

02 Спектры РКР Co(II)- и Cu-5,10,15,20-тетраakis[4-(N-метилпиридил)]порфирина в возбужденном *dd*-состоянии и механизмы его дезактивации в растворе и комплексах с ДНК

© Н.В. Ивашин, С.Н. Терехов

Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси,
220072 Минск, Беларусь

e-mail: ivashin@imaph.bas-net.by

Поступила в редакцию 18.03.2020 г.

В окончательной редакции 18.03.2020 г.

Принято к публикации 28.07.2020 г.

Исследованы спектры резонансного комбинационного рассеяния (РКР) Co(II)- и Cu-5,10,15,20-тетраakis[4-(N-метилпиридил)]порфирина (Co^{II}TMруP4, CuTMруP4) в различных растворителях и в комплексе с ДНК. В спектрах РКР Co^{II}TMруP4 в растворе диметилформаида (ДМФ), содержащем в качестве примеси муравьиную кислоту, а также для его комплекса с ДНК при наносекундном импульсном возбуждении обнаружены дополнительные линии. В то же время при тех же условиях возбуждения такие линии отсутствуют в спектрах Co^{II}TMруP4 в чистом ДМФ, диметилсульфоксиде, воде и спиртах. Для интерпретации экспериментальных данных проведены расчеты структуры и колебаний для сольватных комплексов Co^{II}- и CuTMруP4 с водой, метанолом и муравьиной кислотой в основном и в возбужденных состояниях. На основе полученных данных дополнительные линии в спектрах РКР отнесены к возбужденному *dd*-состоянию, соответствующему переходу $d(z^2) \rightarrow d(x^2 - y^2)$, время жизни которого увеличивается при образовании комплексов Co^{II}TMруP4 с муравьиной кислотой. В соответствии с результатами расчетов это коррелирует с уменьшением константы скорости внутренней конверсии k_{ic} вследствие роста энергетического зазора ΔE между основным и *dd*-состоянием Co^{II}TMруP4. В случае связывания Co^{II} и CuTMруP4 с ДНК уменьшение k_{ic} обусловлено дополнительным взаимодействием экстралигандирующей молекулы воды напрямую или с участием нескольких иммобилизованных молекул воды ДНК с одним из ее оснований. Это затрудняет конформационную перестройку молекулы воды в *dd*-состоянии, что способствует увеличению ΔE .

Ключевые слова: РКР, возбужденные *dd*-состояния, время жизни, дезактивация, механизм, водорастворимые металлопорфирины.

DOI: 10.21883/OS.2020.11.50166.105-20

Введение

Тетрапиррольные соединения и их аналоги используются в нативных и искусственных супрамолекулярных комплексах в качестве переносчиков энергии и электрона [1,2], биомедицине [3], в фотодинамической терапии [4], фотовольтаических системах [5], разнообразных сенсорных устройствах [6]. Водорастворимые катионные порфирины представляют особый интерес с точки зрения их применения в биологии и медицине. Классическим представителем таких соединений является 5,10,15,20-тетраakis[4-(N-метилпиридил)]порфирин (TMруP4) [7] (рис. 1), для которого в 1979 г. Филом и др. [8] обнаружена способность связываться с нуклеиновыми кислотами (НК) и под действием света повреждать ДНК [9]. Фотодинамическая активность и перспективы использования катионных порфиринов в качестве антираковых препаратов послужили причиной исследования механизмов и типов связывания порфиринов с НК [10]. К настоящему времени установлены основные закономерности связывания катионных порфиринов с НК, которые зависят от природы

центрального атома металла, ионной силы раствора, типа ДНК и полинуклеотида. Молекулы порфиринов могут интеркалировать между парами оснований, встраиваться в малую и большую бороздки, располагаться вдоль внешней поверхности ДНК [10–15].

Комплексы катионных порфиринов с переходными металлами (M–TMруP4) в присутствии химических окислителей или восстановителей способны вызывать повреждения ДНК в темновых условиях [16]. Предполагается, что в основе их каталитической активности, приводящей к разрыву цепи ДНК, лежат процессы отрыва/присоединения экстралигандов [10,17]. Важную роль в исследовании лигандного состава и лигандного обмена, происходящего в комплексах M–TMруP4 с ДНК, играют спектроскопические методы, в частности, абсорбционная спектроскопия с временным разрешением, а также спектроскопия резонансного комбинационного рассеяния (РКР).

Исследование спектров РКР с наносекундным импульсным возбуждением Cu–TMруP, связанного с ДНК, позволило предположить, что в этих условиях при больших мощностях возбуждения создают

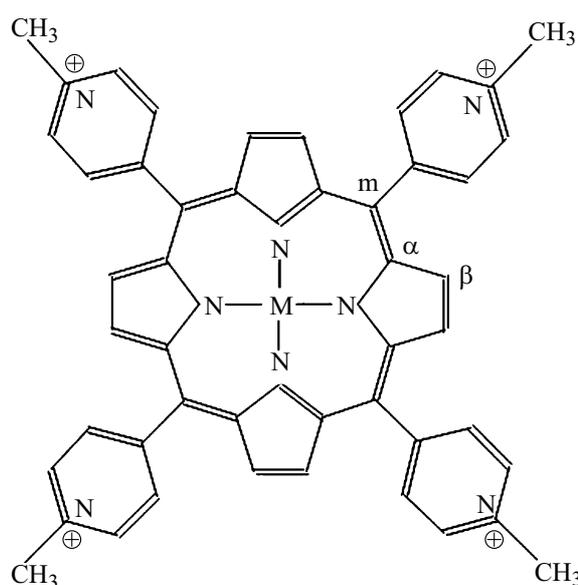


Рис. 1. Структура металлокомплексов 5,10,15,20-тетраakis[4-(N-метилпиридил)] порфирина.

ся благоприятные условия для регистрации частот колебаний Cu–TMpyP в возбужденном dd -состоянии, соответствующем, предположительно, переходу $d(z^2) \rightarrow d(x^2 - y^2)$ [18]. Данное состояние связывается [18] с образованием комплекса в возбужденном состоянии (эксиплекса) в результате фотоиндуцированного присоединения кислородсодержащего аксиального лиганда, а именно тимина. Такая интерпретация согласуется с тем, что для неводорастворимых Cu- комплексов октаэтилпорфирина и тетрафенилпорфирина в спектрах РКР дополнительные линии, отнесенные к возбужденному dd -состоянию, были зарегистрированы только в кислородсодержащих растворителях [19]. Обнаружение долгоживущей компоненты ($\gg 1$ ns) в кинетиках затухания нестационарного поглощения комплекса NiTMpyP4 с poly(dA-dT)2 также позволило сделать вывод о фотоиндуцированном присоединении кислородсодержащего лиганда [20].

Для интерпретации фотофизических и спектроскопических свойств CuTMpyP4 привлекались данные расчетов возбужденных состояний с использованием различных полуэмпирических методов [21,22]. Они позволяют отнести новые линии, регистрируемые в спектрах РКР, к возбужденному как dd -, так и к πd -состояниям. Методы теории функционала плотности в исследовании структуры комплексов M–TMpyP4 с молекулами растворителя в основном и в возбужденных состояниях, насколько нам известно, не применялись.

Длительное время считалось, что в эксиплексе CuTMpyP4 роль связующего звена играет СО-группа тимина (либо урацила в случае встраивания порфирина в РНК). Однако позже методом РКР было показано, что аналогичный эксиплекс образуется и в случае комплекса CuTMpyP4 с poly(dA), хотя аденин не содержит атомов

кислорода [23]. Кроме того, линии предполагаемого возбужденного состояния были зарегистрированы не только в комплексах CuTMpyP4 с ДНК и рядом полинуклеотидов, но и в водном растворе [24]. Однако время жизни данного состояния оказалось значительно меньше и составило всего несколько пикосекунд. Для объяснения указанных фактов в работе [25] было высказано предположение, что в эксиплексе CuTMpyP4 с ДНК роль аксиального лиганда может играть одна из молекул воды, которые иммобилизованы на ее поверхности за счет водородных связей с гетероатомами кислорода и азота нуклеиновых оснований.

Специфические фотоиндуцированные взаимодействия с ДНК, подобные эксиплексу CuTMpyP4, были также обнаружены в экспериментах по РКР для порфиринового комплекса с еще одним переходным металлом — Co(II) [26,27]. При этом спектры РКР в фотовозбужденном долгоживущем состоянии для Co(II)- и CuTMpyP4 оказались подобными. Однако с использованием фотофизических данных было сделано предположение, что дезактивация фотовозбуждения для Co^{II}TMpyP4, связанного с НК, происходит через долгоживущее возбужденное состояние $\pi d(z^2)$ -природы [26].

Природа возбужденного состояния, ответственного за появление дополнительных линий в спектрах РКР с импульсной накачкой комплексов TMpyP4 с переходными металлами, на наш взгляд, до сих пор остается определенной неоднозначно. Решение этого вопроса требует проведения расчетов структуры и колебательных уровней в возбужденных состояниях. Не ясно также, какую роль в увеличении времени жизни возбужденного состояния, ответственного за появление новых линий в спектре РКР комплексов TMpyP4 с переходными металлами, играет их связывание с ДНК и полинуклеотидами.

В настоящей работе мы приводим новые данные исследования спектров РКР Co^{II}TMpyP4 в большом наборе растворителей. Их использование в сочетании с данными проведенных квантово-химических расчетов позволило выяснить природу возбужденного состояния, ответственного за появление новых линий в спектрах M–TMpyP4, а также предложить механизм влияния различных факторов на его время жизни.

Методы

Водорастворимые катионные Co(II)- и Cu-5,10,15,20-тетраakis(4-N-метилпиридиний) порфирины с противоионами иода (Co^{II}TMpyP4 и CuTMpyP4 соответственно) синтезированы по известным методикам В.Л. Малиновским. ДНК из тимуса телянка (Calf Thymus DNA) использовалась без дополнительной очистки. Водные растворы комплексов M–TMpyP4 с ДНК готовились с использованием дистиллированной воды. Отношение концентраций пар гетероциклических оснований и молекул M–TMpyP4 составляло ~ 30 . Концентрация порфиринов в исследуемых образцах находилась в пределах $1 \cdot 10^{-5}$ – $5 \cdot 10^{-6}$ М.

Спектры РКР регистрировались на спектрометре T64000 Jobin-Yvon, снабженном CCD-камерой (Spectrum-1). Система импульсного возбуждения базировалась на Nd:YAG-лазере с длительностью импульсов ~ 10 ns, который использовался для накачки лазера на красителе с сумматором частот на основе кристалла KDP. Погрешность определения частот не выходила за пределы $\pm 1 \text{ cm}^{-1}$.

Расчеты выполнялись с использованием квантово-химического пакета программ Gaussian 09 (D.01) [28]. При оптимизации геометрии M–TMруP4 и его сольватных комплексов использовался функционал wB97XD [29]. Как известно, расчеты с этим функционалом удовлетворительно предсказывают структуру и колебательные состояния различных межмолекулярных комплексов. Для атомов металла использовался базисный набор TZVP, атома кислорода — 6-31 + $g(d, p)$, остальных — 6-31 $g(d)$.

Расчет вертикальных электронных переходов проводился методом TDDFT с использованием функционала wB97XD. Расчеты структуры и колебаний M–TMруP4 в возбужденном dd -состоянии проводились методом DFT с использованием опции „guess=alter“, позволяющей сформировать электронную конфигурацию dd -состояния за счет изменения заселенности орбиталей $d(z^2)$ и $d(x^2 - y^2)$, которая моделирует соответствующее одно-электронное возбуждение. Правомочность такого подхода была проверена в модельных расчетах комплексов порфина с Co, Ni и Cu с использованием методов как DFT, так и TDDFT. Рассчитанные обоими методами частоты колебаний отличались не более, чем на 0.2 cm^{-1} . Благодаря такому подходу удалось существенно уменьшить вычислительные ресурсы, требуемые для расчета колебаний M–TMруP4 в dd -состоянии. Метод DFT использовался также для оценки положения других возбужденных состояний.

Учет влияния среды на структуру и спектральные свойства M–TMруP4 проводился в рамках модели поляризуемого континуума (PCM) [30]. Для выяснения природы межмолекулярных взаимодействий, приводящих к образованию сольватных комплексов, использовался метод NBO [31].

Структура исследованных систем, молекулярные орбитали и векторы смещений ядер в процессе колебаний визуализировались с применением программ Molekel 4.3 [32] и GaussView [33].

Результаты и их обсуждение

Спектры РКР

На рис. 2 (кривые 1,2) приведены спектры РКР CuTMруP4 и Co^{II}TMруP4 в смеси с ДНК, полученные при высокой мощности импульсного наносекундного возбуждения ($I \approx 10^8 \text{ W/cm}^2$). Нумерация структурно-чувствительных частот ν_2 , ν_4 , ν_6 и ν_8 соответствует предложенной в работе [34]. Спектр РКР Co^{II}TMруP4

в чистом ДМФ соответствует опубликованному ранее спектру [35]. Спектры 1*, 2* представляют собой дифференциальные спектры, которые являются результатом вычитания из спектров РКР продуктов спектров фото-возбуждения из основного состояния. Из рисунка видно, что рядом со структурно-чувствительными линиями ν_2 и ν_4 отчетливо наблюдаются дополнительные — ν_2^* и ν_4^* . Направление и величина смещения новых линий Co^{II}TMруP4 относительно ν_2 и ν_4 подобны тем, что наблюдались ранее для комплекса CuTMруP4 с ДНК и были связаны с заселением возбужденного dd -состояния [18,24].

Дополнительные линии не наблюдаются в спектре растворов Co^{II}TMруP4 в воде, диметилсульфоксиде (ДМСО), спиртах и неожиданно были обнаружены в случае раствора в диметилформамиде (ДМФ), который не подвергался предварительной очистке (рис. 2, кривые 4, 4*). Как известно, основными примесями в ДМФ являются муравьиная кислота и диметиламин [36]. В связи с этим можно было предположить, что возникновение новых линий является результатом взаимодействия Co^{II}TMруP4 с молекулами данных примесей. С целью проверки данного предположения были измерены спектры РКР Co^{II}TMруP4 в чистом ДМФ и после добавления в него третбутиламмония гидроксида (ТБАГ). Связано это с тем, что взаимодействие ДМФ с сильными основаниями приводит к образованию в растворе ДМФ таких же продуктов — муравьиной кислоты и диметиламина [37]. Выбор в качестве такого основания ТБАГ был обусловлен тем, что он хорошо растворяется в органических растворителях.

Как можно видеть из рис. 2, спектры Co^{II}TMруP4 в ДМФ, который не подвергался предварительной очистке, и в смеси чистого ДМФ с ТБАГ практически не отличаются. Вместе с тем дополнительные линии не были обнаружены в спектрах РКР, полученных при интенсивном наносекундном возбуждении, растворов Co^{II}TMруP4 в диметилсульфоксиде, воде, этиловом и метиловом спиртах после добавления к ним ТБАГ.

Отсутствие дополнительных линий для указанных выше растворов, вероятно, обусловлено слишком коротким временем жизни возбужденного dd -состояния Co^{II}TMруP4. Выяснение причин и факторов, определяющих скорость дезактивации dd -состояния в растворе и в комплексе с ДНК, потребовало проведения модельных квантово-химических расчетов.

Моделирование структуры и колебательных состояний сольватных комплексов Co(II)- и CuTMруP4

Процедура оптимизации геометрии Co^{II}TMруP4 в основном состоянии была проведена в трех различных растворителях (вода, метанол, ДМФ) с учетом возможности экстраординарирования центрального атома металла соответствующими молекулами растворителей и присутствующих в ДМФ примесей (см. выше).

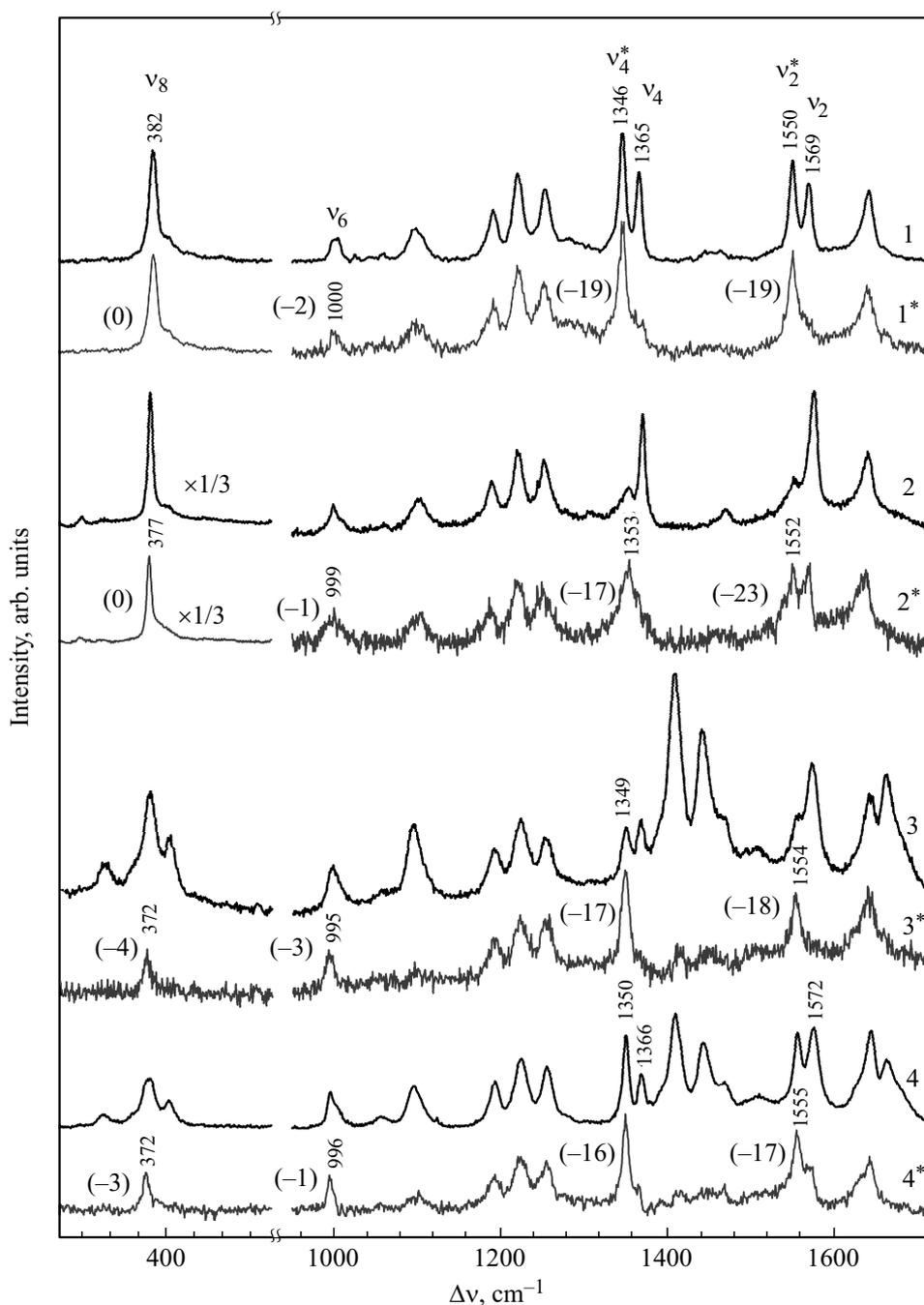


Рис. 2. Спектры РКР: 1 — CuTMруP4 в смеси с ДНК, 2 — Co^{II}TMруP4 в смеси с ДНК, 3 — Co^{II}TMруP4 в смеси очищенного ДМФ с ТБАГ, 4 — Co^{II}TMруP4 в ДМФ со следами примесей (см. текст). 1*–4* — дифференциальные спектры. Плотность мощности возбуждения $I \approx 10^8 \text{ W/cm}^2$ при $\lambda_{\text{возб}} = 426.0 \text{ nm}$.

Моносольватные комплексы. Результаты расчета структуры моносольватных комплексов показали довольно сильное связывание с атомом кобальта Co(II)- и CuTMруP4 молекул растворителей. В случае воды и метанола во взаимодействие вовлечены атомы кислорода OH-групп. Для муравьиной кислоты (НСООН) такой тип взаимодействия не реализуется, а происходит связывание с участием атома кислорода ее СО-группы. В сольватном комплексе с ДМФ молекула растворителя

располагается параллельно порфириновому макроциклу, при этом атом азота находится над атомом кобальта. Связь CoN заметно слабее связи CoO комплекса с муравьиной кислотой. Проведенные расчеты исключают возможность образования моносольватного комплекса Co^{II}TMруP4 с диметиламином. Это означает, что при наличии в ДМФ отмеченных выше двух основных примесей преимущественно будет образовываться моносольватные комплексы Co^{II}TMруP4 с муравьиной кислотой.

Таблица 1. Длины связей (Å) сольватных комплексов $\text{Co}^{\text{II}}\text{TMpyP4}$ с водой, метанолом и муравьиной кислотой в основном (G) и в возбужденном (dd) состояниях по данным расчетов методом DFT с учетом растворителя (метод РСМ, количество молекул растворителя, учтенных в явном виде, указано после значка \oplus). В скобках указаны изменения длин связей при переходе из основного в возбужденное состояние

| Связь | $\text{Co}(\text{H}_2\text{O})-\text{TMpyP4}\oplus 3\text{H}_2\text{O}$ | | $\text{Co}(\text{CH}_3\text{OH})-\text{TMpyP4}\oplus 2\text{CH}_3\text{OH}$ | | $\text{Co}(\text{HCOOH})-\text{TMpyP4}\oplus 1(\text{CH}_3)_2\text{NCOH}$ | |
|--------------------|---|-------------------|---|-------------------|---|-------------------|
| | G | dd | G | dd | G | dd |
| Co–N | 1.994 | 2.058 (0.064) | 1.987 | 2.059 (0.072) | 1.991 | 2.059 (0.068) |
| Co–O | 2.281 | 1.933 (–0.348) | 2.275 | 1.937 (–0.338) | 2.446 | 1.919 (–0.527) |
| ОН | 0.982 | 0.993 (0.011) | 0.985 | 0.999 (0.014) | 1.017 | – |
| $C_\alpha C_m$ | 1.390 | 1.402 (0.012) | 1.391 | 1.403 (0.012) | 1.390 | 1.403 (0.013) |
| $C_\beta C_\beta$ | 1.352 | 1.355 (0.003) | 1.352 | 1.355 (0.003) | 1.351 | 1.354 (0.003) |
| $C_\alpha\text{N}$ | 1.369 | 1.363 (–0.006) | 1.368 | 1.364 (–0.004) | 1.370 | 1.363 (–0.007) |
| $C_\alpha C_\beta$ | 1.443 | 1.449 (0.006) | 1.442 | 1.449 (0.007) | 1.442 | 1.449 (0.007) |

Взаимодействие моносольватных комплексов с соседними молекулами растворителей. Учитывая то, что на структурную динамику в возбужденном dd -состоянии может оказывать влияние специфическое взаимодействие лигандирующих молекул с соседними, рассмотренные выше структурные модели были расширены. В случае моносольвата с молекулой воды было добавлено еще три молекулы воды (рис. 3, *a*) таким образом, чтобы обеспечить их взаимодействие по типу водородной связи с атомами Н и О молекулы экстралиганда (H_2O). Структурная модель моносольвата с метанолом была увеличена еще на две молекулы метанола (рис. 3, *b*). В структурную модель моносольвата с муравьиной кислотой была добавлена молекула ДМФ (рис. 3, *c*). Структурные данные оптимизации геометрии описанных выше моделей сольватных комплексов $\text{Co}^{\text{II}}\text{TMpyP4}$ в основном и в возбужденном dd -состоянии приведены в табл. 1.

Включение в расчетные модели дополнительных молекул растворителя практически не повлияло на длины связей порфиринового макроцикла как в основном, так и в возбужденном dd -состоянии, соответствующем электронному переходу $d(z^2) \rightarrow d(x^2 - y^2)$. Связи $C_\alpha C_m$, $C_\beta C_\beta$, $C_\alpha C_\beta$ в dd -состоянии немного разупрочняются, а длины связей $C_\alpha\text{N}$ немного уменьшаются. Заметно большие изменения претерпевают длины CoN -связей в соответствии с разрыхляющим характером заселяемой $d(x^2 - y^2)$ -орбитали. Сравнение структур с дополнительными молекулами растворителя и без таковых показало, что вовлеченность молекул воды и метанола не только

во взаимодействие с атомом Со, но и в водородные связи с соседними молекулами растворителя способствует упрочению связей с центральным атомом металла. Это проявляется в уменьшении длины связей CoO преимущественно в основном состоянии. При переходе в dd -состояние эта связь претерпевает самые большие изменения (табл. 1). При этом наибольший эффект имеет место для комплекса $\text{Co}^{\text{II}}\text{TMpyP4}$ с муравьиной кислотой.

Отмеченные выше особенности изменения длины CoO -связи в рассматриваемых комплексах $\text{Co}^{\text{II}}\text{TMpyP4}$ с молекулами растворителя обусловлены ее природой. По данным проведенного НВО-анализа наибольший вклад в энергетику образования данной связи вносит перенос заряда с заполненной LP-орбитали атома кислорода молекулы растворителя на вакантные орбитали атома Со s - и p -типов. В случае экстралигандирования молекулы воды или метанола это взаимодействие обусловлено также переносом заряда на те же орбитали атома Со со связывающих σOH -орбиталей. Вовлеченность лигандирующей молекулы H_2O и CH_3OH в дополнительное взаимодействие по типу водородной связи с электротрицательным атомом соседних молекул повышает энергию ее LP- и σOH -орбиталей. Это способствует уменьшению энергетического зазора между орбиталями, вовлеченными в перенос заряда, и, как следствие, усилению межмолекулярного взаимодействия и уменьшению длины CoO -связи. В возбужденном dd -состоянии упрочение связи с экстралигандом обусловлено двумя причинами. Во-первых, депопуляцией $d(z^2)$ -орбитали, которая явля-

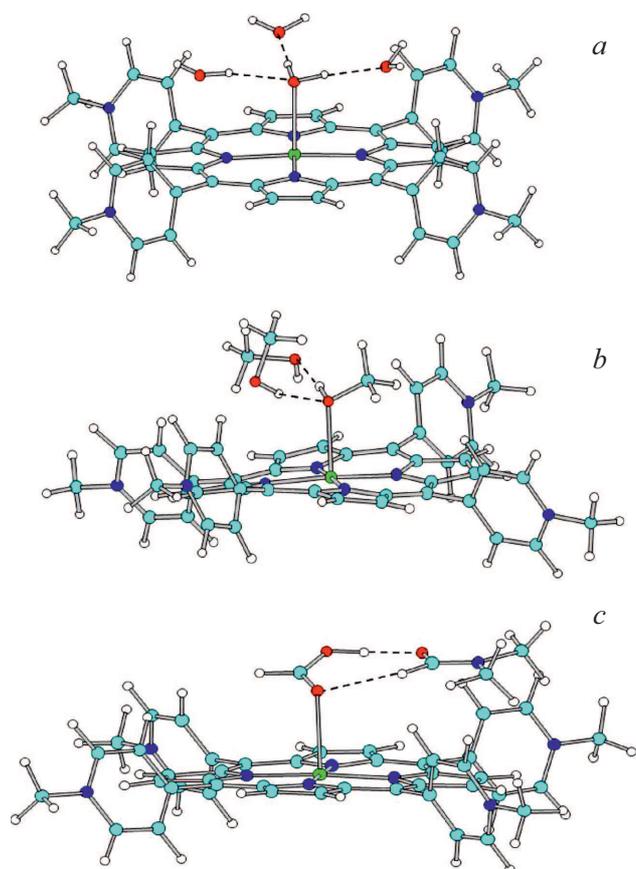


Рис. 3. Комплексы $\text{Co}(\text{H}_2\text{O})\text{-TMruP4}+3\text{H}_2\text{O}$ (a), $\text{Co}(\text{CH}_3\text{OH})\text{-TMruP4}+2\text{CH}_3\text{OH}$ (b) и $\text{Co}(\text{HCOOH})\text{-TMruP4}+1(\text{CH}_3)_2\text{NCOH}$ (c) в основном состоянии по данным оптимизации геометрии.

ется антисвязывающей для связи Co–лиганд. Во-вторых, расширением макроцикла за счет заселения антисвязывающей $d(x^2 - y^2)$ -орбитали. Оно сопровождается понижением энергии орбиталей s - и p -типов центрального атома металла, поскольку атомы N порфиринового макроцикла отрицательно заряжены. Это способствует усилению межмолекулярного взаимодействия таким же образом, как и рассмотренное выше изменение положения LP- и σOH -орбиталей.

В ряде работ предполагалось, что образование моносольватного комплекса CuTMruP4 с кислородсодержащими растворителями происходит только в возбужденном состоянии: вначале в триплетном, а затем и в dd -состоянии. Другими словами, эти состояния соответствуют образованию эксиплекса. Полученные нами данные позволяют усомниться в правомочности такой интерпретации. Рассчитанная энергия связывания CuTMruP4 с молекулой воды в основном состоянии составила величину порядка 20 kcal/mol. В триплетном состоянии $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})\text{-TMruP4}$ по сравнению с основным длина CuO-связи уменьшается на 0.1 Å, что указывает на усиление межмолекулярного взаимодействия.

Для моделирования спектров РКР $\text{Co}^{\text{II}}\text{TMruP4}$ в растворах ДМФ, содержащих муравьиную кисло-

Таблица 2. Рассчитанные частоты колебаний (ν , cm^{-1}), активных в спектре РКР комплекса $\text{Co}(\text{HCOOH})\text{-TMruP4}+1(\text{CH}_3)_2\text{NCOH}$ в ДМФ в основном (G) и в возбужденном (dd) состояниях (метод DFT/ufwB97XD; базисные наборы: Co — TZVP; C,N,H — 6-31g(d), O — 6-31+g(d,p)). В скобках указаны смещения частот при переходе из основного в возбужденное состояние

| ν | Эксперимент | | Расчет | |
|---------|-------------|------------|--------|------------|
| | ν_n | ν_n^* | G | dd |
| ν_2 | 1572 | 1554 (–18) | 1582 | 1560 (–22) |
| ν_3 | 1467 | | 1478 | 1454 (–24) |
| ν_4 | 1366 | 1349 (–17) | 1360 | 1335 (–25) |
| ν_6 | 998 | 995 (–3) | 990 | 983 (–7) |
| ν_8 | 376 | 372 (–4) | 369 | 366 (–3) |

ту, были проведены расчеты колебаний комплекса $\text{Co}(\text{HCOOH})\text{-TMruP4}+1(\text{CH}_3)_2\text{NCOH}$ (рис. 3, c) в основном и возбужденном dd -состоянии. Предсказываемые смещения частот (табл. 2) при изменении электронного состояния находятся в хорошем соответствии со сдвигами соответствующих линий спектра РКР, наблюдаемыми при увеличении мощности импульсного лазерного возбуждения. Практически такие же смещения были обнаружены для рассчитанных частот и в случае комплекса $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})\text{-TMruP4}+3\text{H}_2\text{O}]$ (данные не приведены). Высказанное ранее предположение [24] о том, что наблюдаемые на эксперименте смещения могут быть связаны также с заселением состояния с переносом заряда с макроцикла на металл (πd -состояние), данными расчетов возбужденных состояний не подтверждаются (см. ниже).

Время жизни возбужденного dd -состояния Co^{II} - и CuTMruP4 и механизмы его дезактивации

Как отмечалось выше, время жизни dd -состояния M-TMruP4 существенно зависит от природы растворителя и типа полинуклеотида, с которым он связывается. Было высказано предположение [38], что это может быть обусловлено наличием нижележащего πd -состояния с переносом заряда между порфириновым макроциклом и атомом металла. Проведенные нами расчеты возбужденных состояний сольватных комплексов Co^{II} - и CuTMruP4 методом UTDDFT (функционал wB97XD) с учетом растворителя (PCM-метод) предсказывают положение πd -перехода в области $\pi\pi$ -переходов, принимающих участие в формировании полосы Core. В этих расчетах переход в dd -состояние является самым длинноволновым среди разрешенных. Его положение относительно перехода в нижнее триплетное состояние в рамках данного метода оценить не представляется

возможным вследствие существенного примешивания к нему других спиновых состояний, несмотря на использование в расчетах процедуры спиновой аннигиляции.

По этой причине расчет энергии возможных триплетных $\pi\pi$ - и πd -состояний $\text{Co}^{\text{II}}\text{TMpyP4}$ был проведен методом DFT (см. раздел Методы). Для обоих состояний расчеты предсказывают заметно большие значения энергии по сравнению с dd -состоянием. Аналогичные результаты были получены нами для CuTMpyP4 , для которого, как было показано ранее, заселение dd -состояния происходит из триплетного $\pi\pi$ -состояния. По данным транзиентной рентгеновской спектроскопии самым низколежащим для Ni-комплекса тетраметилпорфирина является dd -состояние [39]. С учетом приведенных данных можно с большой долей уверенности рассматривать dd -состояние Co^{II} - и CuTMpyP4 самым низколежащим возбужденным состоянием.

Полученные нами при исследовании спектров РКР $\text{Co}^{\text{II}}\text{TMpyP4}$ экспериментальные данные позволяют предположить, что время жизни dd -состояния существенно увеличивается при экстралигандировании атома кобальта муравьиной кислотой, а также при связывании $\text{Co}^{\text{II}}\text{TMpyP4}$ с ДНК. Остановимся ниже на возможных причинах этого с учетом результатов квантово-химических расчетов.

При сравнении структурных параметров $\text{Co}^{\text{II}}\text{TMpyP4}$ в основном и dd -состояниях обращает на себя внимание существенное изменение длины связи Со-лиганд (табл. 1), которое способствует увеличению по данной координате франк-кондоновского фактора. Вместе с тем для комплекса $\text{Co}^{\text{II}}\text{TMpyP4}$ с муравьиной кислотой по сравнению с комплексом с водой изменение длины связи СоО в dd -состоянии почти на 0.2 \AA больше (табл. 1). По этой причине в этом случае можно ожидать и большей константы скорости внутренней конверсии. Однако это противоречит приведенным выше экспериментальным данным.

Для комплекса $\text{Co}^{\text{II}}\text{TMpyP4}$ с молекулой воды переход в dd -состояние сопровождается не только изменением длины связи СоО, но и заметным увеличением длины ОН-связей ($\sim 0.011 \text{ \AA}$) данного экстралиганда. Учитывая это обстоятельство, а также вовлеченность этих ОН-групп во взаимодействие с другими молекулами воды, для валентных ОН-колебаний экстралигандированной молекулы воды можно ожидать большого франк-кондоновского вклада в константу скорости внутренней конверсии возбужденного dd -состояния. По данной координате может иметь место и заметное вибронное взаимодействие между основным и dd -состоянием, поскольку в энергетику связи Со– H_2O , как отмечалось выше, вносит вклад перенос заряда с участием σ ОН-орбиталей. В комплексе с муравьиной кислотой взаимодействие с атомом кобальта осуществляется также через атом кислорода, отрицательный заряд которого способствует дестабилизации $d(z^2)$ -орбитали и соответственно понижению энергии dd -состояния. Однако в отличие от комплекса с водой здесь во взаимодействие вовлечена не ОН-, а

СО-группа. Это позволяет предположить, что большое различие в значениях времени жизни dd -состояния для комплексов $\text{Co}^{\text{II}}\text{TMpyP4}$ с муравьиной кислотой и водой может быть обусловлено вовлечением в последнем случае в структурные преобразования в возбужденном dd -состоянии ОН-связей. Подобное усиление внутренней конверсии, как показывает анализ структурных данных (табл. 1), можно ожидать и для М– TMpyP4 в спиртах. Это коррелирует с близостью значений времен жизни CuTMpyP4 в воде ($7 \pm 1 \text{ ps}$ [38], $3\text{--}12 \text{ ps}$ [24]) и метаноле ($23 \pm 2 \text{ ps}$) [38], однако противоречит значению $\tau = 23 \pm 2 \text{ ps}$, полученному для CuTMpyP4 в ДМСО, в структуре которого нет ОН-групп.

Зависимость константы скорости внутренней конверсии k_{ic} от энергетического зазора ΔE между состояниями определяется выражением $k_{\text{ic}} = A \exp(-\beta \Delta E)$ [40]. Для молекул порфиринов ранее при анализе фотофизических данных использовались значения β , равные 0.0015 [41,42] и 0.0013 [43]. Они были получены при исследовании дезактивации низколежащих триплетных [41] и синглетных [43] $\pi\pi$ -состояний. Поскольку в нашем случае dd -состояние лежит ниже триплетного, мы использовали значение $\beta = 0.0015$.

Рассчитанные энергетические зазоры между основным и dd -состоянием в их минимумах (ΔE) для сольватных комплексов Co^{II} - и CuTMpyP4 приведены в табл. 3. С использованием вышеприведенного выражения для зависимости k_{ic} от ΔE и экспериментально определенного времени жизни dd -состояния CuTMpyP4 в воде рассчитанное время жизни dd -состояния для комплекса $\text{Co}^{\text{II}}\text{TMpyP4}$ с муравьиной кислотой (расчетная модель $\text{Co}(\text{НСООН})\text{-TMpyP4} \oplus 1(\text{CH}_3)_2\text{NCOH}$ в табл. 3) составило 502 ps . Из данных, полученных для Cu-комплексов октаэтилпорфирина и тетрафенилпорфирина [19], следует, что такого порядка время жизни ($190\text{--}560 \text{ ps}$) действительно позволяет заселить dd -состояние и зарегистрировать его спектр РКР. Рассчитанное подобным образом значение τ для $\text{Co}^{\text{II}}\text{TMpyP4}$ в воде составило 69 ps . Это примерно в 7 раз меньше по сравнению со значением для комплекса с муравьиной кислотой. Данный результат согласуется с наблюдаемым нами исчезновением дополнительных линий в спектре РКР $\text{Co}^{\text{II}}\text{TMpyP4}$ при добавлении в раствор DMF+ТБАГ нескольких капель воды.

Рассчитанное подобным образом значение τ для сольвата Cu– TMpyP4 с метанолом (17 ps) довольно хорошо соответствует экспериментальному значению ($23 \pm 2 \text{ ps}$). Вместе с тем для комплекса Cu– TMpyP4 с ДМСО по сравнению с метанолом полученное значение τ оказалось заметно меньше, что не соответствует экспериментальным данным (табл. 3). Кроме того, большее значение τ_{exp} для комплекса с ДМСО по сравнению с комплексами с водой и метанолом не коррелирует с меньшим рассчитанным значением ΔE . Причина такого несоответствия вероятно заключается в том, что константа скорости внутренней конверсии определяется не только величиной ΔE , но и набором колебательных

Таблица 3. Рассчитанные значения энергетических зазоров между основным и *dd*-состояниями в их минимумах (ΔE) для сольватных комплексов Co(II)- и CuТМруР4 (рис. 3) с учетом растворителя (РСМ-метод), сопоставленные с экспериментальными (τ_{exp}) и рассчитанными (τ) значениями времени жизни *dd*-состояния

| Сольватный комплекс | ΔE , cm^{-1} | τ ps | τ_{exp} ps |
|--|----------------------------------|--------------|---------------------------|
| Cu(H ₂ O)–ТМруР4⊕3H ₂ O | 10864 | – | 7 ± 1 [38] |
| Cu(CH ₃ OH)–ТМруР4⊕2CH ₃ OH | 11445 | 17 | 23 ± 2 [38] |
| Cu((CH ₃) ₂ SO)–ТМруР4 | 10992 | 8.5 | 27 ± 2 [38] |
| Co(H ₂ O)–ТМруР4⊕3H ₂ O | 12394 | 69 | – |
| Cu(H ₂ O)–ТМруР4⊕3H ₂ O* | 13748 | 529 | ~ 2.5 ns [24] |
| Co(CH ₃ OH)–ТМруР4⊕2CH ₃ OH | 12503 | 82 | – |
| Co(HCOOH)–ТМруР4⊕1(CH ₃) ₂ NCOH | 13713 | 502 | – |

Примечание. * Оптимизация структуры в *dd*-состоянии при условии замораживания ряда координат (см. текст).

мод, принимающих участие в размене энергии электронного возбуждения. Эффективность участия той или иной колебательной моды в деградации энергии электронного возбуждения определяется соответствующими значениями франк-кондоновского фактора и матричного элемента электронного взаимодействия. Для комплексов Cu–ТМруР4 с водой и метанолом, как было показано выше, заметную роль в дезактивации *dd*-состояния могут играть ОН-колебания, а в структуре ДМСО таких групп нет. Вместе с тем при расчете значений τ в качестве реперного использовалось экспериментальное значение, полученное для CuТМруР4 в воде.

При образовании комплексов катионных порфиринов с ДНК значительный вклад вносят кулоновские взаимодействия положительно заряженных пиридинных групп порфирина и отрицательно заряженных фосфатных групп ДНК. Учитывая наличие у молекулы ДНК большого количества иммобилизованных на ее поверхности молекул воды, а также то, что связывание с молекулой воды имеет место, согласно полученным расчетным данным, уже в основном состоянии Со- и CuТМруР4 в водном растворе, можно предположить, что связь центрального атома металла с молекулой воды в ДНК сохраняется. Однако в данном случае молекула воды имеет возможность связывания не только с порфирином, но и напрямую или с участием других молекул воды с одним из оснований. Это существенно ограничивает возможности конформационной перестройки Со- и CuТМруР4 в *dd*-состоянии. Соответственно в этом случае следует ожидать больших значений ΔE и τ .

С целью проверки этого предположения нами была проведена оптимизация геометрии комплекса Cu(H₂O)–ТМруР4⊕3H₂O в *dd*-состоянии при условии замораживания положения всех четырех молекул воды и длины связи Cu–O(H₂O). Для такой структуры рассчитанное значение ΔE составило 13748 cm^{-1} , а τ — 529 ps. Полученное значение τ в ~ 76 раз больше, чем для CuТМруР4 в водном растворе, что объясняет

отсутствие дополнительных линий ν_2^* и ν_4^* в спектре РКР водного раствора CuТМруР4 и их наблюдение в случае комплекса с ДНК. Вместе с тем измеренное значение τ для CuТМруР4, связанного с ДНК, почти в 5 раз больше рассчитанного (2.5 ns). Причина такого различия, по-видимому, обусловлена тем, что для комплекса порфирина с ДНК длины ОН-связей молекулы воды, связанной с атомом Cu, в *dd*-состоянии по указанным выше причинам, скорее всего, не меняются. Соответственно можно ожидать меньшего значения франк-кондоновского фактора для ОН-колебаний и их меньшего участия в процессе внутренней конверсии.

В заключение следует отметить, что в данной работе проведено экспериментальное и теоретические исследование спектров РКР Со^{II}ТМруР4 в различных растворителях и комплексах с полинуклеотидами и ДНК. Показано, что при импульсном наносекундном возбуждении для этого металлокомплекса, как и для исследованных ранее комплексов с Cu(II) и Ni(II), при связывании с ДНК происходит заметное заселение возбужденного *dd*-состояния, что проявляется в регистрации дополнительных линий в спектрах РКР. Проведенные модельные расчеты структуры и колебаний сольватных комплексов Со^{II}ТМруР4 в различных электронных состояниях позволили связать данное *dd*-состояние с электронным переходом $d(z^2) \rightarrow d(x^2 - y^2)$. Для Со^{II}ТМруР4 обнаружена возможность регистрации частот *dd*-состояния не только в случае связывания с ДНК, но при тех же условиях возбуждения и в растворе. Она связана с увеличением времени жизни *dd*-состояния в случае экстралигандирования центрального атома металла молекулой муравьиной кислоты, которая может присутствовать в качестве примеси в ДМФ. Проведенные квантово-химические расчеты показали, что изменение τ для сольватных комплексов с молекулами воды, метанола, ДМСО и муравьиной кислоты коррелирует прежде всего со значением энергетического зазора ΔE между основным и *dd*-состояниями. В случае связывания

металлокомплексов ТМруР4 с ДНК уменьшение k_{ic} связано с дополнительным взаимодействием экстралигандирующей молекулы воды напрямую или с участием иммобилизованных молекул воды ДНК с одним из ее оснований. Это затрудняет конформационную перестройку молекулы воды в *dd*-состоянии, что способствует увеличению ΔE и уменьшению вклада во внутреннюю конверсию ОН-колебаний молекулы воды.

Благодарности

Авторы благодарят за предоставленную возможность проведения расчетов Вычислительный центр НАН Беларуси.

Финансирование работы

Работа выполнена при финансовой поддержке ГКПНИ „Фотоника, опто- и микроэлектроника 1.4.01“.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] *Mc Connell I., Li G., Brudvig G.W.* // Chem. Biol. 2010. V. 17. P. 434.
- [2] *Zhang B., Sun L.* // Chem. Soc. Rev. 2019. V. 48. P. 2216.
- [3] *Tsolekile N., Nelana S., Oluwafemi O.S.* // Molecules. 2019. V. 24. P. 2669.
- [4] *Allison R.R., Sibata C.H.* // Photodiag. Photodyn. Therapy. 2010. V. 7. P. 61.
- [5] *Anghel D., Lascu A., Fratilesco I., Epuran C., Plesu N., Fägădar-Cosma E.* // J. Solar Energy Res. Updates. 2019. V. 6. P. 78.
- [6] *Monti D., Nardis S., Stefanelli M., Paolesse R., Di Natale C., D'Amico A.* // J. Sensors. 2009. Art. ID 856053, doi 10.1155/2009/856053.
- [7] *Sampedro A., Taberob A., Mahameda I., Acedo P.* // J. Porphyrins Phthalocyanines. 2019. V. 23. P. 1.
- [8] *Fiel R.J., Howard J.C., Mark E.H., Datta-Gupta N.* // Nucleic Acids Res. 1979. V. 6. P. 3093.
- [9] *Fiel R.J., Datta-Gupta N., Mark E.H., Howard J.C.* // Cancer Res. 1981. V. 41. P. 3543.
- [10] *Marzilli L.G.* // New J. Chem. 1990. V. 14. P. 409.
- [11] *Pasternack R.F., Giannetto A., Pagano P., Gibbs E.J.* // J. Am. Chem. Soc. 1991. V. 113. P. 7799.
- [12] *Pasternack R.F.* // Chirality. 2003. V. 15. P. 329.
- [13] *Banville D.L., Marzilli L.G., Strickland J.A., Wilson W.D.* // Biopolymers. 1986. V. 25. P. 1837.
- [14] *Mita H., Ohyama T., Tanaka Y., Yamamoto Y.* // Biochemistry. 2006. V. 45. P. 6765.
- [15] *Kwak M.I., Jeon B.R., Kim S.K., Jang Y.J.* // ACS Omega. 2018. V. 3. P. 946.
- [16] *Ward B., Skorobogaty A., Dabrowiak J.C.* // Biochemistry. 1986. V. 25. P. 7827.
- [17] *Meunier B.* // Chem. Rev. 1992. V. 92. P. 1411.
- [18] *Turpin P.-Y., Chinsky L., Laigle A., Tsuboi M., Kincaid J.R., Nakamoto K.* // Photochem. Photobiol. 1990. V. 51. P. 519.
- [19] *Kruglik S.G., Galievsky V.A., Chirvony V.S., Apanasevich P.A., Ermolenkov V.V., Orlovich V.A., Chinsky L., Turpin P.-Y.* // J. Phys.Chem. 1995. V. 99. P. 5732.
- [20] *Galievsky V.A., Chirvony V.S., Kruglik S.G., Ermolenkov V.V., Orlovich V.A., Otto C., Mojzes P., Turpin P.-Y.* // J. Phys. Chem. 1996. V. 100. P. 12649.
- [21] *Shelnutt J.A., Straub K.D., Rentzepis P.M., Gouterman M., Davidson E.R.* // Biochemistry. 1984. V. 23. P. 3946.
- [22] *Stavrev K., Zerner M.C.* // Chem. Phys. Lett. 1995. V. 233. P. 179.
- [23] *Mojzeš P., Kruglik S.G., Baumruk V., Turpin P.-Y.* // J. Phys. Chem. 2003. V. 107. P. 7532.
- [24] *Kruglik S.G., Mojzes P., Mizutani Y., Kitagawa T., Turpin P.-Y.* // J. Phys. Chem. B. 2001. V. 105. P. 5018.
- [25] *Chirvony V.S.* // J. Porphyrins Phthalocyanines. 2003. V. 7. P. 766.
- [26] *Terekhov S.N., Chirvony V.S., Galievsky V.A., Turpin P.-Y.* // Macroheterocycles. 2011. V. 4. P. 89.
- [27] *Terekhov S.N., Galievsky V.A., Chirvony V.S., Turpin P.-Y.* // J. Raman Spectrosc. 2005. V. 36. P. 962.
- [28] *Gaussian 09, Revision D.01, Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B., Scuseria G.E., Robb M.A., Cheeseman J.R., Scalmani G., Barone V., Mennucci B., Petersson G.A., Nakatsuji H., Caricato M., Li X., Hratchian H.P., Izmaylov A.F., Bloino J., Zheng G., Sonnenberg J.L., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Montgomery Jr. J.A., Peralta J.E., Ogliaro F., Bearpark M., Heyd J.J., Brothers E., Kudin K.N., Staroverov V.N., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A., Burant J.C., Iyengar S.S., Tomasi J., Cossi M., Rega N., Millam N.J., Klene M., Knox J.E., Cross J.B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R.E., Yazyev O., Austin A.J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J.W., Martin R.L., Morokuma K., Zakrzewski V.G., Voth G.A., Salvador P., Dannenberg J.J., Dapprich S., Daniels A.D., Farkas Ö., Foresman J.B., Ortiz J.V., Cioslowski J., Fox D.J.* Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
- [29] *Grimme S.* // J. Comput. Chem. 2006. V. 27. P. 1787.
- [30] *Miertu S., Scrocco E., Tomasi J.* // Chem. Phys. 1981. V. 100. P. 117.
- [31] *Glendenning E.D., Reed A.E., Carpenter J.E., Weinhold F.* NBO. Version 3.1.
- [32] *Flükiger P., Lüthi H.P., Portmann S., Weber J.* Molekel 5.4.0.8. Swiss Center for Scientific Computing, Manno, Switzerland, 2009.
- [33] *Dennington R.D., Keith T., Millam J., Eppinnett K., Hovell W.L., Gilliland R.* 2008 GaussView, Version 5.0 Semichem, Inc., Shawnee Mission, KS.
- [34] *Abe M., Kitagawa T., Kyogoku Y.* // J. Chem. Phys. 1978. V. 69. P. 4526.
- [35] *Terekhov S.N., Kruglik S.G., Malinovskii V.L., Galievsky V.A., Chirvony V.S., Turpin P.-Y.* // J. Raman Spectrosc. 2003. V. 34. P. 868.
- [36] *Juillard J.* // Pure and Appl. Chem. 1977. V. 49. P. 885.
- [37] Электронный ресурс. Режим доступа: <https://www.chemurope.com/en/encyclopedia/Dimethylformamide.html>.
- [38] *Chirvony V.S., Ne'grerie M., Martin J.-L., Turpin P.-Y.* // J. Phys. Chem. A. 2002. V. 106. P. 5760.

- [39] *Shelby L.M., Lestrangle P.J., Jackson N.E., Haldrup K., Mara M.W., Stickrath A.B., Zhu D., Lemke H., Chollet M., Hoffman B.M., Li X., Chen L.X.* // J. Am. Chem. Soc. 2016. V. 138. P. 8752.
- [40] *Siebrand W.J.* // J. Chem. Phys. 1967. V. 46. P. 440.
- [41] *Сагун Е.И., Лоцев А.П., Ничипорович И.Н.* // ДАН СССР. 1987. Т. 31. С. 416.
- [42] *Chachisvilis M., Chirvony V.S., Shulga A.S., Kallenbring B., Larsson S., Sundstrom V.* // J. Phys. Chem. 1996. V. 100. P. 13867.
- [43] *Ивашин Н.В., Терехов С.Н.* // Опт. и спектр. 2019. Т. 126. С. 285; *Ivashin N.V., Terekhov S.N.* // Opt. Spectr. 2019. V. 126. P. 205.