

Белорусский государственный университет

УДК 535.37; 544.18

**ГОГОЛЕВА**  
**Светлана Дмитриевна**

**ВЛИЯНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЫ НА ДИНАМИКУ  
ФОТОИНДУЦИРОВАННОГО ПЕРЕНОСА ЗАРЯДА В ПРОИЗВОДНЫХ  
ТИОФЛАВИНА Т**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук  
по специальности 01.04.05 – оптика

Минск, 2019

Работа выполнена в УО «Гродненский государственный университет имени Я. Купалы».

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ -

**СТЕПУРО Виталий Иванович,**  
кандидат физико-математических наук, доцент,  
ведущий научный сотрудник  
Научно-исследовательской части  
УО «Гродненский государственный  
университет им. Я. Купалы».

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

**Крук Николай Николаевич,**  
доктор физико-математических наук, доцент,  
заведующий кафедрой физики  
УО «Белорусский государственный  
технологический университет»;

**Ляшенко Людмила Сергеевна,**  
кандидат физико-математических наук, доцент,  
доцент кафедры лазерной физики и  
спектроскопии Белорусского государственного  
университета.

ОППОНИРУЮЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ –

**ГНУ «Институт физики им. Б.И. Степанова  
НАН Беларуси».**

Защита состоится «22» ноября 2019 г. в 14.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 02.01.17 при Белорусском государственном университете по адресу: Минск, ул. Ленинградская, 8 (корпус юридического факультета), ауд. 407.

Почтовый адрес: пр-т Независимости 4, Минск, 220030.

Телефон ученого секретаря: 209-57-09.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке Белорусского государственного университета.

Автореферат разослан «18» октября 2019 года.

Ученый секретарь совета  
по защите диссертаций  
кандидат физ.-мат. наук доцент



О.Г. Романов

## ВВЕДЕНИЕ

В последнее время наблюдается резкое увеличение числа работ, посвященных исследованию флуоресцентных сенсоров на изменения свойств микроокружения, а также наличия определенных биологических объектов. В связи с этим потенциальный интерес представляют флуоресцентные молекулярные ротаторы (ФМР), для которых характерна сильная зависимость квантового выхода флуоресценции от вязкости микроокружения. Чувствительность флуоресцентных свойств ФМР к вязкости микроокружения обуславливает их широкое применение в физике, химии, биологии. Ярким примером ФМР может послужить молекула тиофлавина Т (ThT). К моменту постановки цели диссертационной работы рядом исследователей были изучены спектральные свойства ThT, а также выдвинута модель дезактивации его возбужденного состояния. Также уже была продемонстрирована возможность использования ФМР для измерения локальной вязкости в мембранах клеток живых организмов и детектирования таких биологических объектов как ДНК и амилоидные фибриллы (последние являются спутником ряда патологий в организме человека). Однако, мало внимания было уделено исследованию влияния структурных факторов на фотофизические свойства ФМР, остается открытым вопрос создания сенсорных и фотоуправляемых систем с заданными характеристиками, поскольку нет полного понимания механизма зависимости фотофизических свойств и динамики переноса заряда в возбужденном состоянии ФМР от таких факторов как вязкость, полярность микроокружения и структура исследуемого соединения. Тематика диссертации связана с исследованием ФМР на основе производных ThT, выявлением закономерностей, обуславливающих связь между молекулярной структурой соединений и динамикой фотоиндуцированных процессов, а также изучением возможности использования данных молекулярных систем в приложениях био- и нанотехнологий. Актуальность диссертационного исследования связана с тем, что информация о влиянии молекулярной структуры и параметров микроокружения на динамику фотофизических и фотохимических процессов в ФМР может быть использована для создания новых высокочувствительных флуоресцентных сенсоров, а также фотоуправляемых элементов молекулярной электроники и фотоники. Таким образом, изучение спектрально-кинетических свойств флуоресценции подобных молекулярных систем позволит понять, какие необходимы условия для того, чтобы молекула могла проявить свойства ФМР и на основе этих знаний предложить усовершенствованные флуоресцентные сенсоры (зонды) для решения конкретных задач из области био-, нанотехнологий и фотоники.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Связь работы с научными программами (проектами), темами

Работа выполнена в лаборатории молекулярной спектроскопии и оптики наноструктур кафедры общей физики учреждения образования «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы» в рамках следующих проектов и программ: научно-исследовательского проекта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований № Ф16МС-021 «Разработка методов управления вращением фрагментов флуоресцентных молекулярных роторов с целью создания фотоуправляемых молекулярных структур» (№ гос. рег. 20163149; срок выполнения 2016–2018 гг.); международного научно-исследовательского проекта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований Ф17ИНДГ-008 «Разработка сенсоров амилоидных фибрилл/ДНК для устройств микрофлюидики с использованием флуоресцентных молекулярных роторов» (№ гос. рег. 20171246; срок выполнения 2017–2018 гг.), государственной программы научных исследований «Конвергенция–2020», подпрограмма «Объединение» «Исследовать и разработать методы функционализации и биоконъюгирования наноструктур для создания биосенсоров. Разработка новых флуоресцентных биосенсоров для оптической диагностики патологических состояний организма посредством детектирования нуклеиновых кислот, амилоидных фибрилл и микровязкости жидкостей» (№ гос. рег. 20162313; срок выполнения 2016–2020 гг.).

Тема диссертационной работы соответствует п. 4 «Медицина и фармация»; п. 6 «Электроника и фотоника» Приоритетных направлений, научных исследований Республики Беларусь на 2016–2020 годы, утвержденных Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 12 марта 2015 г. № 190 .

### Цель и задачи исследования

**Целью работы** являлось определение влияния структуры и ионного состояния бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола на флуоресцентные свойства и динамику переноса заряда в возбужденном состоянии.

Достижение поставленной цели потребовало решения следующих **задач**:

1. С применением квантово-химических расчетов определить геометрию и электронные свойства бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола в основном и возбужденном состояниях.

2. Установить спектральные свойства бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола в зависимости от вязкости и полярности растворителя и выявить, влияет ли ионная форма данных производных на проявление ими свойств флуоресцентных молекулярных роторов.

3. Определить параметры кинетики затухания флуоресценции бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола в растворах, жестких матрицах и в комплексе с амилоидными фибриллами.

4. Выявить зависимость флуоресцентных свойств бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола от вязкости и температуры микроокружения и рассмотреть возможность создания сенсора на их основе.

**Объектами исследования** являются новые бензотиазол-анилиновые производные тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола: ВТА-0 (2-[4'-(амино)фенил]-бензотиазол), ВТА-1 (2-[4'-(метиламино)фенил]-бензотиазол), ВТА-2 (2-[4'-(диметиламино)фенил]-бензотиазол), 6-Ме-ВТА-2 (2-[4'-(диметиламино)фенил]-6-метил-бензотиазол).

**Предметом исследования** являются флуоресцентные свойства бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола в растворах и жестких матрицах. Основное внимание уделялось изучению механизма, на основании которого можно отнести исследуемые молекулы к классу флуоресцентных молекулярных роторов, а также изучению влияния свойств растворителя на фотоиндуцированный внутримолекулярный перенос заряда.

### Научная новизна

1) На основании экспериментальных исследований и квантово-химических расчетов были выявлены закономерности влияния структуры и ионного состояния на динамику фотоиндуцированного переноса заряда в бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола, что может быть использовано при создании нового класса флуоресцентных зондов и фотоуправляемых молекулярных устройств.

2) Разработаны новые флуоресцентные сенсоры на основе бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола для измерения амилоидных фибрилл белков в кислых средах.

3) Предложена схема дезактивации возбужденного состояния бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола в катионной форме.

4) Предложены новые сенсорные элементы для измерения температуры на основе бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола в водно-глицериновом растворе.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Бензотиазол-анилиновые производные тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола в катионной форме обладают плоской конформацией в основном состоянии и скрученной конформацией с торсионным углом  $\varphi = 90^\circ$  между фрагментами бензотиазола и анилина в возбужденном состоянии; в нейтральной форме плоская конформация характерна как для основного, так и возбужденного состояния.

2. Основным безызлучательным каналом дезактивации возбужденного состояния бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола в катионной форме в маловязких растворах является внутримолекулярный перенос заряда в возбужденном состоянии, сопряженный с поворотом фрагментов бензотиазола и анилина друг относительно друга.

3. Переход между нейтральной и катионной формами бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола приводит к зависимости квантового выхода флуоресценции от вязкости. Рост числа метильных групп при атоме азота анилинового фрагмента, влияющий на его электронодонорные свойства, приводит к увеличению скорости переноса заряда, сопряженного с конформационными изменениями, и разности уровней энергии возбужденного состояния для планарной и скрученной конформаций.

4. Скорость фотоиндуцированного процесса переноса заряда в бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола в апротонных растворителях определяется наличием небольшого энергетического барьера и динамикой сольватной релаксации. В спиртах скорость данного процесса, превышает скорость сольватной релаксации, что также проявляется в уменьшении стоксового сдвига. Длительность затухания флуоресценции изучаемых соединений уменьшается с повышением температуры, что позволяет предложить их в качестве температурных сенсоров.

### **Личный вклад соискателя ученой степени**

Диссертация С.Д. Гоголевой является самостоятельно выполненной, завершенной научно-исследовательской работой. Постановка цели и задач диссертации, частичная интерпретация результатов выполнялись соискателем

совместно с научным руководителем, кандидатом физико-математических наук, доцентом В.И. Степуро. Экспериментальная часть диссертации и квантово-химические расчеты выполнены автором. Все положения и выводы, представленные в диссертации, получены и сформулированы автором самостоятельно.

Синтез ряда бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола и их очистка осуществлялась А.А. Луговским. Используемая в работе установка для измерения кинетики затухания флуоресценции и программное обеспечение к этой установке были разработаны А.А. Маскевичем и В.И. Степуро. Измерение и интерпретация спектров наведенного поглощения, полученных методом фемтосекундной кинетической спектроскопии было выполнено в Институте физики им. Б.И. Степанова Национальной академии наук Беларуси О.В. Бугановым и С.А. Тихомировым. Квантово-химические расчеты поверхностей потенциальной энергии методами CAM-B3LYP и INDO/S, не вошедшие в диссертационную работу, были проведены М. Goswami и В.А. Кузьмицким, соответственно. Измерение квантового выхода флуоресценции ВТА-1 в 2-пропаноле было выполнено Е.В. Калгановой.

#### **Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов**

Основные результаты исследований, полученные в диссертации, докладывались и обсуждались на Международной научно-практической конференции аспирантов, магистрантов и студентов «Физика конденсированного состояния» (Гродно, 20 апреля 2017, 19 апреля 2018, 18 апреля 2019); Международной научной конференции ICSB-International Conference «SmartBio» (Каунас, 18–20 мая 2017); Международной научной конференции «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» – Тринадцатом съезде Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков (Минск, 27–29 июня 2018); VIII Республиканской научной конференции студентов, магистрантов и аспирантов «Актуальные вопросы физики и техники» (Гомель, 25 апреля 2019).

#### **Опубликование результатов диссертации**

Основные результаты диссертации опубликованы в 11 научных работах, из которых: 4 статьи в научных изданиях в соответствии с п.18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь (общим объемом 3,7 авторского листа), 5 статей в сборниках материалов научных конференций и 2 тезисов докладов на научных конференциях.

## Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из оглавления, перечня сокращений и условных обозначений, введения, общей характеристики работы, четырех глав, заключения и библиографического списка. Полный объем диссертации составляет 114 страниц, в том числе 44 рисунка на 30 страницах, 8 таблиц на 6 страницах. Библиографический список содержит 121 наименование, включая собственные публикации соискателя ученой степени.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В главе 1 «**Флуоресцентные молекулярные ротаторы, их свойства и применение**» представлен аналитический обзор литературных данных по свойствам флуоресцентных молекулярных ротаторов (ФМР), а также их области применения. В разделе 1.1 дается понятие термина «ФМР» и приводятся примеры флуорофоров с квантовым выходом флуоресценции, зависящим от вязкости микроокружения. Обсуждаются модели переноса заряда, которые могут быть связаны со структурными изменениями в возбужденном состоянии ФМР. В разделе 1.2 рассматриваются модели, описывающие зависимость константы скорости ПИСТ-процесса (процесс переноса заряда с одного фрагмента молекулы на другой, сопровождающийся поворотом данных фрагментов друг относительно друга) от вязкости микроокружения. Раздел 1.3 посвящен рассмотрению фотофизических свойств ФМР – тиофлавина Т (ThT), производные которого рассматриваются в данной работе. В разделе 1.4 описываются области применения ThT и его производных. Отмечается, что особо интересным является изучение возможности использования ФМР в качестве маркера для обнаружения макромолекул. Показано, несмотря на то, что фотофизика ThT и динамика процесса переноса заряда в основном понята, остается нерешенным вопрос – какие структурные особенности важны для этого красителя, чтобы проявлять поведение ФМР.

В главе 2 «**Объекты исследования, методика эксперимента и расчетов**» приводится описание объектов исследования (рисунок 1), методики измерений и квантово-химических расчетов. В разделе 2.1 описаны используемые вещества и методика приготовления растворов. В разделе 2.2 описываются методика и оборудование для проведения спектрофотометрических исследований. Раздел 2.3 посвящен методике измерения кинетики затухания флуоресценции исследуемых образцов методом время-коррелированного счета одиночных фотонов. В разделе 2.4 приводится описание спектрометра наведенного поглощения с фемтосекундным разрешением. Раздел 2.5 посвящен описанию методов квантово-химических расчетов.

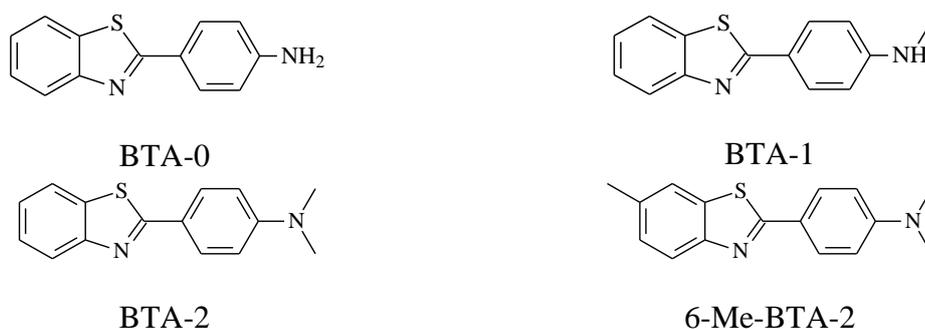
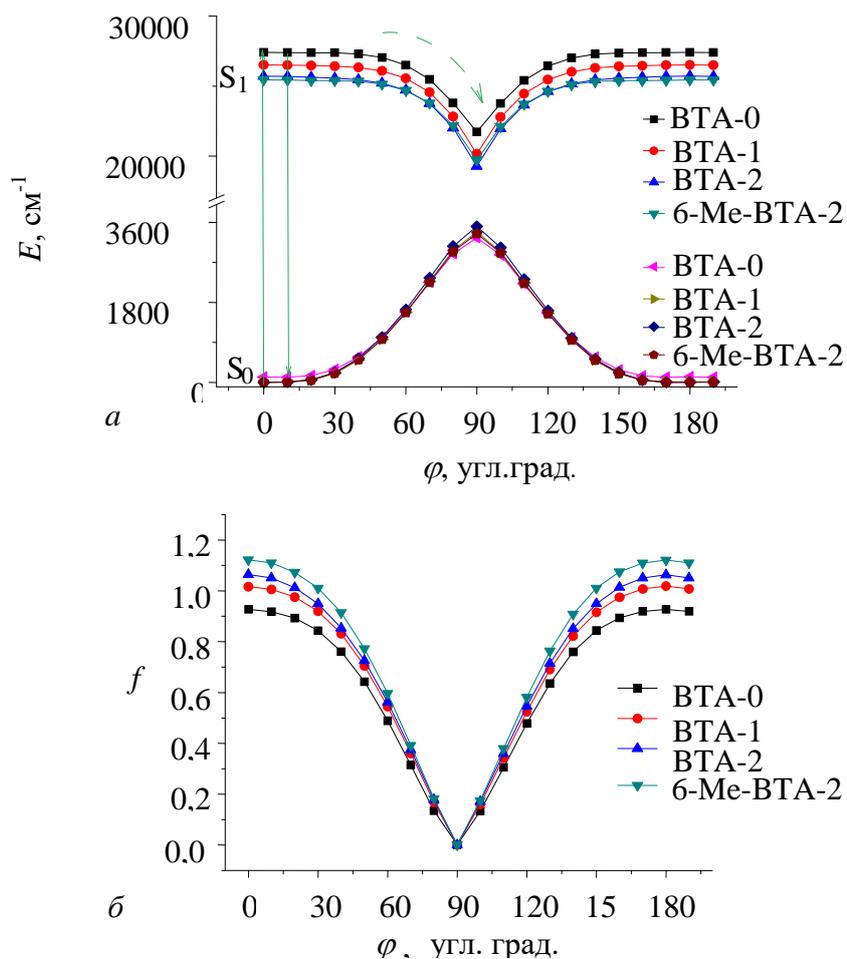
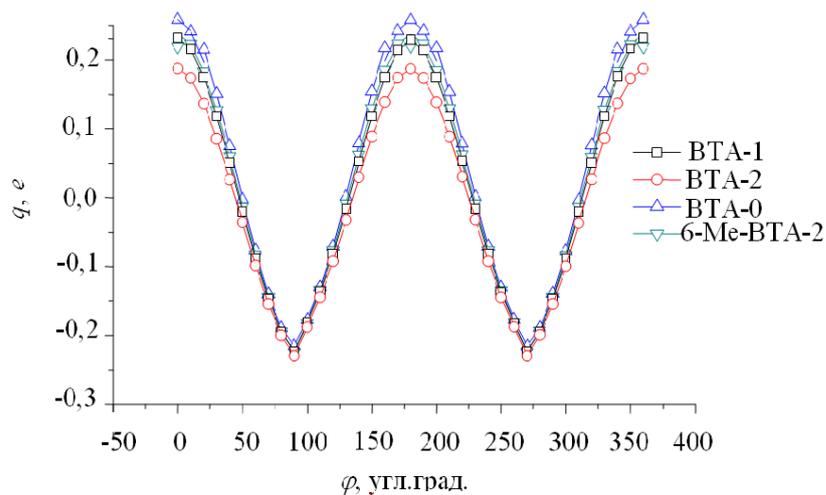


Рисунок 1. – Структурные формулы изучаемых производных ThT

В главе 3 «Квантово-химические расчеты поверхностей потенциальной энергии основного и возбужденного состояний производных тиофлавина Т» в разделах 3.1 и 3.2 приведены результаты квантово-химических расчетов (DFT/TDDFT, B3LYP/6-31G(d)) (рисунки 2 и 3) поверхностей потенциальной энергии, а также изменение заряда на бензотиазоловом фрагменте в возбужденном состоянии бензотиазол-анилиновых производных ThT с деметилированным атомом азота бензотиазола. Отсутствие метильной группы при атоме азота бензотиазола у изучаемых производных ThT приводит к тому, что структуры катионных (рисунок 2 а) и нейтральных производных ThT являются плоскими в основном состоянии  $S_0$  в отличие от молекулы ThT, для которой характерна конформация с углом скручивания  $\varphi \sim 37^\circ$  между фрагментами бензотиазола и анилина. Расчетные данные (рисунок 2) свидетельствуют о том, что при облучении светом переход в первое возбужденное состояние  $S_1$  для исследуемых катионных производных будет наиболее вероятен для молекул с конформациями с  $\varphi \sim 0^\circ$  и  $180^\circ$  (для копланарных конформаций  $f(S_0 \rightarrow S_1) \sim 1$ ) и практически запрещен при  $\varphi \sim 90^\circ$  и  $270^\circ$  ( $f(S_0 \rightarrow S_1) \sim 0$ ). Снижение силы осциллятора дипольного перехода  $S_0 \rightarrow S_1$  с  $f \sim 1$  (рисунок 2 б) при углах  $\varphi$  в диапазоне  $0^\circ - 30^\circ$  до  $f \sim 0$  при  $\varphi \sim 90^\circ$ , может свидетельствовать об изменении природы  $S_1$  состояния в зависимости от угла  $\varphi$ , т. е. о переходе между флуоресцентным LE- и нефлуоресцентным TICT-состояниями. При изменении угла между бензотиазоловым и анилиновым фрагментами молекул с  $\varphi$  от  $0^\circ$  до  $90^\circ$  в возбужденном состоянии, происходит перераспределение заряда между ними с возрастанием электронной плотности на бензотиазоловом фрагменте (рисунок 3). По данным TDDFT расчетов при фотовозбуждении нейтральных производных ThT протекание TICT-процесса не является энергетически выгодным, и копланарная геометрия молекул, характерная для состояния  $S_0$ , будет сохраняться и в возбужденном состоянии. Показано, что с ростом количества метильных групп при анилиновом азоте изучаемых катионных производных ThT разность энергий между LE- и TICT-состояниями увеличивается с  $\sim 5700 \text{ см}^{-1}$  до  $\sim 6400 \text{ см}^{-1}$  (рисунок 2 а).

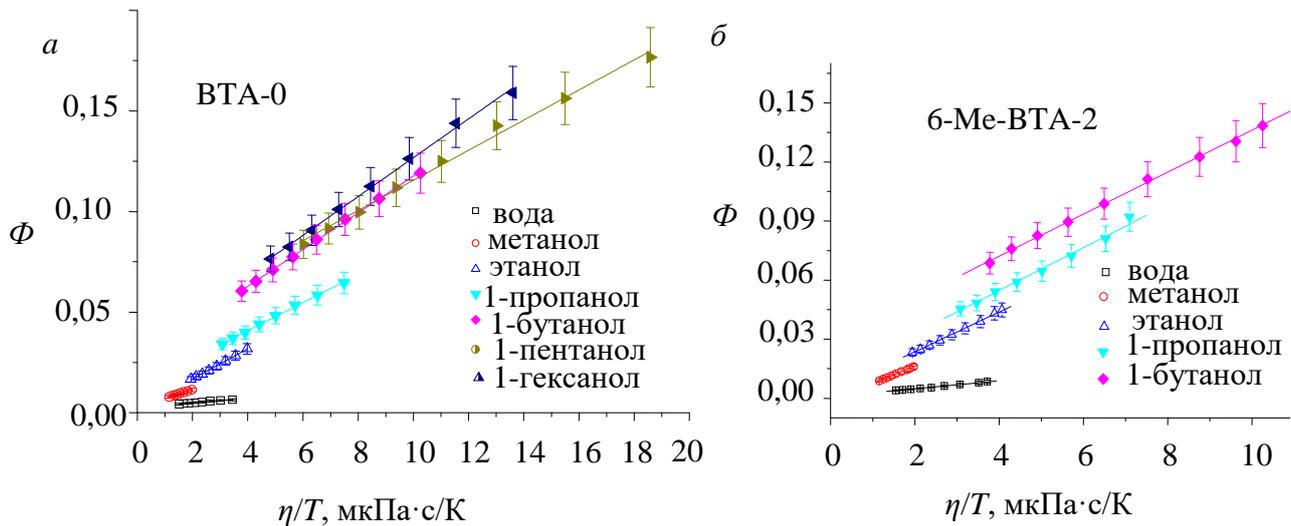


**Рисунок 2.** – Результаты квантово химических расчетов: энергия исследуемых катионных производных ТhТ в зависимости от угла  $\varphi$  в состояниях  $S_0$  и  $S_1$  (а) и зависимость силы осциллятора  $f$  оптического перехода  $S_0 \rightarrow S_1$  от угла  $\varphi$  (б)



**Рисунок 3.** – Зависимость заряда бензотиазолового фрагмента  $q$  изучаемых катионных производных ТhТ от угла  $\varphi$  в состоянии  $S_1$

**Глава 4 «Динамика фотоиндуцированного переноса заряда в производных тиофлавина Т»** посвящена результатам исследований спектральных свойств бензотиазол-анилиновых производных ThT с деметилированным атомом азота бензотиазола в растворах и жестких матрицах. В разделе 4.1 приведены спектральные свойства ионных форм изучаемых производных ThT. Показано, что в отличие от ThT из-за отсутствия метильной группы при атоме азота в бензотиазоловом фрагменте рассматриваемые производные при растворении образуют нейтральные формы. Установлено влияние pH на спектры поглощения: с уменьшением значения pH (от 4 до 2) в растворе увеличивается доля молекул, находящихся в катионной форме. В разделе 4.2 приведены данные о флуоресцентных свойствах изучаемых производных ThT в полярных растворителях и показано, что исследуемые нейтральные молекулы не проявляют свойств ФМР, в то время как катионные производные ThT обладают зависимостью квантового выхода флуоресценции от вязкости, что позволяет их отнести к классу ФМР (рисунок 4).

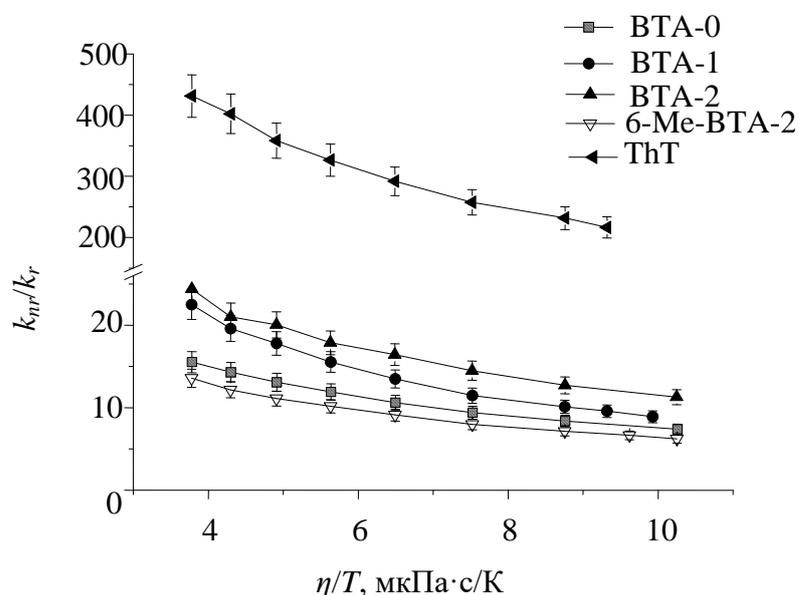


**Рисунок 4.** – Зависимость квантового выхода флуоресценции  $\Phi$  от отношения вязкость/температура  $\eta/T$  для катионов ВТА-0 (а) и 6-Ме-ВТА-2 (б) в водных и спиртовых растворах

Показано, что зависимость квантового выхода флуоресценции изучаемых ФМР от отношения вязкость/температура в диапазоне температур 293–328 К может хорошо аппроксимироваться линейной функцией вида:  $\Phi = a + b(\eta/T)$ , где параметры аппроксимации  $a$  и  $b$  зависят от рода растворителя (рисунок 4).

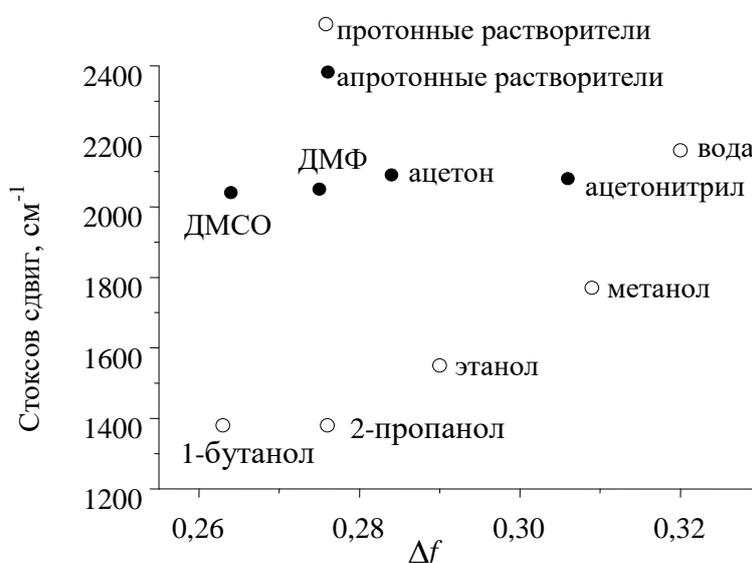
Обнаружено влияние структуры и электронодонорных способностей анилинового фрагмента на динамику переноса заряда (рисунок 5) в бензотиазол-анилиновых катионных производных ThT с деметилированным атомом азота бензотиазола. Было выявлено, что помимо объема, занимаемого фрагментами молекулы в пространстве, на скорость процесса переноса заряда

также влияет увеличение числа метильных групп анилинового фрагмента (фрагмента донора) (облегчается процесс переноса электрона с анилинового фрагмента на бензотиазоловый). Увеличение размера бензотиазолового фрагмента (при переходе от ВТА-2 к 6-Ме-ВТА-2) приводит к замедлению ПИСТ-процесса, что связывается со снижением вращательной подвижности фрагмента.



**Рисунок 5.** – Зависимость отношения констант скоростей безызлучательного  $k_{nr}$  и излучательного  $k_r$  процессов для изучаемых катионов и ThT от  $\eta/T$  в 1-бутаноле

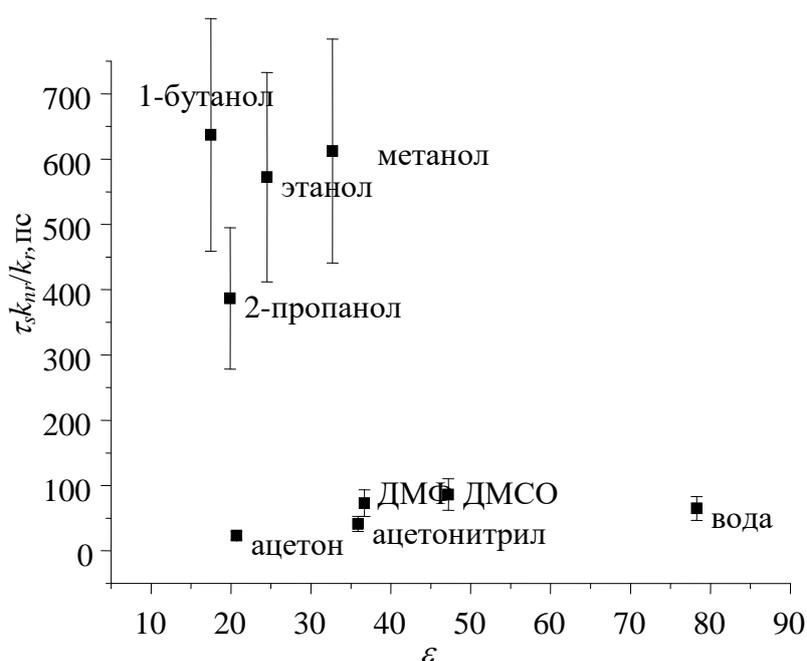
Обнаружено различие спектральных свойств флуоресценции изучаемых бензотиазоловых катионных производных ThT в протонных и апротонных растворителях (рисунок 6).



**Рисунок 6.** – Зависимость стокового сдвига для катиона ВТА-1 в протонных и апротонных растворителях от ориентационной поляризуемости  $\Delta f$

Меньшие значения стоксовых сдвигов флуоресценции катионных форм в спиртах по сравнению с данными значениями в апротонных растворителях по аналогии с ThT свидетельствуют о более медленной динамике сольватной релаксации по сравнению со скоростью ПИСТ-процесса (рисунок 6) (в пользу чего также свидетельствует короткое время жизни флуоресценции возбужденного состояния  $\sim 10\text{--}70$  пс).

Для исследуемых ФМР в апротонных растворителях и воде наблюдается корреляция значений  $k_{nr}$  и обратной величины времени сольватной релаксации  $1/\tau_s$  (рисунок 7).



**Рисунок 7.** – Зависимость величины  $\tau_s k_{nr}/k_r$  для катиона ВТА-1 от диэлектрической проницаемости  $\epsilon$  при  $T=298$  К

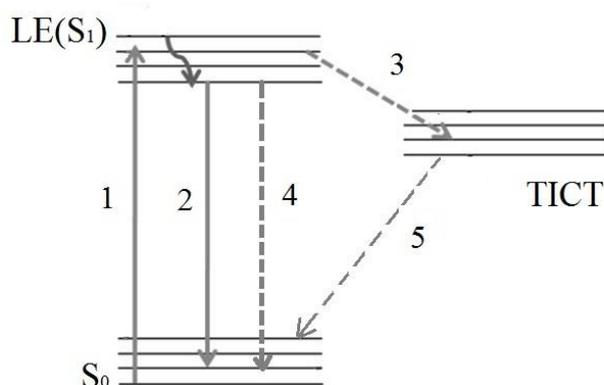
Однако, в отличие от случая ThT, где скорость ПИСТ-процесса повторяет динамику сольватной релаксации, для изучаемых производных в апротонных растворителях безызлучательный процесс переноса заряда в  $\sim 50$  раз медленнее динамики сольватной релаксации (для катиона ВТА-1). Это может свидетельствовать о наличии активационного барьера для вращения фрагментов молекулы в возбужденном состоянии (с энергией активации для катиона ВТА-1  $\sim 800$  см $^{-1}$ ).

Таким образом, на динамику ПИСТ-процесса в изучаемых производных ThT оказывают влияние как реорганизация внешней среды (полярного растворителя), так и структурная изомеризация самих молекул ФМР, причем наблюдаются два предельных случая, когда  $k_{nr}$  определяется главным образом: 1) динамикой сольватации растворителя  $k_{nr} \sim 1/\tau_s$  (в апротонных растворителях и воде) и 2) диффузионно-контролируемым поворотом фрагментов молекулы

(в длинноцепочечных спиртах, где  $k_{nr}$  зависит только от вязкостных свойств микроокружения).

В разделе 4.3 методами спектроскопии наведенного поглощения измерено время жизни флуоресцентного LE-состояния изучаемых ФМР в воде и спиртах. В отличие от ThT и его производных с метилированным атомом азота в бензотиазоловом фрагменте, для исследуемых производных не наблюдалось полосы поглощения из TICT-состояния, что может указывать на быструю дезактивацию TICT-состояния, которая может происходить путем депротонирования катионных производных ThT.

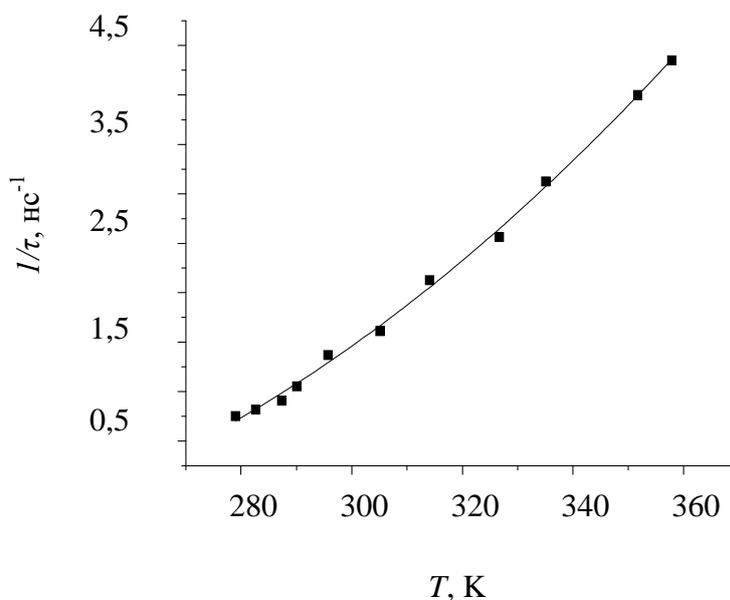
В разделе 4.4 были рассмотрены спектрально-кинетические параметры флуоресценции ФМР в водно-глицериновых растворах и пленках поливинилового спирта. Было показано, что в случае вязких сред, где торсионная релаксация существенно затруднена, существует дополнительный безызлучательный канал дезактивации возбужденного состояния с константой скорости равной  $0,11 \cdot 10^9 \text{ с}^{-1}$  (для катиона ВТА-2) (рисунок 8).



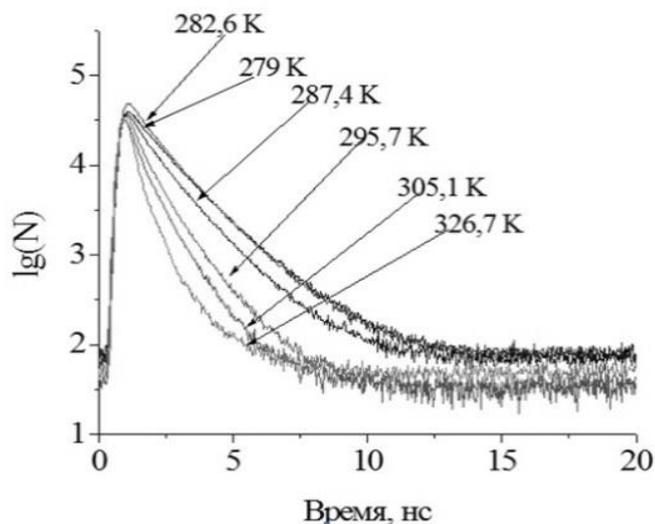
1 – поглощение, 2 – флуоресценция, 3 – перенос заряда, сопровождаемый скручиванием молекулы, 4 – дополнительный безызлучательный переход, 5 – переход в основное состояние (пунктирные и волнистые линии обозначают безызлучательные переходы)

**Рисунок 8. – Схема дезактивации возбужденного состояния катионных производных ThT**

В ходе исследований было выяснено, что длительность затухания флуоресценции катиона ВТА-2 в водно-глицериновом растворе очень сильно зависит от температуры (рисунок 9) (длительность затухания флуоресценции меняется от 1,33 нс до 0,23 нс в диапазоне температур 279–357,9 К), что позволило предложить область применения данного ФМР в вязких растворителях. Также были получены значения всех параметров, характеризующих данную систему. Было показано, что катион ВТА-2 в водно-глицериновом растворе может быть использован в качестве температурного сенсора.



a



б

**Рисунок 9. – Кинетика затухания флуоресценции катиона ВТА-2 в водно-глицериновом растворе в зависимости от температуры: зависимость величины обратной длительности затухания флуоресценции катиона ВТА-2 от температуры (а) и профили кинетики затухания флуоресценции катиона ВТА-2 (б)**

В разделе 4.5 было показано, что при добавлении амилоидных фибрилл интенсивность флуоресценции исследуемых катионных молекул увеличивается на  $\sim 2$  порядка, что позволяет их предложить на роль маркеров для детекции амилоидных фибрилл в кислых средах.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Основные научные результаты диссертации

1. Квантово-химические расчеты (DFT/TDDFT) показывают, что бензотиазол-анилиновые производные тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола (нейтральные и катионные) в основном состоянии принимают копланарную конформацию. Найдены существенные различия в формах поверхности потенциальной энергии для изучаемых нейтральных и катионных производных ТhТ: для катионных форм видно, что положение минимума энергии возбужденного состояния наблюдается для геометрий с углом скручивания  $\varphi = 90^\circ$  между бензотиазоловым и анилиновым фрагментом, в то время как для нейтральных форм минимум энергии возбужденного состояния соответствует копланарным конформациям. Расчетные данные свидетельствуют о том, что после фотовозбуждения для исследуемых молекул в катионной форме возможен поворот фрагментов от  $\varphi = 0^\circ$  до  $\varphi = 90^\circ$ , сопровождающийся перераспределением заряда между фрагментами и снижением силы осциллятора перехода  $S_0 \rightarrow S_1$ . Введение метильных групп в бензотиазоловый и анилиновый фрагменты сказывается на скорости переноса заряда вследствие изменения: 1) геометрических размеров и 2) донорно-акцепторных свойств фрагментов молекул. Количество метильных групп при анилиновом атоме азота влияет на величину разности энергий между LE- и ПИСТ-состояниями, т. е. с ростом количества метильных групп при анилиновом азоте разность энергий увеличивается с  $\sim 5700 \text{ см}^{-1}$  до  $\sim 6400 \text{ см}^{-1}$  [3; 6; 8].

2. Изменение ионного состояния бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола приводит к появлению длинноволновой полосы поглощения при 400–430 нм и является решающим фактором, определяющим, ведут ли себя красители как флуоресцентные молекулярные роторы или как обычные флуорофоры. Нейтральные формы изучаемых производных ТhТ имеют флуоресценцию с квантовым выходом, близким к 1, а интенсивность излучения катионных форм значительно ниже и зависит от вязкости [1; 2; 5; 9; 10; 11].

Квантовый выход флуоресценции исследуемых молекул в катионной форме в диапазоне температур 293–328 К может быть описан линейной функцией от параметра (вязкость/температура) вида:  $\Phi = a + b(\eta/T)$ . Различие в коэффициентах линейной функции  $a, b$  для разных растворителей свидетельствует о том, что скорость дезактивации возбужденного состояния молекул определяется не только вязкостью, но и иными свойствами полярного растворителя [1; 2; 5; 9; 11].

Различие в значениях стоковых сдвигов исследуемых производных в катионной форме в спиртах и апротонных растворителях связано не с наличием специфических взаимодействий «растворенное вещество–растворитель», а с более медленной динамикой сольватной релаксации по сравнению со скоростью ПИСТ-процесса. Для растворов длинноцепочечных спиртов вязкость является доминирующим фактором, определяющим динамику внутримолекулярного переноса заряда в возбужденном состоянии данных молекул. В случае апротонных растворителей была обнаружена корреляция константы скорости ПИСТ-процесса со скоростью сольватной релаксации  $k_{\text{ПИСТ}} \sim 1/\tau_s$  [1; 2].

3. На основании данных, полученных из спектров наведенного поглощения с фемтосекундным разрешением показано, что флуоресценция бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола происходит из неравновесного LE-состояния, время жизни которого для водных и спиртовых растворов находится в пикосекундной области (от 10 пс до 74 пс). В отличие от ThT и его производных с метилированным атомом азота в бензотиазоловом фрагменте, для исследуемых производных не наблюдалось полосы поглощения из ПИСТ-состояния, что может указывать на быструю дезактивацию ПИСТ-состояния [2].

Обнаружено, что при добавлении амилоидных фибрилл интенсивность флуоресценции катионов молекул ВТА-0, ВТА-1, ВТА-2, 6-Me-ВТА-2 увеличивается на  $\sim 2$  порядка величины, что позволяет их использовать в качестве маркеров для детекции амилоидных фибрилл в кислых средах [2].

4. В вязких растворах и в полимерных пленках скорость ПИСТ-процесса бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола снижается и был обнаружен дополнительный канал дезактивации LE-состояния с константой скорости равной  $0,11 \cdot 10^9 \text{ с}^{-1}$  (для катиона ВТА-2). Время жизни возбужденного состояния исследуемых катионов в вязких растворах существенно зависит от температуры, что позволяет предложить данные соединения в качестве сенсоров температуры [4; 7].

### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

1. Проведенные экспериментальные исследования, а также результаты квантово-химического моделирования катионов ВТА-0, ВТА-1, ВТА-2 и 6-Me-ВТА-2 позволили предложить их в качестве флуоресцентных сенсоров для детекции амилоидных фибрилл и измерения микровязкости в кислых средах. Данные ФМР позволяют детектировать распределение микровязкости с высоким пространственным разрешением, что может быть использовано в флуоресцентной микроскопии.

2. Были выявлены закономерности влияния структуры бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола на скорость дезактивации возбужденного состояния, что позволяет предложить структуры модифицированных производных тиофлавина Т с улучшенной чувствительностью к различным диапазонам вязкости и рН.

3. В работе предложен метод измерения температуры с использованием бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола. Показанная методика может найти свое применение для целей микрофлюидики, определения смешивания вещества, процессов теплопереноса. Преимуществом описанной методики регистрации температуры является: 1) высокое пространственное разрешение; 2) измерение температур при более широком диапазоне температур, посредством изменения рода растворителя (флуорофоров); 3) быстрота и простота измерений.

**СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ****Статьи в научных изданиях в соответствии с требованиями п. 18  
Положения о присуждении ученых степеней  
и присвоении ученых званий в Республике Беларусь**

1. Гоголева, С. Д. Влияние вязкости и полярных свойств растворителя на динамику фотоиндуцированного переноса заряда в катионе ВТА-1-производном тиофлавина Т / С. Д. Гоголева, В. И. Степура // Журнал прикладной спектроскопии. – 2018. – Т. 85, № 2. – С. 219–225.
2. Neutral derivatives of Thioflavin T do not exhibit viscosity-dependent fluorescence / S. D. Gogoleva, E. V. Kalganova, A. A. Maskevich, A. A. Lugovski, V. A. Kuzmiysky, M. Goswami, O. V. Buganov, S. A. Tikhomirov, V. I. Stsiapura // Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. – 2018. – Vol. 358. – P. 76–91.
3. Гоголева, С. Д. Квантово-химические расчеты производных тиофлавина Т (ВТА-0, ВТА-1, ВТА-2) / С. Д. Гоголева, В. И. Степура // Веснік Гродзенскага дзяржаўнага ўніверсітэта імя Янкі Купалы. Серыя 2. Матэматыка. Фізіка. Інфарматыка, вылічальная тэхніка і кіраванне. – 2018. – Т. 8, № 1. – С. 96–104.
4. Гоголева, С. Д. Измерение температуры с использованием флуоресцентных молекулярных роторов / С. Д. Гоголева // Веснік Гродзенскага дзяржаўнага ўніверсітэта імя Янкі Купалы. Серыя 2. Матэматыка. Фізіка. Інфарматыка, вылічальная тэхніка і кіраванне. – 2019. – Т. 9, № 2. – С. 94–102.

**Материалы научных конференций**

5. Гоголева, С. Д. Влияние вязкости растворителя на флуоресцентные свойства молекулы ВТА-0 / С. Д. Гоголева // Физика конденсированного состояния : материалы XXV междунар. науч.-практ. конф. аспирантов, магистрантов и студентов, Гродно, 20 апр. 2017 г. / ГрГУ им. Я. Купалы, физ.-тех. фак. ; редкол.: В. Г. Барсуков (гл. ред.) [и др.]. – Гродно, 2017. – С. 25–27.
6. Гоголева, С. Д. Квантово-химические расчеты энергии основного и возбужденного состояний молекулы ВТА-0 / С. Д. Гоголева // Физика конденсированного состояния : материалы XXV междунар. науч.-практ. конф. аспирантов, магистрантов и студентов, Гродно, 20 апр. 2017 г. / ГрГУ им. Я. Купалы, физ.-тех. фак. ; редкол.: В. Г. Барсуков (гл. ред.) [и др.]. – Гродно, 2017. – С. 135–136.

7. Гоголева, С. Д. Фотофизические свойства производного тиофлавина Т (ВТА-2) в растворителях и жестких матрицах / С. Д. Гоголева // Физика конденсированного состояния : материалы XXVI междунар. науч.-практ. конф. аспирантов, магистрантов и студентов, Гродно, 19 апр. 2018 г. / ГрГУ им. Я. Купалы, физ.-тех. фак. ; редкол.: В. Г. Барсуков (гл. ред.) [и др.]. – Гродно, 2018. – С. 27–28.

8. Гоголева, С. Д. Квантово-химические расчеты поверхностей потенциальной энергии основного и возбужденного состояний катиона молекулы 2-[4'-(диметиламино)фенил]-6-метил-бензотиазола [Электронный ресурс] / С. Д. Гоголева // Физика конденсированного состояния : материалы XXVII междунар. науч.-практ. конф. аспирантов, магистрантов и студентов, Гродно, 18 апр. 2019 г. / ГрГУ им. Я. Купалы, физ.-тех. фак. ; редкол.: А. Е. Герман (гл. ред.) [и др.]. – Гродно, 2019. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

9. Гоголева, С. Д. Влияние вязкости растворителя на флуоресцентные свойства производных тиофлавина Т [Электронный ресурс] / С. Д. Гоголева // Актуальные вопросы физики и техники : материалы VIII респ. науч. конф. студентов и аспирантов, Гомель, 25 апр. 2019 г. : в 2 ч. / ГГУ им. Ф. Скорины. – Гомель, 2019. – Ч. 1. – С. 84–86. – Режим доступа: <http://old.gsu.by/physfac>. – Дата доступа: 03.05.2019.

#### Тезисы докладов

10. Gogoleva, S. D. Uncharged derivatives of Thioflavin T do not exhibit viscosity-dependent fluorescence [Electronic resource] / S. D. Gogoleva, V. I. Stsiapura // ICSB-International Conference «Smart Bio», Kaunas, 18–20 May 2017 : abstract book / ed.: A. Paulauskas, S. Mickevičius. – Panevėžys, 2017. – P. 160. – Mode of access: <http://icsb.vdu.lt/>. – Date of access: 28.03.2018.

11. Гоголева, С. Д. Новые флуоресцентные молекулярные роторы на основе тиофлавина Т для кислых сред / С. Д. Гоголева, В. И. Степура // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : Тринадцатый съезд Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков : тез. докл. Междунар. науч. конф., Минск, 27–29 июня 2018 г. / редкол.: И. Д. Волоотовский [и др.]. – Минск, 2018. – С. 20.

**РЕЗЮМЕ**

Гоголева Светлана Дмитриевна

**ВЛИЯНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЫ НА ДИНАМИКУ  
ФОТОИНДУЦИРОВАННОГО ПЕРЕНОСА ЗАРЯДА В ПРОИЗВОДНЫХ  
ТИОФЛАВИНА Т**

**Ключевые слова:** флуоресцентные молекулярные роторы, тиофлавин Т, фотоиндуцированный перенос заряда, ТИСТ-процесс, квантово-химические расчеты, флуоресцентная спектроскопия.

**Цель работы:** определение влияния структуры и ионного состояния бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола на флуоресцентные свойства и динамику переноса заряда в возбужденном состоянии.

**Методы исследования:** спектрофотометрия, стационарная и кинетическая флуориметрия, квантово-химические расчеты.

**Полученные результаты и их новизна.** Предложена схема дезактивации возбужденного состояния и выявлены закономерности влияния структуры и ионного состояния на динамику фотоиндуцированного переноса заряда в бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола, что может быть использовано при создании нового класса флуоресцентных зондов и фотоуправляемых молекулярных устройств.

Скорость фотоиндуцированного переноса заряда в указанных катионных соединениях в апротонных растворителях определяется наличием небольшого энергетического барьера и динамикой сольватной релаксации.

Предложены новые флуоресцентные сенсоры на основе бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота для измерения амилоидных фибрилл белков в кислых средах.

Длительность затухания флуоресценции катионных бензотиазол-анилиновых производных тиофлавина Т с деметилированным атомом азота бензотиазола зависит от температуры, что позволяет предложить их в качестве температурных сенсоров.

**Рекомендации по использованию и область применения.** Полученные результаты позволяют предложить новые флуоресцентные сенсоры для детекции амилоидных фибрилл, измерения микровязкости и температуры в кислых средах. Область применения – спектроскопия, медицинская диагностика, микрофлюидика.

**РЭЗІЮМЭ**

Гогалева Святлана Дзмітрыеўна

**УПЛЫЎ МАЛЕКУЛЯРНАЙ СТРУКТУРЫ НА ДЫНАМІКУ  
ФОТАІНДУЦЫРАВАННАГА ПЕРАНОСА ЗАРАДУ  
Ў ВЫТВОРНЫХ ТЫЯФЛАВІНА Т**

**Ключавыя словы:** флуарэсцэнтныя малекулярныя ротары, тыяфлавін Т, фотаіндуцыраваны перанос зарада, ПІСТ-працэс, квантава-хімічныя разлікі, флуарэсцэнтная спектраскапія.

**Мэта працы:** вызначэнне ўплыву структуры і іённага стану бензатыязол-анілінавых вытворных тыяфлавіна Т з дэмеціліраваным атамам азоту бензатыязолу на флуарэсцэнтныя ўласцівасці і дынаміку пераносу зарада ў узбуджаным стане.

**Метады даследавання:** спектрафотаметрыя, стацыянарная і кінэтычная флуараметрыя, квантава-хімічныя разлікі.

**Атрыманыя вынікі і іх навізна.** Прапанаваная схема дэактывацыі ўзбуджанага стану і выяўлены заканамернасці ўплыву структуры і іённага стану на дынаміку фотаіндуцыраванага пераносу зараду ў бензатыязол-анілінавых вытворных тыяфлавіна Т з дэмеціліраваным атамам азоту бензатыязолу, што можа быць выкарыстана пры стварэнні новага класа флуарэсцэнтных зондаў і фотакіруемых малекулярных прылад.

Хуткасць фотаіндуцыраванага пераносу зараду ў названых катыённых злучэннях у апаратонных растваральніках вызначаецца наяўнасцю невялікага энергетычнага бар'ера і дынамікай сальватнай рэлаксацыі.

Прапанаваны новыя флуарэсцэнтныя сэнсары на аснове бензатыязол-анілінавых вытворных тыяфлавіна Т з дэмеціліраваным атамам азоту бензатыязолу для вымярэння амілоідных фібрыл бялкоў у кіслых асяроддзях.

Працягласць згасання флуарэсцэнцыі катыёнаў бензатыязол-анілінавых вытворных тыяфлавіна Т з дэмеціліраваным атамам азоту бензатыязолу залежыць ад тэмпературы, што дазваляе прапанаваць іх у якасці тэмпературных сэнсараў.

**Рэкамендацыі па выкарыстанні і вобласць прымянення.** Атрыманыя вынікі дазваляюць прапанаваць новыя флуарэсцэнтныя сэнсары для дэтэкцыі амілоідных фібрыл, вымярэння мікравязкасці і тэмпературы ў кіслых асяроддзях. Вобласць прымянення – спектраскапія, медыцынская дыягностыка, мікрафлюідыка.

**SUMMARY**

Gogoleva Svetlana Dmitrievna

**THE INFLUENCE OF THE MOLECULAR STRUCTURE ON THE DYNAMICS OF PHOTOINDUCED CHARGE TRANSFER IN DERIVATIVES OF THIOFLAVIN T**

**Keywords:** fluorescent molecular rotors, thioflavin T, photoinduced charge transfer, TICT-process, quantum-chemical calculations, fluorescence spectroscopy.

**Objective:** to determine the effect of the structure and ionic state of benzothiazole-aniline derivatives of thioflavin T with the demethylated nitrogen atom of benzothiazole on the fluorescent properties and dynamics of charge transfer in the excited state.

**Research methods:** spectrophotometry, steady state and time-resolved fluorometry, quantum-chemical calculations.

**The results obtained and their novelty.** The scheme of the excited state deactivation for benzothiazole – aniline derivatives of thioflavin T with demethylated nitrogen atom of benzothiazole is proposed, and the influences of the structure and ionic state on the dynamics of photoinduced charge transfer in benzothiazole – aniline thioflavin T derivatives with the demethylated nitrogen atom of benzothiazole are revealed, which can be used to create a new class of fluorescent probes and photocontrolled molecular devices.

The rate of photoinduced charge transfer in these cationic compounds in aprotic solvents is determined by the presence of a small energy barrier and the dynamics of solvation relaxation.

The new fluorescent sensors based on benzothiazole-aniline derivatives of thioflavin T with the demethylated nitrogen atom of benzothiazole have been proposed for measuring amyloid fibrils of proteins in acidic media.

The fluorescence decay lifetime of cationic benzothiazole-aniline derivatives of thioflavin T with the demethylated nitrogen atom of benzothiazole depends on temperature, which allows us to use them as temperature sensors.

**Recommendations for future use and application fields.** The results obtained allow us to propose new fluorescent sensors for the detection of amyloid fibrils, measurements of microviscosity and temperature in acidic media. Application field – spectroscopy, medical research, microfluidics.

