

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра общей и неорганической химии

**Квантово-химическое изучение хемилюминесценции новых производных
люминола**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

студентки 2 курса 251 группы
направления 04.04.01 «Химия»
Института химии
Федотовой Елены Сергеевны

Научный руководитель:
профессор, д.х.н., доцент

дата, подпись

Н. А. Бурмистрова

Заведующий кафедрой
д.х.н., проф.

дата, подпись

И. Ю. Горячева

Саратов 2024

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. В настоящее время широко распространены методы обнаружения, основанные на явлении хемилюминесценции – главными их преимуществами перед традиционными химическими методами анализа являются высокая чувствительность, доступность и возможность миниатюризации [1-5]. Наиболее часто в качестве хемилюминесцирующего реагента применяют люминол [6-8]. Несмотря на то, что люминол находит широкое применение в различных областях, включая судебную экспертизу и иммунохимический анализ, его хемилюминесценция характеризуется низким квантовым выходом (порядка 1,2%), в связи с чем в настоящее время ведется поиск новых производных люминола с более высокими показателями квантового выхода.

Целью данной работы является теоретическая оценка спектральных свойств систем на основе новых производных люминола методами квантовой химии. Для достижения данной цели поставлены следующие задачи: 1. оптимизация геометрии производных люминола, интермедиатов и продуктов реакций ХЛ в различных средах методами квантовой химии; 2. построение и оптимизация двухзарядных и однозарядных ионов некоторых производных люминола и продуктов реакций ХЛ методами квантовой химии; 3. расчет спектральных свойств систем в различных средах методами квантовой химии; 4. сравнение результатов теоретического расчета с экспериментальными данными.

Краткая характеристика методов исследования. Для решения задач, поставленных в данной работе, применяли комплекс квантово-химических методов исследования: DFT BHHLYP 6-311G (d, p), TDDFT BHHLYP 6-311G (d, p), расчеты проводили методом «последовательного приближения» с применением серии базисных наборов в порядке возрастания сложности вычислений: 3-21G, 6-31G, 6-311G и 6-311G (d, p). Расчеты в растворителях (вода, ДМСО) проводили с помощью модели поляризуемого континуума PCM. Объектами исследования стали люминол и его новые производные ($n = 11$).

Описание структуры работы. Работа состоит из списка обозначений и сокращений, введения, трёх глав (литературного обзора, экспериментальной части и обсуждения результатов), заключения и списка использованных источников. В тексте работы содержатся рисунки, таблицы и графические иллюстрации. Общий объем работы составляет 60 страниц, включающих 15 таблиц и 21 рисунок. Проанализировано 33 литературных источника.

Научная значимость работы:

- Методами квантовой химии проведено изучение производных люминола, интермедиатов и продуктов реакций ХЛ в различных средах;
- Исследованы двухзарядные и однозарядные анионы некоторых производных люминола и продуктов реакции ХЛ;
- Изучены геометрические, орбитальные, электронные и спектральные характеристики;
- Проведен анализ спектральных свойств производных люминола и их продуктов реакции окисления в различных средах.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении описана актуальность темы исследования, раскрыта научная новизна работы и определены основные цели и задачи.

В **первой главе** рассмотрены основные квантово-химические методы изучения спектральных свойств молекулярных систем, в частности систем хемилюминесценции (ХЛ). Описаны этапы реакции окисления люминола и влияние условий ее проведения на спектральные характеристики. Приведено обоснование выбора степени ионизации производных люминола при расчетах.

Авторами [9] проведено квантово-химическое исследование методами DFT и CASPT2 механизма ХЛ люминола в три этапа: 1) оксигенация люминола для получения хемилюминофора, 2) этап химического возбуждения и 3) генерация излучателя света. Показано, что в механизме ХЛ люминола, во-первых, двойной депротонированный дианион люминола активирует молекулярный ки-

слород, во-вторых, диазахинон не образуется и, в-третьих, хемилуминофор образуется путем согласованного добавления кислорода и удаления азота. Установлено, что пероксидная связь проявляет наилучшую эффективность при химическом возбуждении в сравнении со связями $-\text{NH}-\text{NH}-$, $-\text{N}-\text{N}-$ и $-\text{S}-\text{S}-$. Показано, что для получения излучателя света должен происходить перенос протонов между amino- и карбонильными группами, что требует высокой локализованной энергии колебаний во время химического возбуждения.

В соответствии со значениями $pK_1 = 6,74$ и $pK_2 = 15,1$, в кислых растворах люминол полностью протонирован (LH_2), в нейтральной среде существует главным образом в виде однозарядного аниона (LH^-), а в щелочной среде образует однозарядный (LH^-) или двухзарядный (L^{2-}) анион [6].

По результатам анализа литературы показана и обоснована необходимость теоретического изучения спектральных свойств новых производных люминола. Проведена адаптация квантово-химических методов расчета под цель и задачи работы.

Во второй главе проведена информация об используемых производных люминола и квантово-химических методах расчета.

Проведен анализ спектральных характеристик (спектры поглощения и ХЛ) одиннадцати новых производных люминола в карбонатном буферном растворе.

Для проведения квантово-химических расчетов использовали программный пакет Firefly v. 8.2.0 [10], частично основанный на исходном коде системы PC GAMESS (General Atomic and Molecular Electronic Structure System) [11]. Этот комплекс является одной из наиболее часто применяемых программ для теоретического исследования химических систем. Расчеты проводили на 12 компьютерах, расположенных в 1 корпусе СГУ, а также на вычислительном кластере СГУ, состоящем из 5 узлов, один из которых является головным, а остальные четыре – счетными.

Визуализацию результатов расчета осуществляли в программе ChemCraft 1.8 [12], с помощью которой можно получать различные геометрические, элек-

тронные, орбитальные и т.п. характеристики молекул. Спектры поглощения и ХЛ визуализировали с помощью программы GaussSum 3.0 [13].

На первом этапе работы построили структуры исследуемых соединений с использованием программного пакета ChemCraft 1.8 и предварительно оптимизировали их геометрию полуэмпирическим методом PM3 (Parametric Method 3). Дальнейшие квантово-химические расчеты проводили методом «последовательного приближения» с применением серии базисных наборов в порядке возрастания сложности вычислений: 3-21G, 6-31G, 6-311G и 6-311G (d, p). Метод «последовательного приближения» использовали для быстрого нахождения равновесной геометрии и поиска глобального минимума молекул в ходе конформационного анализа. Выбор базиса определяли целевым уровнем точности расчета и ресурсами ЭВМ: проблема применения расширенных базисных наборов заключается в том, что объем памяти ЭВМ ограничен, а затраты машинного времени возрастают пропорционально числу базисных функций в четвертой степени.

Люминол и его производные (LH2), а также интермедиат реакции ХЛ (CP) оптимизировали методом теории функционала плотности DFT (Density Functional Theory) с применением обменно-корреляционного функционала BHHLYP и базисного набора 6-311G (d, p). Расчеты продукта реакции ХЛ (3AP, 3AP*) вели в две стадии: I) оптимизировали геометрию основного электронного состояния (S0) методом DFT BHHLYP 6-311G (d, p) и II) возбужденного электронного состояния (S1) с использованием зависящей от времени теории функционала плотности TDDFT (Time-Dependent Density Functional Theory), обменно-корреляционного функционала BHHLYP и базисного набора 6-311G (d, p). Для получения спектров поглощения проводили расчеты TDDFT в одной геометрической точке структур люминола и его производных в основном состоянии (LH2). Для получения спектров ХЛ проводили расчеты TDDFT в одной геометрической точке структур продукта реакции ХЛ в возбужденном состоянии (3AP*).

Расчеты в растворителях (вода, ДМСО) проводили с помощью модели поляризуемого континуума PCM (Polarizable Continuum Model).

Структуры двухзарядных и однозарядных анионов люминола и его производных (L^{-2} , L^{-1}), а также продукта реакции ХЛ в основном ($3AP^{-2}$, $3AP^{-1}$) и возбужденном ($3AP^{-2*}$, $3AP^{-1*}$) состояниях оптимизировали теми же квантово-химическими методами, что приведены для нейтрально заряженных молекул.

В **третьей главе** обсуждаются полученные результаты и приводятся геометрические, электронные, орбитальные и спектральные характеристики производных люминола, а также интермедиатов и продуктов их реакции окисления.

Проведен квантово-химический расчет производных люминола, интермедиатов и продуктов их реакции окисления методом DFT/ВННLYP/6-311G (d, p) в вакууме, водной среде и ДМСО.

Проанализированы методом DFT/ВННLYP/6-311G (d, p) дипольные моменты ряда изучаемых соединений в трех средах, а также их энергии гидратации, площадь поверхности доступная растворителю и поляризуемость.

Изучена разница энергий интермедиата и продукта реакции в возбужденном состоянии (рисунок 1). Установлено, что энергия активации данной стадии процесса зависит от введения заместителей и среды, что влияет на квантовый выход реакции ХЛ.

Изучено влияние структуры заместителей на геометрические характеристики реакционного центра молекул. Сравнение геометрии производных люминола (LH_2) показало, что введение различных заместителей не оказывает существенного влияния на положение атомов их гидразиновой и карбонильных групп, в то время как при сравнении геометрии продукта реакции окисления в основном и возбужденном состояниях были выявлены конформационные изменения карбоксильных групп.

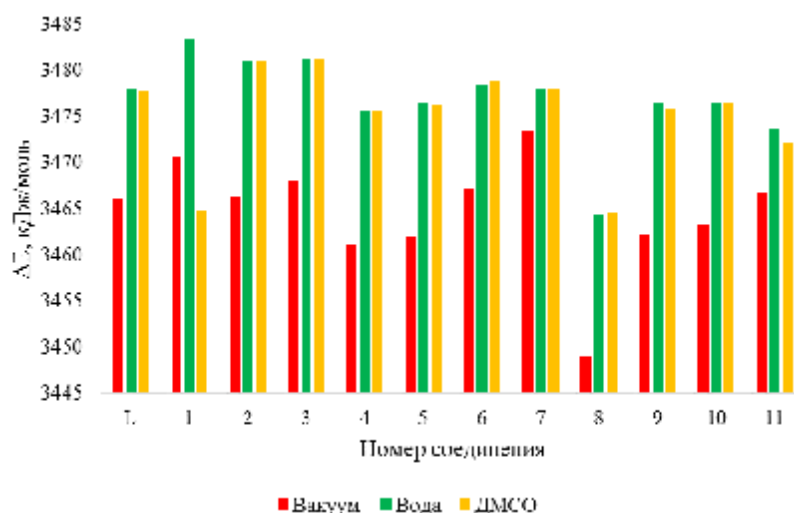


Рисунок 1 – Разница полных энергий интермедиата SP и продукта 3AP* реакции ХЛ в вакууме, воде и ДМСО, DFT BHHLYP 6-311G (d, p).

Проведено сравнение величин зарядов Малликена атомов реакционного центра люминола и его производных (LH₂), а также продуктов реакции окисления в основном (3AP) и возбужденном (3AP*) состояниях. Показано, что влияние введенных заместителей на заряды атомов реакционного центра молекул наблюдается на этапе образования продукта реакции окисления.

Рассчитаны энергии верхней заполненной (ВЗМО) и нижней вакантной (НВМО) молекулярных орбиталей, их разница и химическая жесткость молекул производных люминола, интермедиатов и продуктов в различных средах.

Рассчитаны спектры поглощения производных люминола LH₂ в вакууме, воде и ДМСО, а также двухзарядных и однозарядных анионов некоторых производных люминола L⁻² и LH⁻¹ методом TDDFT/BHHLYP/6-311G (d, p) в вакууме. Сравнение полос поглощения приведено на рисунках 2 и 3.

Рассчитаны спектры ХЛ производных люминола LH₂ в вакууме, воде и ДМСО, а также двухзарядных и однозарядных анионов некоторых производных люминола L⁻² и LH⁻¹ методом TDDFT/BHHLYP/6-311G (d, p) в вакууме. Сравнение полос ХЛ приведено на рисунке 4.

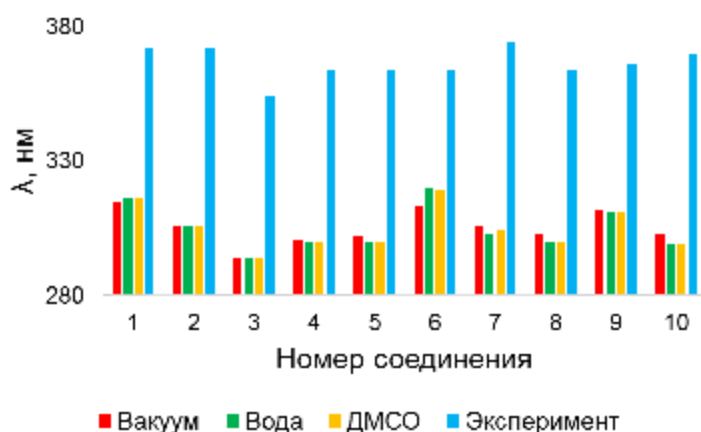


Рисунок 2 – Смещение теоретической полосы поглощения производных люминола относительно экспериментальной.

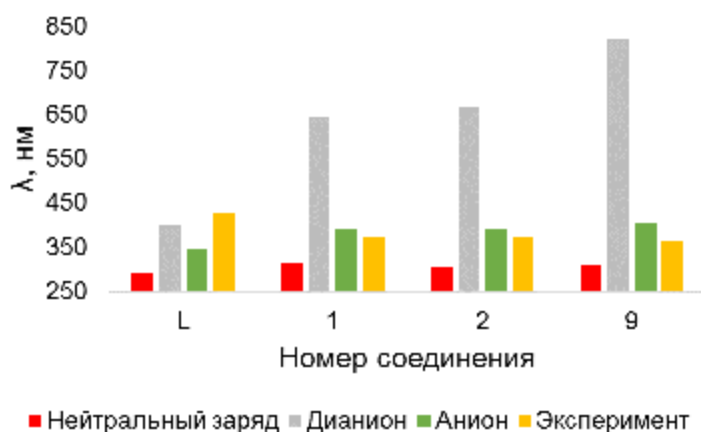


Рисунок 3 – Смещение теоретической полосы поглощения нейтрально заряженных производных люминола, их двухзарядных и однозарядных анионов относительно экспериментальной полосы поглощения.

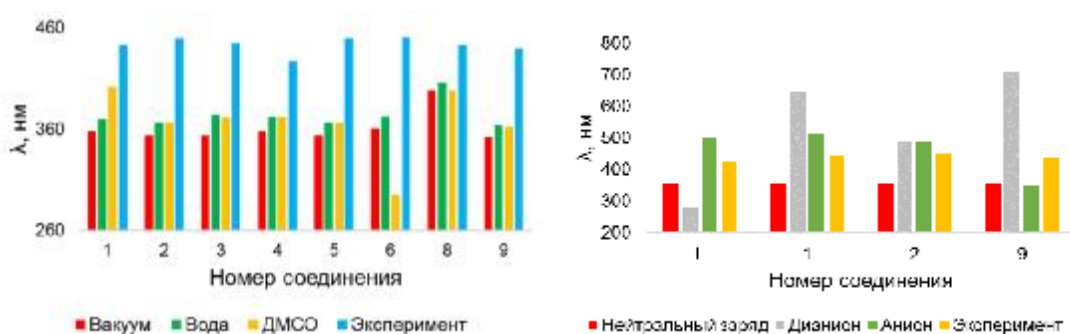


Рисунок 4 – Смещение теоретической полосы флуоресценции продуктов реакций ХЛ (слева) и их двухзарядных и однозарядных анионов (справа) относительно экспериментальной.

Заключение: Методами квантовой химии проведено изучение производных люминола ($n = 12$), интермедиатов и продуктов реакций ХЛ в различных средах. Исследованы двухзарядные и однозарядные анионы некоторых производных люминола ($n = 4$) и продуктов реакции ХЛ. Изучены геометрические, орбитальные, электронные и спектральные характеристики. Спектры поглощения производных люминола хорошо согласуются с экспериментальными данными, растворитель не оказывает существенного влияния на положение спектральных полос. Теоретические полосы поглощения смещаются относительно экспериментальных на (61 ± 4) , (62 ± 6) и (62 ± 6) нм в вакууме, воде и ДМСО соответственно. Полосы поглощения однозарядных ионов близки к полосам поглощения нейтрально заряженных молекул. Полосы поглощения двухзарядных ионов смещены в длинноволновую область. Заместители оказывают влияние на геометрические и орбитальные характеристики реакционного центра продуктов реакций ХЛ. Проведен анализ спектральных свойств продуктов реакции ХЛ в различных средах. Установлено, что теоретические полосы ХЛ смещаются относительно экспериментальных на (82 ± 15) , (70 ± 13) и (80 ± 30) нм в вакууме, воде и ДМСО соответственно. Растворитель влияет на положение спектральных полос. Полосы ХЛ однозарядных анионов близки к полосам ХЛ нейтрально заряженных молекул в области 200-400 нм. Полосы ХЛ двухзарядных анионов смещены в длинноволновую область.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Garcia-Campana A.M. Chemiluminescence in Analytical Chemistry / CRC Press, 2001. 640 P.
2. Roda A. Chemiluminescence and Bioluminescence: Past, Present and Future / RSC, 2011. 590 P.
3. Bastos E.L., Romoff P., Eckert C.R., Baader W.J. Evaluation of antiradical capacity by H₂O₂-hemin-induced luminol Chemiluminescence // J. Agric. Food Chem. 2003. V. 51, № 25, P. 7481-7488.
4. Marquette C.A., Blum L.J. Applications of the luminol chemiluminescent reaction in analytical chemistry // Anal. Bioanal. Chem. 2006. V. 385, № 3, P. 546-554.
5. Fletcher K.A., Fakayode S.O., Lowry M., Tucker S.A., Neal S.L., Kimaru I.W., McCarroll M.E., Patonay G., Oldham P.B., Rusin O., Strongin R.M., Warner I.M. Molecular fluorescence, phosphorescence, and chemiluminescence spectrometry // Anal. Chem. 2006. V. 78, № 12, P. 4047-4068.
6. Khan P., Idrees D., Moxley M.A., Corbett J.A., Ahmad F., von Figura G., Sly W.S., Waheed A., Hassan M.I. Luminol-based chemiluminescent signals: clinical and non-clinical application and future uses // Appl. Biochem. Biotechnol. 2014. V. 173, № 2, P. 333-355.
7. Baj S., Krawczyk T., Staszewska K. The influence of dioxygen on luminol Chemiluminescence // *Luminescence: the journal of biological and chemical luminescence*. 2009. V. 24, № 5, P. 348-354.
8. Yamaguchi M., Yoshida H., Nohta H. Luminol-type chemiluminescence derivatization reagents for liquid chromatography and capillary electrophoresis // *J. Chromatogr. A*. 2002. V. 950, P. 1-19.
9. Giussani A., Farahani P., Martínez-Muñoz D., Lundberg M., Lindh R., Roca-Sanjuán D. Molecular Basis of the Chemiluminescence Mechanism of Luminol // *Chemistry*. 2019. V. 25, № 20, P. 5202-5213.

10. Granovsky A.A. Firefly version 7.1.G // URL: <http://classic.chem.msu.su/gran/firefly/index.html>.
11. Schmidt M.W., Baldrige K.K., Boatz J.A., Elbert S.T., Gordon M.S., Jensen J.H., Koseki S., Matsunaga N., Nguyen K.A., Su S., Windus T.L., Dupuis M., Montgomery J.A. General atomic and molecular electronic structure system // J. Comput. Chem. 1993. V. 14, P.1347-1363.
12. Chemcraft - graphical software for visualization of quantum chemistry computations. Version 1.8, build 682 // URL: <https://www.chemcraftprog.com>.
13. O'boyle N.M., Tenderholt A.L., Langner K.M. cclib: A library for package-independent computational chemistry algorithms // J. Comput. Chem. 2008. V. 29, № 5, P. 839-845.