{OH})_{24}$  и (б)  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_3(\text{OH})_{44}$ . Цвета атомов как на рисунке 3.7. Атомы углерода, обозначенные 1 и 2, 2 и 3, указывают на одинарную связь (1-2) и двойную (2=3), соответственно. Пунктирная линия показывает водородную связь между гидроксильными группами, её длина варьируется от 1,89 до 1,97 Å.

В ряду  $\text{C}_{82}\text{O}_x(\text{OH})_y$  с количеством OH-групп 8, 16, 24 растёт энергия взаимодействия с растворителем от 213 до 402 кДж/моль, однако, для  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_x(\text{OH})_y$  наиболее выгодной структурой по энергии растворения (сольватации) является структура с 16-ю гидроксильными группами (793 кДж/моль). Для структур  $\text{C}_{82}\text{O}_x(\text{OH})_y$  и  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_x(\text{OH})_y$  ( $x = 0, 3$ ;  $y = 24$ ) сохраняется  $\pi$ -система, следовательно наблюдается высокое сродство к электрону, что будет способствовать хорошим антиоксидантным свойствам. Увеличение количества гидроксильных групп-заместителей, в  $\text{C}_{82}\text{O}_x(\text{OH})_y$  и  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_x(\text{OH})_y$  (где  $x = 0, 3$ ;  $y = 36, 44$ ), приводит к взаимодействию между атомами кислорода и водорода соседних гидроксильных групп, образуя внутримолекулярные водородные связи (рисунок 3.9, б), поэтому такие фуллеренолы хуже растворяются. Энергия сольватации была рассчитана для структур с большим количеством эпокси-групп  $\text{C}_{82}\text{O}_8(\text{OH})_y$  (где  $y = 8, 16, 24, 36, 44$ ). Для структур с количеством OH-групп 8, 16, 24 растёт энергия взаимодействия с растворителем от 165 до 298 кДж/моль, для структуры с 36-ю гидроксильными группами уменьшилась до 258 кДж/моль, и возросла для структуры с 44-я гидроксильными группами до 288 кДж/моль. При

этом присутствие гадолиния не повлияло на значения энергии сольватации. Как следствие, для структур с большим количеством гидроксильных групп, будет хуже взаимодействие с растворителем. Так же углеродный каркас сильно искажается в случае с 36-ю и 44-я гидроксильными группами, что приводит к тому, что единая  $\pi$ -система для всей молекулы разрушается и происходит уменьшение сродства к электрону. Таким образом, происходит уменьшение растворимости фуллеренолов, что также может приводить к снижению антиоксидантной активности.

### §3.5. АНАЛИЗ ЭЛЕКТРОННЫХ СТРУКТУР ФУЛЛЕРЕНОЛОВ

Данные по энергии высшей занятой и низшей вакантной молекулярных орбиталей исследуемых структур в растворителе, а также величина энергетической щели ( $\Delta E_{\text{HOMO-LUMO}}$ ) представлены на рисунке 3.10. Для сопоставления, были рассчитаны атом гадолиния с мультиплетностью 8 (рисунок 3.10, а) и молекула фуллерена  $C_{82}$  симметрии  $C_{2v}$  (рисунок 3.10, б). Распределение атомов кислорода на молекуле  $C_{82}(\text{OH})_{24}$  незначительно повлияло как на энергетическое состояние ВЗМО и НВМО орбиталей ( $\Delta E_{\text{ВЗМО-НВМО}}$  увеличилась на 0,032 эВ для  $C_{82}\text{O}_3(\text{OH})_{24}$  относительно  $C_{82}(\text{OH})_{24}$ ), так и на локализацию орбиталей в пространстве. При расчёте  $\text{Gd}@C_{82}\text{O}_x(\text{OH})_y$  применяли метод ROHF со спином 7, что приводит к появлению альфа и бета электронов на энергетической диаграмме. Электроны Gd 4f-состояния лежат ниже по энергии на 1,88 эВ относительно ВЗМО орбитали (Ef-оболочка от -6,24 до -6,69 эВ). ВЗМО орбиталь преимущественно находится на атомах углерода фуллеренола (рисунок 3.10, б, в, г), тем самым сохраняется общий высокий магнитный момент молекулы. Орбитали ВЗМО и НВМО фуллерена  $C_{82}$  симметрии  $C_{2v}$  располагаются в верхней части молекулы (рисунок 3.10, б). В присутствии гадолиния на молекуле фуллерена, ВЗМО орбитали ( $\alpha$  и  $\beta$ ) локализовались в верхней части молекулы там, где находится атом гадолиния. При этом НВМО орбитали стали располагаться преимущественно на противоположной стороне молекулы (рисунок 3.10, в). При появлении гидроксильных групп и

кислорода на поверхности фуллеренола, ВЗМО и НВМО орбитали стали ещё более локализованы, т.е. электронная плотность ВЗМО сконцентрировалась на атомах углерода вблизи гадолиния, и наоборот, электронная плотность НВМО орбитали стала располагаться на другом полюсе молекулы (рисунок 3.10, г).

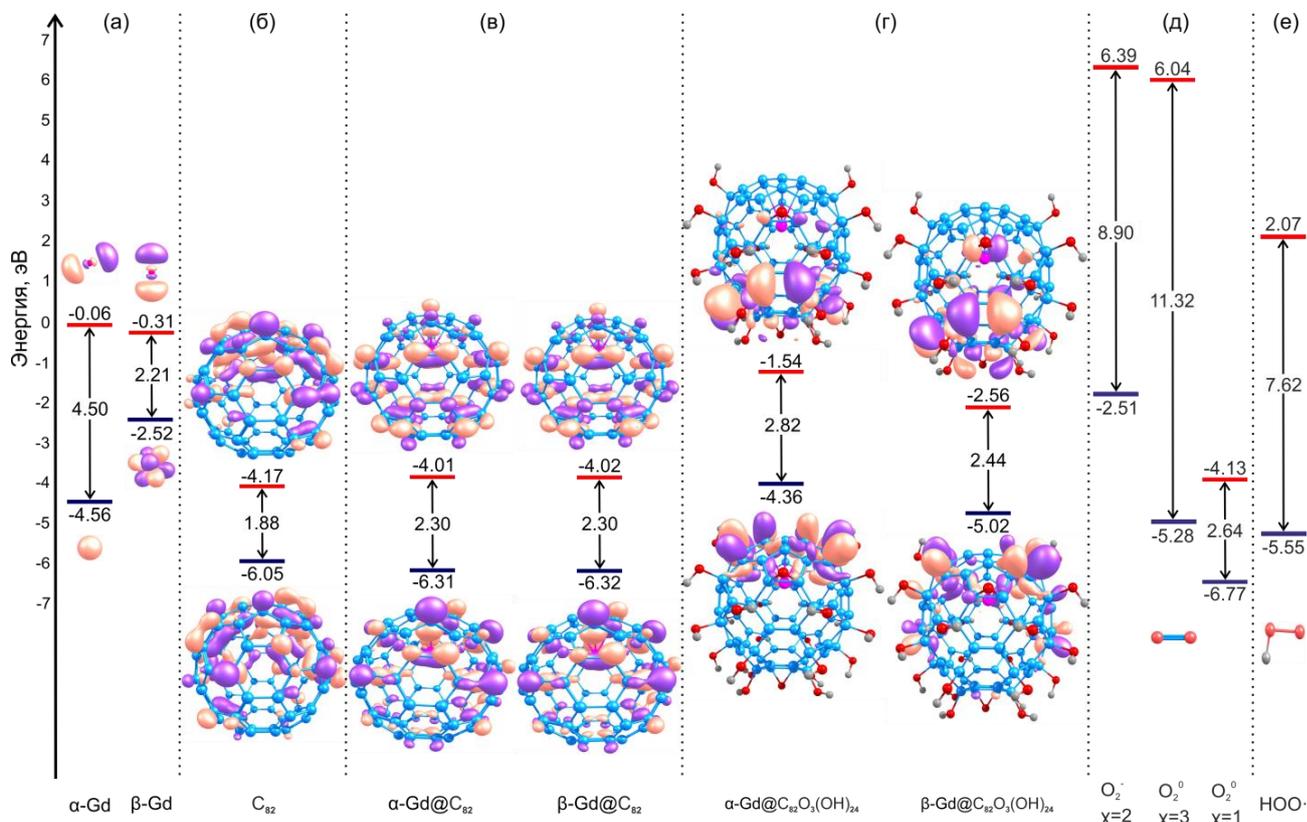


Рисунок 3.10. Диаграмма граничных молекулярных орбиталей для (а) Gd, (б)  $C_{82}$ , (в) Gd@ $C_{82}$ , (г) Gd@ $C_{82}O_3(OH)_{24}$ , (д)  $O_2^0$  ( $\chi=1$ ,  $\chi=3$ ),  $O_2^-$  ( $\chi=2$ ) и (е) HOO $\cdot$  с учётом растворителя. Уровни ВЗМО и НВМО обозначены синими и красными линиями, соответственно. Число между ВЗМО и НВМО – энергетическая щель

Присутствие атома гадолиния практически не повлияло на смещение по энергии занятых и вакантных орбиталей. ВЗМО орбиталь сместилась вниз по энергии на 0,26 эВ (с 6,05 на -6,31 (-6,32) эВ), НВМО орбиталь сместилась вверх по энергии на 0,10 эВ (с -4,17 на -4,01 (-4,02) эВ), энергетическая щель увеличилась на 0,42 эВ (с 1,88 до 2,30 эВ) относительно чистого фуллерена  $C_{82}$  (рисунок 3.10, в). Распределение атомов кислорода и гидроксильных групп привело к тому, что  $\alpha$ -ВЗМО орбиталь сместилась вверх по энергии на 1,95 эВ (с -6,31 на -4,36 эВ),  $\alpha$ -НВМО орбиталь также сместилась вверх по энергии на 2,47 эВ (с -4,01 на -1,54 эВ, рисунок 3.10, г).  $\beta$ -ВЗМО орбиталь сместилась вверх по энергии на 1,3 эВ (с -6,32

на  $-5,02$  эВ),  $\beta$ -НВМО орбиталь также сместилась вверх по энергии на  $1,46$  эВ (с  $-4,02$  на  $-2,56$  эВ) (рисунок 3.10, г). Энергетическая щель для фуллеренола  $\beta$ - $\text{Gd}@C_{82}O_3(\text{OH})_{24}$  увеличилась на  $0,14$  эВ (с  $2,30$  до  $2,44$  эВ) относительно чистого металлофуллерена  $\beta$ - $\text{Gd}@C_{82}$ . В случае активации молекула  $\text{Gd}@C_{82}O_3(\text{OH})_{24}$  будет сильнее перетягивать электроны молекул растворителя и активных форм кислорода, чем сама взаимодействовать (реагировать) с ними.

Также сопоставляли электронную структуру молекул  $O_2$  ( $O_2^-$   $x=2$ ;  $O_2^0$   $x=1$ ;  $O_2^0$   $x=3$ ) и  $\text{HOO}^\cdot$  (рисунок 3.10, д, е) с фуллеренолами  $C_{82}O_x(\text{OH})_y$ ,  $\text{Gd}@C_{82}O_x(\text{OH})_y$  ( $x=0, 3$ ;  $y=8, 16, 24, 36, 44$ ) подобно тому, как сделано в работе Xing Dai [111]. ВЗМО орбитали аниона и молекулы кислорода ( $O_2^-$ ,  $m=2$ ;  $O_2^0$ ,  $m=3$ ) находятся по энергии на  $-2,51$  и  $-5,28$  эВ, а НВМО на  $6,39$  и  $6,04$  эВ, соответственно, при возбуждении молекул переход электрона на свою вакантную орбиталь будет затруднён из-за того, что надо будет затратить много энергии (около  $8,90$  и  $11,32$  эВ, соответственно, рисунок 3.10, д). Следовательно, электрону будет легче перейти на НВМО орбиталь молекулы фуллеренола, энергия которой составляет  $-1,54$  ( $\alpha$ ) и  $-2,56$  эВ ( $\beta$ ). В синглетном состоянии ВЗМО - НВМО энергетическая щель, молекулы кислорода ( $O_2^0$ ,  $m=1$ ), составляет  $2,64$  эВ, следовательно, электроны при возбуждении будут переходить на свою вакантную орбиталь (рисунок 3.10, д). ВЗМО орбиталь гидроксипероксидного радикала ( $\text{HOO}^\cdot$ ) находится по энергии на  $-5,55$  эВ, а НВМО на  $2,07$  эВ, при возбуждении молекулы переход электрона на свою вакантную орбиталь будет затруднён из-за того, что надо будет затратить много энергии (около  $7,62$  эВ, рисунок 3.10, е). В таком случае, у электрона появляется хорошее сродство к НВМО орбитали молекулы фуллеренола, энергия которой составляет  $-1,54$  ( $\alpha$ ) и  $-2,56$  эВ ( $\beta$ ). Молекулы активных форм кислорода имеют большие значения энергетической щели, и их вакантная молекулярная орбиталь находится высоко по энергии, что затрудняет переход электрона с высшей занятой МО на низшую вакантную МО. Граничные молекулярные орбитали фуллеренолов находятся между ВЗМО и НВМО орбиталями активных форм кислорода, поэтому данные молекулы могут с лёгкостью взаимодействовать между собой.

Для структур  $Gd@C_{82}O_x(OH)_y$  и  $C_{82}O_x(OH)_y$ , были рассчитаны  $\omega$  (электрофильность) и  $\chi$  (абсолютная электроотрицательность), полученные значения представлены в таблице 3.1. Для структур  $C_{82}O_x(OH)_y$  ( $x = 0, 3$ ;  $y = 16, 24$ ) не наблюдается изменений в реакционной способности между структурами, абсолютная электроотрицательность находится в интервале от -4,5 до -4,9. Присутствие атома гадолиния приводит к резким изменениям реакционной способности, кроме того, реакционная способность  $\alpha$ - и  $\beta$ -электронов также отличается. Так, например, изменение свойств можно наблюдать для структур  $Gd@C_{82}(OH)_y$  ( $y = 16, 24$ ), у которых абсолютная электроотрицательность  $\alpha$ -электронов равна -3,8 и -3,1, а для  $\beta$ -электронов -5,1 и -3,5, соответственно.

Таблица 3.1. Рассчитанные химические индексы металлофуллеренолов

Индексы	Комплексы					
	$C_{82}O_x(OH)_y$					
	$C_{82}O_3(OH)_8$		$C_{82}O_3(OH)_{16}$		$C_{82}O_3(OH)_{24}$	
$\omega$	7,3		5,2		11,6	
$\chi$	-4,8		-4,5		-4,8	
	$Gd@C_{82}O_x(OH)_y$					
	$Gd@C_{82}O_3(OH)_8$		$Gd@C_{82}O_3(OH)_{16}$		$Gd@C_{82}O_3(OH)_{24}$	
	$\alpha$	$\beta$	$\alpha$	$\beta$	$\alpha$	$\beta$
$\omega$	13,0	6,5	5,7	5,8	3,1	5,8
$\chi$	-4,3	-4,6	-3,2	-3,2	-2,9	-3,8
Электрофильность – $\omega$ , в отн.ед. и абсолютная электроотрицательность $\chi$ , в эВ						
$C_{82}$ : $\chi=-5,1$ эВ, $\omega=13,9$ отн.ед.; $Gd@C_{82}$ : ( $\alpha$ ) $\chi=-5,6$ эВ, $\omega=11,6$ отн.ед.; ( $\beta$ ) $\chi=-5,2$ эВ, $\omega=11,7$ отн.ед.						

Распределение атомов кислорода к таким структурам не приводит к сильному различию реакционной способности между  $\alpha$ - и  $\beta$ -электронами, так для структуры с 16-ю гидроксильными группами абсолютная электроотрицательность  $\alpha$ - и  $\beta$ -электронов равна -3,2, а для структуры с 24-я гидроксильными группами равна -2,9 и -3,8, соответственно. Наибольшая склонность к атаке нуклеофила наблюдается для структуры  $C_{82}O_3(OH)_{24}$ , для которой индекс электрофильности

$\omega = 11,6$ , в то время как для  $C_{82}O_3(OH)_{16}$  равен 5,2. Когда атом гадолиния находится внутри углеродного каркаса, способность принимать электроны у структуры с 16-ю гидроксильными группами ( $\alpha$  и  $\beta$ ) равна 5,7, а для структуры с 24-я гидроксильными группами равна 3,1 и 5,8, по  $\alpha$ - и  $\beta$ -электронам соответственно.

Таким образом, можно сделать вывод, что присутствие иона гадолиния повышает реакционную способность и электрофильные свойства молекул фуллеренолов. При этом эндоэдральный комплекс фуллеренола с 24-я гидроксильными группами обладает наибольшей электрофильностью.

### §3.6. ИК-СПЕКТРЫ $Gd@C_{82}O_x(OH)_y$ и $C_{82}O_x(OH)_y$

ИК-спектры фуллеренолов и эндоэдральных металлофуллеренолов (рисунок 3.11, а, б) можно разделить на три области:

- 1) 4000-3900  $cm^{-1}$ . Область ковалентных колебаний простых связей: О-Н.
- 2) 1900-1700  $cm^{-1}$ . Область валентных колебаний кратных связей: С=С.
- 3) 1700-500  $cm^{-1}$ . Область валентных колебаний простых связей: С-С, С-О; и деформационных простых связей: С-О, О-Н.

Изменения в ИК-спектрах структур  $Gd@C_{82}O_x(OH)_y$  и  $C_{82}O_x(OH)_y$  сильно зависят от распределения гидрокси- и эпокси-групп и от того, насколько они плотно упакованы на поверхности фуллерена. Интенсивность спектров в водном растворителе значительно выше, чем в вакууме. Теоретические данные ИК-спектров находятся в согласовании с экспериментом (рисунок 3.11, б).

Деформационные колебания для структуры  $Gd@C_{82}O_3(OH)_{24}$  в растворителе (рисунок 3.11, б), наблюдаются в интервале от 40 до 1600  $cm^{-1}$ . Маятниковые колебания для С-О-Н приходятся на пик от 660 до 1100  $cm^{-1}$ , а ножничные колебания от 1300 до 1700  $cm^{-1}$ . Для С-О-С маятниковые колебания разбиты на группы пиков в диапазоне от 700 до 1000  $cm^{-1}$ , а ножничные колебания разделены на пики от 1410 до 1500  $cm^{-1}$ . Валентные колебания для Gd-С приходится на пик

$760\text{ см}^{-1}$ . C-C относится к пику  $1400\text{ см}^{-1}$ , а для C=C от  $1600$  до  $1800\text{ см}^{-1}$ . Также присутствуют пики для C-O от  $1100$  до  $1250\text{ см}^{-1}$  и для O-H от  $3700$  до  $4000\text{ см}^{-1}$ .

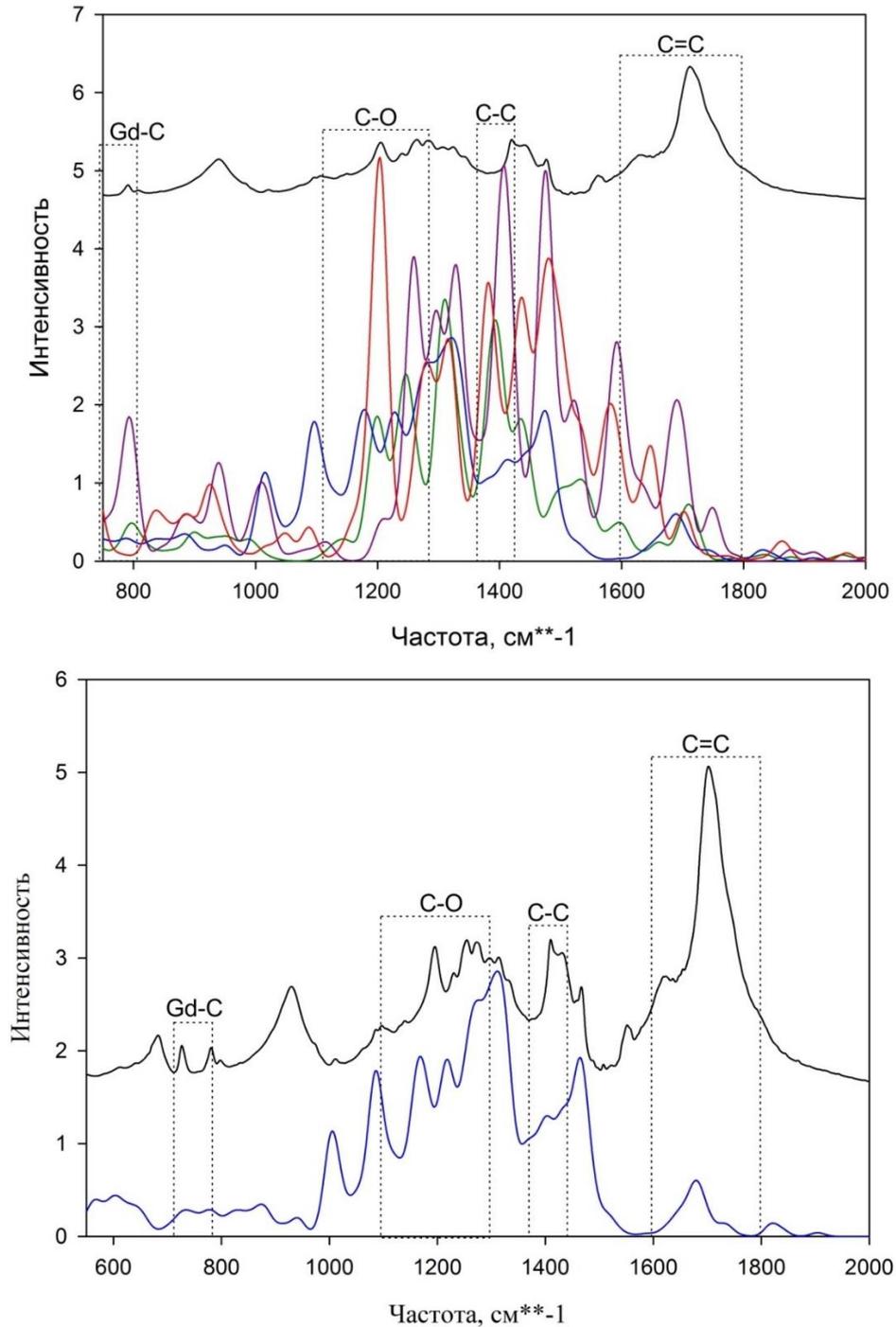


Рисунок 3.11. ИК-спектр – эксперимент и расчёт. а) ИК-спектр  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_x(\text{OH})_{24}$  и  $\text{C}_{82}\text{O}_x(\text{OH})_{24}$  (где  $x = 0, 3$ ) в растворителе. Фиолетовая линия –  $\text{C}_{82}(\text{OH})_{24}$ , красная линия –  $\text{C}_{82}\text{O}_3(\text{OH})_{24}$ , зелёная линия –  $\text{Gd@C}_{82}(\text{OH})_{24}$  и синяя линия –  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_3(\text{OH})_{24}$ . Чёрная линия –  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_x(\text{OH})_y$  в матрице KBr (эксперимент), б) ИК-спектр  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_3(\text{OH})_{24}$  в растворителе (синяя линия) и  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_x(\text{OH})_y$  (чёрная линия) в матрице KBr (эксперимент)

### §3.7. АТОМНАЯ И ЭЛЕКТРОННАЯ СТРУКТУРЫ ВАЛЕНТНЫХ ИЗОМЕРОВ ФУЛЛЕРЕНОЛОВ – ФУМЕРОЛОВ

Помимо фуллеренолов, обладающих целым углеродным каркасом, который начинает разрушаться только в том случае, когда прикрепленных функциональных групп более 36, также могут быть получены комплексы фуллеренолов с нарушенным углеродным каркасом фуллерена. Такие структуры были названы нами как фумеролы (получено от Фуллерен+химера+ол=Фумерол). В местах разрыва углеродного каркаса возможно прикрепить различные функциональные группы (карбоксо-, гидроксигруппы, кислородный мостик и т.д.). Для построения таких молекул – фумеролов использовали структуры с 24-я атомами кислорода и 12-ю атомами водорода, при этом, атом гадолиния размещали в различных положениях, в том числе, вблизи разрыва углеродного каркаса для того, чтобы убедиться в стабильности металлофумеролового комплекса (рисунок 3.12). Данные комплексы предложены в качестве модели, для объяснения некоторых экспериментальных фактов, не укладывающихся в стандартную модель фуллеренолов. Подобные экзотические варианты валентных изомеров были предложены в работе *Zhenzhen Wang* [134] для молекулы  $C_{60}$ .

На рисунке 3.12 представлены 4 валентных изомера эндоэдрального комплекса фуллеренола. Гадолиний располагали в разных частях полости фумерола, длина связи между атомами углерода 1, 2 и 2, 3 в этих структурах, при этом, увеличилась с 1,37-1,49 до 1,49 Å ( $\Delta l=0,02-0$  Å) (рисунок 3.13). Для структуры  $\beta$ -Gd@C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub> длина связи практически не изменилась (1,39-1,44 на 1,39-1,41 Å,  $\Delta l=0-0,03$  Å) (рисунок 3.13). Длина связи между атомами сильно изменяется (уменьшается) для изомера  $\nu$ -Gd@C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub> с 1,37-1,50 на 1,38-1,40 Å ( $\Delta l=0,01-0,1$  Å) (рисунок 3.13). Для четвертого изомера ( $\zeta$ -Gd@C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub>) длина связи несильно изменяется (1,42-1,53 на 1,36-1,53 Å,  $\Delta l=0,06$  Å) (рисунок 3.13).

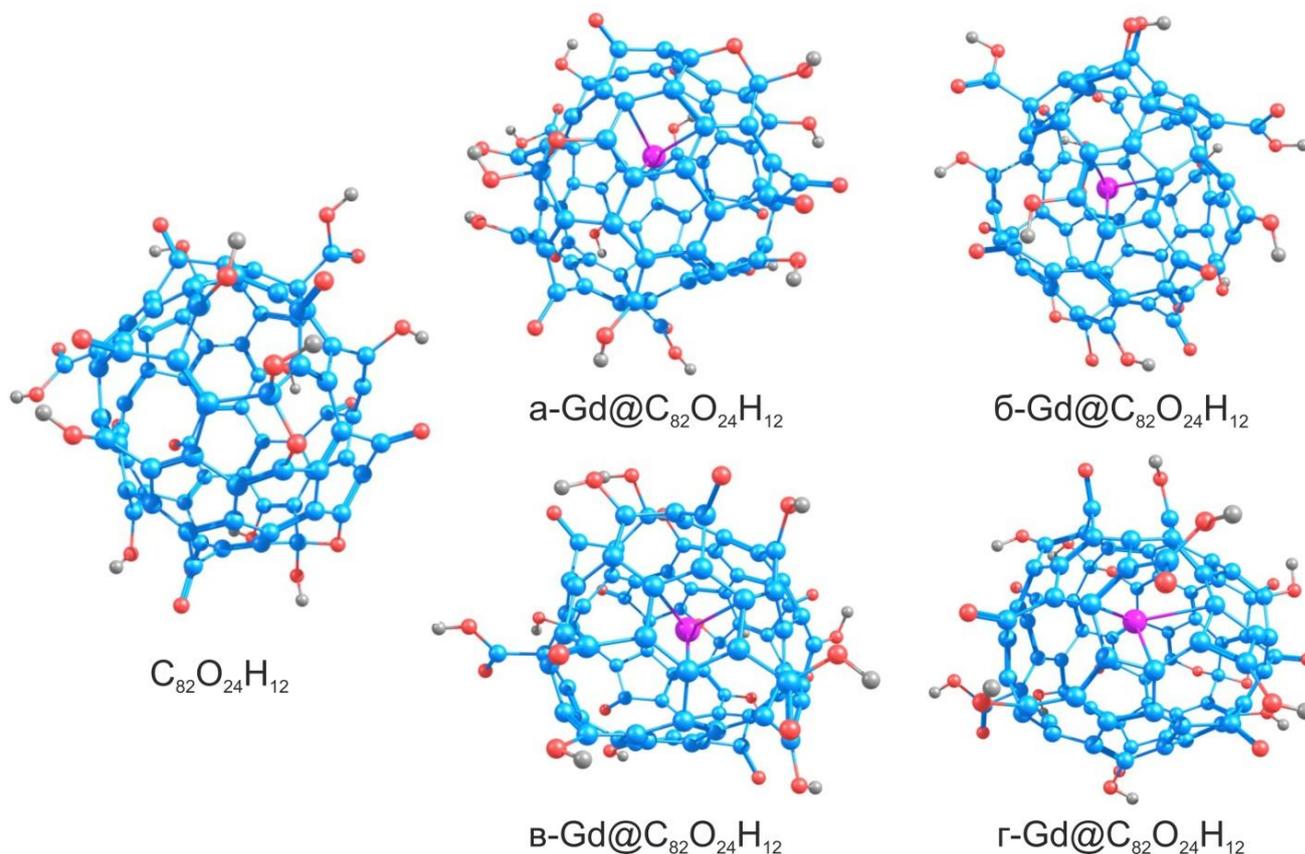


Рисунок 3.12. Структуры фумеролов  $C_{82}O_{24}H_{12}$  и  $Gd@C_{82}O_{24}H_{12}$ , где гадолиний находится в разных положениях. Цвета атомов как на рисунке 3.7

Помимо длины связи также изменяются и углы между атомами в углеродном шестиугольнике, в котором расположен атом гадолиния (рисунок 3.13.). Присутствие иона гадолиния, также как и атомов кислорода и водорода, в структуре фумерола  $C_{82}O_{24}H_{12}$  в изомере *a*, привело к уменьшению угла связи в шестиугольнике, где расположен гадолиний, так  $\angle C_{1-2-3}$  на 6 градусов ( $\angle C_{1-2-3}$  изменяется от 123 до 117 градусов),  $\angle C_{1-2-4}$  на 6 градусов (от 124 до 118 градусов),  $\angle C_{3-2-4}$  увеличивается на 9 градусов (от 111 до 120 градусов, рисунок 3.13). Для изомера  $\beta\text{-Gd@C}_{82}O_{24}H_{12}$  угол  $\angle C_{1-2-3}$  уменьшился на 1 градус ( $\angle C_{1-2-3}$  изменяется от 118 до 117 градусов),  $\angle C_{1-2-4}$  увеличился на 13 градусов (от 122 до 135 градусов),  $\angle C_{3-2-4}$  уменьшился на 14 градусов (от 118 до 104 градусов, рисунок 3.13). В случае с изомером  $\gamma\text{-Gd@C}_{82}O_{24}H_{12}$ , угол  $\angle C_{1-2-3}$  увеличился на 7 градусов ( $\angle C_{1-2-3}$  изменяется от 115 до 122 градусов),  $\angle C_{1-2-4}$  на 11 градусов (от 112 до 123 градусов),  $\angle C_{3-2-4}$  уменьшился на 26 градусов (от 130 до 114 градусов, рисунок 3.13). В целом для изомеров эндоэдрального комплекса фумерола ( $C_{82}O_{24}H_{12}$ ), с гадолинием в

различных положениях, наблюдается разброс в значении длин и углов между атомами.

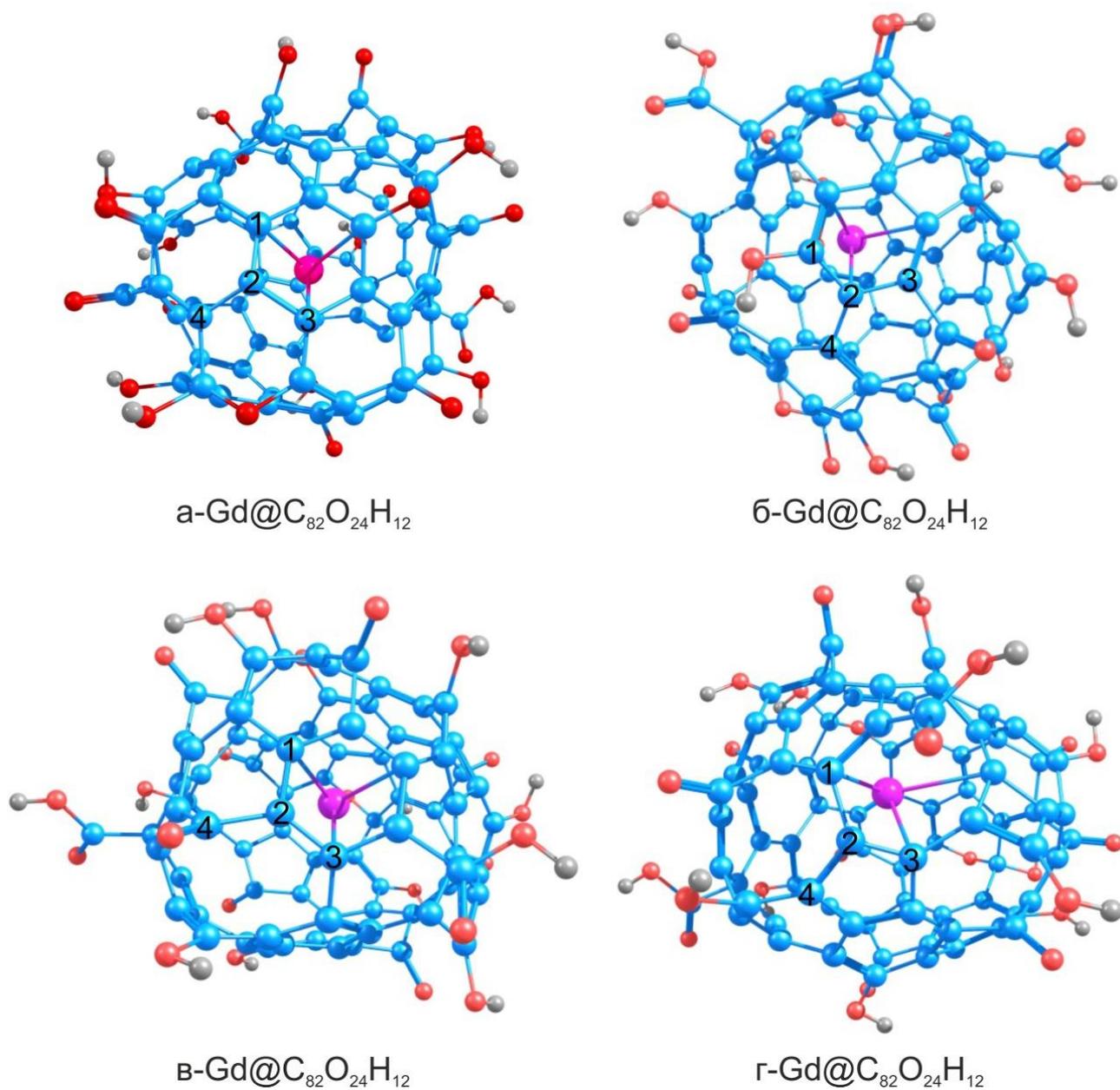


Рисунок 3.13. Структуры валентных изомеров – фумеролов Gd@C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub>. Атомы углерода, обозначенные 1 и 2, 2 и 3, указывают на одинарную связь (1-2) и двойную (2=3), соответственно. Цвета атомов как на рисунке 3.7

Данные по энергии высшей занятой и низшей вакантной молекулярных орбиталей исследуемых структур в растворителе, а также величина энергетической щели ( $\Delta E_{\text{HOMO-LUMO}}$ ) представлены на рисунке 3.14. Для сопоставления, были рассчитаны атом гадолиния с мультиплетностью 8 (рисунок 3.14, а). ВЗМО орбиталь преимущественно находится на атомах углерода фуллеренола (рисунок

3.14, б, в, г), тем самым сохраняется общий высокий магнитный момент молекулы. Орбитали ВЗМО фуллеренола  $C_{82}O_{24}H_{12}$  располагаются в боковой части молекулы, а НВМО орбитали на нижней части молекулы (рисунок 3.14, б). В присутствии гадолиния в изомере  $\alpha$ -Gd@ $C_{82}O_{24}H_{12}$ , ВЗМО орбитали локализовались в верхней части молекулы там, где находится атом гадолиния. При этом НВМО орбитали стали располагаться преимущественно на противоположной стороне молекулы (рисунок 3.14, в).

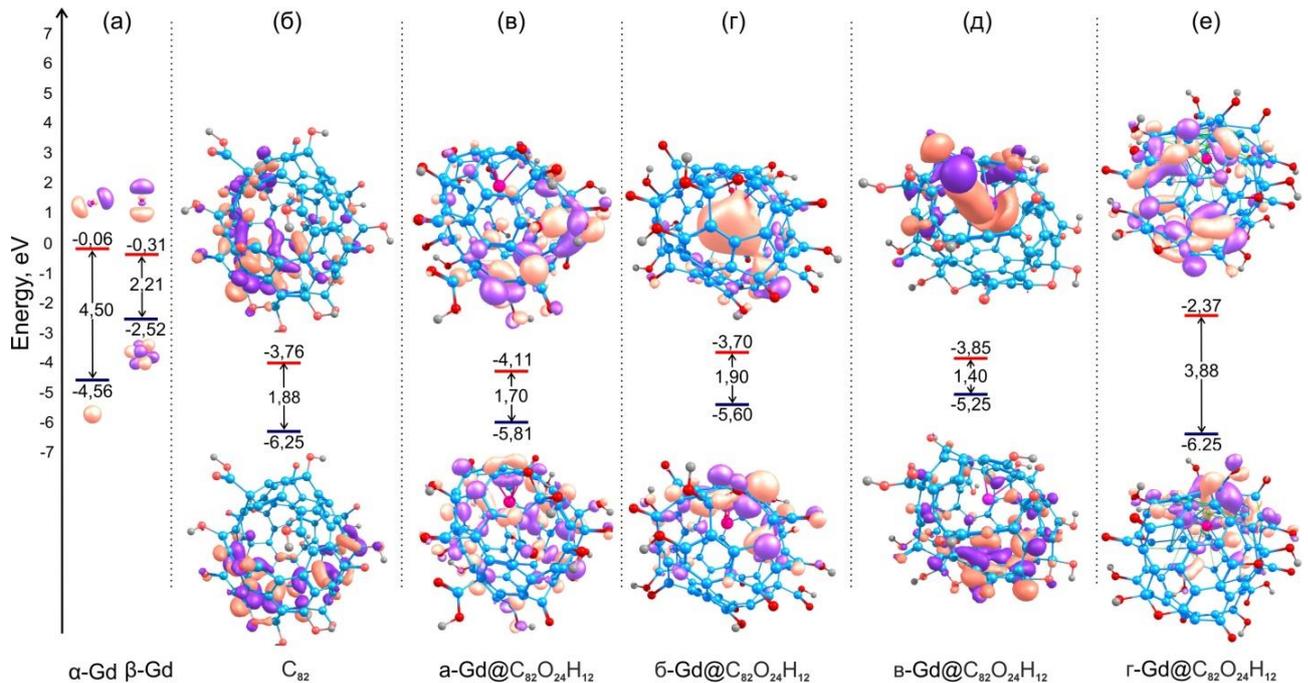


Рисунок 3.14. Диаграмма граничных молекулярных орбиталей рассчитанных структур. (а) Gd, (б)  $C_{82}$ , (в) Gd@ $C_{82}$ , (г) Gd@ $C_{82}O_3(OH)_{24}$ , (д)  $O_2^0$  ( $\chi=1$ ,  $\chi=3$ ),  $O_2^-$  ( $\chi=2$ ) и (е)  $HO_2^{\bullet}$  в растворителе. Обозначения как на рисунке 3.10

В изомере  $\beta$ -Gd@ $C_{82}O_{24}H_{12}$ , ВЗМО орбитали расположились в верхней части молекулы там, где находится атом гадолиния, а НВМО орбитали сконцентрировались преимущественно на гадолинии (рисунок 3.14, г). В случае с изомером  $\nu$ -Gd@ $C_{82}O_{24}H_{12}$ , ВЗМО орбитали локализовались на нижней части молекулы, а НВМО орбитали сконцентрировались на верхней части молекулы близь гадолиния (рисунок 3.14, д). Для последнего изомера  $\gamma$ -Gd@ $C_{82}O_{24}H_{12}$  ВЗМО орбитали сконцентрировались в верхней части молекулы там, где находится

гадолиний, НВМО орбитали распределились на всей поверхности молекулы (рисунок 3.14, е).

Присутствие атома гадолиния практически не повлияло на смещение энергии занятых и вакантных орбиталей. ВЗМО орбиталь  $\alpha$ -Gd@C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub> сместилась вверх по энергии на 0,44 эВ (с -6,25 на -5,81 эВ), НВМО орбиталь сместилась вниз по энергии на 0,35 эВ (с -3,76 на -4,11 эВ), энергетическая щель уменьшилась на 0,79 эВ (с 2,49 до 1,70 эВ) относительно чистого фуллеренола C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub> (рисунок 3.14, б, в). Изменение положения гадолиния привело к перемещению молекулярных орбиталей вверх по энергии. Так ВЗМО орбиталь для структуры  $\beta$ -Gd@C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub> сместилась на 0,65 эВ (с -6,25 на -5,60 эВ), а НВМО на 0,06 эВ (с -3,76 на -3,70 эВ) относительно C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub> (рисунок 3.14, б, г). ВЗМО орбиталь  $\delta$ -Gd@C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub> сместилась вверх по энергии на 1 эВ (с -6,25 на -5,25 эВ), а НВМО сместилась вниз на 0,09 эВ (с -3,76 на -3,85 эВ) относительно C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub> (рисунок 3.14, б, г). Для изомера  $\varepsilon$ -Gd@C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub> ВЗМО орбиталь не изменилась по энергии, а НВМО сместилась вверх на 1,39 эВ (с -3,76 на -2,37 эВ), энергетическая щель увеличилась на 2 эВ (с 1,88 на 3,88 эВ) относительно C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub> (рисунок 3.14, б, е). Потенциально, молекуле Gd@C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub> должна лучше принимать электроны от активных форм кислорода.

Для структур C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub> и валентных изомеров Gd@C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub> были рассчитаны  $\omega$  (электрофильность) и  $\chi$  (абсолютная электроотрицательность), полученные значения представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2. Рассчитанные химические индексы – электрофильность и абсолютная электроотрицательность комплексов Gd@C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub> и C<sub>82</sub>O<sub>24</sub>H<sub>12</sub>

Индексы	Комплекс				
	C <sub>82</sub> O <sub>24</sub> H <sub>12</sub>	$\alpha$ -Gd@C <sub>82</sub> O <sub>24</sub> H <sub>12</sub>	$\beta$ -Gd@C <sub>82</sub> O <sub>24</sub> H <sub>12</sub>	$\delta$ -Gd@C <sub>82</sub> O <sub>24</sub> H <sub>12</sub>	$\varepsilon$ -Gd@C <sub>82</sub> O <sub>24</sub> H <sub>12</sub>
$\omega^*$	2,5	2,3	2,3	2,3	2,2
$\chi^{**}$	-5,0	-4,9	-4,7	-4,5	-4,3

\* $\omega$  – электрофильность в отн.ед., \*\* $\chi$  – абсолютная электроотрицательность в эВ. C<sub>82</sub>:  $\chi$ =-5,1 эВ,  $\omega$ =13,9 отн.ед.; Gd@C<sub>82</sub>: ( $\alpha$ )  $\chi$ =-5,6 эВ,  $\omega$ =11,6 отн.ед.; ( $\beta$ )  $\chi$ =-5,2 эВ,  $\omega$ =11,7 отн.ед.

В целом для структур не наблюдается изменений в реакционной способности между структурами. Абсолютная электроотрицательность находится в интервале от -5,0 до -4,5 эВ. Присутствие атома гадолиния в разных положениях в углеродном каркасе не приводит к резким изменениям реакционной способности и уменьшается от *a* до *g* изомеров (таблица 3.2).

Наибольшая склонность к атаке нуклеофила наблюдается для структуры  $C_{82}O_{24}H_{12}$ , для которой индекс электрофильности  $\omega = 2,5$  отн. ед., для изомеров, в присутствии гадолиния независимо от его положения в структуре, является постоянным и равен 2,3 отн. ед. (таблица 3.2). Можно сделать вывод, что присутствие и положение иона гадолиния в углеродном каркасе не сильно изменяет реакционную способность и электрофильные свойства комплексов металлофуллеренолов в сравнении с фуллеренолом.

### §3.8. ИК-СПЕКТРЫ ФУМЕРОЛОВ $Gd@C_{82}O_{24}H_{12}$

ИК-спектры изомеров эндоэдрального комплекса металлофумерола  $Gd@C_{82}O_{24}H_{12}$  (рисунок 3.15) можно разделить на три области:

- 1) 4000-3900  $cm^{-1}$ . Область ковалентных колебаний простых связей: O-H
- 2) 1800-1650  $cm^{-1}$ . Область валентных колебаний кратных связей: C=O
- 3) 1650-1600  $cm^{-1}$ . Область валентных колебаний кратных связей: C=C
- 4) 1600-500  $cm^{-1}$ . Область валентных колебаний простых связей: C-C, C-O; и деформационных простых связей: C-O, O-H
- 5) 750-650  $cm^{-1}$ . Область валентных колебаний простых связей: Gd-C

Изменения в ИК-спектрах структур  $Gd@C_{82}O_x(OH)_y$  и  $Gd@C_{82}O_{24}H_{12}$  сильно зависят от распределения функциональных групп и от того, насколько они плотно упакованы на поверхности фуллерена. ИК-спектры валентных изомеров имели схожее распределение пиков, поэтому на рисунке 3.15 был представлен спектр одного из изомеров в сравнении с экспериментально полученным спектром для

$\text{Gd@C}_{82}\text{O}_x(\text{OH})_y$ . Теоретические данные ИК-спектров находятся в хорошем согласии с экспериментом (рисунок 3.15).

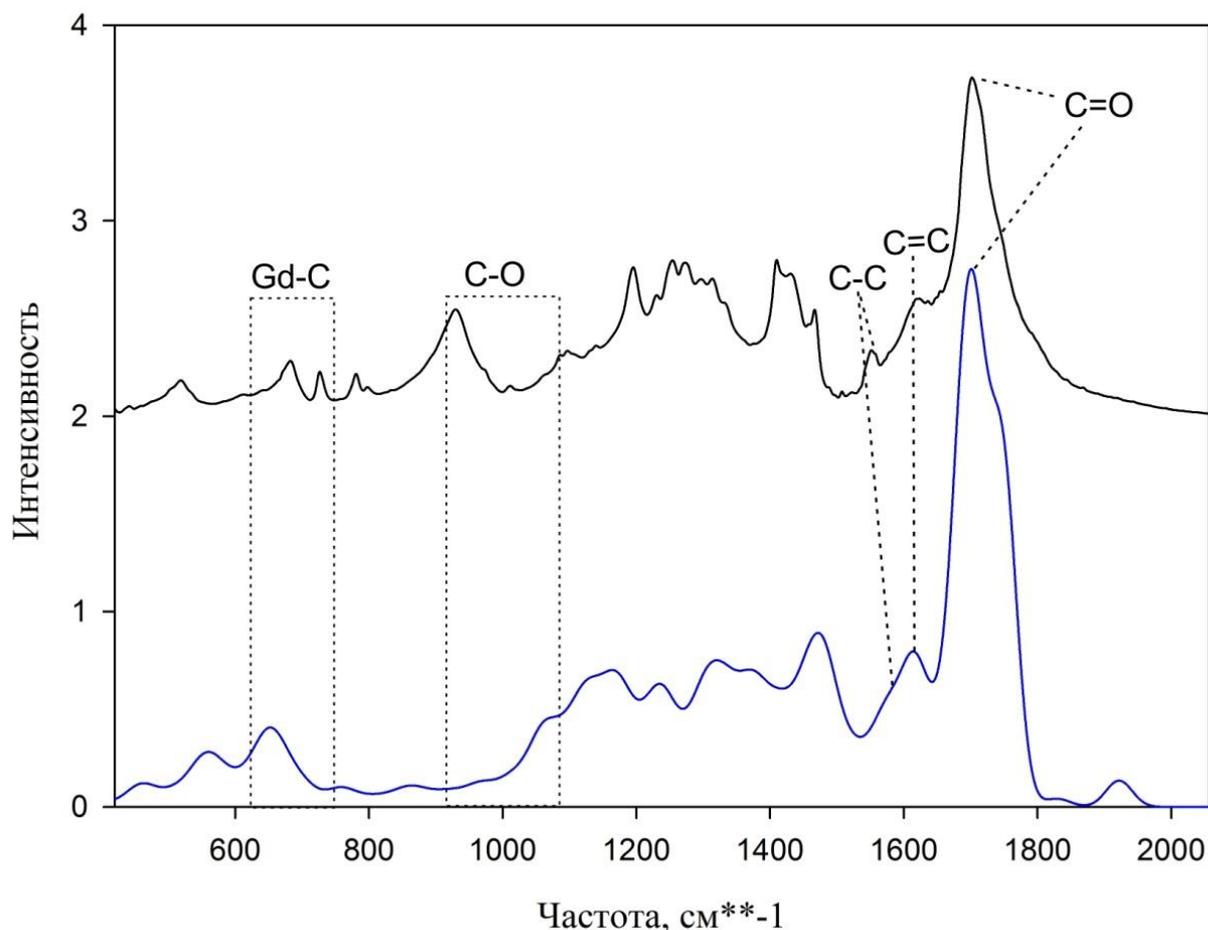


Рисунок 3.15. ИК-спектр  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_x\text{H}_y$ , расчёт и эксперимент. Чёрная (верхняя) линия – ИК-спектр  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_x\text{H}_y$  в матрице KBr – эксперимент; синяя (нижняя) линия – рассчитанный ИК-спектр фумерола  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_{24}\text{H}_{12}$

Деформационные колебания для структуры  $\text{Gd@C}_{82}\text{O}_3(\text{OH})_{24}$  в растворителе (рисунок 3.15), наблюдаются в интервале от 27 до  $1800\text{ см}^{-1}$ . Маятниковые колебания для C-O-H приходятся на пик от  $500$  до  $1200\text{ см}^{-1}$ , а ножничные колебания от  $1230$  до  $1700\text{ см}^{-1}$ . Для C-O-C маятниковые колебания разбиты на группы пиков в диапазоне от  $700$  до  $1000\text{ см}^{-1}$ , а ножничные колебания разделены на пики от  $1410$  до  $1900\text{ см}^{-1}$ . Валентные колебания для Gd-C приходятся на пик  $700\text{ см}^{-1}$ . C-C, C-O и деформационные простые связи (C-O, O-H) относятся к пику  $500$ - $1600\text{ см}^{-1}$ . Колебания кратных связей C=C относится к пику  $1600$ - $1650\text{ см}^{-1}$ , а

для C=O от 1650 до 1800  $\text{см}^{-1}$ . Также присутствуют пики для O-H от 3900 до 4000  $\text{см}^{-1}$ .

### §3.9. ВЫВОДЫ

Эндоэдральные комплексы  $\text{Gd}@C_{82}O_x(\text{OH})_y$  с 24-я кислородами, 12-ю водородами, которые представляют из себя такие функциональные группы, как карбокси-, гидроксид- и кислородные мостики на углеродном каркасе фуллеренола, обладают наиболее благоприятными антиоксидантными свойствами для применения в биологических процессах. Химической реакционной способности и электрофильным свойствам фуллеренольных и фумерольных металлокомплексов способствует внедрённый атом Gd. Для относительно небольшого числа гидроксильных групп на углеродном каркасе  $C_{82}$  комплексов  $C_{82}O_x(\text{OH})_y$  и  $\text{Gd}@C_{82}O_x(\text{OH})_y$  ( $x = 0; 3; y = 24$ ) по-прежнему имеется  $\pi$ -электронная система. Комплексы обладают высоким сродством к электрону, что обеспечивает антиоксидантные свойства. Увеличение количества гидроксильных групп ( $y > 24$ ) в комплексах  $\text{Gd}@C_{82}O_x(\text{OH})_y$  приводит к образованию внутримолекулярных водородных связей между различными группами как следствие уменьшает растворение и, в свою очередь, приводит к уменьшению реакционной способности.

В работе принимали участие А.А. Шакирова, П.В. Артюшенко, В.А. Помогаев, П.В. Аврамов, С.Г. Овчинников. Эксперимент был проведён сотрудниками Лаборатории аналитических методов исследования вещества, Института физики ФИЦ КНЦ СО РАН, под руководством Г.Н. Чурилова и Н.Г. Внуковой, антиоксидантная активность проверялась в Лаборатории фотобиологии Института биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН под общим руководством Н.С. Кудряшовой.

## **ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ПОВЕДЕНИЯ ЛЕСНЫХ НАСЕКОМЫХ ЧЕРЕЗ КВАНТОВОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОЛЕКУЛ ФЕРОМОНОВ**

### **§4.1. ФЕРОМОНЫ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ И ЖЁСТКОКРЫЛЫХ НАСЕКОМЫХ**

Передача информации в мире насекомых в большинстве случаев осуществляется с помощью специально выделяемых особями пахучих веществ – феромонов. По своему назначению феромоны могут быть разделены на несколько видов, например, феромоны тревоги, феромоны агрегации, феромоны – метки пути и другие. Наибольший интерес представляет исследование половых феромонов, используемых насекомыми при поиске партнёра для спаривания. Практическое применение половые феромоны находят в основном в области контроля численности популяций насекомых и для борьбы с насекомыми-вредителями в сельском хозяйстве и в лесозащитных мероприятиях. Преимуществами использования феромонов в защите растений от насекомых-вредителей является то, что в отличие от инсектицидов феромоны не вызывают «привыкания» у насекомых, не накапливаются на обрабатываемых площадях разлагаются под действием факторов среды, являются специфичными для определенного вида. Для повышения эффективности мероприятий защиты леса и сельскохозяйственных насаждений с применением феромонов необходимо полное понимание всех стадий механизма феромонной коммуникации, в частности воздействие факторов среды на феромонные молекулы, распространяющиеся в воздушной среде.

Эффективность феромонной коммуникации во многом определяется такими характеристиками как специфичность, чувствительность, мощность и продолжительность сигнала, затуханием и шумом в информационном канале. Для того чтобы молекулы феромонов могли улавливаться на довольно большом расстоянии от особи-источника, время жизни этих молекул должно быть достаточно длительным. С другой стороны, если молекулы окажутся устойчивыми к воздействию внешних факторов, то при перемещении в турбулентных потоках воздуха, они могут неоднократно сменить направление своего движения. Тогда при восприятии такой молекулы особь-приёмник не получит корректной информации

о местонахождении особи-источника. Тем самым чрезмерно устойчивая молекула будет генерировать шум в рецепторах особи-приёмника. Для обеспечения оптимальной эффективности химической коммуникации, молекулы феромонов должны обладать специфическими физико-химическими свойствами, позволяющими минимизировать как затухание феромонного сигнала, связанного с разложением молекул феромонов, так и информационный шум, определяющийся, в конечном счёте, устойчивостью молекул к факторам внешней среды, таким как свет, температура, влажность. В свою очередь поисковое поведение насекомых будет во многом определяться временем, в течение которого феромоны находятся в воздушной среде не разрушаясь.

Феромоны – специально выделяемые насекомыми пахучие вещества, вызывающие специфические поведенческие реакции у особей того же вида, воспринимающих феромон [135]. По своему воздействию феромоны делятся на два основных типа: релизеры и праймеры. Релизеры побуждают особь к каким-либо немедленным действиям; используются для привлечения брачных партнёров, сигналов об опасности. Праймеры используются для формирования определённого поведения и влияния на развитие других особей: например, специальный феромон, выделяемый пчелой-маткой, и подавляющий половое развитие других пчёл-самок, превращая их таким образом в рабочих пчёл [136]. Релизеры обычно представлены высоколетучими веществами, распространяющимися по воздуху, в то время как праймеры часто передаются контактным путём. Среди релизеров, различают несколько подтипов: аттрактанты – призывающие особей вещества (половые феромоны и феромоны агрегации); репелленты – отпугивающие; аррестанты – останавливающие; стимулянты – вызывающие активность (например, феромоны тревоги).

Наибольший интерес среди феромонов вызывают аттрактанты - половые феромоны и феромоны агрегации, призывающие особей двигаться к источнику феромона. Половые феромоны имеют наибольшую видовую селективность. Обычно феромоны представляют собой не одно вещество, а смесь основного, преобладающего по массе компонента с малыми добавками (минорными

компонентами), в состав феромона может входить более десяти веществ [137,138]. Химическая структура феромонов весьма разнообразна. Для релизеров характерны высокая летучесть и относительная простота синтеза в организме, так как насекомое порой вынуждено выделять феромон в течение долгого времени, ожидая реакции партнёра. Феромоны нередко используются для видового распознавания и в связи с этой функцией должны быть специфичными для каждого из видов. Для поддержания видовой специфичности феромонных смесей насекомые используют явление химической изомерии: структурной и оптической. Помимо изомерии для опознавания верного сигнала среди многих природных запахов используются пропорции отдельных изомеров и соотношения основного и минорных составляющих в феромонной смеси [139,140].

Важным критерием эффективности химической коммуникации является наличие шума в информационном канале. Одной из основных причин возникновения шума является турбулентность воздушных потоков. При движении в ламинарном потоке молекула феромона не теряет информацию о нахождении источника сигнала. Чем выше турбулентность, тем быстрее молекула теряет информацию о местоположении источника [141]. В природных условиях воздушный поток не может быть ламинарным, что неизбежно будет приводить к возникновению шума в информационном канале при долгой жизни феромонных молекул. Один из способов защиты сообщений от влияния шума канала – многократное повторение одного и того же сообщения. В случае чешуекрылых насекомых этот способ реализуется путём выделения самкой феромонов в течение некоторого промежутка времени – времени лёта самца. Помимо этого, для минимизации шума в информационном канале необходимы механизмы дезактивации феромонных молекул через определенное время их нахождения в воздухе. Причиной разрушения феромонных молекул во внешней среде может быть воздействие таких факторов как солнечное излучение, повышенная температура, химическое взаимодействие с веществами-компонентами воздуха.

Чешуекрылые *Lepidoptera*, или бабочки, - отряд насекомых, включающий около 150 000 видов в мировой фауне [142]. Развитие чешуекрылых протекает с

полным превращением через стадии яйца, личинки (называемой гусеницей), куколки и имаго [143]. Всех бабочек можно разделить на две неравные группы – на разноусых, проявляющих в основном ночную активность, и булавоусых или дневных [144]. У дневных бабочек половые аттрактанты вырабатываются в большинстве случаев самцами, у ночных бабочек – самками [145]. Несмотря на большое видовое разнообразие, женские половые феромоны чешуекрылых представлены довольно ограниченным набором химических соединений, которые разделяют на два типа. Чешуекрылые насекомые, выбранные в качестве объектов исследования являются представителями трёх семейств: совки-ленточницы *Erebidae* (надсемейства совок *Noctuoidea*), пяденицы *Geometroidea*, коконопряды *Lasiocampoidea*.

Для бабочек семейства *Lasiocampoidea* характерно использование в качестве феромона спиртов, альдегидов и формиатов, содержащих функциональную группу в начальной позиции – так называемые соединения «первого типа» [146]. Соединения этого класса характеризуются длиной цепи  $C_{10}$ - $C_{18}$  и могут содержать до трёх двойных связи. Для семейства *Lasiocampoidea* характерно наличие двух сопряжённых двойных связей в структуре феромонов. К феромонам «второго типа» [146] относят диены и триены с длиной углеродной цепи 17-23 атома и их производные-эпоксиды, для которых не характерно расположение функциональной группы на конце цепи. Двойные связи в феромонах такого типа, как правило, имеют Z-конфигурацию, эпоксидные соединения представлены *cis*-изомерами, функциональные группы находятся в положении 3,6 и 9. Для пядениц *Geometroidea* характерны феромоны и «первого» и «второго» типа, а также использование в качестве феромона специфических соединений некоторыми представителями семейства. Феромоны бабочек надсемейства совок *Noctuoidea* представлены соединениями «первого» типа как с традиционными, так и с нетипичными функциональными группами, соединениями «второго» типа, а также могут включать специфические соединения для некоторых видов.

Непарный шелкопряд *Lymantria dispar* – бабочка из семейства совок-ленточниц *Erebidae* надсемейства совок *Noctuoidea*. На рисунке 4.1 представлен

феромон непарного шелкопряда, диспарлюр, который состоит из одного компонента – (7R,8S)-cis-7,8-Ероху-2-methyloctadecane [147,148], относящегося к классу эпокисей.

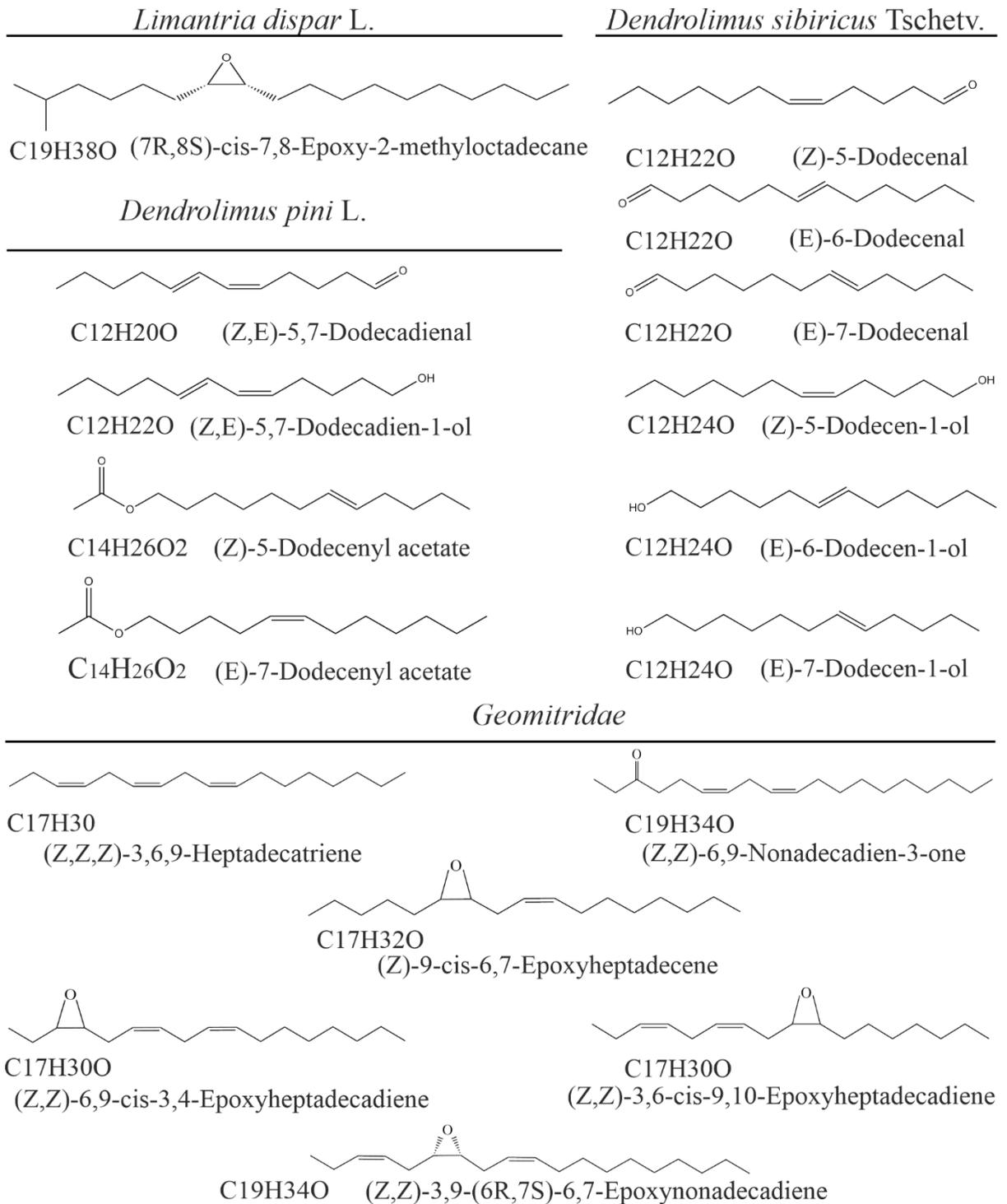


Рисунок 4.1. Изученные феромоны чешуекрылых. *Lymantria dispar* – феромон непарного шелкопряда; *Dendrolimus sibiricus* – феромоны сибирского шелкопряда; *Dendrolimus pini* – феромоны соснового шелкопряда; *Geometridae* – феромоны пядениц

Насекомое повреждает лиственные породы более 300 видов деревьев, как плодовых, так и лесных. Распространён в тёплых регионах Европы, кроме северных районов, вплоть до северной Африки. Встречается в странах Северной и Центральной Азии [149]. В 19 веке непарный шелкопряд был завезён в Северную Америку, штат Массачусетс. Найдя там подходящие условия для существования, шелкопряд распространился по всей территории Соединённых штатов, став там опасным вредителем [150]. В России непарный шелкопряд распространён почти по всей территории страны. Вспышки популяции непарного шелкопряда наносят большой урон экологии и экономике стран.

Сосновый шелкопряд *Dendrolimus pini* и сибирский шелкопряд *Dendrolimus sibiricus* – представители семейства *Lasiocampoidea*. Феромон соснового шелкопряда состоит из четырёх компонентов (рисунок 4.1). Основным компонентом (Z,E)-5,7-Dodecadienal представляет собой непредельный альдегид с системой сопряжённых двойных связей. Добавочные компоненты относятся к классу сложных эфиров и непредельных спиртов: (Z)-5-Dodecenyl acetate, (E)-7-Dodecenyl acetate, (Z,E)-5,7-Dodecadien-1-ol [151–155]. Опасный вредитель хвойных лесов. Наиболее оптимальные условия шелкопряд находит в 50-100-летних сосновых насаждениях. Широко распространён в лесах Европы и Азии и на территории России [156].

Сибирский шелкопряд – один из наиболее опасных вредителей хвойных лесов в азиатской части России [157]. Наиболее сильные вспышки популяции наблюдаются в Сибири и на Дальнем Востоке. На территории Красноярского края за последние сто лет зафиксировано девять сильных вспышек, что привело к повреждению более десяти миллионов гектаров леса [158]. Структурные формулы феромонов шелкопряда приведены на рисунке 4.1.

Пяденицы – бабочки семейства *Geometridae* [159–162] имеют широкий ареал обитания, встречаются на территории Европы, в средней полосе и южных регионах России, в Новой Зеландии [163,164]. Гусеницы многих пядениц наносят вред хозяйственным растениям, садовым культурам и лесным породам. В качестве объектов исследования были выбраны феромоны восьми видов пядениц. Их

феромоны представляют собой непредельные углеродные соединения нормального строения и их производные – эпокиси, содержащие от семнадцати до двадцати одного атомов углерода (рисунок 4.1).

Условно соединения можно разделить на четыре типа: бескислородные UV линейной структуры с тремя двойными связями в положении 3,6,9 с длиной цепи 17,19,21 атом углерода (рисунок 4.1, А); эпокиси, с одной двойной связью, отстоящей от кольца на две одинарные связи (рисунок 4.1, В); эпокиси, с эпоксидным кольцом в положениях 3,4 или 6,7 или 9,10, содержащие, помимо этого, две двойные связи (рисунок 4.1, С); кетон, содержащий две двойные связи (рисунок 4.1, D).

Жёсткокрылые, или жуки (*Coleoptera*) — отряд насекомых, развитие которых проходит с полным превращением через стадии яйца, личинки, куколки и имаго. Жуки являются крупнейшей группой среди насекомых и насчитывают более 390 000 видов [165]. Для исследования были выбраны три вида жуков-вредителей: короед-типограф *Ips typographus* L., чёрный пихтовый усач *Monochamus urusovi* Fish и чёрный сосновый усач *Monochamus galloprovincialis* Oliv. Усачи, или дровосеки (*Cerambycidae*) — разветвлённое и многочисленное семейство жуков [166,167]. Усачей относят к одним из наиболее серьёзных вредителей как лесных массивов, так и древесных стройматериалов. Феромоны жесткокрылых насекомых могут выполнять различные функции в зависимости от жизненного этапа насекомого. Половые аттрактанты могут выполнять роль агрегационных феромонов для совместной атаки на дерево [168].

У короеда-типографа источником полового феромонного сигнала являются самцы, выделяющие феромон в момент вбуравливания в кору отобранного ими для заселения дерева. В состав феромона короеда-типографа (рисунок 4.2) входят спирты 2methyl3buten-2ol, cis-verbenol, trans-verbenol, 2-phenylethanol, myrtenol и trans-myrtenol [169,170]. Жук-типограф является одним из наиболее серьёзных вредителей ели в Евразии, встречается повсеместно в Западной и Восточной Европе, редко нападает на сосну и пихту. Массовое размножение типографа, приводящее к усыханию древостоев на больших площадях, происходит в период

засух после ветровалов, в насаждениях, ослабленных антропогенными воздействиями и другими неблагоприятными факторами.

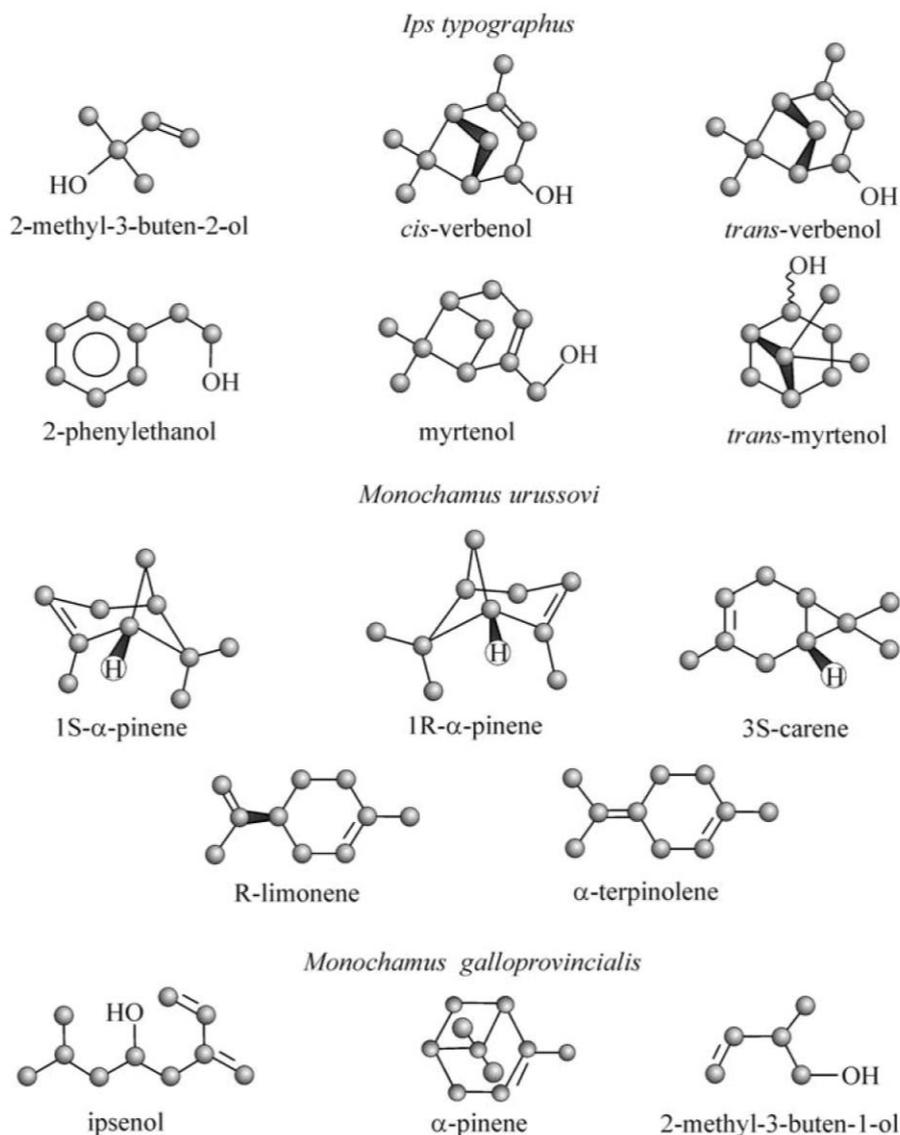


Рисунок 4.2 Структурные формулы молекул феромонов жёсткокрылых. *Ips typographus* L. – короед-типограф; *Monochamus urussovi* Fish. – чёрный пихтовый усач; *Monochamus galloprovincialis* Oliv. – чёрный сосновый усач

Феромон чёрного пихтового усача (рисунок 4.2) состоит из пяти веществ, среди которых нет кислородсодержащих соединений: 1*S*- $\alpha$ -pinene, 1*R*- $\alpha$ -pinene, *S*-3carene, R-limonene,  $\alpha$ -terpinolene [170]. Чёрный пихтовый усач встречается на всей лесной территории умеренных широт: от Финляндии и Белоруссии до Монголии, Китая, Японии и Магаданской области. Южная граница ареала проходит по пойменным соснякам Приднепровья, Казахскому

мелкосопочнику и Северному Китаю [171]. В европейской части России этот вид широко распространён в северной части лесной зоны и сравнительно малочислен в её южной части. Очаги массового размножения отмечены только в Сибири и лишь на пихте.

Феромон чёрного соснового усача (рисунок 4.2) имеет три основных компонента ipsenol, alpha-pinene и 2methyl-3buten-1ol (рисунок 4.2) [170]. Чёрный сосновый усач обитает в хвойных лесах Северной Америки, Азии и Европы. Усач оставляет многочисленные личиночные ходы, глубоко идущие в древесину, что сильно ухудшает качество лесоматериалов.

На основании анализа данных из литературы можно заключить, что эффективность феромонной коммуникации во многом зависит от устойчивости химического сигнала, которая в свою очередь определяется физико-химическими характеристиками феромонных молекул. Исходя из того, что взаимодействие феромона и белка рецептора происходит по принципу «ключ-замок» [172], изменение геометрии может привести к тому, что насекомое не будет воспринимать молекулу как несущую информацию. Деактивация феромонных молекул может происходить как при изменении геометрии молекулы в результате изомеризации или изменения конформации, так и в результате разрушения молекулы при протекании химических реакций. Таким образом, для того чтобы после выделения феромона химический сигнал мог распространяться на некоторое расстояние для привлечения особей противоположного пола, физические характеристики молекул должны обеспечивать их устойчивость к воздействию внешних факторов. С другой стороны, химическая инертность молекул может привести к их накоплению на территории, длительному перемещению в воздушных потоках и, как следствие, потери актуальной информации о местоположении особи-источника сигнала. Для эффективной коммуникации феромоны должны отвечать двум противоположным требованиям: обладать определённой устойчивостью к внешнему воздействию и разрушаться под действием факторов среды. Поддержание численности, а также вспышки популяций насекомых являются свидетельством того, что существующий механизм феромонной

коммуникации эффективен, а состав и структура феромонов обеспечивают оптимальную устойчивость сигнала к воздействию внешних факторов, в том числе к воздействию света и температуры. Для того чтобы изучить, как связаны физические характеристики молекул с механизмом феромонной коммуникации, необходимо: детальное рассмотрение и анализ структурных и энергетических свойств молекул, оценка влияния светового и термического возбуждения на структуру веществ, выявление общих качеств и определение существенных различий между феромонами разных видов насекомых, сопоставление физических свойств молекул с данными о поведении исследуемых видов.

Огромное видовое разнообразие насекомых, многокомпонентный состав феромонов, сложные многостадийные процессы получения феромонов из насекомых в лабораторных условиях приводят к необходимости разработки альтернативных не экспериментальных методов исследования свойств феромонов и механизмов химической коммуникации. В данной части работы свойства феромонных молекул лесных насекомых-вредителей были исследованы с помощью методов квантовой химии. Целью работы является расчёт спектральных характеристик феромонных молекул насекомых-вредителей, с последующим анализом данных, для оценки устойчивости феромонов к воздействию различных факторов среды.

#### **§4.2. ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ФЕРОМОНОВ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ НАСЕКОМЫХ К РАЗЛИЧНЫМ ФАКТОРАМ СРЕДЫ**

Феромоны чешуекрылых насекомых, выбранные в качестве объектов исследования, представляют собой углеводороды нормального строения и их производные, относящиеся к непредельным спиртам, альдегидам, эпоксидам, сложным эфирам. Длина углеродной цепи во всех молекулах составляет не менее двенадцати атомов. Такое строение феромона допускает вращение частей молекул относительно друг друга, что делает вероятным нахождение молекул в воздушной

среде в виде нелинейных конформеров. Сходство строения феромонных молекул чешуекрылых позволяет применить один алгоритм к расчёту их физических характеристик.

На первом этапе исследования, на основе данных о составе и строении феромонов, взятых из базы данных *www.pherobase.com*, были построены различные конформеры феромонных молекул. Для каждого конформера была проведена процедура оптимизации геометрии, в результате получен внешний вид структур и такие энергетические характеристики, как полная энергия и дипольный момент. По результатам конформационного анализа конформеры с минимальной энергией были отобраны для дальнейших расчётов фотофизических процессов. Были рассчитаны спектры поглощения, для оценки устойчивости и определения вероятных центров активации молекул в возбуждённом состоянии были получены и проанализированы электронные структуры возбуждённых молекул. Для анализа структурных изменений молекул при световом возбуждении были рассчитаны процессы релаксации атомной структуры, получен соответствующий вид молекул и их энергетические характеристики. Полученные расчётные данные были сопоставлены с особенностями поискового поведения насекомых для установления связи между физическими характеристиками феромонных молекул и поведением чешуекрылых насекомых. Среди чешуекрылых насекомых для исследования были выбраны три вида шелкопрядов, относящихся к семействам *Erebidae* и *Lasiocampoidea*, и восемь видов пядениц *Geometroidea*.

Непарный шелкопряд относится к надсемейству совок *Noctuoidea* семейства *Erebidae*. Феромон непарного шелкопряда, диспарлюр, состоит из одного компонента – предельной эпокиси (7R,8S)-cis-7,8-Ероху-2-methyloctadecane. Для диспарлюра был смоделирован ряд конформеров отличающихся между собой различными углами между атомами углерода внутри скелета молекулы. Среди энергетически близких структур для дальнейших расчётов были выбраны три конформера: линейный, скрученный и зигзагообразный (рисунок 4.3). Рассчитанные характеристики конформеров диспарлюра приведены в таблице 4.1.

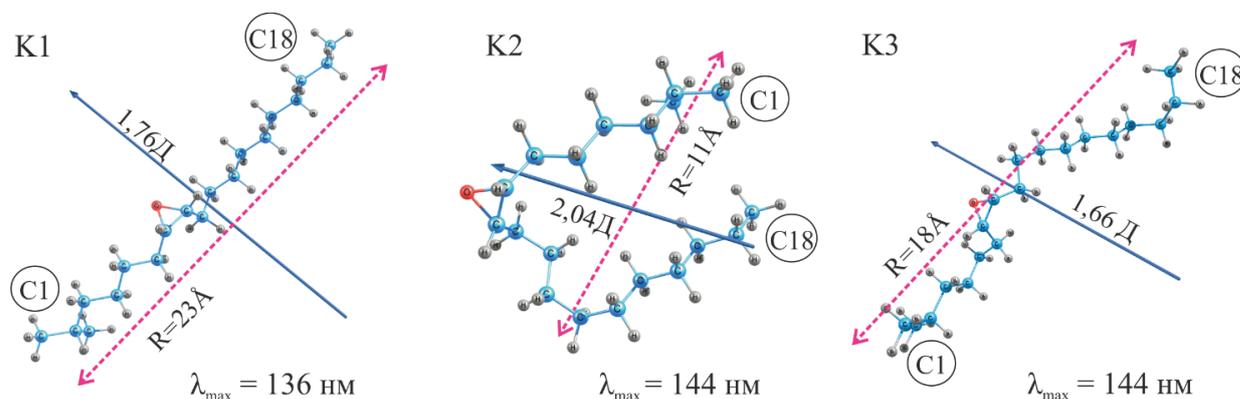


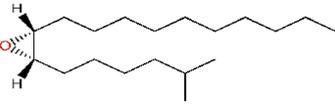
Рисунок 4.3. Конформеры диспарлюра: K1 – линейный, K2 – скрученный и K3 – зигзагообразный. Синяя стрелка – дипольный момент в Дебаях, Д; красная пунктирная линия – расстояние между крайними атомами структуры в ангстремах, Å

Разница по энергии между конформациями не превышает  $24 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ . Близкие значения энергии структур позволяют предположить, что для феромона непарного шелкопряда не характерно образование конформеров определённого типа. Изменение геометрии молекул приводит к изменению дипольного момента (рисунок 4.3.). Разница между значениями дипольного момента конформеров диспарлюра достигает  $0,4 \text{ Д}$ , при этом дипольный момент молекул остаётся достаточно высоким – больше  $1,5 \text{ Д}$  (рисунок 4.3.). Молекулы, в которых частичный положительный и частичный отрицательный заряды находятся на разных частях молекулы, взаимно ориентируются в пространстве таким образом, чтобы рядом находились другие полярные молекулы – компоненты воздуха, например, молекулы воды, чей дипольный момент составляет  $1,85 \text{ Д}$ . Кулоновское взаимодействие между полярными фрагментами молекул может создать благоприятные условия для протекания химической реакции и, как следствие, для разрушения феромона. Таким образом, на устойчивость феромона непарного шелкопряда возможно влияние такого фактора среды, как влажность воздуха.

Как видно из приведённых в таблице 4.1 данных, длины волн поглощения конформеров диспарлюра лежат в дальней области спектра ультрафиолетового излучения. Это происходит потому, что для линейного конформера K1 диспарлюра электронный переход, происходящий с максимальной интенсивностью, соответствует переходу электрона с ВЗМО-1 на НВМО+1, изменение электронной

плотности происходит в области эпоксидного кольца. Для скрученного конформера наиболее интенсивный переход происходит с ВЗМО на НВМО+4. Изменение электронной плотности происходит так же в области эпоксидного кольца. Таким образом, не зависимо от геометрии молекулы, эпоксидное кольцо будет наиболее вероятным центром протекания химических процессов при взаимодействии с компонентами воздуха.

Таблица 4.1 Энергетические и спектральные характеристики конформеров диспарлюра, рассчитанные на уровне B3LYP/6-31G\*\*

Феромон	Конформер	$\mu$	$\Delta E$	$\lambda_{\max}$	$f$
	K1	1,76	22	136	0,17
	K2	2,04	0	144	0,03
	K3	1,66	24	144	0,05

$\mu$  – электрический дипольный момент в Дебаях, Д.  $\Delta E$  – разность между полной энергией конформеров в кДж\*моль<sup>-1</sup>, рассчитанная относительно конформера с минимальным значением полной энергии в кДж\*моль<sup>-1</sup>.  $\lambda_{\max}$  – длина волны, соответствующая максимуму поглощения в нм.  $f$  – сила осциллятора, в относительных единицах

Сосновый и сибирский шелкопряд относятся к семейству *Lasiocampoidea*, для представителей которого характерно использование в качестве феромонов непредельных спиртов, альдегидов и формиатов нормального строения, содержащих функциональную группу в начальном положении. Феромоны содержат в углеродной цепи от двенадцати до четырнадцати атомов. Наличие в средней части молекулы плоского участка, образованного  $sp^2$ -гибридизованными атомами углерода, затрудняет вращение частей молекулы друг относительно друга. Для каждого феромона соснового и сибирского шелкопряда были смоделированы и оптимизированы набор структурных конформеров, для каждой молекулы для дальнейшего расчёта характеристик были выбраны три типа структур: линейная, скрученная и зигзагообразная. На рисунке 4.4 в качестве примера приведены структуры феромона соснового шелкопряда.

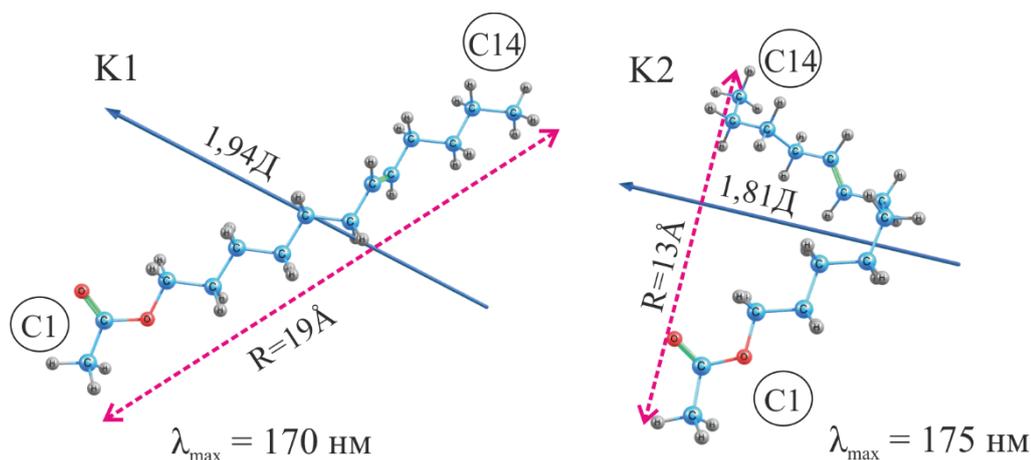


Рисунок 4.4. Конформеры (E)-7-Dodecenyl acetate: K1 – линейный, K2 – скрученный. Кругом обведены порядковые номера атомов углерода в молекуле; синяя стрелка – дипольный момент в Дебаях, Д; красная пунктирная линия – расстояние между крайними атомами в ангстремах, Å

Для феромонов сибирского и соснового шелкопрядов проводилось сравнение полной энергии структур для определения наиболее устойчивой конформации по аналогии с непарным шелкопрядом (см. выше). Расчёты показывают, что в случае феромонов сибирского и соснового шелкопряда, энергетическая разность между конформерами не превышает  $11 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$  и так же, как и в случае феромона непарного шелкопряда, нет предпочтения к образованию определённого типа конформации. Феромоны соснового и сибирского шелкопряда представлены только кислородсодержащими веществами, дипольный момент которых лежит в диапазоне 1,23–2,71 Д. Изменение геометрии приводит к изменению дипольного момента молекул не более, чем на 0,4 Д (рисунок 4.4). Как и для молекулы диспарлюра, высокий дипольный момент феромонов шелкопряда сопоставим с дипольным моментом воды 1,85 Д [173], что позволяет рассматривать взаимодействие с полярными компонентами лесного воздуха как один из способов деактивации информационных молекул.

Расчёт фотофизических характеристик показал, что значения длин волн, соответствующих максимуму поглощения, определяются в первую очередь наличием и взаимным расположением двойных связей и практически не зависят от типа кислородсодержащей функциональной группы. Для феромонов, содержащих

сопряжённые двойные связи, длины волн, соответствующие максимуму поглощения, лежат в диапазоне 224-227 нм, для молекул с одной двойной связью – от 168 нм до 177 нм. Изменение геометрии молекул приводит к незначительному сдвигу максимума поглощения, не более чем на 5 нм.

Анализ электронной структуры молекул феромонов показывает, что независимо от типа функциональной группы, перераспределение электронной плотности при переходе в возбуждённое состояние происходит в области расположения двойных связей. Релаксация атомной структуры не приводит к значительным изменениям в геометрии молекул. Поглощение электромагнитного излучения и последующая атомная релаксация приводят к увеличению длин двойных связей в среднем на 0,1 Å и не изменяет геометрию кислородсодержащих функциональных групп. Так как изначально молекулы феромонов не содержат напряжённых участков в атомной структуре, маловероятно, что такое изменение длин связи без воздействия дополнительных внешних факторов приведёт к деактивации феромона вследствие потери первоначальной геометрии.

Среди насекомых-пядениц для исследования были выбраны феромоны восьми видов. Все феромоны пядениц представляют собой непредельные углеводороды нормального строения и их кислородсодержащие производные – эпокси и кетон, содержащие от семнадцати до двадцати одного атомов углерода. Атомная структура феромонов позволяет фрагментам молекулы разворачиваться друг относительно друга при вращении вокруг  $\sigma$ -связей, но при этом наличие двойных связей в *Z*-положении обуславливает в молекулах появление плоских участков у  $sp^2$ -гибридизированных атомов углерода. В результате моделирования структур в различных конформациях для каждого феромона был получен набор близких по энергии структур (например на рисунок 4.5 представлены два конформера (*Z,Z,Z*)-3,6,9-Heptadecatriene). Энергетическая разность, при этом, между различными конформерами не превышала 11 кДж\*моль<sup>-1</sup>.

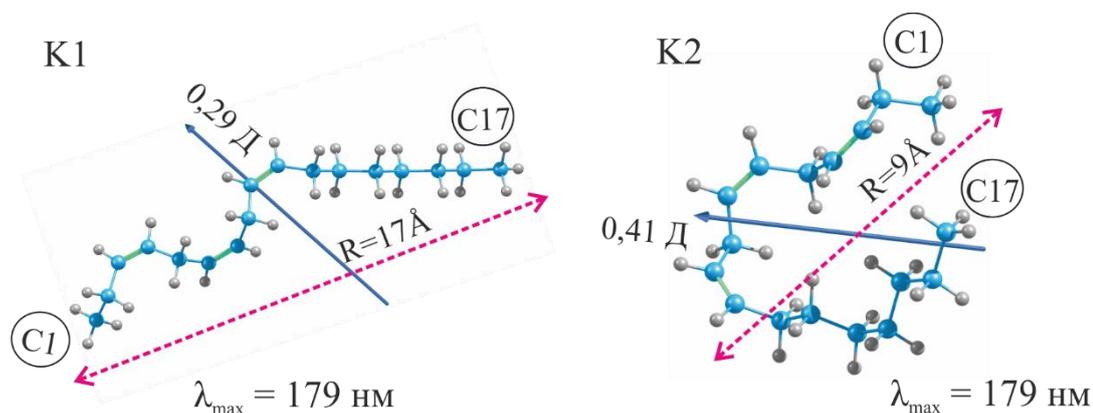


Рисунок 4.5. Конформеры молекулы (Z,Z,Z)-3,6,9-Heptadecatriene. Синяя стрелка – дипольного момента в Дебаях, Д; красная пунктирная линия расстояние между крайними атомами в ангстремах, Å

Для феромонов пядениц, относящихся к непредельным углеводородам, дипольный момент составляет от 0,29 до 0,49 Д, для непредельных эпокисей – от 1,73 до 2,20 Д, для непредельного кетона – 2,63 Д. Для кислородсодержащих феромонов изменение конформации приводит к изменению дипольного момента в среднем на 30% относительно линейной структуры, для углеводородов увеличение дипольного момента при переходе от линейной конформации к максимально скрученной составляет до 50% (рисунок 4.5). Рассматривая высокую полярность молекул как фактор, способствующий химическому взаимодействию феромонов с полярными веществами, содержащимися в воздухе, например, с молекулами воды, можно предположить, что кислородсодержащие феромоны будут проявлять меньшую устойчивость к такому фактору среды как влажность воздуха, по сравнению с феромонами-углеводородами, чей дипольный момент составляет значительно меньше 1 Д во всех возможных конформациях.

Для оценки возможного влияния солнечного излучения на феромоны пядениц были рассчитаны длины волн поглощения, у всех молекул длины волн поглощения лежат в ультрафиолетовой части спектра. Длина волны поглощения непредельных углеводородов составляет 179 нм, независимо от длины цепи, для непредельных эпокисей от 164 нм до 174 нм, для непредельного кетона 204 нм. Детальный анализ электронной и атомной структуры в основном и в возбуждённом состояниях показал, некоторые закономерности между строением молекул и

происходящими изменениями. Далее, для удобства, феромоны пядениц будут сгруппированы не по видам насекомых, а по типам соединений: непредельные углеводороды, непредельные эпокиси с двумя двойными связями, непредельные эпокиси с одной двойной связью и непредельный кетон. У большинства видов пядениц в качестве одного из компонентов феромонной смеси встречаются непредельные углеводороды с тремя двойными связями в положении (Z,Z,Z)-3,6,9 с семнадцатью, девятнадцатью или двадцати одним атомом углерода в цепи. Проведённые расчёты показали, что длина углеродной цепи не влияет на максимум поглощения, для всех углеводородов максимум соответствует примерно 179 нм. Релаксация атомной структуры приводит к увеличению длин двойных связей в среднем на 0,1 Å. Однако наибольшее увеличение длины связи при возбуждении непредельных углеводородов происходит не для двойных связей, а для одинарной связи C<sub>7</sub>-C<sub>8</sub>, чья длина увеличивается на 0,26 Å для (Z,Z,Z)-3,6,9-Heptadecatriene. Для (Z,Z,Z)-3,6,9-Nonadecatriene, содержащего девятнадцать атомов углерода связь C<sub>7</sub>-C<sub>8</sub> увеличивается на 0,27 Å, а для (Z,Z,Z)-3,6,9-Heneicosatriene, содержащего двадцать один атом углерода увеличение длины связи C<sub>7</sub>-C<sub>8</sub> составило 0,35 Å.

Для феромонов – непредельных эпокисей, содержащих две двойные связи, электронная плотность в основном и возбуждённом состоянии сосредоточена в области двойных связей. Поглощение электромагнитного излучения приводит к переходу электронов со связывающей орбитали на разрыхляющую. Изменение атомной структуры после релаксации для непредельных эпокисей неодинаково и зависит от взаимного расположения эпоксидного мостика и двойных связей. В том случае, когда эпоксидный мостик включает атомы C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> или C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub>, две двойные связи находятся по одну сторону от эпоксидного кольца, разделённые двумя одинарными связями. Для всех феромонов такого типа наблюдается увеличение длины одной из одинарных связей, разделяющих две двойные. Увеличение длины одинарной связи C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub> для молекулы (Z,Z)-3,6-cis-9,10-Epoxyheptadecadiene составило 0,27 Å, в молекуле (Z,Z)-6,9-cis-3,4-Epoxyheptadecadiene длина одинарной связи C<sub>7</sub>-C<sub>8</sub> увеличилось на 0,24 Å. В молекуле (Z,Z)-3,9-(6R,7S)-6,7-Epoxynonadecadiene двойные связи находятся по разные стороны от эпоксидного

кольца поэтому наибольшее увеличение длин связей в этом случае соответствует переходу двойных связей в полуторные. Длины одинарных связей при этом не изменяются.

Среди феромонов исследуемых видов пядениц встречается только один феромон – кетон (Z,Z)-6,9-Nonadecadien-3-one (рисунок 3.11 А) и два феромона – непредельных эпокисей с одной двойной связью: (Z)-6-cis-9,10-Epoxynonadecene и (Z)-9-cis-6,7-Epoxuheptadecene. В молекуле кетона карбонильная группа расположена у атома С<sub>3</sub>, две двойные связи С<sub>6</sub>-С<sub>7</sub> и С<sub>9</sub>-С<sub>10</sub> разделены двумя одинарными связями. Поглощение феромоном излучения в области 200 нм соответствует, в основном, переходам в области двойных связей. В отличие от непредельных эпокисей, имеющих аналогичное расположение кратных связей относительно функциональной группы, в молекуле (Z,Z)-6,9-Nonadecadien-3-one не происходит значительного увеличения длин одинарных связей. Увеличение длин двойных связей после возбуждения также меньше, чем в эпокисях с похожей структурой. Изменение атомной структуры в молекуле кетона, в отличие от эпокисей, затрагивает функциональную группу, длина связи С=О в карбонильной группе увеличивается с 1,22 до 1,31 Å. Для двух непредельных эпокисей, имеющих в структуре одну двойную связь, максимум поглощения совпадает и соответствует длине волны 172 нм, несмотря на различия в длине углеродной цепи и расположении эпоксидного кольца. Для обоих соединений поглощение света приводит к переходу электрона со связывающей ВЗМО на разрыхляющую НВМО, электронная плотность в основном и возбуждённом состоянии сосредоточена в области расположения двойной связи. Релаксация атомной структуры приводит к увеличению длины двойной связи, что соответствует её переходу в полуторную.

В результате можно заключить, что анализ данных позволяет классифицировать феромоны чешуекрылых исходя из выявленных сходств и различий их структурных и спектральных характеристик на следующие группы: непредельные углеводороды; непредельные кислородсодержащие соединения; непредельные кислородсодержащие соединения с сопряжёнными двойными связями; феромоны, не имеющие в структуре кратных связей.

Для всех феромонов чешуекрылых насекомых возможно образование структурных конформеров за счёт вращения частей молекул вокруг  $\sigma$ -связей. Изменение конформации приводит к незначительному изменению полной энергии молекул не более, чем на 24 кДж/моль (как правило около 10 кДж/моль) и сдвигу максимума поглощения менее, чем на 6% (не более, чем на 8 нм). Наибольшее влияние изменение геометрии оказывает на величину дипольного момента: для кислородсодержащих феромонов изменение электрического дипольного момента составляет до 30% от значения линейного конформера, для непредельных углеводородов – до 50%.

Анализ структурных характеристик молекул в основном состоянии и после возбуждения показал изменение длин связей в области функциональных групп по отношению к начальной геометрии. Под воздействием электромагнитного излучения на молекулу феромона происходит изменение геометрии молекулы. Результаты расчётов показали, что изменяются только те длины связи, которые расположены вблизи функциональных групп. Именно в этих участках происходит перераспределение электронной плотности. В случае групп —ОН, —СОН, СОС=О длины связей и углы при возбуждении молекулы практически не изменяются, на диеновую, алкеновую группу электромагнитное излучение оказывает наиболее сильное воздействие. Значения длин двойной связи изменяются в среднем на  $\Delta=0,08$  Å. Происходит перераспределение электронной плотности в молекуле, приводящее к изменению значений длин связи и углов: длина связи С5-С6 и С7-С8 увеличиваются с 1,34 Å до 1,42 Å ( $\Delta=0,08$  Å), длина связи С6-С7 уменьшается с 1,45 Å до 1,36 Å ( $\Delta=0,09$  Å) (рисунок 4.6). Таким образом, изменяется порядок связи между атомами, вместо двойной связи образуется полуторная.

При возбуждении молекулы диспарлюра связь С7-С8 увеличивается с 1,50 до 2,30 Å ( $\Delta = 0,80$  Å), а угол С7-О-С8 изменился с  $62,8^\circ$  до  $116^\circ$  ( $\Delta = 53,2^\circ$ ) (рисунок 4.6). Учитывая, что для связывания молекулы феромона с белком в лимфе сенсилл важно их геометрическое соответствие [172], разрушение эпоксидного кольца и дальнейшие преобразования в структуре молекулы могут привести к её дезактивации как феромона.

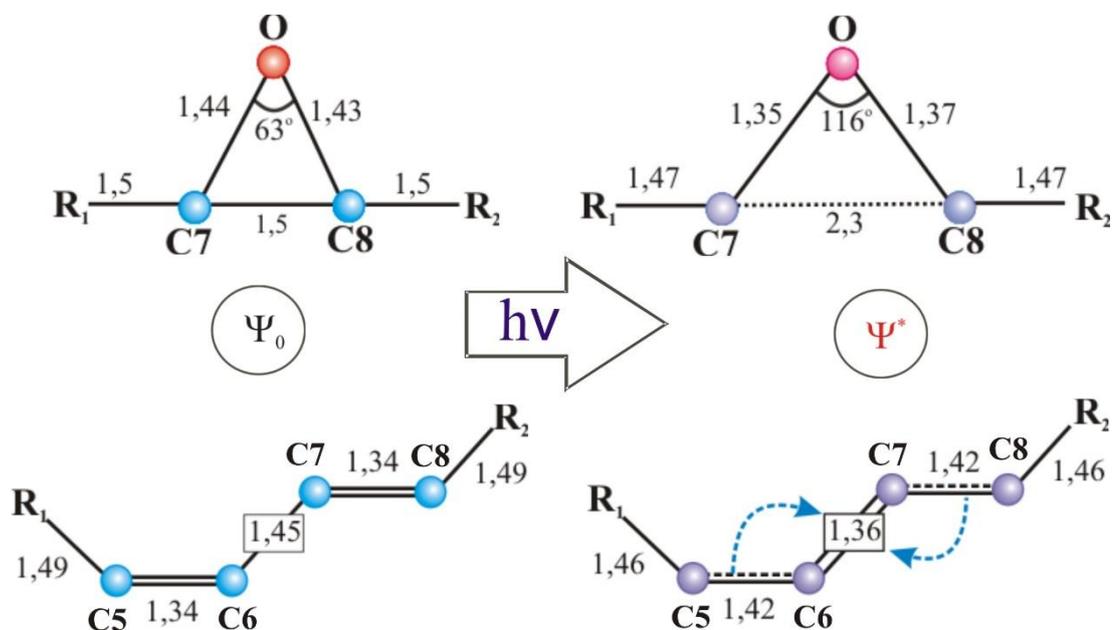


Рисунок 4.6 Изменение атомной структуры вблизи функциональных групп альдегидов, спиртов и эпокисей в результате фотофизических процессов.  $\Psi_0$  и  $\Psi^*$  основное и возбуждённое состояние соответственно;  $R_1$  и  $R_2$  – углеводородные радикалы; длины указаны в ангстремах, Å

Данные, полученные с помощью квантовохимического расчёта, позволяют связать с поведением данного вида насекомых. Ареал обитания непарного шелкопряда включает Японию, северную Америку, южные регионы России, Европы, Северной Африки, а размножение происходит в июле-августе. Самки выпускают феромонный сигнал, оставаясь на деревьях, в то время как самцы осуществляют лёт в поисках партнёра для спаривания. В отличие от большинства мотыльков и бабочек, самцы непарного шелкопряда летают в течение дня и до позднего вечера, но не ночью [174–176]. Таким образом, чтобы феромонный сигнал успел распространиться на некоторое расстояние для привлечения самцов, самки должны выпускать феромон днём и распространение сигнала будет происходить в то время суток, когда солнечная активность достаточно высока. Поэтому, чтобы молекулы диспарлюра сохраняли свою функцию, они должны быть устойчивы к воздействию солнечного излучения, что согласуется с результатами расчётов спектральных характеристик диспарлюра: независимо от конформации молекулы, переход диспарлюра в возбуждённое состояние возможен при воздействии

ультрафиолетового излучения дальней части спектра. Так как накопление феромонных молекул на территории обитания насекомых приведёт к появлению шума в информационном канале [141], механизм дезактивации «отработавших» феромонных молекул может быть реализован через химическое взаимодействие с веществами-компонентами воздуха, например, с водой.

Кроме молекулы диспарлюра, феромона непарного шелкопряда, все феромоны чешуекрылых насекомых относятся к непредельным соединениям, содержащим в структуре до трёх двойных связей. На длины волн поглощения оказывает количество и взаимное расположение кратных связей в молекуле. Для феромонов, не содержащих кратные связи, максимум поглощения лежит в диапазоне 136-144 нм, для непредельных углеводородов и непредельных кислородсодержащих феромонов – в диапазоне 157-204 нм, для кислородсодержащих феромонов с сопряжёнными двойными связями – в диапазоне 226-230 нм. Анализ электронной структуры молекул феромонов показывает, что независимо от наличия и типа кислородсодержащей функциональной группы, перераспределение электронной плотности при поглощении света происходит в области расположения двойных связей и соответствует  $\pi$ - $\pi^*$  переходу. Изменения атомной структуры феромонов в возбуждённом состоянии носят аналогичный характер для всех непредельных молекул и заключаются в увеличении длин двойных связей в среднем на 0,1 Å. Как обсуждалось выше, такие изменения длин связей не должны приводить к дезактивации феромонов, но могут повышать их реакционную способность.

Рассчитанные характеристики феромонов чешуекрылых были сопоставлены с данными о поисковой активности насекомых. Феромон непарного шелкопряда состоит из одного компонента – диспарлюра, феромон соснового шелкопряда включает четыре компонента, спектры поглощения феромонов, и структура молекул показана на рисунке 4.7.

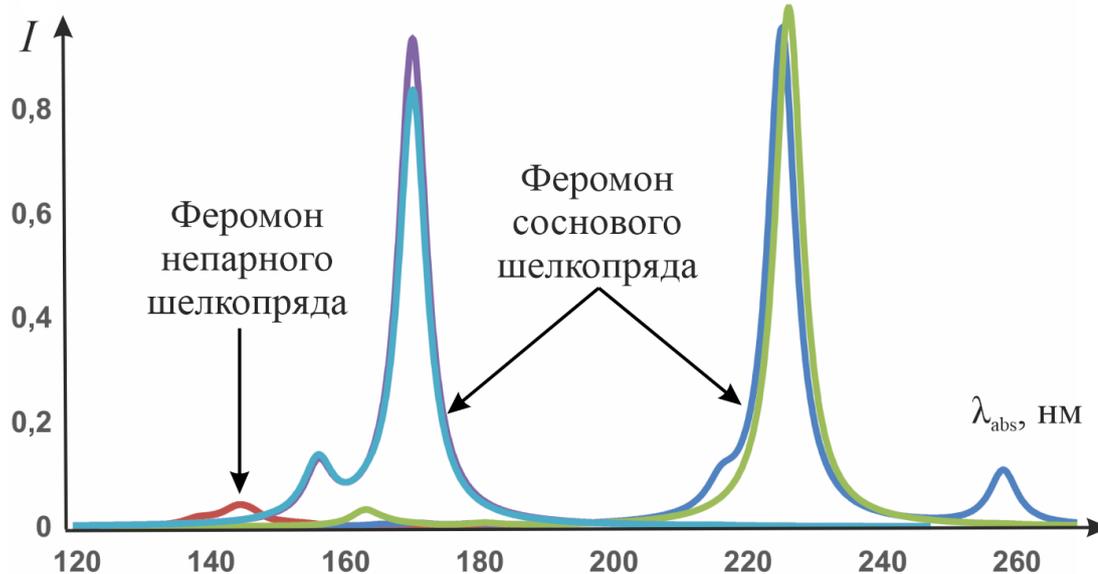


Рисунок 4.7. Рассчитанные спектры поглощения для феромонов непарного и соснового шелкопрядов.  $\lambda_{\text{abs}}$  — длина волны поглощения;  $I$  — интенсивность в относительных единицах

Можно видеть явные различия в интенсивности и длинах волн поглощения феромонов этих двух видов. Известно, что для непарного шелкопряда, чей феромон поглощает в области 130 нм с очень низкой интенсивностью, характерно поисковое поведение в течение всего дня [174–176], в то время как для соснового шелкопряда характерна активность в вечерние и ночные часы, в отсутствие солнечной радиации. Для феромонов сибирского шелкопряда и пядениц — ночных бабочек [177], спектры поглощения лежат в том же диапазоне, что и для соснового шелкопряда и имеют близкие значения интенсивности электронных переходов. Хотя солнечное излучение с длиной волны менее 300 нм практически отсутствует у поверхности земли [178], между спектральными характеристиками молекул и данными о времени лёта наблюдается согласованность, которая позволяет предположить, что физические свойства феромонов в некоторой степени определяют время поисковой активности насекомых. Для насекомых, имеющих ночную активность, деактивация феромонов в течение последующего светового дня может служить механизмом «очистки» информационного канала от шума — феромонных молекул, накапливающихся на территории, но уже не несущих актуальной информации о положении особи — источника сигнала.

Среди рассмотренных видов только для непарного шелкопряда феромон представлен одним веществом. Для чешуекрылых, использующих в качестве феромона многокомпонентную смесь, можно заметить различие в физических характеристиках используемых веществ, что говорит о неодинаковой устойчивости компонентов к солнечной радиации и, как следствие, разной продолжительности жизни информационных молекул. Присутствие разных компонентов феромона по мере удаления от источника сигнала может, наряду с градиентом концентрации веществ, служить одним из механизмов ориентирования в пространстве для особи, принимающей сигнал.

#### **§4.3. ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ФЕРОМОНОВ ЖЁСТКОКРЫЛЫХ НАСЕКОМЫХ К ФАКТОРАМ СРЕДЫ**

Среди жёсткокрылых насекомых в качестве объектов исследования были выбраны феромоны трёх видов короедов: короеда-типографа *Ips typographus* L., чёрного пихтового усача *Monochamus urusovi* Fish и чёрного соснового усача *Monochamus galloprovincialis* Oliv. Жесткокрылые насекомые используют в качестве феромонов вещества отличные от феромонов чешуекрылых насекомых. На первом этапе были смоделированы структуры молекул и определены их основные структурные и энергетические характеристики в основном состоянии. Структура феромонов короедов ограничивает вращение частей молекул друг относительно друга, и как следствие, не предполагает образование пространственных конформаций. Для того, чтобы оценить устойчивость молекул к воздействию солнечного излучения, был смоделирован процесс перехода молекул из основного состояния в возбуждённое, рассчитаны спектральные характеристики и проанализированы соответствующие изменения в атомной и электронной структуре молекул.

Большинство феромонов короедов относится к группе терпенов и терпеноидов, содержащихся в больших количествах в хвойных растениях,

формально являющихся производными изопрена [179]. Сложная и разнообразная структура феромонов жёсткокрылых насекомых (рисунок 4.2) позволяет рассчитать и проанализировать фотофизические процессы для разных типов химических соединений.

Согласно расчётам, для молекул феромонов, содержащих в структуре атом кислорода, значения дипольного момента лежат в диапазоне от 1,28 до 1,71 Д. Феромоны, в которых частичный положительный и частичный отрицательный заряды находятся на разных частях молекулы, взаимно ориентируются в пространстве таким образом, чтобы рядом находились другие полярные молекулы – компоненты воздуха, например, молекулы воды 1,85 Д. Между полярными фрагментами молекул возникает кулоновское взаимодействие, которое может создать благоприятные условия для протекания химической реакции. Таким образом, по величине дипольного момента в молекулах феромонов можно говорить об их предрасположенности к химическому взаимодействию с полярными молекулами, находящимися в воздухе. Молекулы феромонов, не содержащие атом кислорода, имеют дипольный момент от 0,16 до 0,70 Д. Для них взаимодействие с полярными молекулами маловероятно, соответственно такой фактор среды как влажность воздуха будет оказывать меньшее влияние на их дезактивацию.

Для всех рассматриваемых молекул значения длин волн поглощения лежат в диапазоне 156-223 нм, что соответствует ультрафиолетовой области спектра. Согласно проведённым расчётам, переход электрона с занятой молекулярной орбитали на вакантную после поглощении энергии приводит к изменению электронной структуры молекулы, что в дальнейшем при релаксации вызывает существенные изменения атомной структуры. Для того, чтобы оценить воздействие электромагнитного излучения на структуру феромонов ксилофагов, были подробно рассмотрены изменения электронной и атомной структуры молекул в возбуждённом состоянии. Полученные расчётные данные далее сгруппированы не по насекомым, а в зависимости от типа феромонной молекулы: для нециклических, моноциклических и бициклических структур.

К нециклическим феромонам короедов относятся три вещества: 2-methyl-3buten-2-ol, 2-methyl-3-buten-1-ol и ipsenol. В молекулах 2-methyl-3buten-2-ol и 2-methyl-3-buten-1-ol, содержащих по одной двойной связи, в электронном переходе, соответствующему максимуму поглощения, участвуют верхняя занятая и нижняя вакантная молекулярная орбитали, максимум поглощения составляет 157 и 160 нм соответственно. На рисунке 4.8 в качестве примера представлена атомная и электронная структура молекулы 2-methyl-3buten-2-ol в основном и возбуждённом состоянии.

Наибольшие изменения в электронной структуре в молекуле 2-methyl-3buten-2-ol происходят при возбуждении в области двойной связи. Изменение электронной структуры в свою очередь приводит к изменению атомной структуры в процессе релаксации. Для молекул 2-methyl-3buten-2-ol и 2-methyl-3-buten-1-ol наблюдается увеличение длины двойной связи на 0,11 Å и 0,07 Å соответственно. Изменение электронной структуры происходит также в области расположения двойных связей. Максимальное увеличение длины связи в молекуле при переходе в возбуждённое состояние не превышает 0,04 Å. Таким образом, поглощение света приводит к изменению электронной и атомной структуры, что может привести к активации молекул и повышению их реакционной способности. Рассчитанные значения изменения длин связей при переходе из основного состояния в возбуждённое показывают, что поглощение света не вызывает значительных структурных изменений, которые в свою очередь могли бы привести к разрушению структуры и дезактивации феромонной молекулы.

К моноциклическим феромонам относятся молекулы: 2-phenylethanol, alpha-terpinolene и R-lemonen. В отличие от alpha-terpinolene и R-lemonen, содержащих в шестичленном цикле одну двойную связь, 2-phenylethanol имеет в цикле систему сопряжённых двойных связей. Изменение электронной структуры в области двойных связей приводит к изменениям атомной структуры: увеличение длины двойных связей составляет в молекулах alpha-terpinolene и R-lemonen от 0,07 Å до 0,10 Å, что соответствует переходу двойных связей в полуторные. Изменения

атомной и электронной структуры при переходе из основного состояния в возбуждённое для молекулы R-limonen представлены на рисунке 4.8.

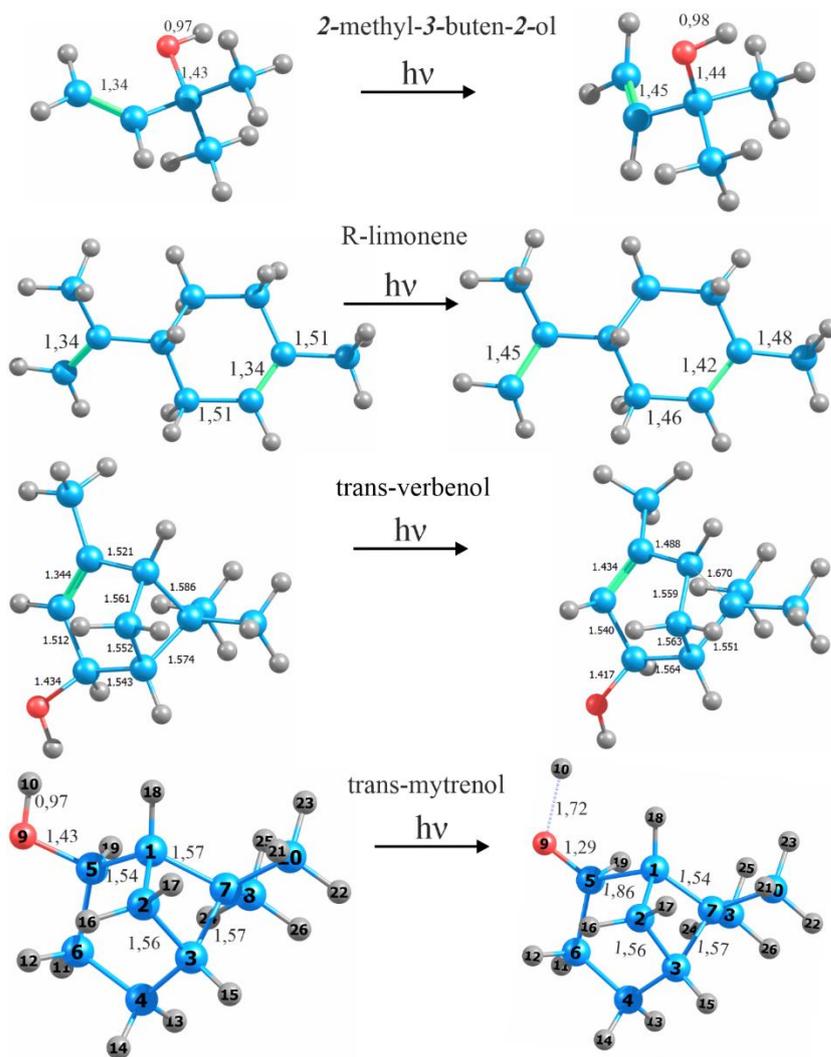


Рисунок 4.8. Атомная и электронная структура молекулы феромонов в основном и возбуждённом состоянии. Длины в ангстремах – Å

Для молекулы 2-phenyl-ethanol при возбуждении электрона изменение электронной структуры происходит в области шестичленного цикла. В отличие от молекул alpha-terpinolene и R-limonen, изменение электронной структуры в случае 2-phenyl-ethanol, содержащего систему сопряжённых связей, вызывает меньшее изменение длин связей, не более чем на 0,03 Å. Исходя из рассчитанных данных, можно сказать, что так же, как и для нециклических молекул феромонов, для моноциклических молекул при поглощении света наибольшие структурные изменения происходят в области кратных связей. Так как увеличение длин связей

не превышает  $0,11 \text{ \AA}$ , а структуры молекул в основном состоянии не содержат напряжённых циклов, воздействие солнечного излучения может привести к активации молекул, но маловероятно приведёт непосредственно к разрушению начальной структуры.

К бициклическим феромонам относятся: *trans-myrtrenol*, *alpha-pinene*, *cis-verbenol*, *myrtrenol*, *trans-verbenol*, *1R-alpha-pinene*, *1S-alpha-pinene*, содержащиеся в структуре по одному шести- и четырёхчленному циклу, и *3S-carene*, содержащий трёх- и шестичленные циклы. Кроме молекулы *trans-myrtrenol* все бициклические феромоны содержат в структуре двойную связь, входящую в шестичленный цикл. Отсутствие двойных связей в молекуле *trans-myrtrenol* согласуется с тем, что максимум поглощения для этого феромона лежит в области более коротких длин волн ( $144 \text{ нм}$ ), чем у бициклических феромонов имеющих кратную связь (максимум поглощения в диапазоне  $174 \text{ нм} - 204 \text{ нм}$ ). На рисунке 4.8 представлены изменения в структуре молекулы *trans-myrtrenol*. В основном состоянии молекула *trans-myrtrenol* содержала напряжённый цикл, включающий связь  $C_3-C_7$  ( $1,57 \text{ \AA}$ ), и угол  $C_1-C_7-C_3$ , равный  $85^\circ$ , вместо характерного для расположения  $sp^3$ -гибридизированных орбиталей угла  $109^\circ$ . Поглощение излучения и релаксация атомной структуры приводит к увеличению связи  $C_5-C_1$ , входящей в шестичленный цикл, на  $0,32 \text{ \AA}$ , что в свою очередь может вызвать существенное изменение геометрии молекулы: раскрытие начального шестичленного цикла с сохранением четырёхчленного цикла  $C_1-C_2-C_3-C_7$ .

Для молекул *alpha-pinene*, *cis-verbenol*, *myrtrenol*, *trans-verbenol*, *1R-alpha-pinene* и *1S-alpha-pinene* изменения носят аналогичный характер поэтому на рисунке 4.8 в качестве примера приведена только молекула *trans-verbenol*. В основном состоянии молекула *trans-verbenol* включает в себя два цикла: шестичленный цикл  $C_1-C_2-C_3-C_4-C_5-C_6$  и четырёхчленный  $C_1-C_7-C_5-C_6$ . Большой цикл содержит двойную связь между атомами  $C_2$  и  $C_3$  ( $1,34 \text{ \AA}$ ). Угол между атомами  $C_2-C_1-C_6$  равен  $110^\circ$ , такое расположение атомов обеспечивает эффективное перекрывание  $p$ -орбиталей с образованием  $\sigma_{p-p}$ -связей. Релаксация атомной структуры приводит к тому, что длина связи между атомами  $C_2$  и  $C_3$

увеличивается до 1,43 Å, что соответствует переходу двойной связи в полуторную; расстояние между атомами C<sub>1</sub> и C<sub>6</sub> возрастает до 1,67 Å, это указывает на слабый характер σ<sub>p-p</sub>-связи, что может привести к дальнейшему разрыву и раскрытию циклов. Угол между атомами C<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> при этом изменяется от 110° до 99°. В результате при возбуждении молекулы в структуре образуется новый шестичленный цикл, представленный атомами C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>-C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> (рисунок 4.8).

Расположение атомов C<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> для молекулы *trans-verbenol* (рисунок 4.8) под углом 99° обеспечивает перекрывание *p*-орбиталей атомов углерода C<sub>1</sub> и C<sub>6</sub> менее эффективно, чем в первоначальной структуре, поэтому связь C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> становится слабее. В основном состоянии (рисунок 4.8) длина связи C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> составляет 1,59 Å, можно ожидать, что после возбуждения молекула будет переходить в более устойчивую структуру, не содержащую напряжённых связей. Аналогичные изменения происходят во всех молекулах феромонов ксилофагов, содержащих два напряжённых цикла.

Молекула *3S-careen*, содержащая в структуре помимо шестичленного цикла, трёхчленный, представлена на рисунке 4.9. Наибольшие изменения электронной структуры происходят при поглощении в области расположения двойной связи. Релаксация атомной структуры приводит к переходу двойной связи C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> в полуторную, длина связи увеличивается с 1,36 Å до 1,45 Å. Наибольшие изменения атомной структуры происходят в области связи C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, входящей в оба цикла, шести- и трёхчленный. Длина связи увеличивается при фотовозбуждении на 0,31 Å.

Если в случае рассмотренного ранее *trans-verbenol* раскрытие четырёхчленного цикла привело бы к сохранению в структуре шестичленного цикла, то разрыв связи C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> в *3S-careen* должен привести к образованию семичленного цикла (рисунок 4.9), что не характерно для терпенов и их производных [179]. Таким образом, для молекулы *3S-careen*, в отличие от остальных бициклических феромонов менее вероятно разрушение первоначальной геометрии при поглощении света.

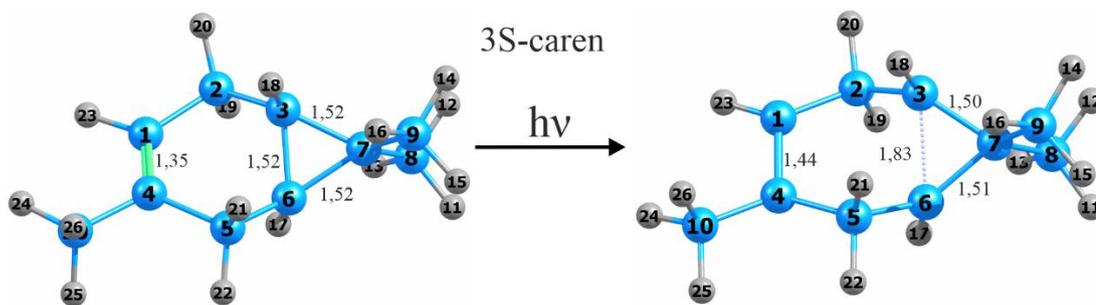


Рисунок 4.9. Атомная и электронная структура молекулы 3S-carene в основном (слева) и возбуждённом (справа) состоянии. Длины в ангстремах – Å

Для жёсткокрылых насекомых, так же, как и для чешуекрылых, проводилось сопоставление рассчитанных физических свойств феромонов с данными о поисковой активности. На рисунке 4.10 изображён спектр поглощения электромагнитного излучения феромона чёрного соснового усача.

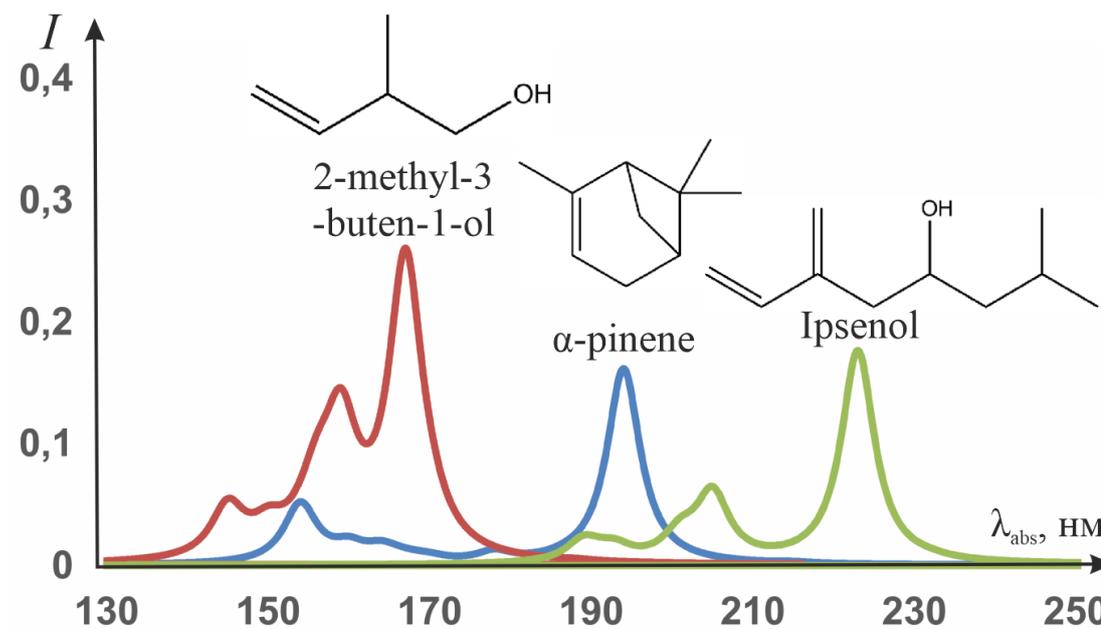


Рисунок 4.10. (4.7) Рассчитанные спектры поглощения феромонов соснового усача.  $\lambda_{\text{abs}}$  – длина волны поглощения;  $I$  – интенсивность в относительных единицах

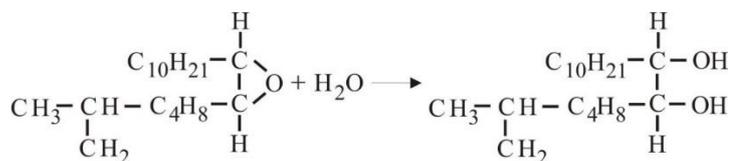
Феромоны усача поглощают в том же диапазоне длин волн, что и феромоны соснового шелкопряда (рисунок 4.8), но с гораздо меньшей интенсивностью. То есть, для феромонов усача возбуждение молекул с последующим изменением геометрии молекул будет протекать с меньшей вероятностью, чем для феромонов шелкопряда, что делает их более устойчивыми к световому воздействию.

Сделанные на основе расчётов выводы согласуются с тем фактом, что в отличие от соснового шелкопряда, для чёрного соснового усача характерна активность в течение светового дня [180].

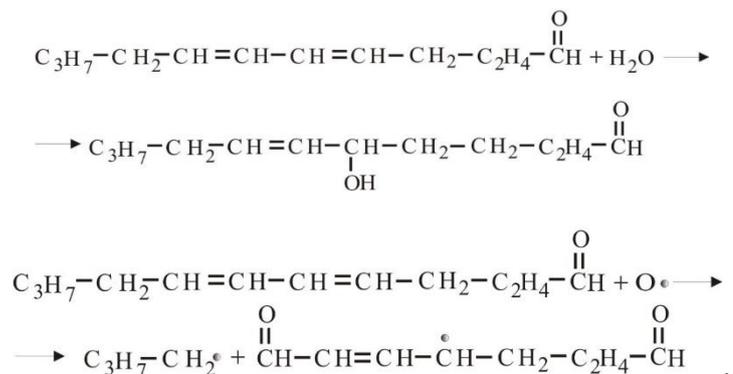
#### §4.4. РАСЧЁТ ПУТЕЙ РЕАКЦИЙ МОЛЕКУЛ ФЕРОМОНОВ В ОСНОВНОМ И ВОЗБУЖДЁННОМ СОСТОЯНИЯХ

Расчёт путей реакций между молекулами феромонов в основном и возбуждённом состояниях и с водой, кислородом, лимоненом. Методика заключается в нахождении максимальной энергии вдоль координаты реакции на поверхности потенциальной энергии. При расчёте переходного состояния строится карта реакции. Это необходимо для того, чтобы провести соответствие между реагентами и продуктами реакции, соединить атомы реагентов и продуктов и построить предполагаемую структуру переходного состояния так называемого активированного комплекса. Метод квадратичного синхронного перехода (КСП) [181] позволяет найти энергетический максимум вдоль параболы, связывающей реагенты и продукты, и минимум для всех перпендикулярных направлений к параболе. В соответствие с реакциями изучаемых молекул с реагентами, находящимися в воздухе, с помощью метода КСП были построены энергетические диаграммы пути реакции. При этом учитывалось как основное состояние молекул, так и возбуждённое, когда вещество поглощает определенное количество электромагнитного излучения.

Схематично (рисунок 4.11) механизмы реакций рассматриваемых феромонов с некоторыми веществами воздуха можно представить на примере взаимодействия молекулы диспарлюра с водой:



Или, по аналогии, например взаимодействие молекулы феромона Сибирского шелкопряда и Соснового шелкопрядов (Z,E)-5,7-додекадиеналь с водой и кислородом



Для получения карты реакции брали оптимизированную геометрия молекул реагентов и продуктов реакции. При этом для молекул феромонов брали геометрию от основного и возбуждённого состояния. Затем строилась карта реакции, где указывались переходы атомов реагентов в атомы продуктов реакции, т.е. определялось соответствие между молекулами продуктов и реагентов. С помощью метода КСП оптимизировалась предполагаемая структура активированного комплекса.

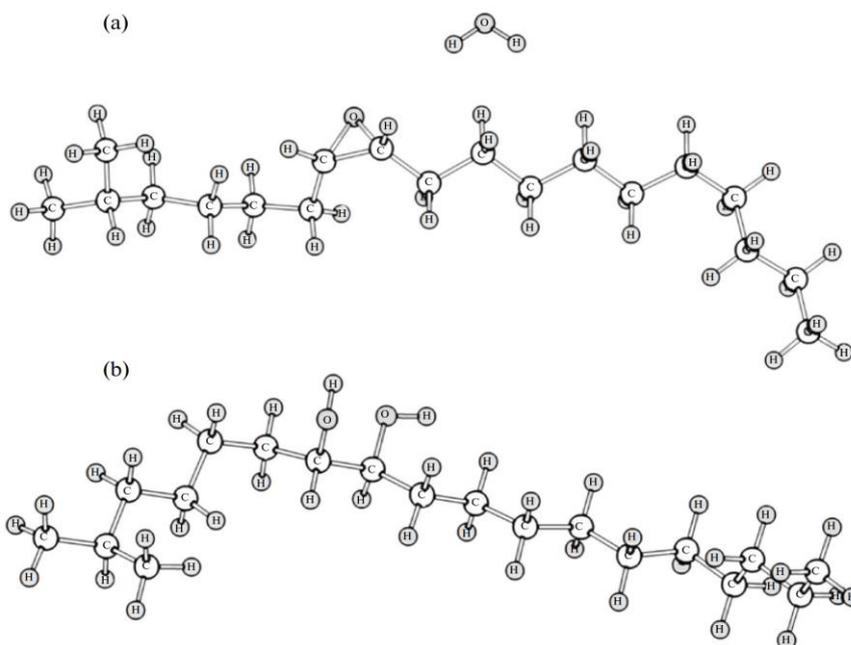


Рисунок 4.11. Схема реакции молекулы диспарлюра с водой. (а) начальные позиции феромона и молекула воды для моделирования химической реакции; (б) продукт реакции

На рисунке 4.12 представлена энергетическая диаграмма пути реакции молекулы феромона Непарного шелкопряда (7R,8S)-цис-7,8-эпокси-2-метилоктадекана с водой. Видно, что взаимодействие возбуждённой молекулы с водой происходит без энергетического барьера. Это объясняется тем, что при поглощении молекулой энергии в функциональной группе увеличиваются связи между атомами (рисунок 4.6) и система переходит в другое положение на поверхности потенциальной энергии, где барьер реакции может быть меньше или совсем отсутствует. Аналогичным образом наблюдается и для других молекул (таблица 4.2).

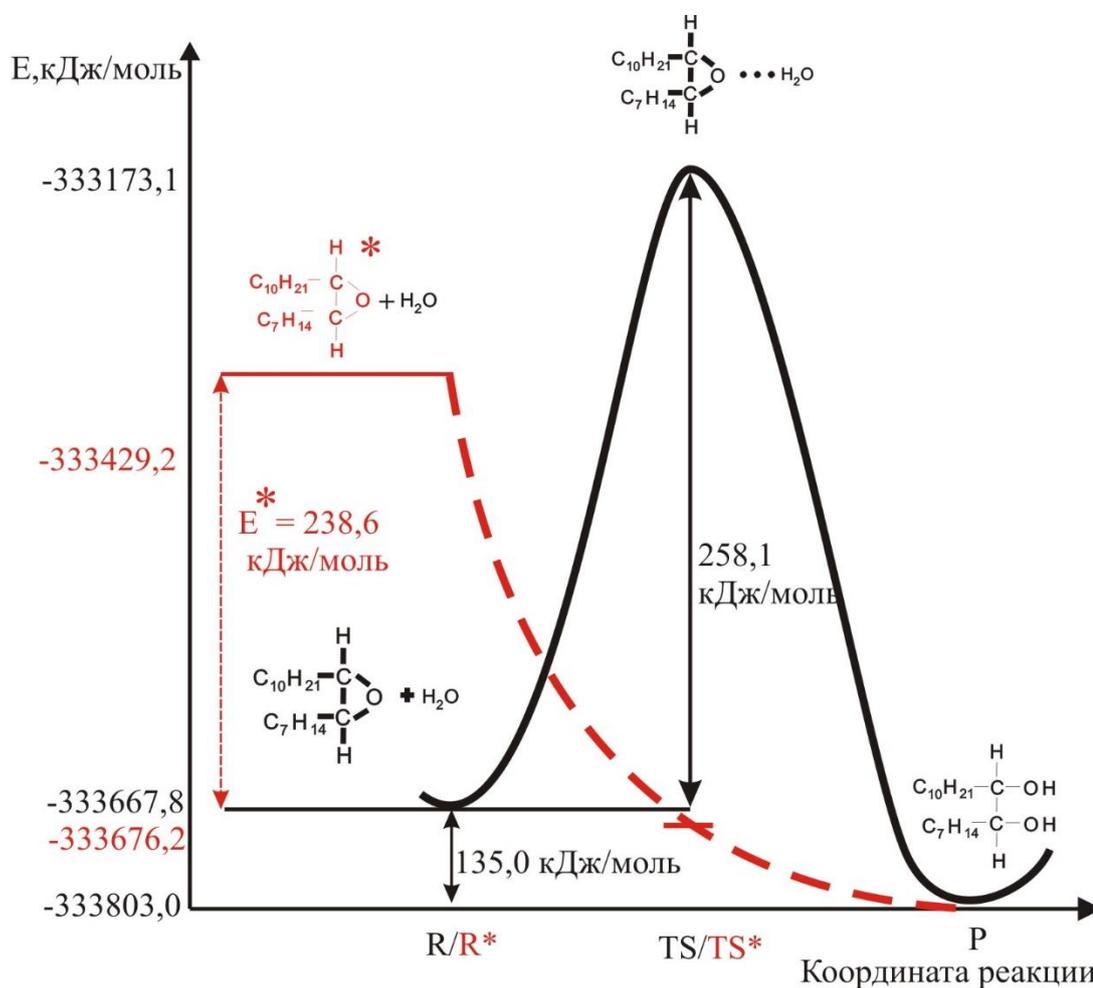


Рисунок 4.12. Зависимость энергии от координаты реакции молекулы диспарлюра с водой.  $R/R^*$ - реагенты, в основном состоянии (сплошная линия) и в возбуждённом состоянии (пунктир);  $TS/TS^*$ - активированный комплекс, для основного/возбуждённого состояния;  $P$  – продукт реакции;  $E^*$  - разница между энергиями молекул в основном и возбуждённом состояниях

При взаимодействии исследуемых веществ с кислородом наблюдается несколько другая картина. На рисунке 4.13 изображена зависимость энергии от координаты реакции молекулы (Z,E)-5,7-додекадиенала с кислородом. Видно, что для возбуждённой структуры реакция с кислородом протекает с преодолением энергетического барьера  $E=100,8$  кДж/моль, но данная энергия активации значительно меньше, чем энергия активации взаимодействия невозбуждённого феромона с кислородом на 252,6 кДж/моль. При взаимодействии возбуждённой молекулы феромона и молекулы кислорода реакция протекает с более низким энергетическим барьером, в отличие от реакции с молекулой феромона в основном состоянии.

Таблица 4.2. Значения энтальпий реакций ( $\Delta H$ ), энергий активаций взаимодействия молекул феромонов в основном ( $E_{\text{акт}}$ ) и возбуждённом ( $E^*_{\text{акт}}$ ) состояниях с водой. Энергия в кДж/моль

Молекула феромона	$\Delta H$	$E_{\text{акт}}$	$E^*_{\text{акт}}$
(7R,8S)-цис-7,8-эпокси-2-метилоктадекан	135,0	258,1	-
(Z,E)-5,7-додекадиеналь	48,3	43,1	-
(Z,E)-5,7-додекадиен-1-ол	42,1	294,2	-
(Z)-5-додекеналь	59,0	214,7	-
(Z)-7-додекеналь	57,2	375,1	-
(Z)-5-додекен-1-ол	57,7	300,3	-
(E)-6- додекен-1-ол	53,6	374,5	-
(E)-7- додекен-1-ол	58,6	278,1	-
(E)-5-додекенилацетат	62,5	127,7	-
(E)-7-додекенилацетат	51,6	210,6	-

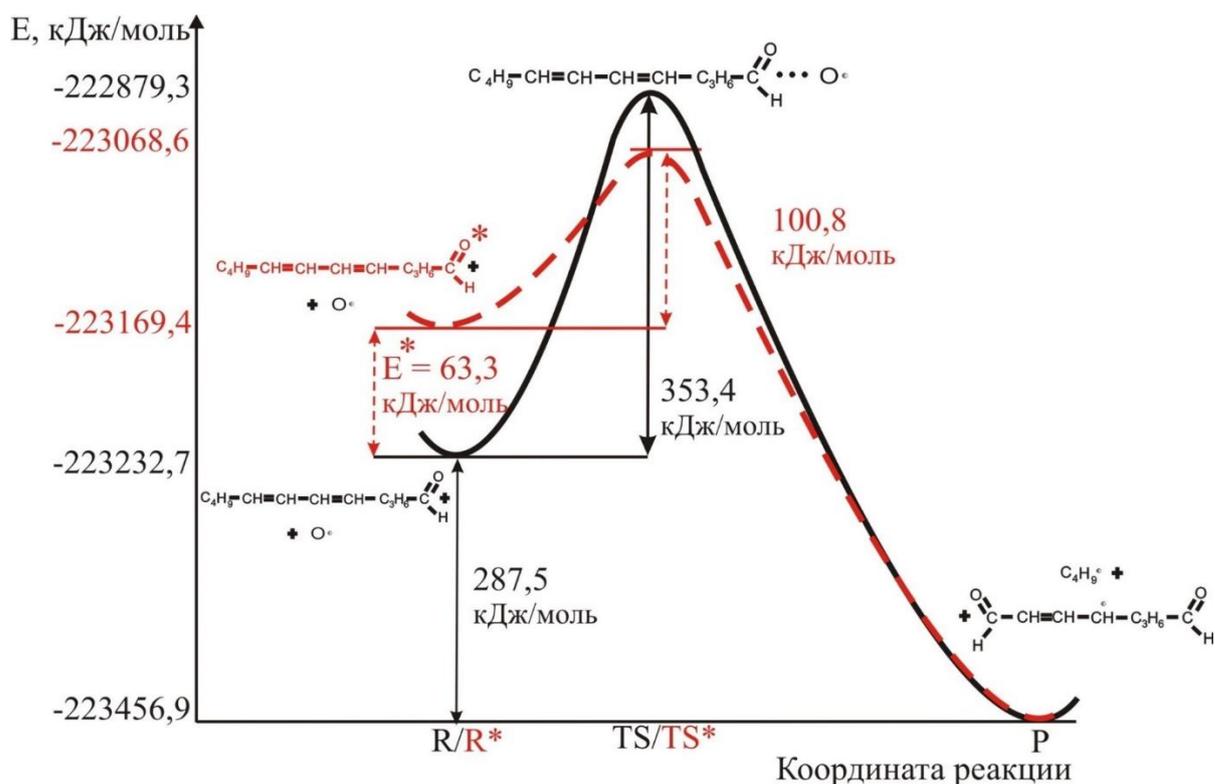


Рисунок 4.13. Зависимость энергии от координаты реакции молекулы феромона Сибирского шелкопряда (Z,E)-5,7-додекадиенала с кислородом. Обозначения аналогичны рисунку 4.12

Это связано с тем, что в случае с кислородом мы имеем другой тип реакций, при котором образование новой молекулы идёт через разрыв старых связей и образовании новых. При этом энергетических затрат на разрыв связи, как правило, требуется больше, далее следует образование новых устойчивых химических связей. Подобная химическая реакция наблюдается и для остальных структур (таблица 4.3).

В итоге можно сказать, что, когда во взаимодействиях с компонентами воздуха участвуют возбуждённые молекулы, наблюдаются два процесса: протекание реакции с энергетическим барьером и без энергетического барьера. Это ведёт к тому, что, энергия активации может уменьшаться. На возбуждение молекулы диспарлюра требуется значительное количество энергии 238,6 кДж/моль. Это объясняет повышенную устойчивость к химическим реакциям. Данный факт хорошо согласуется с экспериментальными данными, известно, что данная молекула феромона устойчива в течение нескольких дней.

Таблица 4.3. Значения энтальпий реакций ( $\Delta H$ ), энергий активаций взаимодействия молекул феромонов в основном ( $E_{\text{акт}}$ ) и возбуждённом ( $E^*_{\text{акт}}$ ) состояниях с кислородом. Энергия в кДж/моль

Молекула феромона	$\Delta H$	$E_{\text{акт}}$	$E^*_{\text{акт}}$
(Z,E)-5,7-додекадиеналь	287,5	353,4	100,8
(Z,E)-5,7-додекадиен-1-ол	224,2	322,9	135,3
(Z)-7-додекеналь	483,6	464,3	236,8
(Z)-5-додекен-1-ол	460,1	358,5	198,8
(E)-6- додекен-1-ол	483,6	464,3	236,8
(E)-7- додекен-1-ол	485,2	405,0	298,6

В большинстве случаев воздействие света на молекулы феромона Сибирского и Соснового шелкопряда должно приводить к увеличению реакционной способности молекулы, т.к. происходит либо уменьшение энергии активации реакции, либо исчезновение энергетического барьера, что повышает способность исследуемых соединений взаимодействовать с веществами, содержащимися в воздухе. Молекулы данных феромонов к середине светового дня полностью исчезают. Таким образом, наблюдается хорошая корреляция между расчётными данными и данными о характерном времени жизни феромонов.

#### §4.5. ВЫВОДЫ

Результаты моделирования изменений структурных и электронных свойств феромонов в возбуждённом состоянии показывают наличие взаимосвязи между структурными характеристиками молекул и механизмами коммуникации насекомых. Многие молекулы феромонов, родственных насекомых, имеют разницу в небольших функциональных группах относительно углеродного скелета. Наблюдается эффект замещения, когда лиганд меняет свойства основного носителя информации в соответствии с эволюцией видов.

Исследования показывают, что можно получать информацию о поведении насекомых на основе квантовохимических расчётов используя достаточно простые инструменты. Можно достаточно быстро оценить основные характеристики молекул. Полученные данные в дальнейшем можно использовать для построения математических моделей поведения вредителей, что, в свою очередь, позволяет разрабатывать экологически чистые методы борьбы.

Теоретические расчёты показывают, что изменение конформации молекул приводит к изменению дипольного момента. Данная характеристика важна для понимания гидрофильных свойств феромонов. Моделирование процессов поглощения показывает, как будет влиять солнечная радиация на коммуникацию насекомых, ведь известно, что они ведут сложный образ жизни. Рассмотрение фотофизических процессов позволяет понять, что может происходить с молекулами в возбуждённом состоянии, ведь молекулы с напряжёнными функциональными группами могут менять свою изомерную структуру, что приводит к дезактивации функции феромонов. Изучение процессов кинетики реакций, для молекул в основном и возбуждённом состоянии, также подсказывает, как данные молекулы будут вести себя при взаимодействии с компонентами, находящимися в атмосфере леса. Результаты расчётов изменений структурных и электронных свойств феромонов в возбуждённом состоянии показывают наличие взаимосвязи между структурными характеристиками молекул и механизмом коммуникации насекомых.

В работе принимали участие П.В. Артюшенко, О.В. Осина, В.Ю. Клемичева, П.В. Аврамов, С.Г. Овчинников. Поддержка экспериментальными данными и дальнейшая статистическая обработка были проведены сотрудниками Института леса ФИЦ КНЦ СО РАН В.Г. Суховольским, Т.М. Овчинниковой, П.Е. Цикаловой и А.В. Ковалёвым.

## **ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ КВАНТОВОХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ**

### **§5.1. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ $\text{Ca}^{2+}$ - РЕГУЛИРУЕМОГО ФОТОПРОТЕИНА ОБЕЛИНА**

Несмотря на то, что биолюминесценция была открыта более 100 лет назад, интерес исследователей к изучению этого явления не ослабевает. Прежде всего, это связано с тем, что в настоящее время биолюминесцентные белки являются основой многих широко используемых методов анализа. Методы с применением биолюминесцентных белков позволяют измерять вещества ниже  $10^{-18}$  моля. Биолюминесцентные методы широко используются в клеточной биологии и экологии для мониторинга внутриклеточных процессов и загрязнения окружающей среды, а также в медицинской диагностике и исследованиях онкологических заболеваний. Спектр применения биолюминесцентных методов с каждым годом растёт, так как постоянно возникают все новые и новые области их приложения. Значительный прогресс в понимании механизма биолюминесценции и роли отдельных аминокислот белка в этом процессе был достигнут после определения пространственных структур  $\text{Ca}^{2+}$ -регулируемых фотопротеинов. Однако пространственная структура белка обеспечивает информацию только о статическом состоянии белковой молекулы и аминокислот активного центра. Какие изменения происходят непосредственно в ходе реакции, остаётся неизвестным. Восполнить этот пробел позволяют современные квантово-химические методы расчётов, которые в настоящее время широко применяются для решения вопросов кинетики реакций, формирования переходных и промежуточных комплексов и продуктов реакции, и что особенно важно, возбуждённых состояний.

Квантовохимические расчёты в настоящее время используются в качестве одного из физико-химических методов исследования для получения данных, необходимых для установления механизмов сложных реакций. В настоящее время разработаны достаточно эффективные полуэмпирические и неэмпирические

варианты метода молекулярных орбиталей (МО), которые можно использовать для изучения реакционной способности больших молекул. С их помощью удаётся установить, какие факторы определяют направление и относительный выход продуктов реакции, а также получить недоступную для эксперимента информацию о геометрии и электронной структуре переходных состояний. При расчёте систем, содержащих атомы с неподелёнными электронными парами, отдельный вклад может вносить корреляция электронов. Учёт даже слабых корреляционных эффектов приводит к изменению геометрии структуры, а, следовательно, и изменению её спектральных характеристик и реакционной способности. Квантовохимические расчёты электронной структуры и геометрии электронно-возбуждённых молекул широко используются для интерпретации экспериментальных данных: отнесения полос поглощения, установления связи спектров поглощения и излучения со структурой молекулы и её конформацией, а также для изучения реакционной способности молекул в фотохимических реакциях. Целью квантово-химических расчётов является адекватное описание реальных систем: точный расчёт строения молекул, их физико-химических свойств, количественное предсказание реакционной способности.

Открытие биолюминесцентных белков началось в 1761 г. когда зоолог Форскол, плывущий на датском корабле по Северному морю, заметил странное свечение в воде. Причиной оказались небольшие медузы, «способные светиться изнутри». Позже выяснили, что медуза содержит «светящееся вещество». В 1961–1962 гг. учёные Джонсон и Шимомура выделили из медузы *Aequorea Victoria* белок акворин, который светится в присутствии ионов кальция [182]. Позднее нашли такие же белки в колониальных гидрополипах *Obelia longissima* и *Obelia geniculata*, гребневиках, радиоляриях. Акворин, выделенный из медузы *Aequorea Victoria*, и обелин, выделенный из гидрополипа *Obelia Longissima* (OL) относятся к одной из наиболее изучаемых биолюминесцентных систем –  $\text{Ca}^{2+}$ -регулируемым фотопротеинам.

Фотопротеины представляют собой стабильный фермент-субстратный комплекс, состоящий из односубъединичного полипептида (люциферазы) и

«преактивированного» кислородом субстрата, 2-гидропероксицелентеразина (люциферина), прочно, но нековалентно связанного с белком [183–185]. Схематично процесс биолюминесценции представлен на рисунке 5.1.

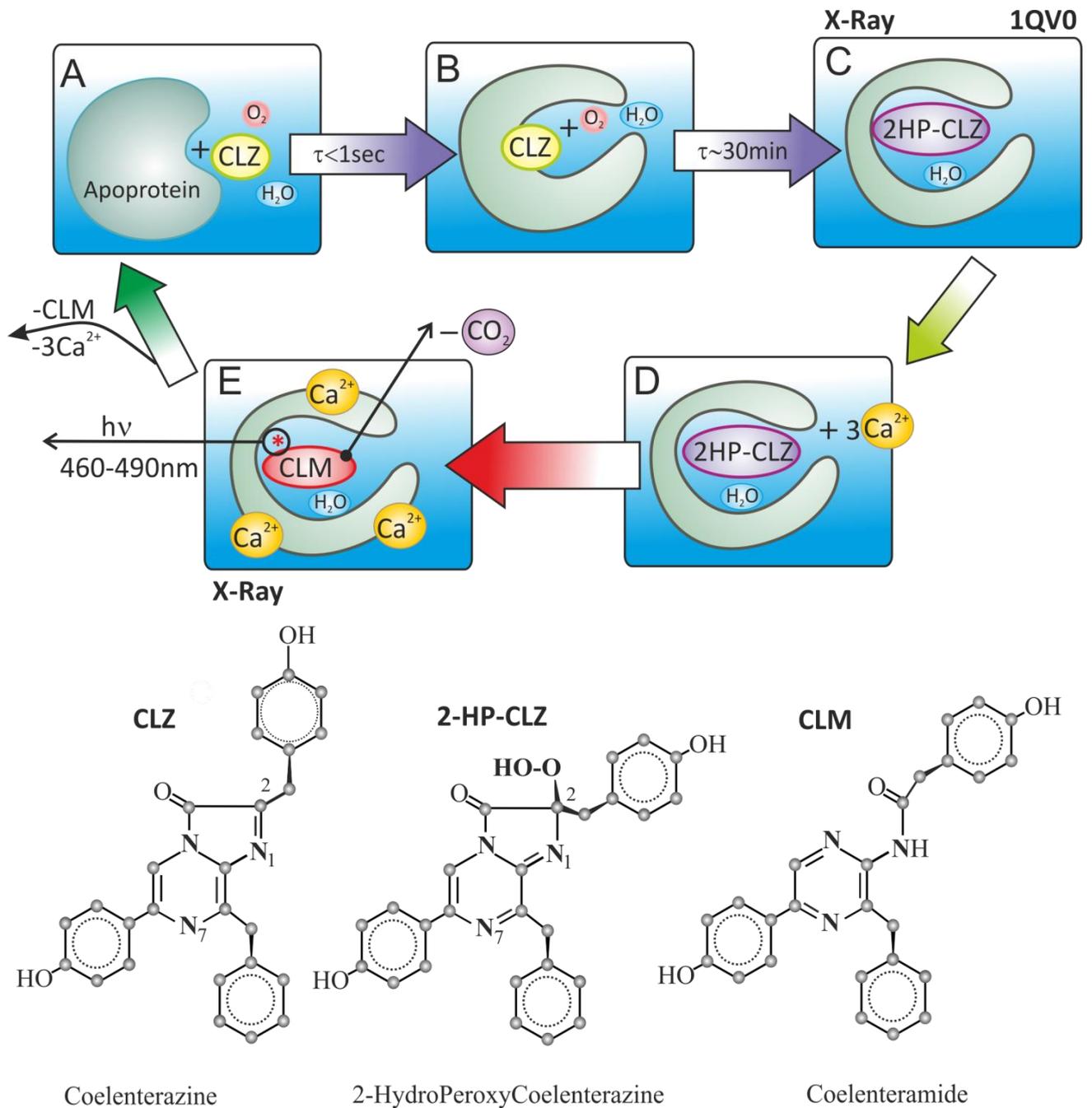


Рисунок 5.1. Активация и биолюминесценция фотопroteина обелина, а также флуоресценция  $Ca^{2+}$ -разряженного белка. А – связывание апобелка с целентеразином; В и С – образование 2-гидропероксицелентеразина в полости белка; D и E – биолюминесцентная реакция обелина, запускаемая ионами кальция, и образование  $Ca^{2+}$ -разряженного белка; E – флуоресценция  $Ca^{2+}$ -разряженного обелина

При добавлении к апобелку целентеразина (CLZ) происходит образование активированного фотопротейна (рисунок 5.1). При этом CLZ вступает в реакцию с молекулой кислорода, образуя внутри белка молекулу 2-гидропероксицелентеразина (HP-CLZ). Присоединение ионов кальция (рисунок 5.1) запускает реакцию окислительного декарбоксилирования, в результате которой образуется  $\text{Ca}^{2+}$ -разряженный фотопротейн, содержащий субстрат в возбуждённом состоянии – целентерамид (CLM). Переход CLM из возбуждённого состояния в основное сопровождается биолюминесценцией, которая наблюдается в диапазоне 465–495 нм и зависит от организма, из которого фотопротейн выделен. После реакции образующийся разряженный фотопротейн, содержащий CLM в основном состоянии, при облучении светом проявляет яркую флуоресценцию (рисунок 5.1) [186].

Яркость свечения фотопротейнов достаточно велика, поэтому вскоре после выделения акворина родилась идея использовать этот белок и другие ему подобные как индикаторы свободных ионов кальция во всевозможных клетках [187]. В настоящее время биолюминесцентные методы широко используются в клеточной биологии и экологии для мониторинга внутриклеточных процессов, загрязнения окружающей среды, в медицинской диагностике. Одной из наиболее перспективных областей применения клеточных сенсоров на основе цветных флуоресцирующих белков является экспериментальная онкология. Использование FP-маркированных (FP – фотопротейн) опухолей позволяет исследовать развитие опухоли в режиме реального времени [188–193].

Целентеразин (CLZ) был выделен впервые в начале 60-х годов. Структура была идентифицирована только в 1977 г [194]. Не модифицированная форма CLZ отвечает формуле  $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{O}_3\text{N}_3$ . Целентеразин может быть выкристаллизован из метанола как жёлто-оранжевые кристаллы. В метаноле CLZ флуоресцирует в жёлтой области, и его ультрафиолетовый спектр поглощения имеет максимум на 435 нм [194,195]. Так как выделить целентеразин или синтезировать его – достаточно сложный процесс, то экспериментально исследуют аналоги целентеразина, сохраняющие основную пиразиновую систему, ответственную за

люминесцентные свойства. Было синтезировано и изучено большое количество аналогов CLZ. Например, в работе [196] было изучено несколько аналогов CLZ. В работе было предположено, что различия в окраске растворов аналогов CLZ происходят из-за образования протонированных форм в кислой среде. При переходе от полярного растворителя к менее полярному спектр поглощения сдвигается в красную область. В работе [197] проведено исследование не модифицированного CLZ и его аналогов в различных растворителях. По результатам исследования, Кормиер и сотрудники сделали предположение, что CLZ существует в метаноле со спектром поглощения 427-435 нм в зависимости от аналога. А в апротонных растворителях, таких как диглим или диметилсульфоксид (DMSO) существует форма CLZ(2H) со спектром поглощения 440-455 нм.

Белок обелин – это  $\text{Ca}^{2+}$ -регулируемый биолюминесцентный фотопротеин из организма *Obelia Longissima*. *Obelia* известны яркой биолюминесценцией [188]. Обелин представляет собой одноцепочный полипептид с молекулярной массой 22,2 кДа, составленный из 195 аминокислот, с тремя связывающими  $\text{Ca}^{2+}$  участками [188]. Окислительное декарбоксилирование CLZ в обелине происходит через несколько стадий. Депротонирование 2-гидропероксицелентеразина (HP-CLZ) приводит к диоксиэтану, напряженному четырёхчленному  $\alpha$ -пероксилактоновому кольцу, который в свою очередь превращается в продукт CLM, выделяя  $\text{CO}_2$ . HP-CLZ сейчас подтверждён многими исследованиями [186]. В работах [185,198] предложен механизм образования 2-гидропероксицелентеразина с образованием аниона целентеразина.

Механизм, предложенный в работах [199,200] в настоящее время считается наиболее правдоподобным. Шимомура и Тераниши [201] провели исследование флуоресценции CLM в растворителях с различной полярностью. Они предположили, что CLM может формировать четыре вида возбуждённых состояний (рисунок 5.2). В нейтральном сильно поляризованном растворителе максимум флуоресцентного спектра – 387-409 нм, соответствует возбуждённому состоянию неионизированного CLM. В бензоле с добавлением сильного основания максимум смещается на 480 нм и соответствует возбуждённой форме CLM-

фенолята. В более полярных растворителях ацетонитриле или DMSO, получается жёлтая флуоресценция с максимумом в 535-550 нм, и Шимомура и Тераниши приписали его пиразин-N(4)-аниону – резонансная форма фенолят-аниона. В основном растворителе продуктом являлся амид-анион, который даёт флуоресценцию 435-458 нм.

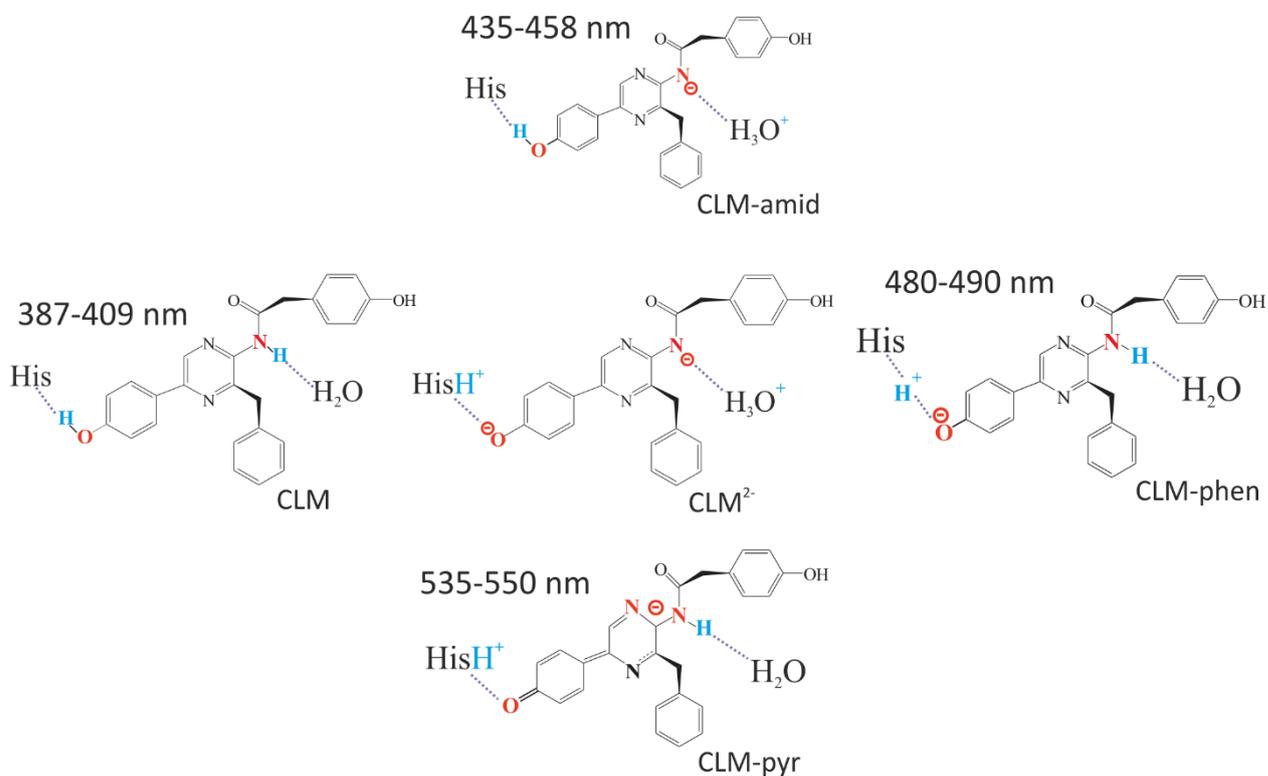


Рисунок 5.2. Возможные формы целентерамида. Эксперимент из [198,201]

Экспериментально установить, какая же форма является излучающей в процессе биолюминесценции или флуоресценции, не удаётся. Поэтому было проведено множество исследований для определения возможной формы субстрата и процесса его образования [185,198,202–204].

## §5.2. ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ МОЛЕКУЛЫ ЦЕЛЕНТЕРАМИДА В АКТИВНОМ ЦЕНТРЕ ФОТОПРОТЕИНА ОБЕЛИНА

Ca<sup>2+</sup>-разряженный обелин представляет собой молекулу белка с полостью внутри, в которой находится целентерамид (CLM), химически не связанный с аминокислотами субстрат-связывающей полости (рисунок 5.3).

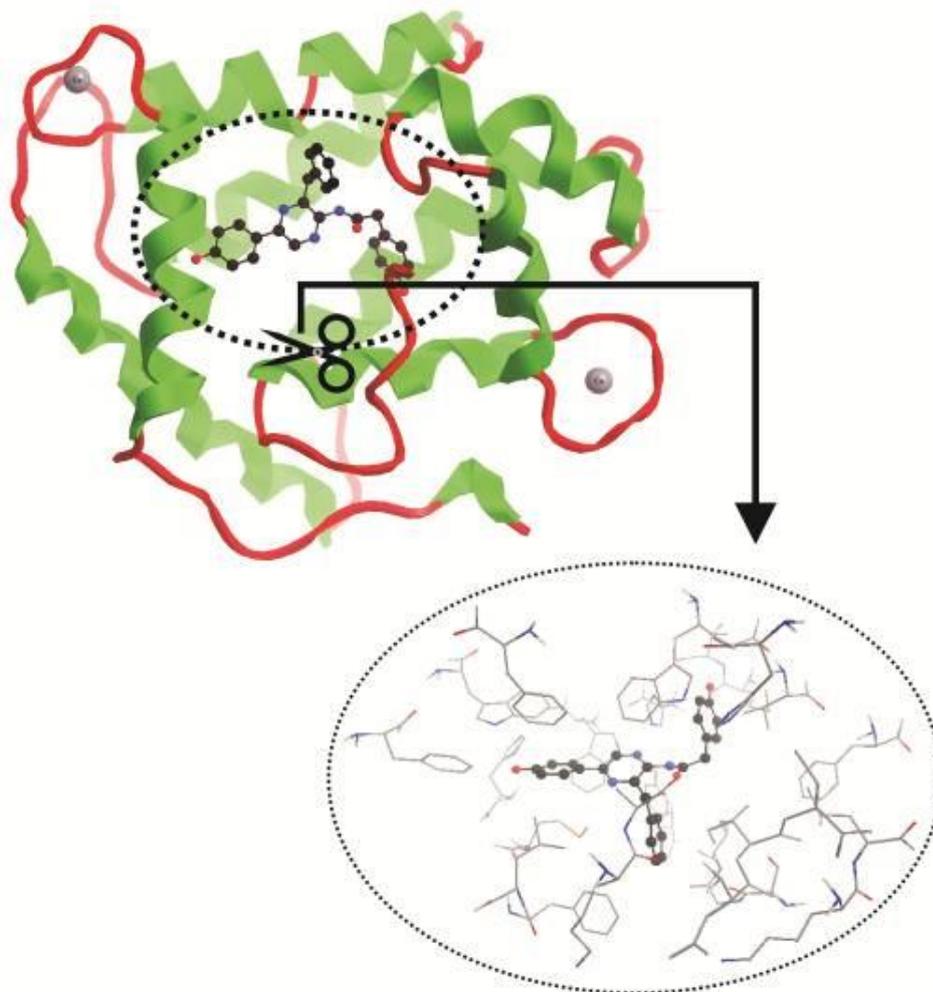


Рисунок 5.3. Кристаллическая структура  $\text{Ca}^{2+}$ -разряженного фотопротейна обелина (PDB код 2F8P). Молекула целентерамида показана в центре. Пунктиром отмечен аминокислотный кластер, используемый в расчётах

Экспериментально очень трудно, если вообще возможно, установить какая именно ионная форма является эмиттером в билюминесцентной реакции и при флуоресценции  $\text{Ca}^{2+}$ -разряженного фотопротейна. Поэтому было проведено множество исследований для определения возможной формы эмиттера и процесса его образования [195]. В работе при моделировании процесса флуоресценции были проверены все возможные ионные формы целентерамида, для которых были рассчитаны спектры поглощения и флуоресценции.

Так как напротив амидного протона находится молекула  $\text{H}_2\text{O}$  (рисунок 5.4), то существует вероятность, что азот может отдать протон молекуле воды с образованием CLM-амида и иона гидроксония. Также возможен переход протона от фенольного кислорода к азоту His22 (рисунок 5.4). Если эти два процесса

происходят одновременно, то возможно образование молекулы дианиона. Необходимо, однако, отметить, что поскольку связь N–H достаточно сильная, а образующийся ион гидроксония  $\text{H}_3\text{O}^+$ , как сильная кислота, должен мгновенно отдавать протон обратно на азот, время существования дианиона может быть очень коротким, например, сравнимым с временем жизни возбуждённого состояния.

Депротонирование фенольной группы, особенно в возбуждённом состоянии, явление достаточно распространённое [205]. Поэтому образование фенолята по сравнению с образованием амид аниона и дианиона является более вероятным. Пиразин, как резонансная форма фенолят-аниона, может образоваться, когда фенольная группа долгое время находится в депротонированном состоянии за счёт перестройки химических связей в целентерамиде.

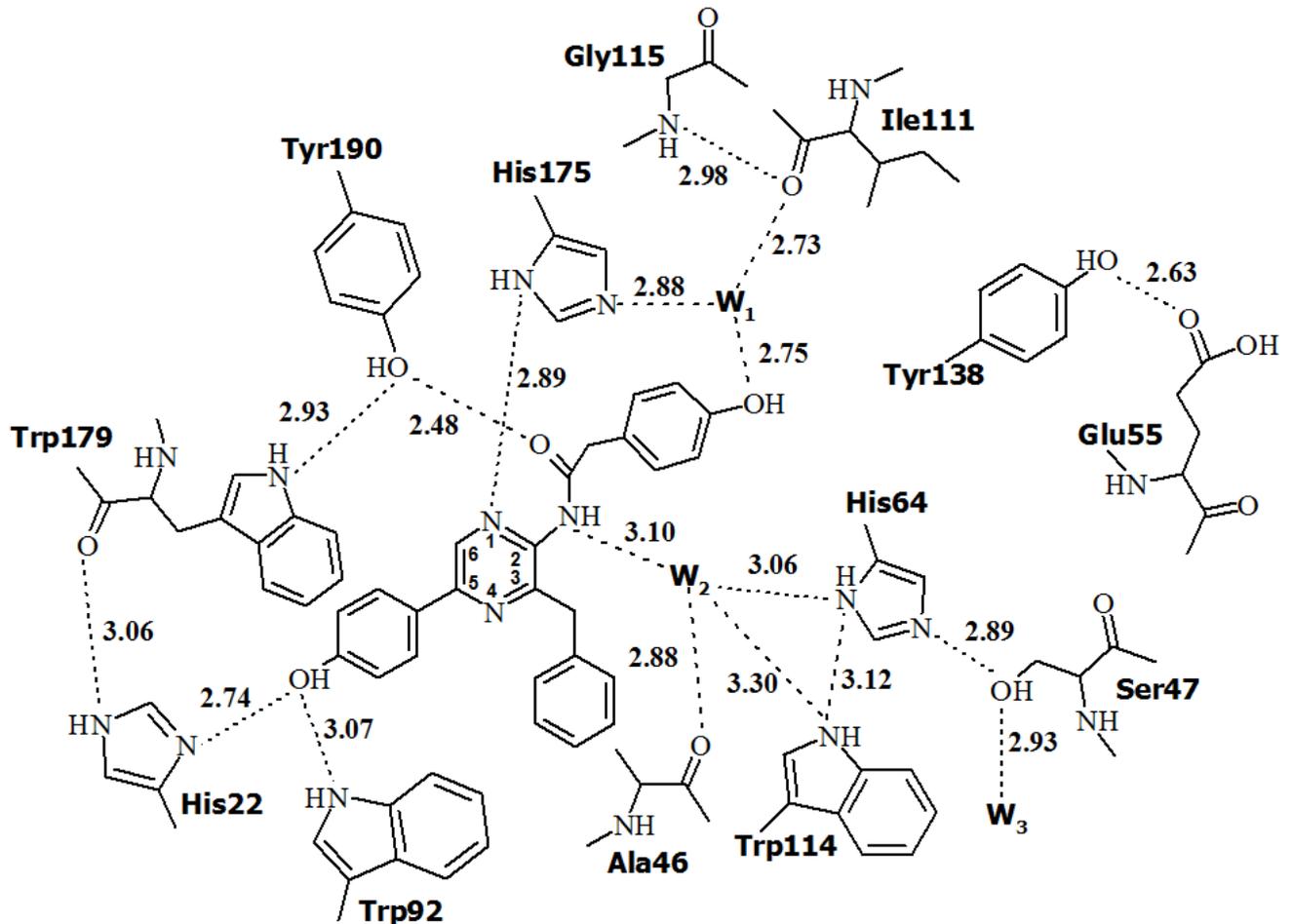


Рисунок 5.4. Двухмерное изображение субстрат-связывающей полости  $\text{Ca}^{2+}$ -разряженного обелина [201]. Водородные связи показаны пунктиром, расстояние указано в ангстремах.  $W_1$  и  $W_2$  – молекулы воды

Расчётные длины волн флуоресценции в вакууме значительно расходятся с экспериментальными значениями для нейтральной формы целентерамида (CLM), амид-аниона (CLM-Amid) и пиразин-N4-аниона (CLM-pyr) (таблица 5.1). Поэтому в кластерную модель были включены аминокислоты субстрат-связывающей полости, исходя из предположения, что аминокислотное окружение оказывает существенное влияние на возбуждённое состояние целентерамида.

При моделировании системы аминокислотное окружение было зафиксировано и играло роль электростатического поля. Для расчёта было взято аминокислотное окружение целентерамида из кристаллической структуры  $\text{Ca}^{2+}$ -разряженного фотопротейна обелина (PDB код 2F8P). Рассчитывали молекулу целентерамида (~50 атомов) и её ближайшее аминокислотное окружение на расстоянии 4-5 Å от каждого атома целентерамида: — His22, Met25, Phe28, Leu29, Lis45, Ala46, Asp49, Ile50, Cys51, Lis53, Leu54, His64, Phe72, Phe88, Trp92, Trp114, Gly115, Val118, Phe122, Ser142, Gly143, Ile144, Met171, Thr172, His175, Trp179, Tyr190, 5 молекул  $\text{H}_2\text{O}$ , всего около 500 атомов (рисунок 5.3).

Таблица 5.1. Рассчитанные и экспериментальные [201] длины волн флуоресценции различных ионных форм целентерамида в условиях газовой фазы (ГФ) и аминокислотного окружения (АО) с помощью TD/B3LYP/6-31\*

Ионная форма целентерамида	Расчёт (ГФ), $\lambda$ , нм	Расчёт (АО), $E_{пер}$ , эВ	Расчёт (АО) $\lambda$ , нм	Эксперимент, $\lambda$ , нм
CLM	329	3,30	375	390 – 410
CLM <sup>2-</sup>	483	3,25	382	?
CLM-Amid	479	2,86	434	435 – 458
CLM-Pirazine	379	2,31	538	530 – 565
CLM-Phenol*	-	2,48	499	480 – 490

\* модель, обсуждается ниже

При расчёте структур в вакууме и в аминокислотном окружении явно видны различия в их геометрии. Длины связи при расчёте в вакууме и в аминокислотном окружении практически одинаковы, но заметно изменяются углы (рисунок 5.5).

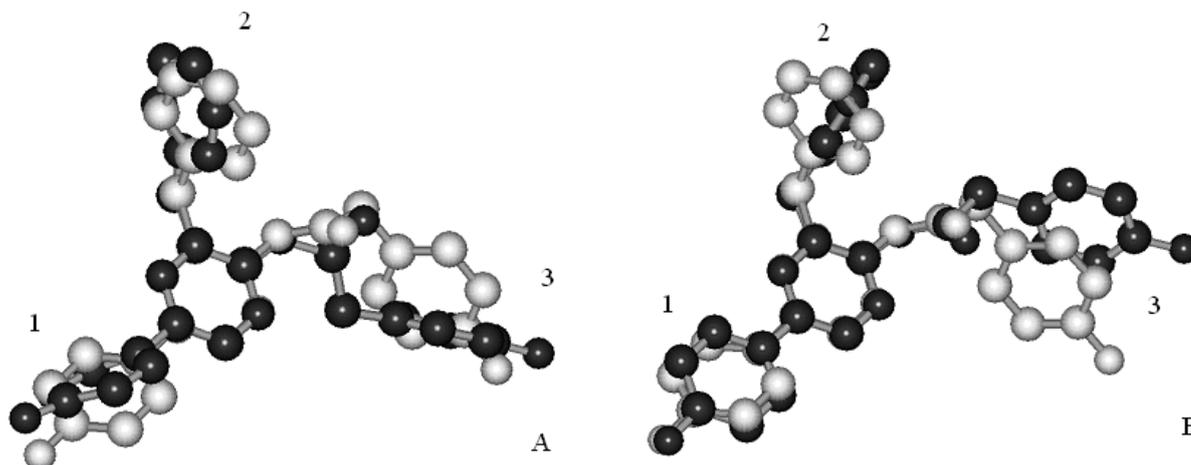


Рисунок 5.5. Геометрии рассчитанных структур целентерамида (черный цвет) в аминокислотном окружении (А) и в вакууме (Б) в сравнении со структурой целентерамида в кристаллической структуре Ca<sup>2+</sup>-разряженного обелина (серый цвет). 1,2,3 – функциональные группы

Относительно кристаллической структуры целентерамида кольцо (1) структуры А повернуто на 33°, в то время как для структуры Б – только на 20°, при этом, в отличие от структуры А кольцо (1) лежит в одной плоскости с пиразиновым кольцом. Кольца (2) в структурах расходятся на 14° для структуры А и на 26° для структуры Б относительно кристаллической структуры, и повернуты по связи С-С на 30° и 76° соответственно. Группа атомов в положении (3) в случае структуры, оптимизированной в аминокислотном окружении, полностью меняет свою геометрию, в то время как для структуры Б всего лишь происходит поворот по связи N-С на 20° и фенольное кольцо расходиться с кристаллической структурой на 35°. Эти отклонения приводят к тому, что длины волн флуоресценции для структур, оптимизированных в вакууме и в аминокислотном окружении, сильно отличаются (таблица 5.1).

В связи с этим, можно сказать, что выработанный подход для расчёта больших систем с детальным исследованием активного центра молекул позволяет на хорошем теоретическом уровне проанализировать атомную и электронную структуры системы, а также, в будущем, моделировать возможные химические превращения которые происходят в активном центре.

Далее с помощью квантовохимических методов исследован молекулярный механизм образования эмиттера при флуоресценции  $\text{Ca}^{2+}$ -разряженного фотопротеина обелина. Расчёты проводили с помощью метода V3LYP. Для того чтобы смоделировать в расчётах процесс флуоресценции, были рассчитаны спектры поглощения и флуоресценции для всех ионных форм целентерамида (CLM). Для расчёта ионизированных форм целентерамида было взято аминокислотное окружение из кристаллической структуры  $\text{Ca}^{2+}$ -разряженного обелина (PDB код 2F8P) так же, как и в предыдущем параграфе. Расчёты показали, что изменение длин связей во всех формах не превышает 0,1 Å. Наиболее сильные изменения происходят около атомов, которые могут отдавать протон, и на атомах гетероцикла. Это позволяет сделать вывод, что атомы гетероцикла достаточно сильно подвергаются влиянию аминокислотного окружения и в большей степени участвуют в перераспределении заряда. Сравнение длин связей различных структур целентерамида, рассчитанных в возбуждённом и основном состояниях, показывает, что наибольшее изменение значений происходит на фенольном и пиразиновом кольцах. Этими изменениями в геометрии можно объяснить большой сдвиг Стокса в спектре флуоресценции (~150 нм). В результате расчётов получены частичные электронные заряды на атомах. В случае пиразин-аниона и фенолят-аниона разница в зарядах наблюдается только на фенольном кольце, а на остальных атомах заряды практически одинаковы. Это указывает на возможную роль аминокислотного окружения, которое через электростатическое взаимодействие может влиять на целентерамид, сдвигая при этом длину волны излучения.

Из данных таблицы 5.1 видно, что длины волн CLM и CLM–amid близки к экспериментальным значениям, полученным для этих форм в различных растворителях, но не соответствуют экспериментальным значениям для флуоресценции  $\text{Ca}^{2+}$ -разряженного обелина ( $\lambda_{\text{max}} = 510$  нм). Таким образом, эти формы не подходят на роль эмиттера, т.к. их энергии излучения значительно больше, чем энергия максимума флуоресценции (2,40–2,50 эВ). Расчёт пиразин-аниона показывает энергию излучения 2,30 эВ (538 нм), следовательно, пиразин также не годится на роль эмиттера флуоресценции обелина.

Так как при оптимизации фенолят структурно переходит в пиразин-анион, его атомную структуру невозможно рассчитать. Поэтому была построена модель, основанная на следующих приближениях: энергия, полученная от внешнего источника, идёт на перемещение протона; на возбуждение продукта тратится энергия около 3.5 эВ, часть которой идёт на внутримолекулярные изменения. Моделирование проводили следующим образом. Протон помещали в различные положения между двумя крайними позициями, расстояние между которыми составляло 2,42 Å. В каждом положении отдельно проводили расчёт основного и возбуждённого состояний (рисунок 5.6, табл. 5.2).

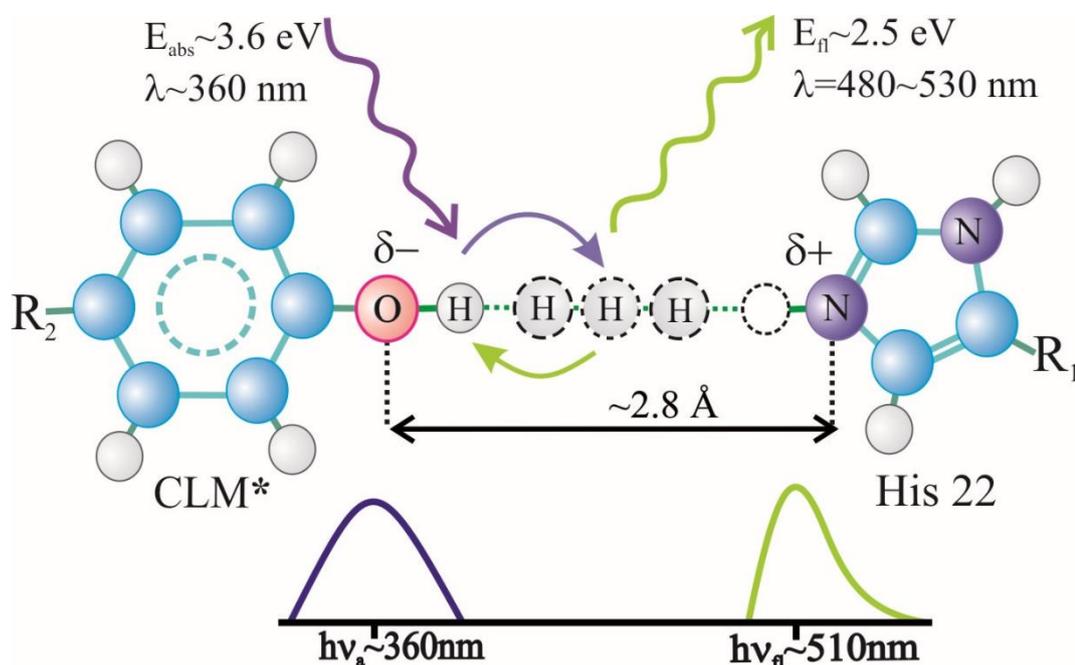


Рисунок 5.6. Моделирование процесса переноса водорода между эмиттером реакции и аминокислотой His22

Данная схема позволяет смоделировать процесс образования комплекса с переносом протона, который получил название «*Ion-pair proton transfer*» [198,201] который, как было предположено [202,206,207], образуется при биолюминесценции  $\text{Ca}^{2+}$ -регулируемых фотопротеинов. Из расчётов видно, что положение протона сильно влияет на длину волны излучения. Сложность при моделировании процессов переноса протона состоит в том, что в расчётах мы не можем получить точно геометрию возбуждённого состояния и электронную структуру, т.к. в данном случае геометрия является неравновесной, и система

стремится перейти в состояние с оптимальной геометрией. При этом происходят мгновенные изменения зарядов на кислороде целентерамида и азоте гистидина.

Расстояние 0,92 Å между кислородом и протоном соответствует равновесной геометрии основного состояния нейтральной формы целентерамида. Энергия перехода в данном состоянии 3,3 эВ (375 нм). Полученная энергия тратится на перемещение протона и возбуждение системы. Экспериментально излучение системы происходит в районе 2,5 эВ (~500 нм), что в наших расчётах соответствует положению протона посередине между целентерамидом и гистидином (~1,65 Å). Нахождение протона на расстоянии большем, чем 1,8 Å, показывает энергию перехода в районе 1,5-2,0 эВ (~600-700 нм). В спектре флуоресценции данные длины волн не наблюдаются, это связано с тем, что перемещение на расстояние более 1,8 Å требует дополнительных затрат энергии. Данная модель показывает, что описание процесса флуоресценции  $\text{Ca}^{2+}$ -разряженного обелина должно учитывать перемещение протона между целентерамидом и гистидином. Таким образом, эмиттером, как и в случае биолюминесцентной реакции, может являться комплекс с переносом протона.

Таблица 5.2. Длина волны флуоресценции целентерамида в зависимости от положения протона между целентерамидом (CLM) и Гистидином (H)

№	Расстояние CLM — H, Å*	$E_{\text{пер}}$ , эВ	$\lambda$ , нм	№	Расстояние CLM — H, Å	$E_{\text{пер}}$ , эВ	$\lambda$ , нм
1	0,92	3,30	375	9	1,63	2,65	469
2	1,31	3,30	375	10	1,64	2,53	492
3	1,36	3,30	375	11	1,78	1,63	763
4	1,40	3,26	380	12	1,85	1,96	633
5	1,47	3,22	385	13	1,90	2,00	620
6	1,50	3,17	390	14	1,96	2,02	615
7	1,56	2,97	417	15	2,02	2,04	610
8	1,60	2,79	445				

\* расстояние для протона отсчитывается от молекулы целентерамида

Рассчитанные энергии излучения амид-аниона, дианиона и нейтральной формы целентерамида не совпадают с экспериментально измеренными длинами волн флуоресценции  $\text{Ca}^{2+}$ -разряженного обелина, поэтому данные возможные эмиттеры можно исключить. Флуоресценция пиразин-аниона в различных растворителях показывает максимумы в области 535–550 нм. Экспериментальный спектр флуоресценции белка обелина имеет только один максимум в районе 500 нм. Т.к. пиразин является наиболее устойчивой формой, то если бы происходило его образование, то в спектре биолюминесценции и флуоресценции наблюдался бы чёткий пик в районе 535-550 нм. Поэтому можно сделать вывод, что пиразин-анион не образуется.

На данный момент не существует экспериментального доказательства, какая форма целентерамида является эмиттером реакции. Пиразин-анион не подходит под спектр флуоресценции, а фенолят-анион трудно смоделировать, потому что при оптимизации геометрии он структурно переходит в форму пиразина. В связи с этим была построена модель, в которой энергетическая разница между возбуждённым и основным уровнем зависит от положения протона между кислородом целентерамида и азотом аминокислотного окружения.

Моделирование переноса протона в системе His22-CLM показало, что для удаления протона от фенольной группы целентерамида на расстояние до 1,5 Å необходимо затратить энергию около 3,3 эВ, что соответствует энергии возбуждения флуоресценции. На расстоянии примерно 1,65 Å происходит излучение кванта света с энергией 2,5 эВ, что соответствует экспериментальным данным. Поскольку процесс излучения спонтанный, протон может возвращаться к целентерамиду с разных позиций, и это приводит к уширению пика флуоресценции. Таким образом, процесс флуоресценции  $\text{Ca}^{2+}$ -разряженного обелина (возможно и других  $\text{Ca}^{2+}$ -разряженных фотопротеинов) хорошо моделируется перемещением протона от кислорода фенольной группы CLM до азота аминокислоты His22. Вероятнее всего, что аналогичный процесс имеет место и при биолюминесцентной реакции фотопротеинов. По-видимому, спектр биолюминесценции также определяется положением протона между атомом

кислорода фенольной группы CLM в возбуждённом состоянии и атомом азота His22.

### §5.3. МОДЕЛИРОВАНИЕ ПУТЕЙ ХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ОБРАЗОВАНИЯ АКТИВНОЙ ФОРМЫ $\text{Ca}^{2+}$ -РЕГУЛИРУЕМОГО ФОТОПРОТЕИНА

В настоящее время детальный механизм реакции образования 2-гидроперекиси-целентеразина при активации фотопротеинов не известен. Для установления интермедиатов реакции нами была проведена оптимизация геометрии целентеразина в форме CLZ(7H) в активном центре обелина (Рисунок 5.7). Согласно расчётам, CLZ(7H) пересекается в пространстве с аминокислотными остатками His175 и Trp135, что приводит к разрушению его структуры. Такой же результат получен для аниона CLZ(C2-). Показано, что только целентеразин в форме CLZ(2H) стабилен в целентеразин-связывающей полости, так как C(2) атом находится в  $sp^3$ -гибридизации, что приводит к изменению угла связи с боковым заместителем. Исходя из этих расчётов было предположено, что активный фотопротеин образуется из формы CLZ(2H).

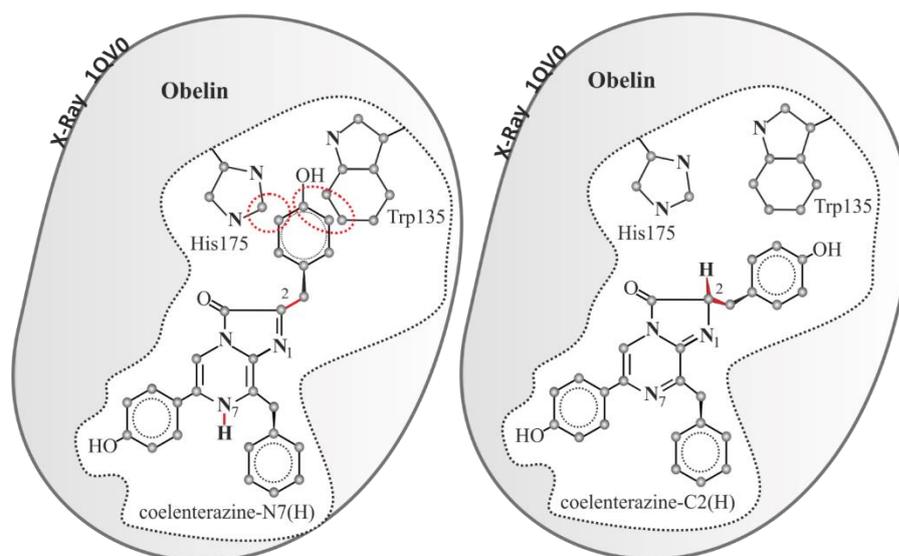


Рисунок 5.7 Таутомерные формы целентеразина CLZ(7H) и CLZ(2H) в активном центре обелина

Поскольку целентеразин-связывающая полость фотопротеинов сформирована в основном гидрофобными аминокислотами, было предположено, что при быстром связывании целентеразина происходит изомеризация и образуется таутомерная форма CLZ(2H), которая затем реагирует с кислородом, образуя гидроперекись. Этот процесс можно представить как одностадийный с образованием промежуточного состояния, когда протон от C(2) атома переходит на кислород с дальнейшим образованием 2-гидропероксицелентеразина (рисунок 5.8).

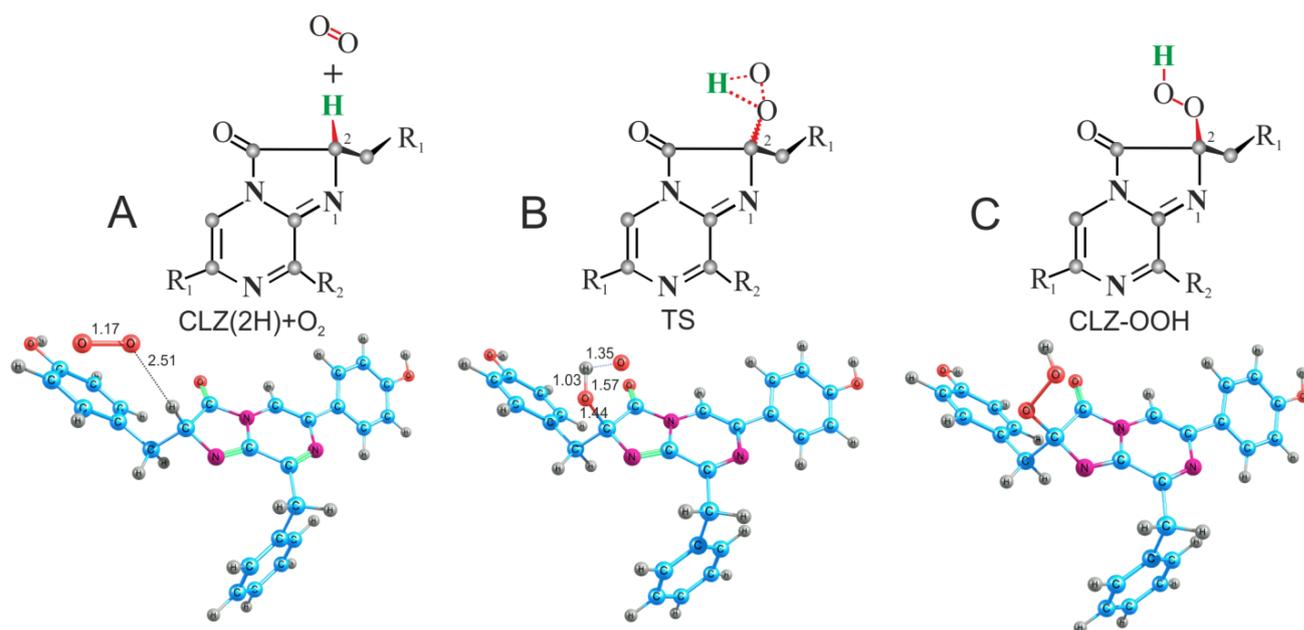


Рисунок 5.8. Предположенный механизм образования 2-гидропероксицелентеразина

Были проведены расчёты по моделированию пути данной реакции с построением адиабатических поверхностей потенциальных энергий (ППЭ) состояний, начиная с реагентов реакции CLZ(2H) и O<sub>2</sub> и заканчивая продуктом реакции CLZ-OOH (рисунок 5.8). Барьер реакции (MEХ) относительно триплетного состояния составил 135 кДж/моль, что является большим значением и превышает экспериментальное значение (45 кДж/моль) в три раза. Таким образом, можно сделать вывод, что реакция образования 2-гидропероксицелентеразина идёт по иному механизму, кроме того, по всей вероятности полость белка, связанного с продуктом реакции, отличается от полости для реагентов.

Для моделирования альтернативного пути реакции было обращено внимание к схеме, Хирано с соавторами [198] (рисунок 5.9), согласно которой реакция идёт с образованием анион-радикала кислорода.

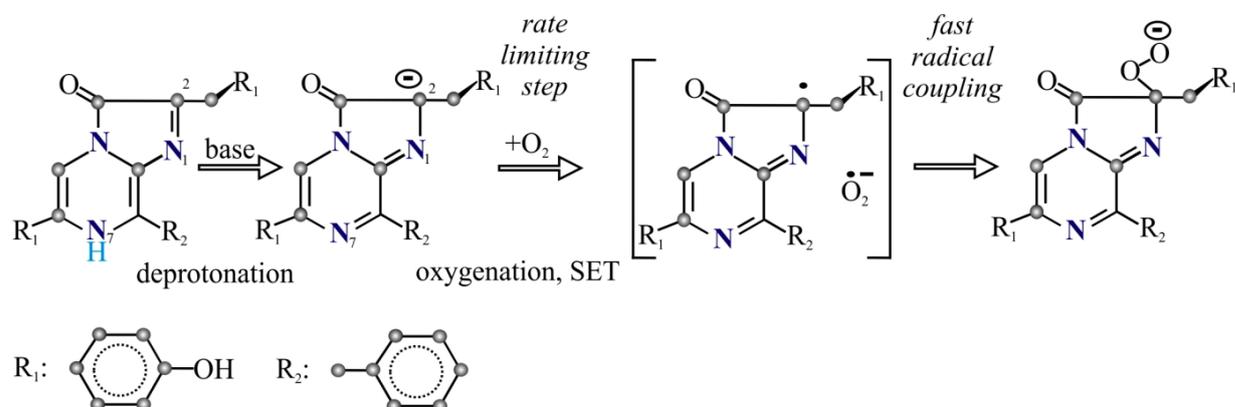


Рисунок 5.9. Возможный механизм образования 2-гидропероксицелентеразина предложенный Хирано с соавторами [198]

В процессе моделирования присоединения молекулы кислорода к аниону целентеразина в газовой фазе к оптимизированной структуре CLZ(C2-) добавили молекулу кислорода около C(2) атома (рисунок 5.10, А). В процессе оптимизации данного кластера происходила циклизация с последующим образованием структуры, соответствующей конечным продуктам реакции биолюминесценции — целентерамиду и CO<sub>2</sub> (рисунок 5.10, С), минуя стадию образования CLZ-OOH.

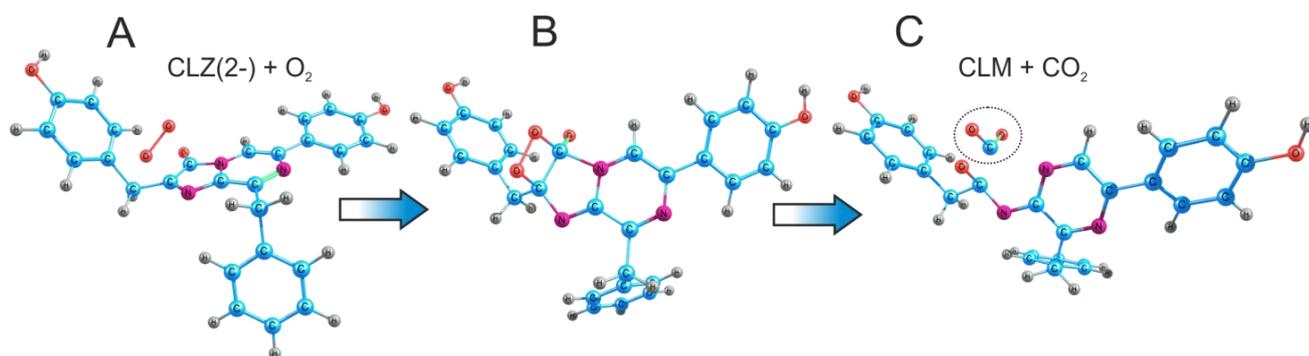


Рисунок 5.10. Оптимизация аниона целентеразина и молекулы кислорода в газовой фазе

Таким образом, было предположено, что в белке 2-гидропероксицелентеразин стабилизируется аминокислотным окружением. Для проверки этого предположения для дальнейших расчётов были взяты два аминокислотных остатка активного центра – His175 и Tyr190, а также молекула

воды в соответствие с данными кристаллической структуры белка (PDB код 1QV0) [208]. При этом His175 для расчётов брался в протонированном виде His175H(+). Исходя из предположения, что на момент начала реакции субстрат находится в полости белка в виде аниона целентеразина, моделирование реакции начинали с нахождения точной геометрии структур системы CLZ(C2-)-His175H(+)-Tyr190-H<sub>2</sub>O методом  $\omega$ B97X-D/6-31G(p,d). Равновесная конфигурация, соответствующая началу реакции, представлена на рисунке 5.11, А.

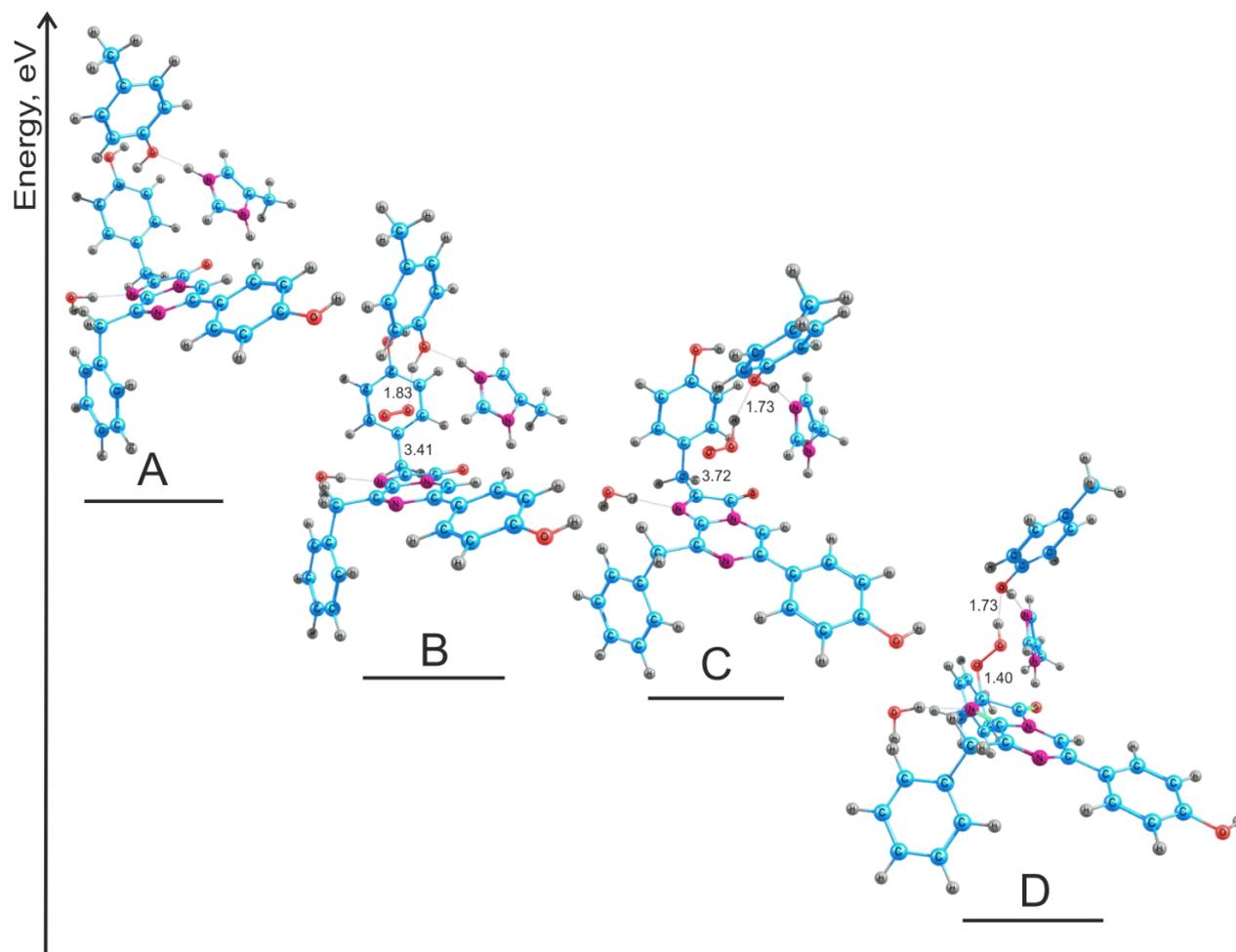


Рисунок 5.11. Предложенный Механизм образования 2-гидропероксицелентеразина. А, В, С – возможные интермедиаты реакции D – продукт реакции

Далее в данную систему напротив С(2) атома добавляли молекулу кислорода, которая в процессе оптимизации занимала место вблизи Tyr190 на расстоянии 1,83 Å (рисунок 5.11, В), что сопровождалось перераспределением отрицательного заряда между субстратом и молекулой кислорода. Значение заряда, появившегося

на кислороде, было равно  $-0,32 e^-$ , при этом на субстрате оставалась большая часть отрицательного заряда, равная  $-0,51 e^-$ . Энергия межмолекулярного взаимодействия кислорода с остальными молекулами системы составила  $-64$  кДж/моль, что говорит о сильном взаимодействии и о том, что образование кластера  $CLZ(C2^-)-O_2-His175H(+)-Tyr190-H_2O$  энергетически выгодно. Данная энергия была рассчитана вычитанием из полной энергии системы  $CLZ(-)-O_2-His175H(+)-Tyr190-H_2O$  энергии системы  $CLZ(-)-His175H(+)-Tyr190-H_2O$  и энергии кислорода, оптимизированного в вакууме.

Далее была проверена возможность переноса протона с His175 на Tyr190 с образованием структуры Tyr190H(+), а затем переноса протона с Tyr190 на кислород. В ходе оптимизации кластера получить такое состояние не удалось; система переходила в состояние, соответствующее рисунку 5.11, В. Также не удалось получить структуру, соответствующую переносу протона с Tyr190 на кислород с сохранением протона на His175, поэтому далее мы рассматривали одновременный перенос протонов с His175 на Tyr190, а с Tyr190 на кислород. В результате было получено стабильное состояние, изображённое на рисунке 5.11, С. Согласно расчётам, на данном этапе реакции, субстрат находится в  $CLZ(C2^-)$  форме. Присоединение  $-OON$  группы к  $CLZ(C2^-)$  с образованием 2-гидропероксицелентеразина проходит безбарьерно за счёт сильного кулоновского взаимодействия, т.е. разности зарядов двух структур (рисунок 5.11, D).

Таким образом, лимитирующей стадией реакции является стадия переноса протонов (рисунок 5.11, В-С). Для нахождения барьера реакции была построена адиабатическая ППЭ, при этом рассматривали все возможные пути переноса протонов и следили за спиновым состоянием, добиваясь того, чтобы электроны находились на разных участниках реакции, что достигалось установкой триплетного состояния (рисунок 5.12). При этом один электрон всегда находился на молекуле кислорода, а второй – на молекуле целентеразина. Расстояния  $\vec{r}_1$  и  $\vec{r}_2$  (рисунок 5.12, А), которые в ходе реакции должны пройти протоны, разбивали на пять промежуточных точек (шагов), рассчитывали энергии структур, соответствующих всем возможным комбинациям данных шагов, и по полученным

данным построили ППЭ и карту ППЭ (рисунок 5.12, В, С). Энергию структуры, соответствующей перешедшим протонам, приняли за ноль и проводили построение в относительных энергиях. Наиболее выгодный энергетический путь указан стрелками (рисунок 5.12, В, С). Исходя из расчётов, оба протона начинают движение одновременно, затем идёт перемещение только одного протона от Tyr190 к кислороду. Не доходя до молекулы кислорода на расстояние, необходимого для образования связи, этот протон останавливается. Второй протон начинает движение от His175 к Tyr190 и также останавливается на небольшом расстоянии от Tyr190. Только после этого оба протона продолжают движение вплоть до образования химических связей. Можно сказать, что механизм данной реакции близок к последовательному.

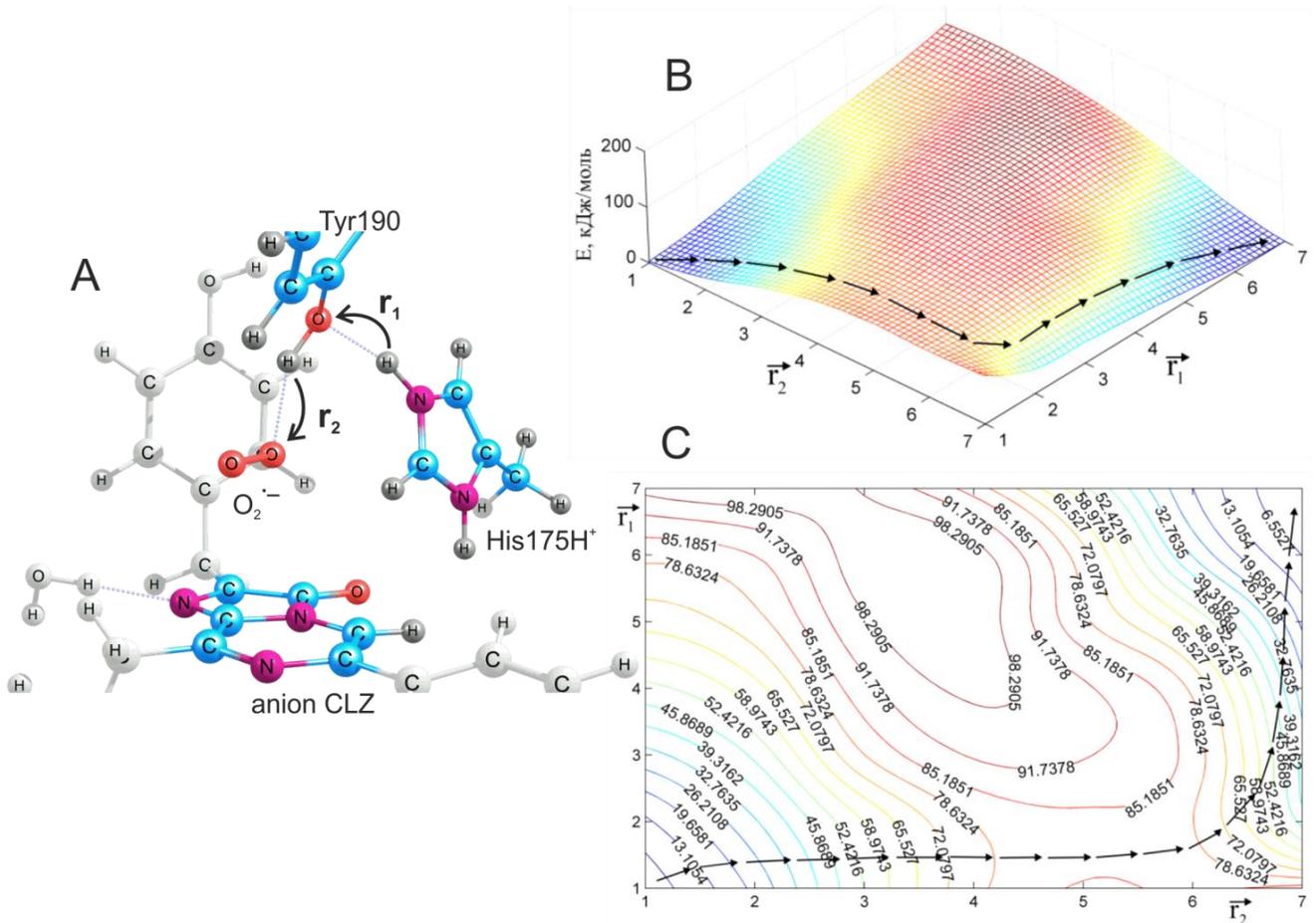


Рисунок 5.12. Моделирование движение протонов в системе целентеразин-анион, молекула кислорода, His175H(+) и Tyr190. А – вид кластера для расчётов; В – трёхмерная поверхность потенциальной энергии (ППЭ) перехода протонов; С – контурная карта ППЭ

Для нахождения точного значения барьера реакции проводили оптимизацию структуры, используя геометрию пятой точки как начальную, при этом положения атомов водорода фиксировались (рисунок 5.12). Барьер реакции составил 61 кДж/моль, что хорошо согласуется с экспериментальными данными (45 кДж/моль). Таким образом, можно предположить, что в ходе реакции субстрат находится в формах  $CLZ(C2^-)$  и  $CLZ-OOH$  и 2-гидропероксицелентеразин образуется по предложенному ниже механизму (рисунок 5.13).

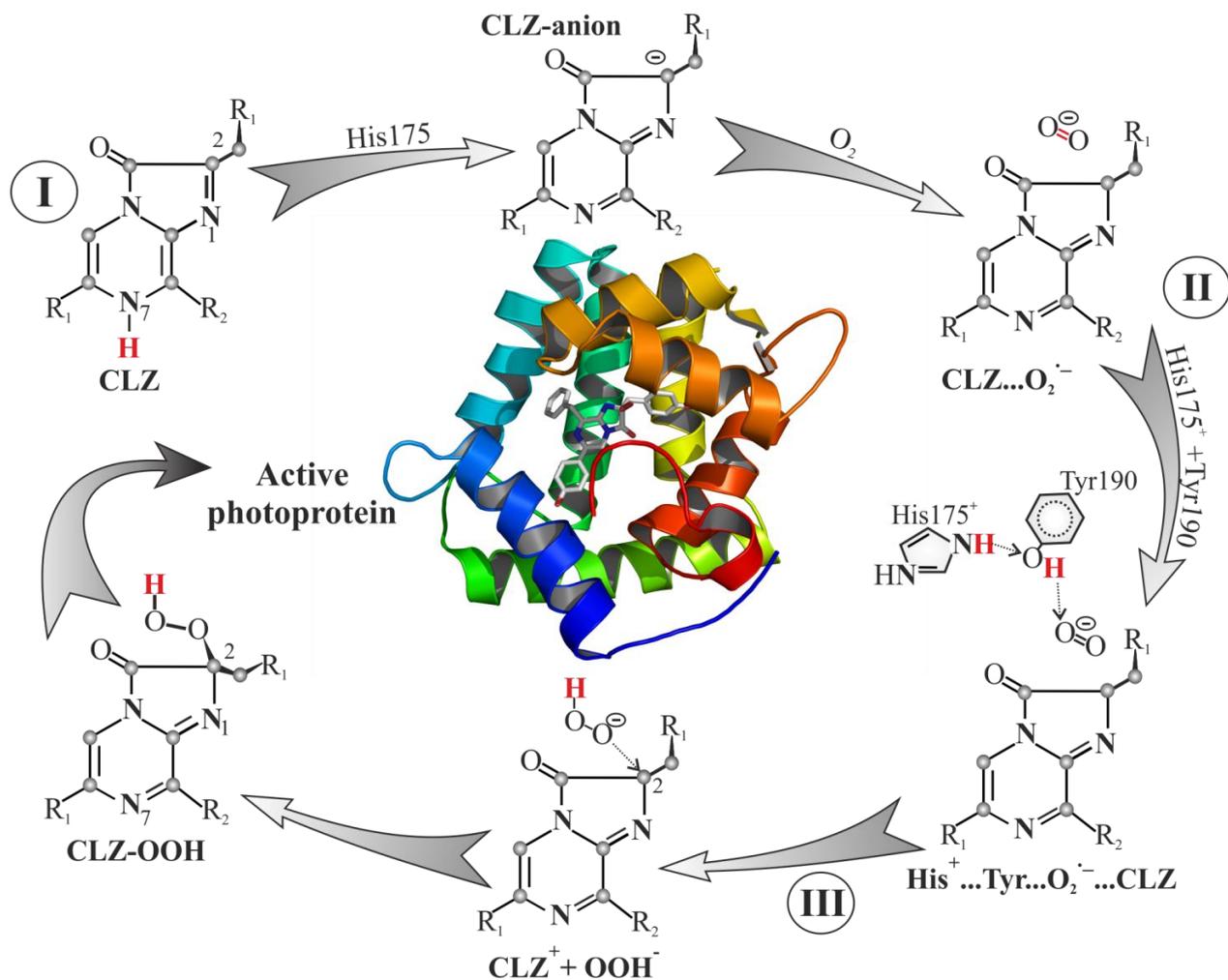


Рисунок 5.13. Схема образования 2-гидропероксицелентеразина в активном центре фотопротеина

Начальное формирование комплекса апобелка с целентеразином происходит в течение миллисекунд. После связывания субстрата образуется анион целентеразина при участии His175, действующего как основание. Следующим шагом является образование анион-радикала кислорода. Этот процесс может занимать десятки минут (рисунок 5.13, I). Затем при участии Tyr190 происходит

передача протона на анион-радикал кислорода с образованием активной частицы  $\text{OON}^-$  (рисунок 5.13, II), которая в свою очередь взаимодействует с субстратом с образованием 2-гидропероксицелентеразина (рисунок 5.13, III), завершая реакцию образования активного фотопротеина.

#### §5.4. СПЕКТРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЦЕЛЕНТЕРАМИДА

Целентерамид представляет собой фотохимически активную молекулу; он может быть донором протонов в своих электронно-возбуждённых состояниях, генерируя несколько форм с разной энергией флуоресцентного состояния [201] и, следовательно, с разным цветом флуоресценции. Химическая структура CLM (нейтральная и ионизированная формы) представлена на рисунке 5.14. Ароматические фрагменты, которые могут участвовать в электронном возбуждении, отмечены здесь буквами F, P и B, соответствующими фенольному, пиразиновому и бензольному кольцам соответственно. На рисунке 5.14 схематически показаны различные энергии флуоресцентных состояний нейтральной и ионизированной (или частично ионизированной) форм CLM. Вклад форм в видимые спектры флуоресценции зависит от эффективности фотохимического процесса (рисунок 5.14) и определяется микроокружением CLM в белках или растворах [209–214].

Первый флуоресцентный белок, содержащий целентерамид, был выделен и изучен профессором Шимомура одновременно с GFP. Он получил название «Голубой флуоресцентный белок» [215]. В отличие от GFP, флуоресцентные белки, содержащие CLM, не нашли широкого применения в биомедицинских исследованиях, и их потенциал в качестве цветных биомаркеров в настоящее время недооценивается. Поскольку биолюминесценция фотобелков зависит от  $\text{Ca}^{2+}$ , она инициируется в биологических жидкостях при физиологических концентрациях кальция. Это основа медико-биологического применения биолюминесценции фотобелка в различных видах диагностики: для контроля содержания  $\text{Ca}^{2+}$ ,

локализации белков в клетках и тканях и др. Кроме того, биолюминесценция фотопротеинов используется в качестве внутриклеточного маркера [216,217]. Это причины для интенсивных исследований механизма биолюминесценции, в том числе формирования эмиттера биолюминесценции. Обелин гидроида *Obelia longissima* в настоящее время интенсивно изучается [218–222]. Созданы генетически модифицированные формы обелина с разной окраской биолюминесценции [223]. Экспериментально продемонстрирована активность верхних электронно-возбуждённых состояний связанного с ферментом CLM в реакции биолюминесценции обелина [224]; обсуждается сходство с процессами возбуждения других светящихся организмов (бактерий и светлячков) [224,225].

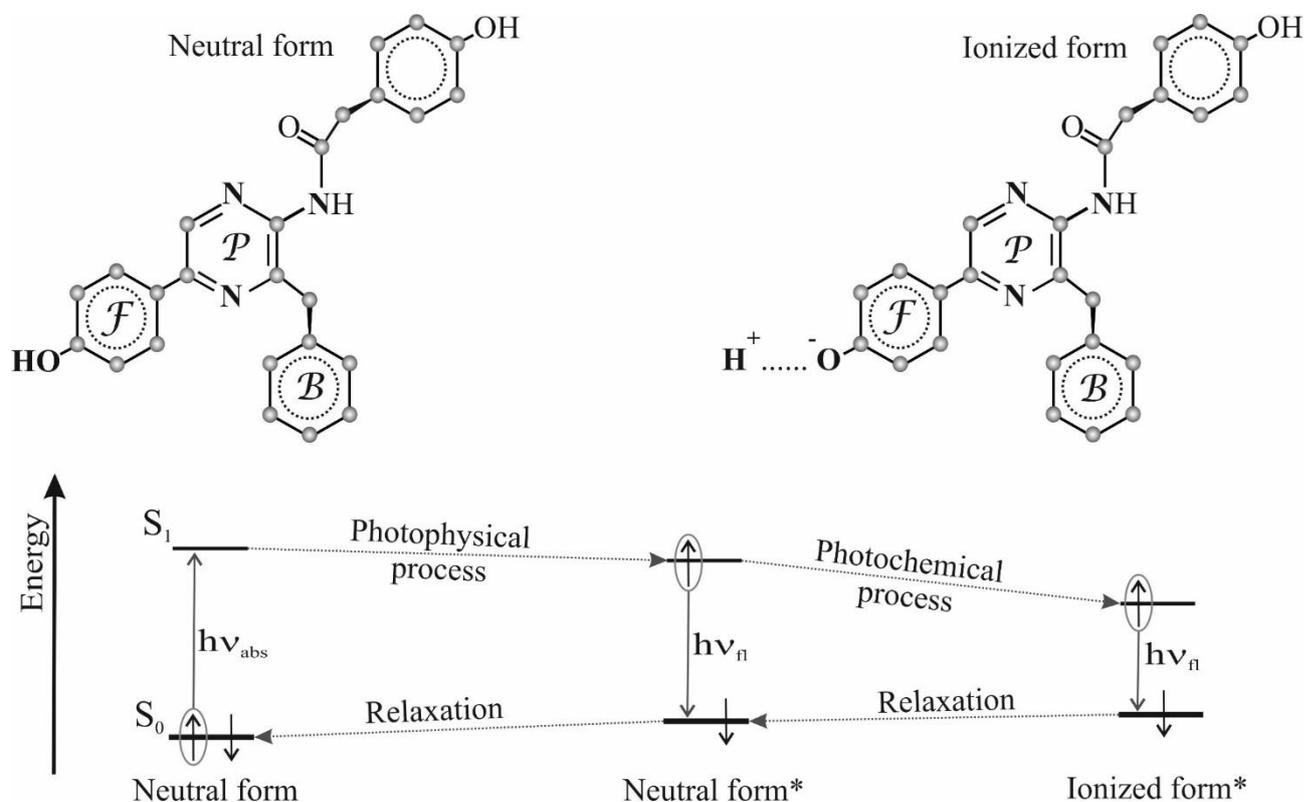


Рисунок 5.14. Схема фотофизических и фотохимических процессов во флуоресцентных белках, содержащих целентерамид. Буквами F, P и B обозначены фенольные, пиразиновые и бензольные кольца соответственно

Продукт биолюминесцентной реакции обелина, «выделенный обелин», белок, содержащий CLM, в настоящее время находится под теоретическим [209–214] и экспериментальным [220,221] вниманием. Эксперименты по флуоресценции с временным разрешением были проведены в [226] для определения характеристик

флуоресценции нейтральной и ионизированной форм выделяемого обелина. Компоненты сложных фотолюминесцентных спектров выделенного обелина и акворина были изучены и отнесены к различным формам СLM [227]; изменения спектрального состава анализировали при изменении концентрации кальция [228], при воздействии более высоких температур [229,230] и экзогенных соединений [231,232]. В [229,232] спектры разряженного обелина анализировали при различных энергиях возбуждения. Было обнаружено, что спектры зависят от длин волн возбуждения: возбуждение с более высокой энергией (260-300 нм) инициирует флуоресценцию не только в видимой области спектра, но и в ближней УФ области. Возникновение этого типа флуоресценции представляет особый интерес. Известно, что слабосопряжённые ароматические структуры ответственны за ближнюю УФ-флуоресценцию. В выделенных фотобелках (белках, содержащих СLM) это могут быть ароматические фрагменты аминокислотных остатков, а также ароматические фрагменты СLM.

В этой части, работа была направлена на характеризацию УФ-флуоресценции разряженных фотобелков и определение фрагментов, ответственных за испускание УФ-излучения. Спектры индуцированной светом флуоресценции трёх разряженных фотобелков (обелина, акворина и клитина) при разных длинах волн возбуждения регистрировались и сравнивались. Спектры флуоресценции СLM в метаноле были измерены и проанализированы, взяв их в качестве флуорофорной модели для СLM-содержащих белков. Квантовохимические расчёты позволили выяснить особенности спектров поглощения и излучения СLM в метаноле и выявить фрагменты молекул, ответственные за УФ-флуоресценцию.

Расчёты проводились с использованием теории функционала плотности в рамках функционала B3LYP с базисом cc-pVDZ в пакете GAMESS как в газовой фазе, так и в растворе метанола. Для моделирования среды метанола использовались две модели: «простая» модель поляризованного континуума (PCM) и альтернативная корректирующая сольватационная модель, основанная на плотности (SMD). Поскольку применение обеих моделей привело только к разнице

в спектрах поглощения и флуоресценции в несколько нанометров, можно было сделать вывод об эквивалентности моделей в выбранных условиях. Результаты для SMD представлены ниже. Спектры поглощения и излучения молекулы целентерамида, по-видимому, существенно зависят от типа возбуждения. Расчёт проводился как для вертикального SMD, так и для адиабатического SMD\* возбуждения. Различия до 7 нм и 15 нм способствуют предпочтению SMD\* для поглощения и излучения соответственно. Структура CLM из фотобелка обелина (код PDB 1S36) была выбрана в качестве начальной геометрии для расчётов, чтобы обеспечить сравнение с целентерамидом, связанным с белком. Геометрия основного состояния целентерамида была полностью оптимизирована в газовой фазе и SMD с использованием B3LYP/сс-pVDZ. Исходя из геометрии наземного равновесия, расчёты спектра поглощения были выполнены с помощью, TD/Газовая фаза или SMD или SMD\*/B3LYP/сс-pVDZ. Геометрия возбуждённого состояния целентерамида была оптимизирована с использованием B3LYP/сс-pVDZ в газовой фазе, SMD и SMD\*. Энергии излучения для этих геометрий были получены методом TD-DFT, также проводили  $\Lambda$ -диагностику. «Лямбда-диагностика» является критерием отделения валентных состояний от состояний с переносом заряда и ридберговских состояний. Малое значение  $\Lambda$  означает дальное действие; большое значение означает короткодействующее возбуждение. Локальные возбуждения имеют относительно большое перекрытие,  $0,45 < \Lambda < 0,89$ , что указывает на то, что занятые и виртуальные орбитали, участвующие в возбуждении, занимают аналогичные области пространства. Этого следовало ожидать для локальных возбуждений, где степень перераспределения заряда мала. Лямбда-диагностика даёт  $0,65 < \Lambda < 0,75$  для всех расчётов. Это указывает на то, что перенос заряда не играет существенной роли в молекуле целентерамида в процессах поглощения и излучения. Общая схема квантово-химических расчётов молекулы целентерамида методом B3LYP/сс-pVDZ представлена на рисунке 1.2.

Рисунок 5.15 демонстрирует, что спектры излучения CLM зависят от возбуждения: возбуждение в нижние электронно-возбуждённые состояния (310-400 нм) инициирует флуоресценцию в видимой области с максимумом 420 нм, а

возбуждение в верхние электронно-возбуждённые состояния (260-300 нм) инициирует дополнительную эмиссию в УФ-А области с максимумом 330 нм.

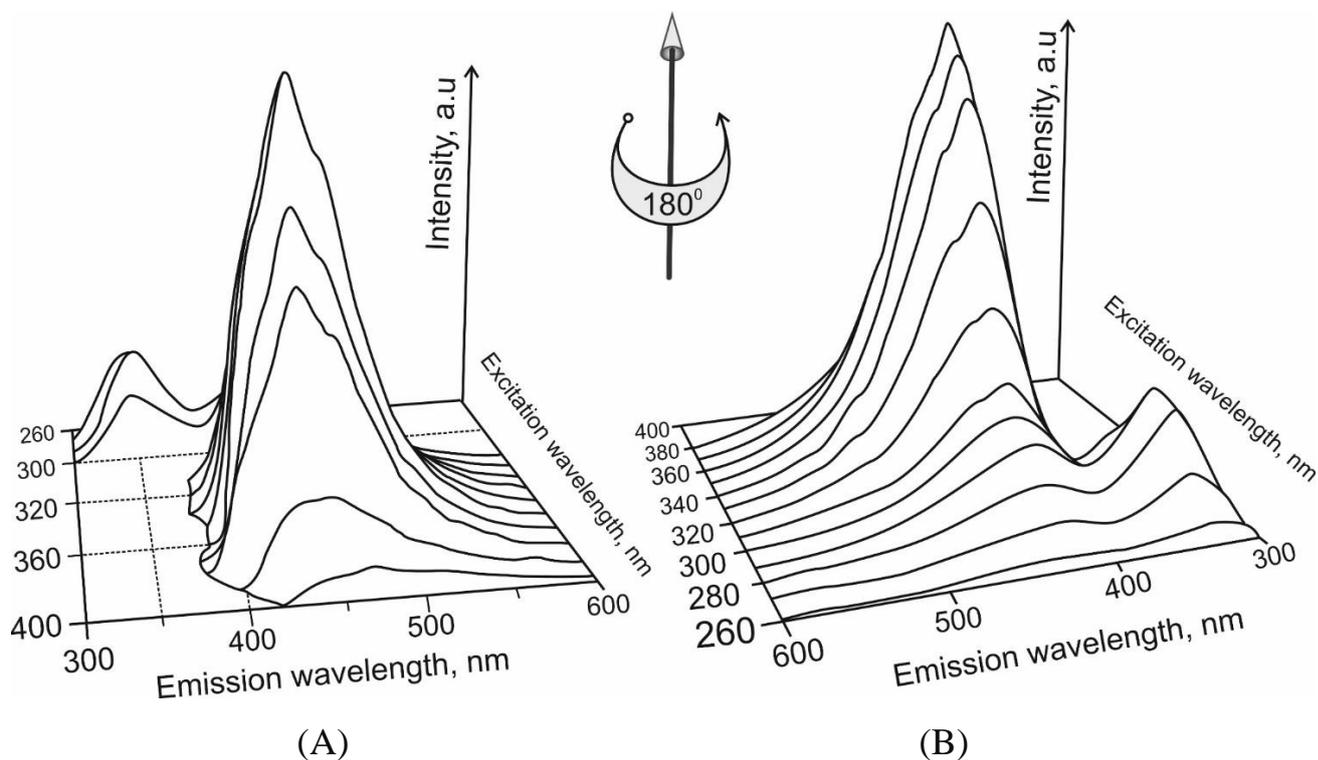


Рисунок 5.15. Флуоресценция целентерамида в метаноле,  $C = 2,2 \cdot 10^{-6}$  М. Вид (А) - 3D-спектры флуоресценции; вид (В) - поворот А на  $180^\circ$

Рисунок 5.16, А показывает, что экспериментальные и теоретические спектры поглощения СLM в метаноле близки: их максимумы составляют 277, 295 и 332 нм против 264, 293 и 332 нм для экспериментов и расчётов. Максимумы совпадают с определенными ранее в [233]. Напротив, экспериментальный и теоретический спектры флуоресценции СLM разошлись: их максимумы составляют 330 и 420 нм против 318 и 397 нм соответственно (рисунок 5.16, В). Это расхождение между предсказанными и экспериментальными значениями следует из неполноценности теоретической модели, которая не учитывает растворитель явно. Максимум флуоресценции СLM в видимой области (420 нм, рисунок 5.16, В) можно сравнить с максимумом флуоресценции нейтральной формы СLM, связанной с белком. При возбуждении с более высокой энергией (280 нм, рисунок 5.16, В) наблюдается пик ближнего УФ-А (330 нм), аналогичный флуоресценции фотобелка.

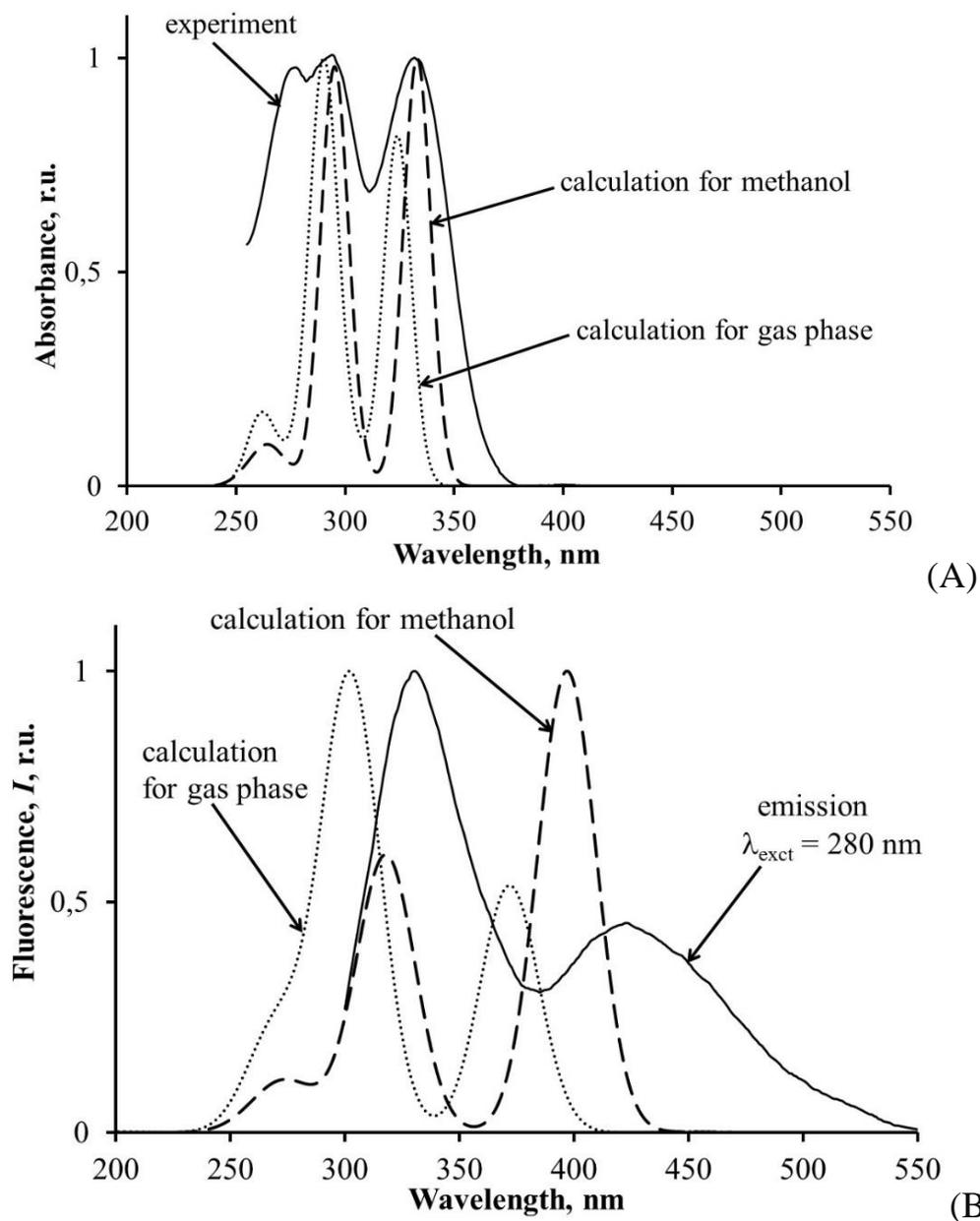


Рисунок 5.16. Экспериментальные и теоретические спектры поглощения (А) и флуоресценции (В) целентерамида.  $C_{\text{CLM}}=2,2 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ , метанол

Описание электронных переходов в молекуле CLM и молекулярных орбиталей CLM, участвующих в процессе возбуждения, дано на рисунке 5.17. На этом рисунке показано, что длинноволновый (397 нм) пик образован избирательным переходом между НВМО и ВЗМО. Коротковолновый пик с максимумом 318 сложен; он включает три перехода от LUMO + 1 к: НОМО, НОМО-2 и НОМО-3 (рисунок 5.17). Коротковолновый флуоресцентный пик свободной CLM (318 нм в предсказанной модели и 330 нм в эксперименте (рисунок 5.16, В), а также его электронные переходы (рисунок 5.17) были описаны впервые.

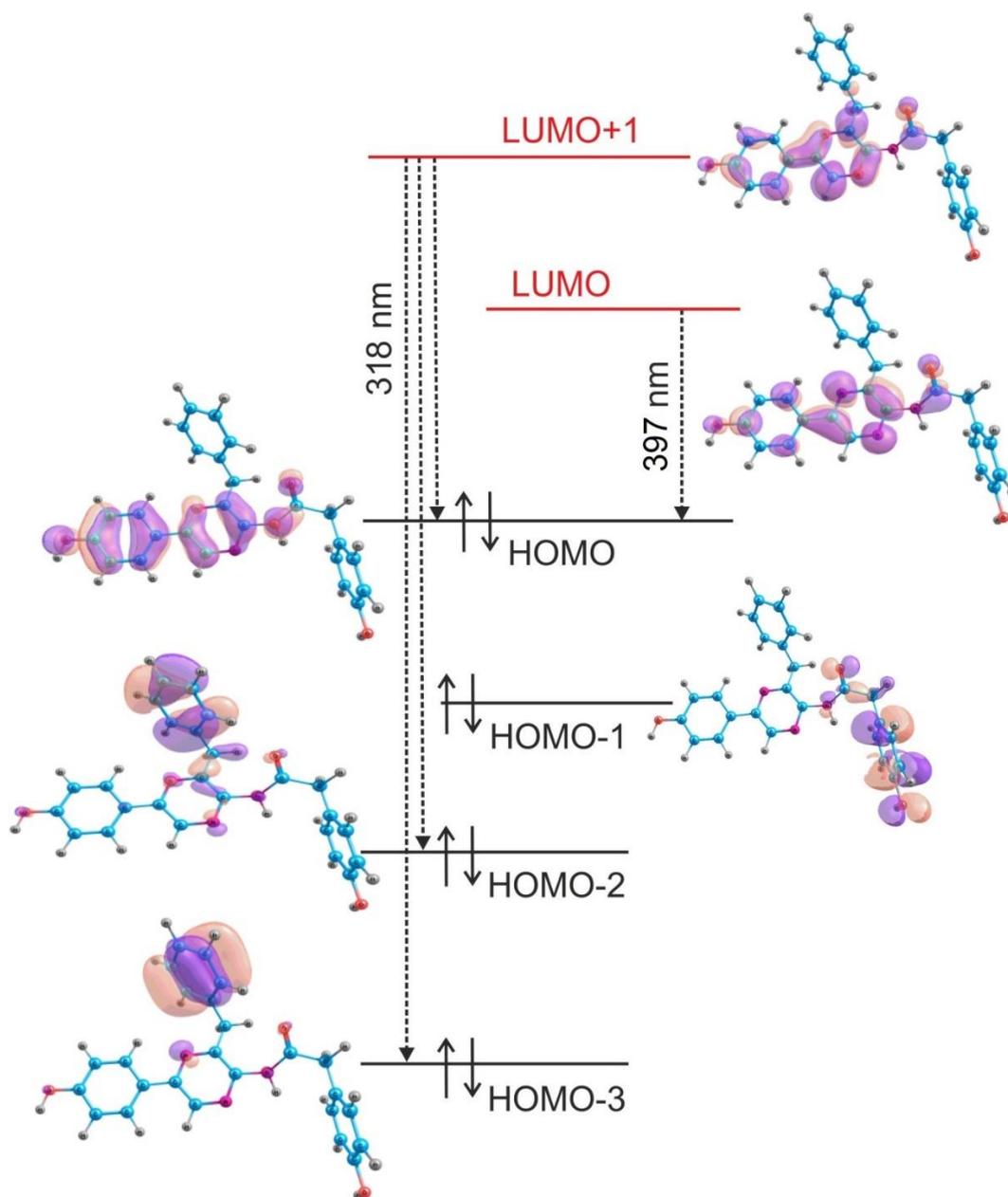


Рисунок 5.17. Схема электронных переходов целентерамида и молекулярных орбиталей, участвующих в флуоресценции. Расчёт по SMD\*/TD/B3LYP/cc-pVDZ

В предыдущих исследованиях [209,213] рассматривалась только видимая флуоресценция CLM. Они обнаружили, что видимая флуоресценция представляет собой комбинацию излучений нейтральной и ионизированной форм CLM, причём первая включает электронные переходы  $LUMO \rightarrow HOMO$  и  $LUMO \rightarrow HOMO-1$ , а вторая - электронные переходы  $LUMO \rightarrow HOMO$  и  $LUMO + 1 \rightarrow HOMO$ . Все молекулярные орбитали, участвующие в электронных переходах, локализованы на пиразиновом, фенольном и бензольном фрагментах молекулы CLM (рисунок 5.17). Эти фрагменты обозначены буквами P, F и B на рисунок 5.14. Вероятно,

аналогичные электронные переходы вносят вклад в УФ-флуоресценцию разряженных фотобелков.

Можно констатировать что фотовозбуждение в верхние электронно-возбуждённые состояния CLM-содержащих флуоресцентных белков (разряженных фотопротеинов обелина, акворина и клитина) инициирует эмиссию в ближней УФ-области в дополнение к видимой сине-зелёной флуоресценции. Обнаружено, что нейтральная форма CLM, флуорофор белков, может способствовать этой УФ-флуоресценции. Были проведены экспериментальные и теоретические исследования для характеристики УФ-флуоресценции CLM. Вероятно, что не только нейтральная форма CLM, но и ионизированная форма CLM, наряду с низкосопряжёнными ароматическими структурами аминокислотных остатков белка, могут вносить вклад в УФ-флуоресценцию разряженных фотопротеинов. Эта может служить основой для дальнейших исследований белок-целентерамидных взаимодействий во флуоресцентных белках. В целом, это способствует получению знаний о переносе внутренней энергии в биологических структурах – комплексах белков с легковесными ароматическими молекулами. Особый интерес представляет миграция энергии с участием верхних электронно-возбуждённых состояний в биологических процессах.

## §5.5. ВЫВОДЫ

Построена физическая модель флуоресценции фотопротеина обелина, в которой рассчитаны электронные структуры молекул целентерамида в основном и возбуждённых состояниях с учётом электронных корреляций методом конфигурационного взаимодействия. Рассмотрено пять возможных вариантов возбуждённых состояний целентерамида в процессе флуоресценции. Показано, что экспериментально наблюдаемая длина волны излучения 500 нм соответствует «комплексу с переносом протона» между кислородом целентерамида и гистидином His22.

В главе исследуются недавно обнаруженные спектральные характеристики целентерамидсодержащих белков – выделенных фотобелков обелина, акворина и клитина. Обнаружено, что фотовозбуждение в верхние электронно-возбуждённые состояния (260–300 нм) вызывает дополнительную (к сине-зелёной) флуоресценцию в ближней УФ-области. Было продемонстрировано, что нейтральная форма целентерамида, флуорофор белков, может способствовать этой УФ-флуоресценции. Были предоставлены теоретические исследования в сравнении с экспериментальными для характеристики УФ-флуоресценции целентерамида в метаноле.

В работе принимали участие Л.Ю. Антипина, А.А. Кузубов, А.В. Рогова, П.В. Аврамов, С.Г. Овчинников. Эксперименты были проведены в Лаборатории фотобиологии Института биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН по общим руководством заведующего лабораторией Е.С. Высоцкого. Спектральные характеристики целентерамида были определены в Лаборатории фотобиологии Института биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН под общим руководством Н.С. Кудряшовой.

## ГЛАВА 6. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОПОЛИМЕРОВ НА ОСНОВЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

### §6.1. АПТАМЕРЫ И ИХ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ

В настоящее время в медицине существует задача разработки новых технологий диагностики и терапии различных заболеваний. Исследование нуклеиновых кислот РНК и ДНК в качестве аптамеров, направленно на решение этих задач. По большинству своих характеристик аптамеры являются хорошей альтернативой антителам, так как они способны специфично связываться с важными участками молекул – мишеней. В силу своей природы аптамеры, в первую очередь, нашли своё применение в исследованиях взаимодействий с белками.

Нуклеиновые кислоты – биологические полимерные молекулы, хранящие всю информацию и передаваемые следующему поколению. Существует два типа нуклеиновых кислот: дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) и рибонуклеиновая кислота (РНК), состоящие соответственно из мономеров дезоксирибонуклеотидов и рибонуклеотидов [234]. Полимер ДНК обладает довольно сложной структурой. Нуклеотиды соединены между собой в длинные полинуклеотидные цепи. Эти цепи попарно объединяются во вторичную структуру, спиралевидной формы, по принципу комплементарности. Такая форма обусловлена стягивающими водородными связями между горизонтально взаимодействующих азотсодержащих гетероциклов. Также взаимодействия происходят между уложенными одно над другим основаниями – стэкинг-взаимодействие, которое обусловлено в основном дисперсионными лондонскими силами и гидрофобными эффектами. Пары, связанные водородными связями, жёстко определены: фрагмент (А) всегда взаимодействует с (Т), а фрагмент (G) – всегда с (C). Цепи ДНК имеют определенную направленность. Эти две цепи закручены одна вокруг другой определенным образом. В природе эта спираль, чаще всего, правозакрученная. Направления от 3'-конца к 5'-концу в двух цепях, из которых состоит молекула ДНК, противоположны (цепи «антипараллельны» друг другу). Существует три

основных конформационных состояний двухцепочечной ДНК (А, В- и Z-ДНК) [235,236].

У всех живых организмов двуспиральные молекулы ДНК плотно упакованы с образованием сложных трёхмерных структур. Третичная структура ДНК формируется в результате её взаимодействия с различными веществами в растворе под влиянием большого количества факторов.

Структурные формы ДНК зависят от насыщения водой молекулы нуклеиновой кислоты. Молекула ДНК высокой влажности получила название В-формы. При физиологических условиях (низкая концентрация соли, высокая степень гидратации) доминирующим структурным типом ДНК является В-форма. Молекула ДНК более низкой влажности получила название А-формы. А-форма образуется в условиях менее высокой гидратации и при более высоком содержании ионов  $\text{Na}^+$  или  $\text{K}^+$ , имеет 11 пар на виток. Плоскости азотистых оснований имеют более сильный наклон к оси спирали, они отклонены от нормали к оси спирали на  $20^\circ$ . А-ДНК отличается по своей структуре от уотсон-криковской В-ДНК. Пары оснований в А-форме очень сильно отодвинуты от оси спирали к периферии молекулы – почти на половину радиуса; сдвиг достигает 4-5 Å. В В-ДНК он близок к нулю, поэтому А-ДНК при взгляде сверху (вдоль оси спирали) выглядит как труба. Столь яркое различие В- и А-форм не позволяет считать А-форму некоторым искажением В-формы. Тепловое движение при физиологических температурах приводит к флуктуациям угла закрутки двойной спирали на  $5^\circ$ , что приводит к большому семейству А и В форм. Это меняет представление о двойной спирали ДНК как о жёсткой структуре, содержащей 10 пар на виток в В-форме и 11 пар в А-форме [235,236].

К неканоническим структурным элементам ДНК можно отнести необычные структуры, ограниченные какими-то специальными последовательностями:

1. Z-форма ДНК - образуется в местах В-формы ДНК, где пурины чередуются с пиримидинами или в повторах, содержащих метилированный цитозин.

2. Палиндромы - последовательности-перевёртыши, инвертированные повторы последовательностей оснований, имеющие симметрию второго порядка относительно двух цепей ДНК и образующие «шпильки», и «кресты».
3. Н-форма ДНК и тройные спирали ДНК - образуются при наличии в одной цепи нормального Уотсон-Криковского дуплекса участка, содержащего только пурины, и во второй цепи, соответственно, комплементарные им пиримидины.
4. G-квадруплекс (G-4) – четырёх цепочечная спираль ДНК, где 4 гуаниновых основания из разных цепей образуют G-квартеты (G-тетрады), скреплённые водородными связями с образованием G-квадруплексов.

Одно из перспективных прикладных направлений исследований нуклеиновых кислот направлено на применение молекул РНК и ДНК в качестве аптамеров – молекул, способных специфично связываться с молекулой-мишенью, выполняя таким образом функции лигандов или рецепторов [237–239]. Олигонуклеотидные аптамеры с требуемыми свойствами выделяют из библиотек случайных последовательностей методами селекции *in vitro* с помощью методики SELEX (systematic evolution of ligands by exponential enrichment) [240–242]. Эта методика основана на экспоненциальном обогащении потенциальных лигандов из библиотеки случайных последовательностей синтетической РНК или ДНК. Для отбора оптимальной последовательности аптамера синтетическую смесь олигонуклеотидов (библиотеку) инкубируют совместно с интересующей молекулярной мишенью. При этом олигонуклеотиды, не способные взаимодействовать с мишенью, отмываются, в то время как олигонуклеотиды, способные к специфичному взаимодействию – амплифицируются. Процедуру повторяют несколько раз и в результате становится возможным получить смесь, содержащую небольшое количество олигонуклеотидов обладающих высоким сродством к интересующей мишени. После завершения обогащения библиотеки остаётся лишь определить нуклеотидные последовательности отобранных олигонуклеотидов и синтезировать их в количествах необходимых для проведения функциональных тестов [243,244].

Аптамеры являются одним из наиболее перспективных современных инструментов высокочувствительной экспресс-диагностики. К преимуществам аптамеров по сравнению с антителами можно отнести дешевизну химического синтеза, простоту введения широкого спектра меток и функциональных групп непосредственно при синтезе, отсутствие падения аффинности за счёт необратимой денатурации активных структур, возможность использования внутренних особенностей структуры самого аптамера для создания, например, флюоресцентного репортёра, изменяющего интенсивность флюоресценции при взаимодействии с мишенью [245,246], высокую по сравнению с антителами плотность иммобилизации в ориентированном положении на твёрдой фазе и целый ряд других свойств [247]. В отличие от антител аптамеры можно получить к полностью неиммуногенным мишеням и даже к малым, повсеместно встречающимся молекулам, например к АТФ [248]. Для получения и производства аптамеров не нужны живые системы. Небольшая молекулярная масса и отсутствие протяжённых участков, не входящих в связывающий центр аптамеров, снижают вероятность их неспецифического взаимодействия с различными молекулами по сравнению с таковой для антител. Стоимость синтеза аптамеров и сайт-направленного введения в эти молекулы различных меток намного ниже стоимости производства и модификации антител. Чувствительность аптамеров к нуклеазам блокируется химическими модификациями в процессе синтеза [249].

У аптамеров выявлены типичные виды их структур. Вторичные структуры: k-turn (к-поворот), stem-loop (стебель-петля), pseudoknot motifs (псевдоузловые петли), также формируются и третичные структуры: coaxial stacking (коаксальная укладка) и G-quadruplexes (квадруплексы) (рисунок 6.1). Структура к-поворота содержит трёхнуклеотидную выпуклость, окружённый комплементарными частями [250]. Петли являются наиболее распространёнными структурами аптамеров, которые стабилизируются при взаимодействии с белком петлевой частью [251]. Структура псевдоузловых петель более сложна, поскольку они содержат два вложенных элемента штока. Поскольку половина одного стебля интеркалируется между двумя половинами другого стебля, создаётся чёткая

третичная структура. Кроме того, богатые гуанином аптамерные последовательности способны образовывать высшие упорядоченные структуры, называемые G-квадруplexами. В центре квадруplexной структуры могут быть включены одновалентные или двухвалентные катионы, которые стабилизируют трёхмерную (3D)-структуру посредством электростатических взаимодействий. Из-за различных стерических требований эффективная квадруplexная геометрия зависит от ионной идентичности [252,253].

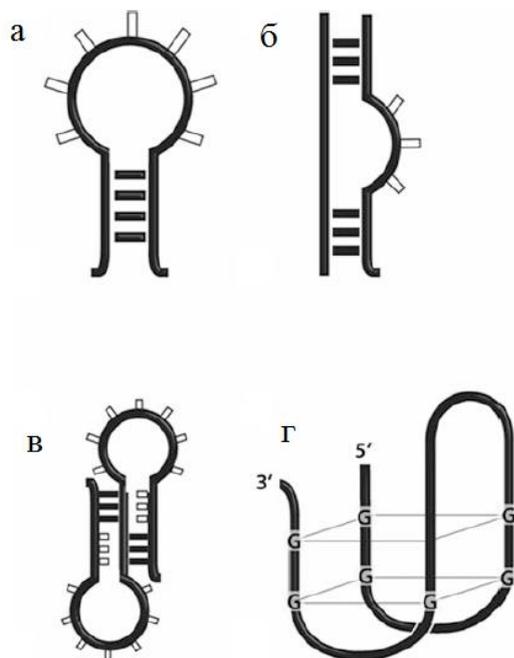


Рисунок 6.1. Типичные структуры аптамеров. а) stem-loop (стебель-петля, шпилька); б) k-turn (к-поворот); в) pseudoknot motifs (псевдоузловые петли); г) G-quadruplexes (квадруplexы) [250]

Малоугловое рассеяние (МУРР) рентгеновских лучей, электронов и тепловых нейтронов являются дифракционными методами исследования структуры вещества при субмолекулярном разрешении. Основная задача МУРР – определение структуры или отдельных структурных параметров рассеивающего объекта по картине интенсивности. Он используется для исследования надатомной структуры вещества, при анализе структуры дисперсных систем, в молекулярной биологии, биофизике и других областях науки и техники. Принципиальная схема установки малоуглового рассеяния представлена на рисунке 6.2 [254–256].

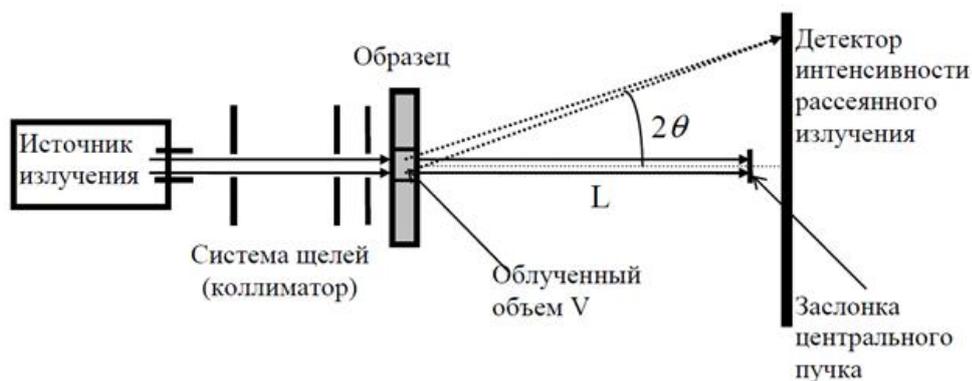


Рисунок 6.2. – схема установки малоуглового рассеяния.  $2\theta$  – угол рассеяния,  $L$  – расстояние от образца до детектора

Для биологических макромолекул, разбавленных в растворе, экспериментальная интенсивность МУРР пропорциональна усреднённой по всем ориентациям интенсивности рассеяния одной частицы и, следовательно, несёт в себе информацию о её надатомной структуре. Хаотическая ориентация частиц в растворе, однако, приводит к существенной потере структурной информации по сравнению с изучением макромолекулярных кристаллов: вместо двумерной дифракционной картины рефлексов в МУРР измеряют одномерную кривую интенсивности рассеяния. В общем случае однозначное восстановление структуры трехмерного объекта (частицы) по одномерной кривой МУРР невозможно. Неоднозначность интерпретации может быть существенно уменьшена наложением ограничений на искомую структуру (например, условия симметричности частицы или её однородности, поиск структуры только низкого разрешения), а также выбором математического аппарата, позволяющего адекватно описывать строение объекта как можно меньшим числом параметров. Это даёт возможность разработки прямых методов анализа, один из которых метод виртуальных атомов, используемый для обработки результатов МУРР основан на моделировании структуры шариками нужной плотности и определении их пространственных отклонений между экспериментальной и теоретической кривыми рассеяния [254–256].

## §6.2. АПТАМЕР RE-31

Аптамеры представляют собой синтетические РНК или ДНК-олигонуклеотидные лиганды, способные узнавать другие молекулы и даже проявлять каталитическую активность. Взаимодействия аптамер-мишень зависят от трёхмерной (3D) структуры аптамера, распределения их зарядов и количества его связывающего партнёра. Различные структурные элементы, такие как шпильки, выпуклости, псевдоузлы и G-квадруплексы [257], обеспечивают взаимодействие аптамеров со своими мишенями посредством водородных связей, гидрофобных взаимодействий, ван-дер-ваальсовых взаимодействий и ароматического стэкинга [258]. Аптамеры используются в большом количестве биосенсоров [259–265] и терапевтических средствах [262,266–268]. Связывание аптамера зависит от его трёхмерной структуры. Проблема в том, что трёхмерная структура аптамера не может быть напрямую экстраполирована из его нуклеотидной последовательности или его вторичной структуры. Чтобы понять молекулярную основу образования комплекса, знание о пространственной конформации основного аптамера очень желательно, но часто недоступно из-за ограничений аналитических методов структурного анализа. В настоящее время наиболее распространённые методы определения структур нуклеиновых кислот включают спектроскопию ядерного магнитного резонанса (ЯМР) [269–272], малоугловое рентгеновское рассеяние (МУРР) [273] [254], круговой дихроизм (КД) [274], флуоресцентный резонансный перенос энергии (FRET) [275] и криогенная электронная микроскопия [276,277].

Наиболее точным методом является рентгеноструктурный кристаллографический анализ [278]. Однако этот метод обеспечивает только статическую картину конформации одного олигонуклеотида в твёрдом состоянии, тогда как ЯМР, МУРР, FRET и КД могут исследовать динамические изменения конфигурации в растворе в более физиологически релевантных условиях. ЯМР обнаруживает конформации аптамера в растворе с атомным разрешением, но этот метод обычно ограничивается небольшими биомолекулами (<30-40 кДа). В качестве альтернативы FRET может измерять только относительное расстояние

между флуоресцентно меченными нуклеотидами и не показывает структуру всей молекулы [279]. Кроме того, флуоресцентное мечение нуклеиновой кислоты влияет на её трёхмерную структуру. Спектроскопия КД идеально подходит для отслеживания конформационных переходов между дискретными мотивами нуклеиновых кислот (G – квадруплексы, A, B, Z - формы и др.) [280]. КД используется как дополнительный метод к ЯМР-спектроскопии и МУРР, поскольку он не требует какого-либо мечения [274]. Крио-ЕМ по-прежнему имеет самый низкий предел определения молекулярной массы (>60 кДа) [256].

МУРР представляет собой мощный метод определения структуры биомолекул в растворе, а также их структур более высокого порядка, если известны исходные составляющие [254–256]. МУРР имеет ряд преимуществ перед другими структурными методами, включая минимальное время подготовки образца, анализ отдельных макромолекул или их комплексов в растворах в физиологических условиях или при любой требуемой температуре, pH и буфере, а также быстрый сбор и обработку данных [281].

Для восстановления структуры аптамера применили четыре шага для поиска и корректировки трёхмерной структуры тромбин связывающего аптамера (RE-31) в растворе на основе молекулярного моделирования в соответствии с его нуклеотидной последовательностью и экспериментов с МУРР (рисунок 6.3).

Восстановление молекулярной структуры проводили в четыре этапа. Молекулярное моделирование аптамера RE-31 проводили в соответствии с последовательностью на основе экспериментальных данных МУРР с использованием программы Avogadro [23]. Полученная атомная структура во всех трёх проекциях сравнивалась с экспериментальной моделью, полученной из малоуглового рассеяния [282]. Геометрия структуры аптамера оптимизирована полуэмпирическим квантово-химическим методом на основе MOPAC2016. Атомная структура белка с аптамером взята с базы данных белков (Protein Data Bank код 3QLP).

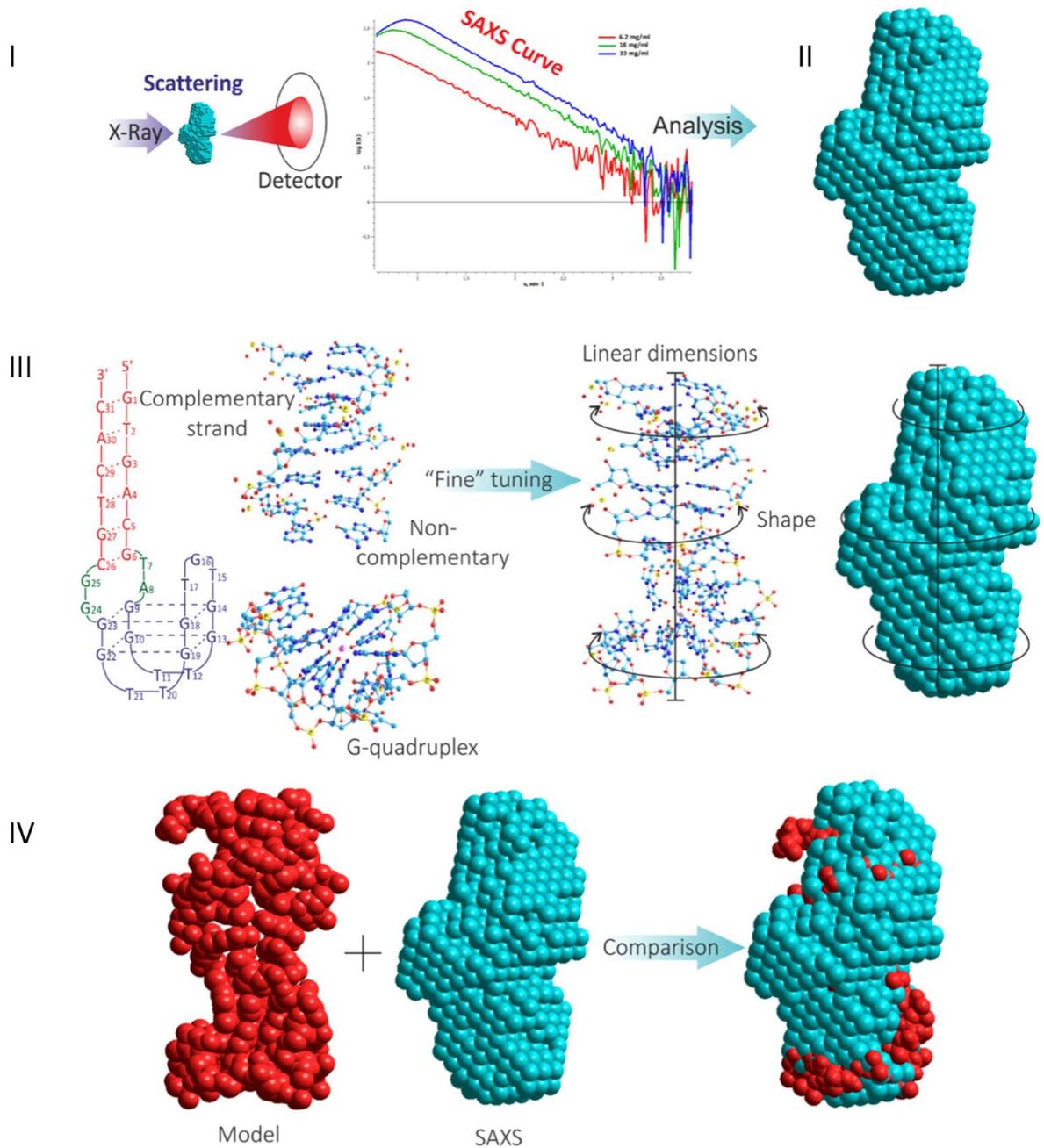


Рисунок 6.3. Общая схема нахождения трёхмерной атомной структуры аптамера на основе МУРР путём восстановления молекулярной структуры (MSR). (I) – получение экспериментальных данных МУРР для аптамера в растворе, (II) – построение пространственного распределения электронной плотности молекулы с использованием результатов МУРР, (III) – построение трёхмерной атомной структуры аптамера на основе его первичной нуклеотидной последовательности и вторичной структуры, и (IV) – сравнение и уточнение смоделированных трёхмерных структур со стандартной моделью МУРР (красный цвет, из молекулярного моделирования; бирюзовый цвет, из данных МУРР)

На первом шаге были получены результаты экспериментов МУРР (рисунок 6.3, I). Следом на втором шаге производилось моделирование МУРР с целью получения объёмной шариковой структуры молекулы RE-31 (рисунок 6.3, II). На третьем шаге совершалось восстановление молекулярной структуры RE31 в соответствии с его первичной последовательностью и экспериментальными данными по малоугловому рассеянию (рисунок 6.3, III). Первичная последовательность RE-31 использовалась для предсказания вторичной структуры с помощью веб-сервера Mfold [283] на основе методов минимизации свободной энергии. Аптамер был разделён на три структурные части, и их расположение в пространстве варьировалось относительно друг друга в соответствии с экспериментальными данными. Первая структурная часть – это G-квадруплекс со следующей последовательностью GGTTGGTGTGGTTGG. Это хорошо известный 15-нуклеотидный тромбин-связывающий аптамер (15ТВА), образованный двумя тетрадами четырёх гуанинов в классической конформации *anti-syn-anti-syn* и расположенным в центре ионом калия [284]. Рентгенологические данные комплекса тромбина с аптамером 15ТВА были описаны ранее группой Тулинского [285]. G-квадруплекс состоит из двух уложенных друг на друга плоских G-квартетов (G-стебель), которые связаны с тремя боковыми петлями. Каждый G-квартет связан восемью водородными связями. Согласно данным РСА, 15ТВА связывается с тромбином, охватывая выступающую область экзосайта I через их ТТ-петли [286,287]. Вторая структурная часть RE-31 – двуцепочечная. Это правая спираль типа В. Третья структурная часть состоит из четырёх комплементарных нуклеотидов Т-G и А-G (рисунок 6.3, III).

На четвёртом этапе было проведено молекулярное моделирование для построения исходной геометрии молекул аптамера. Полученная атомная структура сравнивалась с экспериментальной формой, полученной методом малоуглового рассеяния. На этом этапе основной целью было определение линейных размеров молекул во всех трёх проекциях, в то время как добиться идеального совпадения в мельчайших деталях было сложно. Поскольку ДНК является хиральной молекулой, возможны различные варианты локального скручивания аптамера. Наибольшие

трудности возникают в отношении некоМПлементарных нуклеотидов, так как они имеют большое количество возможных положений. Сначала была построена модель, в которой основные атомы азота ориентированы в разные стороны. Однако такая структура не соответствует объёму фигуры, полученной из эксперимента. Чтобы модель соответствовала экспериментальной фигуре, нуклеотиды, составляющие двойную цепь, были скручены, как двойная спираль. Таким образом, мы добились максимального совпадения с экспериментальной формой. Поэтому на этом этапе выполнялось локальное скручивание нуклеотидов для получения наилучшего возможного совпадения с особенностями экспериментальной фигуры (рисунок 6.3, IV).

Смоделированная молекула аптамера должна соответствовать линейным размерам, полученным в результате анализа кривой МУРР. Линейные размеры из МУРР хорошо соответствуют линейным размерам построенной 3D-модели (рисунок 6.3, III). Более того, даже при существующих линейных размерах можно моделировать большое количество конформаций. На втором этапе теоретического моделирования необходимо обеспечить, чтобы построенная теоретическая модель учитывала особенности «рельефа» экспериментально полученной формы (эти формы имеют сложную топологию). Таким образом, на этапе «точной настройки» мы достигли (за счёт незначительных поворотов вокруг сигма-связей) наиболее полного соответствия теоретической модели экспериментальному объёму. После изменения теоретической геометрии молекулы в соответствии с формой электронной плотности строилась кривая МУРР по теоретической молекуле в сравнении с экспериментальной кривой, таким образом, проверялось соответствие модели эксперименту.

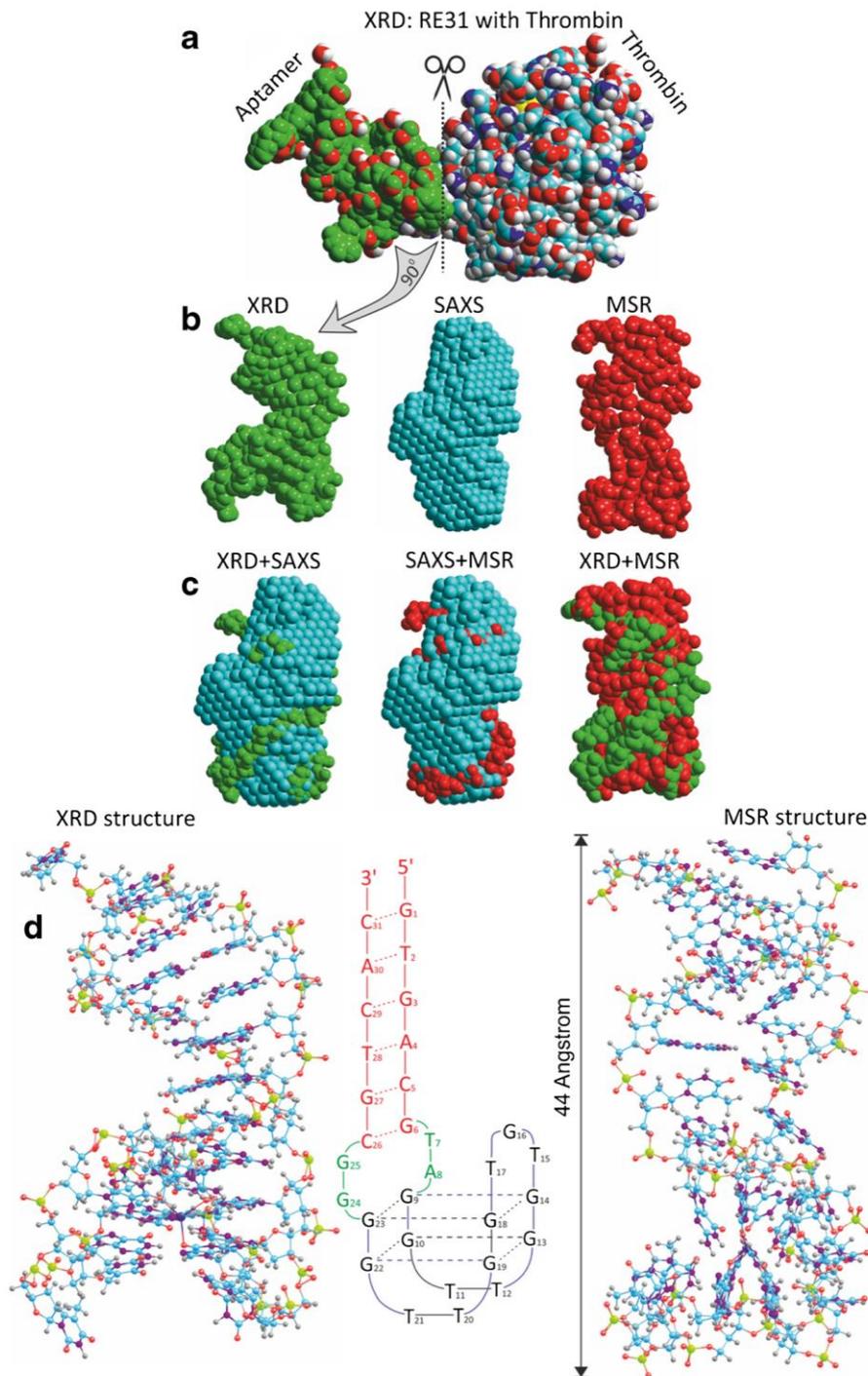


Рисунок 6.4. Сравнение структур аптамера RE-31, полученного разными методами. а) RE-31 – тромбиновый комплекс по данным PCA. б) Структуры аптамеров, полученные методом PCA, в зелёном цвете, SAXS – в бирюзовом цвете, MSR – в красном. в) Сравнение структур, полученных разными методами. д) Структуры RE31 для анализа XRD и MSR. Между ними расположена вторичная структура RE31, разделённая на три цветные части; красный – дуплекс В-формы; зелёный – некомплементарная часть; синий – G-квадруплекс

На рисунке 6.4 показана структура RE-31, полученная тремя разными способами. На верхнем изображении (рисунок 6.4, а) показано связывание аптамера с тромбином, выявленное методом PCA [288]. На рисунке 6.4, б показан аптамер, полученный с помощью PCA, МУРР и MSR. Сопоставимые конформации аптамера, полученные методом МУРР в растворе с PCA из кристаллической формы с тромбином и MSR, показали хорошее совпадение (рисунок 6.4, с). В обоих случаях основное различие состоит в квадруплексе аптамера, который действует как сайт связывания тромбина. Ранее было показано, что RE-31 образует специфический комплекс с тромбином [288]. Различия между структурой аптамера до и после добавления белка можно интерпретировать как индуцированную модель соответствия, когда аптамер меняет свою форму при связывании. Рисунок 6.4, д показывает строение RE-31 на основе PCA анализа и MSR. Связь между концевыми нуклеотидами (G1 и C31) гибкая. Дуплексная часть и некомплементарная область между квадруплексом и дуплексом не статичны, а достаточно гибки.

Подводя итоги, можно заключить что одной из задач в понимании работы аптамеров является восстановление трёхмерной молекулярной структуры аптамера из экспериментов МУРР, полученных в растворе. Метод МУРР даёт форму молекулы, но не атомную структуру аптамера. Для решения этой проблемы мы использовали программу Avogadro. При построении молекулы используются длины связей и углы между атомами. В первом приближении целесообразно использовать методы молекулярной динамики и/или полуэмпирические методы квантовой химии, поскольку они позволяют получить геометрию молекулы за разумное время. Поэтому метод РМ6 был использован в качестве вспомогательного метода для быстрого получения длин связей и углов внутри молекулы аптамера. Следовательно, ни рН, ни другие параметры растворителя не были приняты во внимание (поскольку наша задача – получить теоретическую 3D-модель в соответствии с экспериментами МУРР). Тем не менее, существует несколько ограничений для эффективности МУРР. Во-первых, молекула в растворе должна существовать в единой конформации. Таким образом, измерение длинных олигонуклеотидов (>150 нуклеотидов) может быть затруднено из-за

интерференции множества структур. Подход, основанный на МУРР, позволяет находить трёхмерную структуру аптамеров в растворе без кристаллизации, необходимой для дифракции рентгеновских лучей, что не даёт надёжной информации о структуре таких гибких молекул, как нуклеиновые кислоты, в растворе. Успех предлагаемого подхода во многом зависит от знаний о первичной структуре ДНК. В общем, подход, описанный здесь, воссоздаёт исходную структуру для определения актуальной структуры. Этот способ в дальнейшем может быть применён для нахождения трёхмерных структур аптамеров, ДНК энзимов и рибозимов и может предоставить новые возможности для разработки функциональных нуклеиновых кислот.

По отработанной технологии построения аптамеров смоделировали аптамеры CLN0003 и CLN0004 и сделали молекулярный докинг комплексов С-Met-аптамер (рисунок 6.5, а). Моделирование вторичной структуры было выполнено с использованием веб-сервера Mfold [283] для предсказания сворачивания нуклеиновых кислот и гибридизации. Структуры аптамеров CLN0003 и CLN0004 были построены программой Avogadro [23] на основе заданной последовательности для CLN0003 – 5'-GGA GGG AAA AGT TAT CAG GCT GGA TGG TAG CTC GGT CGG GGT GGG TGG GTT GGC AAG TCT-3' и для CLN0004 – 5'-GAG TGC СТА ATG GTA CGA TTT GGG AAG TGG СТТ GGG GTG GGA ТТА GTT GAG ТАС TCG СТС-3'. Далее структурные модели были оптимизированы с использованием метода молекулярных орбиталей фрагментов (FMO) на уровне двухчастичного расширения FMO2/DFTB3 [289–292] в рамках программы GAMESS. Докинг и исследования ориентации и сайтов связывания комплексов аптамер-С-Met проводили с помощью программы AutoDock4.0 ([www.autodock.scripps.edu](http://www.autodock.scripps.edu)). Выбранные структуры с самой низкой энергией стыковки аптамера показаны на рисунке 6.5, b. Лиганды представлены в виде синих структур, а ДНК-аптамер – в виде зелёных.

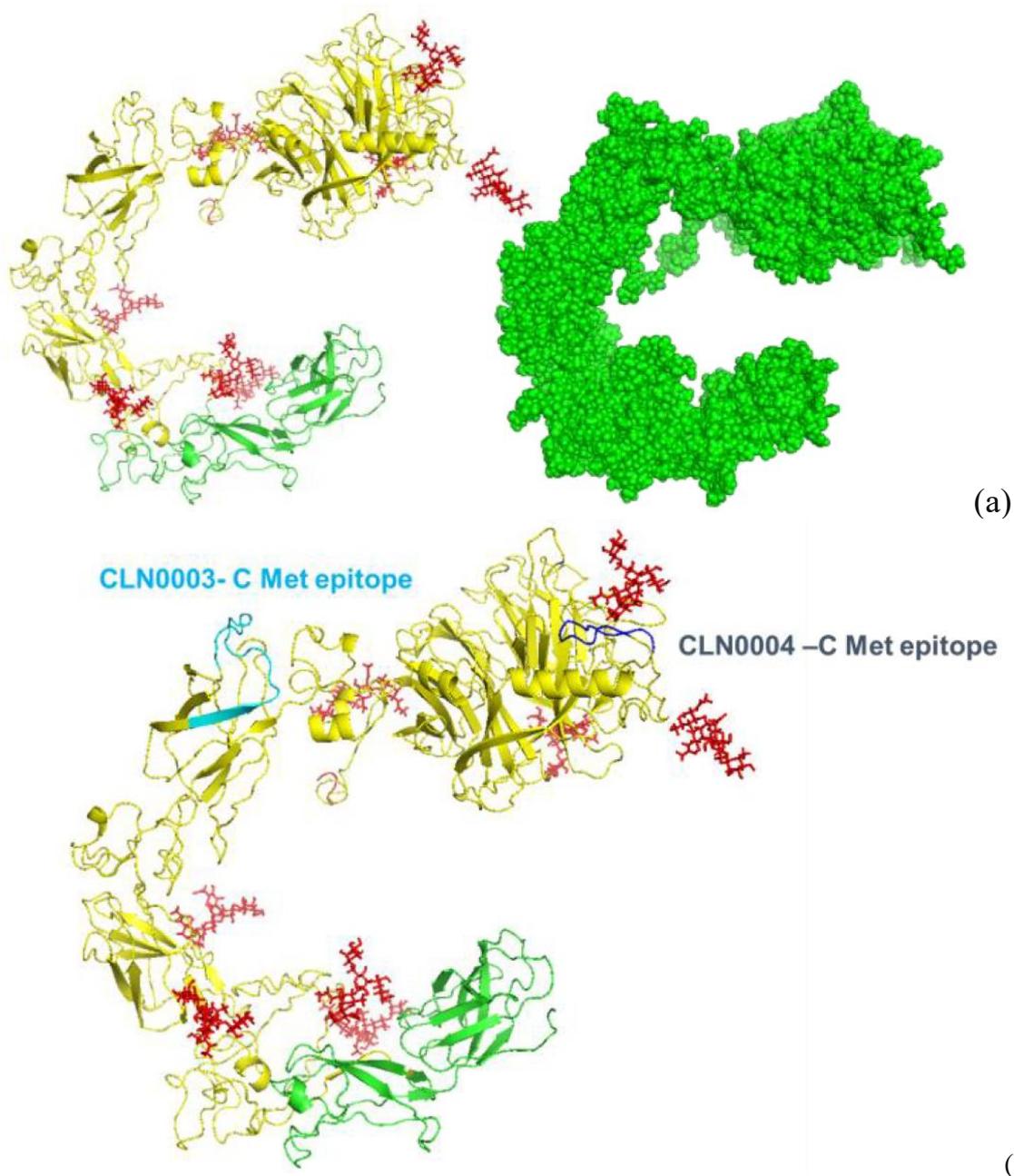


Рисунок 6.5. Моделирование аптамеров CLN0003 и CLN0004 и молекулярный докинг комплексов к С-Met белку. (а) – Модель структуры рекомбинантного человеческого белка С-Met/Fc Chimera согласно I-TASSER [293]. Жёлтым выделен внеклеточный домен предшественника с-Met человека, зелёным – используемая С-концевая полигистидиновая область Fc человеческого IgG1. (б) – Моделирование структуры комплексов С-Met с пептидами эпитопа аптамера CLN0003 (голубой) и CLN0004 (темно-синий) на сайтах связывания эпитопа. В структурах, выбранных с наименьшей энергией стыковки, лиганды эпитопа аптамера показаны зелёными шариками, а С-Met – синими шариками

### §6.3. ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ АРАБИНОГАЛАКТАНА

Перспективным направлением мирового научно-технического прогресса в области изыскания новых материалов биогенного происхождения является изучение способов получения, свойств и применения арабиногалактана. К числу основных направлений их применения можно отнести: медицину, ветеринарию, фармацевтическую и косметическую промышленности, а также полиграфию и целлюлознобумажную промышленность. В последние годы исследования биологической активности арабиногалактана резко активизировались. Этому способствуют такие его свойства, как высокая растворимость в воде, уникально низкая вязкость растворов, узкое молекулярно-массовое распределение. Соединения являются экологически чистыми и полностью распадаются в природных условиях.

Арабиногалактан (AG) это полисахарид, выделенный из лиственницы, и представляет собой сухой, несмачиваемый порошок, с лёгким хвойным запахом и сладковатым вкусом. Легко растворяется в воде (в холодной воде 5 г/100 мл) и образует раствор с низкой вязкостью. Большое преимущество состоит в том, что процесс водной экстракции не требует применения растворителей, поэтому он экологически чистый и безопасный продукт. Существуют широкие перспективы использования арабиногалактана в медицине, ветеринарии, фармацевтической и косметической промышленности, а также в полиграфии и целлюлозно-бумажной промышленности. Исследования этого чрезвычайно ценного продукта ведутся с середины прошлого века чему посвящён ряд обзоров [294].

Макромолекула арабиногалактана имеет высоко разветвлённое строение (рисунок 6.6); главная цепь её состоит из звеньев галактозы, соединённых гликозидными связями  $\beta$ -(1→3), а боковые цепи со связями  $\beta$ -(1→6) – из звеньев галактозы и арабинозы, из единичных звеньев арабинозы, а также урановых кислот, в основном глюкуроновой. Соотношение звеньев галактозы и арабинозы примерно 6:1, причём 1/3 звеньев арабинозы находится в пиранозной форме, а 2/3

– в фуранозной [295]. Эти соотношения, а также молекулярная масса АГ могут колебаться не только в зависимости от вида лиственницы, но и в пределах одного вида. Термическая и гидролитическая стабильность являются важными характеристиками АГ, во многом определяющими возможность его использования.

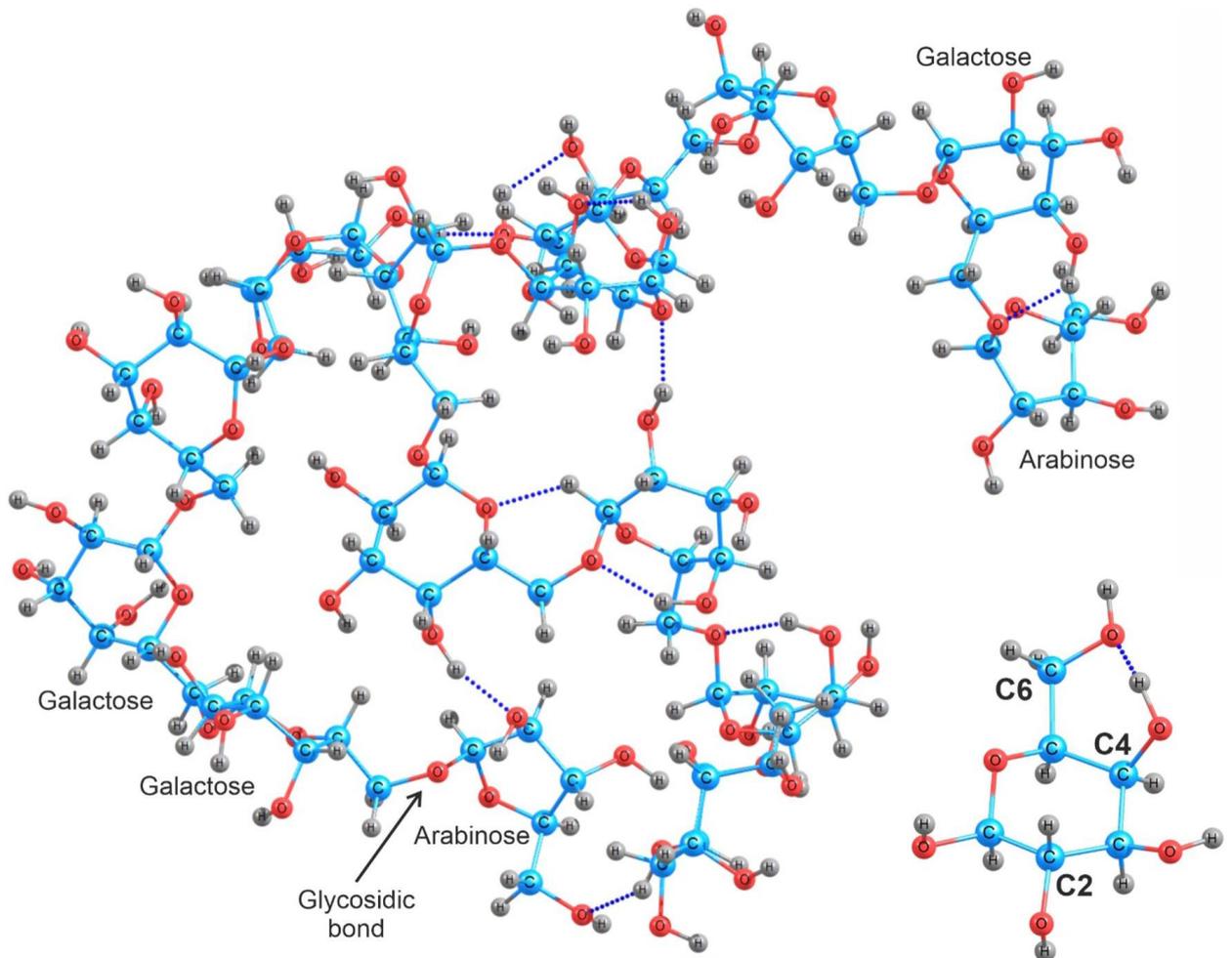


Рисунок 6.6. Фрагмент молекулы арабиногалактана. Помеченные гидроксильные группы (C2, C4 и C6), ответственны за сульфатирования. Основная цепь состоит из звеньев галактозы, связанных гликозидными связями, боковые цепи состоят из звеньев галактозы и арабинозы, и отдельных звеньев арабинозы. Синие пунктирные линии показывают возможные внутримолекулярные водородные связи

Важной характеристикой для таких материалов является антикоагулянтная активность (АК). Она зависит от вида материала, содержания серы, степени сульфатирования, количества и расположения сульфатных групп, а также от

скелета молекулы полисахарида. С увеличением количества серы в образцах возрастает антикоагулянтная активность [296–299]

Исследование электронной структуры методами теории функционала плотности может дать новое представление о свойствах биологически активных полисахаридов, таких как арабиногалактан и сульфатированный арабиногалактан. Основные характеристики арабиногалактана и сульфатированного арабиногалактана (SAG) могут быть предсказаны с использованием теории функционала плотности. Теоретические расчёты полисахаридов обеспечивают знание их структуры, свойств и взаимодействия с окружающей средой. Полученные данные имеют большое дальнейшее значение, так как они обеспечивают понимание внутримолекулярной структуры и могут быть использованы в дальнейшем моделировании и в технологии производства наночастиц. В работе проведены расчёты структуры арабиногалактана и его сульфатированных производных методами квантовой химии (рисунок 6.7). Начальная оптимизация молекулярной геометрии выполнена полуэмпирическим методом PM6. Расчёты оптимизации геометрии и колебательных спектров в вакууме и воде проводили с использованием теории функционала плотности на уровне B3LYP базиса 6-31+G(d), в модели PCM для воды в программы GAMESS.

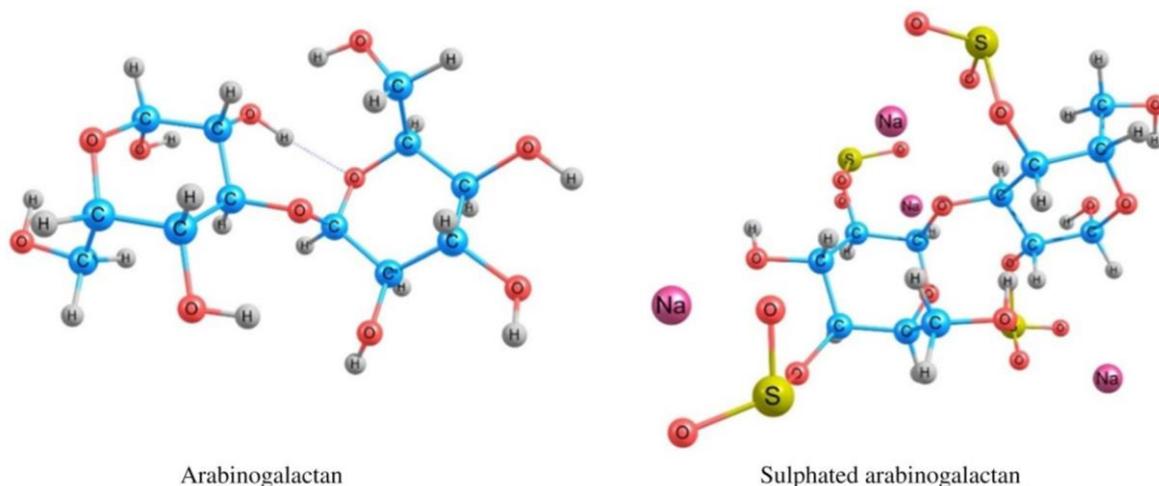


Рисунок 6.7. Молекулярная структура галактозных звеньев арабиногалактана и сульфатированного арабиногалактана в положении 2,4, рассчитанная на уровне теории B3LYP/6–31+G(d)

Как показано на рисунке 6.8, спектры, относящиеся к SAG-2, SAG-4, SAG-6, SAG-2,4, имеют аналогичные полосы поглощения в области 0-1700  $\text{см}^{-1}$ . В области 2800-3700  $\text{см}^{-1}$  для образца SAG-2,4 идёт значительное смещение полосы поглощения высокой интенсивности, соответствующей ОН-группе, в область меньших значений, а также наблюдается смещение пика в области 610-620  $\text{см}^{-1}$  в сторону больших значений, который соответствует колебаниям сульфатной группы. Для образцов SAG-4, AG-6, по сравнению с SAG-2, наблюдается аналогичная картина, однако, смещение не такое значительное, как в случае с SAG-2,4. Для образца SAG-2,4 наблюдаются полосы большей интенсивности, в сравнении с образцами SAG-2, SAG-4, SAG-6, в области 1240-1260  $\text{см}^{-1}$ .

В целом можно сделать вывод, что сульфатирование арабиногалактана идёт преимущественно по положению С2 и С4, в небольшом количестве – по С6. Также имеются области, не подвергающиеся сульфатированию (ввиду способности арабиногалактана образовывать «клубки» [300]), вероятно, благодаря процессам диффузии [301], приводящие к смещению и размыванию пиков в экспериментальных ИК-спектрах, которые соответствуют -ОН и -СН<sub>2</sub>- связям в молекуле полисахарида.

Таким образом, молекулярная и электронная структура и инфракрасные спектры арабиногалактана и его биологически активных сульфатированных производных были интерпретированы с использованием уровня теории ВЗLYP/6-31+G(d). Основные экспериментальные спектральные особенности были отнесены к конкретным колебаниям химической связи. Было обнаружено, что молекулярные модели на основе изолированных мономерных звеньев галактозы и арабинозы арабиногалактана и его сульфатированных производных могут быть использованы для корректного моделирования ИК-спектров во всей спектральной области 4000-500  $\text{см}^{-1}$ . Несоответствие теоретических и экспериментальных ИК-спектров может быть вызвано недостатками простых молекулярных моделей на основе 1-2 структурных единиц галактозы и арабинозы по сравнению с реальной структурой макромолекул, которая характеризуется отсутствием регулярного состава и кристаллического состояния.

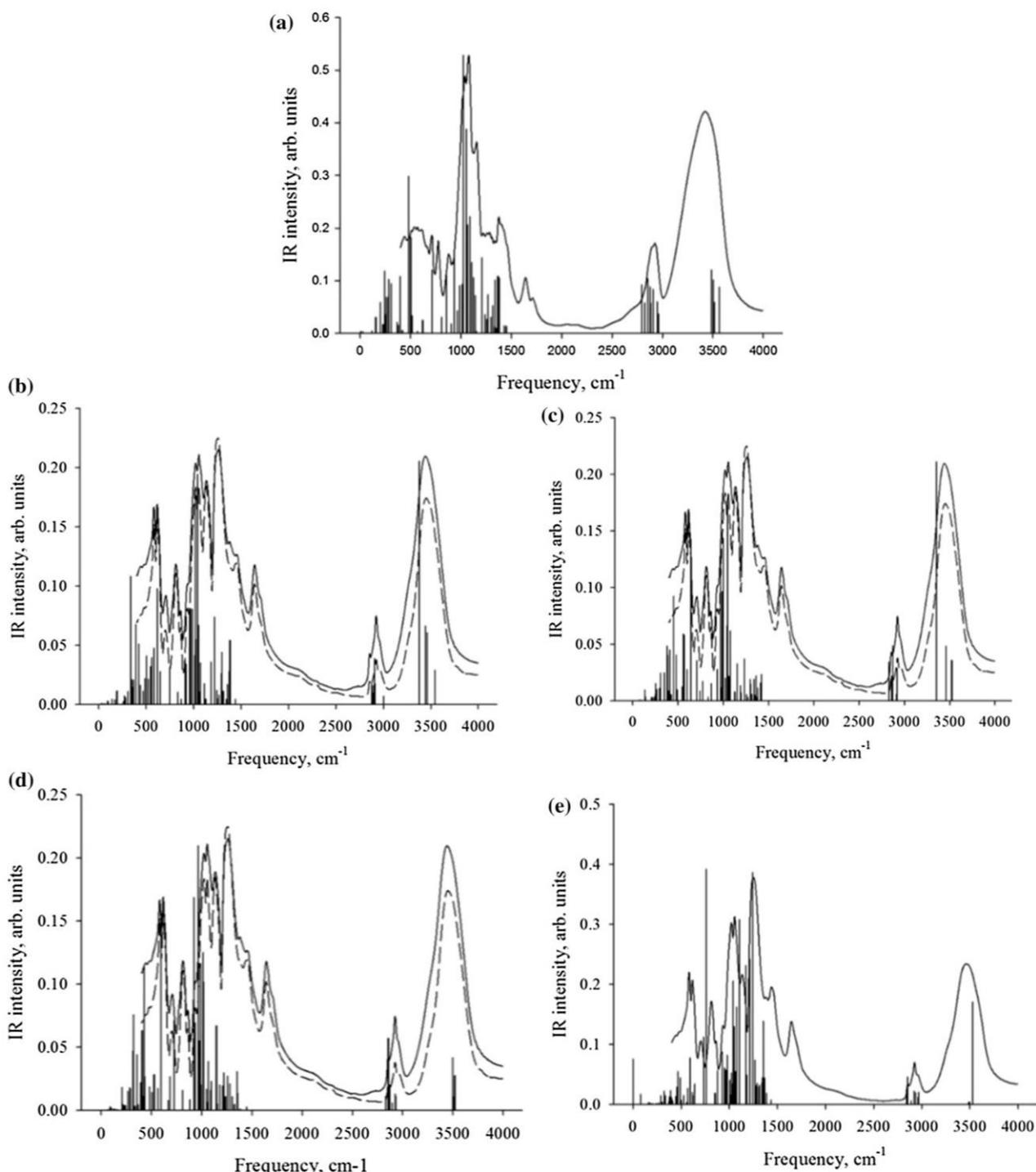


Рисунок 6.8. Экспериментальные и теоретические ИК-спектры арабиногалактана и его сульфатированных производных. (a) – AG, (b) – SAG-2, (c) – SAG-4, (d) – SAG-6, (e) – SAG-2,4. Сплошная линия соответствует 3,2%, а пунктирная линия соответствует 5,1% содержания серы (для SAG-2,4 содержание серы 9,4%, сплошная линия). Теоретические ИК-спектры на уровне теории B3LYP/6–31+ представлены вертикальными линиями, экспериментальные представлены черными сплошными и пунктирными линиями

## §6.4. АРАБИНОГАЛАКТАН КАК КОНЬЮГАТ ДЛЯ АПТАМЕРА И МАГНИТНОЙ НАНОЧАСТИЦЫ

В настоящее время достижения в синтезе конъюгатов аптамеров с различными лекарствами, биополимерами и наночастицами позволяют увеличить количество исследований в области биомедицины. Конъюгат это молекула (вещество или наноструктура, например), через которую связываются вместе две другие различные молекулы. Большой интерес в лечении рака вызывает применение конъюгатов аптамеров с наноструктурами из-за их высокой специфичности для раковых клеток и низкой токсичности для всего организма [302,303]. Традиционные низкомолекулярные противоопухолевые препараты очень токсичны для нормальных клеток, а иногда и неэффективны и даже могут увеличивать злокачественность опухоли. В последние годы были разработаны новые нанотехнологии, включающие физические методы разрушения опухолей с помощью наночастиц. Несмотря на высокую эффективность этих методов, они также имеют ограничения, такие как токсичность для клеток и низкая селективность из-за накопления наночастиц в тканях и органах, не являющихся мишенями.

Магнитные наночастицы становятся важными для целевой и малоинвазивной терапии рака [302,304,305]. К настоящему времени несколько ферромагнитных и суперпарамагнитных наночастиц уже нашли применение в медицинских целях [306–308]. Суперпарамагнитные частицы предпочтительнее ферромагнитных, потому что в отсутствие магнитного поля они не имеют магнитного момента и действуют только при приложении магнитного поля. Такие частицы используются для магнитно-резонансной томографии (МРТ), индукции гипертермии и механического разрушения клеток. Особое внимание следует уделять железосодержащим ферроарабиногалактанам (FeAG), в которых железо стабилизировано арабиногалактаном (AG). Железо в этих FeAG находится в форме гидратированного оксида железа с общей формулой  $Fe_3O_4 \cdot nH_2O$ , аналог минералов магнетита-маггемита или ферригидритов [309,310]. Преимуществами

FeAG являются низкая токсичность, а также антиоксидантные, иммуномодулирующие и детоксикационные свойства. Избыток AG способствует выведению продуктов распада опухоли.

Для улучшения адресной доставки наночастицы можно модифицировать с помощью специфических лигандов-антител или аптамеров. Производство аптамеров в сто раз дешевле моноклональных антител. Аптамеры уже продемонстрировали огромный потенциал в качестве агентов для молекулярного распознавания [311]. Аптамеры являются идеальными кандидатами для терапии в качестве агентов доставки из-за высокой селективности и низкой иммуногенности [268,311]. Аптамеры считаются синтетическим химическим продуктом, а не биологическим, потому что они химически синтезируются с высокой чистотой с помощью автоматизированной процедуры. Функционализация наночастиц с помощью аптамеров улучшает их биосовместимость, коллоидную стабильность и увеличивает время циркуляции *in vivo* [312,313].

Компьютерное моделирование комплекса AG с аптамером было выполнено с использованием высокоуровневых квантово-механических расчётов. На основе наночастицы, показанной в крайней правой части рисунка 6.9, а, была выбрана подходящая модель для моделирования, которая исключает феррокластер и включает репрезентативную часть арабиногалактана (5 сахарных единиц) и восемь нуклеотидов из аптамера ДНК (двухцепочечный Пары AT, TA, CG, GC на двух концевых участках аптамера), см. рисунок 6.9, а, б. Чтобы моделирование было более реалистичным, противоионы (катионы натрия) были добавлены вокруг каждой отрицательно заряженной фосфатной группы в аптамере (1 противоион к  $\text{PO}_3^{-2}$  и два противоиона к концевым группам  $-\text{PO}_3^{2-}$ ), за исключением двух фосфатных групп T1 и C1. (Рисунок 6.9, б) не получали противоион, поскольку предполагалось, что эти группы связываются непосредственно с арабиногалактаном. Нумерация нуклеотидов включает цифру 1 или 2 в зависимости от того, к какой цепи они принадлежат; цепь 1 наиболее близка к аптамеру.

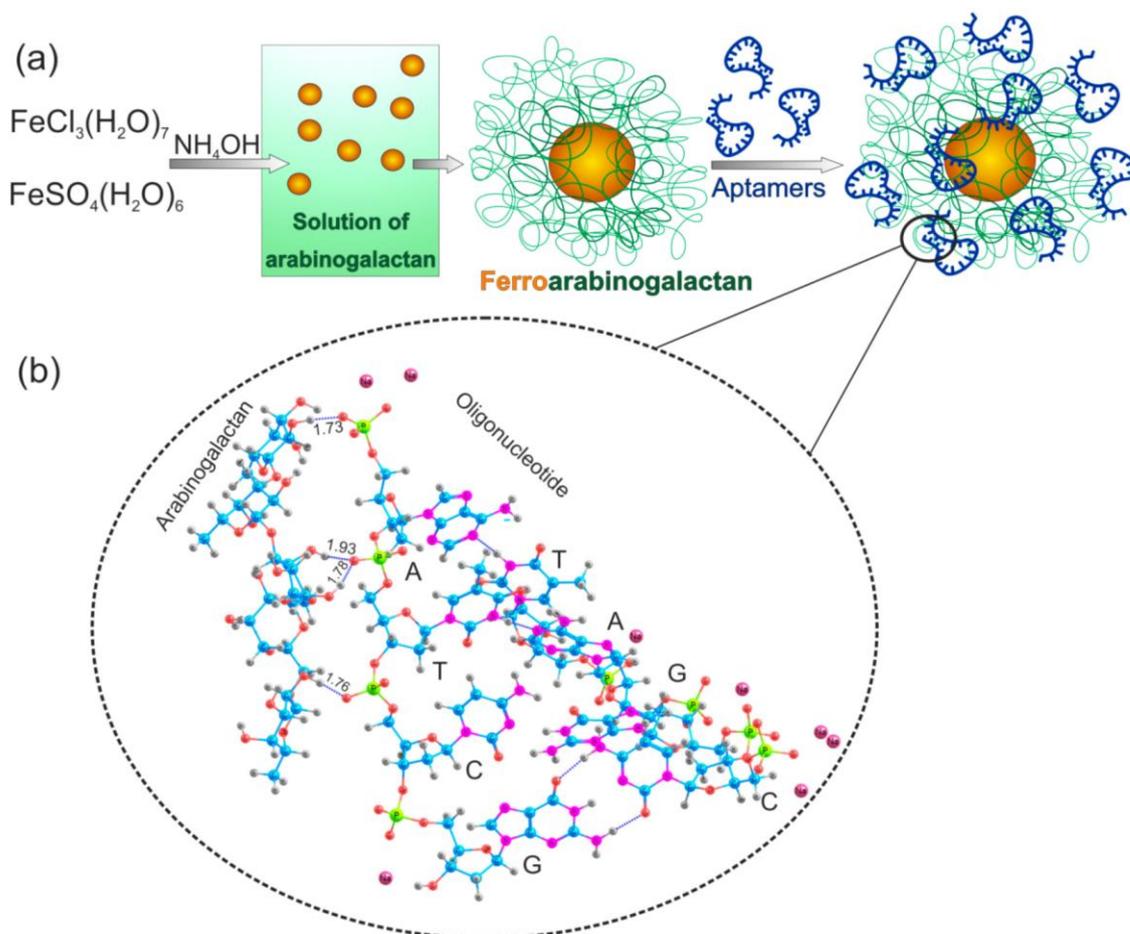


Рисунок 6.9. Синтез наночастиц ферроарабиногалактана, конъюгированных с аптамером (AS-FeAG). (a) Схематическое изображение синтеза наночастиц ферроарабиногалактана и их конъюгации с аптамерами. (b) Часть комплекса аптамер-арабиногалактан. С – цитозин, G – гуанин, А – аденин и Т – тимин. Нековалентные водородные связи между атомами показаны синими пунктирными линиями. Водород – серый, кислород – красный, углерод – синий, азот – фиолетовый, фосфор – жёлтый, натрий – розовый

Молекулярная структура была оптимизирована с использованием метода фрагментных молекулярных орбиталей (FMO) на уровне двухчастичного FMO-разложения с использованием DFTB3 (FMO2-DFTB3) с использованием параметров *3ob* [292] в сочетании с континуальной моделью сольватации поляризуемого проводника (C-PCM) [314]. FMO-DFTB/PCM – это быстрый и точный метод, что было продемонстрировано при сравнении оптимизированных белковых структур с экспериментами [314]. Фрагментацию проводили в соответствии с химической природой (см. рисунок 6.10, а) путём разделения

арабиногалактана и аптамера на 5 и 8 фрагментов соответственно. Атомы натрия были отнесены к соседнему нуклеотидному фрагменту. Фрагменты T1 и C1 имеют заряд -1, а все остальные фрагменты нейтральны.

Чтобы выявить физическую картину связывания арабиногалактана и аптамера, был использован анализ разложения энергии парного взаимодействия (PIEDA) [315] на уровне теории возмущений Мёллера-Плессета второго порядка (MP2) с базисным набором 6-31G(d,p) и C-PCM. Все расчёты FMO выполнены с использованием [18] MP2 – хороший метод описания как электростатических, так и неэлектростатических (гидрофобных) взаимодействий на квантово-механическом (QM) уровне *ab initio* без использования каких-либо параметров. Из-за своей QM-природы он также описывает поляризацию и перенос заряда. Учитывалась экранировка растворителя, эффективно экранирующая сильные ионные взаимодействия [315]. Хотя PIEDA предоставляет много компонентов [316], в этой работе для простоты некоторые из них были добавлены вместе, так что взаимодействие фрагмент-фрагмент разделено на электростатическое (ES), квантово-механическое (QM) и ван-дер-ваальсовы (vdW) компоненты. ES включает в себя взаимодействие растворенного вещества и растворенного вещества между плотностями поляризованных электронов двух фрагментов, ядерные термы и экранирование растворенного вещества и растворителя. QM включает перенос заряда и обменное отталкивание (короткодействующее отталкивание между электронами). vdW вычисляется из энергии корреляции электронов в MP2 и в основном описывает гидрофобные взаимодействия.

При моделировании было обнаружено, что нуклеотиды аптамера ДНК взаимодействуют с моносахаридами AG, образуя большое количество водородных связей (длиной от 1,734 до 1,927 Å). В зависимости от конформации моносахарид может образовывать одну или две водородные связи с атомами кислорода в фосфатной группе нуклеотида. На рисунке 6.10, а показано, что водородные связи образуются между A1 и Ar11 (одна связь), T1 и Ar9 (две связи), C1 и Ar13 (одна связь).

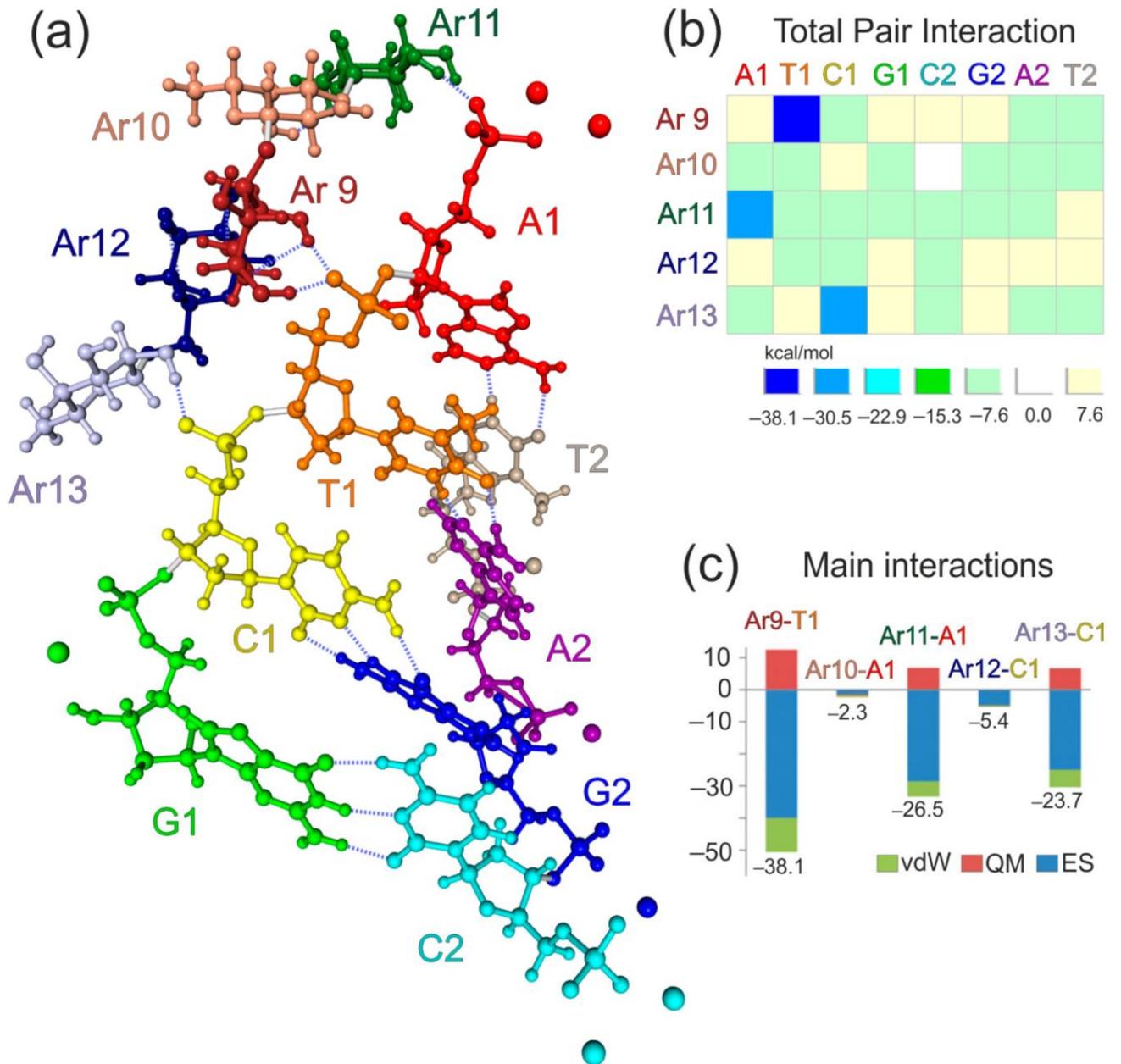


Рисунок 6.10. Молекулярная структура и результаты метода FMO применительно к комплексу аптамер-арабиногалактан. (a) Фрагменты арабиногалактана и аптамера AS-14 показаны разными цветами. (b) Полные парные взаимодействия между арабиногалактаном (Ar9 – Ar13) и фрагментами аптамера (A1, T1, C1, G1, A2, T2, C2, G2,). Все значения указаны в ккал/моль. (c) Основные взаимодействия между арабиногалактаном (Ar9 – Ar13) и фрагментами аптамера (T1, A1, C1). Общие значения показаны под каждой колонкой. Все значения указаны в ккал/моль. Каждое парное взаимодействие делится на электростатическую (ES), квантово-механическую (QM) и ван-дер-ваальсовую (vdW) составляющие

Количественная картина была получена с помощью анализа разложения энергии парного взаимодействия. Компоненты PIEDA обнаруживают характерные сигнатуры [317]. Он подтвердил, что все три парных взаимодействия происходят между парами фрагментов, соединёнными водородными связями (рисунок 6.10, b), что проясняет физическую природу связывания. Показаны все взаимодействия, превышающие 1 ккал/моль. Все они притягательные (наибольшее отталкивающее взаимодействие, не показано, составляет 0,4 ккал/моль).

Как было обнаружено при моделировании, взаимодействия водородных связей между -ОН группами моносахаридов и фосфатными группами в нуклеотидах выделяются большими значениями -23,7, -26,5 и -38,1 ккал/моль (рисунок 6.10, c). Эти значения соответствуют взаимодействиям фрагмент-фрагмент и включают взаимодействия, отличные от водородных связей; в этом случае зарядово-дипольные взаимодействия являются основным фактором для T1 и C1. Ar9-T1 является самым большим, потому что он включает две водородные связи (рисунок 6.10, a). Интересно и, возможно, менее интуитивно понятно, что нейтральный A1 имеет большое взаимодействие. К концевой группе  $-\text{PO}_3^{2-}$  добавляются два иона натрия в качестве противоионов, так что общий заряд равен нулю. Однако в оптимизированной структуре один атом натрия удалён от AG. Следовательно, кулоновское поле от него слабее, и эффективно взаимодействие увеличивается из-за притяжения к заряду -2 на фосфате, лишь частично компенсируемого противоионами. Вторая цепь с T2, A2, G2 и C2 не взаимодействует с AG. Основным связующим в аптамере в первой цепи является T1, а A1 и C1 также прочно связаны. G1 геометрически разделён и не связан с AG. Эти результаты точно определяют, какие нуклеотиды связываются с AG, и дают подсказки относительно того, как модифицировать аптамер, чтобы усилить или ослабить связывание.

В текущей части работы была сделана попытка понять природу взаимодействия аптамеров с природными полисахаридами, тем самым, создав основу для целенаправленного синтеза или улучшения имеющейся технологии синтеза конъюгатов аптамеров с магнитными наночастицами. Аптамеры могут

усиливать накопление наночастиц возле раковых клеток с последующим повреждением клеток магнитным полем. Кроме того, избыток АГ способствует выведению продуктов распада опухоли благодаря его антиоксидантным, иммуномодулирующим и детоксикационным свойствам. Направленная магнитодинамическая нанотерапия с аптамер-конъюгированными суперпарамагнитными наночастицами открывает новые возможности для малотоксичной, малоинвазивной и направленной терапистики рака.

## §6.5 ВЫВОДЫ

Разработан новый метод для определения атомной структуры наноразмерных некристаллических объектов по данным малоуглового рассеяния синхротронного излучения и теоретического моделирования. На примере аптамера RE-31, который имеет кристаллическую структуру с белком, была произведена апробация метода и получена структура молекулы в согласии с экспериментальными данными. Данный подход позволяет получать атомную структуру при нормальных условиях в растворе для дальнейших биомедицинских исследований.

Молекулярная структура арабиногалактана которая характеризуется отсутствием регулярного состава и кристаллического состояния была интерпретирована с помощью инфракрасных спектров и модельных расчётов структуры. Было показано, что молекулярные модели на основе изолированных мономерных звеньев галактозы и арабинозы арабиногалактана и его сульфатированных производных могут быть использованы для корректного моделирования ИК-спектров во всей спектральной области.

На основе моделирования конъюгатов аптамера и арабиногалактана с магнитными наночастицами была выявлена природа взаимодействия между аптамерами и природными полисахаридами. Было показано, что в зависимости от конформации моносахарид образует одну или две водородные связи с атомами кислорода в фосфатной группе нуклеотида. Взаимодействия водородных связей

между -ОН группами моносахаридов и фосфатными группами в нуклеотидах выделяются большими значениями от -24 до -38,1 ккал/моль.

В работе принимали участие И.А. Щугорева, П.В. Артюшенко, А.А. Позднякова, Д.Г. Фёдоров, П.В. Аврамов, С.Г. Овчинников. Экспериментальная поддержка осуществлялась в Лаборатории физики магнитных явлений Института физики ФИЦ КНЦ СО РАН В.Н. Заблудой, А.Э. Соколовым, Р.В. Морячковым, сотрудниками Института химии Ю.Н. Маляром, А.С. Козаченко, Н.Ю. Васильевой, в лаборатории цифровых управляемых лекарств и тераностики ФИЦ КНЦ СО РАН под общим руководством А.С. Кичкайло и сотрудниками МГУ НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского под руководством В.А. Спиридоновой.

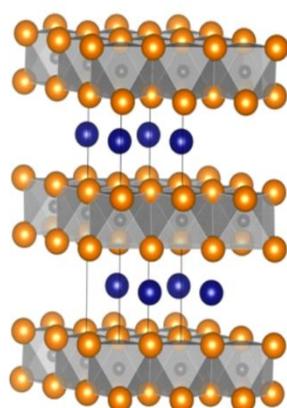
## ГЛАВА 7. ИССЛЕДОВАНИЕ МАГНИТНЫХ МАХ МАТЕРИАЛОВ

### §7.1. МАХ-МАТЕРИАЛЫ ВИДА $M_2AX$

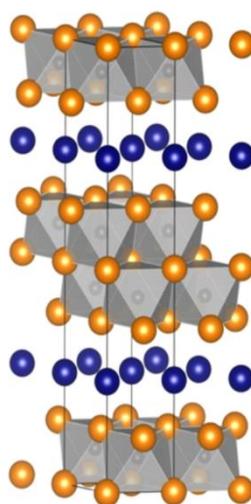
МАХ-фазы представляют собой семейство материалов с атомарным слоем, где М - переходный металл, А элемент А-группы, а Х относится к углероду и/или азоту (см. рисунок 7.1) [318]. Впервые синтезированные в 1960-х годах [319], они были заново открыты в 1990-х, когда Барсум и др. обнаружили уникальное сочетание керамических и металлических свойств [320]. С тех пор их обычно синтезировали в виде объёмных и тонких плёнок, и оказалось, что они обладают исключительными физическими, химическими, электрическими и механическими свойствами [320]. Они проистекают из смеси сильных связей М-Х и более слабых связей М-А.

H																		He																	
Li Be		M early transition metal										A group A element						B C N O F Ne																	
Na Mg		X C and/or N										Al Si P S Cl Ar																							
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr																		
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe																		
Cs	Ba	Lu	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn																		
Fr	Ra	Lr	Unq	Unp	Unh	Uns	Uno	Une																											

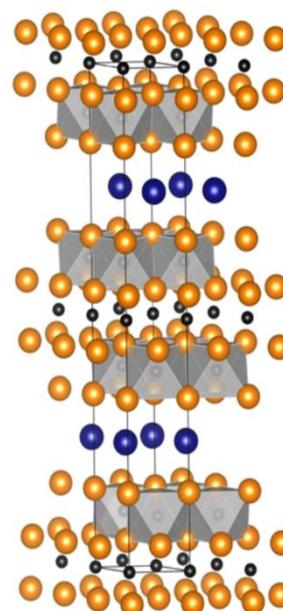
#### MAX-Phase



$Me_2AX/211$



$Me_3AX_2/312$



$Me_4AX_3/413$

Рисунок 7.1. Пример структур МАХ фаз различного состава

МАХ-фазы представляют собой семейство тройных слоистых соединений с формальной стехиометрией  $M_{n+1}AX_n$  ( $n=1,2,3,\dots$ ) (рисунок 7.1). МАХ-фазы можно классифицировать в соответствии со значениями их числа  $n$ : «211» для  $M_2AX$ , «312» для  $M_3AX_2$  и «413» для  $M_4AX_3$  и т.д. МАХ-фазы имеют слоистую гексагональную структуру с пространственной группой с двумя формульными единицами в элементарной ячейке (рисунок 7.1). Гексагональная структура, с пространственной группой  $R\bar{6}3/mmc$  (№194), может быть описана как слои М-Х-М-А-М-Х-М. Эти соединения в последнее время привлекают к себе большое внимание благодаря своим уникальным свойствам, сочетающих в себе характеристики керамики и металлов [318,320].

МАХ-фазы обладают малой плотностью, высокими значениями тепло- и электропроводности, высокой прочностью, низкой упругостью, коррозионной стойкостью, стойкостью к высокотемпературному окислению и термическим ударам, имеют высокую температуру плавления, легко поддаются механической обработке [320]. Поэтому возможные области применения варьируются от спинтроники до материалов машиностроения, вследствие этого исследовательские усилия до сих пор были сосредоточены исключительно на открытии новых фаз и составов, в том числе магнитных.

Интересным аспектом работы с МАХ-фазами является большое количество возможных изоструктурных композиций. Это обеспечивает быстрый прогресс в понимании роли химии в свойствах материалов. Экспериментальные доказательства наличия магнитных МАХ-фаз были впервые представлены в 2013 году [321,322], и, хотя эта область все ещё находится в периоде своего становления, представленные на сегодняшний день результаты указывают на множество потенциальных основных магнитных состояний и связанных с ними свойств. Их многослойный характер также делает их идеальной модельной системой для изучения сложных магнитных явлений, которые происходят в атомно-слоистых материалах, выходящих за рамки традиционного ферромагнитного (FM), антиферромагнитного (AFM) и парамагнитного (PM) порядка.

Несмотря на то, что научное сообщество только начало тщательно определять основное магнитное состояние и магнитное поведение в соответствующих фазах МАХ, уже можно видеть возможности, которые эти материалы могут предложить с точки зрения настраиваемых свойств. Для любого конкретного применения, вероятно, необходимо оптимизировать соответствующие параметры, такие как температуры перехода, тип намагниченности и т.д. Это может быть достигнуто только в том случае, если материал поддаётся настройке, т.е. если, изменяя выбранные внутренние параметры материала каким-либо образом, не влияя на его кристаллическую структуру, его магнитные свойства могут быть изменены.

Во-первых, очевидно, что химическое соотношение между двумя элементами М можно варьировать. Кроме того, химический порядок этих сплавов можно изменить, например, создание целых слоёв разной толщины из каждого карбида металла при фиксированном атомном соотношении между ними. Расчёты показали, что это также может быть способом настройки их магнитных свойств. Легирование по А-сайту – ещё один возможный путь [323]. Что касается Х-элементов, то только одно экспериментальное исследование [324] касается нитридного аналога более традиционного карбида; однако сплавление углерода и азота, скорее всего, также изменит магнитные свойства. Кроме того, дефекты, такие как вакансии, предлагают альтернативный путь для настройки, мотивированный сообщениями [325], указывающими на значительное изменение связанных свойств карбидов из-за различий в их стехиометрии. Большим преимуществом фаз МАХ является то, что материал будет сохранять свою структуру при всех предлагаемых вариациях состава и что различные фазы МАХ, настроенные по-разному, могут быть собраны вместе в стопку для достижения максимального желаемого эффекта. Это касается различных свойств, которые могут представлять интерес, будь то оптические, механические, калориметрические и магнитные.

Возможность наращивания стеков с разными МАХ фазами, открывает возможности использовать их в качестве строительных блоков для устройств, где каждый слой служит определенной цели и вместе составляет

монокристаллическую стопку. Это, вероятно, можно будет реализовать с учётом того факта, что параметры решётки МАХ-фаз отличаются незначительно и что они обычно наносятся на подложки с другими параметрами решётки в плоскости.

В последнее время было сделано множество открытий новых материалов, относящихся к МАХ фазам. Они имеют немного другой порядок и стехиометрию по сравнению с традиционными МАХ-фазами, но имеют гексагональную слоистую структуру. Примерами являются  $(\text{Cr}_{2/3}\text{Ti}_{1/3})_3\text{AlC}_2$  и  $(\text{Cr}_{5/8}\text{Ti}_{3/8})_4\text{AlC}_3$  [326], а также недавно открытый  $\text{Mo}_2\text{Ga}_2\text{C}$  [327,328], который по существу является той же фазой, что и фаза 211 МАХ, но с двумя последующими слоями Ga. Другим примером является  $(\text{Cr}_{0,5}\text{V}_{0,5})_{n+1}\text{AlC}_n$  [329], который принадлежит к группе материалов, которые можно охарактеризовать как состоящие из двух различных фаз МАХ [330]. Множество новых фаз, обладающих некоторыми атрибутами, которые делают магнитные МАХ-фазы интересным предметом исследования, указывает на то, что вся работа в этой области только начинается. Вероятно, существует большое количество ещё неоткрытых фаз, содержащих элементы, которые наделяют их новыми магнитными свойствами.

В настоящее время МАХ фазы активно применяют в плазмонике как новые аптасенсоры, например на SARS-CoV-2 [331]. Аптасенсор поверхностного плазмонного резонанса (SPR) был сконструирован для обнаружения N-гена SARS-CoV-2 с использованием тиол-модифицированных квантовых точек MXene и карбида ниобия в качестве биоплатформы для закрепления аптамера. В присутствии N-гена SARS-CoV-2 иммобилизованные цепи аптамера изменили свою конформацию, чтобы специфически связываться с N-геном. Таким образом, увеличилась площадь контакта и увеличилось расстояние между аптамером и SPR-чипом, что привело к изменению сигнала SPR, излучаемого лазером (He-Ne) с длиной волны 633 нм. Данные аптасенсоры для обнаружения SARS-CoV-2 способны работать в сложных средах и являются достаточно чувствительными и селективными обнаружения N-гена данного вируса. Также аптацитосенсоры с использованием магнитных наногибридов на основе МАХ материалов и аптамеров

можно использовать для мониторинга прогрессирования рака через циркулирующие в крови опухолевые клетки при невысокой стоимости [332].

Для анализа и прогноза структурных свойств и описания электронных характеристик алюмокарбида хрома, марганца и железа –  $\text{Cr}_2\text{AlC}$ ,  $\text{Mn}_2\text{AlC}$  и  $\text{Fe}_2\text{AlC}$  использовали PBE и B3LYP с базисом rob-DZVP-rev2 для всех элементов в рамках программы CRYSTAL17. Гексагональная элементарная ячейка рассчитанных MAX-фаз относится к  $P6_3/mmc$  пространственной группе (194 международная группа) и характеризуется параметрами решётки  $a$  и  $c$ , и неизменными углами  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ . Параметры решётки и другие свойства системы, получаемые из расчётов после оптимизации представлена в таблице 7.1.

Таблица 7.1. Результаты расчётов и сравнительная характеристика методов DFT для  $\text{Cr}_2\text{AlC}$ ,  $\text{Mn}_2\text{AlC}$  и  $\text{Fe}_2\text{AlC}$

Свойство	B3LYP	PBE	Абсолютная ошибка	Относительная ошибка, %
$\text{Cr}_2\text{AlC}$				
Параметр $a$ , Å	2,900	2,848	0,05	1,81
Параметр $c$ , Å	12,462	12,698	-0,24	1,89
Объем, Å <sup>3</sup>	90,75	89,20	1,55	1,70
Общий спин на ячейку	3,59	2,36	1,24	34,40
Общий спин на атоме Cr	1,13	0,65	0,48	0,42
Заряд по Малликену на Cr	0,53	0,53	-0,01	1,52
$\text{Mn}_2\text{AlC}$				
Параметр $a$ , Å	2,938	2,865	0,07	2,48
Параметр $c$ , Å	12,872	12,438	0,43	3,37
Объем, Å <sup>3</sup>	96,25	88,44	7,81	8,11
Общий спин на ячейку	11,23	7,38	3,85	34,27
Общий спин на атоме Mn	3,32	2,10	1,21	36,56
Заряд по Малликену на Mn	0,28	0,18	0,10	34,77
$\text{Fe}_2\text{AlC}$				
Параметр $a$ , Å	2,803	2,817	-0,01	0,48
Параметр $c$ , Å	12,481	12,196	0,29	2,29
Объем, Å <sup>3</sup>	84,94	83,80	1,14	1,34
Общий спин на ячейку	6,28	3,94	2,34	37,27
Общий спин на атоме Fe	1,82	1,09	0,73	39,86
Заряд по Малликену на Fe	0,58	0,57	-0,01	0,01

Видно, что параметры решётки, в зависимости от функционала, различаются не значительно (меньше 3,5%). При этом, отличиям в электронной структуре уже нельзя пренебречь. Для примера у  $Mn_2AlC$  разница в оценке общего спина на ячейку достигает 34% для V3LYP и PBE, тогда, как общего спина на атом – 37%, а частичного заряда по Маликену – 35%. Для  $Cr_2AlC$  и  $Fe_2AlC$  наблюдается такая же общая картина, при этом, в описании спина железа, ошибка достигает 40%, что не может считаться удовлетворительным результатом. Получается, что присутствующие в системе МАХ-фаз электронные корреляции достаточно сильно влияют на магнитные свойства системы. Важный практический вывод, для специалистов в области моделирования свойств, заключается в том, что необходимо использовать высокоуровневые расчёты, как минимум гибридные функционалы с хорошими базисными наборами.

Далее для прогнозирования магнитных свойств проводили расчёт МАХ-фаз  $Cr_2SiC$  и  $Fe_2SiC$  и замещённых МАХ-фаз  $(Cr_{4-x}Fe_x)_{0,5}SiC$  с последовательным замещением атома хрома на железо. Для моделирования эффекта замещения атома хрома на железо сначала рассчитали структуру  $Cr_2SiC$ . Значения параметров решётки  $a$  и  $c$ , рассчитанные в работе [333], использовали в качестве исходных при оптимизации структуры  $Cr_2SiC$ . Оптимизацию проводили с использованием V3LYP функционала и базиса rob-DZVP-rev2 для всех элементов в рамках программы CRYSTAL17. В дальнейшем оптимизацию геометрии проводили при последовательном замещении атомов хрома одним, двумя и тремя атомами железа соответственно.

Как видно из рисунка 7.2, с увеличением содержания железа в структуре МАХ-фазы  $(Cr_{4-x}Fe_x)_{0,5}SiC$  наблюдается изменение параметров и объёма элементарных ячеек. Так, при 0% содержании железа ( $Cr_2SiC$ ) объём составляет  $89,71 \text{ \AA}^3$ , при 100% ( $Fe_2SiC$ ) –  $81,74 \text{ \AA}^3$ , что соответствует изменению рассматриваемого параметра на 9% при этом замещение на один атом железа приводит к тому, что объём фазы резко возрастает до  $94 \text{ \AA}^3$ . Это достаточно заметные изменения, которые можно использовать с практической точки зрения при создании гибридных структур. Изменение объёма элементарной ячейки можно

связать с соотношением атомных радиусов хрома и железа, и с характером связи Fe-Si и Cr-Si.

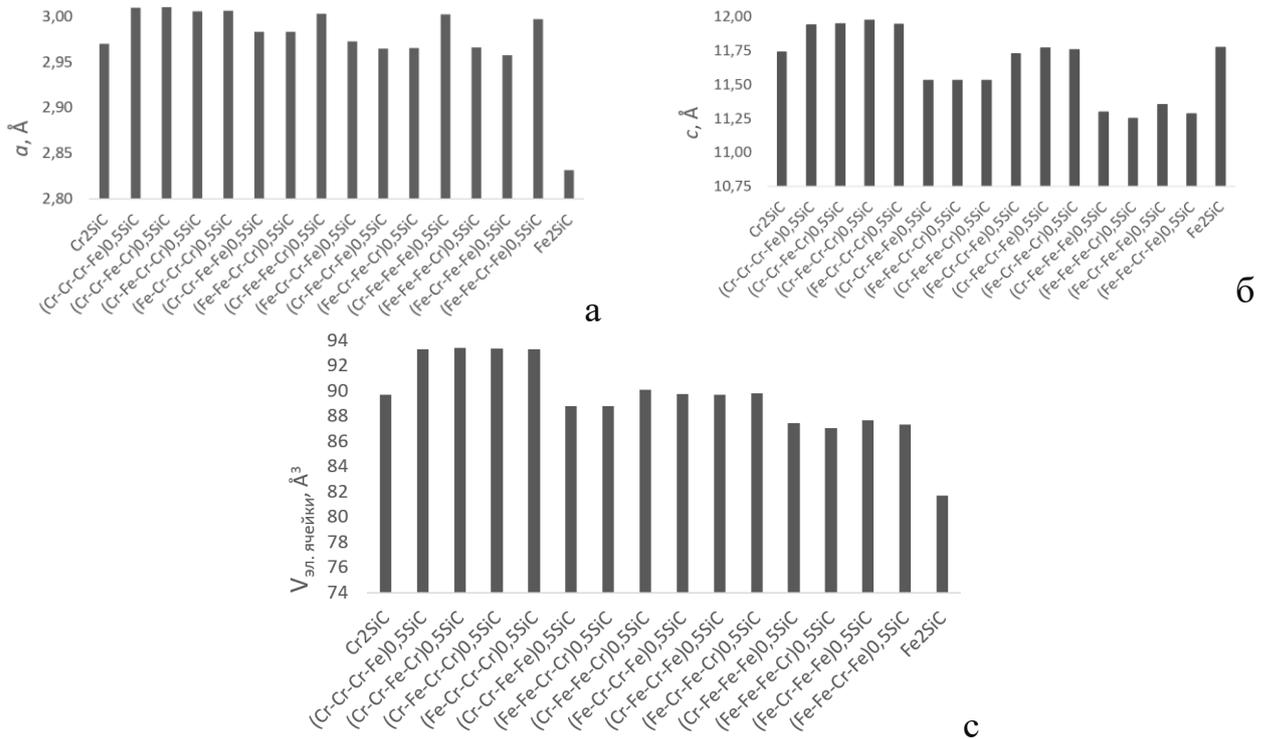


Рисунок 7.2. Значение параметров рассчитываемых структур в зависимости от состава МАХ-фазы  $(Cr_{4-x}Fe_x)_{0.5}SiC$ . а) Параметр –  $a$ ; б) Параметр –  $c$ ; в) Объём элементарной ячейки

Изменение параметров решётки позволяет в будущем подбирать подложки друг к другу при создании устройств спинтроники, для согласования решёток обычно необходимо не более 5% в расхождении. Путём замещения можно тонко подбирать подложки для наложения сверху таких плоских материалов, как например, графен,  $h$ -BN, и т.д. и, тем самым, можно получать принципиально новые гибридные слоистые материалы с заданными свойствами.

При рассмотрении изменения общего спина, приходящегося на ячейку, в результате замещения, можно отметить несколько интересных моментов (рисунок 7.3).

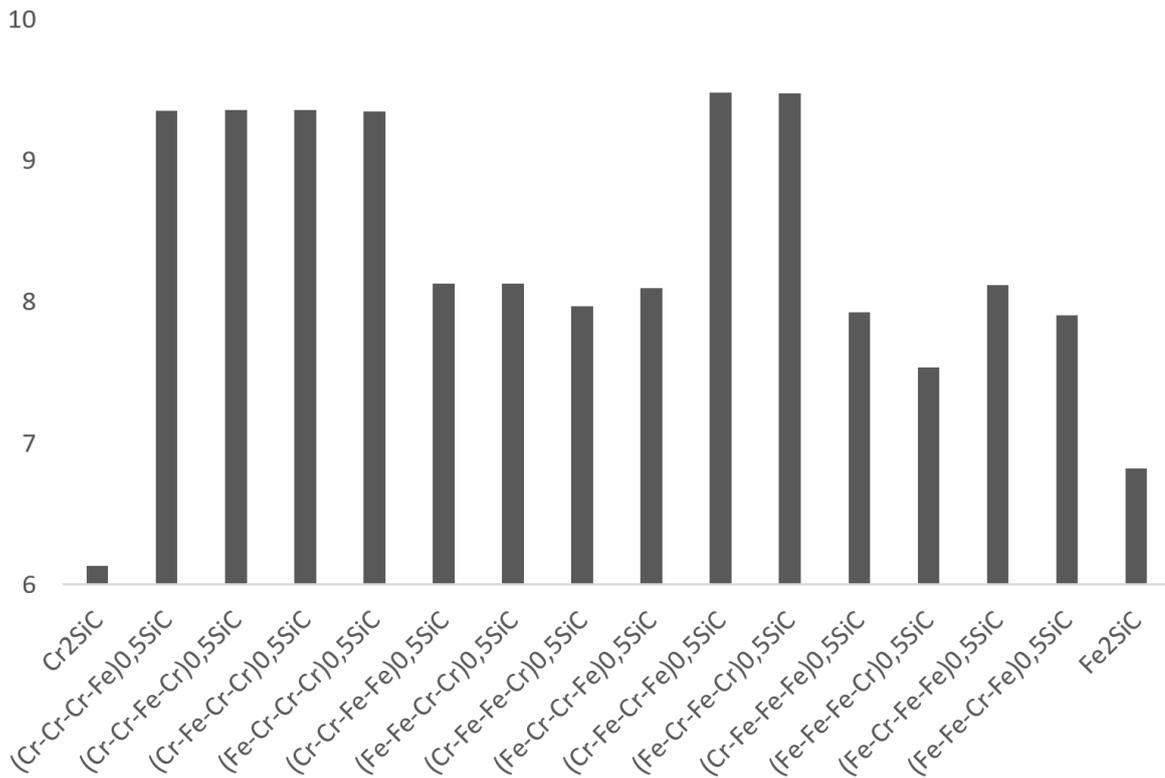


Рисунок 7.3. Общий спин приходящийся на ячейку в зависимости от состава МАХ-фазы  $(\text{Cr}_{4-x}\text{Fe}_x)_{0,5}\text{SiC}$

Во-первых, можно заметить, что происходит возрастание общего спина приходящегося на ячейку при введении железа в структуру МАХ-фазы. Во-вторых, в «чистом» виде МАХ-фазы с железом или хромом демонстрируют достаточно высокий общий спин системы (6,13 для 100% хрома и 6,82 для 100% железа). В-третьих, максимальные значения достигаются при введении одного атома железа (с 6,13 до 9,35, т.е. спин возрастает в 1,5 раза) или при введении двух атомов железа (возрастание достигает 8,13), но, при этом, надо делать чередование металлов (например Cr-Fe-Cr-Fe) (рисунок 7.3). Когда атомы хрома замещены атомами железа в одинаковой пропорции, но располагаются послойно (например, Fe-Fe-Cr-Cr), увеличение спина достигает 30% (с 6,13 до 8,13). Такая же картина наблюдается при замещении хрома на  $\frac{3}{4}$  атомами железа (возрастание общего спина достигает  $7,53 \div 8,12$ ). Поэтому замещение видится эффективным инструментом для изменения магнитных свойств. При этом в зависимости от цели, меняя или вид замещения (например, с чередованием или нет) или концентрацию можно достигать необходимого магнитного момента.

При подробном анализе спина при последовательном замещении можно продемонстрировать (таблица 7.2) за счёт чего формируются такие интересные магнитные свойства. Для системы с одним замещением хрома на железо  $((Cr_3Fe)_{0,5}SiC)$  у атомов хрома происходит резкий рост общего спина с 1,86 до  $2,84 \div 3,18$  относительно не замещённой структуры  $(Cr_2SiC)$ . Данное изменение можно связать с переменной степени окисления с  $Cr^{+2}$  на  $Cr^{+3}$  и, как следствие, сменой ионного радиуса и длин связей. У железа при этом наблюдается спин равный 2,14 что соответствует степени окисления  $Fe^{+2}$ .

Таблица 7.2. Полный спин системы (Т), приходящийся на ячейку и полный спин неэквивалентных атомов в МАХ-фазе с общей формулой  $(Cr_{4-n}Fe_n)_{0,5}SiC$  при замещении хрома на железо

Номер атома	Спин															
	$(Cr_3Fe)_{0,5}SiC$					$(Cr_2Fe_2)_{0,5}SiC$						$(Cr_1Fe_3)_{0,5}SiC$				
	Cr-Cr-Cr-Cr	Cr-Cr-Cr-Fe	Cr-Cr-Fe-Cr	Cr-Fe-Cr-Cr	Fe-Cr-Cr-Cr	Cr-Cr-Fe-Fe	Fe-Fe-Cr-Cr	Cr-Fe-Fe-Cr	Fe-Cr-Cr-Fe	Cr-Fe-Cr-Fe	Fe-Cr-Fe-Cr	Cr-Fe-Fe-Fe	Fe-Fe-Fe-Cr	Fe-Cr-Fe-Fe	Fe-Fe-Cr-Fe	Fe-Fe-Fe-Fe
Т	6,13	9,35	9,36	9,36	9,35	8,13	8,13	7,97	8,10	9,48	9,48	7,93	7,53	8,12	7,91	6,82
Cr1	1,86	3,18	2,85	3,14	-	2,77	-	2,86	-	3,04	-	2,89	-	-	-	-
Cr2	*	2,85	3,18	-	3,14	2,76	-	-	2,94	-	3,05	-	-	2,95	-	-
Cr3	*	3,13	-	3,18	2,84	-	2,77	-	2,95	3,04	-	-	-	-	2,85	-
Cr4	*	-	3,14	2,84	3,17	-	2,76	2,85	-	-	3,06	-	2,88	-	-	-
Fe1	-	-	-	-	2,14	-	2,13	-	1,99	-	2,34	-	2,24	2,52	2,14	1,84
Fe2	-	-	-	2,14	-	-	2,15	2,03	-	2,45	-	1,89	2,05	-	2,55	*
Fe3	-	-	2,14	-	-	2,13	-	2,04	-	-	2,35	2,01	1,71	1,84	-	*
Fe4	-	2,13	-	-	-	2,15	-	-	2,02	2,23	-	2,43	-	2,02	1,55	*

«\*» - подобный; «-» - отсутствует

При переходе к дважды замещённому хрому  $((Cr_2Fe_2)_{0,5}SiC)$  можно отметить, что при послойном замещении, когда образуется по два слоя одного сорта атомов (например – Fe-Fe-Cr-Cr) у атома хрома незначительно снижается спин (до

2,76÷2,95) а у железа спины приобретают разное значение от 2,15 до 1,99 что соответствует степени окисления  $\text{Cr}^{+3}$  и  $\text{Fe}^{+2}$  соответственно (таблица 7.2). При этой степени замещения, но с чередованием атомных слоёв металла, как Cr-Fe-Cr-Fe наблюдается возрастание общего спина до 9,48 за счёт как хрома (до 3,06) так и железа (до 2,45) что может означать изменение степени окисления железа с  $\text{Fe}^{+2}$  до  $\text{Fe}^{+3}$ .

При переходе к трижды замещённому хрому ( $(\text{Cr}_1\text{Fe}_3)_{0,5}\text{SiC}$ ) происходит незначительное изменение спина на атоме хрома (до 2,85) и разнонаправленное изменение для атомов железа с большим разбросом значений от 1,55 до 2,55 (таблица 7.2). Т.е. железо принимает различные степени окисления ( $\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}^{+3}$ ) в рамках одной ячейки, что должно приводить к интересным физико-химическим свойствам данных материалов.

В целом можно видеть, что варьированием химического соотношения между двумя элементами метала можно менять магнитные свойства. Более того, замещением можно варьировать толщину слоёв из каждого карбида металла при фиксированном атомном соотношении между ними, что также может оказаться полезным при построении логических устройств. Расчёты показывают, что это может быть ещё одним способом «тюнинга» их магнитных свойств.

Далее было интересно смоделировать гибридные материалы на основе МАХ фаз и каких-нибудь плоских материалов таких как графен и т.д. Интересно это с той точки зрения, что можно создавать системы с туннельным магнитным резонансом. Ранее нами были проведены расчёты систем  $\text{VTe}_2/\text{Графен}/\text{VTe}_2$  и показана перспектива данных материалов в спинтронике. Новые перспективные спин-поляризованные тройные гетероструктуры толщиной 1,4 нм на основе графена, расположенного между двумя монослоями дителлурида ванадия, были исследованы с использованием DFT. Было показано, что взаимодействие с графеном может менять электронную структуру с металлической на полуметаллическую, что делает данные материалы перспективными для использования в магнитных туннельных переходах. Расчётное отношение туннельного магнитосопротивления для благоприятной конфигурации

гетероструктуры, оценённое в рамках модели Джуллиера, составляет 220%, что открывает возможность использовать такие гибридные материалы в качестве перспективного магнитного туннельного перехода в новых спинтронных наноустройствах, основанных на эффектах туннельного магнитного сопротивления.

Исходя из этого смоделировали структуру, состоящую из нескольких слоёв MAX фазы, графена или  $g\text{-C}_3\text{N}_4$  и, в качестве третьего гибридного слоя, металлов (рисунок 7.4). Полученную систему MAX/графен/Me или MAX/ $g\text{-C}_3\text{N}_4$ /Me оценивали с точки зрения перспектив для приложений спинтроники.

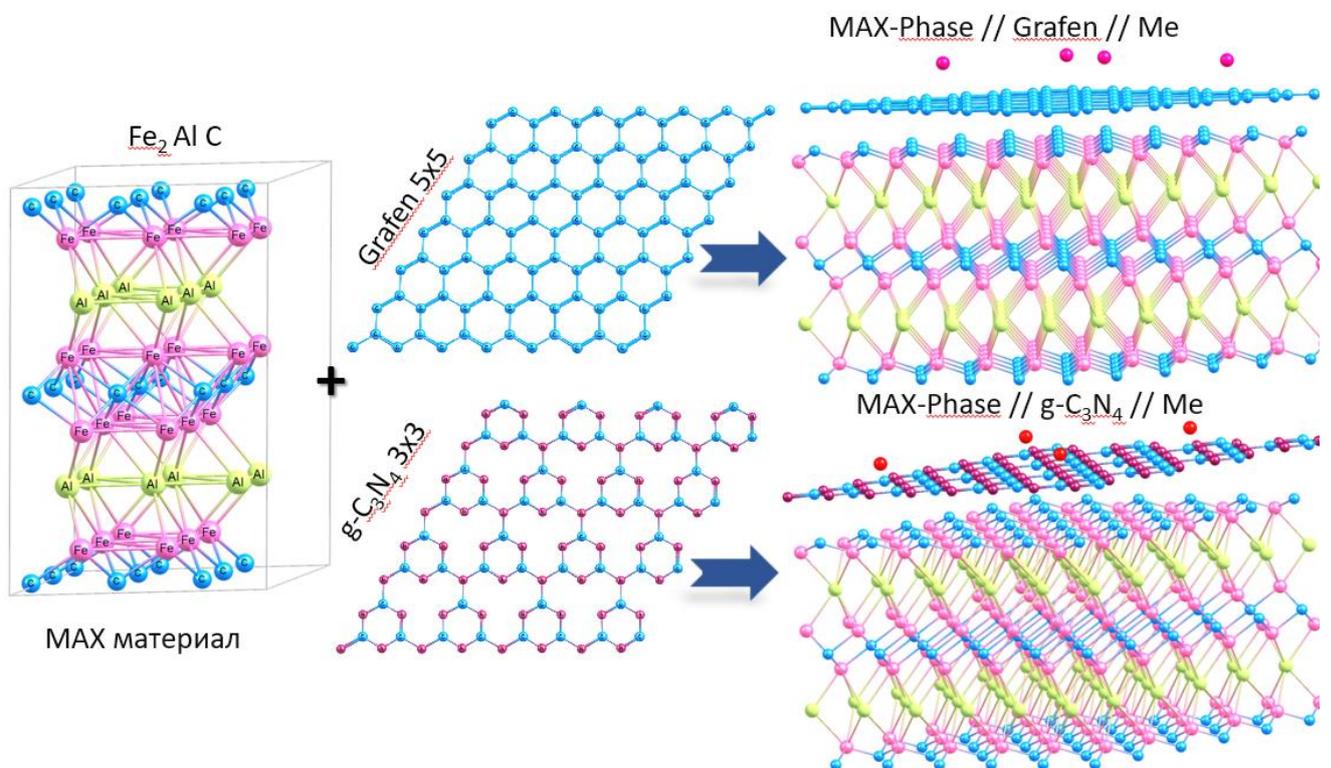


Рисунок 7.4. Моделирование гибридных материалов на основе MAX фаз, графена или  $g\text{-C}_3\text{N}_4$  и переходного металла

При расчёте таких систем приходится отдельно рассчитывать равновесную конфигурацию каждого фрагмента гибридной структуры. В работе отдельно рассчитывали плоскую MAX фазу, состоящую из 9 слоёв со слоем углерода по центру (рисунок 7.4) и на границе фазы, т.к. данные фазы должны терминироваться углеродом. Далее на зафиксированную геометрию располагали графен или  $g\text{-C}_3\text{N}_4$  и оптимизировали под MAX материал. На следующем этапе на систему MAX/ $g\text{-C}_3\text{N}_4$ /Me

$C_3N_4$  помещали Me и находили равновесную геометрию. Отдельно для выяснения влияния подложки на спиновое состояние металла рассчитывали систему  $g-C_3N_4/Me$  и биграфен/Me, но уже с полной оптимизацией геометрии системы (сл. параграф). Расчёты показывают, что для MAX слоёв наблюдается общий спин на ячейку равный 7,68 при этом на двух атомах железа, которые находятся в центре структуры 2,24, на крайних атомах железа – 2,42 что выше, чем для кристалла ( $Fe_2AlC$ ). У металлов на поверхности графена при этом получился спин равный 3,15 для атомов железа и 2,78 для атомов хрома, а на поверхности  $g-C_3N_4$  и 2,75 для железа и 2,18 для хрома. Таким образом моделирование показывает перспективу в использовании таких структур для применений в спинтронике.

## §7.2. ГИБРИДНЫЕ СЛОИСТЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Графен известен как один из самых перспективных наноматериалов. Имея толщину в один атом, он может использоваться в различных электрохимических и фотоэлектрических приложениях, например топливные элементы или солнечные элементы и т. д. [334]. Кроме того, графен обладает высокой подвижностью электронов и большой площадью поверхности. Ряд экспериментальных [334] и теоретических [335–337] работ посвящён исследованию влияния сорбированных атомов на электронную структуру и спиновые свойства графена. Атомы переходных металлов (ТМ), которые могут эффективно адсорбироваться на графене, обладают сильной энергией связи и могут применяться для графеновых систем на основе подложек [336]. Атомы переходного металла (ТМ) в основном образуют ковалентные связи с атомами графена за счёт сильной гибридизации между  $d$ -орбиталями адатомов и  $sp$ -орбиталями графеновой подложки и передачи заряда графену [338], особенно с атомами, адсорбированными на вакансиях [334]. Наличие вакансий увеличивает реакционную способность углеродной структуры и позволяет сорбировать адатомы на листе графена. Атомы переходных металлов образуют ковалентные связи с атомами углерода в окрестности вакансий [339].

Чтобы оценить лабильность этих структур, необходимо знать высоту потенциальных барьеров для миграции адатомов ТМ по поверхности. По результатам Крашенинникова с соавторами [340], идеальный лист графена не склонен к образованию прочных связей с атомами металла. Например, переходные металлы первого ряда, такие как Ti, Co, Fe, Cr и Mn, демонстрируют энергии связи с поверхностью графена, лежащие в диапазоне ( $-0,2$ – $1,5$  эВ). Вместе с тем, высота потенциальных миграционных барьеров ( $0,2$ – $0,8$  эВ) свидетельствует о высокой подвижности адатомов металлов, нанесённых на поверхность углерода.

Поскольку вакансии считаются наиболее подходящими центрами для адсорбции атомов металла, может быть интересно, могут ли атомы, адсорбированные вакансиями, покинуть исходные центры адсорбции так же легко, как атомы, адсорбированные на идеальном листе графена. Рассчитанные для одиночных вакансий Au, Pt, Fe, Co и Ni миграционные барьеры оказались относительно высокими и равными 2,1, 3,1, 3,6, 3,2 и 3,1 эВ соответственно [340], что хорошо согласуется с экспериментальными данными (2,4 и 2,6 для Au и Pt соответственно) [339]. Можно было ожидать миграционных барьеров такой же величины и для других атомов переходных металлов. Барьер миграции, рассчитанный для атома Au, адсорбированного на двойной вакансии графена (5 эВ) [340], также хорошо согласуется с экспериментальными значениями [341]. Таким образом, в отличие от адсорбированных на идеальном листе графена, атомы ТМ, адсорбированные вакансиями, вряд ли будут перемещаться по поверхности при комнатной температуре.

Предыдущее исследование [342] продемонстрировало возможность адсорбции атомов переходных металлов (ТМ = Cr, Fe, Mn, Ti и V) на внешней поверхности биграфена и их проникновения в межслоевое пространство через одиночную вакансию. Высота рассчитанных потенциальных барьеров между этими двумя возможными центрами адсорбции подразумевает, что такая миграция может происходить при температурах выше 1000 К. Эта модель может быть использована для описания образования кластеров ТМ на тонких чешуйках графита. Двойные вакансии могут образовываться путём миграции и

рекомбинации одиночных вакансий при 3000 К [343]. Молекулярно-динамическое моделирование поведения вакансий в графене показало [344], что двойная вакансия представляет собой дефект 5–8-5, состоящий из двух пятиугольников и одного восьмиугольника между ними. Такая вакансия 5–8-5 чрезвычайно устойчива и не претерпевает никаких структурных изменений вплоть до 90 пс. при 3000 К. В дальнейшем она может быть преобразована в дефект 555–777 (три пятиугольника и три семиугольника) при повышении температуры до 3800 К [345].

Графитовый нитрид углерода ( $g\text{-C}_3\text{N}_4$ ), структурно аналогичный дефектному графену [346] и недавно предсказанный как обладающий сложными электронными свойствами [347], в настоящее время привлекает значительное внимание как многообещающий материал для различных приложений в электронных устройствах [348–351]. Существует два полиморфа  $g\text{-C}_3\text{N}_4$  –  $g\text{-CN}_1$ , построенный из триазина, и  $g\text{-CN}_2$ , построенный из мономеров три-*s*-триазина (гептазина), соответственно [352]. В отличие от большинства органических соединений,  $g\text{-C}_3\text{N}_4$  химически и термически устойчив [348,353,354]. Он нерастворим в воде и может быть синтезирован с использованием различных методов, таких как CVD, PVD, сольвотермический метод и т.д. [355]. Валентная зона  $g\text{-C}_3\text{N}_4$  образована неподелённой электронной парой азота и системой  $\pi$ -связей, поэтому её можно настраивать путём изменения химического окружения. Недавно были синтезированы наноллисты  $g\text{-C}_3\text{N}_4$ , легированные ионами металлов, и исследована каталитическая эффективность таких наноструктур [356]. Было обнаружено, что каталитическая эффективность может быть приписана уменьшению запрещённой зоны, уменьшению рекомбинации носителей заряда и активации пероксимоносульфата (PMS).

Данная часть работы посвящена описанию особенностей адсорбции и миграции атомов переходных металлов первого ряда на биграфене с двойной вакансией и  $g\text{-C}_3\text{N}_4$  в качестве моделей экспериментально наблюдаемых условий роста нанокластеров ТМ. Результаты для двойной вакансии биграфена также сравниваются с результатами для одиночной вакансии биграфена и монослоя графена. Чтобы определить роль второго слоя графена биграфена в миграции ТМ,

необходимо провести расчёты структуры миграции ТМ через единственную вакансию в единственном слое графена.

Расчёты были выполнены с использованием пакета моделирования Vienna Ab-initio Simulation Package (VASP) в рамках DFT. Реализован базисный набор плоских волн (PAW) [357,358], функционал PBE и поправка Гримма для взаимодействия Ван-дер-Ваальса [359]. Расчёты в одной точке расчёты для анализа природы связи были выполнены на уровне теории PBE0. Метод натянутой эластичной ленты (Nudged Elastic Band – NEB) был использован для расчёта пути минимальной энергии миграции атома ТМ с внешней поверхности во внутреннее пространство [360]. Была реализована выборка из  $k$ -точек зоны Бриллюэна Монхорста-Пака, и сетка  $k$ -точек содержала  $12 \times 12 \times 1$   $k$ -точек вместе с направлениями  $a$ ,  $b$  и  $c$  для элементарных ячеек биграфена и  $g$ - $C_3N_4$  и  $3 \times 3 \times 1$   $k$ -точек для соответствующих суперячеек соответственно. Интервал вакуума  $20 \text{ \AA}$  был установлен перпендикулярно плоскости, чтобы избежать искусственного взаимодействия между соседними ячейками. Энергия отсечки составляла  $400 \text{ эВ}$ . Максимальная сила, действующая на атомы, составляющая менее  $0,001 \text{ эВ/\AA}$ , использовалась в качестве критерия останова для оптимизации структуры.

Оптимизация элементарной ячейки была проведена сначала для бездефектной гексагональной ячейки биграфена ( $a = b = 2,45 \text{ \AA}$ ,  $c = 20,00 \text{ \AA}$ ), а затем для листа биграфена с двойной вакансией с использованием суперячейки  $5 \times 5 \times 1$ . Для дальнейших расчётов барьеров миграции через двойную вакансию были выбраны атомы  $3d$ -металлов Mn и Ti. Поскольку атомы Mn и Ti обладают наименьшим ( $2,94$  и  $3,78 \text{ эВ}$  соответственно) и наибольшим ( $5,82$  и  $6,60 \text{ эВ}$  соответственно) значениями барьеров миграции через одиночную вакансию среди других атомов  $3d$ -металлов [342], они были учтены в исследовании.

Для оптимизации структуры  $C_3N_4$  были рассмотрены два различных изомера:  $g$ - $CN_1$  на основе триазина и  $g$ - $CN_2$  на основе гептазина ( $g$ - $CN_x$ ) [352]. Затем были сконструированы гибридные структуры ТМ/ $g$ - $CN_1$  и ТМ/ $g$ - $CN_2$  путём заполнения каждой отдельной вакансии  $g$ - $CN_1$  и  $g$ - $CN_2$  атомом переходного металла (ТМ = Mn, Fe) точно внутри поры (плоскости) или поверх её поры (вне плоскости). Два

дополнительных положения, а именно, ТМ-ион наверху ароматического кольца  $CN_1$  листа (ароматический) и ТМ-ион, помещённый в асимметричное положение (асимметричный) (также были введены), чтобы описать путь миграции по поверхности.

Для начала были получены модельные структуры для адсорбции ТМ. Оптимизация элементарной ячейки была проведена для бездефектной гексагональной ячейки биграфена ( $a=b=2,45 \text{ \AA}$ ,  $c=20,00 \text{ \AA}$ ), а также для листа биграфена с двойной вакансией с использованием суперячейки  $5 \times 5 \times 1$ . Рисунок 7.5 иллюстрирует оптимизированную структуру двойной вакансии, введённой в один слой графена биграфеновой суперячейки. Дефект 5-8-5 образовался в процессе оптимизации геометрии.

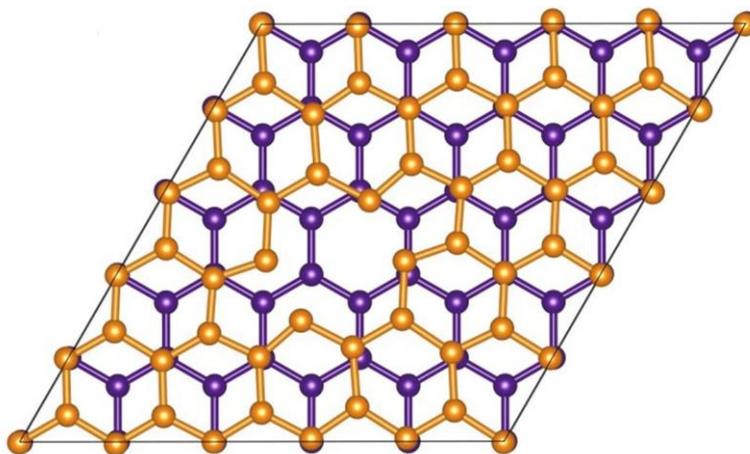


Рисунок 7.5. Биграфен с двойной вакансией после оптимизации с образованием дефекта 5-8-5. Атомы углерода верхнего и нижнего слоёв графена обозначены как оранжевые и пурпурные шары соответственно

На рисунке 7.6 показаны результаты оптимизации геометрии отдельно стоящих  $g-CN_1$  и  $g-CN_2$ . Соответствующие параметры элементарной ячейки представлены в таблице 1 и хорошо согласуются с экспериментальными [354] данными: расхождения с экспериментом по РСА составляют 1% для  $g-CN_1$  и 0,15% для  $g-CN_2$ .

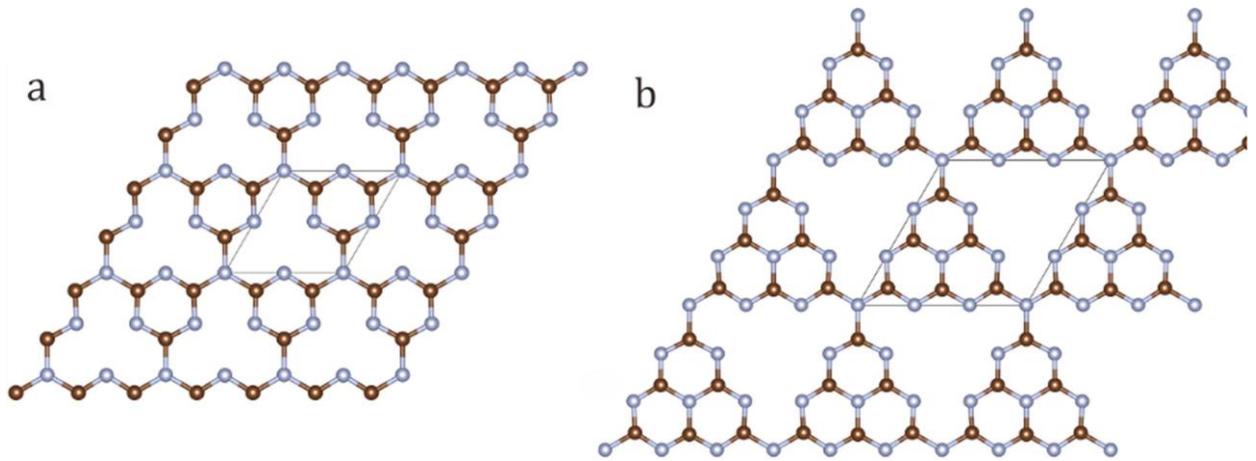


Рисунок 7.6. Атомная структура  $g\text{-CN}_1$  (а) и  $g\text{-CN}_2$  (б). Элементарные ячейки обозначены параллелограммами. Атомы углерода показаны коричневым цветом, а атомы азота – серым

Поскольку атомы Mn и Ti обладают наименьшим (2,94 и 3,78 эВ соответственно) и наибольшим (5,82 и 6,60 эВ соответственно) значениями барьеров миграции через одиночную вакансию среди других атомов  $3d$ -металлов [342], они были выбраны для дальнейших расчётов. Энергии связи и структурные параметры атомов Mn и Ti, адсорбированных на одиночных и двойных вакансиях в биграфене, сведены в таблицу 7.3. Аналогичным образом, в предыдущем исследовании [342], как внешняя поверхность, так и межслоевое пространство рассматривались для оценки миграционных барьеров между две адсорбционные площадки.

Таблица 7.3. Энергии связи и структурные параметры для атомов Ti и Mn, адсорбированных на одиночных и двойных вакансиях биграфена

TM	Рассчитанное свойство	Двойная вакансия		Одиночная вакансия	
		Внутренняя сорбция	Внешняя сорбция	Внутренняя сорбция	Внешняя сорбция
Ti	Энергия связи, эВ	-1,99	-1,17	-3,25*	-2,61*
	TM-C дистанция – $D_1$	2,09	2,05	2,01	1,98
	Дистанция – $D_2$	0,89	0,82	1,61	1,53
Mn	Энергия связи, эВ	-0,83	-0,47	-2,93*	-2,18*
	TM-C дистанция – $D_1$	1,99	1,97	1,83	1,80
	Дистанция – $D_2$ ,	0,68	0,56	1,29	1,22

$D_1$  и  $D_2$  дистанция в Å в соответствии с рисунком 7.7; \* взято из [342]

Энергии связи атомов ТМ с листом биграфена заметно снизились по сравнению со случаем адсорбции одиночных вакансий, что может быть связано с увеличением количества металла к атомам углерода из-за размера двойной вакансии (см. таблицу 7.3). Когда ТМ адсорбируется на двойной вакансии снаружи углеродной поверхности, металл притягивается сильнее, чем в случае моновакансии, из-за более сильного связывания ТМ с двойными вакансиями. Следовательно, расстояние  $D_2$  (расстояние между переходным металлом и порой) для моновакансий почти вдвое больше, чем для двойных вакансий (рисунок 7.7). Напротив, когда металл внедряется в вакансию, т.е. в межслоевое пространство, атом металла удаляется от поверхности углерода. Следовательно, расстояние  $D_2$  для межслоевого пространства больше, чем  $D_2$  для двухслойного графена на поверхности. Это можно объяснить влиянием второго слоя графена, который будет притягивать ТМ, тем самым увеличивая расстояние.

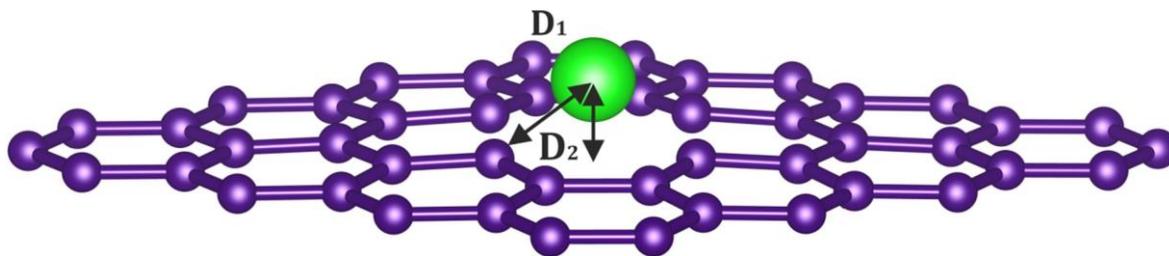


Рисунок 7.7. Структурные параметры адсорбции атомов ТМ на бивакансии в биграфене. Атомы ТМ и углерода обозначены как золотые и пурпурные шары соответственно.  $D_1$  - расстояние между переходным металлом и ближайшим атомным атомом углерода в месте вакансии.  $D_2$  – расстояние между переходным металлом и порой

На рисунке 7.8 показано пространственное распределение спиновой плотности в биграфене с двойной вакансией, заполненной атомом Mn. Атом марганца демонстрирует положительный магнитный момент из-за неспаренных  $d$ -электронов, а четыре ближайших атома углерода приобретают отрицательную спиновую поляризацию, что даёт суммарный магнитный момент  $3 \mu_B$  как для внутреннего, так и для внешнего сорбированного Mn. Для структуры на основе Ti спиновой поляризации не наблюдалось.

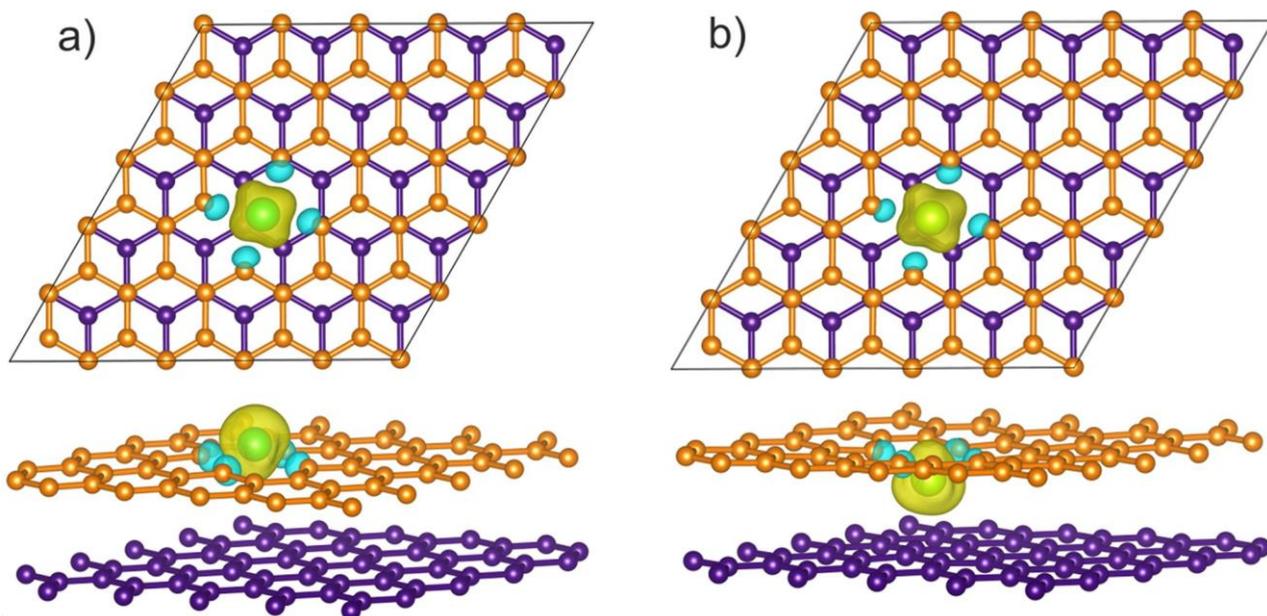


Рисунок 7.8. Пространственное распределение спиновой плотности в Mn, сорбированном на биграфене. (a) Внешняя сторона; (b) Внутри двойной вакансии биграфена. Атомы углерода верхнего и нижнего слоёв графена обозначены оранжевыми и пурпурными шарами

Потенциальные барьеры миграции атомов ТМ через двойную вакансию (см. рисунок 7.9) сведены в таблицу 7.3.

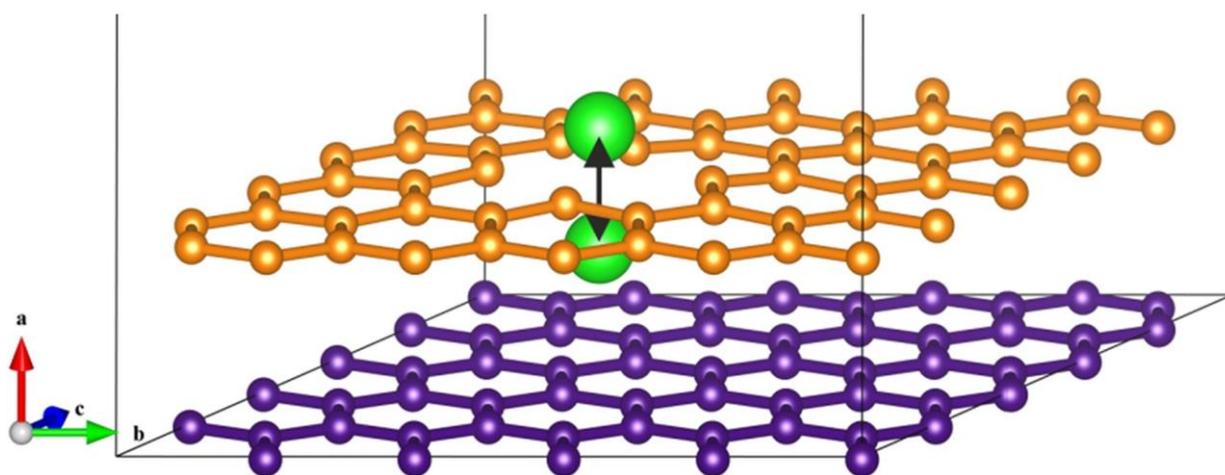


Рисунок 7.9. Миграция переходного металла (зелёный шар) с поверхности биграфена в межслоевое пространство

Как видно, атомы ТМ могут перемещаться через двойную вакансию намного легче, чем через одиночную. Например, атом Mn движется через двойную вакансию с поверхности в межслоевое пространство с барьером 0,38 эВ в отличие

от барьера 2,94 эВ в случае одиночной вакансии. Это можно объяснить увеличением объёма вакансии по отношению к площади поверхности, а также уменьшением энергии связи с поверхностью биграфена: чем выше энергия связи, тем меньше подвижность адсорбированного атома. Миграционное равновесие смещено в сторону образования внутри сорбированного комплекса как для Mn, так и для Ti, что согласуется с данными по одиночной вакансии [341].

Таблица 7.4. Потенциальные барьеры миграции атома ТМ с внешней поверхности биграфена в межслоевое пространство и обратно через одиночные и двойные вакансии

ТМ	Высота барьера миграции, эВ			
	Двойная вакансия		Одиночная вакансия	
	В межслоевое пространство	На внешнюю поверхность	В межслоевое пространство	На внешнюю поверхность
Ti	2,15	2,97	5,82*	6,60*
Mn	0,38	0,74	2,94*	3,78*

\* взято из [342]

Результаты по адсорбция атомов Fe и Mn  $g$ -C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> и структурные параметры конформеров ТМ/ $g$ -CN<sub>1</sub> и ТМ/ $g$ -CN<sub>2</sub> представлены в таблице 7.5. Расчёты структуры показали, что параметры элементарной ячейки ТМ/ $g$ -CN<sub>1</sub> зависят от ионных радиусов атомов ТМ, тогда как структура ТМ/ $g$ -CN<sub>2</sub> остаётся неизменным из-за относительно больших вакансий исходного  $g$ -CN<sub>2</sub>. Расчёты электронной структуры показали, что низкоспиновое состояние (3,10, 2,00, 4,96 и 3,74  $\mu$ Б) является благоприятным для ТМ/ $g$ -CN<sub>1</sub> и высокоспиновое состояние (4,58, 3,33, 4,80 и 3,71  $\mu$ Б) может быть благоприятным для гибридных структур ТМ/ $g$ -CN<sub>2</sub> соответственно. Кроме того, различия между магнитными моментами (таблица 7.5) для плоских и внеплоскостных ТМ/ $g$ -CN<sub>1</sub> могут определять изменения в переносе электронов и природу связывания ионов ТМ с узлами азота.

Таблица 7.5. Параметры решётки ( $a$ , Å), длины связи металл-азот (Me-N, Å), магнитные моменты ( $\mu$ ,  $\mu_B$ ) и разность энергии ( $\Delta E$ , эВ) гибридных соединений TM/ $g$ -CN<sub>1</sub> и TM/ $g$ -CN<sub>2</sub>

TM ион	В плоскости			Вне плоскости			$\Delta E$
	$a$	Me-N	$\mu$	$a$	Me-N	$\mu$	
TM/ $g$ -CN <sub>1</sub>							
Mn	5,39	1,71	3,10	4,83	2,05	4,58	-2,963
Fe	5,23	1,79	2,00	4,83	1,97	3,33	-2,033
TM/ $g$ -CN <sub>2</sub>							
Mn	7,10	2,35	4,96	7,05	2,35	4,80	-0,257
Fe	7,10	2,35	3,74	7,05	2,35	3,71	-0,220

Низкоспиновые состояния могут быть реализованы путём переноса электронов неподелённой электронной пары азота на вакантные  $d$ -орбитали атомов Fe/Mn. Это предположение может быть подтверждено рисунком 7.10, показывающим, как положительная спиновая плотность локализуется как в TM, так и в азотных сайтах, что указывает на прямые химические взаимодействия между ними. Короткие расстояния между атомами азота и TM приводят к переносу электронов с  $p$ -орбиталей азота на  $d$ -орбитали TM. В отличие от ранее упомянутого, спиновая плотность внеплоскостной структуры гораздо более локализована на TM-ионе (рисунок 7.10).

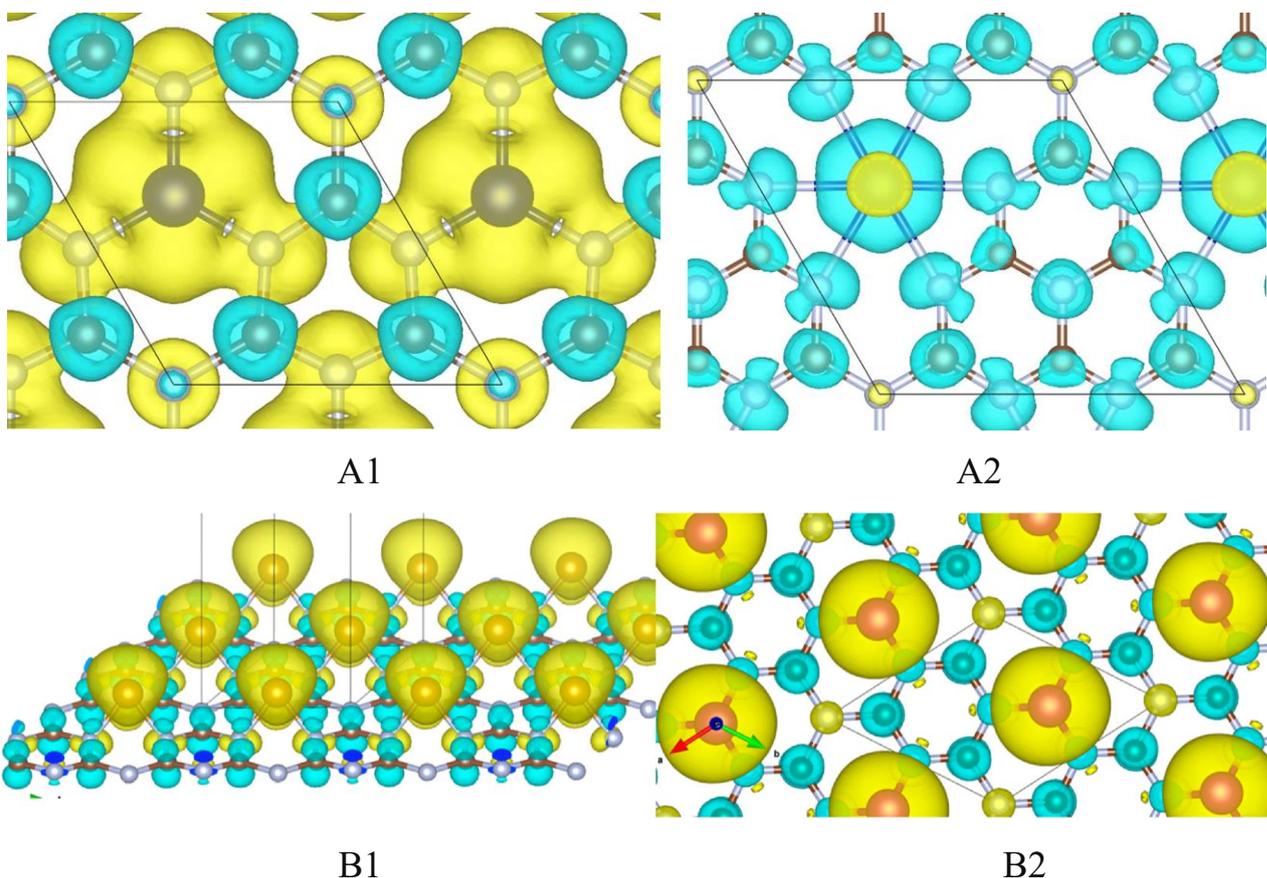


Рисунок 7.10. Пространственное распределение спиновой плотности плоскости  $\text{Mn/g-CN}_1$  (A1) и  $\text{Mn/g-CN}_2$  (A2) и  $\text{Fe/g-CN}_1$  (B1) и  $\text{Fe/g-CN}_2$  (B2). Плотность спина  $\alpha$  – бирюзовый цвет,  $\beta$  – жёлтый. Элементарные ячейки обозначены параллелограммами. Атомы углерода – коричневый цвет, атомы азота – серый

Химическая связь ТМ-атом с азотом как для Fe, так и для Mn оказалась настолько прочной, что невозможно удерживать атомы металла на поверхности гетероструктуры  $\text{TM/g-CN}_2$ , то есть ТМ-атомы должны проникать внутрь поры. В отличие от этого, небольшой размер вакансии  $\text{g-CN}_1$  удерживает оба ТМ-атома вне поры.

### §7.3. ВЫВОДЫ

Предложены гибридные структуры, состоящие из слоёв МАХ фаз, и плоских структур биграфена и  $\text{C}_y\text{N}_x$  с различными металлами на поверхности. В

гетероструктурах типа Металл/биграфен и Металл/g-C<sub>y</sub>N<sub>x</sub> были определены высоко- и низкоспиновые состояния в зависимости от величины пор в плоском материале. Варьированием химического соотношения между двумя элементами металла можно менять магнитные свойства и структурные параметры. Расчёты показывают, что замещение может быть эффективным способом настройки магнитных свойств. Расчёты систем VTe<sub>2</sub>/Графен/VTe<sub>2</sub> показали перспективу использования данных материалов в спинтронике. Взаимодействие с графеном может влиять на электронную структуру, что делает данные материалы перспективными для использования в магнитных туннельных переходах.

Пути адсорбции и миграции атомов ТМ (Ti, Mn, Fe) на 2D g-CN<sub>x</sub> и листах биграфена с двумя вакансиями были исследованы с использованием современных расчётов электронной структуры. Адсорбция атома переходного металла первого ряда на двойной вакансии биграфена характеризуется более низкими энергиями связи и потенциальными барьерами миграции между внутренними и внешними центрами адсорбции по сравнению с таковыми для биграфена с одной вакансией. Показано, что образование межплоскостных комплексов является предпочтительным, а потенциальные барьеры миграции атомов ТМ по поверхности вне вакансии достаточно высоки, что обеспечивает стабильность гибридных структур.

Показано, что второй слой биграфена играет важную роль в стабилизации структур из-за образования внутренних сорбированных комплексов. Было обнаружено, что атомы Fe/Mn проникают через нанолит g-CN<sub>2</sub>, в то время как при g-CN<sub>1</sub> они остаются на поверхности. Также было обнаружено, что атомы металлов могут образовывать металлические кластеры. Уникальная атомная и электронная структура и спиновые свойства нанопоровых гетероструктур 2D ТМ/биграфена и ТМ/g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> очень перспективны для перспективных приложений в качестве как катализаторов, так и биосенсоров для биомедицинских приложений.

В работе принимали участие А.А. Кузубов, Е.А. Ковалёва, Ю.А. Мельчакова, А.А. Шубин, В.В. Козак, Д.А. Иванова, Н.А. Фёдорова, Ю.С. Ольшевская, А.В. Ковалёва, П.В. Аврамов, С.Г. Овчинников. Экспериментальная поддержка осуществлялась в Института физики ФИЦ КНЦ СО РАН в Лаборатории физики магнитных явлений под общим руководством С.Г. Овчинникова и в Лаборатории магнитных МАХ материалов под общим руководством С.Н. Варнакова.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе выполнения работы были получены следующие результаты:

1. Показано, что колебательные ИК-спектры в области  $1700\text{ см}^{-1}$  формируются колебаниями  $-\text{COOH}$  и  $\text{C}=\text{O}$  групп для возможных валентных изомеров фуллеренола с общей формулой  $\text{Gd}@C_{82}\text{O}_x\text{H}_y$ . Во время синтеза фуллеренола происходит нарушение целостности углеродного каркаса с образованием различных функциональных групп на поверхности: карбокси-, гидрокси- и кислородных мостиков.
2. Показано, что эндоэдральные комплексы с общей формулой  $\text{Gd}@C_{82}\text{O}_x(\text{OH})_y$  с  $x = 0$  и  $3$  и  $y = 24$ , обладают хорошими антиоксидантными свойствами для биомедицинских применений. Химической реакционной способности способствует внедрённый атом Gd. В случае относительно небольшого числа функциональных групп на углеродном каркасе  $C_{82}$  ( $x \sim 3$ ;  $y \sim 24$ )  $\pi$ -электронная система комплекса  $\text{Gd}@C_{82}\text{O}_x\text{H}_y$  сохраняется. Комплексы обладают высоким сродством к электрону, что обеспечивает антиоксидантные свойства. Увеличение количества гидроксильных групп ( $y > 24$ ) в комплексах  $\text{Gd}@C_{82}\text{O}_x(\text{OH})_y$  приводит к образованию внутримолекулярных водородных связей между различными группами, что препятствует химическому взаимодействию с растворителем, что, в свою очередь, приводит к уменьшению реакционной способности.
3. На основе расчётов спектров поглощения и испускания ионных форм флуоресцеина, эозина и эритрозина с помощью теории функционала плотности получена линейная регрессия для расчётных и экспериментальных энергий переходов по D, MI, MII, Q, Z и C-формам, которая была использована для прогнозирования спектров флуоресценции ионных и молекулярных форм, экспериментальное определение которых невозможно. Предсказанные длины волн испускания хиноида, моноаниона и цвиттериона составляют 549, 494 и 482 нм, соответственно. Доминирующей флуоресцентной формой в широком интервале pH остаётся дианионная форма с испусканием в области 513 нм, которая определяет энергетическое положение и интенсивность максимума испускания смеси ионных

форм.

4. Было показано, что наличие различных алкильных заместителей в структуре сополифлуоренов не влияет на электронное строение и как следствие на спектры поглощения. Было показано, что наименьшее значение энергетической щели достигается при присоединении флуорена к карбазолу в положении 2,7, поскольку электронная плотность равномерно делокализуется на всей сопряжённой части полимера

5. Моделирование конформации молекул феромонов при возбуждении светом показало изменение дипольного момента до 30% относительно линейной конформации молекул, содержащих кислород, а для непредельных углеводородов – до 50%. Было показано, что для феромонов, не содержащих кратные связи, максимум поглощения лежит в диапазоне 136-144 нм, для непредельных углеводородов и непредельных кислородсодержащих феромонов – в диапазоне 157-204 нм, для кислородсодержащих феромонов с сопряжёнными двойными связями – в диапазоне 226-230 нм. На основе моделирования реакций феромонов в возбуждённом состоянии с водой и кислородом было показано, что барьер реакции либо отсутствует, либо снижается в несколько раз. Была определена корреляция между физико-химическими свойствами молекул и коммуникацией насекомых.

6. Построена модель флуоресценции фотопротеина обелина. Показано, что экспериментально наблюдаемая длина волны излучения 500 нм соответствует «комплексу с переносом протона» между кислородом целентерамида и гистидином His22. Фотовозбуждение в верхние электронно-возбуждённые состояния на 260–300 нм вызывает дополнительную, к сине-зелёной, флуоресценцию в ближней УФ-области. Возбуждение, ответственное за этот электронный переход, формируется бензольным фрагментом к конъюгированному пиразиново-фенольному фрагменту целентерамида. Данное явление может вносить вклад в УФ-флуоресценцию фотопротеинов.

7. Разработан новый метод для определения атомной структуры наноразмерных некристаллических объектов по данным малоуглового рассеяния синхротронного излучения и теоретического моделирования. На примере аптамера RE-31, который

имеет кристаллическую структуру с белком, была произведена апробация метода и получена структура молекулы в согласии с экспериментальными данными. Данный подход позволил получить атомную структуру при нормальных условиях в растворе для биомедицинских исследований.

8. На основе моделирования конъюгатов аптамера и арабиногалактана с магнитными наночастицами была выявлена природа взаимодействия между аптамерами и природными полисахаридами. Было показано, что в зависимости от конформации моносахарид образует одну или две водородные связи с атомами кислорода в фосфатной группе нуклеотида. Взаимодействия водородных связей между -ОН группами моносахаридов и фосфатными группами в нуклеотидах выделяются большими значениями от -24 до -38,1 ккал/моль.

9. Теоретически исследованы  $M_2AX$  фазы  $Cr_2SiC$ ,  $Fe_2SiC$  и  $Fe_2AlC$   $Cr_2AlC$   $Mn_2AlC$  с различным магнитным упорядочиванием. Было показано, что антиферромагнитное состояние оказывается выгоднее по энергии относительно ферромагнитного. В частности, в системе от  $Cr_2SiC$  ( $S=6$ ), через последовательное замещение хрома в слоях по общей формуле  $(Cr_{4-x}Fe_x)_{0,5}SiC$ , до  $Fe_2SiC$  ( $S=6,5$ ) показано изменение суммарного спина с возрастанием до  $S=9$  для систем с одним атомом железа и тремя атомами хрома, до  $S=8$  с двумя атомами железа и хрома и до  $S=8$  для одного атома хрома и трёх атомов железа.

10. Предложены гибридные структуры, состоящие из слоёв  $MAX$  фаз, и плоских структур биграфена и  $C_yN_x$  с различными металлами на поверхности. В гетероструктурах типа Металл/биграфен и Металл/ $g-C_yN_x$  были определены высоко- и низкоспиновые состояния в зависимости от величины пор в плоском материале. На основе расчётов электронной структуры было показано, что низкоспиновое состояние (3,10, 2,00, 4,96 и 3,74  $\mu_B$ ) является энергетически выгодным для  $Me/g-CN_1$  а высокоспиновое состояние (4,58, 3,33, 4,80, 3,71  $\mu_B$ ) благоприятно для гибридных структур  $Me/g-CN_2$  соответственно.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность своим учителям, проф. С.Г. Овчинникову и П.В. Аврамову, за многолетнее успешное сотрудничество и консультирование на всех этапах подготовки работы. Своим коллегам по работе А.А. Кузубову, С.А. Варганову, Д.Г. Фёдорову А.С. Фёдорову, П.О. Краснову, А.А. Шубину, А.Э. Соколову, С.Н. Варнакову; соратникам, студентам, аспирантам: Л.Ю. Антипиной, П.В. Артюшенко, И.А. Щугоревой, А.В. Роговой, А.В. Шакировой. Всем своим (144) соавторам! Сотрудникам Института Физики им. Л.В. Киренского за замечания и помощь в обсуждении результатов и, самое главное, поддержку.

**СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ****Статьи в реферируемых журналах**

1. Felix N. Tomilin, Anastasia V. Rogova, Ludmila P. Burakova, Olga N. Tchaikovskaya, Pavel V. Avramov, Dmitri G. Fedorov and Eugene S. Vysotski. Unusual shift in the visible absorption spectrum of an active ctenophore photoprotein elucidated by time-dependent density functional theory. *Photochem Photobiol Sci* 20(4), 559–570 (2021). <https://doi.org/10.1007/s43630-021-00039-5>
2. Shakirova AA, Tomilin FN, Pomogaev VA, Vnukova NG, Churilov GN, Kudryasheva NS, Tchaikovskaya ON, Ovchinnikov SG, Avramov PV. Synthesis, Mass Spectroscopy Detection, and Density Functional Theory Investigations of the Gd Endohedral Complexes of C82 Fullerenols. *Computation*. 2021; 9(5):58. <https://doi.org/10.3390/computation9050058>
3. I. Melchakova, K.M. Nikolaeva, E.A. Kovaleva, F.N. Tomilin, S.G. Ovchinnikov, O.N. Tchaikovskaya, P.V. Avramov, A.A. Kuzubov, Potential energy surfaces of adsorption and migration of transition metal atoms on nanoporous materials: the case of nanoporous bigraphene and g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>, *Applied Surface Science*, Vol. 540, Part 1, 28 (February) 2021, pp. 148223-148232 [doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.148223](https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.148223)
4. Ф.Н. Томилин, А.А. Шубин, В.В. Козак, Д.А. Иванова, Н.А. Федорова, Ю.С. Ольшевская, А.В. Ковалева, П.В. Аврамов, С.Г. Овчинников. Влияние замещения на магнитные моменты атомов железа и хрома в МАХ-фазах вида (Cr<sub>4-x</sub>Fe<sub>x</sub>)<sub>0.5</sub>SiC. Теоретический расчёт. *Физика Металлов и Металловедение*, 2022, том 123, № 7, с. 1–5
5. Rogova, A.V., Tomilin, F.N., Gerasimova, M.A., Slyusareva, E.A. Modeling of Electronic Spectra of Ionic Forms of Eosin and Erythrosin. *Russian Physics Journal*, 2020, 63(8), pp. 1417–1423
6. Aleksandr S. Kazachenko, Felix N. Tomilin, Anastasia A. Pozdnyakova, Natalia Yu. Vasilyeva, Yuriy N. Malyar, Svetlana A. Kuznetsova and Pavel V. Avramov Theoretical DFT interpretation of infrared spectra of biologically active

- arabinogalactan sulphated derivatives. *Chemical Papers* 74, pp 4103–4113 (2020).  
[doi.org/10.1007/s11696-020-01220-3](https://doi.org/10.1007/s11696-020-01220-3)
7. Olga S. Kolovskaya, Tatiana N. Zamay, Galina S. Zamay, Vasily A. Babkin, Elena N. Medvedeva, Nadezhda A. Neverova, Andrey K. Kirichenko, Sergey S. Zamay, Ivan N. Lapin, Evgeny V. Morozov, Alexey E. Sokolov, Andrey A. Narodov, Dmitri G. Fedorov, Felix N. Tomilin, Vladimir N. Zabluda, Yulia Alekhina, Kirill A. Lukyanenko, Yury E. Glazyrin, Valery A. Svetlichnyi, Maxim V. Berezovski and Anna S. Kichkailo. Aptamer-Conjugated Superparamagnetic Ferroarabinogalactan Nanoparticles for Targeted Magnetodynamic Therapy of Cancer. *Cancers* 2020, 12(1), 216; [doi.org/10.3390/cancers12010216](https://doi.org/10.3390/cancers12010216)
  8. Marina A. Gerasimova, Felix N. Tomilin, Elena Yu. Malyar, Sergey A. Varganov, Dmitri G. Fedorov, Sergey G. Ovchinnikov, Evgenia A. Slyusareva Fluorescence and photoinduced proton transfer in the protolytic forms of fluorescein: Experimental and computational study. *Dyes and Pigments*, 2020, Volume 173, 107851. [doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.107851](https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.107851).
  9. L. V. Begunovich, A. V. Kuklin, M. A. Visotin, A. A. Kuzubov, F. N. Tomilin, A. S. Tarasov, Yu. G. Mikhalev, P. V. Avramov, Triple VTe<sub>2</sub>/Graphene/VTe<sub>2</sub> Heterostructures as Perspective Magnetic Tunnel Junction, *Applied Surface Science*. Volume 510, 30 April 2020, 145315. [doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.145315](https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.145315)
  10. Michael Przybylski, Loredana Lupu, Pascal Wiegand, Nico Hüttmann, Stephan Rawer, Wolfgang Kleinekofort, Irina Shugoreva, Anna S. Kichkailo, Felix N. Tomilin, Alexander Lazarev, and Maxim V. Berezovski. Molecular Epitope Determination of Aptamer Complexes of the Multi-domain Protein C-Met by Proteolytic Affinity- Mass Spectrometry. *ChemMedChem* 2020, 15, pp. 1–8. [doi.org/10.1002/cmdc.201900489](https://doi.org/10.1002/cmdc.201900489)
  11. Melchakova I., Kovaleva E.A., Mikhaleva N.S., Felix N. Tomilin, Sergey G. Ovchinnikov, Alexander A. Kuzubov, Paul Avramov. External electric field effect on electronic properties and charge transfer in CoI<sub>2</sub>/NiI<sub>2</sub> spinterface. *Int. J. Quantum Chem.* Volume 120, Issue 3. 2020; 120:e26092.

doi.org/10.1002/qua.26092.

12. Felix N. Tomilin, Roman Moryachkov, Irina Shchugoreva, Vladimir N. Zabluda, Georgy Peters, Mikhail Platunov, Vera Spiridonova, Anastasia Melnichuk, Anastasia Atrokhova, Sergey S. Zamay, Sergey G. Ovchinnikov, Galina S. Zamay, Alexey Sokolov, Tatiana N. Zamay, Maxim V. Berezovski, Anna S. Kichkailo, Four steps for revealing and adjusting the 3D structure of aptamers in solution by small-angle X-ray scattering and computer simulation / *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2019, 411, pp. 6723-33. doi.org/10.1007/s00216-019-02045-0.
13. E.A. Kovaleva, I. Melchakova, N.S. Mikhaleva, F.N. Tomilin, S.G. Ovchinnikov, W. Baek, V.A. Pomogaev, P. Avramov, A.A. Kuzubov, The role of strong electron correlations in determination of band structure and charge distribution of transition metal dihalide monolayers, *Journal of Physics and Chemistry of Solids*. 2019, Vol. 134, pp. 324-332. doi.org/10.1016/j.jpcs.2019.05.036.
14. Ruslan Yu Smyslov, Felix N. Tomilin, Irina A. Shchugoreva, Galina I. Nosova, Elena V. Zhukova, Larisa S. Litvinova, Alexander V. Yakimansky, Ilya Kolesnikov, Igor G. Abramov, Sergei G. Ovchinnikov, Paul V. Avramov. Synthesis and photophysical properties of copolyfluorenes for light-emitting applications: Spectroscopic experimental study and theoretical DFT consideration/ *Polymer*, April 2019, Volume 168, 2 Pages 185-198. doi.org/10.1016/j.polymer.2019.02.015.
15. F.N. Tomilin, A.S. Fedorov, P.V. Artyushenko, S.G. Ovchinnikov, T.M. Ovchinnikova, P.E. Tsikalova, V.G. Soukhovolsky. Estimation of the thermal and photochemical stabilities of pheromones Estimation of the thermal and photochemical stabilities of pheromones / *Journal of Molecular Modeling*. 2018 24:323 (9 pages). doi.org/10.1007/s00894-018-3859-5.
16. Fedorov, A. S.; Kuzubov, A. A.; Visotin, M. A.; Tomilin, F. N. New method for calculations of nanostructure kinetic stability at high temperature // *Journal of magnetism and magnetic materials*. 2017, Vol. 440 pp. 167-170. doi.org/10.1016/j.jmmm.2016.12.131 OCT 15 2017.
17. Kuklin A.V., Kuzubov A.A., Kovaleva E.A., Mikhaleva N.S., Tomilin F.N., Hyosun Lee, Avramov P.V. Two-dimensional hexagonal CrN with promising magnetic and

- optical properties: A theoretical prediction / *Nanoscale* / Vol 9, (2), 621-630, 2017 //DOI: 10.1039/C6NR07790K.
18. R Alieva, F.Tomilin, A. Kuzubov, S. Ovchinnikov, N. Kudryasheva // Ultravioletfluorescence of coelenteramide and coelenteramide-containingfluorescent proteins. Experimental and theoretical study // *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology* 162 (2016) 318–323// doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.07.004.
  19. P. V. Artyushenko, F. N. Tomilin, A. A. Kuzubov, S. G. Ovchinnikov, P. E. Tsikalova, T. M. Ovchinnikova, V. G. Soukhovolsky. Action of the atomic and electronic structure of pheromone molecules on the effectiveness of communication in xylophagous insects // *Journal of structural chemistry*. Vol. 57, No. 2, pp. 287-293, 2016.
  20. Olga A. Yaykova, Felix N. Tomilin, Irina A. Dubinina, Alexander A. Kuzubov, Alexander I. Dudnik, Natalia G. Vnukova, Sergey G. Ovchinnikov and Grigory N. Churilov. The properties of the water-soluble hydroxy-polyhydroxy fullerenes in auto-oxidation reactions epinephrine. *Journal of Siberian federal university. Chemistry* 4 (2015 8) 533-540. Doi: 10.17516/1998-2836-2015-8-4-533-540
  21. Eliseeva, N. S.; Kuzubov, A. A.; Ovchinnikov, S. G.; Serzhantova, M. V.; Tomilin, F. N.; Fedorov, A. S. Theoretical study of the magnetic properties of ordered vacancies in 2D hexagonal structures: Graphene, 2D-SiC, and h-BN / *JETP LETTERS* / T. 95 Vol 11, pp. 555 - 559, 2012
  22. Kuzubov, Alexander A.; Fedorov, Aleksandr S.; Eliseeva, Natalya S.; Tomilin, Felix N.; Avramov, Pavel V.; Fedorov, Dmitri G. High-capacity electrode material BC<sub>3</sub> for lithium batteries proposed by ab initio simulations / *Physical Review B* / T. 85 Vol 19, 2012
  23. Slyusareva, E. A.; Tomilin, F. N.; Sizykh, A. G.; Tankevich, E. Yu.; Kuzubov, A. A.; Ovchinnikov, S. G. The effect of halogen substitution on the structure and electronic spectra of fluorone dyes / *Optics and spectroscopy* / T. 112 Vol 5, pp. 671 - 678, 2012
  24. Tomilin, F. N.; Tikhonova, L. V.; Eremeeva, E. V.; Ovchinnikov, S. G.; Vysotski,

- E. S. Quantum chemical study of 2-hydroperoxycoelenterazine generation / Luminescence / T. 27 Vol 2, pp. 165 - 166, 2012
25. Antipina, L. Yu; Tomilin, F. N.; Vysotskii, E. S.; Ovchinnikov, S. G. A quantum chemical study of the formation of 2-hydroperoxy-coelenterazine in the Ca<sup>2+</sup>-regulated photoprotein obelin / Journal of structural chemistry / T. 52 Vol 5, pp. 870 - 875, 2011
  26. F.N. Tomilin, O.V. Osina, A.A. Kuzubov, S.G. Ovchinnikov, P. E. Volkova, T. M. Ovchinnikova and V. G. Soukhovolsky «Stability of forest lepidopteran pheromones against environmental factors», Biophysics, 2011, Vol. 56, No. 4, pp. 695–701.
  27. S.G. Ovchinnikov, L.Yu. Antipina, F.N. Tomilin, A.A. Kuzubov, Effect of electron correlations on the structure of photoprotein substrates JETP Letters, 2010, Vol. 91, No. 9, pp. 490–493.
  28. Tomilin F. N., Antipina L. U., Ereemeeva E.V., Ovchinnikov S. G., Vysotski E. S. Quantum chemical study of mechanism of active photoprotein generation // Luminescence, Vol. 25, No. 2. – 2010. – P. 210-211
  29. F.N. Tomilin, Antipina L.Iu., E.S. Vysotskiĭ, S.G. Ovchinnikov, I.I. Gitel'zon. The mechanism of formation of emitter by fluorescence of calcium-discharged obelin/ Biofizika, 01 Jul 2009, 54(4):630-637
  30. F.N. Tomilin, L.U. Antipina, S.G. Ovchinnikov, E.S. Vysotski, “The theoretical studies of light emitters in bioluminescence of Ca<sup>2+</sup>-regulated photoprothrin obelin”, Luminescence, March-April 2008, V.23, Issue № 2, P. 96
  31. F.N. Tomilin, L.U. Antipina, E.S. Vysotski, S.G. Ovchinnikov, I.I. Gitelzon, Fluorescence of calcium-discharged obelin: The structure and molecular mechanism of emitter formation, Dokl. Biochem. Biophys. 422 (2008) 279-284.

## **Монографии**

1. В.Г. Суховольский, П.В. Артюшенко, Ф.Н. Томилин, П.Е. Цикалова, А.В. Ковалев. Феромоны лесных насекомых: системный и квантовохимический анализ. Монография, Товарищество научных изданий КМК, Москва.

- ISBN: 978-5-907372-66-5, 2021. – Стр. 150.
2. Ovchinnikov S., Tomilin F., Artushenko P., Sukhovol'sky V., Ovchinnikova T., Volkova P., Baranchikov Y., Vysotskii E. Quantum chemical modeling in the molecular ecology. Глава в книге «Models of the ecological hierarchy: From molecules to the ecosphere». - 2012. - P. 3-13. - (Developments in environmental modelling; Vol. 25), DOI 10.1016/B978-0-444-59396-2.00001-8. - Cited References: 14. - ISSN 0167-8892. - ISSN 978-0-444
  3. Л. Антипина, Ф. Томилин, С. Овчинников. Биолюминесценция фотопротеина обелина. Квантовохимическое описание. // Монография. LAP Lambert Academic Publishing ISBN: 978-3-8433-0038-4, 2010. – Стр. 101.

### **Конференции**

1. Tomilin F.N., Kozak V.V., Ivanova D.A., Fedorova N.A., Shubin A.A., Ovchinnikov S.G. Theoretical prediction of the structure and electronic properties M<sub>2</sub>AX phase (M=Fe, Cr, Mn; A=Al, Si; X=C). International Conference “Functional Materials. ICFM 2021” Alushta, Crimea, Russia, October 4 – 8, 2021
2. Felix Tomilin, Victoria Kozak, Daria Ivanova, Natalia Fedorova, Alexandr Shubin. Structural and electronic properties of the heterostructures based on Me<sub>2</sub>AlC-phase predicted by quantum chemistry calculations. 2nd FunMAX Workshop 2021. Krasnoyarsk, Russia, September 14-17, 2021
3. Daria Ivanova, Natalia Fedorova, Viktoria Kozak, Alexandr Shubin, Felix Tomilin. Atomic and electronic structure of MAX-phase Cr<sub>2</sub>AlC studied by DFT calculations/2nd FunMAX Workshop 2021. Krasnoyarsk, Russia, September 14-17, 2021
4. Alexandr Shubin, Julia Olshevskaya, Alena Kovaleva, Felix Tomilin. Choice of the DFT functional for calculation electronic properties of (CrFe)SiC MAX phases. 2nd FunMAX Workshop 2021. Krasnoyarsk, Russia, September 14-17, 2021
5. Julia Olshevskaya, Alexandr Shubin, Alena Kovaleva, Felix Tomilin. The Effect of Iron Substitution on the Structure and Electronic Properties of Cr<sub>2</sub>SiC by theoretical

- method. 2nd FunMAX Workshop 2021. Krasnoyarsk, Russia, September 14-17, 2021
6. Natalia Fedorova, Victoria Kozak, Daria Ivanova, Alexandr Shubin, Felix Tomilin. Theoretical Prediction Structure of the M2AX phase Fe<sub>2</sub>AlC. 2nd FunMAX Workshop 2021. Krasnoyarsk, Russia, September 14-17, 2021
  7. Victoria Kozak, Daria Ivanova, Natalia Fedorova, Alexandr Shubin, Felix Tomilin. Structural and electronic properties of the MAX-phase Mn<sub>2</sub>AlC finding by the hybrid functional B3LYP. 2nd FunMAX Workshop 2021. Krasnoyarsk, Russia, September 14-17, 2021
  8. Рогова А.В., Томилин Ф.Н., Герасимова М.А., Слюсарева Е.А. Исследование люминесцентных свойств ксантеновых красителей в комплексе с хитозаном Материалы XVIII молодёжной конференции с международным участием по люминесценции и лазерной физике. С. 113. Иркутск, Россия, июль 5-9, 2021.
  9. F.N. Tomilin, A.V. Rogova, M.A. Gerasimova, E.A. Slyusareva. Theoretical and experimental studies of the optical properties of organic materials with a high luminescence yield used in biomedical applications. The 15th International Conference on Pulse Lasers and Laser Applications – AMPL-2021, Tomsk, Russia September 13-17, 2021.
  10. Gryaznova Anastasia, Khegay Svetlana, Rogova Anastasia, Tomilin F.N. The effect of solvents on the solvatochromic properties of the dicyanomethylene-(pyran) molecule. The 14th International Conference on Pulse Lasers and Laser Applications – AMPL-2019, September 15-20, 2019, Tomsk, Russia
  11. Artyushenko Polina, Rogova Anastasia, Shchugoreva Irina, Gryaznova Anastasia, Tomilin F.N. Study of the spectral properties of obelin photoprotein: Quantum-Chemical Consideration. The 14th International Conference on Pulse Lasers and Laser Applications – AMPL-2019, September 15-20, 2019, Tomsk, Russia
  12. A.V. Rogova, P.V. Artyushenko, I.A. Shchugoreva, A. A Gryaznova, F.N. Tomilin. Study of the spectral properties of berovin photoprotein: quantum-chemical calculations. The 14th International Conference on Pulse Lasers and Laser Applications – AMPL-2019, September 15-20, 2019, Tomsk, Russia

13. Shchugoreva Irina, Artyushenko Polina, Nikolaeva Kristina, Khegay Svetlana, Tomilin F.N. Study of the optical properties of copolyfluorenes by theoretical methods. The 14th International Conference on Pulse Lasers and Laser Applications – AMPL-2019, September 15-20, 2019, Tomsk, Russia
14. The 14th International Conference on Pulse Lasers and Laser Applications – AMPL-2019, September 15-20, 2019, Tomsk, Russia
15. Морячков Р.В., Заблуда В.Н., Кичкайло А.С., Щугорева И.А., Томилин Ф.Н., Замай Г.С., Соколов А.Э. Исследование пространственной структуры биомолекул ДНК-аптамеров с помощью синхротронного рентгеновского излучения. В сборнике: Сборник тезисов, материалы XXV Всероссийской научной конференции студентов-физиков и молодых учёных (ВНКСФ-25, Крым). 2019. С. 306.
16. F. Tomilin, R. Moryachkov, I. Shchugoreva, E. Kaufman, A. Drevolsky, A. Sokolov. Molecular structure restoration of aptamers by Small Angle X-ray Scattering and Computer Simulation. конференция 1st International Conference “Aptamers in Russia 2019”, Molecular Therapy Nucleic Acids. Volume 17, Supplement 1, 20 August 2019, Pages 1-24
17. Tomilin F. N., Rogova A. V., Kaufman E. V., Drevolsky A. S., Gerasimova M. A., Slyusareva E. A. Solvent effect in the theoretical absorption and emission spectra of fluorescein dyes. тезисы доклада, статья из сборника материалов конференций 2019, Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering September 15-20, 2019, Tomsk, Russia
18. Суховольский В.Г., Артюшенко П.В., Томилин Ф.Н., Тарасова О.В., Цикалова П.Е., Ковалев А.В., Овчинникова Т.М. Эффективность канала феромонной коммуникации при различных конформациях молекул феромонов. В сборнике: XIX симпозиум «Сложные системы в экстремальных условиях». Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук». Красноярск, 2018. С. 107-118.

19. Томилин Ф.Н., Щугорева И.А., Смыслов Р.Ю., Носова Г.И., Овчинников С.Г. Теоретический расчёт и фотофизические свойства светоизлучающих сополифлуоренов. В книге: XVI Международная молодёжная конференция по люминесценции и лазерной физике, посвящённая 100-летию Иркутского государственного университета. Иркутск, Россия, 2018. С. 152-153.
20. Артюшенко П.В., Томилин Ф.Н. Влияние структуры феромонных молекул на эффективность канала феромонной коммуникации насекомых. Материалы XIX Всероссийского симпозиума с международным участием. Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук». Красноярск, Россия, 2018. С. 19-22.
21. Николаева К.М., Щугорева И.А., Томилин Ф.Н., Ковалева Е.А. Квантово-химическое моделирование адсорбции атомов переходных металлов на дефектах в биграфене. В книге: Четвёртый междисциплинарный научный форум с международным участием "Новые материалы и перспективные технологии". Санкт-Петербург, Россия, 2018. С. 398-399.
22. Щугорева И.А., Николаева К.М., Томилин Ф.Н., Ковалёва Е.А. Квантово-химическое моделирование интерфейсов Co/h-BN/Pt. В книге: Четвёртый междисциплинарный научный форум с международным участием "Новые материалы и перспективные технологии". Санкт-Петербург, Россия, 2018. С. 557-558.
23. Ф.Н. Томилин, С.Г. Овчинников. Квантово-химические подходы при изучении биологически активных систем. 14-я Российская школа-симпозиум «Фундаментальные основы атомистического многомасштабного моделирования». Новый Афон, Абхазия, 16-27 августа 2017
24. Яйкова О.А., Томилин Ф.Н., Дубинина И.А., Кузубов А.А., Дудник А.И., Внукова Н.Г., Овчинников С.Г., Чурилов Г.Н. Свойства водорастворимых окси-полигидрокси фуллеренов в реакции автоокисления адреналина. В сборнике: Химическая наука и образование Красноярья. Материалы X юбилейной Межрегиональной научно-практической конференции,

- посвящённой 85-летию КГПУ им. В.П. Астафьева. Красноярский государственный педагогический университет им. В.П. Астафьева. Красноярск, Россия, 2017. С. 155-159.
25. Артюшенко П.В., Томилин Ф.Н., Цикалова П.Е. Применение квантово-химических методов для оценки влияния физико-химических характеристик феромонов пядениц *Geometridae* на эффективность химической коммуникации. В сборнике: Лесной и химический комплексы - проблемы и решения. Сборник материалов по итогам Всероссийской научно-практической конференции. ред. Логинов Ю. Ю., Красноярск, Россия, 2017. С. 16-20.
26. Ф.Н. Томилин, П.В. Артюшенко, С.Г. Овчинников, П.Е. Цикалова, Т.М. Овчинникова и В.Г. Суховольский. Влияние электронной структуры молекул феромонов на эффективность коммуникации насекомых-ксилофагов. Первая российская конференция с международным участием «Физика — наукам о жизни» Санкт-Петербург, Россия, 18–22 сентября 2016 г
27. Смыслов Р.Ю., Г.И. Носова, И.В. Берёзин, Е.Ф. Жукова, Т.Н. Некрасова, Томилин Ф., Щугорева И., Овчинников С., Копица Г.П., Naramus V., Angelov V. Сополифлуорены как светоизлучающие полимеры: хемо- и биосенсоры. Первая российская конференция с международным участием «Физика — наукам о жизни» Санкт-Петербург, Россия, 18–22 сентября 2016 г
28. Артюшенко П.В., Томилин Ф.Н. Оценка влияния факторов среды на устойчивость молекул феромонов чешуекрылых насекомых квантово-химическими методами. В книге: Сложные системы в экстремальных условиях. Тезисы докладов XVIII Всероссийского симпозиума с международным участием. Сибирский федеральный университет; Институт экономики, управления и природопользования. Красноярск, Россия, 2016. С. 10.
29. Томилин Ф.Н., Маляр Е.Ю., Слюсарева Е.А., Герасимова М.А., Овчинников С.Г. Изучение спектральных свойств ионных форм красителей флуоронов в зависимости от теоретических моделей расчётов. В книге: XV Международная

- молодёжная конференция по люминесценции и лазерной физике. Тезисы лекций и докладов. Иркутск, Россия, 2016. С. 164.
30. Артюшенко П.В., Томилин Ф.Н., Кузубов А.А., Овчинников С.Г., Цыкалова П.Е., Овчинникова Т.М. Устойчивость молекул феромонов насекомых-ксилофагов к внешним факторам. В сборнике: Лесной и химический комплексы - проблемы и решения. Сборник статей по материалам Всероссийской (с международным участием) научно-практической конференции. Конференция посвящена 85-летию СибГТУ -первого ВУЗа Красноярского края. Красноярск, Россия, 2015. С. 89-90.
  31. S. Ovchinnikov, P. Artushenko, F. Tomilin, V. Sukhovol'sky, T. Ovchinnikova, P. Volkova. Quantum-chemical study of the stability of pheromone molecules to environmental factors. Международная конференция Ecological Modelling for Ecosystem Sustainability in the context of Global Change (ISEM 2013) Toulouse, France, October 28-31, 2013
  32. Ф.Н. Томилин, Е.Ю. Танкевич, Е.А. Слюсарева, А.Г. Сизых, С.Г. Овчинников. Квантово-химическое изучение влияния растворителя и галогензамещения на электронные спектры молекул флуоронов. XIII Международную конференцию по люминесценции и лазерной физике. Иркутск, Россия, 15-22 июля 2012 г., г.
  33. F.N. Tomilin, L.V. Tikhonova, E.V. Eremeeva, S.G. Ovchinnikov, and E.S. Vysotski, Quantum chemical study of 2 hydroperoxycoelenterazine generation. 17th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence. 27 мая – 02 июня 2012 г. Гуэльф, Канада
  34. П.В. Артюшенко, Ф.Н. Томилин, А.А. Кузубов, С.Г. Овчинников. Исследование устойчивости молекул феромонов некоторых видов насекомых к солнечной радиации квантово-химическими методами. Тезисы доклада XV Международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Экология. Человек. Общество», 26 сентября – 5 октября г. Киев, Украина, 2012 г.

35. S. Ovchinnikov, F Tomilin. Quantum chemical modeling in the molecular ecology // 7th European Conference on Ecological Modeling – ECEM 2011, 30 May – 2 June 2011 Riva del Garda (Trento, Italy) p. 124
36. Томили́н, Ф.Н. Л.Ю. Антипина, Е.С. Высоцкий, С.Г. Овчинников. Моделирование образования активного фотопротейна обелина квантово-химическими методами // Тезисы доклада VI Съезда российского фотобиологического общества, пос. Шепси, Краснодарский край, Россия, 15-22 сентября 2011 г., стр 194
37. F.N. Tomilin, L.U. Antipina, E.V. Ereemeeva, S.G. Ovchinnikov, and E.S. Vysotski. Quantum chemical study of mechanism of active photoprotein generation. 16th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence. Апрель 19-23, 2010, г. Лион, Франция
38. Л.Ю. Антипина, Ф.Н. Томили́н, С.Г. Овчинников. Квантово-химическое исследование процесса формирования целентеразина и его изомерных форм // Тезисы Международной школы-конференции для студентов, аспирантов и молодых учёных «Фундаментальная математика и ее приложения в естествознании» С. 171., Уфа. Россия, 3 – 7 октября 2010 года, г.
39. Tomilin, F.N., Antipina, L.U., Ovchinnikov, S.G., Vysotski E.S. The theoretical studies of light emitters in bioluminescence of Ca<sup>2+</sup>-regulated photoprotein obelin. 15th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence (15th ISBC) May 13 -17, 2008, Shanghai, China
40. Antipina L.Y., Tomilin F.N., Ovchinnikov S.G., Quantum-chemical methods of research Ca-regulated photoprotein obelin // The scientific conference of student of physics, Krasnoyarsk, Russia, 2007, pp. 25-26.
41. Antipina L.Y., Tomilin F.N., Kachin S.V., Quantum-chemical investigation of bioluminescence process of Ca-regulated photoprotein // The Chemistry and chemical technology in XXI century, Tomsk, Russia, 2007, pp. 251-252.

**СПИСОК ЦИТИРОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Stewart J.J.P. Optimization of parameters for semiempirical methods I. Method // J. Comput. Chem. Wiley Online Library, 1989. Vol. 10, № 2. P. 209–220.
2. MOPAC2016 J.J.P. Stewart, Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, 2016 // Google Sch. There is no Corresp. Rec. this Ref.
3. Lee C., Yang W., Parr R.G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density // Phys. Rev. B. American Physical Society, 1988. Vol. 37, № 2. P. 785–789.
4. Yanai T., Tew D.P., Handy N.C. A new hybrid exchange-correlation functional using the Coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP) // Chem. Phys. Lett. 2004. Vol. 393, № 1–3. P. 51–57.
5. Runge E., Gross E.K.U. Density-functional theory for time-dependent systems // Phys. Rev. Lett. American Physical Society, 1984. Vol. 52, № 12. P. 997–1000.
6. CASIDA M.E. Time-Dependent Density Functional Response Theory for Molecules // Recent Advances in Density Functional Methods. P. 155–192.
7. Jacquemin D. et al. Extensive TD-DFT benchmark: singlet-excited states of organic molecules // J. Chem. Theory Comput. ACS Publications, 2009. Vol. 5, № 9. P. 2420–2435.
8. Hirota E. High-resolution spectroscopy of transient molecules. Springer Science & Business Media, 2012. Vol. 40.
9. Tomasi J., Mennucci B., Cammi R. Quantum Mechanical Continuum Solvation Models // Chem. Rev. American Chemical Society, 2005. Vol. 105, № 8. P. 2999–3094.
10. Купервассер О.Ю. et al. Континуальная модель растворителя: программа DISOLV--алгоритмы, реализация и валидация // Вычислительные методы и программирование. Московский государственный университет имени МВ Ломоносова, 2011. Vol. 12, № 2. P. 247–261.
11. Marenich A. V, Cramer C.J., Truhlar D.G. Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk

- dielectric constant and atomic surface tensions // *J. Phys. Chem. B*. ACS Publications, 2009. Vol. 113, № 18. P. 6378–6396.
12. Cossi M., Barone V. Time-dependent density functional theory for molecules in liquid solutions // *J. Chem. Phys.* 2001. Vol. 115, № 10. P. 4708–4717.
  13. Hariharan P.C., Pople J.A. The influence of polarization functions on molecular orbital hydrogenation energies // *Theor. Chim. Acta.* 1973. Vol. 28, № 3. P. 213–222.
  14. Kendall R.A., Dunning T.H., Harrison R.J. Electron affinities of the first-row atoms revisited. Systematic basis sets and wave functions // *J. Chem. Phys.* 1992. Vol. 96, № 9. P. 6796–6806.
  15. Schuchardt K.L. et al. Basis set exchange: a community database for computational sciences // *J. Chem. Inf. Model.* ACS Publications, 2007. Vol. 47, № 3. P. 1045–1052.
  16. Feller D. The role of databases in support of computational chemistry calculations // *J. Comput. Chem.* Wiley Online Library, 1996. Vol. 17, № 13. P. 1571–1586.
  17. Schmidt M.W. et al. General atomic and molecular electronic structure system // *J. Comput. Chem.* 1993. Vol. 14, № 11. P. 1347–1363.
  18. Barca G.M.J. et al. Recent developments in the general atomic and molecular electronic structure system // *J. Chem. Phys.* American Institute of Physics Inc., 2020. Vol. 152, № 15. P. 154102.
  19. Kresse G., Furthmüller J. Efficient iterative schemes for ab initio total-energy calculations using a plane-wave basis set // *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* 1996. Vol. 54, № 16. P. 11169–11186.
  20. Dovesi R. et al. Quantum-mechanical condensed matter simulations with CRYSTAL // *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* 2018. Vol. 8. P. e1360.
  21. Dovesi R. et al. The CRYSTAL code, 1976-2020 and beyond, a long story // *J. Chem. Phys.* American Institute of Physics Inc., 2020. Vol. 152, № 20.
  22. Cummings P.T. *Reviews in Computational Chemistry, Volume 21* Edited by Kenny B. Lipkowitz (North Dakota State University), Raima Larter (Indiana University-Purdue University), and Thomas R. Cundari (University of North Texas). John

- Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ. 2005 // *J. Am. Chem. Soc.* American Chemical Society, 2005. Vol. 127, № 48. P. 17128.
23. Hanwell M.D. et al. Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform // *J. Cheminform.* BioMed Central, 2012. Vol. 4, № 8. P. 17.
  24. Zheng H. et al. Advances in modifying fluorescein and rhodamine fluorophores as fluorescent chemosensors // *Chem. Commun.* The Royal Society of Chemistry, 2013. Vol. 49, № 5. P. 429–447.
  25. Urano Y. et al. Evolution of fluorescein as a platform for finely tunable fluorescence probes // *J. Am. Chem. Soc.* 2005. Vol. 127, № 13. P. 4888–4894.
  26. Xiong X. et al. Construction of long-wavelength fluorescein analogues and their application as fluorescent probes // *Chem. - A Eur. J.* 2013. Vol. 19, № 21. P. 6538–6545.
  27. Li G. et al. Ratiometric imaging of mitochondrial pH in living cells with a colorimetric fluorescent probe based on fluorescein derivative // *Sensors Actuators, B Chem.* Elsevier B.V., 2017. Vol. 253. P. 58–68.
  28. Bazylevich A., Patsenker L.D., Gellerman G. Exploiting fluorescein based drug conjugates for fluorescent monitoring in drug delivery // *Dye. Pigment.* Elsevier Ltd, 2017. Vol. 139. P. 460–472.
  29. Wolf A. et al. A simulation-guided fluorescence correlation spectroscopy tool to investigate the protonation dynamics of cytochrome: C oxidase // *Phys. Chem. Chem. Phys.* Royal Society of Chemistry, 2016. Vol. 18, № 18. P. 12877–12885.
  30. Abou-Zied O.K., Sulaiman S.A.J. Site-specific recognition of fluorescein by human serum albumin: A steady-state and time-resolved spectroscopic study // *Dye. Pigment.* Elsevier Ltd, 2014. Vol. 110. P. 89–96.
  31. Dutt G.B. Do ionic and hydrophobic probes sense similar microenvironment in Triton X-100 nonionic reverse micelles? // *J. Chem. Phys.* 2008. Vol. 129, № 1.
  32. Ghini G. et al. Carbon nanotubes modified with fluorescein derivatives for pH nanosensing // *Sensors Actuators, B Chem.* Elsevier B.V., 2013. Vol. 179. P. 163–169.

33. Saha J. et al. Effect of Zinc oxide nanoparticle on Fluorescence Resonance Energy transfer between Fluorescein and Rhodamine 6G // *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* Elsevier B.V., 2017. Vol. 175. P. 110–116.
34. Chen J. et al. Design and fabrication of fluorescence resonance energy transfer-mediated fluorescent polymer nanoparticles for ratiometric sensing of lysosomal pH // *J. Colloid Interface Sci.* Academic Press Inc., 2016. Vol. 484. P. 298–307.
35. Slyusareva E.A., Gerasimova M.A. pH-Dependence of the Absorption and Fluorescent Properties of Fluorone Dyes in Aqueous Solutions // *Russ. Phys. J.* 2014. Vol. 56, № 12. P. 1370–1377.
36. Patil V.S. et al. ESIPT-inspired benzothiazole fluorescein: Photophysics of microenvironment pH and viscosity // *Dye. Pigment.* 2013. Vol. 98, № 3. P. 507–517.
37. Johann R.M. Indicating pressure and environmental effects by means of the spectral shift with rhodamine B and fluorescein // *AIP Adv.* American Institute of Physics Inc., 2015. Vol. 5, № 7.
38. Slyusareva E.A. et al. Spectral and fluorescent indication of the acidbase properties of biopolymer solutions // *Russ. Phys. J.* 2011. Vol. 54, № 4. P. 485–492.
39. Венкатараман К. Химия синтетических красителей // Л. Ленгосхимиздат. 1956.
40. Гордон П.Ф., Грегори П. Органическая химия красителей. Мир, 1987.
41. Коган И.М. Химия красителей // М. Госхимиздат. 1956. P. 431.
42. Теренин А.Н. Фотоника молекул красителей и родственных органических соединений. 1967.
43. Лакович Д., Козьменко М.В., Савицкий А.П. Основы флуоресцентной спектроскопии. Мир, 1986.
44. Гармаш А.В. Введение в спектроскопические методы анализа. Оптические методы анализа // М. РАН. 1995.
45. Lee J.H. et al. A therapeutic aptamer inhibits angiogenesis by specifically targeting the heparin binding domain of VEGF165 // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2005. Vol. 102, № 52. P. 18902–18907.

46. Klonis N., Sawyer W.H. Spectral properties of the prototropic forms of fluorescein in aqueous solution // *J. Fluoresc.* 1996. Vol. 6, № 3. P. 147–157.
47. Silva D.L. et al. One- and two-photon absorption of fluorescein dianion in water: A study using S-QM/MM methodology and ZINDO method // *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* Elsevier, 2014. Vol. 119. P. 63–75.
48. Silva D.L., Coutinho K., Canuto S. Electronic spectroscopy of biomolecules in solution: fluorescein dianion in water // <http://dx.doi.org/10.1080/00268976.2010.497779>. Taylor & Francis Group, 2010. Vol. 108, № 21–23. P. 3125–3130.
49. Lebed A. V., Biryukov A. V., McHedlov-Petrosyan N.O. A quantum-chemical study of tautomeric equilibria of fluorescein dyes in DmsO // *Chem. Heterocycl. Compd.* Springer New York LLC, 2014. Vol. 50, № 3. P. 336–348.
50. Buonocore F., Matteo A. di. New insights into oxidation properties and band structure of fluorescein dyes from ab initio calculations // *Theor. Chem. Acc.* Springer New York LLC, 2012. Vol. 131, № 2. P. 1–9.
51. *The Chemistry of Pheromones and Other Semiochemicals II* / ed. Schulz S. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2005. Vol. 240.
52. Zhou P. et al. The invalidity of the photo-induced electron transfer mechanism for fluorescein derivatives // *Phys. Chem. Chem. Phys.* Royal Society of Chemistry, 2012. Vol. 14, № 43. P. 15191–15198.
53. Slyusareva E.A. et al. The effect of halogen substitution on the structure and electronic spectra of fluorone dyes // *Opt. Spectrosc. (English Transl. Opt. i Spektrosk.* 2012. Vol. 112, № 5.
54. Batistela V.R. et al. Protolytic fluorescein species evaluated using chemometry and DFT studies // *Dye. Pigment.* 2010. Vol. 86, № 1. P. 15–24.
55. Fazzi D., Castiglioni C., Negri F. Resistive memories based on Rose Bengal and related xanthene derivatives: Insights from modeling charge transport properties // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2010. Vol. 12, № 7. P. 1600–1609.
56. Spagnuolo C.C. et al. Photostability and spectral properties of fluorinated fluoresceins and their biarsenical derivatives: A combined experimental and

- theoretical study // *Photochem. Photobiol.* 2009. Vol. 85, № 5. P. 1082–1088.
57. Mchedlov-Petrosyan N.O., Ivanov V. V. Effect of the solvent on the absorption spectra and protonation of fluorescein dye anions // *Russ. J. Phys. Chem. A.* 2007. Vol. 81, № 1. P. 112–115.
58. Król M. et al. Macroscopic pKa calculations for fluorescein and its derivatives // *J. Chem. Theory Comput.* 2006. Vol. 2, № 6. P. 1520–1529.
59. Tamulis A. et al. Quantum mechanical studies of intensity in electronic spectra of fluorescein dianion and monoanion forms // *Struct. Chem.* 2003. Vol. 14, № 6. P. 643–648.
60. Jang Y.H., Hwang S., Chung D.S. Tautomeric equilibrium of fluorescein in solution: Ab initio calculations // *Chem. Lett. Chemical Society of Japan*, 2001. № 12. P. 1316–1317.
61. Wang L. et al. Raman and FTIR spectroscopies of fluorescein in solutions // *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2001. Vol. 57, № 9. P. 1781–1791.
62. Fabian W.M.F., Schuppler S., Wolfbeis O.S. Effects of annulation on absorption and fluorescence characteristics of fluorescein derivatives: A computational study // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2. Royal Society of Chemistry*, 1996. Vol. 5. P. 853–856.
63. Sjöback R., Nygren J., Kubista M. Absorption and fluorescence properties of fluorescein // *Spectrochim. Acta Part A Mol. Spectrosc.* 1995. Vol. 51, № 6.
64. Martin M.M., Lindqvist L. The pH dependence of fluorescein fluorescence // *J. Lumin.* 1975. Vol. 10, № 6. P. 381–390.
65. Peach M.J.G. et al. Excitation energies in density functional theory: An evaluation and a diagnostic test // *J. Chem. Phys.* 2008. Vol. 128, № 4. P. 44118.
66. Zhang X.F., Zhang I., Liu L. Photophysics of halogenated fluoresceins: Involvement of both intramolecular electron transfer and heavy atom effect in the deactivation of excited states // *Photochem. Photobiol.* 2010. Vol. 86, № 3. P. 492–498.
67. Slyusarenko N. et al. Photoluminescence properties of self-assembled chitosan-

- based composites containing semiconductor nanocrystals // *Phys. Chem. Chem. Phys.* Royal Society of Chemistry, 2019. Vol. 21, № 9. P. 4831–4838.
68. Lim C.S. et al. Fabrication of microcrystalline NaPbLa (WO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>: Yb<sup>3+</sup>/Ho<sup>3+</sup> phosphors and their upconversion photoluminescent characteristics // *Korean J. Mater. Res.* Materials Research Society of Korea, 2019. Vol. 29, № 12. P. 741–746.
  69. Peumans P., Yakimov A., Forrest S.R. Small molecular weight organic thin-film photodetectors and solar cells // *J. Appl. Phys.* American Institute of Physics, 2003. Vol. 93, № 7. P. 3693–3723.
  70. Karzazi Y., others. Organic light emitting diodes: devices and applications // *J. Mater. Environ. Sci.* Citeseer, 2014. Vol. 5, № 1. P. 1–12.
  71. Liu J. et al. Fullerene pipes // *Science* (80-. ). American Association for the Advancement of Science, 1998. Vol. 280, № 5367. P. 1253–1256.
  72. Liu H. et al. Polyfluorene electrolytes interfacial layer for efficient polymer solar cells: controllably interfacial dipoles by regulation of polar groups // *ACS Appl. Mater. & interfaces*. ACS Publications, 2016. Vol. 8, № 15. P. 9821–9828.
  73. Jahanfar M. et al. Polyfluorene-polytriarylamine block copolymer as an additive for electroluminescent devices based on polymer blends. Scientific Research Publishing, 2013.
  74. Ilgach D.M. et al. Polyfluorene copolymers containing 2, 5-difluoro-1, 4-phenylene chains and carbazole conjugates with 1, 8-naphthalimides for stable blue OLEDs // *Mendeleev Commun.* Elsevier, 2017. Vol. 27, № 4. P. 357–359.
  75. Fathollahi M.-R., Boroumand F.A. Fabrication and simulation of polyfluorene-based organic light-emitting diodes // 20th Iranian Conference on Electrical Engineering (ICEE2012). 2012. P. 77–81.
  76. Hodgkinson W.R., Matthews F.E. XXIII.—Note on some derivatives of fluorene, C<sub>13</sub>H<sub>10</sub> // *J. Chem. Soc. Trans.* Royal Society of Chemistry, 1883. Vol. 43. P. 163–172.
  77. Smedley I. CXXV.—Studies on the origin of colour. Derivatives of fluorene // *J. Chem. Soc. Trans.* Royal Society of Chemistry, 1905. Vol. 87. P. 1249–1255.
  78. Palai A.K. et al. Fluorene-based conjugated poly (arylene ethynylene) s containing

- heteroaromatic bicycles: preparation and electro-optical properties // *J. Mater. Sci.* Springer, 2014. Vol. 49, № 21. P. 7408–7417.
79. Miteva T. et al. Improving the performance of polyfluorene-based organic light-emitting diodes via end-capping // *Adv. Mater.* Wiley Online Library, 2001. Vol. 13, № 8. P. 565–570.
80. Sun J. et al. Polyfluorene-based white light conjugated polymers incorporating orange iridium (III) complexes: the effect of steric configuration on their photophysical and electroluminescent properties // *RSC Adv.* Royal Society of Chemistry, 2018. Vol. 8, № 3. P. 1638–1646.
81. Ying L. et al. White polymer light-emitting devices for solid-state lighting: materials, devices, and recent progress // *Adv. Mater.* Wiley Online Library, 2014. Vol. 26, № 16. P. 2459–2473.
82. Hwang D.-H. et al. Conjugated polymers based on phenothiazine and fluorene in light-emitting diodes and field effect transistors // *Chem. Mater.* ACS Publications, 2004. Vol. 16, № 7. P. 1298–1303.
83. Geffroy B., Le Roy P., Prat C. Organic light-emitting diode (OLED) technology: materials, devices and display technologies // *Polym. Int.* Wiley Online Library, 2006. Vol. 55, № 6. P. 572–582.
84. Kularatne R.S. et al. Donor--acceptor semiconducting polymers based on pyromellitic diimide // *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* Wiley Online Library, 2015. Vol. 53, № 13. P. 1617–1622.
85. Giovanella U. et al. Stabilized blue emission from polyfluorene-based light-emitting diodes: The role of triphenylamine // *Synth. Met.* Elsevier, 2008. Vol. 158, № 3–4. P. 113–119.
86. Raithel D. et al. Direct observation of backbone planarization via side-chain alignment in single bulky-substituted polythiophenes // *Proc. Natl. Acad. Sci. National Acad Sciences*, 2018. Vol. 115, № 11. P. 2699–2704.
87. Huang J. et al. Efficient flexible polymer light emitting diodes with conducting polymer anodes // *J. Mater. Chem.* Royal Society of Chemistry, 2007. Vol. 17, № 33. P. 3551–3554.

88. Huang S.-T. et al. Synthesis and electroluminescent properties of polyfluorene-based conjugated polymers containing bipolar groups // *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* Wiley Online Library, 2009. Vol. 47, № 22. P. 6231–6245.
89. Kroto H.W. et al. C 60: buckminsterfullerene // *Nature*. Nature Publishing Group, 1985. Vol. 318, № 6042. P. 162–163.
90. Iijima S. Helical microtubules of graphitic carbon // *Nature*. Nature Publishing Group, 1991. Vol. 354, № 6348. P. 56–58.
91. Piskoti C., Yarger J., Zettl A. C 36, a new carbon solid // *Nature*. Nature Publishing Group, 1998. Vol. 393, № 6687. P. 771–774.
92. Wang X.-Q. et al. Relative stability of C78 isomers // *Chem. Phys. Lett.* Elsevier, 1992. Vol. 200, № 1–2. P. 35–38.
93. Diederich F. et al. Fullerene isomerism: isolation of c2v,-c78 and d3-c78 // *Science* (80-. ). American Association for the Advancement of Science, 1991. Vol. 254, № 5039. P. 1768–1770.
94. Kikuchi K. et al. NMR characterization of isomers of C 78, C 82 and C 84 fullerenes // *Nature*. Nature Publishing Group, 1992. Vol. 357, № 6374. P. 142–145.
95. Soderholm L. et al. An EXAFS study of the metallofullerene YC82: is the yttrium inside the cage? // *J. Phys. Chem.* ACS Publications, 1992. Vol. 96, № 18. P. 7153–7156.
96. Suzuki S. et al. Isomers and carbon-13 hyperfine structures of metal-encapsulated fullerenes M@ C82 (M= Sc, Y, and La) // *J. Phys. Chem.* ACS Publications, 1992. Vol. 96, № 18. P. 7159–7161.
97. Lawson D.R. et al. Near-IR absorption spectra for the C70 fullerene anions // *J. Phys. Chem.* ACS Publications, 1992. Vol. 96, № 18. P. 7175–7177.
98. Klimko G.T. et al. C28 and C48 fullerenes special properties // *J. Mol. Struct.* Elsevier, 1999. Vol. 480. P. 329–333.
99. Krätschmer W. et al. Solid C 60: a new form of carbon // *Nature*. Nature Publishing Group, 1990. Vol. 347, № 6291. P. 354–358.
100. Haufler R.E. et al. Efficient production of C60 (buckminsterfullerene), C60H36, and the solvated buckide ion // *J. Phys. Chem.* ACS Publications, 1990. Vol. 94, №

24. P. 8634–8636.
101. Елецкий А.В., Смирнов Б.М. Фуллерены и структуры углерода // Усп. физ. наук. Успехи физических наук, 1995. Vol. 165, № 9. P. 977–1009.
102. Елецкий А.В. Эндодраальные структуры // Успехи физических наук. 2000. Vol. 170, № 2. P. 113–142.
103. Jones D.E.H. Ariadne // New Sci. 1966. Vol. 32, № 245. P. 1.
104. Osawa E. Kagaku (Kyoto) 1970, 25, 854-863 // Chem. Abstr. 1971. Vol. 74. P. 75698v.
105. Бочвар Д.А., Гальперн Е.Г. О гипотетических системах: карбододекаэдре, s-икосаэдре и карбо-s-икосаэдре // Докл. АН СССР. 1973. Vol. 209, № 3. P. 610–612.
106. David W.I.F. et al. Crystal structure and bonding of ordered C<sub>60</sub> // Nature. Nature Publishing Group, 1991. Vol. 353, № 6340. P. 147–149.
107. Hedberg K. et al. Bond lengths in free molecules of buckminsterfullerene, C<sub>60</sub>, from gas-phase electron diffraction // Science (80-. ). American Association for the Advancement of Science, 1991. Vol. 254, № 5030. P. 410–412.
108. White C.T. et al. Predicting properties of fullerenes and their derivatives // Buckminsterfullerenes. VCH New York, 1993. P. 125.
109. Andreoni W. Computational approach to the physical chemistry of fullerenes and their derivatives // Annu. Rev. Phys. Chem. Annual Reviews 4139 El Camino Way, PO Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA, 1998. Vol. 49, № 1. P. 405–439.
110. Chiang L.Y., Lu F.-J., Lin J.-T. Free radical scavenging activity of water-soluble fullerlenols // J. Chem. Soc. Chem. Commun. The Royal Society of Chemistry, 1995. № 12. P. 1283–1284.
111. Dai X. et al. The ground state and electronic structure of Gd@ C<sub>82</sub>: A systematic theoretical investigation of first principle density functionals // J. Chem. Phys. AIP Publishing LLC, 2014. Vol. 141, № 24. P. 244306.
112. Думпис М.А. et al. Биологическая активность фуллеренов-реалии и перспективы // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. Общество с ограниченной ответственностью Эко-Вектор, 2018. Vol.

- 16, № 1.
113. Wang Z., Gao X., Zhao Y. Mechanisms of antioxidant activities of fullerenols from first-principles calculation // *J. Phys. Chem. A*. ACS Publications, 2018. Vol. 122, № 41. P. 8183–8190.
  114. Popov A.A., Yang S., Dunsch L. Endohedral fullerenes // *Chem. Rev. ACS Publications*, 2013. Vol. 113, № 8. P. 5989–6113.
  115. Akentiev A. V et al. Surface properties of fullereneol C<sub>60</sub> (OH)<sub>20</sub> solutions // *J. Mol. Liq. Elsevier*, 2020. Vol. 306. P. 112904.
  116. Grebowski J. et al. Fullereneol C<sub>60</sub> (OH)<sub>36</sub> protects human erythrocyte membrane against high-energy electrons // *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Biomembranes. Elsevier*, 2018. Vol. 1860, № 8. P. 1528–1536.
  117. Nakamura H. et al. Effect of number of hydroxyl groups of fullereneol C<sub>60</sub> (OH)<sub>n</sub> on its interaction with cell membrane // *J. Taiwan Inst. Chem. Eng. Elsevier*, 2018. Vol. 90. P. 18–24.
  118. Eropkin M.Y. et al. Synthesis and biological activity of fullerenols with various contents of hydroxyl groups // *Pharm. Chem. J. Springer*, 2013. Vol. 47, № 2. P. 87–91.
  119. Goncharova E.A. et al. Obtaining of water-soluble polyhydroxylated fullerenols with iron nanoparticles as catalyzers // *Vestn. SibGAU*. 2009. Vol. 22. P. 90–93.
  120. Wang Z. et al. Syntheses, structures and antioxidant activities of fullerenols: knowledge learned at the atomistic level // *J. Clust. Sci. Springer*, 2015. Vol. 26, № 2. P. 375–388.
  121. Yin J.-J. et al. The scavenging of reactive oxygen species and the potential for cell protection by functionalized fullerene materials // *Biomaterials. Elsevier*, 2009. Vol. 30, № 4. P. 611–621.
  122. Becke A.D. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior // *Phys. Rev. A. APS*, 1988. Vol. 38, № 6. P. 3098.
  123. Schmidt M.W. et al. General atomic and molecular electronic structure system // *J. Comput. Chem. John Wiley Sons, Ltd*, 1993. Vol. 14, № 11. P. 1347–1363.
  124. Stewart J.J.P. MOPAC2012. Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs

- // CO, USA. 2012.
125. Guirado-López R.A., Rincón M.E. Structural and optical properties of highly hydroxylated fullerenes: Stability of molecular domains on the C<sub>60</sub> surface // *J. Chem. Phys.* American Institute of Physics, 2006. Vol. 125, № 15. P. 154312.
  126. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании реакции автоокисления адреналина: возможность полярографического определения активности супероксиддисмутазы и антиоксидантных свойств различных препаратов // *Биомедицинская химия. НИИ биомедицинской химии имени ВН Ореховича*, 2012. Vol. 58, № 1. P. 77–87.
  127. Haoyu S.Y. et al. MN15: A Kohn--Sham global-hybrid exchange--correlation density functional with broad accuracy for multi-reference and single-reference systems and noncovalent interactions // *Chem. Sci.* The Royal Society of Chemistry, 2016. Vol. 7, № 8. P. 5032–5051.
  128. Weigend F., Ahlrichs R. Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy // *Phys. Chem. Chem. Phys.* The Royal Society of Chemistry, 2005. Vol. 7, № 18. P. 3297–3305.
  129. Pearson R.G. *Hard and Soft Acids and Bases* (Dowden, Hutchinson and Ross, Stroudsburg, PA, 1973)(b) RG Pearson, *Chemical Hardness: Applications from Molecules to Solids*. Wiley-VCH, Weinheim, 1997.
  130. Frisch M. et al. gaussian 09, Revision d. 01, Gaussian // Inc., Wallingford CT. 2009. Vol. 201.
  131. Gulde R., Pollak P., Weigend F. Error-balanced segmented contracted basis sets of double- $\zeta$  to quadruple- $\zeta$  valence quality for the lanthanides // *J. Chem. Theory Comput.* ACS Publications, 2012. Vol. 8, № 11. P. 4062–4068.
  132. Zhang J. et al. Gd<sub>3</sub>N@ C<sub>84</sub> (OH) x: a new egg-shaped metallofullerene magnetic resonance imaging contrast agent // *J. Am. Chem. Soc.* ACS Publications, 2014. Vol. 136, № 6. P. 2630–2636.
  133. Nishibori E. et al. Anomalous endohedral structure of Gd@ C<sub>82</sub> metallofullerenes // *Phys. Rev. B.* APS, 2004. Vol. 69, № 11. P. 113412.

134. Wang Z. et al. A precision structural model for fullerenols // Chem. Sci. Royal Society of Chemistry, 2014. Vol. 5, № 8. P. 2940–2948.
135. Скиркявичюс А.В. Феромонная коммуникация насекомых Вильнюс. 1986.
136. Джекобсон И. Половые феромоны насекомых. М.: Мир. 321 с. 1976.
137. Лебедева К.В., Миняйло В.А., Пятнова Ю.Б. Феромоны насекомых. Наука, 1984.
138. Cormier R.A., Hoban J.N. Laboratory syntheses of insect pheromones // J. Chem. Educ. ACS Publications, 1984. Vol. 61, № 10. P. 927.
139. Mori K. Organic synthesis in pheromone science // Molecules. Molecular Diversity Preservation International, 2005. Vol. 10, № 9. P. 1023–1047.
140. Regnier F.E., Law J.H. Insect pheromones // J. Lipid Res. Elsevier, 1968. Vol. 9, № 5. P. 541–551.
141. Волкова П.Е., Овчинникова Т.М., Суховольский В.Г. Системный анализ механизмов феромонного поиска у лесных чешуекрылых // Хвойные бореальной зоны. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М. Ф. Решетнева», 2009. Vol. 2, № 2.
142. Каабак Л.В. Бабочки мира. Мир энциклопедий Аванта+, 2011.
143. d’Abrera V. World Butterflies. Hill House Publishers, 2006.
144. Львовский А.Л. Определители по флоре и фауне России // АЛ Львов-ский, ДВ Моргун. 2007. № 8. P. 126.
145. Некрутенко Ю.П. Дневные бабочки Кавказа. Определитель. Семейства Papilionidae, Pieridae, Satyridae, Danaidae // Киев Наукова думка.--215 с. 1990.
146. The Chemistry of Pheromones and Other Semiochemicals I / ed. Schulz S. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2004. Vol. 239.
147. Thorpe K.W. et al. Effectiveness of gypsy moth mating disruption from aerial applications of plastic laminate flakes with and without a sticking agent // Agric. For. Entomol. Wiley Online Library, 2000. Vol. 2, № 3. P. 225–231.
148. Bierl B.A., Beroza M., Collier C.W. Potent sex attractant of the gypsy moth: its isolation, identification, and synthesis // Science (80-. ). American Association for

- the Advancement of Science, 1970. Vol. 170, № 3953. P. 87–89.
149. Гниненко Ю.И., Кавоси М.Р. Вспышка массового размножения непарного шелкопряда *Lymantria dispar* (Lepidoptera, Erebidae) на севере Ирана // Лесохозяйственная информация. Федеральное бюджетное учреждение Всероссийский научно-исследовательский~..., 2016. № 2.
  150. Aukema J.E. et al. Economic impacts of non-native forest insects in the continental United States // PLoS One. Public Library of Science San Francisco, USA, 2011. Vol. 6, № 9. P. e24587.
  151. Priesner E. et al. Identification and field evaluation of a sex pheromone of the European pine moth // Zeitschrift für Naturforsch. C. Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, 1984. Vol. 39, № 11–12. P. 1192–1195.
  152. Klun J.A. et al. A sex attractant for the Siberian moth *Dendrolimus superans sibiricus* (Lepidoptera: Lasiocampidae) // J. Entomol. Sci. Georgia Entomological Society, Inc., 2000. Vol. 35, № 2. P. 158–166.
  153. Xiangbo K., Chenghua Z., Wei G. Identification of sex pheromones of four economically important species in genus *Dendrolimus* // Chinese Sci. Bull. Springer, 2001. Vol. 46, № 24. P. 2077–2081.
  154. Kovalev B.G. et al. Identification of additional components of the sex pheromone of *Dendrolimus pini* // Chem. Nat. Compd. Springer, 1993. Vol. 29, № 1. P. 135–136.
  155. Баранчиков Ю.Н. et al. О внутривидовой и межвидовой химической коммуникации чешуекрылых на примере соснового коконопряда и сибирского шелкопряда (*Dendrolimus pini* L., *Dendrolimus superans sibiricus* Tschetv.(Lepidoptera, Lasiocampidae)) // Сенсорные системы. Федеральное государственное бюджетное учреждение" Российская академия наук", 2007. Vol. 21, № 3. P. 246–250.
  156. Маслов А.Д., Комарова И.А., Матусевич Л.С. Сосновый походный шелкопряд в лесах национального парка “Куршская коса” // Лесоведение. Федеральное государственное бюджетное учреждение" Российская академия наук", 2009. № 4. P. 66–71.

157. Kirichenko N.I., Baranchikov Y.N., Vidal S. Performance of the potentially invasive Siberian moth *Dendrolimus superans sibiricus* on coniferous species in Europe // *Agric. For. Entomol.* Wiley Online Library, 2009. Vol. 11, № 3. P. 247–254.
158. Акулов Е.Н. Фитосанитарное состояние лесопродукции в Красноярском крае // *Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии.*—СПб. 2009. P. 3.
159. Karsholt O., Razowski J. *The Lepidoptera of Europe: a distributional checklist.* Brill Academic Pub, 1996.
160. Симоненкова В.А., Осмирко А.А., Ионова Е.А. Особенности видового состава вредной энтомофауны городских насаждений // *Актуальные проблемы лесного комплекса.* ФГБОУ ВПО Брянский государственный инженерно-технологический университет, 2015. № 41.
161. Стриганова Б.Р., Захаров А.А. *Пятиязычный словарь названий животных: насекомые.* Руссо, 2000.
162. Chinery M., others. *Collins guide to the insects of Britain and Western Europe.* Collins, 1986.
163. Berndt L. et al. Biology and rearing of *Pseudocoremia suavis*, an endemic looper (Lepidoptera: Geometridae) with a history of outbreaks on exotic conifers // *New Zeal. Entomol.* Taylor & Francis, 2004. Vol. 27, № 1. P. 73–82.
164. Цветков Е.В. Пяденицы Ставропольского края (Lepidoptera: Geometridae) // *Эверсманния.* Тульское отделение Русского энтомологического общества при РАН, 2010. № 23–24. P. 64–82.
165. Zhang Z.-Q. Phylum Arthropoda. In: Zhang, Z.-Q.(Ed.) *Animal Biodiversity: An Outline of Higher-level Classification and Survey of Taxonomic Richness (Addenda 2013)* // *Zootaxa.* 2013. Vol. 3703, № 1. P. 17–26.
166. Данилевский М.Л., Мирошников А.И. *Жуки-дровосеки Кавказа* // *Определитель.* Краснодар Объед. изд во Краснодарск. Крайисполкома. 1985.
167. Шаблювский В.В. *Жуки-дровосеки Приморского края* // *Автореф. дисс.... канд. сельскохозяйственных.* 1950.

168. Tilden P.E. et al. Trapping the western pine beetle at and near a source of synthetic attractive pheromone Effects of trap size and position // *J. Chem. Ecol.* Springer, 1979. Vol. 5, № 4. P. 519–531.
169. Bakke A., Riege L. The pheromone of the spruce bark beetle *Ips typographus* and its potential use in the suppression of beetle populations. 1982.
170. Лебедева К.В., Вендило Н.В., Плетнев В.А. Феромоны вредных насекомых // *Защита и карантин растений. Автономная некоммерческая организация Редакция журнала Защита и карантин~...*, 2006. № 4. P. 40–41.
171. Исаев А.С., Рожков А.С., Киселев В.В. Черный пихтовый усач *Monochamus urussovi* (Fisch.). Новосибирский филиал Федерального государственного унитарного предприятия~..., 1988.
172. Rützler M., Zwiebel L.J. Molecular biology of insect olfaction: recent progress and conceptual models // *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology. J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*, 2005. Vol. 191, № 9. P. 777–790.
173. Shostak S.L., Ebenstein W.L., Muentzer J.S. The dipole moment of water. I. Dipole moments and hyperfine properties of H<sub>2</sub>O and HDO in the ground and excited vibrational states // *J. Chem. Phys. American Institute of Physics AIP*, 1991. Vol. 94, № 9. P. 5875–5882.
174. Richerson J. V, Cameron E.A., Brown E.A. Sexual activity of the gypsy moth // *Am. Midl. Nat. JSTOR*, 1976. P. 299–312.
175. Richerson J. V. Pheromone-mediated behavior of the gypsy moth // *J. Chem. Ecol.* Kluwer Academic Publishers-Plenum Publishers, 1977. Vol. 3, № 3. P. 291–308.
176. Solari P. et al. Release mechanism of sex pheromone in the female gypsy moth *Lymantria dispar*: A morpho-functional approach // *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sensory, Neural, Behav. Physiol.* Springer, 2007. Vol. 193, № 7. P. 775–785.
177. Hausmann A. *The Geometrid Moths of Europe: Sterrhinae*, Vol. 2. Apollo Books, Denmark, 600pp, 2004.
178. Твайделл, Джон - Возобновляемые источники энергии - Search RSL.

179. Plemenkov V. V. Khimiya izoprenoidov (the chemistry of isoprenoids) // Izd. Altais. Univer, Barnaul. 2007.
180. Храпцов Н.Н., Падий Н.Н. Вредители леса и борьба с ними.
181. Peng C., Bernhard Schlegel H. Combining Synchronous Transit and Quasi-Newton Methods to Find Transition States // *Isr. J. Chem.* John Wiley & Sons, Ltd, 1993. Vol. 33, № 4. P. 449–454.
182. Shimomura O., Johnson F.H. Regeneration of the photoprotein aequorin // *Nature*. 1975. Vol. 256, № 5514. P. 236–238.
183. Liu Z.-J. et al. Atomic resolution structure of obelin: soaking with calcium enhances electron density of the second oxygen atom substituted at the C2-position of coelenterazine // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* Elsevier, 2003. Vol. 311, № 2. P. 433–439.
184. Head J.F. et al. The crystal structure of the photoprotein aequorin at 2.3 Å resolution // *Nature*. Nature Publishing Group, 2000. Vol. 405, № 6784. P. 372–376.
185. Prendergast F.G. Bioluminescence illuminated // *Nature*. 2000. Vol. 405, № 6784. P. 291–292.
186. Usami K., Isobe M. Low-temperature photooxygenation of coelenterate luciferin analog synthesis and proof of 1,2-dioxetanone as luminescence intermediate // *Tetrahedron*. Pergamon, 1996. Vol. 52, № 37. P. 12061–12090.
187. Лабас Ю.А., Гордеева А.В., Фрадков А.Ф. Свет и цвет живых организмов: Флуоресцирующие и цветные белки // *Природа*. 2003. № 3. P. 33–43.
188. Berman H.M. et al. The Protein Data Bank // *Nucleic Acids Res.* 2000. Vol. 28, № 1. P. 235–242.
189. Campbell A.K. Save those molecules! Molecular biodiversity and life\* // *J. Appl. Ecol.* John Wiley & Sons, Ltd, 2003. Vol. 40, № 2. P. 193–203.
190. Johnson P.C. et al. Measurement of ionized calcium in blood platelets with the photoprotein aequorin. Comparison with Quin 2. // *J. Biol. Chem.* Elsevier, 1985. Vol. 260, № 4. P. 2069–2076.
191. Knight M.R. et al. Imaging calcium dynamics in living plants using semi-synthetic recombinant aequorins. // *J. Cell Biol.* 1993. Vol. 121, № 1. P. 83–90.

192. Rees J.F. et al. The origins of marine bioluminescence: turning oxygen defence mechanisms into deep-sea communication tools. // *J. Exp. Biol.* 1998. Vol. 201, № 8. P. 1211–1221.
193. Rudolf R. et al. Looking forward to seeing calcium // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2003. Vol. 4, № 7. P. 579–586.
194. Shimomura O. *Bioluminescence: chemical principles and methods.* World Scientific, 2012.
195. Shimomura O. The discovery of aequorin and green fluorescent protein // *J. Microsc.* Blackwell Science Ltd Oxford, UK, 2005. Vol. 217, № 1. P. 3–15.
196. Nakai S. et al. Fundamental Studies on the Structures and Spectroscopic Properties of Imidazo[1,2-a]pyrazin-3(7H)-one Derivatives // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* The Chemical Society of Japan, 2003. Vol. 76, № 12. P. 2361–2387.
197. Hori K. et al. Renilla Luciferin as the Substrate for Calcium Induced Photoprotein Bioluminescence, Assignment of Luciferin Tautomers in Aequorin and Mnemiopsin // *Biochemistry.* 1975. Vol. 14, № 11. P. 2371–2376.
198. Mori K. et al. Real light emitter in the bioluminescence of the calcium-activated photoproteins aequorin and obelin: light emission from the singlet-excited state of coelenteramide phenolate anion in a contact ion pair // *Tetrahedron.* 2006. Vol. 62, № 26. P. 6272–6288.
199. Kondo H. et al. Substituent effects on the kinetics for the chemiluminescence reaction of 6-arylimidazo[1,2-a]pyrazin-3(7H)-ones (Cypridina luciferin analogues): support for the single electron transfer (SET)–oxygenation mechanism with triplet molecular oxygen // *Tetrahedron Lett.* Pergamon, 2005. Vol. 46, № 45. P. 7701–7704.
200. Goto T., Inoue S., Sugiura S. Cypridina bioluminescence IV. Synthesis and chemiluminescence of 3,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-3-one and its 2-methyl derivative // *Tetrahedron Lett.* 1968. Vol. 9, № 36. P. 3873–3876.
201. Shimomura O., Teranishi K. Light-emitters involved in the luminescence of coelenterazine // *Luminescence.* 2000. Vol. 15. P. 58.
202. Vysotski E.S., Lee J. Ca<sup>2+</sup>-Regulated Photoproteins: Structural Insight into the

- Bioluminescence Mechanism // *Acc. Chem. Res.* 2004. Vol. 37, № 6. P. 405–415.
203. Liu Z.-J. et al. Crystal structure of obelin after Ca<sup>2+</sup>-triggered bioluminescence suggests neutral coelenteramide as the primary excited state // *Proc. Natl. Acad. Sci. National Acad Sciences*, 2006. Vol. 103, № 8. P. 2570–2575.
204. McCapra F., Chang Y.C. Chemiluminescence of a Cypridina luciferin analogue // *Chem. Commun.* 1967. Vol. 19. P. 1012.
205. Лабзовский Л.Н. Влияние электронной корреляции на реакционную способность сопряженных молекул. scholar.google.com, 1968.
206. Vysotski E.S. et al. Violet bioluminescence and fast kinetics from W92F obelin: structure-based proposals for the bioluminescence triggering and the identification of the emitting species // *Biochemistry*. 2003. Vol. 42. P. 6024.
207. Vysotski E.S., Lee J. Bioluminescent mechanism of Ca<sup>2+</sup>-regulated photoproteins from three-dimensional structures // *Luciferases Fluoresc. proteins Princ. Adv. Biotechnol. bioimaging. Transworld Research Network Kerala, India*, 2007. P. 19–41.
208. Liu Z.-J. et al. Structure of the Ca<sup>2+</sup>-regulated photoprotein obelin at 1.7 Å resolution determined directly from its sulfur substructure // *Protein Sci. Wiley*, 2000. Vol. 9, № 11. P. 2085–2093.
209. Min C.G. et al. The fluorescent properties of coelenteramide, a substrate of aequorin and obelin // *J. Photochem. Photobiol. A Chem. Elsevier B.V.*, 2013. Vol. 251. P. 182–188.
210. Chen S.F., Ferré N., Liu Y.J. QM/MM study on the light emitters of aequorin chemiluminescence, bioluminescence, and fluorescence: A general understanding of the bioluminescence of several marine organisms // *Chem. - A Eur. J.* 2013. Vol. 19, № 26. P. 8466–8472.
211. Chen S.F. et al. Chemiluminescence of coelenterazine and fluorescence of coelenteramide: A systematic theoretical study // *J. Chem. Theory Comput.* 2012. Vol. 8, № 8. P. 2796–2807.
212. Li Z.S. et al. The effect of micro-environment on luminescence of aequorin: The role of amino acids and explicit water molecules on spectroscopic properties of

- coelenteramide // *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 2013. Vol. 127. P. 94–99.
213. Li Z.S. et al. The dynamics simulation and quantum calculation investigation about luminescence mechanism of coelenteramide // *Photochem. Photobiol.* 2013. Vol. 89, № 4. P. 849–855.
214. Tomilin F.N. et al. Fluorescence of calcium-discharged obelin: The structure and molecular mechanism of emitter formation // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2008. Vol. 422, № 1.
215. Shimomura O., Johnson F.H. Chemical nature of bioluminescence systems in coelenterates // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1975. Vol. 72, № 4. P. 1546–1549.
216. Frank L.A. Ca<sup>2+</sup>-regulated photoproteins: effective immunoassay reporters // *Sensors. Molecular Diversity Preservation International*, 2010. Vol. 10, № 12. P. 11287–11300.
217. Krasitskaya V. V et al. Bioluminescent reporters for identification of gene allelic variants // *Russ. J. Bioorganic Chem. Springer*, 2012. Vol. 38, № 3. P. 298–305.
218. Vysotski E.S., Bondar V.S., Letunov V.N. Extraction and purification of obelin, the Ca<sup>2+</sup>-dependent photoprotein from the hydroid *Obelia longissima* // *Biokhimiya*. 1989. Vol. 54. P. 965–973.
219. Vysotski E.S., Markova S. V, Frank L.A. Calcium-regulated photoproteins of marine coelenterates // *Mol. Biol.* 2006. Vol. 40, № 3. P. 355–367.
220. Ereemeeva E. V et al. Oxygen activation of apo-obelin-coelenterazine complex // *Chembiochem.* 2013. Vol. 14, № 6. P. 739–745.
221. Natashin P. V et al. Structures of the Ca<sup>2+</sup>-regulated photoprotein obelin Y138F mutant before and after bioluminescence support the catalytic function of a water molecule in the reaction // *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr. International Union of Crystallography*, 2014. Vol. 70, № 3. P. 720–732.
222. Ereemeeva E. V. et al. Role of key residues of obelin in coelenterazine binding and conversion into 2-hydroperoxy adduct // *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 2013. Vol. 127. P. 133–139.
223. Malikova N.P. et al. Spectral tuning of obelin bioluminescence by mutations of Trp92 // *FEBS Lett.* 2003. Vol. 554. P. 188.

224. Belogurova N. V., Alieva R.R., Kudryasheva N.S. Activity of upper electron-excited states in bioluminescence of coelenterates // *J. Mol. Struct.* 2009. Vol. 924–926, № C. P. 148–152.
225. Nemtseva E.V., Kudryasheva N.S. The mechanism of electronic excitation in the bacterial bioluminescent reaction // *Russ. Chem. Rev.* IOP Publishing, 2007. Vol. 76, № 1. P. 91.
226. Van Oort B. et al. Picosecond fluorescence relaxation spectroscopy of the calcium-discharged photoproteins aequorin and obelin // *Biochemistry.* 2009. Vol. 48, № 44. P. 10486–10491.
227. Belogurova N. V. et al. Spectral components of bioluminescence of aequorin and obelin // *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 2008. Vol. 92, № 2. P. 117–122.
228. Belogurova N. V., Kudryasheva N.S. Discharged photoprotein obelin: Fluorescence peculiarities // *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 2010. Vol. 101, № 1. P. 103–108.
229. Alieva R.R. et al. Fluorescence properties of Ca<sup>2+</sup>-independent discharged obelin and its application prospects // *Anal. Bioanal. Chem.* 2013. Vol. 405, № 10. P. 3351–3358.
230. Shakirova A.A. et al. Synthesis, Mass Spectroscopy Detection, and Density Functional Theory Investigations of the Gd Endohedral Complexes of C<sub>82</sub> Fullerenols // *Computation. Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, 2021. Vol. 9, № 5. P. 58.
231. Alieva R.R. et al. Effects of alcohols on fluorescence intensity and color of a discharged-obelin-based biomarker // *Anal. Bioanal. Chem.* Springer Verlag, 2014. Vol. 406, № 12. P. 2965–2974.
232. Petrova A.S. et al. Variation of Spectral Characteristics of Coelenteramide-Containing Fluorescent Protein from *Obelia Longissima* Exposed to Dimethyl Sulfoxide // *Russ. Phys. J.* 2016. Vol. 59, № 4. P. 562–567.
233. Saito R. et al. Solvent and substituent effects on the fluorescent properties of coelenteramide analogues // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* The Royal Society of Chemistry, 1997. № 9. P. 1711–1716.
234. Crick F. Central Dogma of Molecular Biology // *Nature.* 1970. Vol. 227, № 5258.

- Р. 561–563.
235. Алимова Ф.К., Невзорова Т.А. Обмен нуклеиновых кислот.
  236. Кухта В.К., Морозкина Т.Е., Олецкий З.И. Биологическая химия: учебник // Минск Асар. 2008. Р. 131–193.
  237. Кульбачинский А.В. Методы отбора аптамеров к белковым мишеням // Успехи биологической химии. 2006. Vol. 46. Р. 193–224.
  238. Shangguan D. et al. Aptamers evolved from live cells as effective molecular probes for cancer study // Proc. Natl. Acad. Sci. 2006. Vol. 103, № 32.
  239. Sampson T. Aptamers and SELEX: the technology // World Pat. Inf. Pergamon, 2003. Vol. 25, № 2. Р. 123–129.
  240. Bock L.C. et al. Selection of single-stranded DNA molecules that bind and inhibit human thrombin // Nature. 1992. Vol. 355, № 6360. Р. 564–566.
  241. Shimada T. et al. Systematic search for the Cra-binding promoters using genomic SELEX system // Genes to Cells. John Wiley & Sons, Ltd, 2005. Vol. 10, № 9. Р. 907–918.
  242. White R. et al. Generation of Species Cross-reactive Aptamers Using “Toggle” SELEX // Mol. Ther. 2001. Vol. 4, № 6. Р. 567–573.
  243. Klug S.J., Famulok M. All you wanted to know about SELEX // Mol. Biol. Rep. Springer, 1994. Vol. 20, № 2. Р. 97–107.
  244. Djordjevic M. SELEX experiments: New prospects, applications and data analysis in inferring regulatory pathways // Biomol. Eng. Elsevier, 2007. Vol. 24, № 2. Р. 179–189.
  245. Winfree E. et al. Design and self-assembly of two-dimensional DNA crystals // Nature. 1998. Vol. 394, № 6693. Р. 539–544.
  246. Douglas S.M. et al. Self-assembly of DNA into nanoscale three-dimensional shapes // Nature. 2009. Vol. 459, № 7245. Р. 414–418.
  247. Nagarkatti R. et al. Development of an aptamer-based concentration method for the detection of Trypanosoma cruzi in blood. Public Library of Science San Francisco, USA, 2012.
  248. Dhivya R. et al. RNA Aptamers Directed to Human Immunodeficiency Virus Type

- 1 Gag Polyprotein Bind to the Matrix and Nucleocapsid Domains and Inhibit Virus Production // *J. Virol. American Society for Microbiology*, 2011. Vol. 85, № 1. P. 305–314.
249. Debbage P. Targeted drugs and nanomedicine: present and future // *Curr. Pharm. Des. Bentham Science Publishers*, 2009. Vol. 15, № 2. P. 153–172.
250. Heppell B., Lafontaine D.A. Folding of the SAM aptamer is determined by the formation of a K-turn-dependent pseudoknot // *Biochemistry. ACS Publications*, 2008. Vol. 47, № 6. P. 1490–1499.
251. Patel D.J. Structural analysis of nucleic acid aptamers // *Curr. Opin. Chem. Biol. Elsevier*, 1997. Vol. 1, № 1. P. 32–46.
252. Keniry M.A. Quadruplex structures in nucleic acids // *Biopolym. Orig. Res. Biomol. Wiley Online Library*, 2000. Vol. 56, № 3. P. 123–146.
253. Nagatoishi S., Tanaka Y., Tsumoto K. Circular dichroism spectra demonstrate formation of the thrombin-binding DNA aptamer G-quadruplex under stabilizing-cation-deficient conditions // *Biochem. Biophys. Res. Commun. Elsevier*, 2007. Vol. 352, № 3. P. 812–817.
254. Rambo R.P., Tainer J.A. Super-resolution in solution x-ray scattering and its applications to structural systems biology // *Annu. Rev. Biophys.* 2013. Vol. 42, № 1. P. 415–441.
255. Hammel M. Validation of macromolecular flexibility in solution by small-angle X-ray scattering (SAXS) // *European Biophysics Journal. Springer*, 2012. Vol. 41, № 10. P. 789–799.
256. Orlova E. V, Saibil H.R. Structural Analysis of Macromolecular Assemblies by Electron Microscopy // *Chem. Rev. American Chemical Society*, 2011. Vol. 111, № 12. P. 7710–7748.
257. Mascini M., Palchetti I., Tombelli S. Nucleic Acid and Peptide Aptamers: Fundamentals and Bioanalytical Aspects // *Angew. Chemie Int. Ed. John Wiley & Sons, Ltd*, 2012. Vol. 51, № 6. P. 1316–1332.
258. Thomas H., J. P.D. Adaptive Recognition by Nucleic Acid Aptamers // *Science (80). American Association for the Advancement of Science*, 2000. Vol. 287, №

5454. P. 820–825.
259. Labib M. et al. Aptamer-Based Impedimetric Sensor for Bacterial Typing // *Anal. Chem.* American Chemical Society, 2012. Vol. 84, № 19. P. 8114–8117.
  260. Labib M. et al. Aptamer-Based Viability Impedimetric Sensor for Bacteria // *Anal. Chem.* American Chemical Society, 2012. Vol. 84, № 21. P. 8966–8969.
  261. Liu J., Cao Z., Lu Y. Functional Nucleic Acid Sensors // *Chem. Rev.* American Chemical Society, 2009. Vol. 109, № 5. P. 1948–1998.
  262. Pang X. et al. Bioapplications of Cell-SELEX-Generated Aptamers in Cancer Diagnostics, Therapeutics, Theranostics and Biomarker Discovery: A Comprehensive Review // *Cancers* . 2018. Vol. 10, № 2.
  263. Zhang J. et al. Aptamer-conjugated gold nanoparticles for bioanalysis // *Nanomedicine. Future Medicine*, 2013. Vol. 8, № 6. P. 983–993.
  264. Zhou W. et al. Aptamer-based biosensors for biomedical diagnostics // *Analyst.* The Royal Society of Chemistry, 2014. Vol. 139, № 11. P. 2627–2640.
  265. Zimbres F.M. et al. Aptamers: Novel Molecules as Diagnostic Markers in Bacterial and Viral Infections? // *Biomed Res. Int.* / ed. Mishra S. Hindawi Publishing Corporation, 2013. Vol. 2013. P. 731516.
  266. Keefe A.D., Pai S., Ellington A. Aptamers as therapeutics // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2010. Vol. 9, № 7. P. 537–550.
  267. Kruspe S. et al. Aptamers as Drug Delivery Vehicles // *ChemMedChem.* John Wiley & Sons, Ltd, 2014. Vol. 9, № 9. P. 1998–2011.
  268. Sun H. et al. Oligonucleotide Aptamers: New Tools for Targeted Cancer Therapy // *Mol. Ther. - Nucleic Acids.* 2014. Vol. 3. P. e182.
  269. Adrian M., Heddi B., Phan A.T. NMR spectroscopy of G-quadruplexes // *Methods.* Academic Press, 2012. Vol. 57, № 1. P. 11–24.
  270. Mao X.A., Marky L.A., Gmeiner W.H. Nmr structure of the thrombin-binding dna aptamer stabilized by sr<sup>2+</sup> // *J. Biomol. Struct. Dyn.* Taylor & Francis Group, 2004. Vol. 22, № 1. P. 25–33.
  271. Van Buuren B.N.M. et al. NMR Spectroscopic Determination of the Solution Structure of a Branched Nucleic Acid from Residual Dipolar Couplings by Using

- Isotopically Labeled Nucleotides // *Angew. Chemie - Int. Ed.* 2003. Vol. 43, № 2. P. 187–192.
272. Van Der Werf R.M., Tessari M., Wijmenga S.S. Nucleic acid helix structure determination from NMR proton chemical shifts // *J. Biomol. NMR.* 2013. Vol. 56, № 2. P. 95–112.
273. Hammel M. Validation of macromolecular flexibility in solution by small-angle X-ray scattering (SAXS) // *Eur. Biophys. J.* 2012. Vol. 41, № 10. P. 789–799.
274. Viéville J.M.P. et al. Duplex formation and secondary structure of gamma-PNA observed by NMR and CD // *Biophys. Chem. Elsevier B.V.*, 2016. Vol. 210. P. 9–13.
275. Preus S., Wilhelmsson L.M. Advances in Quantitative FRET-Based Methods for Studying Nucleic Acids // *ChemBioChem.* John Wiley & Sons, Ltd, 2012. Vol. 13, № 14. P. 1990–2001.
276. Bai X. et al. Cryo-EM structure of a 3D DNA-origami object // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2012. Vol. 109, № 49. P. 20012 LP – 20017.
277. Martin T.G. et al. Design of a molecular support for cryo-EM structure determination // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. National Academy of Sciences*, 2016. Vol. 113, № 47. P. E7456–E7463.
278. Ruigrok V.J.B. et al. Characterization of aptamer-protein complexes by x-ray crystallography and alternative approaches // *International Journal of Molecular Sciences.* MDPI AG, 2012. Vol. 13, № 8. P. 10537–10552.
279. Bood M. et al. Fluorescent nucleobase analogues for base–base FRET in nucleic acids: synthesis, photophysics and applications // *Beilstein J. Org. Chem.* 2018. Vol. 14. P. 114–129.
280. Paramasivan S., Rujan I., Bolton P.H. Circular dichroism of quadruplex DNAs: Applications to structure, cation effects and ligand binding // *Methods.* 2007. Vol. 43, № 4. P. 324–331.
281. Jeffries C.M. et al. Preparing monodisperse macromolecular samples for successful biological small-Angle X-ray and neutron-scattering experiments // *Nat. Protoc.* Nature Publishing Group, 2016. Vol. 11, № 11. P. 2122–2153.

282. Svergun D., Barberato C., Koch M.H. CRY SOL - A program to evaluate X-ray solution scattering of biological macromolecules from atomic coordinates // *J. Appl. Crystallogr. International Union of Crystallography*, 1995. Vol. 28, № 6. P. 768–773.
283. Zuker M. Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction // *Nucleic Acids Res.* 2003. Vol. 31, № 13. P. 3406–3415.
284. Ikebukuro K. et al. A novel method of screening thrombin-inhibiting DNA aptamers using an evolution-mimicking algorithm // *Nucleic Acids Res.* 2005. Vol. 33, № 12. P. e108–e108.
285. Padmanabhan K., Tulinsky A. An Ambiguous Structure of a DNA 15-mer Thrombin Complex // *Acta Crystallogr. Sect. D.* 1996. Vol. 52, № 2. P. 272–282.
286. Russo Krauss I. et al. Thrombin–aptamer recognition: a revealed ambiguity // *Nucleic Acids Res.* 2011. Vol. 39, № 17. P. 7858–7867.
287. Russo Krauss I. et al. High-resolution structures of two complexes between thrombin and thrombin-binding aptamer shed light on the role of cations in the aptamer inhibitory activity // *Nucleic Acids Res.* 2012. Vol. 40, № 16. P. 8119–8128.
288. Spiridonova V.A. et al. A family of DNA aptamers with varied duplex region length that forms complexes with thrombin and prothrombin // *FEBS Lett. John Wiley & Sons, Ltd*, 2015. Vol. 589, № 16. P. 2043–2049.
289. Gordon M.S. et al. Fragmentation Methods: A Route to Accurate Calculations on Large Systems // *Chem. Rev. American Chemical Society*, 2012. Vol. 112, № 1. P. 632–672.
290. Fedorov D.G. The fragment molecular orbital method: theoretical development, implementation in GAMESS and applications // *WIREs Comput. Mol. Sci. Blackwell Publishing Inc.*, 2017. Vol. 7, № 6.
291. Gaus M., Cui Q., Elstner M. Density functional tight binding: application to organic and biological molecules // *WIREs Comput. Mol. Sci. John Wiley & Sons, Ltd*, 2014. Vol. 4, № 1. P. 49–61.
292. Gaus M., Goez A., Elstner M. Parametrization and Benchmark of DFTB3 for

- Organic Molecules // *J. Chem. Theory Comput.* 2012. Vol. 9, № 1. P. 338–354.
293. Yang J. et al. The I-TASSER Suite: protein structure and function prediction // *Nat. Methods.* 2015. Vol. 12, № 1. P. 7–8.
294. Babkin V.A. et al. Investigation of physicochemical properties of arabinogalactan of different larch species // *Russ. J. Bioorganic Chem.* 2016. Vol. 42, № 7. P. 707–711.
295. Willför S., Holmbom B. Isolation and characterisation of water soluble polysaccharides from Norway spruce and Scots pine // *Wood Sci. Technol.* 2004. Vol. 38, № 3. P. 173–179.
296. Nader H.B. et al. Heparins and Heparinoids: Occurrence, Structure and Mechanism of Antithrombotic and Hemorrhagic Activities // *Current Pharmaceutical Design.* 2004. Vol. 10, № 9. P. 951–966.
297. Desai U.R. New antithrombin-based anticoagulants // *Med. Res. Rev.* John Wiley & Sons, Ltd, 2004. Vol. 24, № 2. P. 151–181.
298. Drozd N.N. et al. [Anticoagulant activity of sulfated polysaccharides] // *Eksp. Klin. Farmakol.* 2006. Vol. 69, № 6. P. 51–62.
299. Chaidedgumjorn A. et al. Effect of (1→3)- and (1→4)-linkages of fully sulfated polysaccharides on their anticoagulant activity // *Carbohydr. Res.* 2002. Vol. 337, № 10. P. 925–933.
300. Kuznetsov B.N. et al. The Raman Spectroscopy, XRD, SEM, and AFM Study of Arabinogalactan Sulfates Obtained Using Sulfamic Acid // *Russ. J. Bioorganic Chem.* 2017. Vol. 43, № 7. P. 722–726.
301. Vasilyeva N.Y. et al. Sulfation of Mechanically Activated Arabinogalactan by Complex Sulfuric Anhydride-Pyridine in Pyridine Medium // *J. Sib. Fed. Univ. siberian federal univ 79 svobodny prospect, rm 21-02, krasnoyarsk, 660041~...*, 2013. Vol. 6, № 2. P. 158–169.
302. Cole A.J., Yang V.C., David A.E. Cancer theranostics: the rise of targeted magnetic nanoparticles // *Trends Biotechnol.* 2011. Vol. 29, № 7. P. 323–332.
303. Veisheh O., Gunn J.W., Zhang M. Design and fabrication of magnetic nanoparticles for targeted drug delivery and imaging // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2010. Vol. 62, №

3. P. 284–304.
304. Chu X., Yu J., Hou Y.-L. Surface modification of magnetic nanoparticles in biomedicine // *Chinese Phys. B*. IOP Publishing, 2015. Vol. 24, № 1. P. 14704.
305. Corot C. et al. Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2006. Vol. 58, № 14. P. 1471–1504.
306. Angelakeris M. Magnetic nanoparticles: A multifunctional vehicle for modern theranostics // *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 2017. Vol. 1861, № 6. P. 1642–1651.
307. Gobbo O.L. et al. Magnetic Nanoparticles in Cancer Theranostics // *Theranostics*. Ivyspring International Publisher, 2015. Vol. 5, № 11. P. 1249–1263.
308. Mosayebi J., Kiyasatfar M., Laurent S. Synthesis, Functionalization, and Design of Magnetic Nanoparticles for Theranostic Applications // *Adv. Healthc. Mater.* John Wiley & Sons, Ltd, 2017. Vol. 6, № 23. P. 1700306.
309. Aleksandrova G.P. et al. Synthesis of nanosized particles with magnetic properties for biomedical purposes // *Phys. Mesomech.* 2004. Vol. 7. P. 139–142.
310. Feoktistova L.P. et al. Radiographic study of iron-containing arabinogalactan derivatives // *J. Appl. Chem.* 2002. Vol. 75. P. 1951–1954.
311. Aleksandrova G.P. et al. Magnetic Activity of Nanostructured Hybrid Composites // *Electron. J. Phase Transit. Ordered States New Mater.* 2009. Vol. 4. P. 1–2.
312. Kim D., Jeong Y.Y., Jon S. A Drug-Loaded Aptamer–Gold Nanoparticle Bioconjugate for Combined CT Imaging and Therapy of Prostate Cancer // *ACS Nano*. American Chemical Society, 2010. Vol. 4, № 7. P. 3689–3696.
313. Engelberg S. et al. Cancer cell-selective, clathrin-mediated endocytosis of aptamer decorated nanoparticles // *Oncotarget*; Vol 9, No 30. 2018.
314. Nishimoto Y., Fedorov D.G. The fragment molecular orbital method combined with density-functional tight-binding and the polarizable continuum model // *Phys. Chem. Chem. Phys.* Royal Society of Chemistry, 2016. Vol. 18, № 32. P. 22047–22061.
315. Fedorov D.G. Solvent Screening in Zwitterions Analyzed with the Fragment Molecular Orbital Method // *J. Chem. Theory Comput.* American Chemical Society,

2019. Vol. 15, № 10. P. 5404–5416.
316. Fedorov D.G., Kitaura K. Pair interaction energy decomposition analysis // *J. Comput. Chem.* Wiley Online Library, 2007. Vol. 28, № 1. P. 222–237.
317. Fedorov D.G., Kitaura K. Extending the Power of Quantum Chemistry to Large Systems with the Fragment Molecular Orbital Method // *J. Phys. Chem. A.* American Chemical Society, 2007. Vol. 111, № 30. P. 6904–6914.
318. Ingason A.S., Dahlqvist M., Rosen J. Magnetic MAX phases from theory and experiments; a review // *J. Phys. Condens. Matter.* IOP Publishing, 2016. Vol. 28, № 43. P. 433003.
319. Nowotny V.H. Strukturchemie einiger Verbindungen der Übergangsmetalle mit den elementen C, Si, Ge, Sn // *Prog. Solid State Chem.* 1971. Vol. 5. P. 27–70.
320. Barsoum M.W. MAX phases: properties of machinable ternary carbides and nitrides. John Wiley & Sons, 2013.
321. Ingason A.S. et al. Magnetic Self-Organized Atomic Laminate from First Principles and Thin Film Synthesis // *Phys. Rev. Lett.* American Physical Society, 2013. Vol. 110, № 19. P. 195502.
322. Lin S. et al. Magnetic and electrical/thermal transport properties of Mn-doped  $M_{n+1}AX_n$  phase compounds  $Cr_{2-x}Mn_xGaC$  ( $0 \leq x \leq 1$ ) // *J. Appl. Phys.* American Institute of Physics, 2013. Vol. 113, № 5. P. 53502.
323. Cabioch T. et al. No Title // *J Eur Ceram Soc.* 2013. Vol. 33, № 4. P. 897.
324. Liu Z. et al. Magnetic ground state of the MAX-phase nitride  $Cr_2GaN$  // *Phys. Rev. B.* American Physical Society, 2013. Vol. 88, № 13. P. 134401.
325. Burriel R. et al. Square-shape magnetocaloric effect in  $Mn_3GaC$  // *J. Magn. Magn. Mater.* 2005. Vol. 290–291. P. 715–718.
326. Liu Z. et al. No Title // *J Amer Ceram Soc.* 2014. Vol. 97, № 1. P. 67.
327. Lai C.-C. et al. Structural and chemical determination of the new nanolaminated carbide  $Mo_2Ga_2C$  from first principles and materials analysis // *Acta Mater.* 2015. Vol. 99. P. 157–164.
328. Hu C. et al.  $Mo_2Ga_2C$ : a new ternary nanolaminated carbide // *Chem. Commun.* The Royal Society of Chemistry, 2015. Vol. 51, № 30. P. 6560–6563.

329. Caspi E.N. et al. Ordering of (Cr,V) Layers in Nanolamellar  $(\text{Cr}_{0.5}\text{V}_{0.5})_{n+1}\text{AlC}_n$  Compounds // *Mater. Res. Lett.* Taylor & Francis, 2015. Vol. 3, № 2. P. 100–106.
330. Dahlqvist M., Rosen J. Order and disorder in quaternary atomic laminates from first-principles calculations // *Phys. Chem. Chem. Phys.* The Royal Society of Chemistry, 2015. Vol. 17, № 47. P. 31810–31821.
331. Chen R. et al. Surface plasmon resonance aptasensor based on niobium carbide MXene quantum dots for nucleocapsid of SARS-CoV-2 detection.
332. Vajhadin F. et al. MXene-based cytosensor for the detection of HER2-positive cancer cells using  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{Ag}$  magnetic nanohybrids conjugated to the HB5 aptamer // *Biosens. Bioelectron.* Elsevier, 2022. Vol. 195. P. 113626.
333. Ghebouli M.A. et al. Theoretical prediction of the structural, elastic, electronic and thermal properties of the MAX phases  $\text{X}_2\text{SiC}$  ( $\text{X} = \text{Ti}$  and  $\text{Cr}$ ) // *Intermetallics*. 2011. Vol. 19, № 12. P. 1936–1942.
334. Cretu O. et al. Migration and Localization of Metal Atoms on Strained Graphene // *Phys. Rev. Lett.* American Physical Society, 2010. Vol. 105, № 19. P. 196102.
335. Santos E.J.G. et al. Switching on magnetism in Ni-doped graphene: Density functional calculations // *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* 2008. Vol. 78, № 19.
336. Santos E.J.G., Ayuela A., Sánchez-Portal D. First-principles study of substitutional metal impurities in graphene: structural, electronic and magnetic properties // *New J. Phys.* IOP Publishing, 2010. Vol. 12, № 5. P. 53012.
337. Xie P.-Y. et al. Enhanced bonding between noble metal adatoms and graphene with point defects // *Wuli Huaxue Xuebao/ Acta Phys. - Chim. Sin.* 2012. Vol. 28, № 2. P. 331–337.
338. Dimakis N. et al. Density functional theory calculations on transition metal atoms adsorbed on graphene monolayers // *Appl. Surf. Sci.* Elsevier B.V., 2017. Vol. 421. P. 252–259.
339. Hu L. et al. Density functional calculation of transition metal adatom adsorption on graphene // *Phys. B Condens. Matter*. 2010. Vol. 405, № 16. P. 3337–3341.
340. Krashennnikov A. V et al. Embedding Transition-Metal Atoms in Graphene:

- Structure, Bonding, and Magnetism // *Phys. Rev. Lett.* American Physical Society, 2009. Vol. 102, № 12. P. 126807.
341. Malola S., Häkkinen H., Koskinen P. Gold in graphene: In-plane adsorption and diffusion // *Appl. Phys. Lett.* American Institute of Physics, 2009. Vol. 94, № 4. P. 43106.
342. Sevinçli H. et al. Electronic and magnetic properties of 3d transition-metal atom adsorbed graphene and graphene nanoribbons // *Phys. Rev. B.* American Physical Society, 2008. Vol. 77, № 19. P. 195434.
343. Kuzubov A.A. et al. Study of interaction between transition metal atoms and bigraphene monovacancy by means of quantum chemistry // *Comput. Mater. Sci.* Elsevier, 2016. Vol. 112. P. 269–275.
344. Oh E. et al. No Title // *J. Am. Chem. Soc.* 2005. Vol. 127. P. 3270.
345. Wang C.-Z. et al. Atomistic simulation studies of complex carbon and silicon systems using environment-dependent tight-binding potentials // *Sci. Model. Simul.* SMNS. Ames Laboratory-U.S. DOE, Department of Physics and Astronomy, Iowa State University, Ames, IA 50011, United States, 2008. Vol. 15, № 1–3. P. 97–121.
346. Wang Y., Wang X., Antonietti M. Polymeric graphitic carbon nitride as a heterogeneous organocatalyst: From photochemistry to multipurpose catalysis to sustainable chemistry // *Angew. Chemie - Int. Ed.* 2012. Vol. 51, № 1. P. 68–89.
347. Liu A.Y., Cohen M.L. Prediction of new low compressibility solids // *Science* (80). 1989. Vol. 245, № 4920. P. 841–842.
348. Yang J. et al. Synthesis and characterization of nitrogen-rich carbon nitride nanobelts by pyrolysis of melamine // *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.* 2011. Vol. 105, № 1. P. 161–166.
349. Yan H., Chen Y., Xu S. Synthesis of graphitic carbon nitride by directly heating sulfuric acid treated melamine for enhanced photocatalytic H<sub>2</sub> production from water under visible light // *Int. J. Hydrogen Energy.* 2012. Vol. 37, № 1. P. 125–133.
350. Fu J. et al. Novel C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-CdS composite photocatalysts with organic-inorganic heterojunctions: In situ synthesis, exceptional activity, high stability and

- photocatalytic mechanism // *J. Mater. Chem. A*. 2013. Vol. 1, № 9. P. 3083–3090.
351. Yan S.C., Li Z.S., Zou Z.G. Photodegradation of rhodamine B and methyl orange over boron-doped g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> under visible light irradiation // *Langmuir*. 2010. Vol. 26, № 6. P. 3894–3901.
352. Dong G. et al. A fantastic graphitic carbon nitride (g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>) material: Electronic structure, photocatalytic and photoelectronic properties // *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.* Elsevier, 2014. Vol. 20, № 1. P. 33–50.
353. Yan S.C., Li Z.S., Zou Z.G. Photodegradation performance of g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> fabricated by directly heating melamine // *Langmuir*. 2009. Vol. 25, № 17. P. 10397–10401.
354. Li Y. et al. Nitrogen-rich carbon nitride hollow vessels: Synthesis, characterization, and their properties // *J. Phys. Chem. B*. American Chemical Society, 2010. Vol. 114, № 29. P. 9429–9434.
355. Thomas A. et al. Graphitic carbon nitride materials: Variation of structure and morphology and their use as metal-free catalysts // *J. Mater. Chem.* 2008. Vol. 18, № 41. P. 4893–4908.
356. Durairaj A. et al. Enhanced photocatalytic activity of transition metal ions doped g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> nanosheet activated by PMS for organic pollutant degradation // *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* Springer New York LLC, 2018. Vol. 29, № 10. P. 8201–8209.
357. Blöchl P.E. Projector augmented-wave method // *Phys. Rev. B*. 1994. Vol. 50, № 24. P. 17953–17979.
358. Joubert D. From ultrasoft pseudopotentials to the projector augmented-wave method // *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* 1999. Vol. 59, № 3. P. 1758–1775.
359. Grimme S. Semiempirical GGA-type density functional constructed with a long-range dispersion correction // *J. Comput. Chem.* 2006. Vol. 27, № 15. P. 1787–1799.
360. Henkelman G., Uberuaga B.P., Jónsson H. Climbing image nudged elastic band method for finding saddle points and minimum energy paths // *J. Chem. Phys.* American Inst of Physics, 2000. Vol. 113, № 22. P. 9901–9904.