

02

## Поляризованная флуоресценция триптофана при двухфотонном возбуждении фемтосекундными импульсами лазера

© М.Э. Сасин, А.Г. Смолин<sup>¶</sup>, О.С. Васютинский

Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН,  
194021 Санкт-Петербург, Россия

<sup>¶</sup> e-mail: smol@pms.ioffe.rssi.ru

Поступила в редакцию 17.05.2018 г.

В окончательной редакции 07.06.2018 г.

Исследовано затухание поляризованной флуоресценции молекул триптофана в водном растворе пропиленгликоля при двухфотонном возбуждении импульсами лазера фемтосекундной длительности. Возбуждение осуществлялось линейным и циркулярно поляризованным излучением в диапазоне длин волн 385–510 nm. В результате обработки экспериментальных сигналов флуоресценции как функции времени и поляризации излучения были определены два характерных времени жизни, характеризующие затухание интенсивности флуоресценции, а также время вращательной корреляции  $\tau_{\text{rot}}$ . Была определена спектральная зависимость параметра анизотропии  $\Omega$  и параметров анизотропии  $r$  для линейно и циркулярно поляризованного возбуждающего излучения. Показано, что функция зависимости флуоресценции от времени хорошо описывается суммой двух экспонент с амплитудами  $a_1, a_2$  и с характерными временами  $\tau_{f1}$  и  $\tau_{f2}$  для всех длин волн исследованного спектрального диапазона. Продемонстрировано, что экспериментальные зависимости параметров  $\Omega, r, \tau_{f1}$  и  $a_2/a_1$  имеют нетривиальный характер, что отображает сложность процессов релаксации возбуждения. Полученные результаты могут быть использованы для интерпретации экспериментов и проверки теоретических моделей, описывающих интенсивность и поляризацию флуоресценции молекул триптофана в растворах и органических соединениях при оптическом возбуждении.

DOI: 10.21883/OS.2018.10.46701.132-18

### Введение

Триптофан является одной из наиболее востребованных молекул при исследовании структуры и динамики протеинов методом детектирования индуцированной флуоресценции. Триптофан является природной аминокислотой, которая встречается в большинстве протеинов и, кроме этого, триптофан может быть достаточно легко встроен в протеины без больших структурных изменений. Исследованиям индуцированной флуоресценции триптофана в различных протеинах посвящены десятки работ. В работах [1,2] представлены обобщающие результаты таких исследований вплоть до настоящего времени. Характерной особенностью излучения молекул триптофана в растворах и в протеинах является сложная зависимость сигнала интенсивности флуоресценции от времени, которая описывается суммой двух и более экспонент с соответствующими характерными временами [1–3]. Такая сложная функциональная зависимость сигнала флуоресценции отражает сложную динамику происходящих фотохимических процессов. Важным результатом исследований в работах [1,2] является теоретическое и численное моделирование процессов на основе методов молекулярной динамики, которые описывают зависимости интенсивности флуоресценции от ее длины волны и от времени. В частности, было выяснено, что для случая расположения триптофана в составе протеинов имеется два важных конкурирующих механиз-

ма, которые могут определять наблюдающиеся сигналы флуоресценции. Первый механизм обуславливается наличием большого количества ротамеров триптофана, которые могут возбуждаться одновременно. Исследованию структуры и свойств различных ротамеров триптофана посвящена недавняя работа [4], которая была выполнена позже многих исследований оптических свойств чистого триптофана в растворах. Ротамеры триптофана имеют достаточные отличия при взаимодействии с протеинами, которые проявляются при передаче энергии оптического возбуждения посредством реакции переноса электрона. Другой механизм обусловлен особенностями релаксации возбужденного состояния и геометрией молекулы в растворе. Вопрос о доминировании того или другого механизма в различных условиях остается до сих пор дискуссионным.

Исследованию молекул триптофана в растворах посвящено значительное количество работ, которые, как правило, выполнялись без применения фемтосекундных лазеров и использовали модели о структуре триптофана и динамике его взаимодействия с окружением, которые выглядят упрощенными по сравнению с данными последнего десятилетия. В частности, в работе [3] были осуществлены исследования молекул триптофана и его производных при однофотонном возбуждении на одной длине волны, а полученные результаты интерпретировались с использованием модели воздействия растворителя на возбужденное состояние. Отметим, что по-

давяющее число проведенных до настоящего времени следований флуоресценции триптофана ограничивалось анализом параметров затухания флуоресценции от ее длины волны при однофотонном возбуждении без определения зависимостей от энергии фотонов возбуждения.

В предыдущих исследованиях нашей группы использовался метод двухцветного двухфотонного (2C2P) возбуждения и поляризованной флуоресценции в важных для биологии многоатомных молекулах, а для интерпретации результатов эксперимента была разработана квантово-механическая теория, основанная на методе сферических тензоров [5,6]. Ранее эта теория была успешно применена для решения целого ряда задач молекулярной динамики, связанных с описанием векторных корреляций в процессах фотодиссоциации [7–11] и неупругих столкновений молекул [12]. В частности, были получены общие выражения для временной зависимости интенсивности флуоресценции в произвольных молекулах типа асимметричного волчка, в которых часть, зависящая от поляризации всех трех фотонов, участвующих в фотопроцессе, была выделена из части, описывающей динамику возбужденных состояний молекул. Это позволило резко упростить анализ и разработать новый метод извлечения молекулярных параметров из экспериментальных данных. Этот метод был применен для экспериментального исследования процессов, возникающих при двухфотонном возбуждении целого ряда многоатомных молекул: *p*-терфинил, DMQ (2-метил-5-тетрабутил-*p*-квадрофенил), индол, NADH (никотинамид-адениндинуклеотид) [6,13–16].

В настоящей работе было проведено исследование затухания поляризованной флуоресценции молекул триптофана в водном растворе пропиленгликоля при двухфотонном возбуждении фемтосекундными импульсами с использованием линейно и циркулярно поляризованного лазерного излучения. Были получены зависимости затухания поляризованной флуоресценции от времени, а также от энергии возбуждающих фотонов, которые демонстрируются в данной работе впервые. Эти зависимости показывают изменение вклада в сигнал двухэкспоненциальных членов с характерными временами затухания  $\tau_{f1}$  и  $\tau_{f2}$  в зависимости от энергии возбуждения. Кроме этого, было определено время вращательной диффузии  $\tau_{\text{rot}}$ , которое является эффективным значением, усредненным по различным ротамерам триптофана. Насколько нам известно, время вращательной диффузии  $\tau_{\text{rot}}$  для триптофана в водном растворе пропиленгликоля было определено впервые. Значения времен затухания сигнала флуоресценции  $\tau_{f1}$  и  $\tau_{f2}$ , относительный вклад различных экспоненциальных членов, а также значение  $\tau_{\text{rot}}$  представляют значительный интерес, так как они могут сильно зависеть от вида раствора и его вязкости [17–19].

Еще одной важной частью настоящей работы было определение параметров анизотропии  $r$  и  $\Omega$ , характеризующих анизотропию двухфотонного возбуждения молекул и содержащих в себе важную информацию о динамике возбуждения молекул [20]. Значения этих

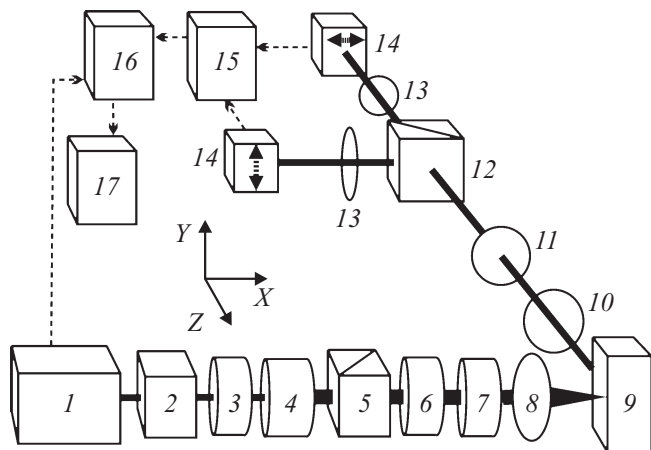
параметров для двухфотонного возбуждения молекул триптофана в растворе пропиленгликоля также ранее не публиковались. Описанные выше результаты могут быть использованы для теоретического и модельного численного исследования механизмов взаимодействия ротамеров триптофана с растворами. При этом большой интерес представляют значения этих параметров именно для условий двухфотонного возбуждения. Это связано с преимуществами двухфотонного возбуждения молекул, так как используемые при возбуждении молекул длины волн обладают большей проникающей способностью в органические ткани по сравнению с однофотонным возбуждением с эквивалентной энергией возбуждения. Двухфотонное возбуждение также позволяет обеспечить более высокое пространственное разрешение и позволяет получать более подробную информацию о структуре молекул.

## Методика и экспериментальная установка

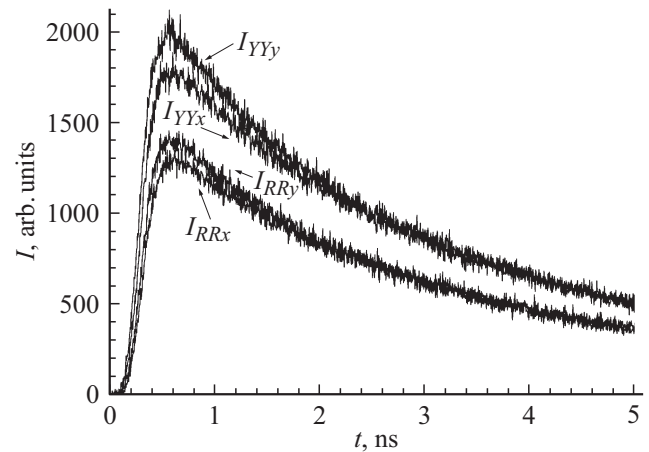
Исследовалась временная зависимость интенсивности поляризованной флуоресценции триптофана в водном растворе пропиленгликоля. Флуоресценция индуцировалась посредством двухфотонного возбуждения молекул триптофана фемтосекундными импульсами лазера Двухфотонное возбуждение молекул триптофана осуществлялось сфокусированным импульсным лазерным излучением, распространявшимся вдоль оси *X* (рис. 1). Для излучения накачки последовательно использовалась линейная поляризация с направлениями вдоль осей *Y* и *Z*, а также циркулярная поляризация. Степень поляризации излучения накачки превышала 99.5%. Частота следования импульсов лазерного излучения составляла 80.7 МГц. Для повышения точности определения временной зависимости затухания флуоресценции использовалось фемтосекундное излучение накачки с длительностью импульса 150 fs, что много меньше характерных времен затухания сигнала флуоресценции. Средняя мощность лазерного пучка составляла 12 мВт, что позволяло обеспечить плотность мощности в области фокуса порядка 20 МВт/см<sup>2</sup>. Флуоресценция молекул триптофана детектировалась в направлении вдоль оси *Z*, перпендикулярном лучу возбуждения. Интенсивности двух линейно поляризованных вдоль осей *X* и *Y* компонент флуоресценции регистрировались одновременно двумя фотодетекторами в режиме счета фотонов. Сигналы с фотодетекторов фиксировались системой время-корреляционного анализа для дальнейшей обработки. Длина волны возбуждающего излучения изменялась в диапазоне 385–510 нм. В исследованиях использовался раствор триптофана в концентрации 0.0125 моль/л в смеси равных объемных долей пропиленгликоля и воды.

Схема экспериментальной установки приведена на рис. 1. Для оптического возбуждения молекул использовалось излучение перестраиваемого импульсного фем-

тосекундного Ti:Sa лазера MaiTai HP (Spectra-Physics), преобразованное в удвоителе частоты InspireBlue (Spectra-Physics). После удвоения частоты лазерный пучок проходил через фазовую пластинку  $\lambda/2$ , а затем расширялся до диаметра 4 mm и проходил через поляризационную призму 10GL08 (Newport). Необходимая поляризация лазерного излучения достигалась посредством кристаллических фазовых пластинок  $\lambda/2$  и  $\lambda/4$  (Элан+). Сформированное излучение фокусировалось линзой (NA 0.3) в центр кварцевой кюветы, содержащей исследуемый раствор. Собирающая линза направляла излучение флуоресценции из кюветы через узкополосный интерференционный фильтр FF01-390/SP (Semrock) с полосой пропускания 320–370 nm на призму Глана, которая разделяла его на компоненты с поляризациями вдоль осей X и Y. Интенсивность каждой компоненты поляризованной флуоресценции регистрировалась отдельным быстродействующим фотодетектором на основе лавинных фотодиодов PDM PD-050-CTC (MPD) с полушириной отклика 200 ps. Полученные электрические сигналы от обоих фотодетекторов направлялись через роутер PHR 800 (PicoQuant) на время-корреляционный анализатор PicoHarp 300 (PicoQuant) с частотой дискретизации 4 ps, который отправлял данные о регистрации сигналов на компьютер для дальнейшей обработки. Для каждой длины волны лазерного излучения его поляризация менялась с линейной вдоль оси Z на ортогональную вдоль оси Y, а затем на правополярную (RR). Времена, характеризующие системы накачки и регистрации, были много меньше значений



**Рис. 1.** Схема экспериментальной установки. 1 — фемтосекундный лазер, 2 — удвоитель частоты, 3 — фазовая пластинка  $\lambda/2$ , 4 — расширитель, 5 — поляризационная призма, 6 — фазовая пластинка  $\lambda/2$  (для поворота линейной поляризации излучения), 7 — фазовая пластинка  $\lambda/4$  (для создания циркулярной поляризации излучения), 8 — фокусирующая линза, 9 — кювета с исследуемым раствором, 10 — собирающая линза, 11 — узкополосный фильтр, 12 — призма Глана, 13 — фокусирующие линзы, 14 — фотодетекторы, 15 — роутер PHR 800 (PicoQuant), 16 — время-корреляционный анализатор, 17 — компьютер. Штрихами обозначены линии передачи данных.



**Рис. 2.** Экспериментальные сигналы интенсивности поляризованной флуоресценции в зависимости от времени для длины волны возбуждающего излучения 390 nm.  $I_{YYy}$ ,  $I_{YYx}$ ,  $I_{RRy}$ ,  $I_{RRx}$  — интенсивности поляризованной флуоресценции для соответствующих поляризаций излучения возбуждения и флуоресценции.

времен затухания, определяемых в эксперименте, что позволяло повысить точность фитинга полученных экспериментальных данных.

## Обработка экспериментальных данных

Примеры экспериментальных сигналов затухания поляризованной флуоресценции приведены на рис. 2 для длины волны возбуждения 390 nm. Выражения для интенсивности флуоресценции с поляризацией вдоль осей X и Y имеют следующий вид [21]:

$$I_{Ux}(t) = I_U(t)[1 + 2r_U(t)], \quad (1)$$

$$I_{Uy}(t) = I_U(t)[1 - r_U(t)], \quad (2)$$

где  $I_U(t)$  — полная интенсивность флуоресценции;  $I_{Ux}(t)$  и  $I_{Uy}(t)$  — интенсивности флуоресценции с поляризацией вдоль осей X и Y;  $r_U(t)$  — параметр анизотропии; индекс U может принимать значения RR или YY, причем для случая линейной поляризации обоих возбуждающих фотонов (YY) индексы x и y в выражениях для интенсивности флуоресценции (1) и (2) меняются местами. Сигналы поляризованной флуоресценции в выражениях (1) и (2) содержат изотропную  $I_U(t)$  и анизотропную  $r_U(t)$  составляющие, которые затухают с разными характерными временами. Как видно из рис. 2, параметр анизотропии  $r_U(t)$  затухает быстрее, поэтому сигналы флуоресценции  $I_{Ux}(t)$  и  $I_{Uy}(t)$  на больших временах имеют близкие амплитуды. Наблюдаемая в начальный момент времени разность интенсивностей компонент поляризованной флуоресценции обусловлена анизотропией ориентации возбужденных молекул триптофана, которая бы-

ла внесена поглощенным поляризованным излучением.

Как известно [1–3], сигнал полной интенсивности флуоресценции в триптофане может быть представлен в виде суммы двух экспонент с постоянными времени  $\tau_{f1}$  и  $\tau_{f2}$ . Для случая возбуждения флуоресценции циркулярно и линейно поляризованным излучением можно описать соответствующие полные интенсивности  $I_{RR}(t)$  и  $I_{YY}(t)$  выражениями

$$I_{RR}(t) = [I_{RRx}(t) + 2I_{RRy}(t)]/3 \\ = [a_1 \exp(-t/\tau_{f1}) + a_2 \exp(-t/\tau_{f2})]B_{RR}, \quad (3)$$

$$I_{YY}(t) = [I_{YYy}(t) + 2I_{YYx}(t)]/3 \\ = [a_1 \exp(-t/\tau_{f1}) + a_2 \exp(-t/\tau_{f2})]B_{YY}, \quad (4)$$

где  $a_1, a_2, B_{RR}, B_{YY}$  — экспериментально определяемые коэффициенты.

Выражения для параметров анизотропии  $r_{RR}(t), r_{YY}(t)$  и  $\Omega$  могут быть представлены следующим образом [21]:

$$r_{RR}(t) = r_{LL}(t) = \frac{I_{RRx}(t) - I_{RRy}(t)}{I_{RRx}(t) + 2I_{RRy}(t)}, \quad (5)$$

$$r_{YY}(t) = \frac{I_{YYy}(t) - I_{YYx}(t)}{I_{YYy}(t) + 2I_{YYx}(t)}, \quad (6)$$

$$\Omega = \frac{I_{RR}}{I_{YY}} = \frac{I_{LL}}{I_{YY}}. \quad (7)$$

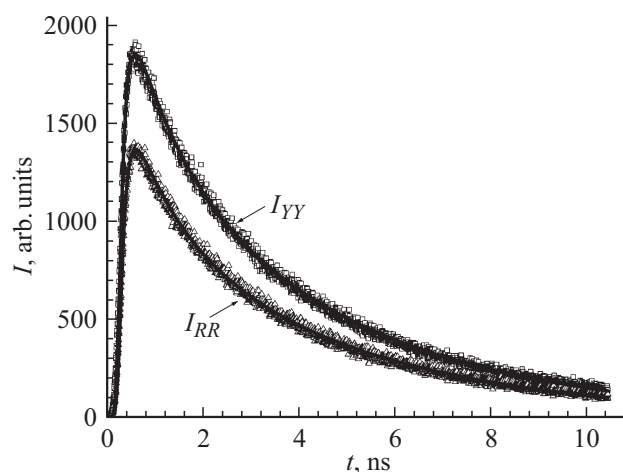
Временная зависимость параметров анизотропии  $r_{RR}(t)$  и  $r_{YY}(t)$  определяется изменением распределения молекулярных осей под действием релаксационных процессов [1]. В общем случае эта зависимость характеризуется несколькими корреляционными временами общим числом от одного до пяти [5]. Однако для молекул, близких к сферическому волчку, параметры  $r_{RR}(t)$  и  $r_{YY}(t)$  затухают по одноэкспоненциальному закону с показателем затухания  $\tau_{tot}$ . В случае различных ротамеров триптофана их геометрия не имеет явно выделенного отличия от сферической формы с явным преобладанием какой-либо деформации, что позволяет ввести для оценки одно эффективное значение корреляционного времени  $\tau_{tot}$ . Анализ экспериментальных кривых для параметров анизотропии  $r_{RR}(t)$  и  $r_{YY}(t)$  подтверждает допустимость такого приближения, так как фитинг этих кривых экспонентой с одним корреляционным временем  $\tau_{tot}$  дает хорошее совпадение с экспериментом.

Экспериментальные данные обрабатывались по методике, описанной в работах [6,15]. Относительная чувствительность X- и Y-каналов детектирования задавалась фактором  $G$ , значение которого определялось экспериментально на основе измерения интенсивностей флуоресценции  $I_{ZZx}$  и  $I_{ZZy}$  исходя из соотношения  $I_{ZZx} = GI_{ZZy}$  [6]. Полученный таким образом фактор  $G$  использовался для коррекции сигналов полной интенсивности флуоресценции  $I_{RR}(t)$  и  $I_{YY}(t)$  в

левой части уравнений (3) и (4) так, чтобы убрать систематические искажения, вносимые схемой регистрации. В качестве подгоночных функций для экспериментальных данных применялись суммы экспонент (3) и (4). Фитинг осуществлялся на основе метода наименьших квадратов. Для корректного математического описания экспериментальных сигналов интенсивности поляризованной флуоресценции в зависимости от времени осуществлялась свертка выражений (3) и (4) с инструментальной функцией отклика детектора  $IRF$ , как описано в работе [6]. При этом вычисление свертки осуществлялось для текущего значения постоянной затухания на каждом шаге процедуры фитинга. Функция отклика детектора измерялась независимо и определялась для длины волны флуоресценции согласно документации на детектор. В результате фитинга экспериментальных сигналов полной интенсивностей флуоресценции  $I_{RR}(t)$  и  $I_{YY}(t)$  были определены значения  $\tau_{f1}, \tau_{f2}, a_1, a_2$  в выражениях (3) и (4). Для определения корреляционного времени  $\tau_{tot}$  и параметров анизотропии  $r$  использовались выражения (5) и (6). Примеры фитинга экспериментальных кривых полной интенсивности флуоресценции  $I_{RR}(t)$  и  $I_{YY}(t)$  в зависимости от времени представлены на рис. 3 сплошными линиями для длины волны возбуждающего лазера 390 nm. Такая же методика фитинга была проведена для 16 длин волн возбуждения в диапазоне 385–510 nm. Зависимости исследуемых параметров от длины волны и их обсуждение приведены в следующей секции.

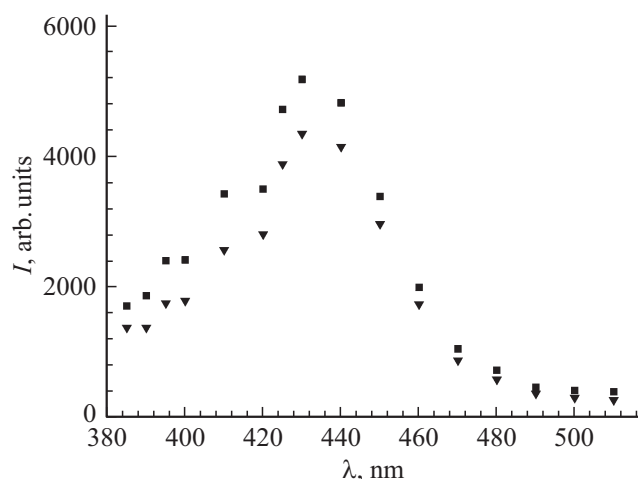
## Анализ данных эксперимента

На рис. 4 представлены зависимости значений полной интенсивности флуоресценции  $I_{RR}(0)$  и  $I_{YY}(0)$  от

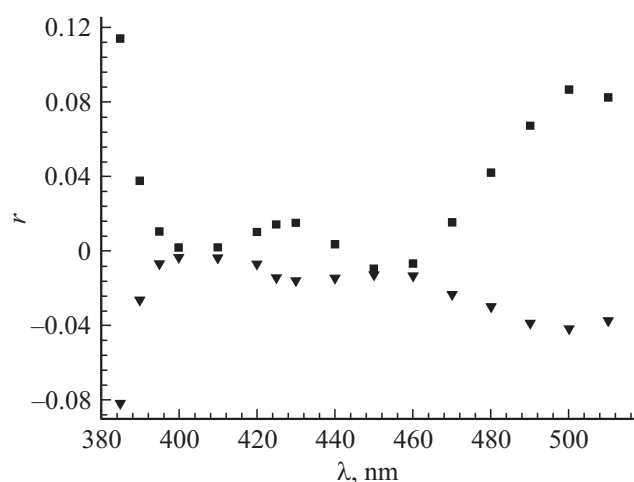


**Рис. 3.** Полные интенсивности флуоресценции  $I_{YY}(t)$  и  $I_{RR}(t)$  в зависимости от времени. Сплошными кривыми отображены результаты фитинга экспериментальных данных. Экспериментальные точки обозначены квадратами для  $I_{YY}$  и треугольниками для  $I_{RR}$ .

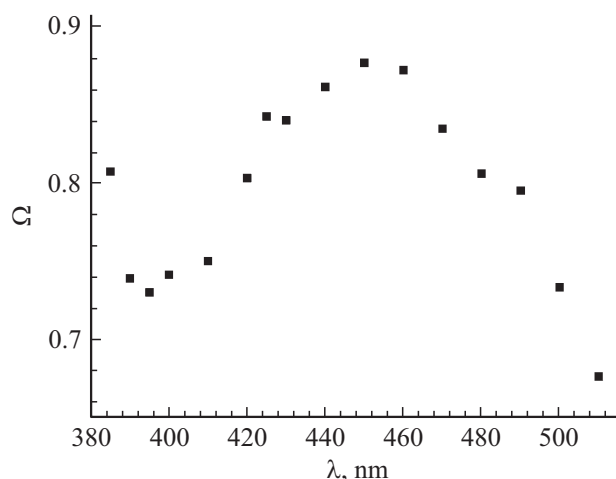
длины волны, полученные на основе фитинга экспериментальных данных. Эти зависимости носят немонотонный характер, отражающий спектр двухфотонного возбуждения ровибронных состояний молекул триптофана. Колебательная структура двухфотонных переходов на рис. 4 не просматривается вследствие релаксационного уширения, а также вследствие сглаживания при возбуждении фемтосекундными лазерными импульсами со спектральным профилем шириной около 4 nm. Для анализа влияния различных электронных состояний молекулы триптофана большой интерес представляют параметры анизотропии  $r(0)$  и  $\Omega$ , которые представлены в зависимости от длины волны возбуждения на рис. 5 и 6 соответственно. В соответствии с нашими расчетами участки этих кривых с резким изменением значений



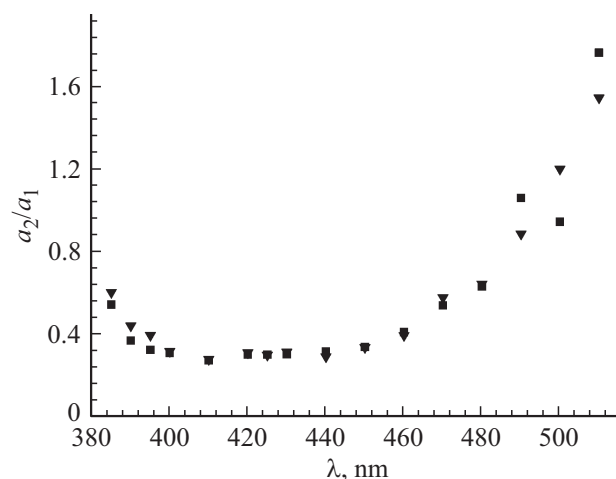
**Рис. 4.** Интенсивности флуоресценции  $I_{YY}$  и  $I_{RR}$  в начальный момент времени  $t = 0$  в зависимости от длины волны возбуждающего излучения. Значения для  $I_{YY}$  обозначены квадратами, значения для  $I_{RR}$  — треугольниками.



**Рис. 5.** Параметр анизотропии  $r$  в зависимости от длины волны возбуждающего излучения в начальный момент времени. Значения для  $r_{YY}$  обозначены квадратами, значения для  $r_{RR}$  — треугольниками.

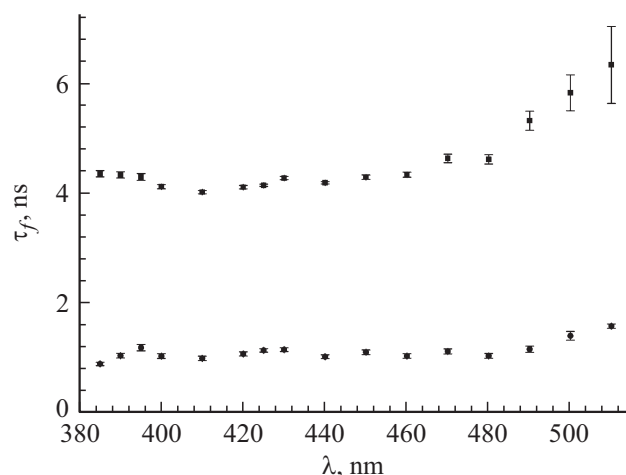


**Рис. 6.** Параметр  $\Omega$  в зависимости от длины волны возбуждающего излучения.



**Рис. 7.** Отношение амплитуд  $a_2/a_1$  в зависимости от длины волны возбуждающего излучения. Для случая возбуждения линейно поляризованным светом значения для  $a_2/a_1$  обозначены квадратами, для случая возбуждения циркулярно поляризованным светом — треугольниками.

соответствующего параметра анизотропии могут быть обусловлены изменениям вклада в возбуждение того или иного электронного состояния. Приведенные зависимости важны для исследования влияния электронных состояний на динамику процесса фотовозбуждения и будут в дальнейшем использованы для сопоставления с данными расчетов *ab initio*. Для исследования динамики взаимодействия ротамеров триптофана с раствором и динамики безызлучательной релаксации важную роль также имеет зависимость отношения амплитуд  $a_2/a_1$  на рис. 7 и времен жизни  $\tau_{f1}$ ,  $\tau_{f2}$  на рис. 8 от длины волны возбуждения. На рис. 7 видны изменения отношения амплитуд  $a_2/a_1$  на краях графика в диапазоне длин волн 385–510 nm. В настоящее время интерпретация этой зависимости затруднительна. Вопрос о механиз-



**Рис. 8.** Постоянные времена затухания  $\tau_{f1}$  и  $\tau_{f2}$  в зависимости от длины волны возбуждающего излучения. Значения для  $\tau_{f1}$  обозначены квадратами, значения для  $\tau_{f2}$  — кружками.

ме двухэкспоненциального затухания флуоресценции в молекуле триптофана до настоящего времени является дискуссионным [1,2] и требует дальнейшего изучения. На рис. 8 видно относительно плавное увеличение значений времени жизни  $\tau_{f1}$  с увеличением длины волны возбуждения и практически неизменное значение времени жизни  $\tau_{f2}$ . Это поведение можно объяснить разными механизмами. В частности, можно предположить изменение соотношения ротамеров триптофана в возбужденном состоянии в зависимости от длины волны и различной релаксацией возбужденных состояний ротамеров в растворе. Для более точного описания процесса требуются *ab initio* расчеты на основе молекулярной динамики при высоких энергиях возбуждения, которые могут быть сравнены с полученными экспериментальными данными.

Полученное нами эффективное значение времени вращательной диффузии  $\tau_{rot} = 1.2 \pm 0.3$  ns мало меняется в исследуемом диапазоне длин волн, что соответствует теоретической модели.

## Выводы

В результате работы было исследовано затухание поляризованной флуоресценции молекул триптофана в водном растворе пропиленгликоля при двухфотонном возбуждении фемтосекундными линейно и циркулярно поляризованными импульсами лазера в диапазоне длин волн 385–510 nm. Полученные зависимости параметров  $r$ ,  $\Omega$ ,  $\tau_{f1}$ ,  $\tau_{f2}$ ,  $a_2/a_1$  от длины волны для исследуемого процесса публикуются впервые и несут в себе важную информацию о динамике данного процесса. Сложная зависимость параметров  $r$ ,  $\Omega$ ,  $\tau_{f1}$ ,  $a_2/a_1$  от энергии возбуждающего фотона является следствием процесса возбуждения разных ротамеров триптофана и механизмов релаксации возбуждения в растворе. Эти

процессы могут быть исследованы более подробно с привлечением численных методов молекулярной динамики и полученных в работе экспериментальных данных. Полученные экспериментальные данные могут быть также использованы для сравнения с будущими расчетами для интерпретации спектров возбуждения в растворах триптофана.

## Список литературы

- [1] Callis P.R., Tusell J.R. *Methods in Molecular Biology* 1076: Fluorescence Spectroscopy and Microscopy: MD + QM Correlations with Tryptophan Fluorescence Spectral Shifts and Lifetimes. N.Y.: Humana Press, 2014.
- [2] Pan C.-P., Muino P.L., Barkley M.D., Callis P.R. // *J. Phys. Chem. B*. 2011. V. 115. P. 3245.
- [3] Lakowicz J.R., Balter A. // *Biophys. Chemistry*. 1982. V. 15. P. 353.
- [4] Kabelac M., Hobzaab P., Spirko V. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2009. V. 11. P. 3921.
- [5] Shternin P.S., Gericke K.H., Vasyutinskii O.S. // *Mol. Phys.* 2010. V. 108. P. 813.
- [6] Denicke S., Gericke K.H., Smolin A.G., Shternin P.S., Vasyutinskii O.S. // *J. Phys. Chem. A*. 2010. V. 114. P. 9681.
- [7] Lee S.K., Silva R., Thamanna S., Vasyutinskii O.S., Suits A.G. // *J. Chem. Phys.* 2006. V. 125. P. 144318.
- [8] Korovin K.O., Picheyev B.V., Vasyutinskii O.S., Valipour H., Zimmermann D. // *J. Chem. Phys.* 2000. V. 112. P. 2059.
- [9] Shternin P.S., Vasyutinskii O.S. // *J. Chem. Phys.* 2008. V. 128. P. 194314.
- [10] Kuznetsov V.V., Vasyutinskii O.S. // *J. Chem. Phys.* 2007. V. 127. P. 044308.
- [11] Kupriyanov D.V., Sevastianov B.N., Vasyutinskii O.S. // *Z. fur Phys. D*. 1990. V. 15. P. 105.
- [12] Balint-Kurti G.G., Vasyutinskii O.S. // *J. Phys. Chem. A*. 2009. V. 113. P. 14281.
- [13] Herbrich S., Gericke K.-H., Smolin A.G., Vasyutinskii O.S. // *J. Phys. Chem. A*. 2014. V. 118. P. 5248.
- [14] Herbrich S., Al-Hadhuri T., Gericke K.-H., Shternin P.S., Smolin A.G., Vasyutinskii O.S. // *J. Chem. Phys.* 2015. V. 142. P. 024310.
- [15] Сасин М.Э., Тушканов В.И., Смолин А.Г., Васютинский О.С. // *Опт. и спектр.* 2017. Т. 123. № 4. С. 555.
- [16] Васютинский О.С., Смолин А.Г., Oswald C., Gericke K.-H. // *Опт. и спектр.* 2017. Т. 122. № 4. С. 622.
- [17] Hull R.V., Conger P.S., Hoobler R.J. // *Biophys. Chem.* 2001. V. 90. P. 9.
- [18] Yu Q., Heikal A.A. // *J. Photochem. Photobiol. B*. 2009. V. 95. P. 46.
- [19] Blacker T.S., Marsh R.J., Duchon M.R., Bain A.J. // *Chem. Phys.* 2013. V. 422. P. 184.
- [20] Callis P.R. // *J. Chem. Phys.* 1993. V. 99. P. 27.
- [21] Lakowicz J.R. *Topics in Fluorescence Spectroscopy*. V. 5. Nonlinear and Two-Photon-Induced Fluorescence. N.Y.: Plenum Press, 1997.