

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Mindaugas Mačernis

APLINKOS POVEIKIS FOTOINDUKUOTIEMS REIŠKINIAMS  
ORGANINĖSE MOLEKULĖSE

Daktaro disertacija  
Fiziniai mokslai, fizika (02P)

Vilnius, 2011

Disertacija rengta 2006 – 2010 metais Vilniaus universitete.

Mokslinis vadovas:

prof. habil. dr. Leonas Valkūnas (Vilniaus universitetas, fiziniai mokslai, fizika – 02P)

Konsultantas:

doc. dr. Juozas Šulskus (Vilniaus universitetas, fiziniai mokslai, fizika – 02P)

## **Padėka**

Norėčiau išreikšti ypatingą padėką savo darbo vadovui prof. Leonui Valkūnui už idėjas, pastabas, skirtą brangų laiką, puikų vadovavimą bei kantrybę.

Dėkoju doc. Juozui Šulskui už konsultacijas, darbo aprašo nagrinėjimą bei korekcijas.

Taip pat dėkoju doc. Broniui Povilui Kiečiui už idėjas bei mokslines konsultacijas. Dėkoju visiems bendradarbiams bei bendraautoriams:  
R. Karpicz, V. Gulbinui, C. D. P. Duffy, A. V. Ruban, S. H. Lin, M. Hayashi, A. Gruodžiui, A. Lewanovicz, M.P. Johnson, W. Barford.

Noriu padėkoti VU Teorinės fizikos katedrai už pasaulinio lygio Teorinės fizikos mokyklą Lietuvoje.

Ypatingai dėkoju artimiesiems už stiprų moralinį palaikymą.

# Turinys

Įvadas. Tiriamoji problema ir darbo aktualumas.....	6
1.1 Darbo tikslai.....	9
1.2 Darbo užduotys.....	10
1.3 Darbo naujumas.....	11
1.4 Ginamieji teiginiai.....	12
1.5 Disertacijos struktūra.....	13
1.6 Aprobacija.....	14
1.7 Autoriaus įnašas.....	17
2. Darbo metodologija.....	18
2.1 Skaičiavimo teorijų apžvalga.....	18
2.1.1 <i>Ab-initio</i> metodai pagrindinei elektroninei būsenai.....	19
2.1.3 Sužadintų būsenų tyrimas <i>ab-initio</i> metodais.....	20
2.1.4 Simetrijos.....	25
2.1.5 Tankio funkcionalas (DFT).....	26
2.1.6 Bazinių funkcijų rinkiniai.....	30
2.1.7 Pusempiriai metodai.....	32
2.1.8 Molekulių mechanika.....	33
2.1.9 Aplinkos įskaitymas.....	34
2.1.10 Pernaša dimeruose.....	36
2.2 Programiniai paketai.....	38
2.2.1 Skaičiavimo paketai.....	38
2.2.2 Kompiuteriniai resursai.....	40
3. Vandenilinių ryšių įtaka 2-( <i>N</i> -metil- $\alpha$ -iminoethyl)-fenol molekulei.....	42
3.1 Skaičiavimo metodai pagrindinei elektroninei būsenai.....	43
3.2 Skaičiavimo metodai sužadintai elektroninei būsenai.....	45
3.3 Vandenilinių ryšių įtaka pagrindinei būsenai.....	47
3.4 Vandenilinių ryšių įtaka $S_1$ būsenai.....	52
3.5 Rezultatų aptarimas.....	59
3.6 Išvados.....	62

4. Vandenilinių ryšių įtaka N-triphenylmethyalsalicylideno imino molekulėje	64
4.1 Eksperimentinis pagrindimas.....	66
4.2 Skaičiavimo metodai .....	69
4.3 Pagrindinės ir sužadintos elektroninės būsenos.....	69
4.4 Rezultatų aptarimas .....	72
4.5 Išvados .....	77
5. BR aktyvusis centras ir baltymo aplinka .....	78
5.1 Eksperimentiniai duomenys.....	79
5.2 Skaičiavimo metodika .....	81
5.3 DM Skaičiavimai .....	82
5.4 Aptarimas.....	87
5.5 Išvados .....	89
6. Aplinkoje esančių tirpalo molekulių poveikis stilbazolio molekulei .....	90
6.1 Eksperimentiniai Ramano spektroskopijos duomenys .....	91
6.2 Stilbazolio monomerų skaičiavimai .....	93
6.3 Stilbazolio dimerų susidarymas.....	98
6.4 Išvados .....	99
7. Karotinoidai baltymuose.....	100
7.1 Luteino pagrindinės būsenos skaičiavimai .....	102
7.2 $S_1$ būsenos skaičiavimas polieno ir luteino struktūroms .....	104
7.3 Ksantofilų dimerai fotosintetinėje membranoje .....	111
7.4 Dimerų skaičiavimai sužadintoje $S_2$ elektroninėje būsenoje.....	115
7.5 Rezultatai ir išvados.....	122
Santrumpos .....	124
Literatūra.....	126

## **Ivadas. Tiriamoji problema ir darbo aktualumas**

Biologijoje vienas pagrindinių ląstelės makroenergetinių junginių yra adozintrifosfatas (ATP), kurio sintezei reikalingi protonai ( $H^+$ ). Biologinės molekulės yra nuolatos sintetamos ląstelėje, pasitelkiant ATP mainų reakciją, kuri, kaip biochemijoje žinoma, yra stimuliuojama fotosinteze [1,2] arba ląsteliniu kvėpavimu [2]. Ląstelinio kvėpavimo mechanizme yra panaudojamas elektrocheminis protonų potencialas, kurį užtikrinti padeda protonų siurbliai. Vienas iš tipinių tokių modelių siurblių yra bakteriorodopsinas, kurio aktyviajame centre yra atskiriamas protonas. Bakteriorodopsiną sudaro per protonuotą Šifo bazę su baltymu sujungtas retinalis [3]. Visgi veikimo principas nėra iki galo aiškus [4]. Gyvuose organizmuose retinalis (vitaminas A yra jo atmaina) yra susintetinamas iš  $\beta$ -karotino. Pastarasis priskiriamas karotinoidų klasei, kurie tarpusavyje yra panašios struktūros (bei panašūs į retinalį) [2]. Įdomu tai, kad karotinoidai dalyvaudami fotosintezėje [1], iš esmės atlieka visai kitokias funkcijas. Jie sugeria skirtingo bangos ilgio spinduliuotę negu chlorofilo molekulės, o taip pat atlieka ir apsauginį vaidmenį, t.y. veikia kaip antioksidantai [5]. Pastarasis mechanizmas taip pat nėra iki galo aiškus [1,6]. Skirtingose aplinkose panašių vidinių struktūrų molekulių savybės kinta. Šiame darbe gilinsimės į molekulių elektronines struktūros ir elektroninių spektrų pokyčius, kuriuos nulemia aplinka.

Biologinių sistemų modeliavimas yra sudėtingas ir dažnai apsiribojama tik atskirų molekulių būsenų energijų skaičiavimais. Dažnai tik labai tikslūs *ab initio* kvantinės chemijos metodai leidžia pasiekti reikiamą tikslumą. Pavyzdžiui, modeliuojant karotino molekules, kurios, didelės apšvitos sąlygomis, siejamos su nefotocheminiu fotosintezės gesinimu fotosistemoje 2 [7], būtina atsižvelgti į elektronų koreliaciją [1,5,8]. Tačiau, modeliuoti tik atskirų molekulių elektroninę struktūrą ir spektrus nepakanka. Tiriamoms savybėms labai svarbi tiriamų molekulių sąveika su aplinkoje esančiomis molekulėmis ar molekuliniais dariniais. Aplinka gali įtakoti įvairias molekulių savybes. Atsižvelgiant į tai, kad tiriamos sistemos yra santykinai labai didelės, tenka modeliuoti

sistemas supaprastintais skaičiavimo metodais. Šių metodų galimybių supratimas tampa taip pat labai svarbus. Atskirų molekulių skaičiavimas ir reiškinių jose modeliavimas dažnai galimi tik pasitelkus tikslius *ab initio* metodus, kas pareikalauja didelių kompiuterinių resursų: superkompiuterių bei lygiagrečių skaičiavimų klasterių.

Protono perneša vyksta įvairiuose membraniniuose baltymuose, pavyzdžiui žaliajame fluorescenciniame [9], bakteriodopsine [10-12] ir kt. Bakteriodopsine per purpurinę membraną vyksta fotoindukuota protono perneša. Pastaroji prasideda bakteriorodopsino aktyviajame centre. Čia, esanti chromoforinė grupė (11-*cis*-retinolis), sugėrusi šviesą, inicijuoja protono pernešą nuo protonuotos Šifo bazės link pirminio protono akceptoriaus D85. Tačiau dėl šio vyksmo protonovaros jėgos prigimties iki šiol yra diskutuojama. Taip pat daug neaiškių klausimų yra susijusių su fotoaktyvių baltymų elektrodinamika ir elektrostatika [4]. Pvz., daugeliu atveju membraniniai baltymai, dėl paviršinių elektrinių krūvių ir dipolių, yra nesimetriniai [13-18]. Dipolinio momento vertė priklauso nuo joninės aplinkos, pH ar kitų membranos paviršių trikdančių veiksnių [19-23]. Taigi elektrinių parametrų prigimtis bakteriorodopsine nėra labai aiški. Taip pat nėra iki galo aiškus ir protonovaros mechanizmas.

Tarpmolekulinės ir vidujmolekulinės protonų pernešos yra vienos svarbiausių reakcijų sudėtingose biologinėse sistemose, tame tarpe ir bakteriorodopsine. Vidujmolekulinė protono perneša paprastai susijusi su protono keliais, kuriuos suformuoja vandenilių ryšių tinklas. Vandenilinis ryšys svarbus daugelyje skirtingų sistemų [24-26]. Tokiose reakcijose protono judėjimo priežastis vis dar išlieka nenustatyta. Bakteriorodopsino aktyviajame centre protono pernešoje dalyvauja protonuota Šifo bazė apie kurią yra išsidėsčiusios vandens molekulės. Buvo parodyta [27-29], kad aplinka ir jos struktūrinis persiskirstymas turi didelę įtaką protonovaros jėgai, atsirandančiai vandenilinių ryšių tinkle. Tad siekiant geriau suprasti protonovaros prigimtį, reikia atlikti pagrindinių struktūrinių dalių modeliavimą. Vidujmolekulinė protono perneša tirpalų aplinkoje paprastai yra stebima kartu su fotoindukuotais molekuliniais sukimo ar kitokiais konformaciniais pokyčiais [30-38]. Toks vyksmas stebimas, bakterio-

rodopsino aktyviajame centre, kuris yra sudarytas taip, kad dėl šviesos suger- ties retinalio, sujungto su lizino radikalu per protonuotą Šifo bazę, chromofore galėtų judėti fotoindukuotas protonas [10-12, 39-41]. Norint tiksliau suprasti kaip sužadintoje būsenoje struktūrinės dalys keičia savo konformaciją ir kiek svarbi yra vandenilinių ryšių aplinka, reikalingas skaitmeninis modeliavimas.

Norint ištirti aplinkos poveikį protono pernašai, yra narginėjami įvairūs modeliniai molekuliniai dariniai. Žinoma, jog tarpmolekulinėje ir vidujmoleku- linėje protonų pernašoje dalyvauja funkcinės grupės –OH, –NH<sub>2</sub> kartu su CO, – N=N- ar =NH. Šifo bazė yra molekulių junginių darinys, egzistuojantis kaip imino funkcinė grupė. Imino tipo aromatiniai anilai, formuojami iš anilinių su fenilo žiedais ar jų grupių pakaitalų, gerai žinomi dėl savo fotochrominių ir termochrominių savybių [42-70]. Vidujmolekulinė protonų pernaša aniluose yra susijusi su enol-keto tautomerizacija. Todėl ši reakcija yra svarbi su tauto- merizacijos procesas susijusiuose praktiniuose taikymuose, fotoapsaugoje, fo- tocheminėse energijos virsmuose ir kituose procesuose [71-72]. Tautomerizaci- jos sužadintoje būsenoje reakcijos yra stebimos įvairiuose anilų molekulėse [73], tačiau vis dar neaišku, kaip ši reakcija priklauso nuo molekulės struktūros bei aplinkos.

Dirbtinės sistemos, galinčios imituoti fotobiologines sistemas, turi turėti panašias savybes kaip ir biologinės. Pavyzdžiui, pradinis regėjimo mechaniz- mo etapas yra rodopsino chromofore esančio 11-*cis*-retinalio fotoizomerizacija [74]. Viena tokių molekulių – stilbazolis, kurio elgesys panašus į retinalio mo- lekulę [75]. Stilbazolio molekulė tiriama fotochemijoje, farmakologijoje, mo- lekulinėje biologijoje. Stilbazolio savybės naudingos konstruojant biosensorius, savaimė susidarantiuose monoprietaisuose, nanoobjektuose. Tačiau, stilbazolis pasižymi dideliu savybių jautrumu aplinkai, o aplinkos įtakos mąstas gali būti suprastas tik atlikus tinkamus teorinio modeliavimo skaičiavimus.

Daugelis biofizikinių ir biocheminių vyksmų fotosistemoje 2, susijusių su efektyvia pernaša ir stipriai gęstančiomis būsenomis, nėra labai gerai su- prasti. Manoma, kad šiuose vyksmuose dalyvauja karotinoidai [6]. Pastarosios molekulės turi polieninių savybių. Tuo tarpu polienų elektroninės struktūros



tyrimas yra problematiškas, susijęs su alternavimo simetrija, kuriai yra labai svarbi elektronų koreliacija pagrindinėje ir sužadintose elektroninėse būsenose. Fotosistemos 2 baltyminei terpėje karotinoidai gali sąlygoti struktūrines deformacijas ir sąveikauti su jų aplinkoje esančiomis chlorofilų molekulėmis. Žinoma, kad karotinoidai (tiksliau ksantofilai) sudaro dimerus, kurie yra aiškiai matomi kristolografiniuose duomenyse [76,77]. Norint modeliuoti reiškinius, susijusius su ksantofilais ar kitais karotinoidais, būtina suvokti galimą aplinkos poveikį šioms molekulėms.

Šiame darbe yra nagrinėjami aplinkos įtakoti molekulių savybių pokyčiai. Modeliuojamos sistemos, kurioms eksperimentiniai rezultatai yra žinomi. Taip pat parodoma vandenilių ryšių tinklų, atsirandančių nagrinėjamų sistemų aplinkoje, svarba, elektroninei sistemų struktūrai, jų spektras ir protono pėmašai.

## 1.1 Darbo tikslai

Visi rezultatai yra gauti, panaudojant kompiuterizuotus kvantinės molekulių teorijos metodus. Pagrindiniai disertacijos tikslai:

- ištirti 2-(*N*-metil- $\alpha$ -iminoethyl)-fenol molekulės struktūros ir spektrinių savybių pagrindinėje ir sužadintose elektroninėse būsenose priklausomybę nuo aplinkos molekulių (tirpiklio molekulių) sukurto vandenilinių ryšių tinklo;
- ištirti tirpiklio molekulių kuriamo vandenilinių ryšių tinklo įtaką *N*-triphenylmethylsalicylidene iminies molekulės konformerų susiformavimui;
- ištirti dipolinio momento prigimtį bakteriorodosino baltyme;
- ištirti tirpiklio molekulių įtaką stilbazolio molekulės struktūroms;
- išanalizuoti luteino žemiausių elektroninių sužadintų būsenų savybes.

## 1.2 Darbo užduotys

Siekiant užsibrėžtų tikslų buvo sprendžiami tokie uždaviniai:

1. Naudojant kompiuterizuotus kvantinės mechanikos metodus buvo tiriamos 2-(*N*-metil- $\alpha$ -iminoethyl)-fenol molekulės, esančios poliniame tirpiklyje, struktūros pagrindinėje ir sužadintose elektroninėse būsenose.
2. Naudojant kvantinės mechanikos metodus buvo tiriami *N*-triphenylmethylsalicylidene iminie molekulės elektroniniai spektrai, stabilių struktūrų susidarymas, priklausomai nuo vandenilinių ryšių su polinio tirpiklio molekulėmis.
3. Buvo atliktas įvairių būsenų nebaltyminių bakteriorodopsino molekulių dalių AMBER parametrizavimas.
4. Molekulių mechanikos metodais buvo apskaičiuoti bakteriorodopsino dipoliniai momentai ir jų kitimas pradinėse fotociklo būsenose (iki būsenos M).
5. Tankio funkcionalo metodais buvo tiriama tirpiklio molekulių įtaką skirtingų stilbazolio molekulės formų susidarymui.
6. Buvo apskaičiuotos ir išanalizuotos karotinoidų sužadintos būsenos: pavienės luteino molekulės pirmoji draustinė būsena, ksantofilų dimerų leistina žemiausia būsena.

### 1.3 Darbo naujumas

1. Pirmą kartą parodyta, kad norint nustatyti teisingą kokybinį ir artimą kiekybiniam vidujmolekulinės protono pernašos potencinės energijos paviršių, būtina atsižvelgti į polinių tirpiklio molekulių kuriamą vandenilinių ryšių tinklą protono pernašos aplinkoje bei į nulinių svyravimų energijas.
2. Parodyta, kad anilo klasės molekulių konformerų susidarymas priklauso nuo sąveikos su polinio tirpiklio molekulėmis, kurios konkuruoja su tirpiklio molekulių klasteriais. Tokiu būdu paaiškinami eksperimentiniai rezultatai.
3. Pirmą kartą parodyta, kad dipolinio momento vertę bakteriorodopsine nulemia išorinėse baltymo pusėse esantys radikalai, kas leidžia paaiškinti eksperimentinius rezultatus.
4. Pademonstruota, kad stilbazolio molekulė deformuojasi ir yra dvejose skirtingose formose tik tada, kai ji yra tirpiklio molekulių aplinkoje. Tai dera su eksperimentiniais rezultatais.
5. Parodyta, kad karotinoidų sužadintos elektroninės būsenos yra jautrios aplinkos poveikiams.

## 1.4 Ginamieji teiginiai

Disertacijos gynimui yra pateikiami šie **ginamieji teiginiai**:

- Vidujmolekulinę ir tarpmolekulinę protono pernašą anilų klasės molekulėse nulemia tirpiklio molekulių sukurtas vandenilinių ryšių tinklas.
- Protono pernašą baltymuose valdo vandens molekulių įtaka bei atsirandantys membraniniai elektriniai laukai.
- Cianinų klasės molekulių benzoidinių ir chinoidinių formų atsiradimą ir stabilumą nulemia sąveika su polinėmis tirpiklio molekulėmis.
- Karotinoidų molekulių biologinį aktyvumą fotosintetiniuose kompleksuose sąlygoja jų tarpusavio sąveika ir sąveika su baltymine aplinka.

Praktiniu požiūriu disertacija yra **reikšminga** tuo, kad joje iširta aplinkos įtakos svarba molekulinėms sistemoms. Be to, remiantis tyrimo rezultatais, galima geriau suprasti polinės aplinkos svarbą ir jos įtaką tiriamų sistemų savybėms. Rezultatai leidžia interpretuoti eilę eksperimentinių rezultatų.

## 1.5 Disertacijos struktūra

Disertaciją sudaro 7 skyriai ir literatūros sąrašas.

**Įvadiniam** skyriuje nagrinėjamos problemos aktualumas, formuojamas darbo tikslas bei uždaviniai, aprašomas mokslinis darbo naujumas, pristatomi autoriaus pranešimai, publikacijos ir disertacijos struktūra.

**Antrajame skyriuje** trumpai aprašyti pagrindiniai šiame darbe naudojami skaičiavimo metodai (*ab initio*, DFT, MM ir pusempiriniai metodai), pateikiama darbo metodologija.

MIEP molekulė aprašyta **trečiajame skyriuje**. Pateikiama literatūros apžvalga. Šiame skyriuje analizuojama modelinės molekulės pagrindinės ir sužadintos būsenos struktūra. Ištirta polinės aplinkos įtaka protono pernašai.

**Ketvirtajame skyriuje** pateikti išsamūs MS1 molekulės modeliavimo rezultatai. Apžvelgiami mokslinėje literatūroje paskelbti anilo klasės molekulių tyrimų rezultatai. MS1 molekulės analizei yra naudojami MIEP modelinės molekulės rezultatai, pateikti trečiajame skyriuje. Aptariami teoriniai skaičiavimai ir jų eksperimentiniai rezultatai. Parodytas rezultatų jautrumas aplinkos poveikiui.

**Penktajame skyriuje** tiriamas realus baltymas – bakteriorodopsinas, kurio aktyvusis centras inicijuoja protono pernašą. Šioje sistemoje egzistuoja trečiajame skyriuje nagrinėtos struktūros: Šifo bazė analogiška kaip MIEP ir MS1. Gauti teoriniai rezultatai susiejami su eksperimentiniais rezultatais.

Stilbazolio kaip dirbtinės struktūros, imituojančios fotofizikinius procesų prigimtį, analizė ir tyrimas yra aprašytas **šeštajame skyriuje**. Teoriniais skaičiavimais modeliuojama eksperimento metu naudoto tirpiklio aplinkos poveikis.

**Septintajame skyriuje** analizuojamos karotinoidų struktūros, kurios turi struktūrinių panašumų su retinaliu, bet jų savybės iš esmės skiriasi. Tyrinėjama aplinkos įtaka, kuri susiformuoja dėl baltymo ir aplinkoje esančių kitų struktūrų.

Visų disertacijos skyrių struktūra susijusi su rezultatų aptarimu yra panaši. Pirmiausiai apžvelgiama literatūroje skelbtų tyrimų medžiaga. Toliau aptariami atlikti teorinio modeliavimo rezultatai, pateikiama jų analizė. Skyrių pabaigoje suformuluojami rezultatai ir išvados. Visoje disertacijoje naudotos literatūros sąrašas pateiktas bendrai **disertacijos pabaigoje**.

## 1.6 Aprobacija

Darbo metu gauti ir disertacijoje aprašomi rezultatai yra paskelbti šiuose moksliniuose straipsniuose:

1. M. Macernis, B.P. Kietis, J. Sulskus, S.H. Lin, M. Hayashi, L. Valkunas *Triggering the proton transfer by H-bond network*. Chem. Phys. Lett. 466, 233-226, (2008).
2. C.D.P. Duffy, M.P. Johnson, M. Macernis, L. Valkunas, W. Barford and A.V. Ruban. *A Theoretical Investigation of the Photo-physical Consequences of Major Plant Light-Harvesting Complex Aggregation within the Photosynthetic Membrane*. J. Phys. Chem. B 114, 15244-15253 (2010).
3. B. P. Kietis, M. Macernis, J. Sulskus, L. Valkunas. *Estimation of the Permanent Dipole Moment of Bacteriorhodopsin*. Lith. J. Phys. 50, 451-462 (2010).
4. R. Karpicz, V. Gulbinas, A. Lewanowicz, M. Macernis, J. Sulskus, L. Valkunas. *Relaxation Pathways of Excited N-Triphenylmethylnsalicylidene Imine in Solutions*. J. Phys. Chem. (2010). (priimtas spausdinimui)
5. M. Macernis, J. Sulskus, L. Valkunas. *Triggering the photoinduced proton transfer by H-bond network*. Chem. Phys. (2010). (išsiųstas)

Disertacijos rezultatai aprobuoti 9 tarptautinėse ir nacionalinėse konferencijose:

1. Mindaugas Mačernis, Bronius Povilas Kietis, Juozas Šulskus, Leonas Valkūnas, *Protonų pernašos biologinėse molekulėse modeliavimas (Proton transfer modeling in biological molecules)*. 37-oji Lietuvos nacionalinė fizikos konferencija, 2007, Lietuva
2. Mindaugas Mačernis, Juozas Šulskus. *Parallel computing system for molecular quantum mechanical modeling*. Vilniaus Verslo Kolegija, 2008, Lietuva
3. Mindaugas Macernis, Leonas Valkūnas, Juozas Šulskus, Renata Karpič, Vidmantas Gulbinas. *Elektroniniai spektrai fotoaktyviuose molekulėse (Spectral variations of photoactive model molecules)*. 38-oji Lietuvos nacionalinė fizikos konferencija, 2009, Lietuva
4. Mantas Kelminas, Alytis Gruodis, Juozas Šulskus, Mindaugas Mačernis. *Stilbazolio darinių DFT skaičiavimai ir virpesinių spektrų analizė (DFT calculations and analysis of vibrational spectra of the stilbazol derivatives)*. 38-oji Lietuvos nacionalinė fizikos konferencija, 2009, Lietuva
5. Jelena Strelcova, Juozas Šulskus, Mindaugas Mačernis, Leonas Valkūnas. *Deformuotų karotinoidų elektroniniai spektrai (Electronic spectra of deformed carotenoids)*. 38-oji Lietuvos nacionalinė fizikos konferencija, 2009, Lietuva

6. Mindaugas Macernis, Juozas Sulskus, Leonas Valkunas. *Spectral modulation of carotenoids by the protein environment*. Workshop on Quantum Effects in Biological Systems – QuEBS 09, 2009, Portugalija
7. Mindaugas Macernis, Juozas Sulskus, Leonas Valkunas. *Spectral variations of photoactive biological molecules and related model compounds*. 13th edition of the International Conference on the Applications of Density Functional Theory in Chemistry and Physics, 2009, Prancūzija
8. Juozas Šulskus, Mindaugas Mačernis. *Determination of stable stilbazol structures from high performance quantum chemical computations*. 3rd international conference innovative information technologies IIT-2209. Vilniaus Verslo Kolegija, 2009, Lietuva
9. R. Karpicz, M. Macernis, J. Šulskus, Lewanovicz A., L. Valkunas, V. Gulbinas. *Ultrafast spectroscopic studies of N-triphenylmethylsalicylidene imine tautomeric forms*. 8th international conference on electronic processes in organic and inorganic materials. “Synyogora residence”, 2010, Ukraina



## 1.7 Autoriaus įnašas

Visi teoriniai darbai ir kompiuterinis modeliavimas buvo atlikti autoriaus kartu su bendraautoriais. Gauti rezultatai lyginti su eksperimentiniais darbais, kurie buvo atlikti bendraautorių - eksperimentatorių. Bendradarbiauta su šiais mokslininkais:

S.H. Lin<sup>1</sup>, M. Hayashi<sup>2</sup>, C.D.P. Duffy<sup>3</sup>, J. Šulskus<sup>4</sup>, W. Barford<sup>5</sup>, A. Gruodis<sup>4</sup>, L. Valkūnas<sup>4,6</sup> – teorinė eksperimentų analizė.

B. P. Kietis<sup>6</sup>, R. Karpicz<sup>6</sup>, V. Gulbinas<sup>6</sup>, M.P. Johnson<sup>3</sup>, A. V. Ruban<sup>3</sup>, A. Lewanowicz<sup>7</sup> – eksperimentiniai rezultatai ir jų aptarimas.

<sup>1</sup> Taivanas, Kinijos respublika (*Institute of Atomic and Molecular Sciences, Academia Sinica, Taipei 106, Taiwan, Republic of China*)

<sup>2</sup> Taivanas, Kinijos respublika (*Center for Condensed Matter Sciences, National Taiwan University, Taipei 106, Taiwan, Republic of China*)

<sup>3</sup> Oksfordas, Didžioji Britanija (*Department of Chemistry, Physical & Theoretical Chemistry Laboratory, University of Oxford, South Parks Road, Oxford, OX1 3QZ, United Kingdom*)

<sup>4</sup> Fizikos Fakultetas, Vilnius, Lietuva (*Theoretical Physics Department, Faculty of Physics, Vilnius University, Saulėtekio 9, LT-01222 Vilnius*)

<sup>5</sup> Londonas, Didžioji Britanija (*School of Biological and Chemical Sciences, Queen Mary University of London, Mile End Road, London, E1 4NS, United Kingdom*)

<sup>6</sup> Fizikos institutas, Vilnius, Lietuva (*Center for Physical Sciences and Technology, Institute of Physics, Savanoriu 231, LT-02300 Vilnius, Lithuania*)

<sup>7</sup> Varšuva, Lenkija (*Wrocław University of Technology, Institute of Physical and Theoretical Chemistry, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław, Poland*)

## 2. Darbo metodologija

Kompiuterinis modeliavimas dažnai gali paaiškinti eksperimentinius rezultatus, atspindinčius realius vyksmus nagrinėjamuose dariniuose. Molekulių teorijos metodai leidžia modeliuoti molekulių sandarą, jų tarpusavio padėtį bei įvairius galimus išorinių jėgų poveikius. Šiame skyriuje aptarsime molekulių tyrimo teorijų ir metodų įvairovę, jų galimybes bei programinius paketus, kuriuose šie metodai yra įdiegti.

### 2.1 Skaičiavimo teorijų apžvalga

Daugiau nei prieš keletą dešimtmečių įvairūs molekuliniai vyksmai buvo tyrinėjami daugiausia tik remiantis eksperimentų duomenimis. Pastaraisiais metais ypač intensyviai pradėti naudoti kompiuterinės chemijos metodai, leidžiantys paaiškinti nežinomus reiškinius ir vyksmus, stebimus eksperimentuose [78]. Visi šie metodai skirstomi į *ab initio*, DFT, empirinius ir molekulių mechanikos.

Pilnos kvantinės sistemos, sudarytos iš atomų ir molekulių, o jų aprašymui visai nagrinėjamai sistemai reikia spręsti Šredingerio lygtį. Tam yra sukurti įvairūs skaičiavimo metodai, kurių kiekvienas turi savo privalumų ir trūkumų. Spręsdami Šredingerio lygtį, susiduriame su daugelio kūnų problema, kur daugelio mikrodalelių sistemos Šredingerio lygtį turime spręsti apytiksliai. Tiesiškai didėjant elektronų skaičiui, kompiuterinių skaičiavimų sąnaudos auga eksponentiškai, dėl to reikiamo tikslumo sprendinys didesnei molekulinei sistemai tampa sunkiai pasiekiamas. Per paskutinius penkiasdešimt metų buvo sukurti du reikšmingi elektroninės Šredingerio lygties sprendimo būdai: vieni pagrįsti banginės funkcijos, o kiti tankio funkcionalo artiniu.

Kita problema, charakterizuojant molekules, yra susijusi su aplinkos poveikiu tiriamai sistemai. Modeliuojant sudėtingą molekulių sistemą, siekiama ją aprašyti kiek įmanoma tikroviškiau. Tyrinėjant labai dideles biologines sistemas, kur reikia įskaityti baltymų struktūras ar aplinkoje esančias molekules, *ab initio* metodai sunkiai pritaikomi, nes reikalauja ypač daug kompiuteri-

nių pajėgumų. Kadangi dažnai domina maža sistemos dalis, tad aplinką ar poveikį užtenka modeliuoti apytiksliai. Vienas būdas tą padaryti yra dalį aplinkos įskaityti *ab initio* kvantinės chemijos lygyje. Kitas pasitelkiant artinius, tokius kaip molekulių mechanika (MM) ar poliarizuojamos aplinkos modelis (PCM).

### 2.1.1 *Ab-initio* metodai pagrindinei elektroninei būsenai

Kvantinėje chemijoje *ab initio* metodas yra galingas įrankis, leidžianti charakterizuoti atomų ir molekulių elektroninę struktūrą. Didėjantys kompiuteriniai resursų galingumai leidžia tyrinėti vis sudėtingesnes medžiagų mokslo ar biologines sistemas. Vienas skaičiavimo metodų – elektronų banginės funkcijos paieška sprendžiant Šredingerio lygtį. Tam tikslui elektronų banginė funkcija yra atvaizduojama kaip tiesinė Sleiterio determinantų kombinacija. Sleiterio determinantai yra suformuoti iš molekulinėse orbitalių, kuriuos savo ruožtu yra tiesinės atominių orbitalių kombinacijos. Skaičiavimuose nežinomi koeficientai yra gaunami naudojant įvairius skaitinius metodus.

Elektronų koreliacijos įvertinimas yra svarbi problema. Hartrio ir Foko metode (HF) daugelio kūnų problemai spręsti yra naudojama suderintinio lauko (SCF) procedūra. Metodas pakankamai gerai aprašo daugumą atominių ir molekulinėse savybių, tačiau nepakankamai tiksliai aprašo chemines reakcijas, kurias tiriant ypač yra svarbi elektronų koreliacija. Šie tikslesni metodai yra vadinami patikslintaisiais, tačiau kompiuterinių resursų poreikis labai išauga. Tokie metodai – tai *Couple cluster* (CC), *Møller-Plesset* (MP $n$ ) ir daugiakonfigūracinės trikdžių teroijos (MPT $n$ , CASPT $n$ ) metodai. Pagrindinė problema yra elektronų koreliacijos aprašymas, kuris turi derėti su skaičiuojamos sistemos dydžiu ir turimais kompiuteriniais resursais.

Vieni tiksliausių ir labiausiai reikalaujančių kompiuterinių resursų yra CC metodai. Banginė funkcija yra formuojama, įskaitant elektronų porų koreliacijos ryšius, generuojant aukštų sužadinių Sleiterio determinantus, dėl ko kompiuterinių resursų poreikis auga eksponentiškai. Formuodami banginę funkciją galime pasirinkti artėjimą priklausomai nuo sužadavimo tipo, kuris gali būti vienkartinis, dukartinis, trikartinis ir t.t. Norint suderinti skaičiavimo

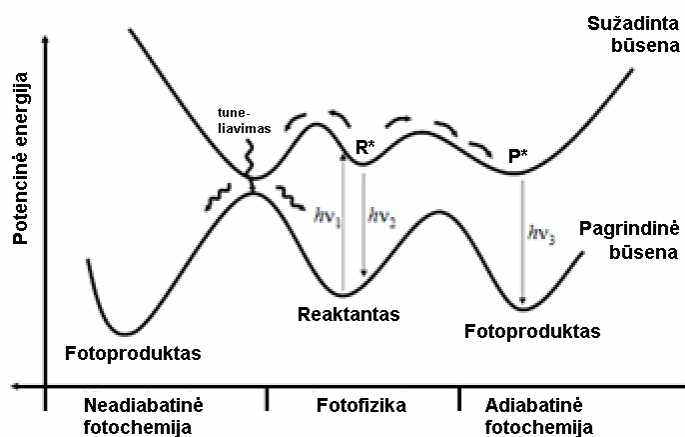
greitį su pakankamu tikslumu buvo suformuluota CCSD(T) teorija. Šioje teorijoje vienkartiniai ir dukartiniai sužadainimai įskaitomi, pasitelkus CC teoriją, o trikartiniai – kaip energijos trikdžio pataisa [79]. Formaliai CCSD(T) skaičiavimo resursų poreikis auga kaip  $N^7$ , kur  $N$  – sistemos elektronų skaičius. Tokiems skaičiavimams reikalingas superkompiuteris, ir skaičiuojama sistema gali būti tik maža ar vidutinio dydžio molekulė. Antravertus mažų organinių molekulių energijos įvertinimo tikslumas siekia apie 1kcal/mol [80], o optimizuoti geometrijos parametrai yra pakankamai tikslūs [81].

Kitas metodas - tai antros eilės energijos trikdžių pataisa (MP2). Skaičiavimo resursų poreikis, skaičiuojant  $N$  elektronų turinčią sistemą auga kaip  $N^5$ . MP2 metodas yra tinkamas, nagrinėjant stabilių sistemų geometrines konfigūracijas, kai netiriamos cheminės reakcijos (neatsižvelgiant į galimų naujų cheminių ryšių susidarymą ar išnykimą). MP2 metodo tikslumas (priklausomai nuo pasirinktų bazinių funkcijų rinkinių) siekia apie 0,3 kcal/mol [82,83].

Daugiakonfigūraciniai trikdžių teorijos metodai, tokie kaip CASPT2, MPT2 [84], skirtingai nuo CCSD(T) ar MP2, reikalauja papildomos sistemos analizės. Skaičiavimo laikas ir tikslumas priklauso nuo to, kaip tinkamai pasirinkta aktyvi erdvė, kurioje elektronų sistema aprašoma daugiakonfigūraciniame lygmenyje. Visų, nepatekusių į aktyvią erdvę, elektronų įtaka įskaitoma pasitelkus trikdžių teoriją. Elektroninė banginė funkcija yra daugiadeterminantė (tuo tarpu HF – vieno Sleiterio determinanto). Tai ypač svarbu, kai nagrinėjamos cheminės reakcijos [85].

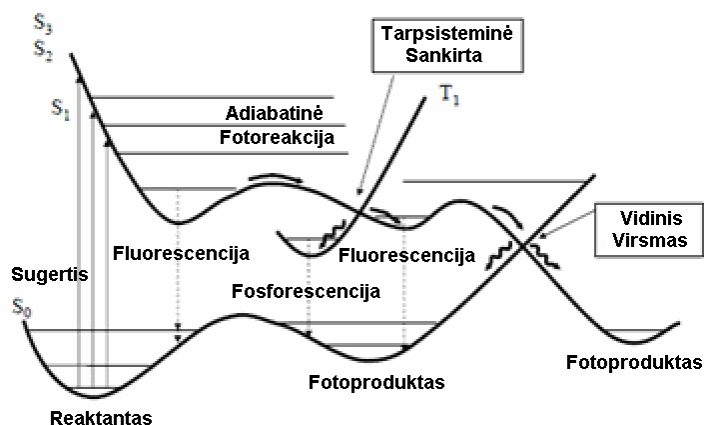
### **2.1.3 Sužadintų būsenų tyrimas *ab-initio* metodais**

Potencinės energijos paviršius (PES) vaizduoja nagrinėjamos molekulės elektroninės būsenos pilnutinės energijos priklausomybę nuo branduolių tarpusavio išsidėstymo koordinatėms. Jis kuriamas sprendžiant nuo laiko nepriklausančią Šredingerio lygtį fiksuotoms atomų branduolių koordinatėms. Priklausomai nuo potencinio paviršiaus ir elektroninio sužadainimo tipo išskiriamos neadiabatinės fotochemijos, fotofizikos ir adiabatinės fotochemijos uždavinių sritys (2.1 pav.) [86].



**Pav. 2.1** Potencinio paviršius ir sužadavimo tipų priskyrimas neadiabatinei, adiabatinei fotochemijoms ir fotofizikai.

Neadiabatines fotochemijos reiškiniai – tai įvairūs vyksmai: tarpsisteminis persidengimas, sugertis, fluorescencija, fosforescencija, vidiniai molekuliniai virsmai ir kt. (2.2 pav.). Visiems jiems reikia pakankamai tikslių skaičiavimo metodų.



**Pav. 2.2** Neadiabatines fotochemijos reiškiniai.

Atliekant eksperimentus, dažnai yra stebimas Stokso poslinkis, kuris atspindi spektrinių juostų padėčių skirtumą tarp sugerties ir emisijos maksimumų. Net ir tikslių CASPT2 ar CASSCF skaičiavimų rezultatai ne visai tiksliai atitinka eksperimentinius rezultatus. Norint gauti geresnį atitikimą su experi-

mentu, reikia atsižvelgti į nulinių virpesių pataisą (ZVE). Tam tikslui skaičiuodamos pagrindinės būsenos energija  $E_e$ , prie kurios pridedama ZVE energiją  $E_{ZVE}$  ir gaunama pataisyta pilnutinė sistemos energija  $E_0$ :

$$E_0 = E_e + E_{ZVE} \quad (2.1)$$

$E_{ZVE}$  yra skaičiuojamas naudojant harmonino osciliatoriaus artinį.

Elektroninėje spektroskopijoje taip pat būtina įvertinti elektroninių šuolių intensyvumą. Skaičiavimuose sugerties tikimybę ir tuo pačiu intensyvumą nusako osciliatoriaus stipris.

Osciliatoriaus stipris  $f$  yra bedimensinis dydis. Teoriškai jis skaičiuojamas kaip

$$f = \frac{2}{3} \Delta E |M(Q_0)|^2, \quad (2.2)$$

kur  $|M(Q)|^2 = M_x^2 + M_y^2 + M_z^2$ . Čia  $M$  yra šuolio dipolinis momentas,  $\Delta E$  – energijų skirtumas tarp elektroninių būsenų. Osciliatorių stipriams yra taikoma Tomo-Reicho-Kuhno (Thomas-Reiche-Kuhn) taisyklė, kuria remiantis osciliatorių stiprių suma yra lygi elektronų skaičiui  $\sum_e f = N_e$ , taigi vienam elektronui bus  $\sum f = 1$ . Paprastai  $f$  vertės valentiniams  $\pi$   $\pi^*$  šuoliams būna tarp 0.01 ir 1.0, o valentiniams  $n\pi^*$ ,  $\sigma$   $\sigma^*$  svyruoja nuo 0.001 iki 0.1. Tuo tarpu Rydbergo (Rydberg) šuoliams jis yra tarp 0.0001 ir 0.05.

Grupių teorija gali būti naudojama norint įvertinti, kada šuolio dipoliniai momentai bus lygūs nuliui. Dviejų banginių funkcijų ir dipolinio momento operatoriaus integralas molekulių taškinių grupių simetrijoje privalo turėti visiškai simetrinį įvaizdį norint, kad matricinis elementas būtų nelygus nuliui. Detaliau grupių teorijos simetrijas aptarsime kitame skyrelyje. Grupių teorijos prielaidos svarbios tuo, kad šuoliai tarp tos pačios simetrijos būsenų yra draus-tiniai.

*Ab initio* skaičiavimo procedūra susideda iš eilės atskirų dalių. Pirmiausia reikia rasti optimalius pradinės ir galutinės būsenų geometrinius parametrus. Tam tikslui galim naudotis CASSCF metodu, apskaičiuotas elektroninių būsenų energijas patikslinant CASPT2 metodu. Sprendžiama virpesinė Šredingerio

lygtis ir gaunami elektroninių šuolių momentai, apskaičiuojami virpesiniai oscilatoriaus stipriai ir Bolcmano būsenų pasiskirstymai. Tokia skaičiavimo eiga reikalauja labai didelių kompiuterinių resursų net ir pakankamai mažai (iš kelių dešimčių atomų susidedančiai) molekulei. Šiuo metu šių skaičiavimų algoritmai yra įdiegti skaičiavimo paketuose.

Organinių molekulių elektroninių šuolių skaičiavimams svarbūs du pagrindiniai šuolių tipai. Pirmieji – valentiniai šuoliai. Jiems svarbu pakankamai didelės valentinės bazinės funkcijos. Kita grupė - tai Rydbergo šuoliai, kuriems svarbus difuzinis aprašymas. Pastaruoju atveju reikia pasitelkti specifines difuzinės bazinės funkcijas.

Pagrindiniai *ab initio* metodai yra varianciniai, trikčių teorijos ir varianciniai kartu su trikdžių teorija. Pirmoji problema, su kuria susiduriame, yra ta, jog HF metodas neatsižvelgia į elektronų koreliaciją. Taigi HF banginė funkcija ir energija:

$$\Psi_0 = |\chi_1 \chi_2 \cdots \chi_a \chi_b \cdots \chi_N| \quad (2.3)$$

$$E_0 = \frac{\langle \Psi_0 | H | \Psi_0 \rangle}{\langle \Psi_0 | \Psi_0 \rangle} \quad (2.4)$$

Siekiant įvertinti elektronų koreliacijos energiją, reikia nagrinėti skirtumą tarp energijos  $\varepsilon_0$ , gaunamos skaičiuojant pasitelkus pilnutinį konfigūracijų superpozicijos CI metodą:

$$\Phi_0 = C_0 |\Psi_0\rangle + C_S |\Psi_S\rangle + C_D |\Psi_D\rangle + C_T |\Psi_T\rangle + C_Q |\Psi_Q\rangle + \dots \quad (2.5)$$

$$\varepsilon_0 = \frac{\langle \Phi_0 | H | \Phi_0 \rangle}{\langle \Phi_0 | \Phi_0 \rangle} \quad (2.6)$$

Tad elektronų koreliacijos energija  $E_{corr}$  bus lygi

$$E_{corr} = \varepsilon_0 - E_0 \quad (2.7)$$

Modelis, kuriuo, naudojant HF, galėtume skaičiuoti sužadintas būsenas, būtų energijų skirtumas tarp orbitalių energijų, gautų naudojant SCF procedūrą. Tačiau lieka neįskaityta elektronų koreliacija. Sužadintoms būsenoms skaičiuoti naudojamos pataisytos kitos dvi teorijų grupės: vienkonfigūraciniai ir dauge-

lio konfigūracijų metodai, kurie pritaikyti ribotiems kompiuteriniams resursams.

Vienkonfigūraciniai metodai tinka, kai nagrinėjamų darinių sužadintų būsenų geometrija artima pagrindinei būsenai ir nėra išsigimimų. Tokie metodai yra šie: CIS, atsako metodai RPA, CC metodai, tokie kaip EOM-CCSD(T), CC3, SAC-CI.

Daugelio konfigūracijų metodai tinka visokio tipo skaičiavimams, tačiau reikalauja daug kompiuterinių resursų. Šie metodai skirstomi į daugelio konfigūracijų CI, MCSCF, MRCI, MRCISD. Kita grupė daugiakonfigūracinių trikdžių – MR-PT (CASPT2, CASPT3, MPR-MP2...). Taip pat yra daugiakonfigūraciniai CC metodai, pvz. MRCC (MRCCSD, MRCCSD(T)).

Sužadintoms būsenoms klasifikuoti labiausiai paplitusios penkios išraiškos: grupių teorijos, Kašos (Kasha), Mulikeno (Mulliken), Plato (Platt) ir sunumeravimo. Kaša, Mulikeno ir Plato yra tradicinės (istoriškai susiformavusios) būsenų aprašymo formos. Kaša tinkamas neprisotintoms organinėms molekulėms. Plato skirtas acenamams ir žemai esančioms sužadinimo būsenoms. Mulikeno skirtas polienams ir angliavandeniliams. Grupių teorija aprašo banginės funkcijos simetriją taškinių grupių simetrijos operacijų požiūriu. Grupių teorijoje Leporte taisyklė teigia, kad elektroniniai šuoliai, neišsaugantys simetrijos ar antisimetrijos inversijos centro atžvilgiu, yra leistini, pvz.  $g(gerade) \rightarrow u(ungerade)$ . Detaliau simetrijų tipus skaičiavimuose aptarsime kitame skyrelyje. Lentelėje 2.1 pateikti grupių teorijos, Kaša, Mulikeno, Plato ir sunumeravimo užrašymo pavyzdžiai.

**Lentelė 2.1** Elektroninių būsenų užrašymo būdai

Grupių teorija	Kaša	Mulikenas	Plato	Sunumeravimo
$1^1A_g$	-	N	-	S <sub>0</sub>
$1^1B_u$	$^1(\pi\pi^*)$	V <sub>1</sub>	$^1L_a, ^1B_b$	S <sub>1</sub>
$2^1A_u$	$^1(n\pi^*)$	W	-	S <sub>2</sub>
$2^3B_g$	$^1(n\pi^*)$	T	-	T <sub>2</sub>



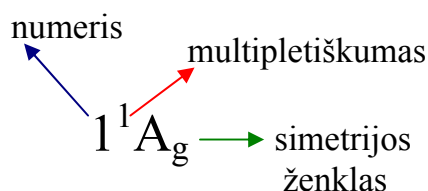
### 2.1.4 Simetrijos

Atominės orbitalės  $\varphi$  yra vaizduojamos sferinėje koordinatinių sistemoje, kurioje jos apibūdinamos savo radialiaja dalimi  $R_{nl}(r)$  kampine dalimi  $Y_{lm}(\phi, \theta)$ , energija (tikrinė Šredingerio lygties vertė) ir atitinkamais kvantiniais skaičiais:

$$\varphi_{XYZ} = \varphi_{rad}(r)\varphi_{kampinė}(\phi, \theta) = R_{nl}(r)Y_{lm}(\phi, \theta) \quad (2.8)$$

Bangines funkcijas galime grupuoti pagal jų simetriją.

Remiantis grupių teorija būsenos yra žymimos taip, kaip pavaizduota 2.3 paveiksle: nurodomas numeris, multiplietiškumas (singletas, tripletas, dubletas) ir simetrijos ženklas.



**Pav. 2.3** Būsenos  $1^1A_g$  žymėjimo grupių teorijoje pavyzdys.

Taškinė simetrijos grupė parodo kokiamis simetrijos savybėmis pasižymi tiriama sistema.  $C_1$  simetrijos grupė žymi situaciją, kai nėra jokios simetrijos,  $C_s$  – tik atspindžio plokštumoje simetrija. Darbe mus domins  $C_{2h}$  simetrijos struktūros. Šios simetrijos operacijos ir jos neredikuotinių įvaizdžių charakteriai pateikti 2.2 lentelėje.  $C_{2h}$  simetrijos būsenos dar žymimos indeksais  $g$  ir  $u$ , kuriais pažymima būsenos simetrija inversijos simetrijos operacijos atžvilgiu. A ir B rodo būsenos simetriją  $C_2^z$  operacijos atžvilgiu.

**Lentelė 2.2**  $C_{2h}$  taškinės grupės simetrijos operacijos ir neredikuotinių įvaizdžių charakteriai.

$C_{2h}$	$E$	$C_2^z$	$\sigma_h$	$i$	
$A_g$	+1	+1	+1	+1	$R_z, \alpha_{xx}, \alpha_{yy}, \alpha_{zz}, \alpha_{xy}$
$A_u$	+1	+1	-1	-1	$z$
$B_g$	+1	-1	-1	+1	$R_x, R_y, \alpha_{xz}, \alpha_{yz}$
$B_u$	+1	-1	+1	-1	$x, y$

Darbe nagrinėjamos struktūros, kurios turi polieninių grandinėlių prigimtinės savybės, kylančias iš  $C_{2h}$  simetrijos bei papildomą alternavimo simetriją. Polienų grandinėlės formulė yra  $C_{2n}H_{2n+2}$ , joje yra  $2n$   $\pi$ -elektronų. Pagrindinė būseną yra  $A_g$  simetrijos. Iš pagrindinės būsenos HOMO orbitalės šuolis į artimiausią laisvą LUMO orbitalę yra leistinas, kai pastaroji yra  $B_u$  simetrijos.  $A_g$  būseną yra dvejopos prigimties: kai būsenos funkcijoje didelį svorį turi du kartus atžvilgiu pagrindinės būsenos sužadintos konfigūracijos (pvz.  $(HOMO)^2 \rightarrow (LUMO)^2$ ) arba kai būsenos funkcijoje didelį svorį turi vienkartinio sužadavimo konfigūracijos (pvz.  $(HOMO) \rightarrow (LUMO)$ ). Ši simetrija pirmą kartą buvo panaudota teoriškai aprašyti polienų grandinėlių elektroninę sandarą VR teorijos pagalba, naudojant pusempirį PPP, Q-CI ir MRD-CI metodus [87]. Ši simetrija vadinama „alternavimo simetrija“ ir žymima „+“ ir „-“ ženklais. Simetrijos būsenai „-“ ypač svarbi elektronų koreliacija (ši sužadinta būseną yra dvielektroninės prigimties). „-“ ženklu pažymėtos sužadintos būsenos laikomos kovalentinėmis, o „+“ – joninėmis. Didžiausią indėlį turinčioms vienkartinio sužadavimo būsenoms elektronų koreliacija svarbi tik tiek, kiek ji įskaitoma pagrindinėje būsenoje. Šių būsenų simetrija žymima „+“ ženklu, o pagrindinė būseną žymima „-“ [87]. Polienuose pirmasis šuolis iš  $1^1A_g^-$  į  $2^1A_g^-$  yra optiškai draustinis. Antrasis, leistinas šuolis, yra iš  $1^1A_g^-$  į  $1^1B_u^+$ .

### 2.1.5 Tankio funkcionalas (DFT)

Kitas Šredingerio lygties sprendimo būdas remiasi tankio funkcionalo artiniu. Tankio funkcionalo teorija (DFT) sukurta pakankamai neseniai, ji iš esmės išplėtė kvantmechaninių skaičiavimų galimybes [88]. Šiuo metu DFT yra galingas įrankis, leidžiantis gauti rezultatus, artimus eksperimentiniams. Daug didesnis už daugiakonfigūracinį metodą skaičiavimo greitis leidžia tirti molekulių sudarytų iš šimtų atomų spektrus, reakcijų kelius. Tačiau DFT metodas turi ir trūkumų. Ši teorija nepakankamai įvertina pereinamųjų būsenų barjerus, taip pat turi kitus apribojimus, priklausančius nuo pasirinktų parametrų ir skaičiavimo artinių.

Tankio funkcionalo metodo pagrindas - dvi Hohenbergo (Hohenberg) ir Kohno (Kohn) teoremos [89]. Tiriamos sistemos pilnutinė energija nagrinėjama kaip elektronų tankio funkcija. Kadangi elektronų tankio pasiskirstymo funkcija priklauso tik nuo trijų koordinačių, DFT skaičiavimo greitis yra artimas HF metodo skaičiavimo greičiui.

Hohenbergas ir Kohnas įrodė, kad elektronų indėlis į pilnutinę sistemos energiją priklauso nuo tiriamos sistemos elektronų tankio pasiskirstymo funkcijos

$$\rho(r) = \sum_{\gamma=\alpha}^{\beta} \rho^{\gamma}(r) = \sum_{i \in \alpha} \psi_i^2(r) + \sum_{i \in \beta} \psi_i^2(r) \quad (2.9)$$

čia  $\alpha$  ir  $\beta$  yra dvi galimos sukinio būsenos. Gaunama energijos išraiška yra tokia:

$$E_V[\rho] = F_{HK} + \int \rho(r)V(r)dr \quad (2.10)$$

čia  $F_{HK}$  - universalus pasiskirstymo funkcionalas. Pirmoji Hohenbergo ir Kohno teorema sako, kad daugelio elektronų sistemos pagrindinės elektroninės būsenos savybės yra elektronų tankio, kuris priklauso tik nuo trijų erdvinėjų koordinačių, funkcija. Tokiu būdu, naudojant elektronų tankio funkcionalą, vietoje  $3N$  kintamųjų uždavinio  $N$  dalelių sistemoje, gauname sistemą, charakterizuojamą tik 3 erdvinėmis koordinatėmis. Kita Hohenbergo ir Kohno teorema nusako sistemos energijos funkcionalą ir teigia, kad teisingas pagrindinės būsenos elektronų tankis mažina energijos funkcionalą.

DFT teorijoje sąveika tarp kūnų yra aprašoma kaip veikimo potencialas, kuriame įskaityti *elektronų-elektronų* sąveikos nariai. Viendalelė Kohno ir Šamo (KS) tikrinių verčių lygtis, leidžiančius gauti tikslūs DFT sprendinius atrodo taip [90,91]:

$$H_{KS}^{\gamma} \phi_{i\sigma}(r_1) = \left( -\frac{1}{2} \Delta + \sum_A \frac{Z_A}{|R_A - r_1|} + \int \frac{\rho^{\gamma}(r_2)}{|r_1 - r_2|} + V_{xc}(r) \right) \phi_{i\sigma}(r_1) = \epsilon_{i\sigma} \phi_{i\sigma}(r_1) \quad (2.11)$$

Pirmasis narys KS hamiltoniane aprašo  $N$  nesąveikaujančių elektronų kinetinę energiją. Antrasis ir trečiasis nariai – klasikinę kuloninę sąveiką tarp elektronų ir branduolių bei tarpelektronę sąveiką. Paskutinysis narys žymimas kaip

$V_{xc}$  yra pakaitinis koreliacijos potencialas. Jame atsispindi visos neklasikinės pakaitinės ir koreliacinės sąveikos.  $V_{xc}$  gaunamas iš pakaitinės koreliacijos energijos ( $E_{xc}$ ). KS lygtys apibrėžia pseudo tikrines vertes, todėl skaičiavimai gali būti atliekami taip pat kaip HF teorijos schemoje (naudojant SCF procedūrą). Tačiau KS ir HF sprendiniai yra skirtingi ir fizikine prasme negali būti sulyginami. KS orbitalės neturi fizikinės prasmės. Jos nėra tinkamos sužadintoms būsenoms skaičiuoti. Sužadintas būsenas galima skaičiuoti remiantis nuo laiko priklausančia DFT teorija (TD-DFT teorija). DFT skaičiavimuose naudojamas pakaitinis koreliacijos potencialas  $V_{xc}$  nėra tiksliai žinomas, todėl yra kuriami artitutiniai funkcionalai.

Pirmieji funkcionalai buvo pagrįsti elektroninių dujų modeliu [92], bet toks aprašymas nėra pakankamai tikslus. Per paskutinius dešimtmečius buvo sukurti funkcionalai, aprašantys visus cheminius elementus bei sudėtingas molekules [93-97]. DFT rezultatai stipriai priklauso nuo funkcionalo pasirinkimo, todėl skirtinguose modeliuose taikomi skirtingi funkcionalai. Šiuo metu molekulių skaičiavimuose naudojamos dvi funkcionalų klasės. Tai gradientiškai pataisyti funkcionalai [94,96,97], pvz. BLYP [94] bei hibridiniai funkcionalai [94,96], pvz. B3LYP [94]. Gradientiškai pataisyti funkcionalai formuojami lokalaus tankio artiniu (LDA), tačiau įtraukiant elektrono tankio gradientą. Tuo tarpu hibridiniai funkcionalai, nors taip pat turi gradientines pataisas, tačiau papildomai atsižvelgia į empiriškai adaptuotą tikslią HF pakaitą. Skaičiuojant, pasitelkus tiek gradientiškai pataisytus, tiek hibridinius funkcionalus, gaunami pakankamai geri rezultatai [98,99].

DFT skaičiavimams reikalingas  $E_{xc}$  potencialas. Pats paprasčiausias artinys tai LDA. Jis pagrįstas elektronų dujų modeliu arba dar vadinamas Tomo-Fermi modeliu. Naudojant tokį artinį tikrasis tankio funkcionalas yra

$$E_{xc}^{LDA} = \int \rho(r) \epsilon_{xc}[\rho(r)] dr, \quad (2.12)$$

kur  $\epsilon_{xc}$  atitinka  $E_{xc}$  vienai dalelei. Galima parodyti [100], kad pakaitinis indėlis yra

$$E_X^{LDA} = -C_X \int \rho(r)^{\frac{4}{3}} dr, \quad (2.13)$$

čia koreliacijos nariai yra gaunami iš Monte Karlo skaičiavimų [101]. LDA gerai aprašo molekulinis ryšius, tačiau duoda blogas energijas. Pakaitinės energijos yra pervertinamos iki 10%, o koreliacinės energijos net apie du kartus. Šios klaidos yra susijusios su tuo, kad artinys aprašo elektronus kaip vieningas elektronų dujas, kas iš esmės yra labai grubus artinys.

Patobulintas artinys atsižvelgia į nelokalias pataisas. Jomis yra pataisomas LDA artinys, įtraukiant gradientinį elektronų krūvį ( $\nabla\rho(r)$ ):

$$E_{XC}[\rho] = \int \rho \in_{XC}(\rho) dr \cdot F(\rho, \nabla\rho) \quad (2.14)$$

Nemažai tokių funkcionalų sukūrė Beke pradėdamas 1983 metais [102-104], tokius kaip BP, BLYP ir BPW.

Beke išvystė naują funkcionalų klasę – hibridinius funkcionalus, kurie leidžia tiksliau gauti koreliacijos energiją. Prie „blogo“ DFT funkcionalo buvo pridėta „tiksliai“ HF pakaitinė dalis. Hibridiniai funkcionalai yra kombinacija gradientiškai pataisytų DFT funkcionalų su HF pakaitine dalimi, o kiekvieno jų svoriai parinkti pusempiriskai, t.y. naudojant eksperimentų rezultatus. Pats populiariausias funkcionalas yra trijų parametrų *Becke* funkcionalas, kuriame yra ir nelokalios pataisos:

$$E_{XC} = 0,2E_X^{HF} + 0,8E_X^{LDA} + 0,72E_X^B + 1,0E_C^{LDA} + 0,81E_C^{NL} \quad (2.15)$$

kur B – tai Beke pakaitinis gradientas, NL – bendra nelokali koreliacinė pataisa. Funkcionalas paparsatai žymimas kaip B3LYP.

DFT metodai duoda gerus rezultatus, optimizuojant molekulių geometrijos parametrus. Tačiau jie nėra tinkami, jei struktūros savybės yra labai jautrios elektronų koreliacijai. Skaičiuojant atomų energijas, skirtingi funkcionalai skaičiuoja skirtingais greičiais ir žinoma skirtingu tikslumu. Štai BLYP funkcionalo vidutinė paklaida yra 7,09 kcal/mol, o tuo tarpu B3LYP funkcionalo tikslumas siekia 3,11 kcal/mol [105].

Sužadintoms būsenoms DFT metodas tiesiogiai skaičiuoti nėra tinkamas, tačiau ši problema išspręsta, naudojant nestacionarią tankio funkcionalo teoriją (TD-DFT). TD-DFT teorija yra DFT papildyta nuo laiko priklausančiu iš-

oriniu potencialu. Jeigu molekulės yra pastoviam išoriniame elektriniame lauke  $E$ , kuris kinta kaip

$$E = r \cos(\omega t) , \quad (2.16)$$

kur  $r$  – amplitudė,  $t$  – laikas, o  $\omega$  – ciklinis kitimo dažnis. Nuo dažnio priklausantis poliarizuojamumas gali būti aproksimuotas šitaip:

$$\langle \alpha \rangle_{\omega} = \sum_{i \neq 0}^{\text{būsenos}} \frac{|\langle \Psi_0 | \mathbf{r} | \Psi_i \rangle|^2}{\omega - (E_i - E_0)} , \quad (2.17)$$

kur skaitiklyje yra vadinamas šuolio dipolinio momento kvadratas, o vardiklyje yra dažnis ir sužadintos bei pagrindinės būsenos energijos

Nestacionarioji tankio funkcionalo teorija remiasi Rungės (E. Runge) ir Groso (E. K. U. Gross) teorema, teigiančia, jog elektronų tankiai  $\rho(r, t)$  ir  $\rho'(r, t)$ , susiformuojantys iš tos pačios pradinės būsenos, veikiant išoriniams potencialams  $v_{\text{išorinis}}(r, t)$  ir  $v'_{\text{išorinis}}(r, t)$ , yra skirtingi, jeigu šie potencialai skiriasi daugiau nei tam tikra nuo laiko (bet ne nuo koordinatų) priklausančia funkcija. Potencialai, kurie skiriasi tik laikine funkcija  $c(t)$ , duoda bangines funkcijas, kurios skiriasi tik faziniu daugikliu  $e^{-ic(t)}$ , todėl jie atitinka tuos pačius elektronų tankius [106]. Unikalus išorinis potencialas  $v_{\text{išorinis}}(r, t)$  viena-reikšmiai apsprendžia elektronų tankį  $\rho(r, t)$ .

TD-DFT labiausiai tinka skaičiuoti žemiausias sužadintas būsenas. Buvo parodyta, kad TD-DFT skaičiavimus galima laikyti pakankamai tinkamais, kai sužadinimo energija yra mažesnė už molekulės jonizacijos potencialą [107]. Visgi tai nėra taikytina orbitalėms, turinčioms teigiamas KS tikrines vertes. TD-DFT metodas, naudojant B3LYP funkcionalą, duoda pakankamai gerus rezultatus ir skaičiavimų paklaida siekia apie 0,21 – 0,26 eV [108].

### 2.1.6 Bazinių funkcijų rinkiniai

Šredingerio lygties sprendinys – banginė funkcija. Banginė funkcija yra sudaroma iš molekulinų orbitalių, kurios yra konstruojamos kaip tiesinės bazinių funkcijų (atominių orbitalių) kombinacijos. Dažnai yra naudojamos Gauso tipo atominės orbitalės (jų radialiosios dalys yra proporcingos  $e^{-r^2}$ ). Bazinės

funkcijos turi būti parinktos taip, kad būtų pakankamai gerai aprašomas elektronų pasiskirstymas atomuose ir molekulėse. Visgi, Gauso funkcijos neteisingai aprašo elektronų tankio pasiskirstymą arti ir dideliais atstumais nuo branduolių, todėl atominių orbitalių radialiosiose dalyse dažnai naudojamos Gausinių funkcijų tiesinės kombinacijos. Antra vertus, didinant bazinių funkcijų skaičių, didėja kompiuterinių resursų poreikis. Paprastai valentiniams elektronams charakterizuoti parenkamas didesnis kiekis bazinių funkcijų, o elektronams, esantiems vidinėse orbitalėse, mažesnis kiekis. Pačios bazinės funkcijos klasifikuojamos į minimalias, padalinto valentingumo ir plokščiosios bangos. Plokščiosios bangos bazinė funkcijos dažnai naudojamos molekulių dinamikoje.

Minimalios bazinės funkcijos užrašomos kaip STO-3G, STO-4G ir pan. Jų radialiosios dalys suformuotos iš 3, 4 ir t.t. Gauso funkcijų. Visgi, naudojant šias bazines funkcijas, gaunami nepakankamai tikslūs kvantmechaninių skaičiavimų rezultatai, bet santykinai naudojama naudaug kompiuterinių resursų. Jos naudojamos arba labai didelių sistemų tyrimams, arba preliminariems rezultatams gauti.

Kita bazinių funkcijų grupė – padalinto valentingumo bazinės funkcijos. Valentiniams elektronams aprašyti, naudojamos kelios bazinės funkcijos su skirtingomis radialiosiomis dalimis. Šias funkcijas naudojome savo skaičiavimuose.

Siekiant suformuoti norimo tipo funkcijos išraišką, programose šios funkcijos yra žymimos standartiniais žymėjimais. Plačiai naudojamos dviejų tipų užrašymas: Pople bazinės funkcijos ir bazinės funkcijos pritaikytos skaičiuoti elektronų koreliacijas.

Uždaviniuose, kur svarbi elektronų koreliacija, naudojamos specialios bazinės funkcijos ir žymimos raidėmis „cc-p“ (angl. correlation-consistent polarized).

Pople bazinės funkcijos užrašomos X-YZG forma, kur X reiškia Gausinių funkcijų skaičių, vidinių sluoksnių radialiosiose dalyse, o Y ir Z yra gausinių funkcijų skaičius valentinėse orbitalėse. G pažymi, kad tai Gauso funkcijos.

Polarizacinės funkcijos reiškia, kad bazinių funkcijų rinkinys papildomas atominėmis orbitalėmis, kurių orbitinis kvantinis skaičius yra didesnis už valentinių atomo elektronų. Šios funkcijos žymimos su žvaigždutėmis, tad 6-31G\* atitinka 6-31G(d), o 6-31G\*\* – 6-31G(d,p). Difuzinės funkcijos (su labai mažais Gauso funkcijų laipsnio rodiklių koeficientais) žymimos pliuso ženklu, kurios rašomos prieš G raidę. Vienas pliuso ženklas reiškia, kad difuzinėmis funkcijomis papildomi visi atomai, išskyrus vandenilius. Tuo tarpu antras pliusas, skirtas pažymėti, kad difuzinėmis funkcijomis papildomi ir vandenilio atomai.

### 2.1.7 Pusempiriai metodai

Dvielektroniniams integralams skaičiuoti reikalinga labai daug kompiuterinių resursų. Ši problema apeinama pusempiriuose skaičiavimo metoduose. Kai kurie integralai atmetami kaip nereikšmingi, o kiti aproksimuojami empirinėmis formulėmis. Priklausomai nuo naudojamų supaprastinimų turime įvairius pusempirius metodus: Hiukelio (Hückel), PPP ir NDO, ...

Hiukelio pusempirinis metodas įskaito tik  $\pi$  elektronus.

PPP (*Pariser-Parr-Pole*) metodas sukurtas konjuguotoms sistemoms su  $\pi$  elektronais skaičiuoti. Banginė funkcija formuojama kaip Sleiterio determinantas su  $\pi$ -elektronų sukintinėmis orbitalėmis. Tada vykdomi *ab initio* skaičiavimai kaip HF teorijoje. Aproksimacija papildyta  $\sigma$ - $\pi$  padalinimu. Sanklotos integralai yra lygus  $S_{ij} = \delta_{ij}$ , taikoma nulinio persiklojimo aproksimacija  $(ab|cd) = \delta_{ab}\delta_{cd}(aa|cc)$ , t.y. tricentriniai ir keturiacentriniai integralai yra atmetami. Visi kiti integralai skaičiuojami pusempiriskai.  $h_{ij}$  integralas taip pat skaičiuojamas pusempiriskai, ir yra tiesiog lygūs nuliui, jeigu  $i, j$  nėra gretimi, kitaip atvejais taikomos empirinės vertės.

NDO metodai aprašo tik valentinius elektronus. Dalis dvielektroninių integralų, vienelektroniniai integralai su trimis centrais bei dvielektroniniai su trim ir keturiais centrais yra prilyginami nuliui. Visiškai neįskaitomi sanklotos nariai, t.y.  $(ij|lm) = \delta_{ij}\delta_{lm}(ii|ll)$ , net kai  $i$  ir  $j$  yra to paties atomo. Visa kita yra parametrizuojama ir priderinama prie HF skaičiavimų minimalioj bazėj. Toks



metodas yra NDDO. INDO metodas papildomai nepaiso dvicentrių dvielektroninių nekuloninių integralų.

### 2.1.8 Molekulių mechanika

Molekulių mechanikoje (MM) paprastai yra sprendžiamos Niutono lygtys labai didelėms daugiaatomėms sistemoms. Atomų trajektorijos yra aprašomos pasitelkus antrąjį Niutono dėsnį. MM metodo pagalba galima charakterizuoti dinamines sistemos savybes arba nustatyti pusiausvyrosios būsenos statistinius parametrus. Metodo idėja remiasi modeliu, kuriame atomai laikomi standžiais rutuliukais, o erdvė suskirstoma į logines dėžes [109]. Šiuo metodu skaičiuojami atomų padėčių kitimai laike, nustatomi jų susidūrimo atvejai bei perskaičiuojamos susidūrusių atomų (kaip klasikinių rutuliukų) koordinatės, greičiai ir energijos. Apskaičiavus energijas gaunamos jėgos ir iš judėjimo lygčių nustatomos naujos atomų padėtys. Pagrindiniai parametrai – tai laikas, temperatūra, slėgis ir tankis. Taip pat aišku, kad pusiausvyra turi būti nepriklausoma nuo pradinių sąlygų. Šiuose skaičiavimuose greitis kiekvienu laiko momentu yra susietas su temperatūra.

Dviejų sąveikaujančių dalelių artinio atveju gaunama  $N*(N-1)/2$  narių ir lygčių skaičius auga proporcingai  $N^2$ , kur  $N$  yra dalelių skaičius. Sprendimui taikomos įvairios skaičiavimo metodikos. Skaičiuojant reikia atsižvelgti į Vandervalso (J. D. van der Waals) jėgas, kurioms skaičiuoti naudojamas Lenardo-Džounso (Lennard-Jones) potencialas. Žinant jėgas, galima apskaičiuoti atomų padėtis ir greičius. Pastarieji yra nustatomi naudojant Verleto (Verlet) algoritimą. Taigi skaičiavimams reikalingas sistemos aprašymas: nusakyti molekulių judėjimo laisvės laipsnius, pasirinkti laiko žingsnio dydį, o temperatūrą laikyti nekintama.

Atomai molekulėse tarpusavyje yra sujungti cheminiais ryšiais. Molekulių mechanikoje jėgoms veikiančioms tarp atomų aprašyti naudojamas kamuoliukų ir spyruoklių modelis. Modelio parametrai yra parenkami kaip papildomos sąlygos. Jie sudaro taip vadinaus jėgų laukus (FF). Juose yra aprašyti atomų tipai, įvairios konstantos bei funkcijos įtempimams skaičiuoti.

FF modelyje potencinė molekulinė energija yra užrašoma kaip rutuliukų sujungtų spyruoklėmis potencinė energija:

$$E = \sum_{\text{ryšiai}} E_{\text{tempimas}} + \sum_{\text{kampai}} E_{\text{lenkimas}} + \sum_{\text{dvisieniai kampai}} E_{\text{sukimas}} + \sum_{\text{poros}} E_{\text{nesurišti}} \quad (2.25)$$

Cheminės jungties tempimo energija  $E_{\text{tempimas}}$  paprastai skaičiuojama, apsiribojant harmoniniu potencialu. Toks potencialas duoda gerus rezultatus tik esant atomams arti pusiausvyros padėtis. Cheminių jungčių susidarymas ir nutraukimas šiame artėjime nėra nagrinėjamas. Kitas MM parametras yra valentinių kampų kitimą apibūdinanti energija  $E_{\text{lenkimas}}$ . Dvisienių kampų kitimą aprašo  $E_{\text{sukimas}}$ . Likusioji dalis – chemiškai nesujungtų atomų Vandervalso ir kuloniškos sąveikos energija  $E_{\text{nesurišti}}$ . FF modelyje gali būti papildyti išraiškomis specifiniams vandeniliniams ryšiams apibūdinti.

Reikalingi FF parametrai, paprastai paimami iš eksperimentinių duomenų arba iš tikslių QM skaičiavimų, optimizuojant molekulių energijas, arba iš klasikinės fizikos skaičiavimų (pvz. iš molekulių dinamikos (MD)).

Šiuo metu populiariausi FF yra: MM2, MM3, MMX, MM2\*, MM3\*, CFF, CVFF, CHARMM, GROMOS, AMBER, UFF, MMFF. Kiekvienas iš FF turi skirtingą molekulinės sistemos aprašymą, bei skirtingus atomų ir jų grupių parametrus, t.y. jie yra specializuoti tam tikros klasės uždaviniams. MM2 suformuotas iš dipolių elektrostatikos ir dalinių  $\pi$ -ryšių. MM3 yra MM2 su papildymais, tokiais kaip atomų vibracijos. MMX – PCModel programoje patobulintas MM2 modelis. MM2\* ir MM3\* – MacroModel pakete papildytas MM2. CHARMM jėgų laukas yra orientuotas į biologines struktūras, tad jame yra biologinių struktūrų FF. Panašūs yra GROMOS ir AMBER jėgų laukai. AMBER pakete papildomai atsižvelgiama į elektrostatinę sąveiką, gautas iš kvantinės mechanikos HF skaičiavimų. FF parametrų ir modelių yra daug ir kiekvienas jų yra tinkamas skirtingiems MM uždaviniams spręsti.

### 2.1.9 Aplinkos įskaitymas

Tyrinėjant labai dideles sistemas, *ab initio* ar DFT metodai reikalauja didelių kompiuterinių pajėgumų, kurie tampa nepakankami net naudojant su-

perkompiuterius ar klasterius. Dažnai mus domina nedidelė modelinės sistemos dalis, kurios aplinką užtenka charakterizuoti panaudojant supaprastintus modelius. Tokiu būdu atsiranda galimybė sumodeliuoti aplinkos poveikį tiriamai sričiai bei, pasitelkus MD metodus, skaičiuoti didelius molekulinis darinius.

Kompleksiniai QM/MM metodai [110] apjungia kvantinės mechanikos ir molekulių mechanikos modelius. Metoduose svarbu kaip susiejamos QM ir MM skaičiavimo sritys. Galimi du skaičiavimo būdai: kai skirtingos sritys yra kovalentiškai susijungtos arba kai to nėra. Pastaruoju atveju į QM skaičiavimą paprasčiausiai yra įtraukiami parametrai apibūdinantys vandervalines jėgas. Jeigu QM ir MM sritys yra kovalentiškai sujungtos, skaičiavimo algoritmai tampa sudėtingesni. Šiuo atveju reikia papildomai aprašyti šias sritis jungiančius cheminius ryšius. QM/MM metodai yra plačiai naudojami aprašant reakcijas baltymuose ar kitose didelių matmenų molekulėse bei molekulių darinių struktūrų analizei.

Aplinkos poveikį taip pat galima įskaityti tiesiog išdėstant fiksuotus erdvėje taškinius elektrinius krūvius apie skaičiuojamą sistemą. Visgi toks QM/MM skaičiavimas skirtas analizuoti tik QM sritį [111].

Modeliuojant tirpiklio įtaką QM/MM metodais, labai stipriai išauga kompiuterinių resursų poreikis, todėl buvo išvystyti tirpiklio tolydinės aplinkos modeliai. Šie modeliai QM skaičiavimuose naudoja suderintinio reakcijos lauko metodo procedūros (SCRF) artitutinumą [112,113]. SCRF metodai gali būti naudojami  $pK_a$  (priklausomybei nuo pH) analizei [114]. Pagal modeliavimo pobūdį galima išskirti du skaičiavimo būdus. Pirmas būdas, kai tiriamą sistemą ir aplinką (tirpalas ir tirpiklis) yra analizuojami tame pačiame skaičiavimo modelyje. Kitas modeliavimo pobūdis, kai tiriamoji sistema modeliuojama pasirinktu QM metodu, o tirpiklis – paprastesniu, skaitmeniniu požiūriu, metodu. Pastarasis į skaičiavimus įtrauktas kaip tolydinė aplinka, t.y. tirpalui tirpiklis daro įtaką kaip dielektrikas. Taigi tolydinės aplinkos poveikis charakterizuojamas ir aprašomas dielektrinėmis charakteristikomis. Pastarasis tirpiklio tolydinės aplinkos modelis vadinamas poliarizuojamos aplinkos modeliu arba

PCM. Tirpiklio tolydinės aplinkos modeliuose įsikaitomi papildomi operatoriai, aprašantys molekulinę tirpalo ir tirpiklio sistemą, kurie naudojami efektyviame Hamiltonjane [115-118].

Kitas aplinkos įskaitymo būdas – ONIOM metodas. Jame molekulės turi būti sugrupuotos į du arba tris lygmenis. Kiekvienam lygmeniui būtina parinkti tokius QM arba MM skaičiavimo metodus, kurių tikslumo užtenka modeliuojamai molekulių sistemai [119-125]. ONIOM metode paprastai įskaitomas elektrinio lauko poveikis QM ir MM sritims bei galima QM banginės funkcijos poliarizacija. Kai QM ir MM sritys (t.y. skirtingi ONIOM lygmenys) yra susieti cheminiu ryšiu, pastarasis yra nutraukiamas ir sudaromas naujas su pasirinktu atomu (pvz. vandeniliu), kuris dalinai atspindi nutrauktąjį ryšį. Visgi, skirtinguose programiniuose paketuose ONIOM modelio lygmenų įtaka tarpusavyje yra skirtingai realizuota.

### 2.1.10 Pernaša dimeruose

Eksitonai dimeruose aprašo sužadinius, kur jie yra koherentiškai delokalizuoti per abi dimero molekules. Dėl tos priežasties molekuliniai sužadiniai suskyla. Nesigilindami į eksitonų teorijos detales, čia trumpai aptarsime šios teorijos pagrindinius bruožus [126].

Tarp dviejų molekulių  $m$  ir  $n$  sužadavimo delokalizacijos stipris yra apibūdinamas pernašos integralu:

$$W_{mn} = J_{mn} - K_{mn} \quad (2.29)$$

kuris turi dvi dedamąsias: tiesioginę kuloninę sąveiką  $J_{mn}$  ir pakaitinę sąveiką  $K_{mn}$  [127,128]. Didinant tarpmolekulinį atstumą pakaitinė sąveika mažėja eksponentiškai, tad  $W_{mn}$  indėlio dažnai galima nepaisyti. Eksitoninis suskilimas iš esmės yra rezonansinės prigimties ir todėl dimero, sudaryto iš dviejų monomerų, sužadavimo energijos yra lygios:

$$E_{\pm} = \frac{(\varepsilon_m - \varepsilon_n)}{2} \pm \frac{\sqrt{(\varepsilon_m - \varepsilon_n)^2 + 4|J_{mn}|^2}}{2}, \quad (2.30)$$

kur  $\varepsilon_m$  ir  $\varepsilon_n$  apibūdina monomerų sužadavimo energijas. Tuo atveju, kai monomerai yra identiški (homodimerai),  $\varepsilon_m = \varepsilon_n = \varepsilon$ , ir iš lygties (2.30) plaukia, jog:

$$E_{\pm} = \varepsilon \pm J_{mn}. \quad (2.31)$$

Toks būsenų suskilimas yra analogiškas taip vadinamam Davydovo suskilimui, stebimam molekulinuose kristaluose [126]. Eksitoninių būsenų banginės funkcijos, nagrinėjant tarpmonomerines sąveikas kaip perturbaciją, gali būti išreikštos kaip simetrinė ir antisimetrinė monomerų banginių funkcijų superpozicija:

$$|S_{\pm}\rangle = \frac{1}{\sqrt{2}}(S|_m \pm S|_n). \quad (2.32)$$

Kadangi  $S_+$  ir  $S_-$  būsenos atspindi skirtingai sufazuotas monomerines funkcijas, jos atspindi ir skirtingas dimero optines savybes, kurios priklauso nuo monomerų tarpusavio geometrijos. Geometrijos įvairovė nusako ne tik rezonansinės sąveikos  $J_{mn}$  dydį, bet gali keisti ir jo ženklą [126]. Dėl tos priežasties santykiniai šuolių intensyvumai į abi eksitonines būsenas taip pat gali iš esmės skirtis, o atskirais atvejais tik vienas iš eksitoninių šuolių yra leistinas. Tai atitinka atvejus taip vadinamo J-agregato arba H-agregato geometrijos. J-agregato atveju  $J_{mn} < 0$  ir  $S_-$  būseną, atitinkanti aukštesnės energijos eksitono šuoliui, yra draustina, o visas osciliatoriaus stipris lieka sukonzentruotas optiniame šuolyje į žemesnės energijos  $S_+$  būseną. H-agregato atveju  $J_{mn} > 0$  ir optiškai draustina  $S_-$  būseną yra žemiau leistinos  $S_+$  eksitoninės būsenos.

Pernašos integralas  $J_{mn}$  turi būti lyginamas su eksitono koherentiškumo defazavimo energija,  $\gamma_{mn}$ . Pastaroji atspindi eksitono sąveiką su tarpmolekulne aplinka [129,130]. Jeigu  $J_{mn} \gg \gamma_{mn}$ , tai koherentinio eksitono aprašymas gerai atspindi kiek spektroskopinius dimero ypatumus, tiek ir sužadavimo dinamiką dimere, kuri yra koherentinė. Jeigu  $J_{mn} \ll \gamma_{mn}$ , tai tipiškai eksitonų sklaida aplikos svyravimais yra greita ir dvi molekulės nebėra koherentiškai susietos. Tokiame nekoherentiniame režime sužadavimo pernašos tarp dviejų molekulių yra negrįžtamas procesas ir vadinamas Fiorsterio (Förster) pernaša [131].

## 2.2 Programiniai paketai

Kvantinės mechanikos ir molekulių mechanikos uždaviniai sprendžiami naudojant programinius paketus. Taip pat reikalingi papildomi įrankiai-programos duomenų paruošimui ir apdorojimui. Šiame darbe buvo naudoti šie skaičiavimo paketai: Gaussian 03 [132], NwChem [133], Orca[111], Gamess US [134], Gamess PC [134], Molpro[135], Molcas [136], Amber [137], Mopac[138]. Naudoti sudėtingesni vizualizavimo, analizės ir duomenų paruošimo paketai – VMD, GaussView, Swiss-PdbViewer, MacMoPlt, jMol, WebMo, Matlab ir kt.

### 2.2.1 Skaičiavimo paketai

Vieni populiariausių molekulių skaičiavimo paketų yra Gaussian 03, NwChem, Orca, Gamess US, Gamess PC, Molpro, Molcas, Amber, Mopac. Šios programos turi įvairias tarpusavyje suderintas paprogrames, kurios atlieka skaičiavimus pasirinktame artinyje. Visi skaičiavimo paketai dalinai remiasi tomis pačiomis QM ir MM skaičiavimo teorijomis, bet skiriasi metodų realizacija ir galimybėmis. Kiekviena programa skiriasi kompiuterinių resursų panaudojimu priklausomai nuo to, kaip yra sutvarkytas programinis kodas, kaip paskirstomas darbas tarp procesorių, kaip panaudojama operatyvioji atmintis bei diskinė posistemė.

Gaussian 03 paketas [132] – kompiuterinės chemijos programa. Ją sukūrė Džonas Pouplas (John Pople) ir jo tyrimų grupė *Carnegie-Mellon* universitete 1970 metais. Paketas atlieka MM, QM, QM/MM skaičiavimus. Kvantinės mechanikos skaičiavimai galimi, naudojant *ab initio*, DFT teorijas pagrindinėje ir sužadintose būsenoje. Pakete įdiegti HF, SAC-CI, CAS, Miolerio-Pleseto (Møller-Plesset) trikdžių teorijos (MP2, MP3, MP4, MP5) ir kiti skaičiavimo metodai. MM skaičiavimams naudojami naudojami AMBER, DREIDING ir UFF jėgos laukus. Įdiegti pusempiriai skaičiavimų metodai AM1[139], PM3, CNDO, INDO, MINDO/3, MNDO. QM/MM skaičiavimai galimi naudojant trijų lygmenų ONIOM metodą. Bendros atminties superkompiuteryje programa

panaudoja visus įmanomus procesorius ir atmintį, tačiau klasterinėse sistemose naudojama *Linda* technologija resursus panaudoja ne taip efektyviai.

NwChem 5.1.1[133] kompiuterinės chemijos paketas sukurtas Ramiojo vandenyno šiaurės vakarų nacionalinėje laboratorijoje (Pacific Northwest National Laboratory). Jis pritaikytas įprastiems klasteriams bei galingiems superkompiuteriams, turintiems lygiagrečių skaičiavimų galimybes. Programa gali atlikti skaičiavimus, vartotojui pačiam nusprendžiant kokių prioritetu ar metodu turi būti išnaudojami kompiuteriniai resursai. Pavyzdžiui, galima globalių masyvų įrankių komplektą naudoti vietoje diskų masyvo, tokiu būdu keliomis eilėmis padidinat kompiuterinių skaičiavimų spartą. Pagrindinis paketo minusas – jis prastai aprašytas ir nemažai skaičiuojamų teorijų išskvietimo komandas galima rasti tik programiniame kode. Visgi, NwChem paketas palaiko dauguma QM ir MM teorijų. Jame įdiegta Tamo-Dankofo aproksimacija. Palaiko DFT ir TD teorijas. Skaičiuoja patikslintosiomis teorijomis. Gali atlikti MM ir MD, tačiau jame nėra įdiegta pusempirinių metodų.

ORCA [111] yra *ab initio*, tankio funkcionalo ir pusempirinių teorijų skaičiavimo paketas, sukurtas Bonos universitete. QM/MM skaičiavimai gali būti atliekami, kai MM regiono atomai įskaitomi kaip taškiniai krūviai. Visgi, ne visi QM/MM metodai yra įdiegti. Efektyviausiai skaičiuoja su 8 procesoriais, kas stipriai apriboja skaičiuojamo uždavinio dydį.

Gamess UK ir Gamess PC – kompiuterinės chemijos paketas [134] skirtas *ab initio* ir DFT kvantmechaniniams skaičiavimams. Paketas pritaikytas skaičiavimams klasteriuose. Šie paketai turi dalį VR teorijų skaičiavimo metodų.

Pagrindiniai Molpro [135] paketo kūrėjai P. Knovlesas iš Kardifo universiteto, H.J. Verneris iš Stutgarto universiteto bendradarbiaujantys kartu su kitais autoriais. Tai *ab initio* paketas, kuris turi dar papildomai ir DFT teoriją. Jis skirtas daugiau *ab initio* teorijų skaičiavimams. Jame įdiegti metodai su susiję su VR teorijomis.

Molcas [136] buvo išvystytas kartu su įvairiais bendraautoriais Lundo universitete. *Ab initio* paketas, skirtas išskirtinai sužadintų būsenų potencialams paviršiams skaičiuoti.

Mopac [138] – tai pusempirinių skaičiavimų paketas, palaikantis MINDO, MNDO, AM1, PM3, PM5, Sparkle/AM1, Sparkle/PM3 ir RM1 metodus.

AMBER [137] yra programų rinkinys, skirtas modeliuoti dideles biomolekulines sistemas, naudojant MM teoriją. Jame yra įdiegti MM Amber jėgų laukai, pusempiriniai metodai PM3, AM1, MNDO, PDDG/PM3, PDDG/MNDO, PM3CARB1, DFTB/SCC-DFTB. Galima skaičiuoti QM/MM teorijos lygmenyje. Labiausiai yra pritaikytas molekulių mechanikos (MM) energijos minimizavimo ir molekulių dinamikos (MD) uždaviniams spręsti. Pakete yra jėgų laukai organiniams junginiams, turintiems baltymų ir aminorūgščių dedamasis dalis. Atitinkami parametrai yra apskaičiuoti *ab initio* ir DFT metodais. Vartotojui yra palikta galimybė pačiam apskaičiuoti parametrus norimiems junginiams, o tai tampa svarbu, kai skaičiuojamų struktūrų fragmentų neturi AMBER paketas. Parametrus galima apskaičiuoti tiek naudojant AMBER įrankius, tiek Gaussian 03 paketą.

### 2.2.2 Kompiuteriniai resursai

Atlikti norimus skaičiavimus reikalingi superkompiuteriai bei klasteriai, kuriuose būtų įdiegti programiniai paketai. Skaičiavimams buvo naudoti superkompiuteriai: SGI Altix 450 ir 16 mazgų Intel procesorių klasteris. SGI Altix 450 yra bendros atmintis superkompiuteris su 16 *Itanium* branduolių, 16 GB operatyvios atminties, 1 TB disko talpos skirto skaičiavimų darbinėms byloms. Klasterio sudarytas iš 16 mazgų, kiekvienas mazgas turi po 8 branduolius (Intel(R) Xeon(R) E5335 2.00GHz). Klasterio parametrai: 424 GB operatyvios atminties ir iš viso 128 procesorių branduoliai. Visi kompiuteriniai resursai yra pritaikyti uždaviniams reikalaujantiems didelio našumo.

Kvantinės chemijos skaičiavimo programoms yra imlios procesorių laikui, atminties kiekiui ir įvedimo/išvedimo greičiui. Uždavinių paruošimui reikia išsiaiškinti koks yra kompiuterinis algoritmas ir kaip jis gali prisitaikyti



prie esamų resursų. Vieni algoritmai naudoja I/O diskinės posistemės pagrindu, ypač jeigu atliekami CI ar CC skaičiavimai (pvz. SAC-CI, CASSCF). Kitiems reikalinga didelės atminties prieiga. Štai NwChem [124] paketas gali išskirtinai naudoti viso klasterio atmintį vietoje diskų masyvo. Pastaruoju atveju reikia labai tiksliai apskaičiuoti, ar uždavinys tilps į turimų skaičiavimo mazgų atmintį. Įvairiems uždaviniams reikalingos papildomos procesoriaus, atminties ir I/O analizės. Pavyzdžiui, labai mažos molekulės skaičiavimai naudojant klasterį gali pailgėti dešimtis kartų vien todėl, kad neefektyviai pritaikyti algoritmai. Darbe atliekant skaičiavimus visur buvo gilinamasi į konkrečioje programoje esančių algoritmų galimybes ir ribas.

### 3. Vandeninginių ryšių įtaka

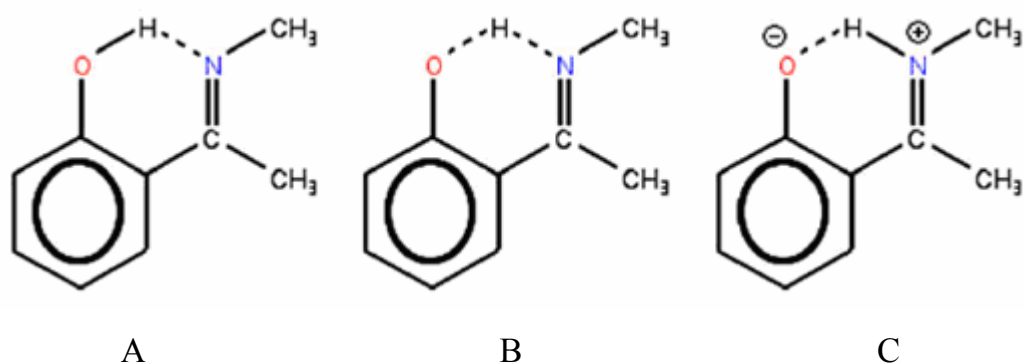
#### 2-(*N*-metil- $\alpha$ -iminoethyl)-fenol molekulei

Vidujmolekulinė ir tarpmolekulinė protonų pernaša yra viena svarbiausių reakcijų, kuri vyksta biologinėse sistemose ir sudėtingose molekulėse. Vidujmolekulinės reakcijos paprastai yra susijusios su molekulių sudedamųjų dalių sukimu ir/ar krūvio persiskirstymu, kylančiu dėl protono pernašos [140]. Tarpmolekulinė protono pernaša paprastai siejama su vandenilių ryšių tinklu. Vandeninginis ryšys svarbus daugelyje skirtingų sistemų [24-26]. Protono pernašos reakcijose protono judėjimo priežastis yra vis dar nelabai aiški [141-143]. Tipiniai dariniai yra analogiški bakteriorodopsino aktyviajame centre, kuris per purpurinę membraną atlieka fotoindukuotą protonų pernašą [10-12]. Panašus protono pernešimas vyksta ir kituose baltymuose, pavyzdžiui, žaliajame fluorescenciniame baltyme [9].

Fotoindukuota protonų pernaša nuo Šifo bazės per vandenilio ryšių tinklą link pradinio protonų akceptorius bakteriorodopsine, naudojantis struktūriniais duomenimis bei IR spektrų tyrimais, jau buvo analizuota kvantincheminiais skaičiavimais [27-29]. Buvo parodyta, kad aplinka ir jos struktūriniai pokyčiai gali būti svarbūs protonovaros prigimčiai, atsirandančiai vandenilių ryšių tinkle.

Norint geriau suprasti protonovaros prigimtį, galima modeliuoti sistemas, paaimant tik dalį struktūros, pvz. Šifo bazę, ir vandens ir/ar įvairių kitų tirpiklių, turinčių galimybę perorganizuoti vandenilinių ryšių tinklą, molekules [142-143]. Tokie tyrimai pagrįsti spektro pokyčių, sietinų su protonų pernaša tyrimu. Protonų pernašos reakcijos buvo neseniai analizuotos, naudojant *ab initio* skaičiavimo metodus, *N*-salicylidene metilamino, formamide, thioformamide, selenoformamide tautomerų ir 5-hydroxyisoxazole molekulėse. HF/6-31G(d,p) artinyje analizuota *N*-salicylidene metilamino modelinė sistema su aplinkoje patalpintomis keliomis metanolio molekulėmis [62]. MP2-MP4/6-31+G(d) artinyje įvertinti energijos barjerai, vandens molekulių įtakotose protonų pernašose formamido, thioformamido ir selenoformamido tautomeruose

[144], B3LYP/6-31G(s,p) artinyje įvertintos tarpinės būsenos tirpiklių sukeltose tarpmolekulinėje protonų pernašoje 5-hydroxyisoxazole [145]. Vis dėl to išsamios studijos apie galimą polinių tirpiklių vaidmenį dar trūksta. Tokios kaip išorėje esančių vandens molekulių, ir galimo išorinio elektrinio lauko poveikis vidujmolekulinei protonų pernašai. Šių rezultatų jautrumas, kvantinės chemijos skaičiavimų metodams, taip pat nėra detaliau nagrinėtas. Čia pateiksime tokios rūšies tyrimus. Daugiausia dėmesio skirsim  $O\cdots H\cdots N$  fragmentui 2-(*N*-metil- $\alpha$ -iminoethyl)-fenol (MIEP) molekulėje, kuri pavaizduota 3.1 pav., ir vandens bei etanolio molekulių galimai įtakai suprasti.



**Pav. 3.1** 2-(*N*-methyl- $\alpha$ -iminoethyl)-phenol molekulės skirtingų struktūrų konfigūracijos: O-H $\cdots$ N (MIEP-OH) struktūra (A), O $\cdots$ H $\cdots$ N (MIEP-OHN) struktūra (B) ir O $\cdots$ H-N (MIEP-NH) struktūra (C).

Aromatiniai Šifo bazės dariniai jau buvo analizuoti pagrindinėje ir sužadintoje būsenose [146-149]. Tuo tarpu čia pristatomi rezultatai demonstruoja galimybę sukelti protono pernašą O $\cdots$ H $\cdots$ N fragmente MIEP molekulėje, priklausomai nuo polinio tirpiklio molekulių, esančių aplinkoje, įtakos.

### 3.1 Skaičiavimo metodai pagrindinei elektroninei būsenai

Skaičiavimai buvo atliekami atskiruose MIEP molekulės potencinės energijos paviršiaus taškuose, atsižvelgiant į aplinkoje esančias vandens molekules. Buvo skaičiuojama kvantinės chemijos metodais, naudojantis kompiuterine programa Gaussian 03 [132]. Visiems skaičiavimams buvo naudotas DFT B3LYP metodas su 6-311G(d,p), 6-311+G(2d,p) ir 6-311++G(2d,p) bazinėmis

funkcijomis. Skaičiuojama buvo trijose potencinės energijos paviršiaus taškuose. Šie taškai atitinka dvi stabilias struktūras, kur protonas yra arčiau deguonies atomo MIEP-OH (3.1 A pav.), arčiau azoto MIEP-NH (3.1 C pav.) arba yra nestabilioje pozicijoje MIEP-OHN, atitinkančioje pereinamąją būseną (3.1 B pav.).

MIEP-OH ir MIEP-NH struktūrų geometrijos buvo optimizuotos atžvilgiu molekulės pilnutinės energijos minimumo. Pereinamosios būsenos MIEP-OHN geometrija buvo surasta kaip pilnos energijos maksimumas, protono reakcijos koordinatės atžvilgiu ir pilnos energijos minimumo kitų koordinatė atžvilgiu.

Pirmasis uždavinys – nustatyti „ekonomiškiausią“ bazinę funkciją, kuri duotų pakankamai gerus rezultatus, atsižvelgiant į struktūrų stabilumą ir atitinkamus energijos barjerus. Lentelėse 3.1 ir 3.2 pateikti atstumų tarp vandenilio ir deguonies, deguonies ir azoto atomų priklausomybė nuo bazinių funkcijų. Aiškiai matyti, kad rezultatai praktiškai nekinta, naudojant B3LYP/6-311+G(2d,p) ir B3LYP/6-311++G(2d,p) skaičiavimo artiniu.

**Lentelė 3.1** O-H atstumo pokyčiai struktūrose po geometrijos optimizacijos su skirtingomis bazinėmis funkcijomis.

Metodas/bazinė funkcija	$R_{O-H}, \text{Å}$		
	MIEP-OH	MIEP-OHN	MIEP-NH
B3LYP/6-31G(d, p)	1,01202	1,2596	1,5115
B3LYP/6-311+G(2d, p)	1,00863	1,27472	1,54709
B3LYP/6-311++G(2d, p)	1,00864	1,27472	1,54709

**Lentelė 3.2** O-N atstumo pokyčiai struktūrose po geometrijos optimizacijos su skirtingomis bazinėmis funkcijomis.

Metodas/bazinė funkcija	$R_{O-N}, \text{Å}$		
	MIEP-OH	MIEP-OHN	MIEP-NH
B3LYP/6-31G(d, p)	2,5419	2,40945	2,49087
B3LYP/6-311+G(2d, p)	2,54944	2,40742	2,50641
B3LYP/6-311++G(2d, p)	2,5495	2,40742	2,50641

MIEP-OH struktūra yra stabiliausia, naudojant visas tris bazines funkcijas. Visgi, energijos barjeras ir energijos, atitinkančios stabilias struktūras, yra labai jautrios naudojamioms bazinėms funkcijoms, o tai galima matyti iš ener-

gijos skirtumų, pateiktų 3.3 lentelėje. Pridedant poliarizacijos d orbitales ant sunkiems atomams ir difuzines funkcijas vandenilio atomams, energijos skirtumai pakinta daugiau nei 50%. Energijų skirtumų pokytis  $\Delta E_A - \Delta E_B$ , priklausantis nuo bazinių funkcijų, rodo skaičiavimo tikslumo jautrumą. Pagal kvantinės chemijos tyrimus, protono tuneliavimas malonaldehido molekulėje, kuri panaši į MIEP, potencinis barjeras ir geometriniai parametrai yra panašūs į stebimus eksperimente [150]. Bazinės funkcijos naudotos [150] yra panašaus lygio kaip ir mūsų tyrimuose – 6-311++G(2d,p). Pagrindinės elektroninės būsenos skaičiavimams naudosime B3LYP metodą ir 6-311++G(2d,p) bazines funkcijas.

**Lentelė 3.3** Su skirtingomis bazinėmis funkcijomis optimizuotų geometrijų struktūrų santykinės pilnutinės energijos (pagal MIEP-OH struktūrą (3.1 pav.)).

Nr	Metodas/ bazinė funkcija	MIEP-OHN		MIEP-NH	
		$\Delta E$ , eV	Energijos skirtumo pokytis, %	$\Delta E$ , eV	Energijos skirtumo pokytis, %
1	B3LYP/6-31G(d, p)	0,72807	-	0,13866	-
2	B3LYP/6-311+G(2d, p)	0,32098	$\Delta E_A - \Delta E_B$ , 56	0,28551	$\Delta E_A - \Delta E_B$ , -106
3	B3LYP/6-311++G(2d, p)	0,15771	$\Delta E_B - \Delta E_C$ , 51	0,12225	$\Delta E_B - \Delta E_C$ , 57

### 3.2 Skaičiavimo metodai sužadintai elektroninei būsenai

Norint išsiaiškinti vandenilnių ryšių tinklo, sukurto vandens molekulių, įtaką fotoindukuotai vidujmolekulinei protono pernašai MIEP molekulės  $O^{\cdots}H^{\cdots}N$  fragmente, buvo atlikti pagrindinės ir sužadintų elektroninių būsenų kvantinės mechanikos skaičiavimai naudojant Gaussian 03 kvantinės chemijos paketą [132]. Kvantinės chemijos skaičiavimams pagrindinei būsenai naudotas standartiniai DFT metodai su pakaitinės koreliacijos funkcionalu B3LYP ir 6-311++G(2d,p) bazinėmis funkcijomis [151]. Geometrijos optimizacija  $S_1$  elektroninei sužadintai būsenai buvo naudotas vienkartinį šuolių CI (RCIS) metodas su 6-31G(d,p), 6-311++G(2d,p) ir 6-311G(2d,2p) bazinėmis funkcijomis. Sužadintos energijos  $S_0-S_1$  ir osciliatorių stipriai fiksuostoms molekulinėms geometrijoms buvo nustatytos, naudojant TDDFT/B3LYP/6-

311++G(2d,p) metodą. Nulinių virpesių pataisa skaičiavimuose nebuvo įskaičiuota.

Dvi galimos konfigūracijos (MIEP-OH ir MIEP-NH, 3.1 A ir C pav.) nustatytos atskirai kaip stabilios konfigūracijos pagrindinei elektroninei būsenai [64]. Suformuoti vandenilinių ryšių tinklą ties O<sup>δ-</sup>H<sup>δ+</sup>N fragmentu MIEP molekulėje reikia nuo 3 iki 5 vandens molekulių, kas plaukia iš pagrindinės elektroninės būsenos analizės [64]. S<sub>1</sub> sužadintoje būsenoje pradinės MIEP-OH ir MIEP-NH struktūrų geometrijos buvo optimizuotos su vandens molekulėmis. Rezultatai buvo gauti, naudojant RCIS metodą su skirtingomis bazinėmis funkcijomis. Apskaičiuoti atstumų skirtumai tarp O ir H atomų O<sup>δ-</sup>H<sup>δ+</sup>N fragmente, sužadavimo energijos S<sub>0</sub>-S<sub>1</sub> ir atitinkami osciliatorių stipriai, pateikti 3.4 lentelėje. Sužadintos energijos, visoms optimizuotoms struktūroms S<sub>1</sub> elektroninėje būsenoje, buvo gautos, naudojant TD-DFT metodą. Pagal gautus duomenis (3.4 lentelė) sužadintos energijos gautos TD-DFT metodu yra 0,5-1,3 eV žemesnės nei atitinkamos vertės gautos naudojant CIS metodą. Šis rezultatas yra analogiškas gautam tyrimuose panašioms molekulėms, pvz., salicylidene methylamine (SMA) naudojant 6-31G(d,p) bazines funkcijas [147]. TD-DFT metodas skaičiavimams yra pakankamai geras. Visgi sužadintos energijos yra labai jautrios d poliarizacinių ir difuzinių funkcijų įskaitymui. Galime daryti išvadą, kad 6-311++G(2d,p) ir 6-311++G(2d,2p) bazinės funkcijos duoda praktiškai vienodai tikslius rezultatus. Pakeičiant iš 6-311G(2d,p) į 6-311G(2d,2p) sužadavimo energijos pakinta 0.01 eV, o protono padėtis pakinta atitinkamai tik 0.001 Å.

Skirtingos bazinės funkcijos taip pat buvo nagrinėtos, RCIS skaičiavimuose, optimizuojant MIEP molekulę sužadintoje S<sub>1</sub> elektroninėje būsenoje su pridėtomis vandens molekulėmis. Buvo nustatyta, kad 6-31G(d,p) ir aukštesnės eilės bazinės funkcijos duoda panašias MIEP molekulių bei kompleksų su tirpalo molekulėmis konfigūracijas. Visos bazinės funkcijos pakankamai gerai aprašo geometrijas ir žemiausių elektroninių sužadinių savybes tiek be, tiek su šalia pridėtomis vandens molekulėmis, kai geometrijos buvo optimizuojamos RCIS metodu, o sužadavimo energijos ir osciliatorių stipriai perskaičiuo-

jamai TD-DFT metodu. Tirpalų įtaka nebuvo įskaityta naudojant PCM. Tolesniems skaičiavimams buvo pasirinktos 6-311G(2d,p) bazinės funkcijos siekiant gauti pakankamai gerus struktūrinius ir spektrinius skaičiavimų rezultatus. Viso struktūros buvo pradėtos analizuoti nuo pagrindinės būsenos konfigūracijų [64].

**Lentelė 3.4** O-H atstumų ir sužadavimo energijos S0-S1 MIEP-OH ir MIEP-NH struktūrose priklausomybė nuo bazinių funkcijų parinkimo, kai geometrijos optimizuojamos RCIS metodu.

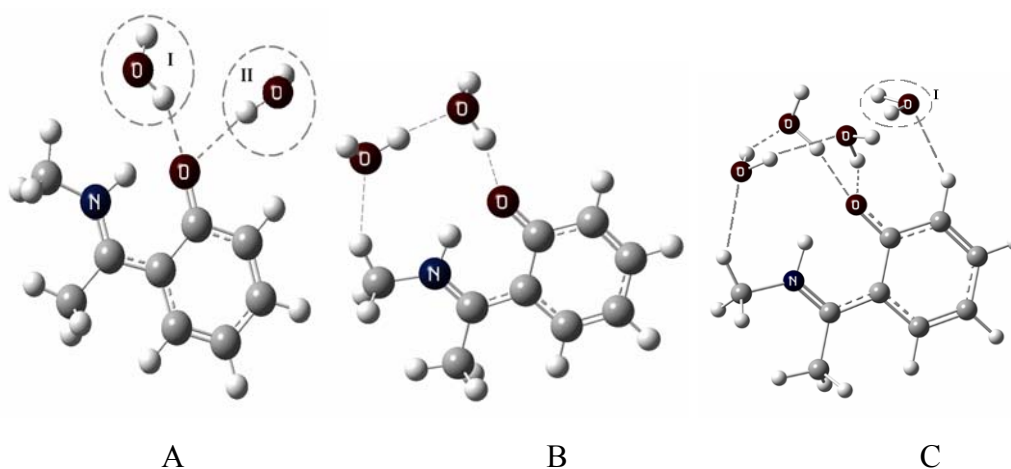
Bazinė funkcija	MIEP-OH			MIEP-NH		
	R <sub>O-H</sub> , Å	E <sub>S0-S1</sub> , eV (osc.)		R <sub>O-H</sub> , Å	E <sub>S0-S1</sub> , eV (osc.)	
		CIS	TD-DFT		CIS	TD-DFT
6-31G(d,p)	1,0085	4,7736 (0,2944)	3,7205 (0,1402)	1,8200	3,8531 (0,3517)	2,9441 (0,1515)
6-311G(2d,p)	1,0063	4,7539 (0,2915)	3,6986 (0,1385)	1,8277	3,7872 (0,3292)	2,9083 (0,1487)
6-311++G(2d,p)	1,0056	4,7117 (0,2931)	3,6913 (0,1428)	1,8395	3,7574 (0,3298)	2,8979 (0,1521)
6-311++G(2d,2p)	1,0052	4,7201 (0,2924)	3,7008 (0,1427)	1,8405	3,7574 (0,3298)	2,8994 (0,1521)

Kaip ir kitur MIEP molekulėje egzistuoja skirtingų būsenų konformeriai pagrindinėje ir sužadintose elektroninėse būsenose [147]. Kitame skyrelyje nagrinėjame, pradinėms struktūroms vidujmolekulinėje protono pernašoje, galimą tirpalo poveikį enol (MIEP-OH) ir *cis*-keto (MIEP-NH) formoms.

### 3.3 Vandeniinių ryšių įtaka pagrindinei būsenai

Analizuosime santykinę MIEP-OH, MIEP-OHN, MIEP-NH struktūrų energijas, norėdami parodyti aplinkos įtaką protono padėčiai MIEP molekulėje, kai yra šalia išsidėsčiusių vandens molekulių. Panašiai, kaip ir su metanolio molekulėmis [62], buvo skaičiuota su viena, dviem ir trim vandens molekulėmis (3.2 pav.). Visais atvejais atskaitos tašku buvo naudota MIEP-OH struktūros pilnutinė energija (3.1 pav.). Galimos struktūrų konfigūracijos (3.2 pav.)

buvo surastos, optimizuojant visos sistemos pilnutinę energiją minimo atžvilgiu.



**Pav. 3.2** 2-(*N*-methyl- $\alpha$ -iminoethyl)-phenol molekulės struktūrinės konfigūracijos, kai aplinkoje yra viena, dvi, trys ir keturios vandens molekulės. (A) kompleksas su viena vandens molekule gali būti dviejose stabiliose padėtyse arba I, arba II. (B) kompleksas su dviem vandens molekulėmis. Vandenilinis tinklas yra išdėstytas beveik molekulės plokštumoje. (C) Kompleksai su trimis (be molekulės I) ir keturiomis vandens molekulėmis.

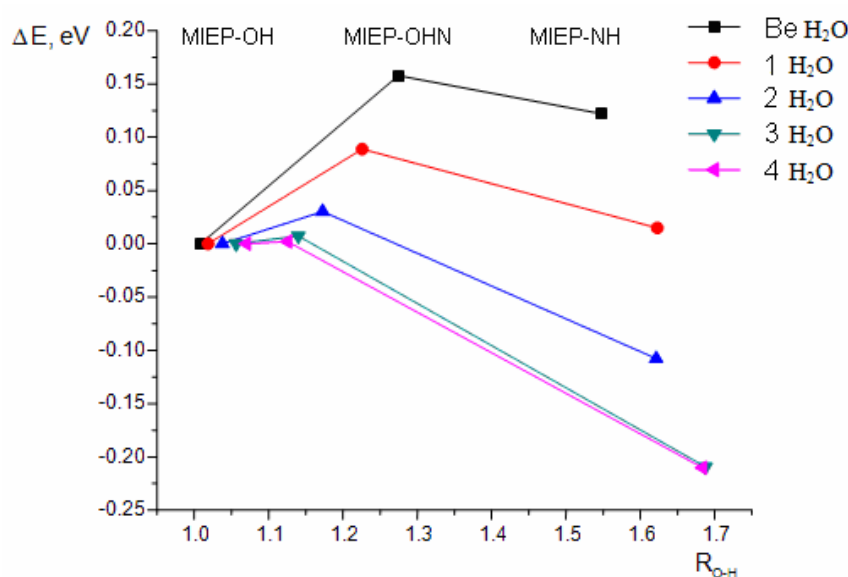
Lentelėje 3.5 pateikti tiriamųjų kompleksų pilnutinių energijų skirtumai. 3.3 pav. parodyti santykiniai stabilumai. Į ZVE nebuvo atsižvelgta. Visais atvejais, kai  $O\cdots H\cdots N$  grupės aplinkoje yra vandens molekulių, buvo rastos kelios stabilios konfigūracijos. 3.3 pav. pateikiami galimų kompleksų su žemiausia pilnutine energija rezultatai. Kaip pateikta paveiksle ir kaip seka iš lentelės 3.5, vandenilio  $O\cdots H\cdots N$  grupėje padėtis keičiasi priklausomai nuo tirpiklio molekulių kiekio. Struktūra, kai vandenilio atomas yra arčiau deguonies atomo  $O\cdots H\cdots N$  grupėje, yra daug stabilesnė už struktūras, kuriose tėra tik viena vandens molekulė arba visai nėra vandens molekulių. Abiem atvejais vandenilio atomo pamašos tarp deguonies ir azoto atomų energijos barjeras yra mažas (apie 0,1 eV). Esant daugiau vandens molekulių, stabilesnė tampa struktūra su vandeniliu arčiau azoto atomo (t.y. MIEP-NH). Reikėtų paminėti, kad energijos skirtumas tarp MIEP-OH ir MIEP-NH struktūrų visada išlieka apie 0,2 eV. Tiriamų



kompleksų santykinis stabilumas nesikeičia, netgi pridėjus ZVE (3.4 pav.). Pagrindinis skirtumas tas, kad energijos barjeras tarp MIEP-OH ir MIEP-NH struktūrų išnyksta. Charakteringi energijų skirtumai pavaizduoti 3.3 ir 3.4 pav. yra labai maži (0,2 eV eilės), ir vandenilio atomo virpesinė elgsena O<sup>δ-</sup>H<sup>δ+</sup>N grupėje, tikėtina, bus anharmoninės potencinės energijos funkcija.

**Lentelė 3.5** Optimizuotų MIEP-OHN ir MIEP-NH struktūrų pilnutinių energijų skirtumai MIEP-OH struktūros (3.1 pav.) atžvilgiu.

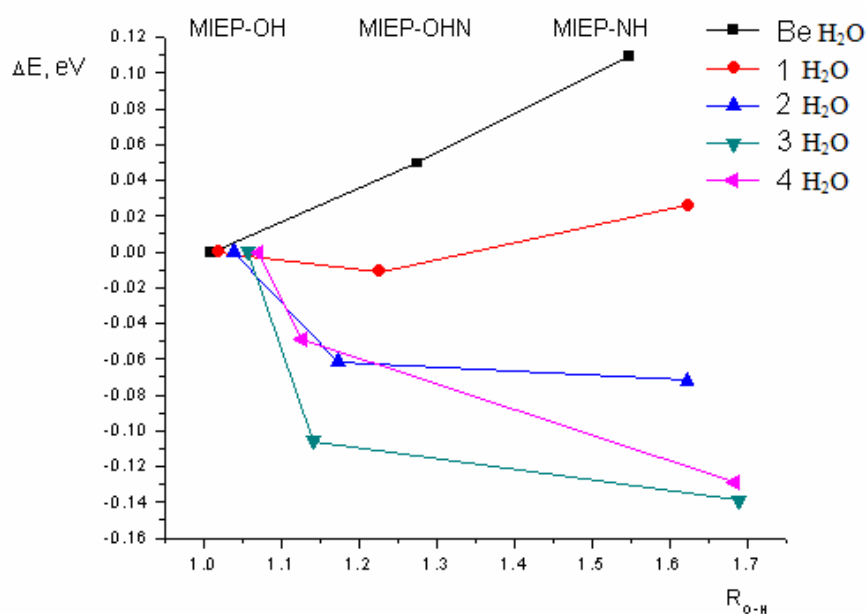
Kompleksų aplinka	$\Delta E$ , eV	
	$\Delta E_{(MIEP-OHN - MIEP-OH)}$	$\Delta E_{(MIEP-NH - MIEP-OH)}$
Be vandens	0,157704462	0,122245292
1 H <sub>2</sub> O molekulė	0,088785615	0,014808986
2 H <sub>2</sub> O molekulės	0,03025363	-0,107759305
3 H <sub>2</sub> O molekulės	0,007053466	-0,20957156
4 H <sub>2</sub> O molekulės	0,002094461	-0,21021647



**Pav. 3.3** MIEP-OH, MIEP-OHN ir MIEP-NH struktūrų (3.1 pav.) pilnutinės energijos be vandens molekulių ir su vandens molekulėmis.

Visais atvejais vandens molekulės vandeniliniiais ryšiais yra susietos su deguonies atomu ir sudaro uždara vandenilinių ryšių tinklą. Tik trys molekulės sudaro artimą uždara tinklą. Dvi vandens molekulės yra susietos su deguonies

atomu, o trečia vandens molekulė – su metilo grupe (3.2 pav.). Ketvirtoji vandens molekulė (3.2 C pav. pažymėta kaip I) gali būti laikoma kaip tolimesnis elementas, kuriantis vandenilinių ryšių tinklą su kitomis vandens molekulėmis. Pagal apskaičiuotas energijas (3.3 ir 3.4 pav.) galime daryti išvadą, kad tik artimasis vandenilių ryšio tinklas, sudarytas iš trijų vandens molekulių (3.3 C pav.), yra atsakingas už esminius pokyčius stabilizuojant protono padėtį prie azoto atomo.



**Pav. 3.4** MIEP-OH, MIEP-OHN ir MIEP-NH struktūrų molekulės santykinės pilnutinės energijos (3.1 pav.) su vandens molekulėmis ir be jų.

Kokybiškai panašūs yra analogiškų MIEP molekulės kompleksų skaičiavimų rezultatai su viena ar dviem etanolio molekulėmis. Kai aplinkoje yra etanolio molekulės, protonas pasislenka nuo deguonies prie azoto atomo. Kokybiškai energijos skirtumai tarp MIEP-OH, MIEP-OHN ir MIEP-NH struktūrų yra netgi mažesni (apie 0,1-0,15 eV), lyginant su atvejais su vandens molekulėmis. Etanolyje protonas juda tarp deguonies ir azoto atomų anharmoniniame potenciniame paviršiuje. Taigi, vandenilio atomo virpesiniai skaičiavimai harmoniniame artinyje nėra tinkami šiam atvejui. Specifiniai vibraciniai spektro skaičiavimai turėtų būti atliekami vandenilio atomui komplekse su pilnu an-

harmoniniu potencialu. Darbe [152] buvo atliekami panašūs O-H valentinių virpesių vandenyje skaičiavimai. Šiuo atveju, vandenilio atomas yra įvairiai delokolizuotas tarp kaimyninių vandens molekulių, tai priklauso nuo O-H virpesinių sužadavimo modų [152].

Panašūs skaičiavimai su MIEP molekule buvo atlikti, keičiant protono padėtis tarp deguonies ir azoto, ieškant galimybių kontroliuoti protono pernašą elektriniu lauku arba lauku, atsirandančiu dėl polinės aplinkos. Galimas elektrinio lauko efekto poveikis kompleksui buvo modeliuotas, pridodant elektrinį lauką kryptimi nuo N link O atomo ir atvirkščiai (3.1 ir 3.2 pav). Pilnos energijos skirtumai buvo sulyginami su MIEP-OH struktūra pavaizduota 4.1 pav. Elektrinio lauko stiprumas buvo keičiamas nuo 1 a.u. iki 100 a.u. Didžiausias efektas yra mažesnis nei 0,05 eV. Taip pat, pilnos energijos pokytis buvo gautas struktūrai su trimis vandens molekulėmis, esant 1 a.u. elektriniam laukui (N-O ir O-N kryptimis). Šiuo atveju efektas taip pat labai mažas (mažesnis nei 0,003 eV). Norėdami išsiaiškinti koks yra elektrinio lauko poveikis geometrijos parametrui buvo lyginami O-H-N kampai MIEP-OH, MIEP-OHN ir MIEP-NH molekulinėse struktūrose (3.1 pav.). Geometrijos optimizacija visoms struktūroms buvo atlikta, keičiant elektrinio lauko stiprumą nuo 1 iki 100 a.u. Kampas O-H...N (struktūra MIEP-OH) padidėja apie 2,3° (nuo 149,76° iki 147,39°), kai laukas pakinta nuo 1 iki 100 a.u., tuo tarpu kampas O...H-N (struktūra MIEP-NH) sumažėja 0,8° (nuo 147,07° iki 146,30°). Kampas O...H...N (pereinamoji struktūra MIEP-OHN) pakinta mažiau nei 0,01° (ji yra 153,98° visiems taikytiems elektriniams laukams).

Analizuojant O-H-N kampo pokytį kompleksuose MIEP-OH, MIEP-OHN ir MIEP-NH su viena, dviem ir trimis vandens molekulėmis be elektrinio lauko, ir esant 1 a.u. elektriniam laukui, buvo gauta, jog jis struktūrai MIEP-OH, su vandens molekulėmis, padidėja. Kai nėra išorinio elektrinio lauko, bet aplinkoje yra trys vandens molekulės, kampas padidėja apie 2,9°. Kai yra elektrinis laukas – kampas padidėja iki 3,1°. Panašus elektrinio lauko efektas stebėtas O...H-N kampui (struktūra MIEP-NH). Be elektrinio lauko kampas sumažėja 5,9° ir 6,0° su 1 a.u. elektriniu lauku.

Kai aplinkoje yra viena ar dvi vandens molekulės, pereinamojoje struktūroje MIEP-OHN O-H-N kampas padidėja mažiau nei  $1,0^\circ$ , o tuo tarpu, kai yra trys vandens molekulės sumažėja iki  $13,0^\circ$ . Pridėjus 1 a.u. elektrinį lauką, kampo pokytis yra nereikšmingas. Taigi, remiantis skaičiavimo rezultatais galima teigti, kad elektrinio lauko įtaka potenciniam energijos paviršiui ir geometriniam parametrams yra nereikšminga, lyginant su vandens molekulių formuojamu vandenilinių ryšių tinklo poveikiu. Vandenilinių ryšių tinklas yra labai svarbus vidujmolekulinei protono pernašai.

### 3.4 Vandenilinių ryšių įtaka $S_1$ būsenai

MIEP struktūros MIEP-OH ir MIEP-NH buvo nagrinėtos, norint suprasti aplinkos poveikį protono pernašai sužadintoje MIEP molekulės elektroninėje būsenoje. Kaip buvo jau aptartata [64], vandenilinio ryšio tinklas (3 vandens molekulių) iš esmės keičia MIEP-OH į MIEP-NH struktūrų santykinį stabilumą. MIEP molekulės pagrindinėje elektroninėje būsenoje vandenilių ryšių tinklas inicijuoja protono pernašą. Toliau aptarsime pastarųjų struktūrų pirmos sužadintos būsenos savybes tiek su vandens molekulėmis, tiek be jų. Skaičiavimams naudoti RCIS ir TD-DFT metodai. Į tirpiklio įtaką PCM lygyje nebuvo atsižvelgta.

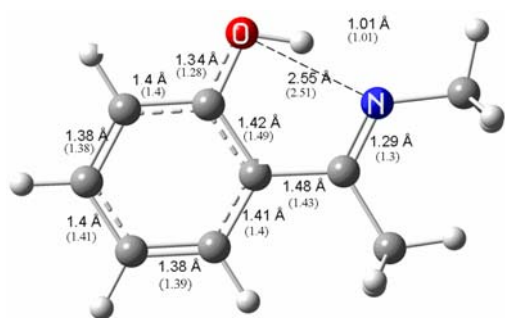
Buvo nagrinėjamos MIEP-OH ir MIEP-NH struktūros be ir su trim vandens molekulėmis ties  $O^{\cdots}H^{\cdots}N$  fragmentu atitinkančias lokaliuosius minimumus  $S_0$  ir  $S_1$  elektroninių būsenų potenciniuose energijos paviršiuose. Sužadinimo energijų rezultatai, oscilatoriaus stipriai ir santykiniai šių struktūrų stabilumai  $S_0$  ir  $S_1$  elektroninėse būsenose yra pateikti 3.6 lentelėje. Tiriamų struktūrų santykinės stabilumo energijos pagrindinėse elektroninėse būsenose yra pateiktos, imant kaip atskaitos tašką MIEP-OH struktūrą. Abi MIEP-OH ir MIEP-NH struktūros turi lokalius minimumus  $S_0$  potenciniame paviršiuje. Tuo atveju, kai nėra papildomų vandens molekulių, MIEP-OH struktūra yra  $0,12$  eV žemesnė nei MIEP-NH struktūra. Easant 3 vandens molekulėmis ties  $O^{\cdots}H^{\cdots}N$  fragmentu, MIEP-NH struktūra tampa labiau stabili, t.y.  $0,22$  eV žemesnės energijos. MIEP molekulės, nesančios plokščios formos pagrindinėje

būsenoje, mes neaptikome. Situacija yra kitokia,  $S_1$  sužadintai būsenai, kai nėra arba yra trys vandens molekulės. Buvo aptiktos trys struktūros su lokaliais minimumais  $S_1$  sužadintos būsenos potenciniame paviršiuje, kai aplinkoje nėra vandens molekulių.  $C_1$  simetrijos MIEP-NH struktūra yra mažiausios pilnutinės energijos (3.5 C pav. dvisienis kapas ABCD lygus  $23^\circ$ ). MIEP-NH struktūra pasižyminti  $C_s$  simetrija yra 0,14 eV aukštesnės pilnutinės energijos ir MIEP-OH struktūra atitinkančios  $C_s$  simetrijai yra 0,74 eV aukštesnės energijos lyginant su MIEP-NH  $C_1$  simetrijos struktūra. MIEP-OH ir MIEP-NH struktūrų pilnutinės energijos  $S_1$  elektroninėje būsenoje buvo gautos pridėdant sužadavimo energijas gautas TD-DFT metodu prie pagrindinės elektroninės būsenos energijų, gautų DFT metodu.

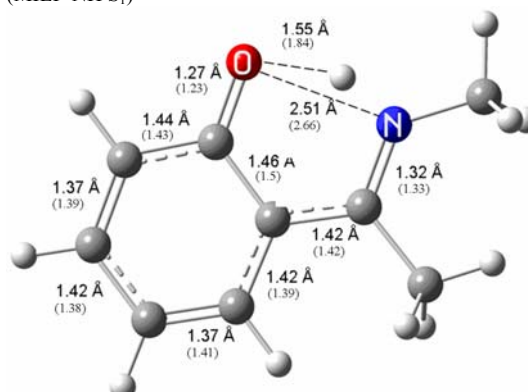
**Lentelė 3.6.** MIEP-OH ir MIEP-NH struktūrų santykinės pilnutinės energijos  $S_0$  būsenoje,  $S_0$ - $S_1$  sužadavimo energijos bei atitinkami osciliatoriaus stipriai. Naudotos bazinė funkcijos 6-311++G(2d, p).

Optimizuotos geometrijos: struktūra; elektroninė būseną; (geometrijos optimizavimo metodas )	Be vandens molekulių			Su 3 vandens molekulėmis		
	Santyki- nės ener- gijos $S_0$ , eV	$S_0$ - $S_1$ sužadavimo energijos eV ir osciliatorių stipriai (skliaustuose)		Santyki- nės ener- gijos $S_0$ , eV	$S_0$ - $S_1$ sužadavimo energijos eV ir osciliatorių stipriai (skliaustuose)	
		RCIS	TD-DFT		RCIS	TD-DFT
MIEP-OH; $S_0$ ; (DFT)	0,0	5,2 (0,24)	3,95 (0,11)	0,0	5,27 (0,21)	4,06 (0,09)
MIEP-NH; $S_0$ ; (DFT)	0,122245	4,36 (0,30)	3,26 (0,15)	-0,21539	4,47 (0,29)	3,32 (0,12)
MIEP-OH; $S_1$ ; (CIS)	0,213204	4,71 (0,29)	3,69 (0,14)	-	-	-
MIEP-NH; $S_1$ ; (CIS), $C_s$	0,400621	3,76 (0,33)	2,90 (0,15)	-	-	-
MIEP-NH; $S_1$ ; (CIS), $C_1$	0,581162	3,54 (0,29)	2,58 (0,09)	0,299149	3,74 (0,27)	2,75 (0,1)

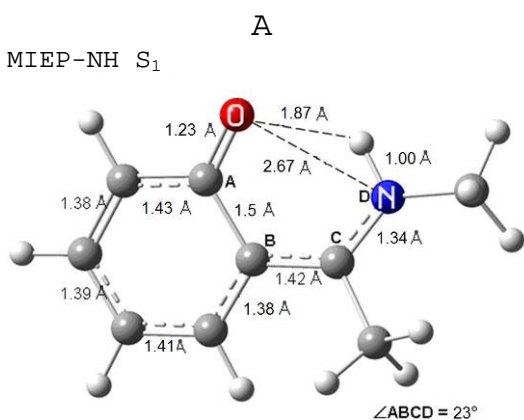
MIEP-OH  $S_0$   
(MIEP-OH  $S_1$ )



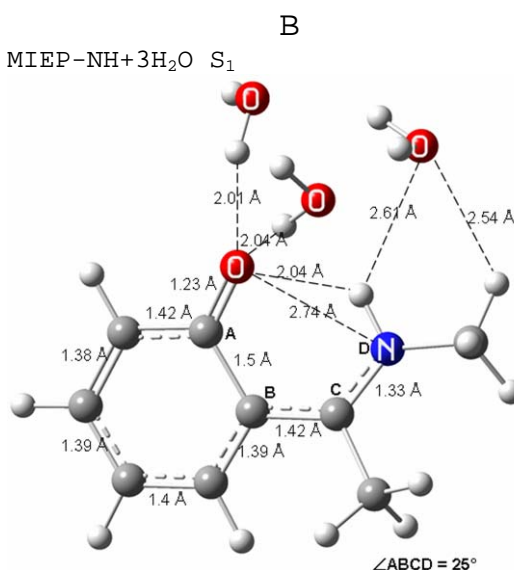
MIEP-NH  $S_0$   
(MIEP-NH  $S_1$ )



MIEP-NH  $S_1$



MIEP-NH+3H<sub>2</sub>O  $S_1$

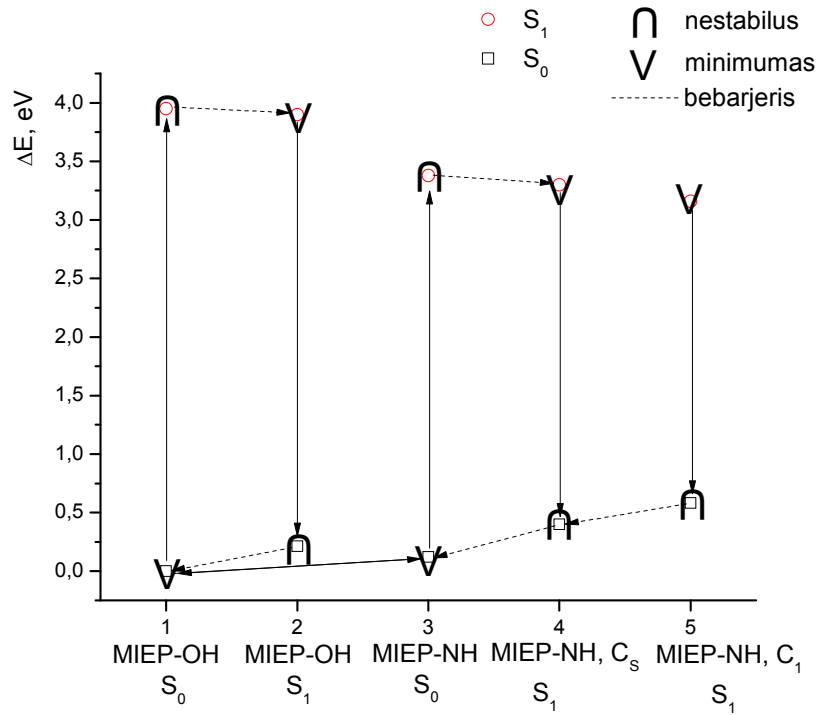


**Pav. 3.5** Struktūrų MIEP-OH ir MIEP-NH geometrijos pokyčiai pagrindinėje ir pirmojoje sužadintoje elektroninėse būsenose. MIEP-OH  $S_0$  ir  $S_1$  (A); MIEP-NH  $S_0$  ir  $S_1$  (B); MIEP-OH su trim vandens molekulėmis  $S_0$  (C); MIEP-NH su trim vandens molekulėmis  $S_0$  (D).

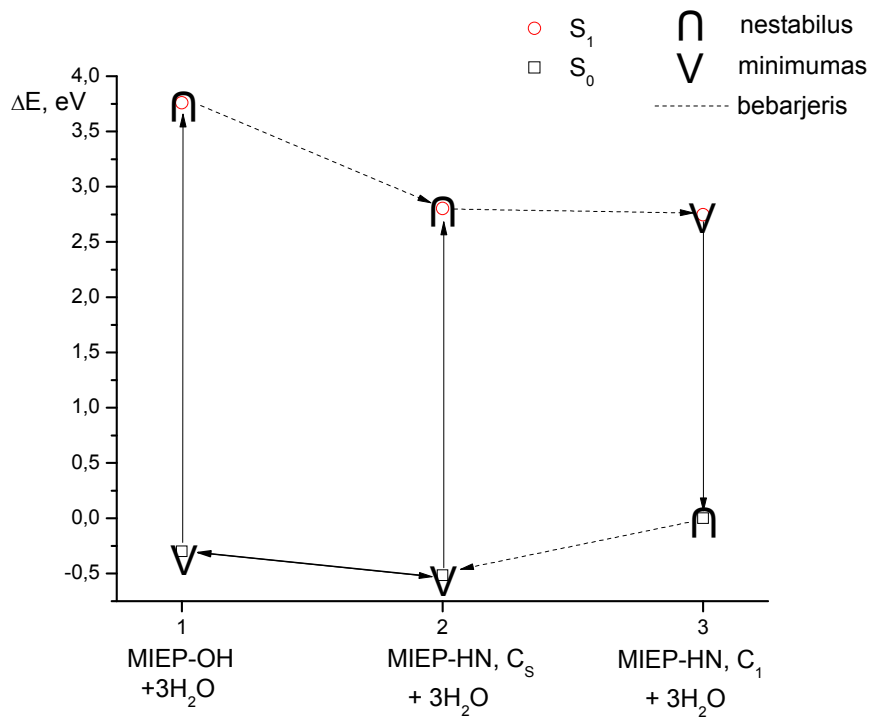
Gaunamas tik vienas minimumas būsenos  $S_1$  potenciniame energijos paviršiuje, kai yra 3 vandens molekulės  $O\cdots H\cdots N$  fragmento aplinkoje. Šifo bazė yra pasisukusi nuo fenolio žiedo apie  $25^\circ$  (3.5 D pav. dvisienis kampas ABCD), ir sistemayra  $C_1$  simetrijos.

Visų tirtų struktūrų santykinės energijos  $S_0$  ir  $S_1$  elektroninėse būsenose yra pateiktos 3.6 pav. (A ir B). Potencinių energijos paviršių pavaizduotų 3.6 pav. energijų vertės yra pateiktos MIEP-NH struktūros, turinčios  $C_1$  simetriją, atžvilgiu. Remiantis gautais rezultatais, relaksacijos mechanizmas esant  $S_0$ - $S_1$  elektroniniam šuoliui iš MIEP-OH ir MIEP-NH (su simetrija  $C_s$ ) yra bebarjeris procesas, kurio rezultatas yra MIEP-NH  $C_1$  simetrijos struktūra.

MIEP-OH ir MIEP-NH struktūrose atsirandantys geometriniai pokyčiai po optinio  $S_0$ - $S_1$  šuolio, su trimis vandens molekulėmis prie  $O^{\cdot\cdot}N^{\cdot\cdot}H$  fragmento ir be jų, pavaizduoti 3.5 A-D pav. MIEP-OH struktūroje, nesant išorėje vandens molekulių,  $S_0$ - $S_1$  elektroninio šuolio metu didžiausi ryšių ilgių pokyčiai yra  $O=C-C-C=N$  grupės fragmente, kai tuo tarpu ryšių ilgiai fenolio žiede praktiškai nepakinta (3.5 A pav.). Išimtis yra  $C=C$  fenolio žiedo ryšys, susijęs su  $O=C-C-C=N$  grupe, kuris pailgėja 0,07 Å, kai tuo pat metu  $O^{\cdot\cdot}N$  atstumas sutrumpėja 0,04 Å. MIEP-NH struktūroje situacija yra kiek kitokia (3.5 B pav.):  $O^{\cdot\cdot}N$  atstumas padidėja 0,15 Å, o  $O=C-C-C=N$  fragmente esminių skirtumų nėra. Vėl išimtis yra fenolio žiedo  $C-C$  ryšys, kuris pailgėja 0,04 Å. Visos pagrindinės deformacijos yra susijusios su  $C-C$  ryšių ilgiais fenolio žiede. Pokyčiai fenolio aromatiniam žiede yra panašūs į SMA molekulės [147].  $S_0$  elektroninėje būsenoje vidutinis kaimyninių  $C-C$  ryšių fenolio žiede alternavimas MIEP-OH struktūroje yra 0,02 Å ir 0,047 Å MIEP-NH struktūroje. Atitinkamai sužadintoje  $S_1$  būsenoje tos pačios vertės yra 0,043 Å ir 0,047 Å. Svarbu paminėti, kad aromatiškumo praradimas (didesnis ryšių ilgių alternavimas) yra sąlygotas didesnių  $C-C$  ryšių pokyčių, Šifo bazės aplinkoje. Tai ypač ryšku  $S_1$  sužadintoje būsenoje. Beje, be papildomų vandens molekulių visos stabilios struktūros (3.5 A, B pav.) yra  $C_s$  simetrijos.



A



B

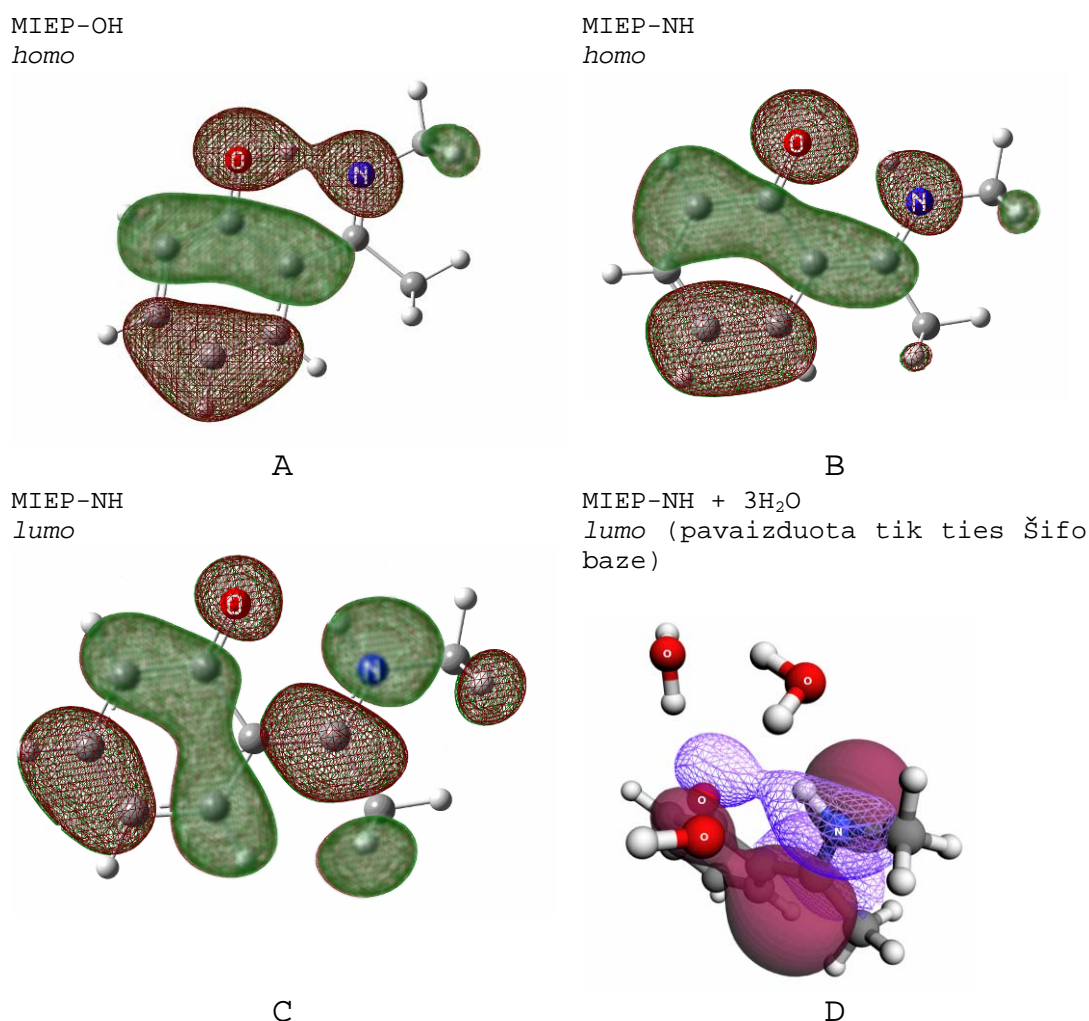
**Pav. 3.6** MIEP molekūlės struktūrų santykinės potencinio paviršiaus energijos pagrindinėje ir pirmojoje sužadintose elektroninėse būsenose: vakuume (A), kai aplinkoje yra trys vandens molekūlės (B).



Pagrindinėje elektroninėje būsenoje trijų vandens molekulių pridėjimas prie MIEP-OH struktūros C=O ryšį pailgina 0,01 Å ir sutrumpina O<sup>••</sup>N atstumą 0,08 Å, kai tuo tarpu kiti atstumai nelabai pakinta. Vandens molekulės kartu su MIEP molekule sudaro vandenilinių ryšio tinklą, apjungiantį deguonies atomą per metilo grupę su azoto atomu. Po sužadavimo į S<sub>1</sub> būseną visa struktūra tampa nestabili ir susiformuoja nauja MIEP-NH struktūra. Pridedant prie MIEP-NH struktūros vandenilinių ryšių tinklą, sudarytą iš 3 vandens molekulių, O<sup>••</sup>N atstumas padidėja 0,07 Å, kai tuo tarpu kitų ryšių pokyčiai neviršija 0,02 Å, lyginant su MIEP-NH struktūra be vandens molekulių. MIEP-NH struktūra atitinka mažiausią potencinę energiją S<sub>1</sub> sužadintoje elektroninėje būsenoje (3.5 D pav.). Be vandens molekulių pastaroji struktūra taip pat yra C<sub>1</sub> simetrijos (3.5 C pav.). Didžiausias skirtumas, esant trys vandens molekulės ties O<sup>••</sup>H<sup>••</sup>N fragmentu, yra atstumų pailgėjimas: O<sup>••</sup>N (0,07Å) ir O-H (0,17Å). Aromatiškumą fenolio žiedo, lyginant su plokščia struktūra mažai pakinta. Vidutinis C-C ryšių alternavimas yra 0,052 Å.

Skaičiavimai, kai MIEP molekulė yra kartu su keturiomis ar penkiomis vandens molekulėmis, duoda tokius pat rezultatus. Papildoma ketvirta ir penkta vandens molekulė tik praplečia vandenilinių ryšių tinklą. Kai yra 4 vandens molekulės, dvisienis kapas tarp Šifo bazės ir fenolio žiedo lygus 19°. Kai yra penkios vandens molekulės, MIEP molekulėje ketursienis kampas vėl lygus 25°. Taigi, didinant vandens molekulių skaičių ties O<sup>••</sup>H<sup>••</sup>N fragmentu kokybiškai gaunami tie patys rezultatai.

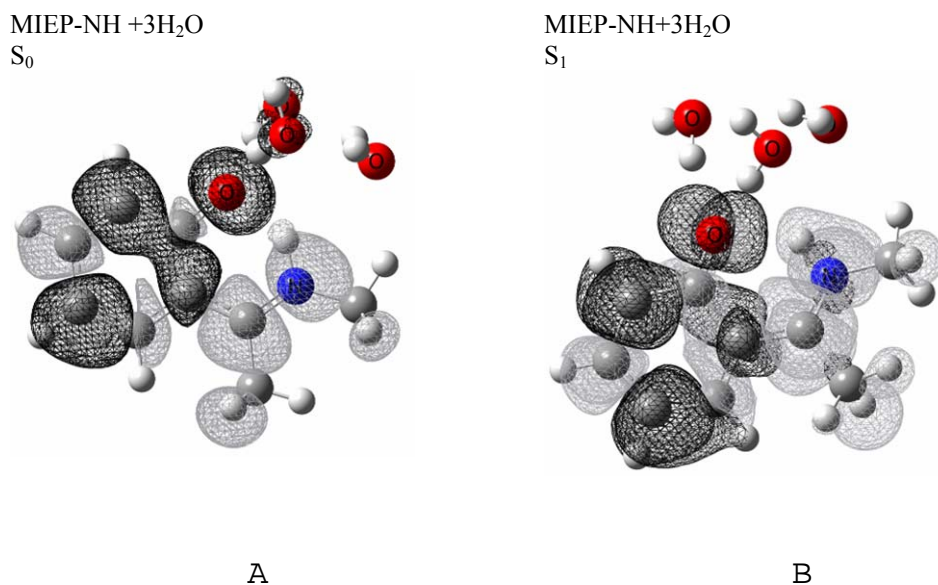
Iš CIS ir TD-DFT skaičiavimų seka, kad S<sub>0</sub>-S<sub>1</sub> sužadavimai yra optiškai leistini ir sudaryti iš *homo-lumo* π-π\* šuolių. Natūralios *homo* ir *lumo* orbitalės gautos naudojant DFT metodą pateiktos 3.7 paveiksle. MIEP-OH struktūrų *homo* ir *lumo* orbitalės yra panašios savo forma (žr. 3.7 A pav. *homo* orbitales), kai tuo tarpu MIEP-NH struktūros *homo* ir *lumo* orbitalės iš esmės skiriasi (3.7 B ir C pav.). Pastarieji pokyčiai susiję su fenolio žiedo struktūros pokyčiais atsirandačiu S<sub>0</sub>-S<sub>1</sub> sužadavimo metu (3.1 A, B ir D pav.). Molekulės sužadintos būsenos S<sub>1</sub> geometrijos deformacija atspindi *lumo* orbitalė 3.7 D pav.



**Pav. 3.7** MIEP-OH, MIEP-NH struktūrų su ir be vandens molekulėmis *homo* ir *lumo* natūralios orbitalės: MIEP-OH *homo* (A); MIEP-NH *homo* (B); MIEP-NH *lumo* (C); MIEP-NH su trim vandens molekulėmis *lumo* (D).

3.8 pav. yra pateikti MIEP molekulėje su trim vandens molekulėmis Šifo bazės aplinkoje elektroninio krūvio tankio pasiskirstymo skirtumai pagrindinėje ir pirmoje sužadintose elektroninėse būsenose. Elektroninio krūvio tankio pasiskirstymas buvo apskaičiuotas DFT ir TD-DFT metodais. Visais atvejais (su ir be vandens molekulių) skaičiavimo rezultatai yra labai panašūs. Elektroninis krūvis  $S_0$ - $S_1$  šuolio metu pasilenka nuo benzeno žiedo ir deguonies atomo prie Šifo bazės. Optimizuotoje pagrindinės elektroninės būsenos MIEP-NH struktūroje su 3 vandens molekulėmis,  $S_0$ - $S_1$  šuolio metu, yra stebima krūvio pernaša nuo vandens molekulės prie MIEP molekulės. Taigi, elekt-

roninio ktūvio tankio persiskirstymo išvada yra ta, kad  $S_0$ - $S_1$  elektroninio sužadavimo išdavoje protonas stengiasi judėti link neigiamo krūvio, kurio  $S_1$  elektroninėje būsenoje susitelkia prie azoto atomo  $S_1$ .



**Pav. 3.8** Elektroninių krūvių tankių skirtumai MIEP molekulėje tarp pagrindinės ir pirmos sužadintos elektroninių būsenų. Pilka spalva vaizduoja vietas, kur elektroninis krūvis padidėja, o juoda, kur sumažėja. MIEP-NH struktūra su trim vandens molekulėmis, optimizuota pagrindinėje  $S_0$  būsenoje (A); MIEP-NH struktūra su trim vandens molekulėmis, optimizuota  $S_1$  sužadintoje būsenoje (B).

### 3.5 Rezultatų aptarimas

Viena greičiausių cheminių reakcijų, esančių gamtoje, yra fotoindukuota vidujmoleklinė protono pernaša [153]. Aromatinę Šifo bazę turinčiose molekulinėse struktūrose protono pernaša prasideda sužadintoje elektroninėje būsenoje. Jis atgal į pradinę padėtį pernešamas pagrindinėje elektroninėje būsenoje. Šias savybes demonstruoja įvairios molekulės, pvz. N-methyl-salicylidene imines [154], salicylidene methylamine (SMA) [55], N,N'-bis(salicylidene)-p-phenylenediamine [155], MIEP ir kt. MIEP molekulė yra panaši į SMA molekulę [147] ir jos fotociklas turėtų būti panašus. Vienintelis skirtumas tarp jų yra

papildoma metilo grupė, jungianti anglies atomą  $-N=C-C=C=O-$  fragmente. Ši metilo grupė yra lemiamas veiksnys, stabilizuojantis  $C_s$  simetriją MIEP molekulėje ir leidžiantis stebėti polinių tirpiklio molekulių įtaką MIEP molekulės geometrijai  $S_1$  sužadintoje būsenoje. Naudojome DFT ir TDDFT/B3LYP/6-311++G(2d,p) metodus, buvo siekiama gauti tikslesnius santykinius stabilumo faktorius struktūroms su skirtingomis protono padėtimis.

Gauti rezultatai rodo, kad tirpiklio įtaka MIEP molekulei pagrindinėje būsenoje nulemia protono padėtį Šifo bazėje. MIEP-OH ir MIEP-NH struktūros turi stabilus konformerus pagrindinėje būsenoje. Iš šių rezultatų aišku, jog Šifo bazė lieka neprotonuota (MIEP-OH struktūroje), kai aplinkoje nėra vandens ar kitokių polinių molekulių. Taigi, Šifo bazė, tikėtina, išliks neprotonuota nepoliniuose tirpikliuose. Ši struktūra turi 0,12 eV žemesnę energiją lyginant su protonuotos Šifo bazės struktūra. Vandens (ar metanolio) molekulių pridėjimas ties MIEP molekule sudaro sąlygas protono pernašai prie azoto atomo. Esant trim vandens molekulėms situacija pasikeičia: MIEP-NH struktūra tampa energetiškai stabilesnė (maždaug 0,22 eV). Du pagrindiniai faktoriai lemia vieną ar kitą MIEP formą pagrindinėje elektroninėje būsenoje. Pirmasis – tai polinės tirpiklio molekulės. Jos suformuoja vandenilinių ryšių tinklą su MIEP molekule ir stabilizuoja MIEP-NH struktūrą. Kaip buvo apskaičiuota atsižvelgiant į ZVE, egzistuoja tik viena protonuota MIEP forma. Realiame poliniame tirpiklyje gali susiformuoti keletas konkuruojančių vandenilinių ryšių: vandeniliniai ryšiai tarp MIEP molekulių ir tirpiklio molekulių ir tarp keleto tirpiklio molekulių tarpusavyje. Priklausomai nuo vandenilinių ryšių energijos abiem atvejais MIEP-OH struktūra gali būti energetiškai stabilesnė netgi poliniuose tirpikliuose. Ketvirtajame skyriuje parodysime, kad panašios struktūros MS1 molekulė poliniame tirpiklyje gali būti abejose formose, o struktūros su neprotonuota Šifo baze kiekis yra didesnis netgi poliniame tirpiklyje (ką patvirtina eksperimentiniai duomenys) [62, 156]. Taip yra todėl, kad metanolio-metanolio komplekso vandenilinio ryšio energija yra didesnė negu vandenilinio ryšio tarp MS1 ir metanolio molekulės.

Pagal skaičiavimus Šifo bazė yra stipriai protonuota  $S_1$  sužadintoje būsenoje: sužadintos būsenos energija atitinkanti MIEP-NH struktūrą yra visada mažesnė nei MIEP-OH struktūras. Poliniame tirpiklyje MIEP-NH struktūra yra vienintelė turinti lokalų minimumą pirmojoje sužadintoje elektroninėje būsenoje. Iš MIEP-OH geometrijos optimizacijos, esant tirpiklio molekulėms seka, kad perėjimo keliai iš MIEP-OH struktūros į neplokštų fotoproduktą vyksta per tarpinę MIEP-NH plokščią struktūrą. Iš kvantinės chemijos skaičiavimų plaukia, kad pereinant iš MIEP-OH ir MIEP-NH  $C_s$  simetrijų struktūrų į neplokščią MIEP-NH  $C_1$  simetrijos struktūrą, protonas pasislenka 0,5 Å ir visas procesas yra bebarjeris  $S_1$  elektroninei būsenai. Tai sutampa su rezultatais, gautais panašioms SMA ir MS1 struktūroms [146,62]. Panašu, bebarjeris protono pernašos vyksmas  $S_1$  sužadintoje elektroninėje būsenoje yra pastebėtas, tyrinėjant SMA molekulę [146].

Panašios į MIEP molekulės MS1 eksperimentinė  $S_0$ - $S_1$  sužadinimo vertė yra apie 3,87 eV [138]. Tikslūs kvantinės mechanikos skaičiavimai SMA molekulei, naudojant 6-31G(d,p) bazinės funkcijas, davė 4,07 eV (TD-DFT metodu) ir 4,38 eV (CASPT2 metodu) [147]. Skirtumas tarp teorinių rezultatų, gautų skirtingais metodais, yra pakankamai didelis. Mūsų gauti rezultatai MIEP-OH struktūrai su TD-DFT/B3LYP/6-31++G(2d,p) metodu davė 3,95 eV struktūroms be vandens molekulių ir 4,06 eV struktūroms su 3 vandens molekulėmis. MIEP-NH struktūros sužadinimo energija naudojant  $S_0$  būsenoje optimizuotas geometrijas yra pastumta mažesnių energijų kryptimi: 3,26 eV be vandens molekulių ir 3,32 eV, kai yra trys vandens molekulės. MIEP-NH struktūros sužadinimo energija yra pastumta į žemesnes energijas 0,69-0,74 eV lyginant su MIEP-OH.

$S_0$ - $S_1$  sužadinimas MIEP-NH struktūroje sutinkamai su TD-DFT skaičiavimais yra *homo-lumo* ( $\pi$ - $\pi^*$ ) šuolis. *Homo* orbitalė yra rišanti  $\pi$  orbitalės, o *lumo* yra  $\pi^*$  nerišanti orbitalė (3.7 C, D pav.). Tai paaiškina susilpnėjusią (ir pailgintą) C=C jungtį grupėje O=C=C-N fragmente  $S_0$ - $S_1$  sužadinimo metu. Nepaisant to, MIEP-NH struktūra turi lokalų minimumą  $S_1$  sužadintoje būsenoje atitinkančioje  $C_s$  simetrijoje, kai vandens molekulių nėra (3.7 B pav.). Viena

stabiliausių struktūrų yra neplokščia su dvisieniu kampu  $\text{ADCB}=23^\circ$  (3.7 C pav.), o jos pilnutinė energija 0,14 eV žemesnė lyginant su atitinkama  $C_s$  simetrijos struktūra.  $S_1$  sužadintoje elektroninėje būsenoje, kai yra pridėtos trys vandens molekulės, yra tik vienas lokalusis minimumas. Šiuo atveju MIEP-NH struktūra yra  $C_1$  simetrijos ir jį atitinkantis dvisienis kampas  $\text{ADCB}=25^\circ$  (3.7 D pav.). Pastarasis rezultatas gali būti paaiškintas, sąveika su vandens molekulėmis iš nesimetrinio vandenilinio ryšių tinklo ir Šifo bazės su po elektroninio sužadinimo susilpninta rišančia  $\pi$  (*homo*) orbitale. Dvisienis kampas ADCB yra deformuojasi, kol *lumo*  $\pi^*$  orbitalė, atitinkanti O ir N atomus, persidengia dalimis, turinčiomis tą patį ženklą (3.7 D pav.). Nerišanti  $\pi^*$  orbitalė tampa rišančia orbitale tarp O ir N atomų ir fiksuoja ADCB dvisienį kampą po deformacijos. Skaičiavimai parodė, kad  $S_0$ - $S_2$  sužadinimas yra draustinis ir yra  $n\pi^*$  tipo visoms MIEP-NH struktūroms. Sužadinimo energija yra visada didesnė nei  $S_0$ - $S_1$  sužadinimas visoms tyrinėtoms struktūroms. Deformuotų struktūrų atveju  $S_0$ - $S_1$  sužadinimo energija struktūrose su 3 vandens molekulėmis yra didesnė nei  $S_0$ - $S_1$  sužadinimo energija apie 0,72 eV, o struktūroms be vandens molekulių – 0,5 eV.

Protono pernaša yra labai greitas procesas. Tikėtina jis yra toks pat, kai vyksta vandenilinių ryšių persiorganizavimas ties Šifo baze fotoindukuotos protono pernašos metu. Gauti vidujmolekulinės protono pernašos rezultatai demonstruoja polinės aplinkos svarbą šiam procesui.

### 3.6 Išvados

Protono padėtis Šifo bazėje gali būti įtakota išorinio lauko – polinės aplinkos, membranos potencialo ar elektrinio lauko. Iš gautų rezultatų plaukia, jog aplinkoje esančios tirpiklio molekulės iš esmės pakeičia protono padėtį MIEP molekulėje. Protonas yra lokalizuotas prie deguonies atomo, kai aplinkoje nėra tirpiklio molekulių arba kai yra tik viena tirpalo molekulė. Kai MIEP molekulės aplinkoje yra daugiau tirpiklio molekulių, energetiškai protonui tampa naudingiau būti prie azoto. Be to, protono pernaša nuo deguonies prie azoto atomo yra bebarjeris procesas. Šie pokyčiai potenciniame pagrindinės

elektroninės būsenos MIEP molekulės paviršiuje, keičiantis protono padėčiai molekulėje, yra susiję su vandenilinio ryšių tinklo susiformavimu, kuris ir yra atsakingas už protono pernašą. Bet koks papildomas išorinis trikdys (t.y. elektrinis laukas) nedaro reikšmingos įtakos struktūriniam pokyčiams ar protono pernašos potenciniam energijos paviršiui. Šių rezultatų pagrindu galima teigti, kad zwitterioninis MIEP molekulės persiorganizavimas yra nulemtas polinės aplinkos.

Buvo pademonstruota, kad polinės aplinkos įtaka yra svarbi fotoindukuotai protono pernašai MIEP molekulėje. Pirmoje sužadintoje elektroninėje būsenoje protonas yra lokalizuotas ties azoto atomu, kas nulemia Šifo bazės protonavimą ir padidina protono atstumą iki deguonies atomo, tuo atveju kai aplinkoje nėra tirpiklio molekulių. Esant trim vandens molekulėms prie MIEP, Šifo bazė deformuojasi, sudarydama  $25^\circ$  dvisienį kampą su fenolio žiedu. Tad galime daryti išvadą, kad Šifo bazė yra deprotonuota pagrindinėje būsenoje arba turi galimybę būti protonuota poliniame tirpiklyje ir visada bus protonuota pirmoje sužadintoje elektroninėje būsenoje. Tai reiškia, kad MIEP-NH struktūra su nelygiu nuliui dvisieniu kampu gali egzistuoti sužadintoje būsenoje.

Gauti rezultatai demonstruoja, kad šalia esanti polinio tirpiklio aplinka įtakoja ir gali sukelti protono pernašą į Šifo bazę ne tik pagrindinėje, bet taip pat ir sužadintoje elektroninėje būsenoje. Neplokštuminė molekulės deformacija sužadintoje būsenoje gali būti įtakota polinių tirpiklio molekulių.

## 4. Vandeniinių ryšių įtaka

### N-triphenylmethyalsalicylideno imino molekulėje

Funkcinės grupės, tokios kaip -OH arba -NH<sub>2</sub> kartu su CO, -N=N- arba =NH grupės yra žinomos kaip dalyvaujančios tarpmolekulinėje ir vidujmolekulinėje protonų pernašoje. Tokio tipo reakcijos vaidina svarbų vaidmenį cheminėje fizikoje bei biofizikoje. Vienas tokių pavyzdžių yra bakteriorodopsinas. Jis atsakingas už protonų atskyrimą, kuris vyksta po elektroninio retinalio sužadavimo chromoforoje sujungtoje su baltymu protonuota Šifo baze. Bakteriorodopsino aktyviajame centre atsirandanti protonovaros jėgos kilmė tebėra vis dar nepakankamai aiški [157-160]. Norint tai suprasti protonų pernašos reakcija yra modeliuojama įvairiuose sistemose, sudarant vidujmolekulinius vandeniinius ryšius. Tipiškas molekulių junginių darinys yra iminai, kuriuose Šifo bazė veikia kaip funkcinė grupė. Iminų tipo aromatiniai anilai formuojami iš anilino su fenilu ar jų grupių pakaitalų, yra gerai žinomi dėl savo fotochrominių ir termochrominių savybių. [42-70] Salicylideneaniline (SA) yra plačiai tiriamas dėl anilo (Šifo bazės) grupės [42,43,46,48-53,55,58,61,63,68]. Vidujmolekulinė protonų pernaša aniluose yra susijusi su ketoenoline tautomerizacija. Ši reakcija daro anilus įdomiais praktiniame pritaikyme, t.y. fotoapsaugoje, fotocheminėse energijos virsmuose ir kituose procesuose [71,72].

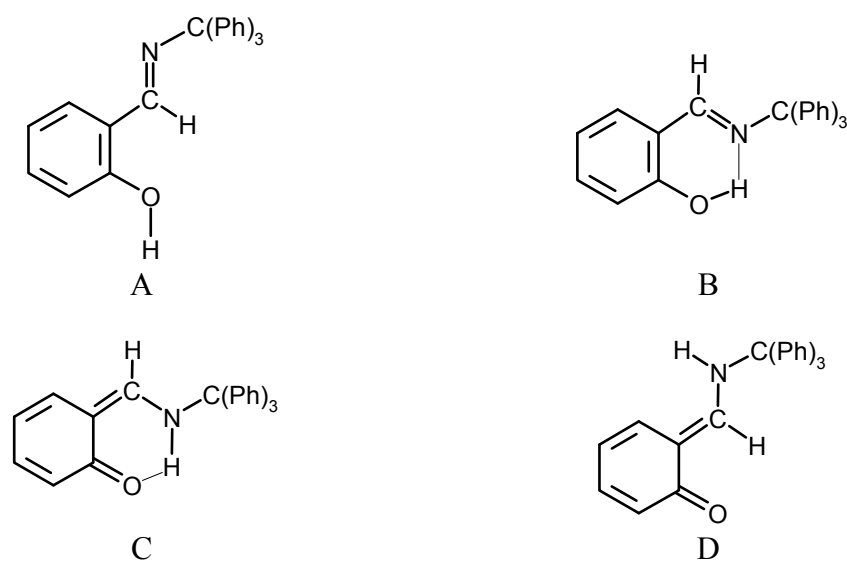
Anilo tipo molekulėms enolinės ir ketoninės tautomerų formos susiformuoja priklausomai nuo molekulės struktūros ir aplinkos sąlygų. Paprastai enolinis tautomeras būna labiau stabilus ir dominuoja tirpaluose. Protono pernašos (perėjimas iš enolinės į ketoninę ir atvirkščiai formas) savybėms yra svarbi tirpiklio įtaka. Ilgabangės absorbcijos juosta, susiejama su *cis*-ketoniniu tautomeru, paprastai matoma tik poliniuose tirpikliuose. Tačiau anilo tipo molekulių *cis*-ketoninė forma egzistuoja ir silpnai poliniuose tirpikliuose [59].

Įvairios anilų molekulių tautomerų formos gali turėti įvairias fotochromines savybes [43,46,49-50,53,55-57,60-61,63,66-68, 161]. Po pagrindinės enolinės tautomero formos fotosužadavimo, vyksta labai greita protono pernaša, o vėliau susidaro fluorescencinis *cis*-ketoninis tautomeras [49-50,55-56,60-



61,67-70,161]. Sužadintoje būsenoje susidaręs *cis*-ketoninis tautomeras per pikosekundes grįžta į pagrindinę būseną kaip enolinis tautomeras, arba kaip fotoproduktas – *trans*-ketoninis tautomeras. Pastarajam fotoproduktui paprastai būdinga ilga gyvavimo trukmė, siekianti daugiau nei kelias nanosekundes [49-50,55] ar net kelias mikrosekundes [56,61,68,70]. Tokia tautomerizacijos reakcija sužadintoje būsenoje pastebėta įvairiose anilo molekulėse, tačiau vis dar neaišku, kaip ši reakcija priklauso nuo molekulinės struktūros bei aplinkos.

Čia mes pateikiame eksperimentinius ir juos aiškinančius teorinius rezultatus, kuriuose analizuojama sužadinimo būsenos dinamika įvairiuose tautomerinėse (4.1 pav.) N-triphenylmethylsalicylidene iminie (MS1) formose, esant poliniuose tirpaluose. MS1 molekulė yra pratęsta trimis fenolio žiedais prijungtais prie anglies atomo per metilo grupę. MS1 enolinės formos molekulių pagrindinės būsenos pusiausvyra vyksta labai panašiai kaip ir kitais anilų molekulių atvejais, tačiau sužadinti *cis*-ketoniniai tautomerai turi skirtingas gyvavimo trukmes. Šį skirtumą, esantį etanolio molekulių tirpiklyje, priskiriame vandenilniams ryšiams susijusiems su MS1 *cis*-ketoninėmis molekulėmis. Eksperimentiniai rezultatai buvo palyginti su kvantinės chemijos skaičiavimais, aprašant geometrines struktūras ir jų energijas įvairiuose tautomerinėse MS1 molekulių formų bei jų kompleksų su etanolio molekulėmis.



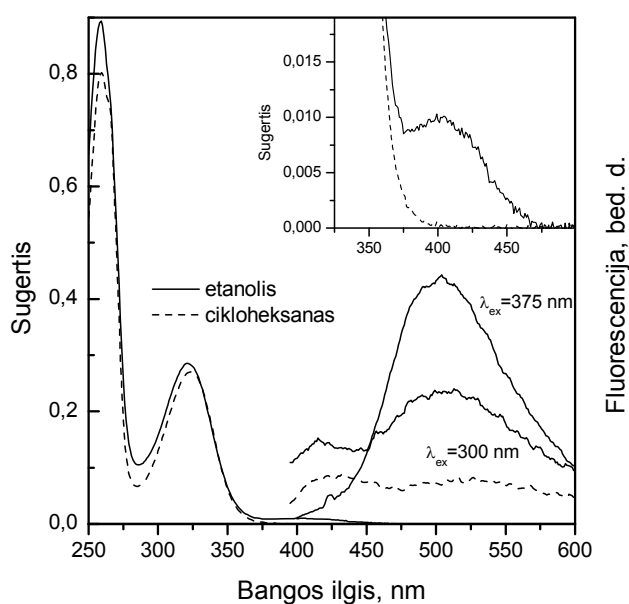
**Pav. 4.1** MS1 tautomerinės formos ir jų cheminės struktūros:

A – atvira enolinė forma; B – uždara enolinė forma;

C – *cis*-ketoninė forma; D – *trans*-ketoninė forma.

## 4.1 Eksperimentinis pagrindimas

Eksperimentiškai išmatuoti MS1 molekulės sugerties spektrai cikloheksane ir etanolyje pateikti 4.2 paveiksle. UV sugerties juostų spektrai yra ties 260 nm (4,77 eV) ir 320 nm (3,88 eV), o silpnas sugerties spektras ties 400nm (3,1 eV) stebimas esant etanolio tirpiklyje. Panašus spektras Šifo bazę turintiems junginiams taip pat buvo gautas SA [50,55,60], salicylidene-1-naphthylamine(SN) [63] ir *N*-salicylidene-*p*-methylaniline [54]. Ilgabangės sugerties juostos maksimumas apie 340 nm (3,65 eV) SA [50,60,63,162], apie 350 nm (3,55 eV) SN [63] priskiriamas žemiausiam  $\pi$ - $\pi^*$  šuoliui, atitinkančiam enolinius tautomerus. Analogiškai MS1 molekulei 320 nm (3,88 eV) šuolis priskiriamas uždrai enolinei tautomero formai (Pav 4.1).

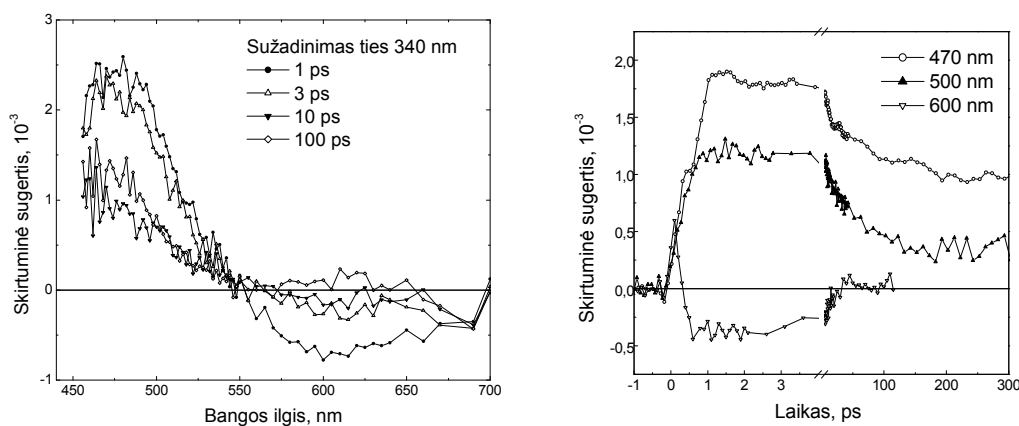


**Pav 4.2** MS1 molekulės sugerties ir florescencijos spektras skirtinguose tirpikliuose su padidintu sugerties spektru (intarpe).

Paveiksle 4.2 taip pat pavaizduotas ir florescencinis spektras. Dvi silpnos florescencinės juostos yra stebimos tiek cikloheksane, tiek etanolyje ties 300 nm (4,14 eV), o ilgabangė florescencijos juosta ties 505 nm (2,46 eV) matoma po 375 nm (3,31 eV) sužadimo tik etanolyje. MS1 florescencija, cikloheksane, ties 375 nm sužadimo buvo per silpna, kad būtų stebima. Dvi flores-

cencinės juostos MS1 molekulėms esant poliniuose tirpikliuose yra anksčiau stebėta [62] ir priskirtos skirtingoms tautomerinėms formoms. MS1 molekulės didelis stokso poslinkis ilgabangės florescencijos srityje bei didelė priklausomybė nuo tirpiklio parametrų patvirtina, kad vyksta vidujmolekulinė protono pernaša sužadintoje būsenoje. Tai sutampa su kitais relaksacijos modeliais taikomais panašioms molekulėms aprašyti [46,50,55-56,61].

Femtosekundinis skirtuminis MS1 molekulės sugerties spektras pateiktas 4.3 A paveiksle. Sužadinimo energija yra ties 340 nm (3,65 eV). Spektras turi stiprią sugerties juostą mėlynoje spektro dalyje ir neigiamą signalą raudonajame ruože ties 550 – 700 nm. Panašus skirtuminis spektras buvo gautas SA [49-50,55,163] ir *N*-(3methylsalicylidene)-3-methylaniline [67] molekulėms.



**Pav 4.3** Skirtuminis sugerties MS1 molekulės etanolyje spektras, esant skirtingiems užlaikymams po sužadinimo (A) ir ties skirtingais bangos ilgiais spektro kinetika (B), esant  $\lambda_{\text{ex}}=340$  nm.

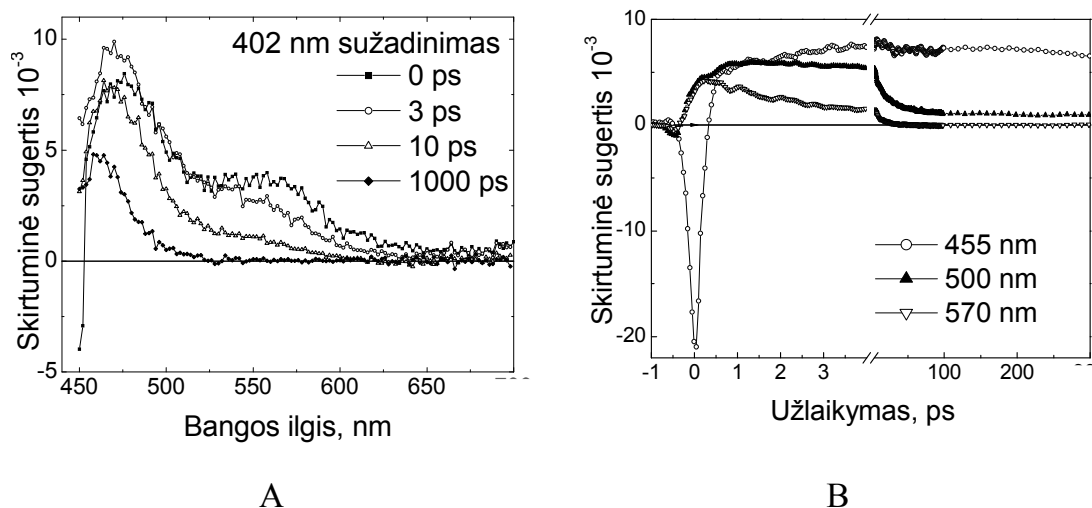
Skirtuminių spektrų dinamika yra siejama su sugertimi ir stimuliuota emisija, pavaizduota 4.3 B paveiksle. Stimuliuotos emisijos delsa yra apie 12 ps. Skirtuminis spektras ir kinetika MS1 molekulei, esant tiek cikloheksane, tiek etanolyje ekperimentinių matavimų tikslumu yra vienodi.

4.4 A paveiksle pavaizduota skirtuminio MS1 molekulės spektro kinetika, etanolio tirpiklyje, kai sužadinimas yra ties 402 nm (3.09 eV). Jis turi kelis esminius skirtumus, lyginant su gautais žadinant ties 340 nm (3,65 eV):

- i. Indukuotoji juosta ties 560 nm (2,22 eV) yra gerai matoma.
- ii. Nebuvo stebėtas jokia stimuluota emisija ilgabangėje spektro srityje.
- iii. Neigiamas signalas trumpabangėje spektro pusėje (žemiau 440 nm) yra aiškiai matomas ties nuliniu laiko momentu.
- iv. Ilgai gyvuojanti indukuotoji sugertis pasislenka į trumbangę pusę.

MS1 molekulės etanolyje skirtuminių spektrų kinetika, esant žadinimui ties 402 nm, yra pateikta 4.4 B paveiksle. Stiprus trumpai gyvuojantis signalas trumpabangėje spektro srityje, atspindi labai greitą relaksacijos procesą. Tikėtina, kad tai yra stimuluotoji emisija, nes pirmiausia sugerties spektras yra labai silpnas, taigi tik silpnas sugerties išblukimas yra tikėtinas. Be to sugerties išblukimas turėtų būti ilgesnis ar bent jau netrumpesnis negu sužadavimo gyvavimo trukmė.

Ši stimuluotoji emisija atitinka sužadinto *cis*-ketoninės tautomero Franko-Kondono būseną. Stebimas ilgabangėje indukuotos sugerties juostos spektro srityje užlaikymas atitinka reklasaciją sužadintoje būsenoje, kuri trunka kelias dešimtis ps. Tuo metu atsiranda ilgai gyvuojantis fotoprofuktas, atitinkantis sugerties juosta žemiau 500 nm (2,48 eV).



**Pav. 4.4** MS1 molekulės etanolyje skirtuminis spektras, esant įvairioms trukmėms po sužadavimo, (A) ir trumpalaikė sugerties kinetika, esant skirtingiems zodavimo bangos ilgiams, (B),  $\lambda_{ex}=402$  nm.

## 4.2 Skaičiavimo metodai

Standartinė tankio funkcionalo teorija (DFT) su trijų parametru Becke3-Lee-Yang-Parr (B3LYP) pakaitos koreliacijos funkcionalu ir 6-311++G(2d, p) bazine funkcija buvo naudojama MS1 molekulės pagrindinės elektroninės būsenos geometrijos optimizavimui. TD-DFT su tuo pačiu tankio funkcionalu buvo naudojamas singuletinėms sužadavimo energijoms skaičiuoti. Kvantinės chemijos paketas Gaussian 03 buvo naudojamas skirtingų tautomerų ir jų kompleksų su etanolio molekulėmis elektroninių struktūrų skaičiavimams. GaussView-3.09 paketas buvo naudojamas analizuojant ir vizualizuojant rezultatus. Kai kuriais atvejais nagrinėjant santykinę struktūrų stabilumą, buvo atsižvelgta į ZVE.

## 4.3 Pagrindinės ir sužadintos elektroninės būsenos

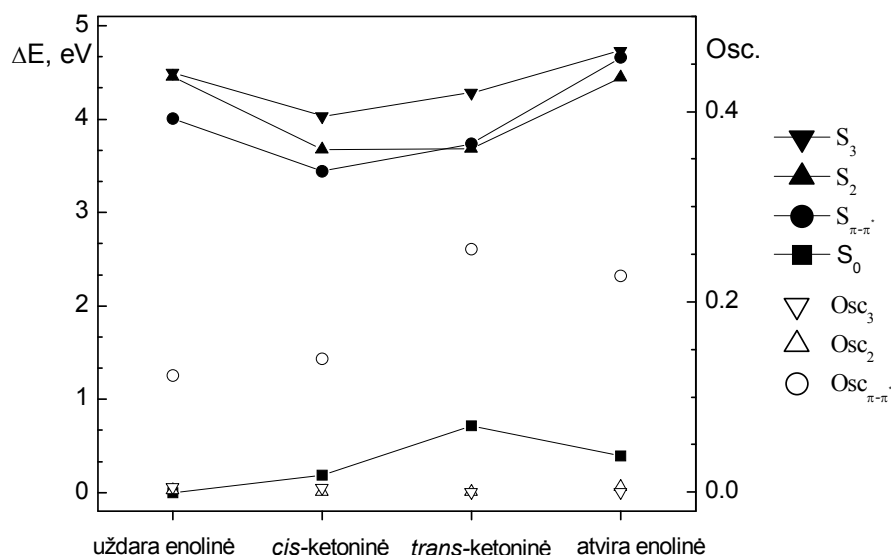
Molekulės geometrija buvo nustatyta naudojantis kvantinė chemijos skaičiavimais:

- i) skaičiuojant vakuume (neįskaitant aplinkos įtakos);
- ii) modeliuojant tirpiklio įtaką, šalia tiriamosios molekulės patalpinant tirpiklio molekules.

Atskirtų molekulių skaičiavimais buvo nustatytos keturios pagrindinės tautomerinės formos (4.1 pav.): *cis*-ketoninė, *trans*-ketoninė, uždara enolinė ir atvira enolinė. Protonuotoji Šifo bazė yra *cis*-ketoninių ir *trans*-ketoninių formų tautomeruose, tuo tarpu uždarų enolinių ir atvirų enolinių formų tautomerų vandenilio atomas yra prisijungęs prie deguonies atomo (4.1 pav.). DFT geometrijos optimizavimas parodė, kad trys fenolio žiedai turi dvi stabilias padėtis su šiek tiek skirtingomis energijomis, išskyrus atvirą enolinę tautomerą, kuris turi tik vieną stabilią struktūrą. *Cis*-ketoninių bei uždarų enolinių formų tautomerų energijų skirtumai tarp tų pačių formų dviejų struktūrų yra mažesni nei 0.02 eV, o *trans*-ketoniniu atveju skirtumas siekia apie 0.1 eV.

Stabiliausių tautomerinių formų pilnos energijos su dvisieniais kampais, nurodančiais fenolio žiedais padėtis, pateikti 4.1 lentelėje. Uždarios enolinės formos tautomerai turi žemiausią energiją pagrindinėje elektroninėje būsenoje.

Apibendrinti rezultatai yra pateikti 4.5 paveiksle. Jame taip pat pateiktos trys žemiausios singuletinės energijos ir atitinkamų elektroninių šuolių osciliatorių stiprumai.  $S_0$ - $S_1$  šuolis yra  $\pi$ - $\pi^*$  tipo ir yra optiškai leistinas.



**Pav. 4.5** MS1 molekulės formų pagrindinės ir trijų žemiausių sužadintų būsenų santykinis energijos bei atitinkamų sužadintimų osciliatorių stipriai. Tirpiklio įtakos nepaisoma.

**Lentelė 4.1** MS1 stabiliausi tautomerai pagrindinėje būsenoje. Jų santykinės energijos, kai neatsižvelgiama į tirpiklio molekules.

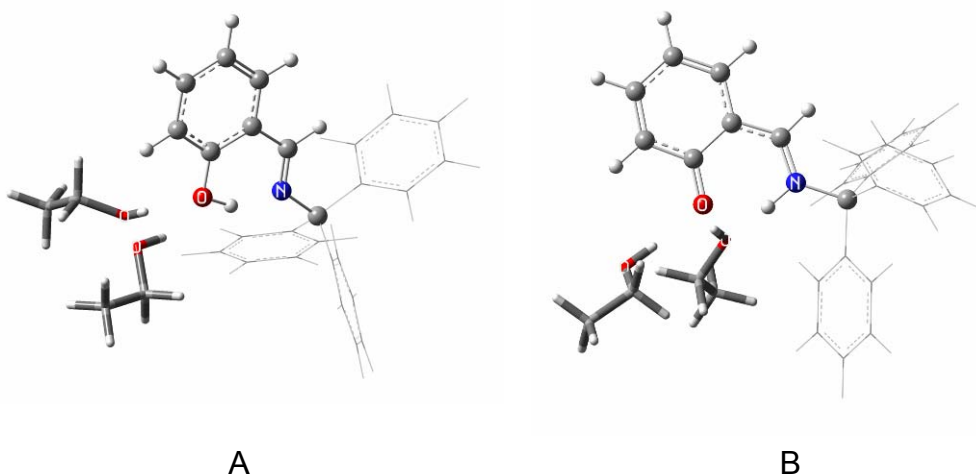
Skaičiavimuose į ZVE nebuvo atsižvelgta.

Strukūra	Žiedo 1* dvisienis kampas, deg	Žiedo 2* dvisienis kampas, deg	Žiedo 3* dvisienis kampas, deg	$\Delta E (S_0), eV$
<i>cis</i> -ketoninė	-131	-26	109	0.18
<i>trans</i> -ketoninė	33	147	-105	0.72
uždara enolinė	-9	121	-117	0.0
atvira enolinė	-117	18	124	0.39

\* Dvisienis kampas nurodytas 4 atomais: C-N-C atomai iš Šifo bazės ir antras atomas iš atitinkamo fenolio žiedo (C atomus skaičiuojant pagal laikrodžio rodyklę, 4.1 ir 4.6 pav.).

Eksperimentiniuose matavimuose MS1 molekulės yra tirpikliuose. Įvairūs vandeniliniai ryšiai tarp kompleksų tikėtini poliniuose tirpikliuose, kadangi MS1 tautomerai gali sudaryti vandenilinius ryšius su viena ar keliomis polinių

tirpiklių molekulėmis. Stabilios MS1 tautomerinės struktūros yra uždaros enolinės formos ir *cis*-ketoninės formos, sudariusios kompleksus su dviem metanolio molekulėmis (4.6 pav.). Galimų kompleksų susidarymo energijos pateiktos 4.2 lentelėje. Susidarymo energija buvo nustatyta kaip skirtumas kaip bendros molekulių komplekso energijos ir atskirų molekulių energijos, skaičiavimams pasitelktas B3LYP/6-311++G(2d,p) metodas. Skaičiavimuose buvo atsižvelgta į ZVE. Beveik visi tiriami vandenilinių ryšių kompleksai suformuoti panašaus tipo vandenilinių ryšių (vandenilinis ryšys tarp etanolio vandenilio atomo MS1 molekulės deguonies atomo arba etanolio) ir atitinkama susidarymo energija gali būti laikoma vienos ar dviejų vandenilinių ryšių energija. Vandenilio ryšio energija lygi 0,145 eV komplekse tarp uždaros enolinės formos tautomero ir vienos etanolio molekulės. Vandenilio ryšio energija tarp atviros enolinės formos tautomero su antrąja etanolio molekule lygi 0,314 eV. Pastarasis vandenilinis ryšys yra vienas stipriausių, lyginant su kitais tyrinėjtais variantais. Jis susiformuoja kaip ryšys tarp deguonies atomo iš etanolio molekulės ir vandenilio atomo iš MS1 atviros enolinės formos OH grupės. Reikėtų pažymėti, kad vandenilinio ryšio energija yra daug didesnė *cis*-ketoninės formos tautomerui nei uždaros enolinės formos tautomerui. Taigi, energetiškai patogiausia egzistuoti *cis*-ketoninės formos tautomerui su dviejų etanolio molekulėmis kompleksui. Jau trečiame skyriuje parodėme 2-(*N*-methyl- $\alpha$ -iminoethyl)-phenol molekule atveju, kad ketoninė tautomero forma yra stabilesnė, kai atsiranda tirpiklio vandenilinių ryšių tinklas. Vandenilinių ryšių susiformavimas MS1 komplekse su dviem etanoliais leidžia daryti prielaidą, kad uždaros enolinės formos tautomeras, kuris yra energetiškai palankesnis kai molekulės yra izoliuotos, persiformuos į *cis*-ketoninę formą.



**Pav. 4.6** MS1 ir 2 etanolų komplekso modeliai analizuoti teoriškai:  
(a) uždaros enolinės formos ir (b) *cis*-ketoninės formos tautomerai.

**Lentelė 4.2** Tyrinėtų MS1 kompleksų susidarymo pagrindinėje elektroninėje būsenoje energijos. Skaičiavimuose ZVE nebuvo įskaitytas.

Kompleksas 1	Kompleksas 2	$\Delta E$ , eV
etanolis	etanolis	0.167
<i>cis</i> -ketoninis	etanolis	0.282
<i>cis</i> -ketoninis su etanolio	etanolis	0.175
uždaras enolinis	etanolis	0.145
uždaras enolinis su etanolio	etanolis	0.147
<i>trans</i> -ketoninis	etanolis	0.295
<i>trans</i> -ketoninis su etanolio	etanolis	0.285
atviras enolinis	etanolis	0.155
atviras enolinis su etanolio	etanolis	0.314
<i>cis</i> -ketoninis	uždaras enolinis	0.172

#### 4.4 Rezultatų aptarimas

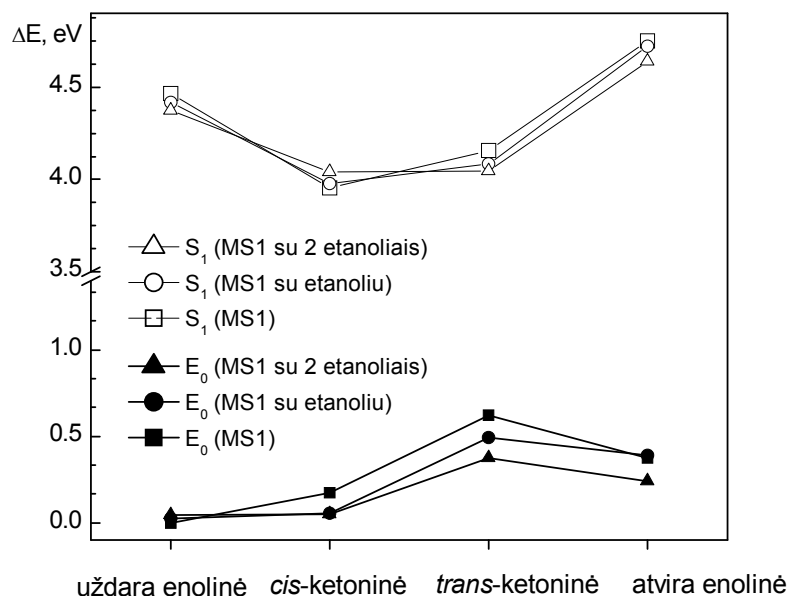
Įvertinant įvairių tautomerinių formų stabilumą tirpaluose turi būti atsižvelgiama į galimų vandenilinių ryšių susidarymą. Remiantis mūsų skaičiavimais, vieno vandenilinio ryšio tarp dviejų etanolio molekulių energija lygi 0,167 eV. Tad reikia lyginti vandenilinio ryšio susidarymo energiją tarp MS1 ir etanolio molekulės su vandenilinio ryšio tarp dviejų etanolio molekulių energija. Taigi:



$$\Delta E = -E (MS1 - ethanol) + E (ethanol - ethanol)$$

Akivaizdu, kad ši energija bus neigiama, jei vandenilinio ryšio energija tarp MS1 ir etanolio molekulės yra didesnė nei vandenilinio ryšio energija tarp dviejų etanolio molekulių, o priešingu atveju ji bus teigiama. Apskaičiuotos pagrindinės elektroninės būsenos tautomerų energijos yra pavaizduotos 4.7 paveiksle. Pažymėtos energijos yra izoliuotų MS1 molekulių pateiktų 4.1 lentelėje ir vandenilinių ryšių susiformavimo energijos. Atliekant pastaruosius skaičiavimus buvo atsižvelgta į ZVE. Kaip matyti uždaros enolinės formos tautomeras be vandenilinio ryšio su etanolio molekulemis atitinka žemiausios energijos būseną. Šio tautomero komplekso susidarymo su vienu ar dviem vandenilniais ryšiais su etanolio molekulemis energijos atitinkamai lygios 0,22 eV ir 0,42 eV. *Cis*-ketoninės formos tautomeras su vienu ar dviem vandenilniais ryšiais su etanolio molekulemis turi beveik tas pačias susidarymo energijas lygias 0,49 eV. Ji yra aukštesnė už uždaros enolinės formos tautomero be vandenilinių ryšių energiją. Naudojantis Bolcmano pasiskirstymo įverčiu galime tikėtis, kad apie 14% MS1 molekulių turi būti *cis*-ketoninėse formose su vienu arba dviem vandenilniais ryšiais su etanolio molekulemis. Tuo tarpu kitos molekulės turėtų būti uždaros enolinės formos, o dauguma iš jų (apie 62%), tikėtina, nesudaro vandenilinių ryšių su etanolio molekulemis. Ši kokybinė analizė sutampa su eksperimentiniais absorbcijos spektrais, demonstruojančiais tik silpną *cis*-ketoninės formos tautomero absorbcijos juostą etanolio tirpale, kas rodo, kad tik apie 3% MS1 molekulių yra *cis*-ketoninės formos.

S<sub>1</sub> sužadintos būsenos energijos (4.7 pav.) buvo apskaičiuotos pridėdant TD-DFT metodu gautą sužadinimo energiją prie pagrindinės būsenos, kurios skaičiavimas jau buvo aptartas. Nagrinėjamos skirtingų tautomerų santykinės S<sub>1</sub> sužadinimo būsenos energijos yra kokybiškai panašios į tas, kurios pateiktos 4.5 paveiksle.



**Pav. 4.7** MS1 tautomerų etanolio tirpalo aplinkoje santykinės pagrindinės būsenos energijos ir atitinkamos  $\pi$ - $\pi^*$  sužadinto būsenos energijos.

Remiantis mūsų skaičiavimais, galime teigti, kad uždari enoliniai tautomerai nesudaro vandenilinių ryšių net poliniuose tirpikliuose. Tai stebima eksperimentiniuose duomenyse. Taip pat skaičiavimai patvirtina išvadą, kad MS1 molekulės silpnai poliniame tirpiklyje yra uždaroje enolinėje formoje.

Molekulių MS1 ir SA sugerties spektrų panašumas [49,50,55,60,61] rodo, kad trys fenolio žiedai daro silpną poveikį molekulės pagrindinei būsenai. Skirtuminių spektrų dinamika Uždaros enolinės formos molekulėse sužadintoje būsenoje sutampa su siūlomu lit. [55]. Pagal šį modelį intramolekulinė protonų pernaša vyksta subpikosekundinėje laiko skalėje uždaram enoliniam MS1 tautomerui sužadintoje būsenoje pereinant į *cis*-ketoninę formą. Skaičiavimai patvirtina šį procesą, kuris rodo, kad sužadintas *cis*-ketoninis tautomeras yra žemesnės energijos, lyginant su sužadinta uždara enoline forma. Molekulės relaxuoja dviem būdais:

- tiesiogiai į *cis*-ketoninę tautomero pagrindinę būseną;
- įvyksta *trans*-ketoninės formos konformaciniai procesai.

Kadangi *cis-trans* transformacija yra pakankamai didelio masto konformacijos pokytis, galima manyti, kad ji stipriai priklauso nuo fenolių, kurie

daro labai didelę įtaką visai struktūrai. Vis dėlto skaičiavimai rodo, kad MS1 molekulių sužadintos būsenos relaksacijos trukmės yra apie 10 ps, t.y. beveik dvigubai ilgesnė, nei literatūroje [55] minimo 6 ps, gaunamo SA molekulei. MS1 *trans*-ketoninio tautomero susiformavimo efektyvumas yra gana panašus į kitų anilų molekulių [56,67]. Taigi, trijų fenilo žiedų buvimas mažai įtakoja relaksacijos dinamiką.

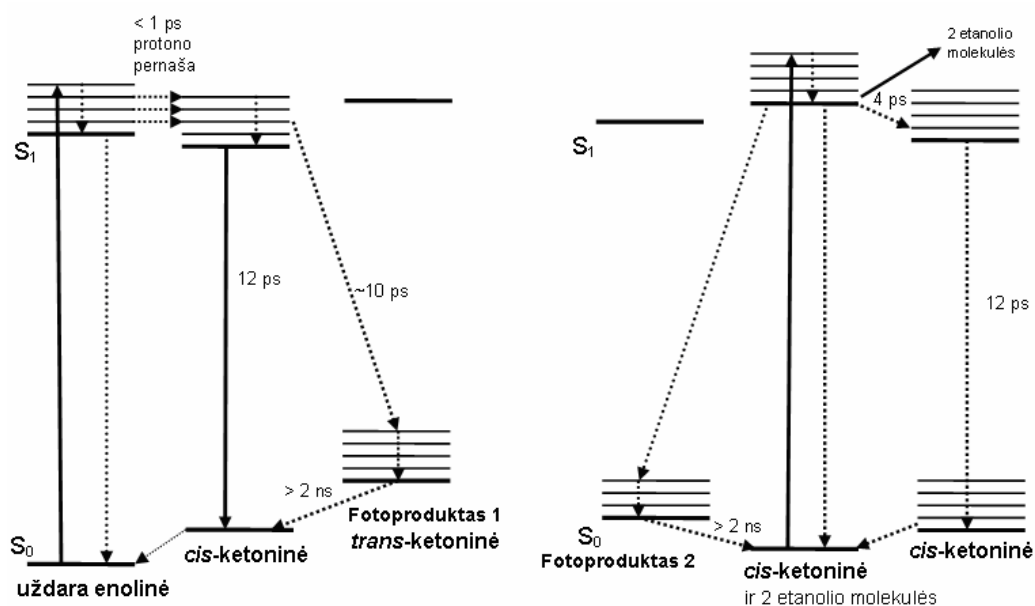
Sužadintas *cis*-ketoninis tautomeras sukuria trumpai gyvuojantį fotoproduktą sužadintoje būsenoje pasižymintį skirtingomis spektrinėmis savybėmis lyginant su tomis, kurios yra gaunamos žadinant uždarus enolinius tautomeras. Ketoninės formos molekulių žadinimas turėtų sukurti tokias pačias trumpai gyvuojančias sužadintas *cis*-ketonines struktūras, kur pagal anksčiau aprašytą schemą, po sužadinimo uždaras enolinis tautomeras gyvuoja apie 50 fs [56,61]. Įvairūs trumpalaikiai sugerties spektrai gauti žadinant uždarytą enolinių ir *cis*-ketoninių formų molekules rodo, kad šis modelis turėtų būti patikslintas. Panašūs sugerties spektrai, turintys dvi absorbcijos juostas taip pat pastebėti BSP molekulėse, esančiose labai stipriuose protonų donorų tirpikliuose, sužadinant ketoninės formos molekules [68] ir net N-(3,5-ditert-butylysalicylidene)-2-aminopyridino ir N-(3,5-ditert-butylysalicylidene)-4-aminopyridino aprotoniniuose tirpikliuose [69], kurių sudėtyje yra tik enolinės formos molekulės. Vis dėlto, ilgabangės indukuotos sugerties kilmė dar nebuvo analizuota ir pagal tyrimus *a priori* priskiriamam kaip būdinga molekulių savybė.

Mūsų rezultatai vienareikšmiškai rodo, kad MS1 struktūros (su ilgabangės sugerties juosta) gali būti sukurtos tik tiesiogiai sužadininant *cis*-ketoninės formos molekules. Tiesioginis sužadinimas duoda sužadintą *cis*-ketoninę būseną su viena ar dviem vandeniliškai surištomis etanolio molekulėmis, skirtingai nuo sužadintinos *cis*-ketoninės formos, gautos iš sužadintos uždaros enolinės formos, kuri neturi vandenilinių ryšių su etanolio molekulėmis. Vandeniliniu ryšiu surištos tirpiklio molekulės daro įtaką elektroninėms savybėms sužadintose būsenose ir / arba pakeičia jų relaksacijos būdus. Kadangi ilgabangės indukuotos sugerties juostos atsiranda akimirksniu žadinant *cis*-ketoninius tau-

tomerus, ji turėtų būti priskirta prie *cis*-ketoninių sužadintų molekulių Franko-Kondono būsenų.

Kitas svarbus efektas – nestebima stimuliuota emisijos juosta, stebint tiesiogiai *cis*-ketoninės formos sužadintas molekules. Stimuliuota spinduliuotė stebima tik nulinio užlaikymo metu esant trumpiems zondojančio impulso bangos ilgiams (4.4 A pav.). Tai gali būti susiję su molekulės konformacijų susidarymais. Kai kurių molekulinų ryšių sukimasis gali suformuoti "tamsines" būsenas, turinčias silpną šuolio dipolinį momentą. Ši prielaida yra iškelta remianti rezultatais [69], kur tirpikliuose pastebėtas tik silpna priverstinės spinduliuotės juosta N-(3,5-ditert-butylsalicylidene)-2-aminopyridino ir N-(3,5-ditert-butylsalicylidene)-4-aminopyridino molekulėse, o priverstinės spinduliuotės juosta yra daug stipresnė kietoje agregatinėje būsenoje, kur konformaciniai molekulių pokyčiai nėra galimi.

Fotoproduktų susiformavimas pastebėtas daugelyje tiriamų anilo klasės molekulių [49-50,55-56,60-61,66-70,161]. Sužadinimo metu fotoproduktas paprastai priskiriamos *trans*-ketoninės formos tautomero susiformavimui. MS1 molekulių sugerties spektro forma, sužadinant uždarus enolinius tautomeras, yra labai panaši į kitų anilo tipo molekulių sužadinimus ir taip pat turėtų būti priskirta *trans*-ketoniniams tautomerams. Skaičiavimai rodo, kad MS1 *trans*-ketoniniai tautomerai turi siaurą energijos tarpą, ir todėl iš tikrųjų gali būti atsakingi už stebimas ilgai gyvuojančias struktūrų sukeltas sugertis. Vis dėlto, fotoproduktas, suformuotas iš tiesioginio *cis*-ketoninio tautomero sužadinimo, yra kitoks ir jį pavadinsime fotoproduktu 2 (4.8 pav.). Fotoprodukto 2 raudonojo poslinkio absorbcijos spektras eksperimentiniuose matavimuose yra tik apie 20-30 nm lyginant su pastovios *cis*-ketoniniu tautomero sugerties spektru. Todėl labai tikėtina, kad skirtingas yra ne *trans*-ketoninis tautomeras, o modifikuotas *cis*-ketoninis tautomero konformeris, ką patvirtina kvantinės chemijos skaičiavimai. Ši analizė sutampa su sunkiai paaiškinamu faktu, kodėl konformacinis *cis*-ketoninis tautomeras nėra suformuojamas sužadinant atviros enolinės formos tautomerą.



**Pav. 4.8** MS1 molekulių tautomerų uždaros enolinės formos (kairėje pusėje) ir *cis*-ketoninės formos (dešinėje pusėje) relaksacijos modelis.

Tikėtina, kad etanolio molekulių vandeniliniai ryšiai trukdo MS1 molekulių konformaciniams judesiams. MS1 molekulės turi tris dideles fenolio grupes iš vienos molekulės pusės (4.6 pav.). Prikabintos etanolio molekulės yra prisijungusios prie molekulės kitos dalies ir trukdo reakcijai, kuri susijusi su tautomerizacija. Mūsų relaksacijos modelis pateiktas 4.8 paveiksle. Kairėje dalyje apibūdinamas supaprastintas sužadintos atviros enolinės formos tautomero modelis sutampa su žinomu literatūroje [55], o dešinėje dalyje pateiktas mūsų papildomas relaksacijos modelis sužadintam *cis*-ketoniniam tautomerui.

## 4.5 Išvados

Subnanosekundinė fluorescencija ir femtosekundinė žadinimo-zondavimo spektroskopijos absorbcija, kartu su kvantinės chemijos skaičiavimais, buvo naudojami tirti fotosužadintai MS1 molekulių relaksacijai. MS1 molekulių fluorescencija yra labai silpna ir buvo maždaug 3ns trukmės, kuri turėtų būti siejama su MS1 dimero fluorescencija. Žadinimo-zondavimo spektroskopijos sugertis atskleidė skirtingas MS1 sužadintos būsenos spektrines savybes ir relaksacijos mechanizmus, kai uždaros enolinės ir *cis*-ketoninės for-

mos molekulės relaksuoja. Sužadintų uždaros enolinės formos molekulių relaksacija pasireiškia labai panašiai, kaip ir kitoms anilo molekulėms. Papildomi trys fenolio žiedai iš esmės neturi įtakos relaksacijos vyksmams.

Fotosužadintos *cis*-ketoninės formos molekulės turi papildomą ilgabangę sužadinimo būsenos sugerties juostą ir sukuriamas fotoproduktas su sugerties spektru ir mažesniu poslinkiu į ilgabangę pusę, lyginant su gaunamu iš sužadinimo uždaros enolinės formos molekulių. Tai priskirtina konformatiškai deformuotai *cis*-ketoninei formai. Remiantis kvantinės chemijos skaičiavimais galima teigti, kad sužadinimo būsenos savybės uždaros enolinės ir *cis*-ketoninės formų molekulėms yra susijusios su etanolio molekulių vandenilinių ryšių energetiniais skirtumais.

## 5. BR aktyvusis centras ir baltymo aplinka

Halobakterijos [164] membranose esantis baltymas yra baktetiodopsinas (BR), kuriame, kai yra apšviečiamas retinalis, vyksta šviesos indukuota protonų pernaša. BR monomerą sudaro dvi pagrindinės sudedamosios dalys: bakterio-opsino (BO) baltymas, sudarytas iš septynių alfa spiralių, ir retinalio chromofora, BO viduje prisijungusi prie Lys 216 radikalo per protonuotą Šifo bazę [165]. Visgi yra daug neaiškių klausimų susijusių su fotoaktyvių baltymų elektrodinamika ir elektrostatika. Daugeliu atveju, dėl paviršinių elektrinių krūvių ir dipolių, membraniai baltymai yra nesimetriniai [13-18]. Eksperimentiniai duomenys rodo, kad purpurinės membranos (PM) orientacija ir dipolinis momentas priklauso nuo aukštadažnių išorinių laukų, tuo tarpu žema dažniu išoriniu lauku tokios įtakos nėra [19,166-169]. Elektrinė asimetrija, atrodo, yra pagrindinė protonovaros jėga, sukianti protonų pernašą per membraną [170]. Dipolinis momentas buvo nustatytas iš elektro-optinių matavimų. Tačiau taip pat nustatyta, kad dipolinio momento dydis priklauso nuo koncentracijos PM fragmentuose, joninės aplinkos, pH ir kitų elementų, trikdančių membranos paviršių [19-23]. PM elektrinių parametrų prigimtis tebėra nelabai

aiški. Toliau ją analizuosim molekulių mechanikos metodais, lygindami su eksperimentiniais rezultatais.

Dauguma eksperimentų, kurie galėtų aprašyti krūvio asimetriją, rodo neigiamą krūvį citoplazminėje (atitinkamai vidinėje ląstelės) pusėje, kol pH yra mažas [171-172]. Membranų fragmentų judėjimas ir orientacija gali būti veikiami per kvazistatinį elektrinį lauką [15]. Analizuojant fotoatsako signalą buvo prieita išvados, kad citoplazminė pusė yra daugiau neigiama, kai pH yra didesnis už 5, ir atvirkščiai, daugiau teigiama, kai pH yra mažiau už 5 [173] ir abi pusės vienodai įkrautos kai pH yra 5 [173-174]. Dipolinis momentas BR molekulėje normaliomis sąlygomis yra nukreiptas iš cytoplazminės pusės į išorinę membranų pusę. Tai buvo nustatyta analizuojant PM juostų sugerties spektro evoliuciją [170] Kimura ir bendraautorų [19] prielaidomis. Pavyzdžių dehidratacija turi lemiamą įtaką PM elektrinei asimetrijai. Pagal sausų plėvelių PM elektrostatinės savybės galima nustatyti BR dipolinį momentą [170]. Elektrostatinės savybės rodo, kad sausose PM plėvelėse, gautuose esant žemoms pH vertėms, nėra jokios įtakos BR dipoliniam momentui, kas patvirtina prielaidą, kad, sausose plėvelėse dipolinio momento prigimtis yra kitokia nei esant vandens terpėje.

Mūsų tyrimo tikslas yra susieti fotoelektrinio atsako BR sausų plėvelių eksperimentinius tyrimus su apskaičiuotais vidinių dipolinių momentų dydžiais. BR dipolinio momento vertės, nulemtos baltymo skirtingų dalių, gautos kvantinės mechanikos ir molekulių mechanikos (QM/MM) skaičiavimo metodais. Galimas pastovaus dipolinio momento vaidmuo patvirtina protono pernašą BR viduje [20].

## 5.1 Eksperimentiniai duomenys

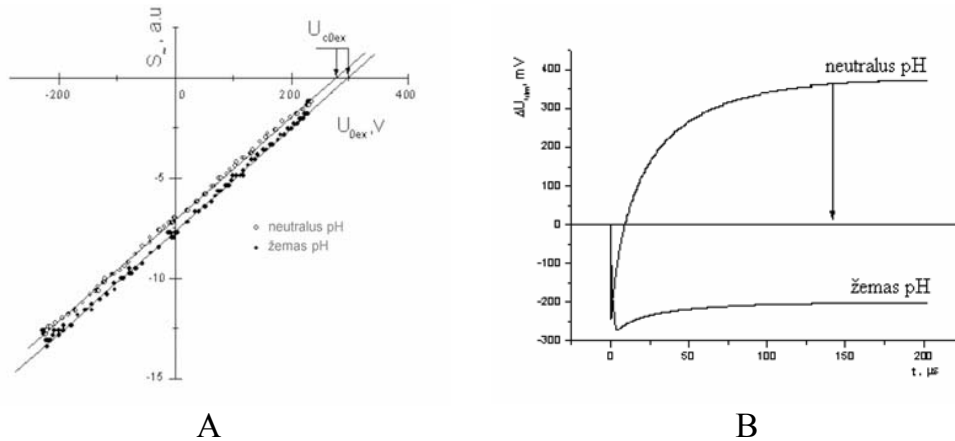
Sausų plėvelių PM plėvelių elektro-akustiniais matavimai, esant dvejoms skirtingoms pH vertėms, yra pateikti 5.1 paveiksle. Plėvelės buvo rūgštintos tol, kol pH tapo lygi 2, o po to jos išdžiovinotos. Įtampos poslinkis  $U_{C0ex}$  neutralioms ir parūgštintoms plėvelėms atitinkamai yra 279 ir 299 V. Rezultatai rodo, kad BR dipolinis momentas (DM) yra orientuotas nuo citoplazminės pusės į

išorinę ląstelės pusę membranoje. Remiantis elektroakustinių matavimų rezultatais, DM dydis kokybiškai yra nepriklausomas nuo pH (5.1 pav.), kas prieštarauja eksperimentiniams tyrimams, kur PM suspensijos keičia DM vertes priklausomai nuo pH [19-23]. Rezultatai pateikti 5.1 A paveiksle leidžia tiesiogiai nustatyti  $U_{C0ex}$  vertę ir atitinkamai nustatyti DM vertę, kuri atitinka vieno BR esančio sausoje PM plėvelėje.

Pasižymėkime  $p_{BR}$  kaip BR dipolinį momentą. Eksperimentiškai išmatuotos juostos talpa yra  $C_{film} = 3.2 \cdot 10^{-11} F$ , elektrodų paviršiaus plotas –  $A = 2 \cdot 10^{-5} m^2$ , ir išorinė įtampa  $U_{C0ex} \approx 300V$ . Taigi, reimiantis sąryšiu:

$$p_{BR} = -\frac{V_{BR} \cdot C_{film} \cdot U_{C0ex}}{(2\alpha - 1) \cdot A} \quad (5.1)$$

nustatome, kad  $p_{BR} \approx 13 \cdot 10^{-29} C \cdot m$ . Čia faktorius  $(2\alpha - 1)$  atitinka orientacijos laipsnį PM juostoje ir šiuo atveju  $\alpha \approx 0.65$  [160],  $V_{BR}$  yra BR molekulės tūris ir yra  $V_{BR} = 3.5 \cdot 4.5 \cdot 5 \cdot 10^{-27} m^3$ . Vertė  $p_{BR} \approx 13 \cdot 10^{-29} C \cdot m$  atitinka  $p_{BR} \approx 40D$ .



**Pav. 5.1** Esant dviems skirtingoms pH vertėms, elektro-akustinio (A) ir fotoindukuoto elektrinio atsako (B) matavimai toms pačioms sausoms PM plėvelėms.

Reiktų paminėti, kad  $U_{C0ex} \approx 300V$  yra tokia pat tiek esant mėginiams paruoštiems kai neutralus ir kai mažas pH (5.1 pav.). Tai yra priešingai nei



gauti rezultatai tirpikliuose [173]. Tai gali būti dėl to, kad sumažėja aplinkos disocijacijos laipsnis sausoje terpėje.

5.1 B paveiksle pateikti fotoinfukuotos elektrinio atsako (PERS) rezultatai, kurie rodo rūgštingumo būklę sausose juostose. Neutraliose sąlygose PERS juostos turi visas fazes atitinkančias aktyvų BR. Pradinė fazė yra neigiama ir atitinka transformaciją iš L į M būsenas, o toliau įtampa tampa teigiama. Esant žemam pH (parūgštinimo sąlygos) pradžioje atsiranda neigiamas signalas, sietinu su perėjimu į L būseną, tačiau perėjimo į M būseną nėra. Šis efektas yra susijęs su protono kelių blokavimu ties pirmuoju akceptoriumi D85 kito protono, ateinančio iš išorės [160].

## 5.2 Skaičiavimo metodika

Struktūriniam pokyčiams krūvio pasiskirstymas sudėtingose molekulėse gali būti labai jautrus. Detaliai BR būsenų struktūrinių persiskirstymų, analizei reikalingi aukštos raiškos rentgeno struktūriniai duomenys [41, 175- 182]. Anksčiau jau buvo atlikti bakteriorodopsino QM/MM skaičiavimai, analizuojantys krūvių pasiskirstymą tarp Glu204 ir Glu195 [183-184]. Tačiau eksperimente nustatytos vertės negautos [185-187]. Galimi ryšiai tarp 1C3W struktūros detalių [41] atitinkamai su protono pernašos stadijoms aktyviajame centre buvo analizuota taip pat *ab initio* QM/MM metodais [28,40].

Dipolinio momento (DM) mikroskopinei analizei (buvo naudojami QM/MM metodai) buvo pasirinktos BR pradinė bei K, L, M būsenų struktūros. Gautos DM vertės buvo suprojektuotos į z ašį, o pastaroji nukreipta iš citoplazminės į išorinę ląstelės pusę. Struktūriniai BR duomenys buvo paimti iš PDB banko. Jie buvo sutvarkyti ir atlikta minimizavimo procedūra. Šiam tikslui panaudota pagrindinė būseną (BR1) bei K, L1, M1 intermediatai. 1C3W struktūra iš PDB banko [41] pažymėta kaip BR1 struktūra. 1M0K struktūra [175] atitinka K būseną (BR-K). BR būsenoje L1 (BR-L1) pasirinktas kaip 2NTW struktūra [188]. Panašiai su 1M0M struktūra [189] – atitinka M1 būseną (BR-M1).

Visose skaičiuotose struktūrose buvo pridėti vandenilio atomai, nes PDB banko failuose vandenilių atomų nėra. Amber paketas [137] neturi parametrų kompleksams: Šifo bazei su retinaliu, sujungtai su Lys 216, ir protonuotai ASP 85. Šie kompleksai buvo parametrizuoti, naudojant Gaussian 03 kvantinės chemijos paketą [132] su DFT [190] naudojant B3LYP [151] funkcionalą ir 6-31G\* bazinės funkcijas. Norint apskaičiuoti dipolinio momentus visam baltymui, tokia bazinė funkcija duoda pakankamai gerus rezultatus [137]. Visi kiti protonai buvo sudėti naudojant *t-leap* programą iš Amber paketo.

Teoriniams skaičiavimams ir analizei buvo naudota keletas paketų. DM skaičiavimai buvo atlikti Amber 9 MD paketu [137]. BR struktūros buvo skaičiuotos *leaprc.ff03* jėgų lauke [137]. Šiam tikslui struktūros buvo paimtos iš BDP banko ir pradiniai duomenys sutvarkyti su *Swiss-PdbViewer* programa [191]. Tipologijos failai ir sistemos krūviai buvo sugeneruoti su *t-leap* iš Amber paketo. Paveikslai ir DM skaičiuoti, analizuoti ir nupiešti su VMD 1.8.7 [192], galutiniai duomenys analizuoti su MATLAB 7.5.

### 5.3 DM Skaičiavimai

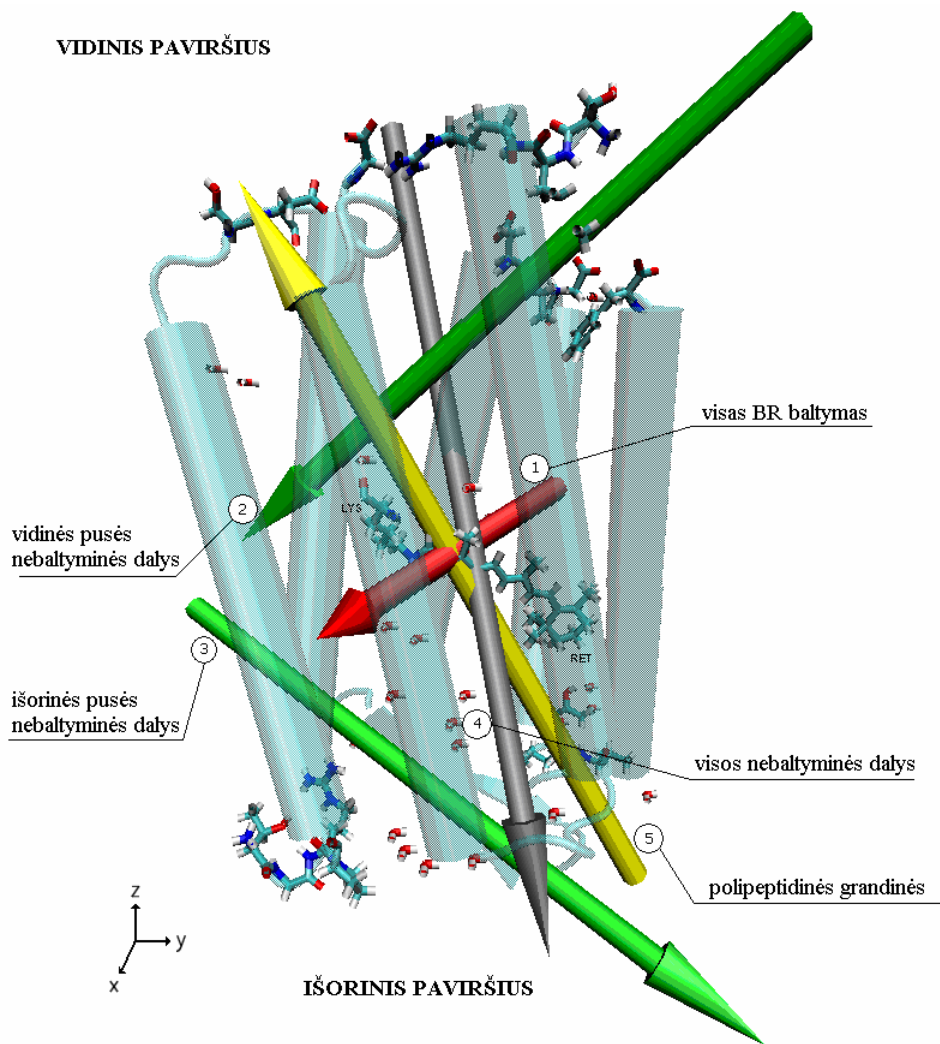
Amber 9 MD [137] paketu atlikti skaičiavimai, leidžia nustatyti BR1 [41] struktūros DM vertes ir atlikti MM minimizaciją. BR1 monomeras sudarytas iš 2073 atomų neįskaičius vandenilio atomų. Struktūra turi protonuotą Šifo bazę RETLYS radikale. Parametrizuojant šio radikalo krūvis yra +1. Gauti rezultatai pateikti 5.1 lentelėje. Reikia pasakyti, kad pilna DM vertė nelabai pakinta pritaikius papildomą MM minimizavimą. Jos vertės be minimavimo pagal kristolografinę struktūrą yra 257.02 D. Orientacija yra parodyta 1 rodykle 5.2 paveiksle. Tuo tarpu  $p_{BR}$  (projekcija į z ašį) lygi -93.01 D. Po struktūros MM minimizacijos DM šiek tiek pasikeičia – iki 251.57 D su  $p_{BR}$ , kuris lygus -71.74 D (5.3 A pav.).

**5.1 lentelė** DM vertės pagrindinės, K, L ir M būsenu BR struktūroms.

Nr	Struktūra	Tipas (PDB kodas)	Dipolinis momentas, D						
			$P_{BR}$	BR	Baltymas	Polipeptidinės grandinės	Vidinės baltymo nebaltyminės dalys	Išorinės baltymo nebaltyminės dalys	Visos nebaltyminės baltymo dalys
1	BR1	x-ray (1C3W)	-93.01	257.02	401.68	574.98	502.41	554.45	614.34
2	BR1	minimi- zuota	-71.74	251.57	397.96	577.96	503.75	553.12	600.98
3	BR-K	x-ray (1M0K)	-83.43	248.87	387.80	609.45	361.14	559.98	651.23
4	BR-K	minimi- zuota	-57.86	226.82	385.61	619.77	343.03	557.51	600.51
5	BR-L1	x-ray (2NTW)	-114.26	254.40	398.87	576.02	516.97	558.41	639.94
6	BR-L1	minimi- zuota	-91.61	239.47	399.78	600.68	512.77	556.77	608.32
7	BR- M1	x-ray (1M0M)	-99.11	252.73	262.44	541.74	675.09	557.76	606.13
8	BR- M1	minimi- zuota	-41.95	232.55	247.46	566.38	667.33	555.58	580.81

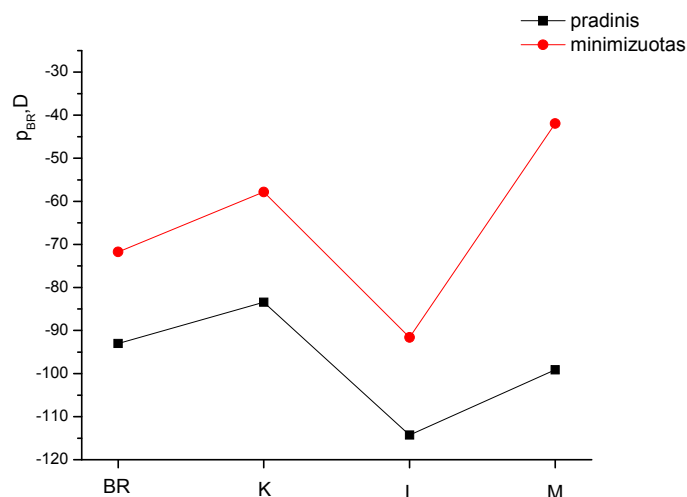
Norint geriau suprasti, kas daro didžiausią įtaką DM vertėms, skaičiavimai buvo atlikti atskirai nebaltyminėms dalims, kurios sudarytos iš retinalio, vandens molekulių, išorinės ir vidinės pusės nebaltyminių dalių, taip pat baltymo polipeptidinių grandinių. Vidinės pusės nebaltyminių baltymo dalių suskaičiuotos DM vertės yra 502.41 D, kaip parodyta 2 rodykle 5.2 paveiksle. Išorinės pusės nebaltyminių dalių DM vertė yra priešingos krypties (pagal y ašies projekciją, žr. 2.2 paveikslo rodykles 2 ir 3) ir lygi 554.45 D (2.2 pav. rodyklė 3). Susumavus abi šias DM vertes, gauname 614.24 D (2.2 pav. rodyklė 4). Polipeptidinių grandinių DM vertė yra 574,98 D kaip rodyklė 5 (2.2 pav.) ir yra priešingos krypties (pagal z projekciją). Retinalis priklauso vidiniam fotoaktyviajam BR centrui, o jo DM vertė, gaunama iš QM skaičiavimų, yra maža – 0.56 D. Retinalio kartu su Lys 216 (RETLYS), paimtų iš BR1 struktūros, QM skaičiavimai duoda DM vertę lygią 6.48 D. DM kryptis sutampa su visos BR struktūros DM vertės kryptimi. Reiktų pabrėžti, kad polipeptidinės grandinės ir vandens molekulių esančių sistemoje DM vertės yra priešingos krypties lyginant su pilna kitų baltymo dalių DM verte.

Tokia pat analizė buvo atlikta BR-K, BR-L ir BR-M1 struktūroms. BR-K struktūra atitinkanti K būseną yra išmatuota 1,43 Å skiriamąja geba [175]. Monomeras BR-K yra sudarytas iš 2073 atomų, įskaitant įvairias išorėje esančias papildomas struktūras. RETLYS radikalas turi protonuotą Šifo bazę ir turi formalų krūvį +1 parametrizavimo metu. DM šiuo atveju yra 248,87 D ( $p_{BR} = -83,43$  D). Papildoma MM minimizacija DM pakeičia iki 226,82 D su  $p_{BR} = -57,86$  D. BR-L1 struktūra, atitinkanti L1 būseną, yra gauta 1,53 Å skiriamąja geba [188]. Monomeras BR-L1 sudarytas iš 1736 atomų (taip pat neskaičiuojant vandenilių). Baltyme Šifo bazė taip pat protonuota ir RETLYS parametrizuotas su krūviu +1. DM apskaičiuotos vertės atitinka 254.40 D, kur  $p_{BR} = -114,26$  D. Po MM minimizavimo struktūra DM vertę šiek tiek pasikeičia iki 239,47 D ir  $p_{BR}$  tampa lygus  $-91,61$  D. BR-M1 struktūra, atitinkanti M1 būseną, yra išmatuota 1,43 Å skiriamąja geba [189]. Monomeras BR-M1 sudarytas iš 2073 atomų (neskaičiuojant vandenilių atomų), tačiau struktūra turi įvairias išorines sudedamąsias dalis. Šifo bazė nėra protonuota, bet ASP85 (kitaip D85) yra protonuotas. Taigi parametrizuojant formaliai RETLYS ir protonuotas ASP85 yra neutralūs BR-M1 struktūroje. Apskaičiuotas DM yra lygus 252,73 D, kai  $p_{BR}$  yra lygus  $-99,11$  D. Po MM minimizacijos DM – pakinta ir yra 232.55 D, o  $p_{BR}$  yra  $-41.95$  D.

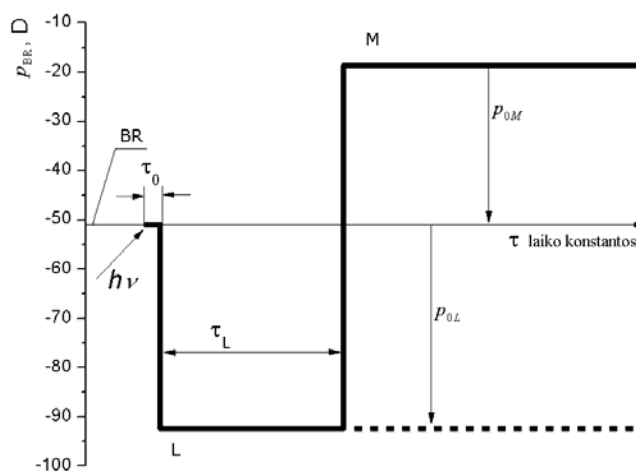


**5.2 pav.** 1C3W struktūros DM vertės. Rodyklės nurodo DM verčių kryptis (1) viso BR baltymo, (2) vidinės pusės nebaltyminių dalių, (3) išorinės pusės nebaltyminių dalių, (4) visų nebaltyminių dalių, (5) polipeptidinių grandinelių.

Toks pat BR struktūros suskaldymas į vidinės, išorinės pusės ir likusias nebaltymines baltymo dalis, bei polipeptidines grandines buvo pritaikytos BR-K, BR-L1 ir BR-M1 struktūroms. DM atitinkantis polipeptidines grandines struktūrose BR-K ir BR-M1 lyginant su BR1 pakinta atitinkamai 34.47 D ir -33.24 D. Tokias pat substruktūras turi ir BR-L1. Baltymų išorinės pusės nebaltyminės dalies DM svyruoja apie 5.75 D visoms BR struktūroms. Baltymų vidinės pusės nebaltyminės dalies DM baltymuose kinta apie 173.23 D, kai paaimamos skirtingos struktūros. Visgi, kokybiškai visų DM kryptys yra orientuotos panašiai kaip paveiksle 2.2, o pokyčiai yra mažesni nei 30°.



A



B

**Pav. 5.3** DM projekcija z ašyje apskaičiuotos QM/MM metodu (A) ir šių verčių laiko evoliucija atskiros BR molekulėms (B). DM vertės suskaičiuotos BR [41], K [175], L [188] ir M [189] intermediatams.

Struktūrų BR1, BR-K, BR-L1 ir BR-M1 BR kristolografiniai duomenys yra gauti su 1.4 Å – 1.62 Å skiriamąja geba. Papildoma minimizavimo procedūra MM skaičiavimuose šiek tiek pakeičia atomų padėtis ir DM pakinta iki 32 D (išskyrus BR-K struktūrą). Įvairios K, L ir M būsenų DM vertės yra pateiktos 2.3 A paveiksle. Didžiausias efektas, dėl struktūrinių pokyčių yra gauta polipeptidinėms grandinėms, kaip matyti 5.1 lentelėje. Struktūros BR-K DM

prieš ir po MM minimizavimo pakinta iki 50 D. Visgi, dėl DM orientacijos, tai sudaro mažą efektą visam DM.

Pažymėtina, kad DM kryptis būsenose K (BR-K), L (BR-L1) ir M (BR-M1) šiek tiek skiriasi. Šie pokyčiai yra 5 laipsnių eilės, išskyrus 3 rodyklei, kuri pakinta iki 30 laipsnių. Visgi, šie skirtumai nepakeičia suprojektuotos DM krypties ant z ašyje (5.1 lentelė).

## 5.4 Aptarimas

Pagal sausų PM plėvelių elektroakustinius matavimus, neutraliose BR membranose DM projekcija į plėvelės paviršiaus normalę yra apie 40 D. Tokia pat vertė yra gauta iš QM/MM skaičiavimų BR1 struktūrai, kuri turi tą pačią kryptį kaip seka iš elektroakustinių matavimų. Pagal šią analizę BR struktūra padalinta į atskiras dalis. Svarbiausias indėlis DM vertei – vidinės ir išorinės pusių nebaltyminės dalys, kai tuo tarpu DM aktyviajame centre esantis retinalis daro mažą įtaką. Polipeptidinės grandinės duoda DM vertės kryptį atvirkščią lyginant su dominuojančiomis vidinės ir išorinės pusių nebaltyminėmis baltymo dalimis ir, iš dalies kompensuoja visos DM vertės indėlį. Taigi, bet kokia deformacija struktūroje, kuri atsiranda dėl fotociklo gali būti DM pokyčių BR priežastis.

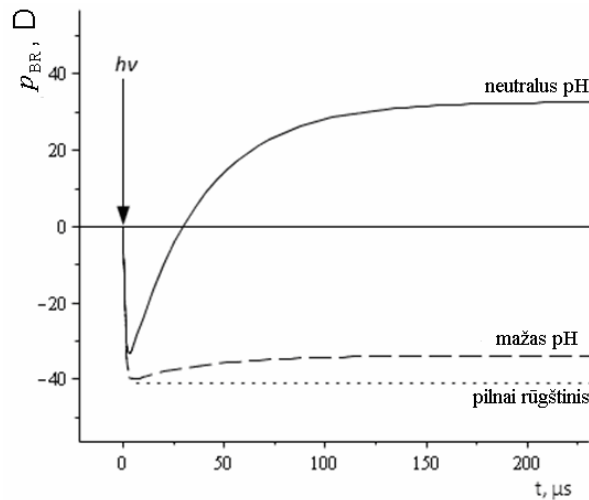
Kritinė įtampos vertė aprašoma elektrostatiniais matavimais nepriklausomai nuo rūgštinimo lygio naudoto plėvelių paruošimui, kaip matyti 5.1 paveiksle. Šis rezultatas leidžia teigti, kad DM vertė lieka nepakitusi sausoms plėvelėms nepriklausomai nuo rūgštinimo sąlygų (5.1 lygtis), išlikdamas jautrus išorinėms sąlygoms vėl panardinus į tirpalą [173]. Taigi, gauti skaičiavimai rodo, jog DM vertės nulemia baltymo išorėje esančios baltymo nebaltyminės dalys. Tirpiklyje esantys krūviai taip pat kaip ir pačio tirpiklio poliarizacija, gali daryti esminę įtaką DM vertei ir netgi gali keisti jos kryptį.

BR ciklo inetermediato būsenų aprašytos DM vertės leidžia suprasti protanovaros prigimtį BR. Paimtos DM vertės ir jų projekcijos z ašyje BR1, L ir M būsenose schematiškai pavaizduotos 5.3 A paveiksle, kas patvirtina postuluotos kinetinės schemos modelį protono pernašai [170]. Pasirinkus vertes kaip

parodyta 5.3 B paveiksle ir laikant, kad suprojektuotos vertės DM evoliucija gali būti aprašyta kaip:

$$p_{BR} = p_{0L} \left( 1 - 2 \frac{\tau_L}{\tau_L - \tau_0} e^{-\frac{t}{\tau_L}} + \frac{\tau_0 + \tau_L}{\tau_L - \tau_0} e^{-\frac{t}{\tau_0}} \right) \quad (5.2)$$

kur  $p_{0L}$  (5.3 B pav.) yra didžiausia vertė DM projekcijos pokyčio per pirmą būsenų perėjimą ( $K \rightarrow L$ ),  $\tau_0$  ir  $\tau_L$  yra atitinkami laiko tarpai atitinkantys perėjimą į K ir L intermediatus. Norint gauti projekcijos pokyčius kaip parodyta 5.4 paveiksle, naudotos  $\tau_0 = 2\mu s$  ir  $\tau_L = 50\mu s$  vertės. DM projekcijos pokyčiai yra proporcingi potencialams, gaunamiems iš elektroakustinių eksperimentų ( žr. 10 pav. iš str. [170]). Šie rezultatai patvirtina ankstesnę išvadą, kad elektrinių laukų pokyčiai intermediatuose yra susiję su struktūriniais pokyčiais baltyme, ir kad protono pernašos prigimtis turėtų būti priskiriamas elektromechaniniam energijos virsmui PM.



**Pav. 5.4** DM z ašies projekcijos suvidurkinto laiko ansamblio evoliucija BR-e.

Reikia paminėti, kad tirpiklyje BR DM vertė yra kintantis dydis priklausantis nuo pH vertės [193]. Mūsų rezultatai leidžia daryti prielaidą, kad kitokios DM vertės formuoja pH paveiktos išorinių pusių nebaltyminės baltymo dalys. Dėl paviršinių krūvių įvairovės ir pK verčių, kurios įtakoja BR amino rūgštis, DM verčių kitimas yra tikėtinas priklausomai nuo tirpalo sąlygų.



Apskaičiuotos DM projekcijų vertės M intermediate pasiekia iki 30 D (5.3 pav.) ir yra panašios eksperimentinius įvertimus. Atsižvelgiant į PM storį galima įvertinti elektrinio potencialo dydį 0.3V. Reiktų pastebėti, kad toks elektrinis potencialas yra pakankamas ATP gamybai. DM verčių prigimtis priklauso nuo baltymo deformacijų.

## 5.5 Išvados

PERS kinetika yra priskiriama fotoindukuotai protono pernašai sausose plėvelėse esant normalioms sąlygoms ir jai atitinkantis signalas mažėja mažinant pH. Remiantis electroakustinių eksperimentinėmis duomenimis buvo įvertintas DM dydis BR, kuris lygus 40 D nukreiptas iš vidinės į išorinę PM pusę. Panaši vertė gauta iš QM/MM skaičiavimų, kurie buvo atlikti pasinaudojus žinomais kristolografiniais duomenimis. Skaičiavimai pademonstravo, kad įkrautos grupės išorinės ir vidinės pusių nebaltyminės baltymų dalys duoda didžiausią DM vertę, o tuo tarpu polipeptidinės grandinės ir aktyvusis centras vaidina daug mažesnę vaidmenį. Remiantis skaičiavimais gauta, jog DM vertės BR L būsenoje yra didesnės negu tos, kurios yra pradinėje būsenoje ir sumažėja M būsenoje. Imant šias vertes DM įvertis sutampa su PERS kinetika gaunama eksperimentiškai. Pagal šiuos skaičiavimus M būsenoje BR sugeneruoja 0.3 V. Pastebėtina, kad toks elektrinis potencialas yra pakankamas ATP gamybai.

Remiantis QM/MM skaičiavimais, skirtingų būsenų DM vertė yra iš esmės nulemta konformacinių pokyčių PM paviršiuje. Šie pokyčiai yra inicijuoti retinalio fotosužadiniu po kurio vystosi jo izomerizacija. Retinalio izomerizacijos dėka polipeptidines grandines išlinksta, o tai sukelia konformacinius pokyčius tiek vidinėse, tiek išorinėse nebaltyminėse dalyse (5.2 pav.). Kaip išdava, protonas prijungtas prie Šifo bazės pradeda judėti dėl elektrostatinio potencialo, susiformavusio L intermediate. Taigi, protonovaros jėgos rezultatas yra baltymo konformaciniai pokyčiai L būsenoje.

## 6. Aplinkoje esančių tirpalo molekulių poveikis stilbazolio molekulei

Fotosensibilios cheminės sistemos atspindi vyksmus ir su jais susijusias svarbias biologines funkcijas, pvz. tokias, kaip rega [194]. Regos mechanizmo pradinis etapas yra 11-*cis*-retinalio fotoizomerizacija, rodopsino chromofore iš pradinės *all-trans* formos [73-74]. Dėl retinalio dalies izomerizacijos, išsivysto konformaciniai pokyčiai baltyme. Norint suprasti vyksmų seką fotobiologinėse sistemose yra siekiama šiuos vyksmus pakartoti tyrinėjant junginius, kuriuose cheminių ar fizikinių funkcijų priežastis būtų irgi fotoizomerizacija.

Stilbazolis yra vienas tokių junginių, priklausantis cianinų klasės molekulems. Jis gali elgtis kaip fotojungiklis. Turi C=C dvigubą jungtį, t.y. turi analogišką struktūrą kaip retinalis. Žinoma, kad apšveitus ultravioleto spinduliais stilbazolio dariniuose inicijuojama *trans* → *cis* izomerizaciją [75], kuri gali būti grįžtama, esant apšvitai matomoje spektro srityje, jei šalia yra metaloporfirinas [195]. Tikėtina, kad galima sukonstruoti naują fotoatsako sistemą, kurioje stilbazolis yra kontroliuojamas fotoizomerizacijos metu. Tokios fotoatsako sistemos gali būti pritaikytos fotojungikliams cheminėse reakcijose. Pastarąjį dešimtmetį molekulinėje elektronikoje ir nanotechnologijose didelis dėmesys skiriamas gana nestabilių junginių su aromatiniais žiedais sintezei bei jų fizikinių ir cheminių charakteristikų tyrimui [196-197].

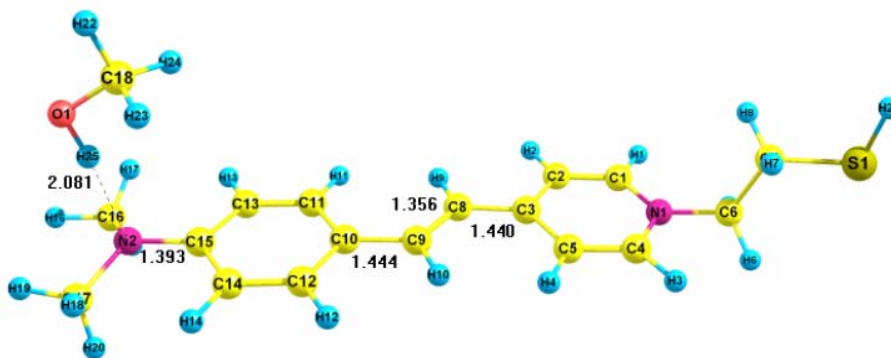
Stilbazolis – junginys turintis piridino ir fenolio žiedus sujungtus [–C=C–] tilteliu ir jau keletą dešimtmečių naudojamas ir tiriamas fotochemijoje, farmakologijoje, molekulinėje biologijoje. Jis pasižymi dideliu dipoliniu momentu, savybių jautrumu aplinkai, dipolinio momento didėjimu sužadintoje elektroninėje būsenoje. Šios savybės užtikrina aiškias netiesines savybes, naudingas konstruojant biosensorius, savaimė susidarančiuose nanoprietaisuose ir nanoobjektuose. Junginiai su stilbazoliu gerai tinka koherentinės Ramano spektroskopijos eksperimentams. Taip yra dėl unikalių dipolinio momento savybių: dipolinio momento kryptis ir dydis labai priklauso nuo aplinkos savybių. Čia pateikiame stilbazolio konformacinę analizę paremtą teoriniais skaičiavi-

mo metodais. Buvo naudojama tankio funkcionalų teorija, bei įvairūs kvantinės chemijos artiniai. Įvertinta adsorbato – metalo jono įtaka chromoforo spektrui, įskaitant bei neįskaičius aplinkos poveikį.

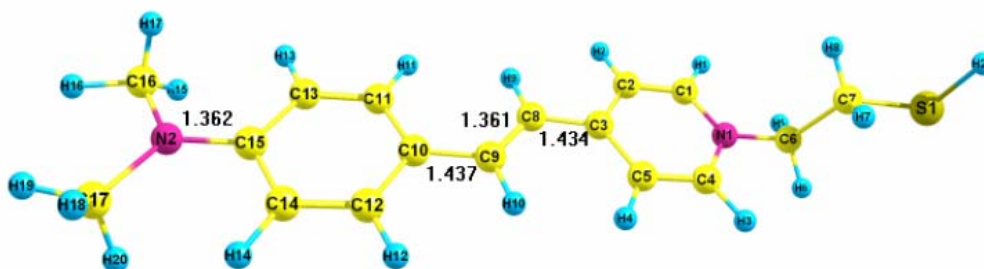
Pakankamai plačioje atominių funkcijų bazėje (6-311+G(2d,p)), naudojant DFT, ištirtos stilbazolio monomerų elektroninės struktūros bei IR ir Ramano spektrai, nustatytos galimos stabilios Stilbazolių dimerų struktūros. Gauti teoriniai spektrai yra pakankamai tikslūs ir tinkami virpesinių molekulių spektrų identifikavimui. Teoriškai modeliuojant aplinkos ir sieros tiltelio įtaką stilbazolio monomerui, nustatyta, kad aplinkos įtaka gali būti labai svarbi: dėl aplinkos poveikio gana žymiai persiskirsto elektroninis krūvis monomere. Taigi, virpesiniame monomero spektre tikėtini esminiai pokyčiai.

## 6.1 Eksperimentiniai Ramano spektroskopijos duomenys

Stilbazolio su įvairiais anijonais metanolio tirpale eksperimentiniai Ramano spektrai rodo, kad anijonas nesąveikauja tiesiogiai su organiniu katijonu ir neturi įtakos jo struktūrai. Stilbazolio chlorido centrinės dvigubos jungties valentinio virpesio dažnio padidėjimas Ramano spektruose, esant 413 nm žadinančiai lazerio spinduliutei, o taip pat elektroninės sugerties evoliucijos nuo tirpalo pH tyrimai rodo, kad stilbazolio chloridas metanolio tirpale egzistuoja agregatinėje būsenoje. Agregatai yra chinoidinės ir benzoidinės formų (6.1 pav). Kietame būvyje stilbazolis su labiausiai hidrofiliu anijonu ( $F^-$ ) yra labiau benzoidinės formos, tuo tarpu su mažiau hidrofiliu anijonu ( $Cl^-$ ) pasižymi abejomis formomis, o su hidrofobiniais anijonais ( $J^-$ ,  $ClO_4^-$ ) stilbazolio druskų struktūra yra daugiau chinoidinės formos.



A

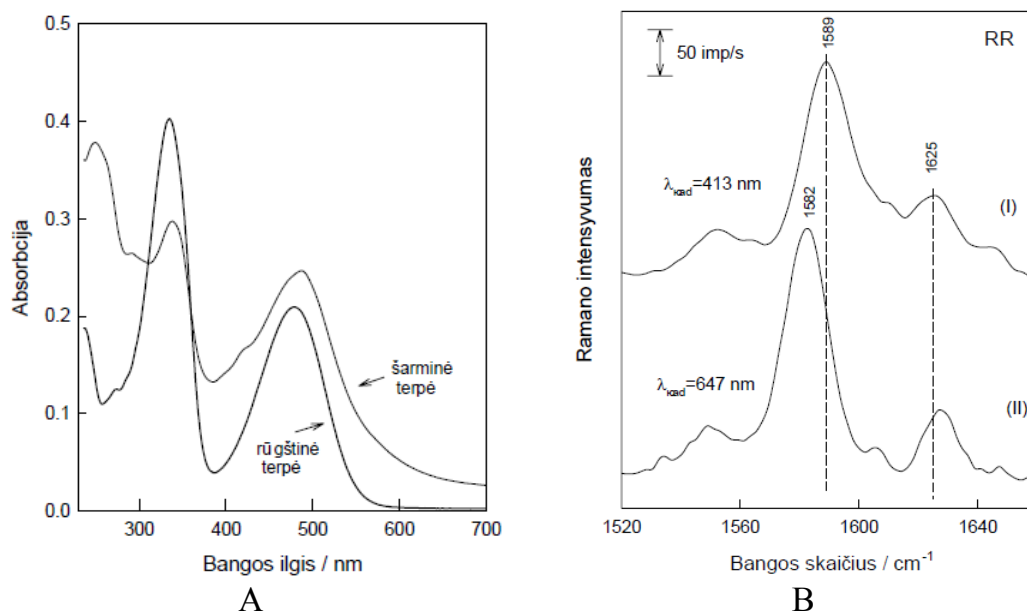


B

**Pav. 6.1** Stilbazolio benzoidinė (A) ir chinoidinė (B) formos.

Suskaičiuota DFT B3LYP/6-311++(2d,p) metodu.

Stilbazolio chloridas, turintis disulfidinę grupę, sudaro patvarius monosluoksnius ant sidabro paviršiaus. Ramano spektroskopijoje stebimas jungiamojo tiltelio  $-C8=C9-$  jungties svyravimo susidvejinimas, tiek tiriant stilbazolio kieto kūno FT-Ramano spektrą (naudojant 1064 nm lazerinę spinduliuotę), tiek ir stilbazolio ant Ag FT-SERS spektruose užregistruotuose vandenyje. Sugerties ant Ag elektrodo stilbazolio paviršiaus sustiprinti Ramano spektrai, esant skirtingiems sužadiniams ties 413 nm ir 647 nm, yra rezonansiniai (6.2 pav.) [198]. Sužadinus 413 nm lazerine spinduliuote rezonuoja benzoidinė stilbazolio forma, o sužadus 647 nm bangos ilgio lazeriu – chinoidinė stilbazolio forma. Tokią išvadą galima padaryti todėl, kad spektruose stebimos tik po vieną C8-C9 valentinių svyravimų smailę, kurios dažnis artimas atitinkamam stilbazolio formos smailės dažniui iš FT-Ramano ir FT-SERS spektrų [198].



**Pav 6.2** Stilbazolio junginys etanolio tirpale: A – elektroninės sugerties spektrai; B – rezonansiniai Ramano spektrai, kai žadinama 413 nm spinduliuote (I) ir žadinama 647 nm spinduliuote (II).

## 6.2 Stilbazolio monomerų skaičiavimai

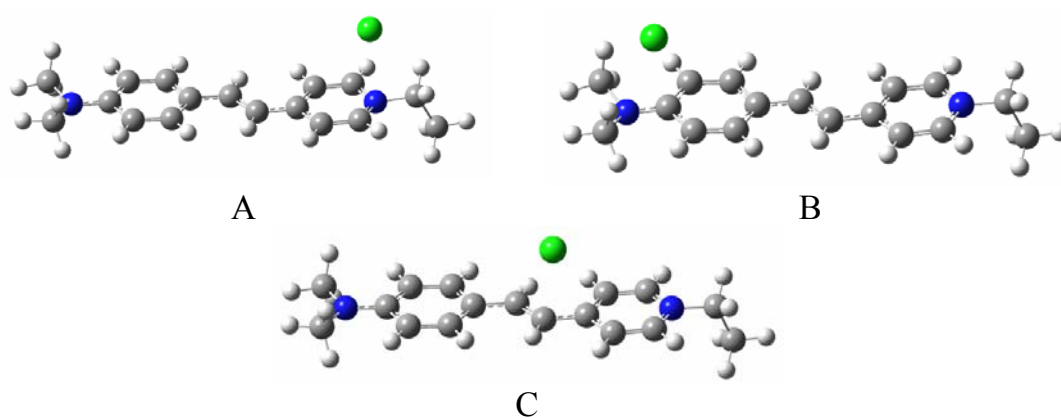
Naudojant kvantinės chemijos skaičiavimų paketą Gaussian 03 [132], buvo modeliuojamos stilbazolio molekulių pagrindinių būsenų charakteristikos (geometrijos parametrai, dipoliniai momentai ir kt.) bei virpesiniai spektrai.

Skaičiavimams buvo naudojamas standartinis pagrindinės būsenos tankio funkcionalas ir trijų parametru Becke3-Lee-Yang-Parr (B3LYP) pakaitinis koreliacijos funkcionalas. Preliminariems skaičiavimams buvo naudojamas 6-311G(d,p) bazinių funkcijų rinkinys, o patikslintiems skaičiavimams – 6-311++G(2d,p) bazinių funkcijų rinkinys. Atsižvelgiant į patirtį, tiriant MIEP vidinę molekulės protono pernašą [64], nustatant stilbazolio monomerų ir dimerų struktūras, tirpiklio įtaka buvo modeliuojama ne tik PCM artinyje, tačiau kvantmechaniniuose skaičiavimuose taip pat buvo tiesiogiai atsižvelgiama į kelias tirpiklio (metanolio) molekules.

Nuosekliai buvo didinamas objekto ir taikomo teorinio modelio sudėtingumas, nustatant stabilias stilbazolio monomerų ir dimerų struktūras. Nustatytos stilbazolio monomerų ir dimerų galimos stabilios struktūros be aplinkos ir anijonų įtakos, laikant, kad stilbazolio monomeras turi +1 krūvį. Modelis buvo

tikslinamas kvantmechaniniuose skaičiavimuose, atsižvelgiant į anijono ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ), tirpiklio įtaką taikant PCM ir papildomai patalpinant šalia stilbazolio molekulės nuo 1 iki 4 tirpiklio (metanolio) molekulių. Galimas aplinkos rūgštingumas buvo modeliuojamas leidžiant stilbazolio monomerui prisijungti protoną.

DFT b3lyp/6-311+G(2d,p) metodu, atsižvelgiant į anijoną ( $\text{Cl}^-$ ), be tirpiklio įtakos, buvo gautos 3 stabilios stilbazolio monomero struktūros (6.3 pav.), kurias pažymėjome kaip STB1-A (6.3 A pav.), STB1-B (6.3 B pav.) ir STB1-C (6.3 C pav.). Esminis skirtumas tarp šių struktūrų anijono padėtis. Molekulinės sistemos pilnutinės energijos atžvilgiu stabiliausia yra STB1-C struktūra. Jos atžvilgiu struktūros STB1-A pilnutinė energija yra 0,166 eV aukštesnė ir struktūros STB1-B pilnutinė energija yra 0,574 eV aukštesnė. STB1-A struktūroje anijono krūvis -0.832 a.v, STB1-B – anijono krūvis -0.833 a.v ir STB1-CA struktūroje anijono krūvis -0.763 a.v.



**6.3 pav** Stabilios stilbazolio struktūros su anijonu ( $\text{Cl}^-$ ): anijonas virš piridino žiedo (A); anijonas virš fenolio žiedo(B); Anijonas monomero plokštumoje tarp žiedų (C). Skaičiavimo metodas – b3lyp/6-311+G(2d,p).

$\text{ClO}_4^-$  anijono atveju gautos dvi stabilios struktūros STB2-A (6.4 A pav.) ir STB2-B (6.4 B pav.). STB2-B struktūra yra 0,554 eV stabilesnė. Abiejų anijonų atveju pilnas molekulių sistemo krūvis buvo laikomas lygus nuliui. Skaičiavimų metu gauta, kad dalis elektronų krūvio atiteko anijonams: -0.763 a.v. STB1-C ir -0.861 a.v. STB2-B.

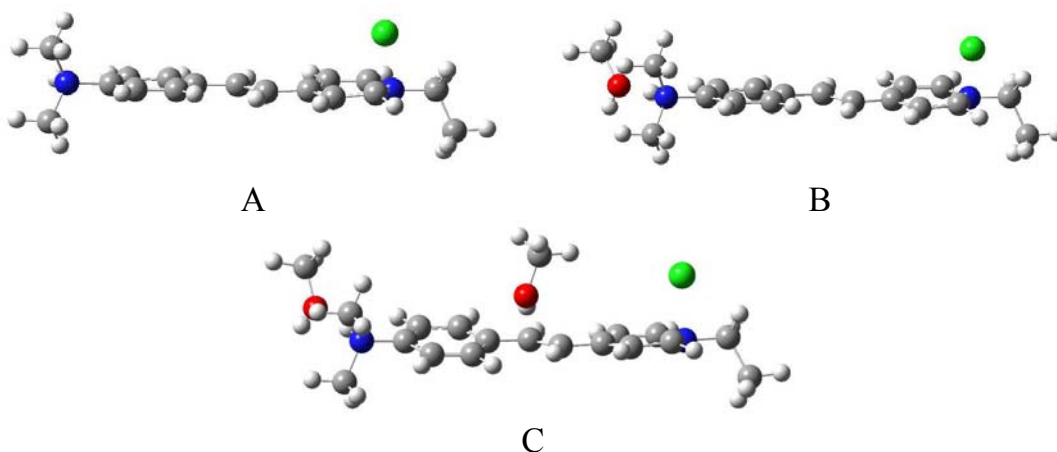


**Pav. 6.3** Stabilios stilbazolio struktūros su anijonu ( $\text{ClO}_4^-$ ): anijonas virš fenolio žiedo (A); anijonas po piridino žiedu (B).  
Skaičiavimo metodas – b3lyp/6-311+G(2d,p).

Stilbazolio monomero struktūros (6.4 pav.) buvo tiriamos atsižvelgiant :

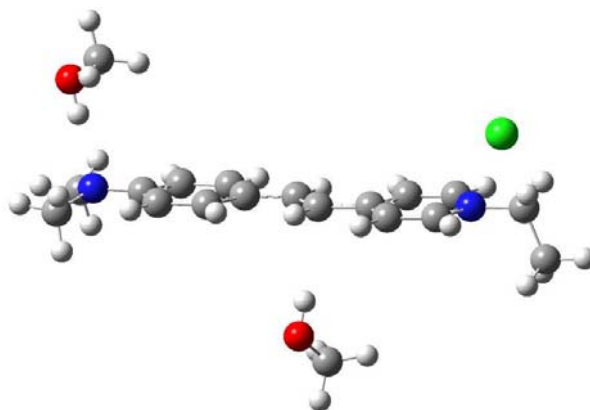
- galimą protono prijungimą prie stilbazolio molekulės,
- $\text{Cl}^-$  anijono įtaką,
- tirpiklio įtaką (metanolis) taikant PCM,
- 1, 2 metanolio molekulių įtaką.

Protonas visada jungiasi prie azoto atomo šalia fenolo žiedo, metilo molekulė – prie protono. Metilo molekulę buvo modeliuota prijungiant stilbazolio molekulės apačioje ir arčiau vidurio, tačiau geometrijos optimizavimo metu metilas prisijungė vandeniline jungtimi prie protono. Modeliuojant tirpiklio įtaką tik atskitomis metilo molekulėmis be PCM, anijonas pasiima iš stilbazolio molekulės tik apie 0,5 – 0,57 elektrono krūvio. Tačiau, papildomai atsižvelgiant į tirpiklio įtaką ir panaudojant PCM, anijono pasiimaamas krūvis tampa artimas 1 elektrono krūviui. Taigi norint, kad skaičiavimuose nereikėtų tiesiogiai atsižvelgti į anijoną, teigiama, jog stilbazolio krūvis lygus +1. Visgi, kaip matyti iš geometrijos optimizavimo rezultatų (6.5 pav.), anijonas prie stilbazolio molekulės jungiasi tik tam tikrose vietose, o tai gali turėti įtakos virpesinio spektro pokyčiams.



**6.5 pav.** Protonuoto stilbazolio monomero su  $\text{Cl}^-$  anijonu ir metilo molekulėmis stabilios struktūros: stilbazolio monomeras su  $\text{Cl}^-$  anijonu ir protonu (A); stilbazolio monomeras su  $\text{Cl}^-$  anijonu, protonu ir 1 metilo molekule (B); stilbazolio monomeras su  $\text{Cl}^-$  anijonu, protonu ir 2 metilo molekulės (C).

Komplekso, kuriame yra stilbazolio monomeras su  $\text{Cl}^-$  anijonu ir metilo molekule, skaičiavimai rodo, kad metilo OH grupės vandenilis jungiasi prie stilbazolio molekulės vandeniline jungtimi toje pačioje vietoje, kaip ir protonas. Šiuo atveju antra metilo molekulė prisijungia vandeniline jungtimi prie stilbazolio jungiamojo tiltelio (6.6 pav.). Tai reiškia, kad taip vadinama “rūgštinė” stilbazolio forma gali egzistuoti poliniame tirpiklyje (metile) net nesant laisvų protonų (rūgštinės aplinkos). Tai iš dalies patvirtina spektroskopiniai eksperimentai.



**6.6 pav.** Stilbazolio monomeras su  $\text{Cl}^-$  anijonu ir 2 metilo molekulėmis.



Prie komplekso, kurio struktūra monomeras,  $\text{Cl}^-$ , protonas ir 2 metilo molekulės, mėginant prijungti trečią metilo molekulę (buvo mėginta prijungti stilbazolio molekulės apačioje ir arčiau vidurio) geometrijos optimizavimo metu gauta, kad metilas nuo stilbazolio molekulės atsitraukė ir yra linkęs jungtis prie  $\text{Cl}^-$  anijono. Taigi, prie protonuotos ir susijusios su anijonu stilbazolio molekulės tiesiogiai prisijungia tik 2 metilo (tirpiklio) molekulės. Gavome, kad stilbazolio molekulės ir protono bei anijono kompleksas iš tirpiklio molekulių (metilo) pasiima apie 0,07 – 0,1 elektrono krūvio.

**6.1 lentelė.** Stilbazolio monomero intensyviausi dažniai, susiję su jungiamojo tiltelio svyravimais.

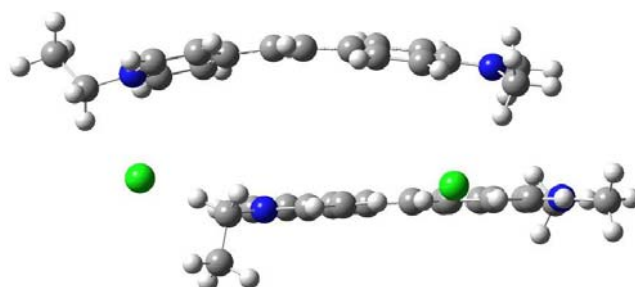
Molekulė	Dažnis, $\text{cm}^{-1}$	IR intensyvumas	Ramano intensyvumas	Svyravimo priskyrimas
Stilbazolis + Cl + 2 metil. + PCM (metanol)	1568	Silpnas	Ypatingai didelis	Žiedų simetrinis valentinis, C=C valentinis tiltelio
Stilbazolis	1569	Vidutinis	Silpnas	Žiedų asimetrinis valentinis, C=C valentinis tiltelio
Stilbazolis + Cl + protonas	1657	Ypatingai didelis	-	Žiedų simetrinis valentinis, C=C valentinis tiltelio
Stilbazolis + Cl + 2 metil. + PCM (metanol)	1605	Ypatingai didelis	Labai didelis	Žiedų simetrinis valentinis, C=C valentinis tiltelio
Stilbazolis	1600	Ypatingai didelis	Ypatingai didelis	Žiedų simetrinis valentinis, C=C valentinis tiltelio
Stilbazolis + Cl + 2 metil. + PCM (metanol)	724	Labai silpnas	Labai silpnas	Žiedų simetrinis deformacinis, N-C valentinis
Stilbazolis + Cl + protonas	764	Labai silpnas	-	Žiedų simetrinis deformacinis, N-C valentinis
Stilbazolis	732	Labai silpnas	Labai silpnas	Žiedų simetrinis deformacinis, N-C valentinis

Apaskaičiuoti IR ir Raman spektrai dviem atvejais. Pirmiausia stilbazolio monomero su anijonu ( $\text{Cl}^-$ ) ir dviem metilo molekulėmis bei įskaitant metilo tirpiklio įtaką dielektrinio kontinumo modeliu. Kitu atveju skaičiuotas stilbazolio monomeras tik įskaitant metilo tirpiklio įtaką dielektrinio kontinumo

modeliu. Gauti dažniai ir intensyvumai svyravimų, susijusių su jungiamojo tiltelio svyravimais  $1600\text{ cm}^{-1}$  aplinkoje (6.1 lentelė). Iš lentelės matyti, kad labai išsiskiria protonuoto stilbazolio svyravimo dažnis. Jis, lyginant su neprotuotu stilbazoliu, pasislenka į didesnių energijų sritį, maždaug  $90\text{ cm}^{-1}$ . Nei atsižvelgimas į anijono įtaką, nei į tirpiklio įtaką, nei į tirpiklio molekulių prijungimą dažniams  $1568 - 1569$  ir  $1600 - 1605\text{ cm}^{-1}$  srityje įtakos nedaro. Protonuoto ir neprotuoto stilbazolių virpesiniame spektre didžiausi skirtumai yra C-N jungties (prie fenolo žiedo) valentiniame virpesiui  $432 - 464\text{ cm}^{-1}$  srityje (6.1 lentelė).

### 6.3 Stilbazolio dimerų susidarymas

Stilbazolių dimerų nustatymo tyrimuose buvo pasitelkti standartiniai geometrijos optimizavimo kvantinės chemijos metodai. Stilbazolio dimerų geometriniai parametrai buvo optimizuoti, naudojant tankio funkcionalo metodą (b3lyp/6-311G(d, p)), neatsižvelgiant į tirpiklio įtaką. Neatsižvelgiant į anijonus (tiriant dimerą kaip vieną +2 krūvio molekulę), stabilios struktūros nesusidaro. Prijungus prie dimero du anijonus, gautos stabilios struktūros. Skaičiavimuose naudoti  $\text{Cl}^-$  anijonai. Buvo gautos 4 stabilios struktūros.  $\text{Cl}^-$  anijonai visose struktūrose jungia stilbazolio monomerus vandenilinėmis jungtimis su stilbazolio atomų vandeniliais. Gauta vienintelė struktūra, kurioje monomerai yra išsidėstę vienas virš kito, kas leidžia tikėtis didesnės  $\pi$  elektroninių sistemų sąveikos (6.7 pav.).



6.7 pav. Stilbazolio dimero struktūra.

Jeigu ši sąveika egzistuoja, tai turėtų atsispindėti elektroniniuose spektruose. Buvo apskaičiuotas, minėto dimero ir stilbazolio monomero, elektroni-

niai spektrai. Skaičiavimai atlikti nuo laiko priklausančiu tankio funkcionalo metodu (b3lyp/6-311G(d,p)). Buvo naudojama anksčiau optimizuota dimerų geometrija tačiau papildomai buvo atsižvelgta į tirpiklio įtaką, naudojant metanolio tirpiklio PCM. Monomero pirmas intensyvus elektroninis šuolis yra 470 nm srityje. Tai yra HOMO-LUMO šuolis. Atitinkamas šuolis dimere yra 473 nm bangos ilgio, tačiau yra apie tris kartus silpnesnis. Dimere atsiranda kitas intensyvus elektroninis šuolis 442 nm srityje. Šis šuolis yra nedidele dalimi HOMO-LUMO šuolis, bet daugiau susijęs su HOMO-1 ir LUMO+1 molekulinėmis orbitalėmis. Kitų dimerų elektroniniai šuoliai yra labai artimoje srityje (nuo 442 iki 452 nm ir nuo 473 iki 479 nm) ir panašaus santykinio intensyvumo, išskyrus plokščią dimero struktūrą (monomerai yra vienoje plokštumoje, o tarp jų įsiterpę du  $\text{Cl}^-$  anijono atomai), kurioje nėra 473 nm šuolio. Pakeitus tirpiklį į chloroformą didelių pokyčių negauta (487 ir 443 nm). Tirpikliui naudojant tetrachloridas iš skaičiavimų gauti vienas intensyvus šuolis (435 nm) ir keturi nuo 2 (506 nm) iki 10 (425) kartų silpnesni šuoliai (425, 440, 446, 506 nm).

Palyginimai su eksperimentiniais elektroninės sugerties spektrais [198] parodė, kad visi išvardinti bangų ilgiai patenka į vieną juostą ir jų išskyrimas komplikuoatas.

## 6.4 Išvados

Stilbazolio monomero forma priklauso nuo sąveikos su polinio tirpikli molekulėmis. Teoriškai modeliuojant šiuos junginius reikia atsižvelgti ne tik į tirpiklio įtaką naudojant PCM, bet taip pat įskaitant atskiras tirpiklio molekules. Stilbazolio dimerų susidarymui lemiamą įtaką turi sąveika su anijonais. Stilbazolio elektroniniai ir virpesiniai spektrai priklauso nuo tirpiklio ir molekulių aplinkos, tačiau dėl to, kad tuo pačiu metu tirpale gali egzistuoti ne viena stilbazolio forma, tikslus jų identifikavimas pagal eksperimentinius Ramano spektro duomenis yra sudėtingas.

## 7. Karotinoidai baltymuose

Fotosintezę vykdančiose fotosistemose, išsivysčiusiose per milijardus evoliucijos metų, reakcijos yra prisitaikiusios prie optimalaus apšviestumo, nepaisant nuolatinių šviesos intensyvumų svyravimų. Fotosistema 2 – tai viena iš fotosintezės vyksme dalyvaujančių sistemų esančių aukštesniuose augaluose. Šią fotosistemą sudaro reakcijos centras ir taip vadinami anteniniai kompleksai. Pagrindinis anteninis kompleksas, vadinamas LHCII, atlieka šviesos sugerties ir jos surinkimo funkciją [76,77]. LHCII monomere esančios chlorofilo molekulės yra dviejų rūšių, tai chlorofilo-*a* – jų yra aštuonios, ir chlorofilo-*b* – jų yra šešios [76,77]. Kartu su chlorofilais šiuose baltymuose taip pat yra ir 4 karotenoido molekulės. Dvi liuteino molekulės, kurių padėtys yra fiksuotos baltymo centre, o neoksantinas ir ketvirtoji karotenoido molekulė yra išsidėčiusios baltymo periferinėje dalyje [76, 77]. Nagrinėjamą LHCII karotenoidų grupę sudaro luteinas ir ksantofilų pogrupis, kuriam priklauso zeaksantinas, neoksantinas ir violoksantinas.

Pigmentinės molekulės – chlorofilai ir karotinoidai yra atsakingi už šviesos sugertį. Greta šios funkcijos, karotinoidai taip pat atlieka ir sistemos apsauginį vaidmenį nuo aplinkoje esančio deguonies. Sužadavimo metu sukuriama fotosužadintas eksitonas, kuris būdamas pradžioje lokalizuotas sugerties vietoje, vėliau dėl tarpmolekulinio sužadavimo pernašos juda link fotosintetinių reakcijos centrų. Apšviestumo intensyvumui padidėjus, sužadavimo pernašos sparta gali viršyti reakcijos centro veikimo dažnį ir inicijuoti oksidaciją, kuri žalinga fotosintezės aparatui. Siekiant to išvengti, augaluose yra dar vienas mechanizmas, užtikrinantis sistemos fotoapsaugą [199]. Šis vyksmas yra vadinamas nefotocheminiu gesimu (NPQ), nes jau įsijungęs sužadavimo energijos perviršis yra išsklaidomas (užgesinamas) nespinduliniu būdu tam tikrose fotosistemos 2 (PSII) vietose [200-202]. Apie sužadavimo gesimo mechanizmą NPQ sąlygomis vis dar daug diskutuojama [8, 203-207]. Daugelis biofizikinių ir biocheminių reiškinių, susijusių su energijos pernaša tarp efektyvių ir stipriai gesinančių būsenų, nėra labai gerai suprasti.

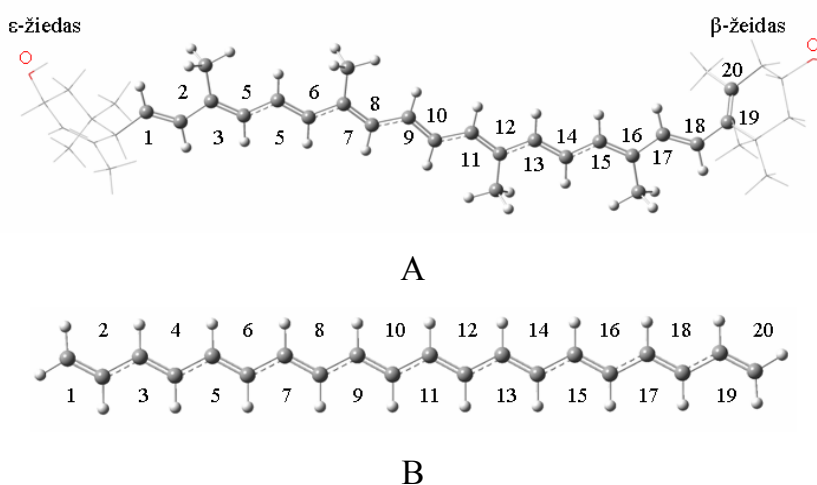
Karotinoiduose nėra iki galo suprantama elektroninių sužadintų būsenų prigimtis ir relasacijos mechanizmai sužadintoje būsenoje [208]. Karotinoidai – tai pigmentai, kuriuose polieninė grandinėle yra atsakngą už UV sugertį. Jie taip pat turi būsenas ir artimojoje IR spektro srityje [209]. Žemiausia karotinoido būsena  $S_1$  turi tą pačią simetriją kaip ir pagrindinė būsena ( $2^1A_g^-$ ) ir todėl  $S_0 \rightarrow S_1$  šuolis yra draustinas. Kita sužadinta būsena, kurios simetrija yra  $1^1B_u^+$  yra optiškai leistina. Stipri elektronų koreliacija karotinoidų konjuguotoje grandinėlėje yra atsakinga už sužadintų būsenų išsidėstymus ir osciliatorių stiprius [87,209-211]. Dėl to tikėtina, kad karotinoidai gali būti jautrūs įvairioms deformacijoms, kurios atsiranda dėl aplinkoje esančio baltymo ir kitų pigmentų.

Norint suprasti NPQ ir kitus fotosintezės mechanizmus, reikia suprasti pigmentinių molekulių (tame tarpe ir karotinoidų) elektroninių būsenų ypatumus. Tam reikia pasitelkti, didelių kompiuterinio našumo reikalaujančius, kvantinės mechanikos metodus. Pažymėtina, jog net pagrindinės būsenos skaičiavimai yra sudėtingi, nes būtina atsižvelgti į elektronų koreliaciją. [212]. Kvantinės mechnikos metodai taikyti polieninėms grandinėlėms skaičiuoti buvo neseniai išvystyti [211,213]. TD-DFT metodas su BLYP funkcionalu, įskaitant Tamo-Dankofo aproksimaciją, duoda geras sužadinimo energijas, tačiau yra klaidingas tiriant spektrų priklausomybę nuo geometrijos pokyčių, nes neatsižvelgia į dukartinius sužadinimus [211,214]. Daugiakonfigūraciniai pusempiriniai metodai (MRCI) pervertina energijas, tačiau jie pakankamai gerai aprašo polieninių grandinėlių daugiakonfigūracines bangines funkcijas [167,215]. Tad karotinoidų analizavimui galima pasitelkti panašius metodus taikytus polieninių grandinėlių skaičiavimams, nes jų sužadinimų prigimtis yra panaši. Skaičiuosime luteino strukūtras, atsižvelgdami į galimą deformavimą dėl baltymo ir pigmentų aplinkos poveikio bei modeliuosim ksantofilų dimerus, kurie gali būti atsakingi už mėlynosios spektro srities pokyčius, stebimus NPQ sąlygomis.

## 7.1 Luteino pagrindinės būsenos skaičiavimai

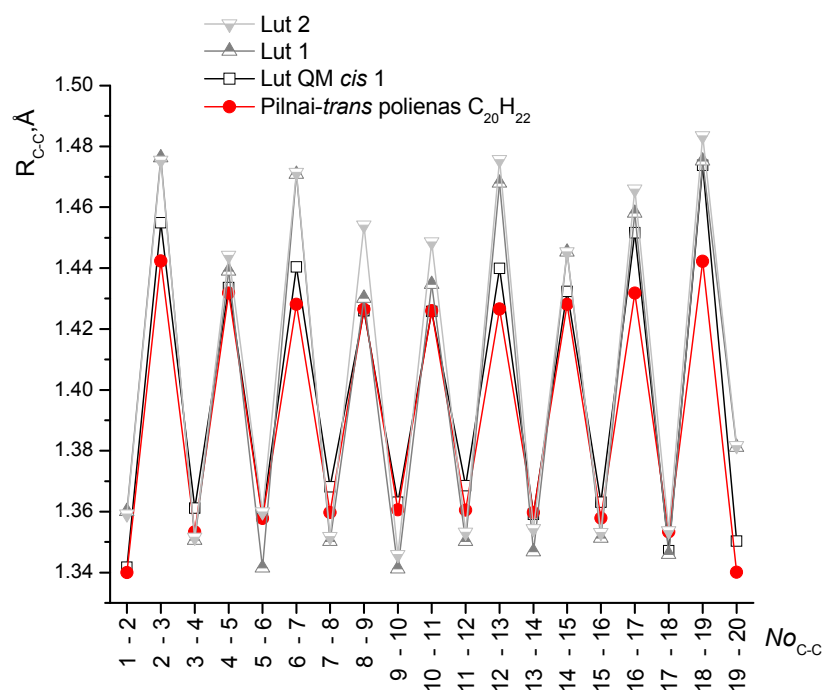
Norint analizuoti karotinoidus, pirmiausia reikia nutatyti jų geometrijas. Luteino struktūrų geometrijos buvo optimizuotos pagrindinėje elektroninėje būsenoje ir buvo sulygintos su struktūromis, gaunomis iš kristalografinių duomenų. DFT lygmenyje yra randamos trys luteino struktūros, o Lut 1 ir Lut 2 struktūros, esančios iš kristalografinių duomenų [76], atspindi pakankamai dideles deformacijas pagrindinėje būsenoje.

Luteino struktūros (Lut QM) buvo optimizuotos, naudojant DFT B3LYP/6-311++G(2d,p) metodą Gaussian 03 paketu.  $\beta$ -žiedų padėtys atitiko neseniai paskelbtus rezultatus [216]. Lut QM turi tris struktūrinės konfigūracijas, nulemtas  $\beta$ -žiedo (7.1 pav.). Didžiausia energija atitinka *trans* konfigūracijos žiedui (Lut QM *trans*) lyginant su kitais dviem simetriškais *cis* konformeriais (Lut QM *cis* sudaro simetriškos Lut QM *cis* 1 ir Lut QM *cis* 2). Energijos skirtumas tarp *cis* konformerų yra 1,14 kJ/mol (kituose skaičiavimuose [216] jis buvo lygus 1,2 kJ/mol), o *trans* izomero energija yra 6,52 kJ/mol aukštesnė, lyginant su žemiausiu *cis* izomeru (palyginimui 4,1 kJ/mol [216]). Skirtumas yra dėl to, kad darbe [216] buvo naudotos 6-31G(d) bazinės funkcijos, tačiau kokybiškai rezultatai yra panašūs. Skaičiavimai leidžia teigti, kad *trans* konfigūracija energetiškai yra labiau galima.



**Pav. 7.1** Luteino (A) ir polieninės grandinės (B) struktūros.

Lut 1 ir Lut 2 struktūros buvo paimtos iš kristolografinių duomenų [76], kurios gautos 2,27 Å skiriamąja geba. Jose matomos labai didelės deformacijos. Tarp deguonies atomų atstumas Lut 1 ir Lut 2 yra atitinkamai 0,68 Å ir 0,51 Å ilgesnis negu Lut QM. Polieninės grandinės ilgis tarp žiedų Lut 2 yra panašus kaip ir Lut QM (skirtumas 0,01 Å), o tuo tarpu Lut 1 skiriasi beveik 0,76 Å. Dar daugiau, Lut 1 turi ryškias erdvinės deformacijas visoje grandinėje, tuo tarpu Lut 2 daugiausiai deformuoti tik C-C atstumai (7.2 pav.).



**Pav. 7.2** C-C ryšių ilgių alternavimas skirtingose struktūrose.

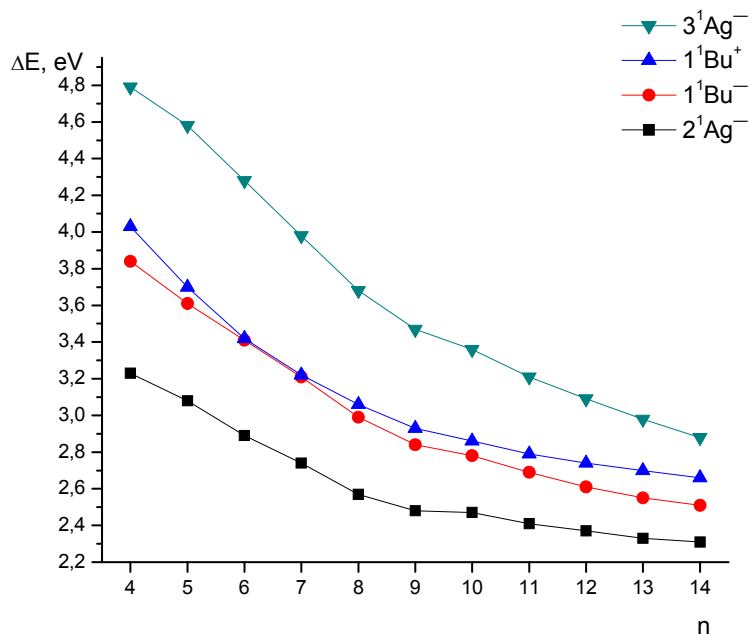
Luteinų pagrindinių elektroninių būsenų energijos buvo gautos B3LYP/6-311++G(2d,p) metodu. Pilnutinė Lut 1 struktūros energija yra 2,68 eV didesnė negu Lut QM. Lut 2 struktūra yra deformuota dar daugiau, jos energija apie 2,89 eV aukštesnė, lyginant su Lut QM. Šios deformacijos yra didelės, lyginant su terminėm energijom. Žemiausią energiją turi Lut QM *cis* struktūra ir ją pasirinkome kaip atskaitos tašką, lyginant luteino struktūras tolesniuose skyreliuose.

## 7.2 S<sub>1</sub> būsenos skaičiavimas polieno ir luteino struktūroms

Karotinoidų ir polienų savybių teorinis aprašymas yra sudėtingas net naudojant patikslintus metodus, tokius kaip CIS ir TD-DFT, kurie visgi yra nepakankami, norint aprašyti stipriai koreliuotą  $2^1A_g^-$  būseną [215], nes juose atsižvelgiama tik į vienkartinis sužadinius. Daugelio sužadavimo konfigūracijos (dukartinės, trikartinės ir kt.) yra labai svarbios  $1^1A_g^-$  būsenai aprašyti ir metodai, tokie kaip CASSCF, tam yra tinkami [217]. Sužadavimo energijos buvo skaičiuotos MOPAC paketu, naudojant pusempirį MNDO-CAS-CI metodą. Pusempiriai rezultatai buvo palyginti su rezultatais, gaunamais kitais metodais, kaip antai CAS-CI-MRMP [210], ADC(2)-x [218], CISD(D) [211] ir modifikuotu AM1-CAS-CI [219] bei su eksperimentinėmis vertėmis [220]. Pusempirinės banginės funkcijos negali būti patikslintos didinant aktyvią CI erdvę ir tokiu būdu bandant patikslinti energijas. Visgi šis metodas, kaip parodytume skaičiuodami polienus, gerai aprašo žemiausias elektronines būsenas. Struktūrų geometrijas pagrindinėje elektroninėje būsenoje luteinams ir polieno grandinėlems nustatėme DFT B3LYP/6-311++G(2d,p) metodu. Žinoma, kad polienų pagrindinė elektroninė būsena yra  $1^1A_g^-$ , žemiausios sužadintos būsenos yra  $2^1A_g^-$ ,  $1^1B_u^-$ ,  $1^1B_u^+$  ir  $3^1A_g^-$  simetrijų pagal C<sub>2h</sub> simetrijos grupę. Simetrija identifikuosim tik pagal polieno grandinės banginę funkciją tiek polienoose, tiek ir luteine.

„All-trans“ polieninių grandinelių, kurios aprašomos formule C<sub>2n</sub>H<sub>2n+2</sub>(n=3-14), elektroninės būsenos  $2^1A_g^-$ ,  $1^1B_u^-$ ,  $1^1B_u^+$  ir  $3^1A_g^-$  buvo skaičiuojamos pusempiriniu MNDO-CAS-CI metodu. 7.3 paveiksle pateikti gauti skaičiavimo rezultatai. Papildomos (alternavimo) būsenų simetrijos buvo priskirtos remiantis Paristerio metodu [221], kuriame yra atskiriamos *plus* ir *minus* būsenos. Pagrindinių elektroninių būsenų užpildytas orbitales žymėsime kaip 1, 2, ... ir neužpildytas kaip 1', 2', .... [210]. Vienoje orbitalėje gali būti du elektronai su  $\alpha$  ir  $\beta$  sukiniais. Šuolių iš  $i \rightarrow j$  ir  $j \rightarrow i$  energijos yra lygios. Būsenos, kurias atitinka  $i \rightarrow i'$  šuoliai, elgiasi kaip *plus* būsenos. Dukartinius šuolius turinčios  $(i)^2 \rightarrow (j')^2$  – kaip *minus* būsenos. Šuolis tarp dviejų *plus* (arba dviejų *minus*) būsenų yra draustinis.





**Pav. 7.3** Polieninių grandinėlių žemiausių šuolių energijos, gautos MNDO-CAS-CI metodu.

$1^1B_u^+$  būseną atitinka vienelektroninius HOMO→LUMO šuolius,  $2^1A_g^-$  būseną – dukartinius (HOMO)<sup>2</sup>→(LUMO)<sup>2</sup> šuolius. MNDO-CAS-CI skaičiavimuose  $1^1B_u$  būsenos banginėje funkcijoje didelį svorį turi  $1 \rightarrow 1'$  sužadėjimas, o  $2^1A_g^-$  –  $(1)^2 \rightarrow (1')^2$ . Panašūs rezultatai yra gaunami ir naudojant CASCI-MRMP metodą. Pastarieji skaičiavimai duoda, kad  $1^1B_u^-$  būseną yra sudaryta iš šuolių:  $3 \rightarrow 1'$ ,  $1 \rightarrow 3'$ ,  $1;2 \rightarrow (1')^2$  ir  $(1')^2 \rightarrow 1;2$ . Būseną  $3^1A_g^-$  yra sudaryta iš  $2 \rightarrow 3'$ ,  $3 \rightarrow 2'$  ir  $1;3 \rightarrow (1')^2$ ,  $(1')^2 \rightarrow 1';3'$ . Tokie patys rezultatai visoms būsenoms seka ir iš MNDO-CAS-CI (7.1 lentelė).

**Lentelė 7.1** Pagrindinės konfigūracijos MNDO-CAS-CI banginės funkcijos luteinams ir polieninei grandinėlei.

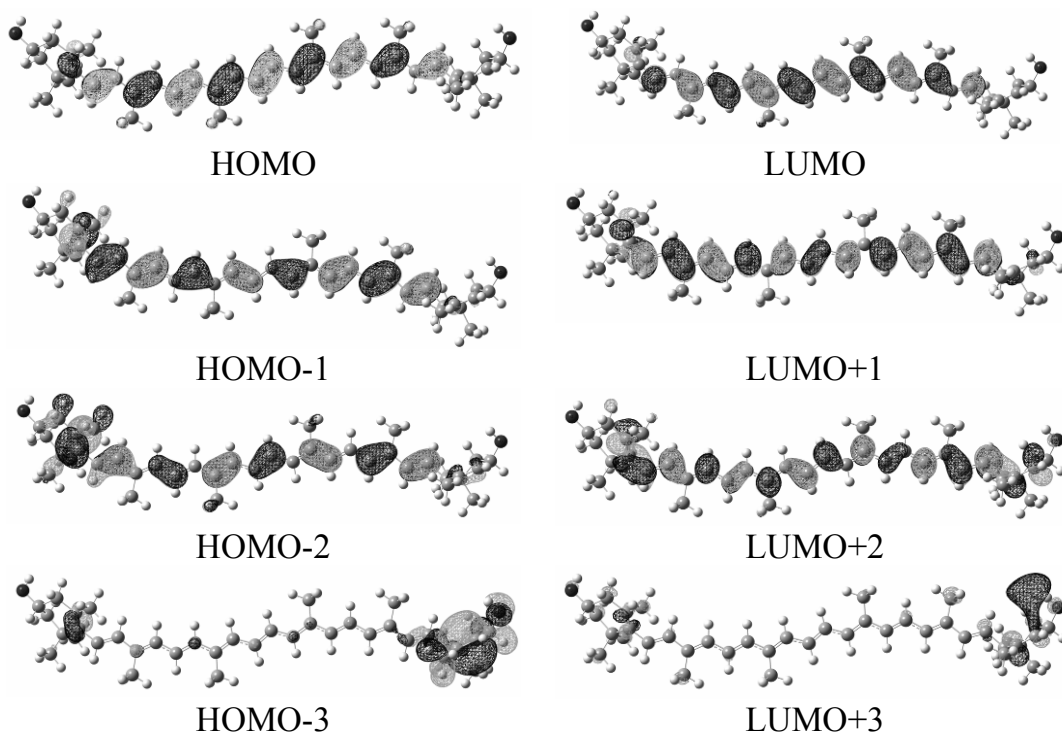
Būseną	Orbitalės	Struktūros						
		Lut QM			Lut 1	Lut 2	polienai	
		<i>cis</i> 1	<i>cis</i> 2	<i>trans</i>			n=9	n=10
$1^1A_g^-$	...(2) <sup>2</sup> (1) <sup>2</sup>	0.90	0.90	0.90	0.91	0.91	0.89	0.89
$2^1A_g^-$	(1) <sup>2</sup> → (1') <sup>2</sup>	-0.58	-0.58	-0.58	0.56	-0.57	0.59	-0.58
$1^1B_u^-$	3 → 1'	0.21	0.20	0.23	0.27	0.28	0.27	0.27
	1 → 3'	0.28	0.28	0.29	0.21	0.24	0.30	0.30
	1;2 → (1') <sup>2</sup>	0.32	0.32	0.33	0.21	0.25	0.31	0.31
	(1) <sup>2</sup> → 1';2'	0.21	0.19	0.26	0.32	0.32	0.31	0.31
	1 → 1'	0.31	0.32	0.21	0.29	0.19	0.01	0.01
$1^1B_u^+$	1 → 1'	0.53	0.52	0.57	0.54	0.58	0.61	0.61
$3^1A_g^-$	(1) <sup>2</sup> → (2') <sup>2</sup>	0.35	0.35	0.34	0.34	0.34	-0.37	0.36
	(2) <sup>2</sup> → (1') <sup>2</sup>	0.35	0.35	0.34	0.33	0.34	-0.35	0.34
	2 → 3'	0.15	0.15	0.14	0.13	0.14	0.16	0.15
	3 → 2'	0.14	0.14	0.13	0.12	0.13	0.15	0.14
	1;3 → (1') <sup>2</sup>	0.17	0.17	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17
	(1) <sup>2</sup> → 1';3'	0.18	0.18	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18
	(2) <sup>2</sup> → (2') <sup>2</sup>	-0.31	-0.31	-0.32	-0.34	-0.34	0.30	-0.31

Kitas svarbus aspektas charakterizuojant būsenas – jų eiliškumas. Mus domina tik žemiausios sužadintos elektroninės būsenos. MNDO-CAS-CI skaičiavimai (7.2 lentelė, 7.3 pav.) polienams n=3-14 duoda sekantį būsenų išsidėstymą:  $2^1A_g^- < 1^1B_u^- < 1^1B_u^+ < 3^1A_g^-$ . CASCI-MRMP [210] skaičiavimai tokį eiliškumą numato tik polienams, kai  $6 < n < 11$ . Tačiau šių skaičiavimų rezultatai nebuvo lyginami su eksperimentu. Kiti skaičiavimai, kaip antai ADC(2)-x [211, 219], numato  $2^1A_g^- < 1^1B_u^- < 1^1B_u^+$  eiliškumą, kai  $2 < n < 7$ , kas sutampa su eksperimentiniais duomenimis [220]. AM1-CAS-CI skaičiavimai [219] iš esmės yra skirti būsenos  $1^1B_u^+$  analizei, o CIS(D) skaičiavimai pervertina energijas [211]. Taigi, MNDO-CAS-CI metodas yra pakankamai geras ir, manome, yra tinkamas polieno struktūrų skaičiavimams.

**Lentelė 7.2** Sužadavimo energijos polieninėms grandinėms.

n \ būseną	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	E, eV									
<i>MNDO-CAS-CI</i>										
2Ag-	3,31	3,23	3,08	2,89	2,74	2,57	2,48	2,47	2,41	2,37
1Bu-	3,85	3,84	3,61	3,41	3,21	2,99	2,84	2,78	2,69	2,61
1Bu+	4,61	4,03	3,7	3,42	3,22	3,06	2,93	2,86	2,79	2,74
3Ag-	4,95	4,79	4,58	4,28	3,98	3,68	3,47	3,36	3,21	3,09
<i>CASCI-MRMP [210]</i>										
2Ag-	5,10	4,26	3,68	3,19	2,80	2,50	2,25	2,04	1,86	1,70
1Bu-	6,06	5,30	4,68	3,98	3,53	3,10	2,79	2,51	2,27	2,05
1Bu+	5,25	4,57	4,17	3,87	3,60	3,38	3,18	3,00	2,84	2,69
3Ag-	8,25	7,02	6,06	5,12	4,47	3,99	3,46	3,11	2,82	2,45
<i>ADC(2)-x[211]</i>										
2Ag-	3,99	3,24	2,74	2,38						
1Bu-	5,26	4,43	3,78	3,28						
1Bu+	5,44	4,67	4,14	3,76						
<i>Eksperimentinės vertės [220]</i>										
2Ag-	4,223	3,557		2,699		2,217				
1Bu+	4,5	3,98		3,34		2,96		2,72		
<i>CIS(D)<sup>21</sup></i>										
2Ag-	7,81	6,78	6,12	5,55	5,14					
1Bu-	9,91	8,64	7,41	6,77	6,25					
1Bu+	6,78	5,95	5,43	5,01	4,70					
<i>AM1-CAS-CI [219]</i>										
2Ag-		4,07		3,32		2,92		2,72		
1Bu+		4,01		3,42		3,07		2,87		

Trys aukščiausios užimtose orbitalėse (HOMO, HOMO-1, HOMO-2) ir trys žemiausios valentinės orbitalės LUMO (LUMO, LUMO-1, LUMO-2) optimiuoztame luteine (Lut QM) B3LYP/6-311++G(2d,p) metodu yra  $\pi$  tipo. Tokios pat yra ir polieninės grandinės būsenos (7.4 pav.). Tačiau luteine HOMO-3 ir LUMO-3 molekulinės orbitalės yra lokalizuotos  $\beta$ -žieduose. Žemiausių sužadimų prigimtis yra panaši kaip ir analogiškiems šuoliams polieninėse grandinėse. Skaičiavimuose buvo laikoma, kad luteino taškinė simetrijos grupė yra C1, visos orbitalės yra A simetrijos. Būsenų simetrijas luteine priskyrėme pagal banginės funkcijos sudėtį, kaip pateikta 7.1 lentelėje. Pagrindinės MNDO-CAS-CI banginės funkcijos konfigūracijos luteinui ir polieninei grandinėle  $n=9$  pateikti 7.1 lentelėje. Esminis skirtumas yra tas, jog Lut QM ir polieninės struktūros  $1^1B_u^-$  būsenos nevisiškai sutampa. Luteino struktūra turi papildomą svarbią konfigūraciją  $1 \rightarrow 1'$ , nustatant  $1^1B_u^-$  būseną, tuo tarpu polienams jos indėlis yra artimas nuliui (0.01).

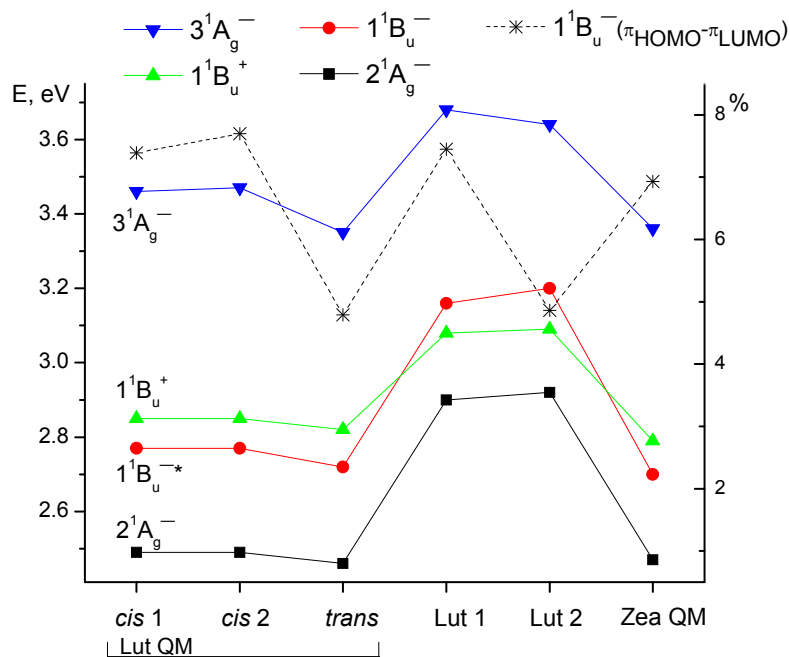


**Pav. 7.4** Optimizuoto luteino molekulinės orbitalės.

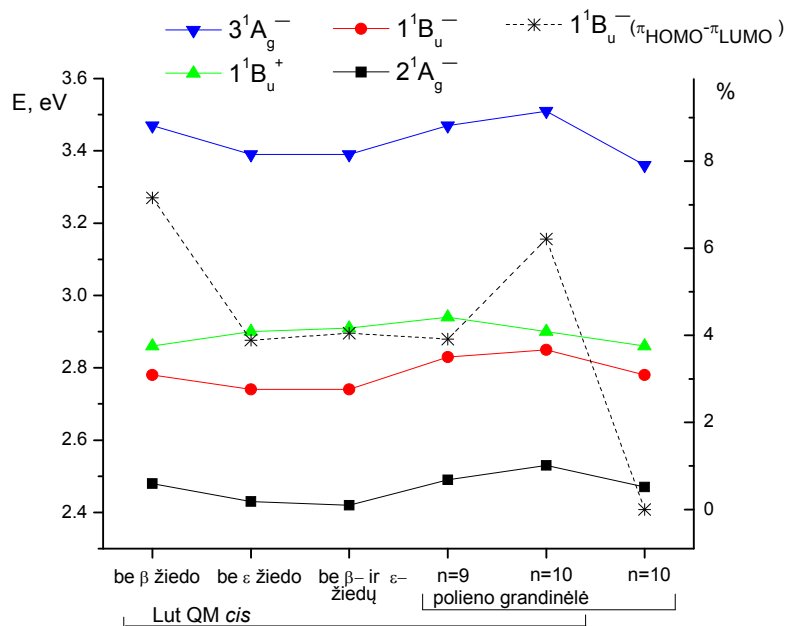
Luteino struktūrai būsenų eiliškumas yra toks:  $2^1A_g^- < 1^1B_u^- < 1^1B_u^+ < 3^1A_g^-$ , t.y. panašus eiliškumas kaip polieno grandinėlems.  $2^1A_g^-$  būsenos energija Lut QM *cis* ir Lut QM *trans* struktūroms yra 2,49 eV ir 2,47 eV atitinkamai.  $1^1B_u^-$ ,  $1^1B_u^+$  ir  $3^1A_g^-$  būsenų energijos atitinkami yra 2,77 eV, 2,85 eV, 3,47 eV Lut QM *cis* struktūrai ir 2,71 eV, 2,82 eV, 3,35 eV Lut QM *trans* struktūrai. Abi Lut QM *cis* struktūros turi tokias pat sužadimo energijas. Atitinkamos eksperimentinės vertės yra 1,7 eV  $2^1A_g^-$  būsenai ir 2,6 eV  $1^1B_u^+$  būsenai. Energijos yra pervertinamos pirmiausia todėl, kad nėra atsižvelgta į aplinkos poveikį, be to pats MNDO hamiltonianas yra linkęs pervertinti energijas.

Lut 1 ir Lut 2 struktūros buvo paimitos iš kristologafinių duomenų [76]. Atlikus skaičiavimus MNDO-CAS-CI metodu sužadintų būsenų eiliškumas yra kitoks nei Lut QM struktūrai. Šiuo atveju gauname:  $2^1A_g^- < 1^1B_u^+ < 1^1B_u^- < 3^1A_g^-$ . Energijos atitinkami yra 2,9 eV, 3,17 eV, 3,08 eV ir 3,68 eV Lut 1 struktūrai, o Lut 2 – 2,92 eV, 3,2 eV, 3,09 eV ir 3,64 eV. Visgi  $1^1B_u^-$  būsenoms pagrindinės konfigūracijos banginės funkcijos yra tokios pat kaip ir Lut QM atve-

ju, t.y.  $1 \rightarrow 1'$  sudaro 7,5% Lut 1 ir 4,9% Lut 2 atveju. Palyginimui Lut QM *cis* ji sudaro 7,4% (7.5 A pav.). Pagrindinės konfigūraijs pateiktos 7.3 lentelėje.



A



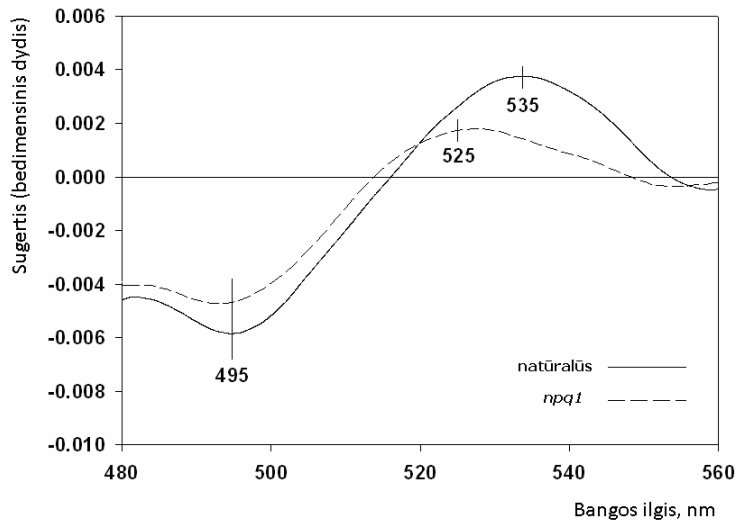
B

**Pav. 7.5** Karotinoidų (A) ir pakeisto luteino bei polieno grandinėlių (B) sužadavimo energijos bei  $1 \rightarrow 1'$  sužadavimo indėlis  $1^1B_u^-$  būsenos funkcijoje.

Analizuojant Lut QM *cis* struktūrą buvo pašalintas  $\beta$ -žiedas,  $\epsilon$ -žiedas, abu žiedai ir galiausiai palikta tik polieneninė grandinė (be metilo grupių). Tas pats buvo atlikta ir su Lut 1 struktūra. Norint gauti korektiškus rezultatus, tose vietose, kur nutraukti ryšiai, buvo pridėti vandenilio atomai. Visais atvejais  $1^1B_u^-$  būseną turėjo  $1 \rightarrow 1'$  singuletinį šuolį (7.5 B pav.). Esminis skirtumas buvo tik įnašo dydis. Mažiausias poveikis  $1^1B_u^-$  būsenai buvo gautas, pašalinus  $\epsilon$ -žiedą. Tuo atveju įnašas sumžėjo tik 0,2% lyginant su Lut QM *cis* struktūra. Lut QM *cis* struktūroje šis įnašas sudaro 7,4 %. Pašalinus  $\beta$ -žiedą įnašas sudaro 3,9%, o pašalinus abu žiedus jis sudaro 4,1%. Pašalinus likusias metilo grupes, įnašas besudarė 2,9%. Polieneninė grandinė luteine yra  $n=9$  ilgio ir dešimta dviguba jungtis yra gaunama iš  $\beta$ -žiedo (7.1 A pav. skirtingo lygio polieneninė grandinė). Paskutinė dviguba jungtis yra *cis* tipo, tad tokia grandinė nėra „*all-trans*“ tipo (žymėsime  $n_{cis}$ ). Šiuo atveju  $1 \rightarrow 1'$  šuolis sudaro 6,2 %. Po polieneninę grandinę  $n=9$  (*all-trans*) ir  $n_{cis}=10$  struktūros optimizavimo DFT (B3LYP/6-311++G(2d,p)) metodu, perskaičiuotos sužadintos elektroninės būsenos  $1^1B_u^-$  tapo  $1^1B_u^-$ , t.y,  $1 \rightarrow 1'$  sudarė 0,01%. Esančios deformacijos grandinėje dėl žiedų įtakos yra labai svarbios  $1^1B_u^-$  būsenai (7.3 pav.). Didžiausias deformacijas polieninių grandinių dvigubose jungtyse turi Lut 1 struktūra, o Lut 2 struktūroje labiausiai deformuotos viengubos jungtys. Taip pat reiktų paminėti, kad Lut 1 ir Lut 2 struktūra turi  $\pi$  tipo orbitales HOMO-3 ir HOMO+3 skirtingai nuo Lut QM struktūrų kaip parodyta 7.4 paveiksle.

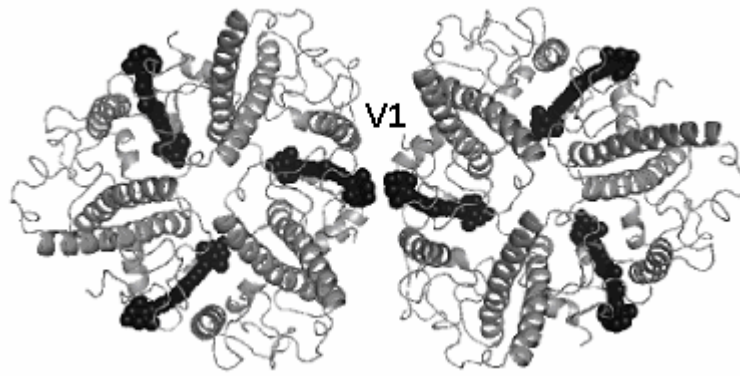
### 7.3 Ksantofilų dimerai fotosintetinėje membranoje

Fotosintetinėje sistemoje stebimas nefotocheminis gesinimas, esant aukštos apšvitos sąlygomis yra sietinas su tarpigmentinių sąveikų pokyčiais [8,200, 222-223]. Su šiais pokyčiais yra sietinas ir sugerties karotinoidų spektre stebimas raudonasis poslinkis, esant NPQ sąlygoms [200]. Skirtuminis spektras, gaunamas iš eksperimentinių rezultatų [222, 227, 224-227], kai lyginami sugerties spektrai, esant NPQ ir be jo, demonstruoja šį pokytį natūraliuose augaluose ir jų mutantuose (*npq1*), kaip pavaizduota 7.6 paveiksle.

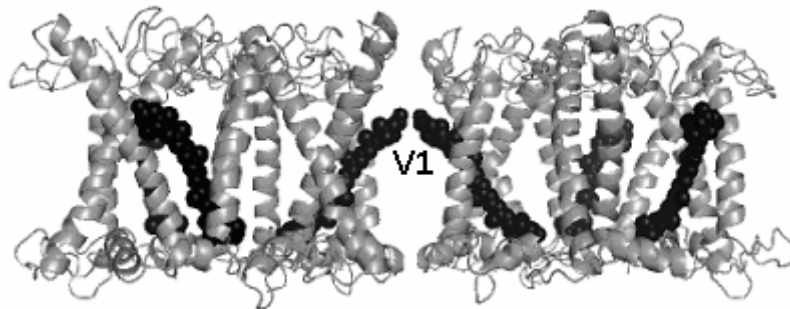


**Pav. 7.6** Natūralių vairo augalų (ištinė linija) ir *npq1* mutantų (brūkšniuota linija) lapų sugerties spektrų skirtumas.

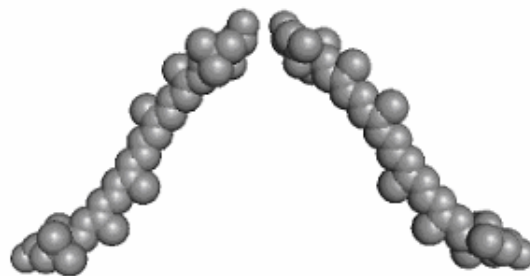
Mutantas *npq1* pasižymi tuo, kad jame nėra zeaksantino molekulių. Pokyčius susiesime su galimais LHCII struktūros pokyčiais per galimą dimerų susidarymą tarp zeaksantino ar violaksantino molekulių, priklausančių dviem skirtingiems LHCII trimerams (7.7 pav.). Būtent šie dimerai sužadunami galimoje sugerties  $S_2$  juostos srityje, kur ir yra stebimas raudonasis poslinkis.



A



B



C

**Pav. 7.7** Dviejų kompleksų struktūros iš fotosistemos 2 trimero. Tarp trimerų atstumas 6.6 nm. A – fotosintetinė membrana iš viršaus, B – iš šono. C – ksantofilų dimeras iš tos pačios struktūros.

Sąveikaujančių LHCII trimerų geometrija ir susidarantis šios sąveikos pasekoje ksantofiko dimeras yra pateikti 7.7 paveiksle. Šis išsidėstymas buvo gautas, remiantis kristalinių struktūrų duomenimis su 2,5 Å skiriamąja geba (PDB kodas 2BHW) [77]. Sudėliojus kompleksus, gauname sąveikaujančių V1 vietoje (7.7 A ir B pav.) esančių ksantofilų dimerą. 7.7 A pav. pavaizduotų 2



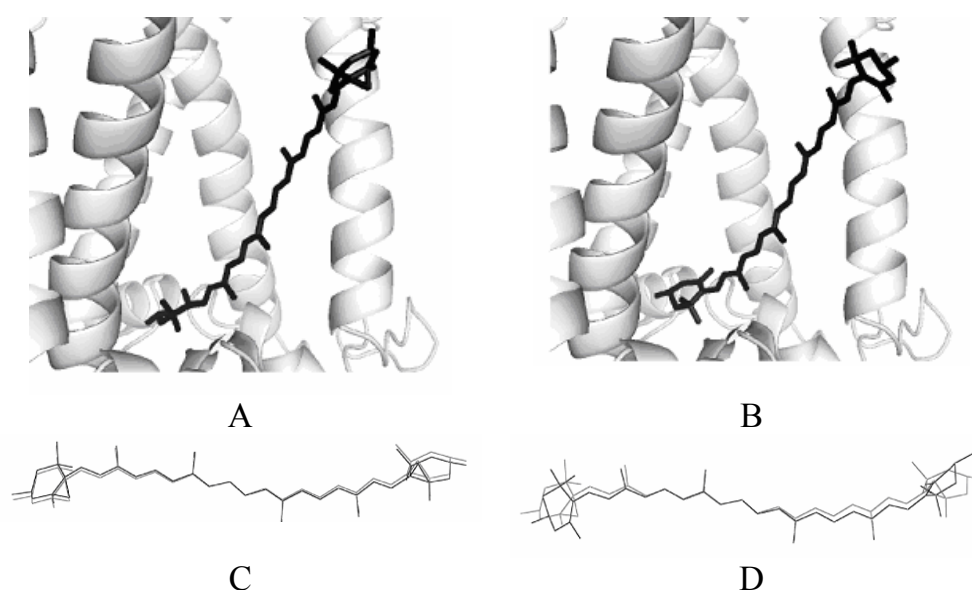
trimerų struktūroje atstumas tarp jų centrų sudaro 6,6 nm. Šioje struktūroje susidaro 2 ksantofilų dimeras, kuriame tarpmolekulinis atstumas yra lygus 2.4 nm (Pav. 7.7 B). Visgi reiktų pažymėti, kad 7.7 paveiksle pateikta tik konceptuali idėja, nes atskyrimas tarp dviejų trimerų centrų buvo laisvai pasirinktas.

7.7 C paveiksle pavaizduotas dimeras dėl molekulių orientacijos vargiai gali būti atsakingas už eksperimente stebimus spektrinius pokyčius, tačiau galima tikėtis nedidelių šių molekulių orientacijos pokyčių, kas iš esmės gali įtakoti spektrų pokyčius. Toliau yra nagrinėjamas dimeras ir galimi molekulių orientacijos pakitimai, kurių dėka kintančios tarppigmentinės (rezonansinės) sąveikos pokyčiai gali atsispindėti sugerties spektre.

Energijos ir rezonansinių sąveikų dydžiai buvo gauti lyginant sužadintas būsenas atskiriems pigmentams ir pigmentų dimerams. Iš principo ksantofilų  $S_2$  būsenos eksitoninis spektras gali būti apskaičiuotas pasitelkus (2.30) lygtį, įvertinus rezonansinę sąveiką  $J_{mn}$ . Šis dydis (pernašos integralas)  $J_{mn}$ , gali būti apskaičiuotas įvairiais metodais, nagrinėjant kiekvieną iš pigmentų atskirai. Tradiciškai jis yra skaičiuojamas naudojant šuolių dipolinę sąveiką. Šis modelis gali būti patobulinamas, pasitelkus šuolio monopolio molekulės aprašymą [228], kuriame pernašos integralas yra modeliuojamas panaudojant šuolio pasiskirstymo kubo metodą [229].

Norint nagrinėti violoksantino ir zeaksantino molekulių sužadintas elektronines būsenas yra reikalingos kvantinės chemijos metodais optimizuotos struktūros. LHCI kompleksio kristolografiniai struktūros duomenys pateikia pirmines pigmentų geometrijas, bet jų raiška yra pakankamai prasta, kad atspindėtų realius fizikinius cheminių ryšių atstumus [230]. Labai svarbus faktorius, gaunant molekulių geometrijas (tame tarpe ir energijas), yra lokatioje aplinkoje esančio tirpiklio įtaka. Yra stebima daugelis šviesą sugeriančių kompleksų, kurie yra stipriai anizotropinėje aplinkoje, kuri negali būti pakankamai gerai modeliuojama standartiniais aplinkos tirpiklio modeliais sužadintoje būsenoje [231-232]. Paprastai skaičiavimai, leidžiantys gauti kokybinių rezultatų, apsiriboja *in vacuo* atvejais [230]. Norint išsaugoti esmines dalis optimizuojant geometrijas, tenka atsižvelgti į geometrinės struktūros dedamasias [230].

Violoksanino struktūra buvo gauta tiesiog iš kristolografinių duomenų, kai tuo tarpu zeaksantino struktūra buvo gauta deoksiduojant (pašalinant deguonies molekules) violoksanino molekulę. Gautoms struktūroms buvo pridėti vandenilio atomai, nes jie nėra atvaizduoti rentgeno kristolografijoje. Kiekviena šių molekulių buvo optimizuota, naudojant tankio funkcionalo teoriją [89, 91], pasitelkus B3LYP pakaitinį funkcionalą ir 6-31G(d) bazines funkcijas (DFT/B3LYP/6-31G(d)). Buvo laikoma, kad dvisieniai kampai visoje konjuguotoje grandinėje iškieka fiksuoti. Gautos optimizuotos struktūros violoksanino ir zeaksantino molekulėms yra pavaiduotos 7.8 paveiksle. Pastebime, kad perorientuotos zeaksantino ir violoksanino galinės grupės santykinai panašios. Optimizuoti pigmentų dimerai buvo gauti paprasčiausiai patalpinant atitinkamai šias optimizuotas vienpigmentines geometrijas atgal į savo pradinę padėtį baltyme.



**Pav. 7.8** Violoksanino (A) ir zeaksantino (B) struktūros fotosistemoje 2. Violoksaninas (C) ir zeaksantinas (D) optimizuotas (juoda spalva) ir iš PDB banko (pilka spalva).

Optimizuotų ksantofilų sužadintos elektroninės būsenos  $1^1B_u^+$  (žymėsime kaip  $S_2$ ) yra daug mažiau priklausomos nuo elektronų koreliacijos, taigi gali būti laisvai modeliuojamos TD-DFT metodu. Dimerų modeliavimui, apra-

šant  $1^1B_u^+$  būseną, tokie metodai kaip TD-DFT yra pakankamai tikslūs ir kompiuteriniu požiūriu „nebrangūs“.

#### 7.4 Dimerų skaičiavimai sužadintoje $S_2$ elektroninėje būsenoje

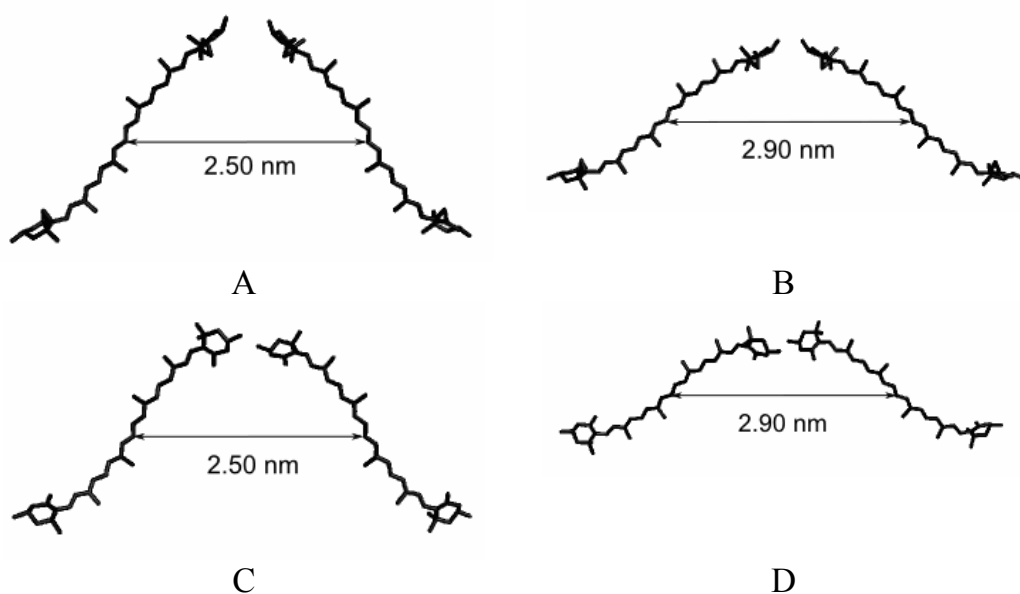
TD-DFT buvo pasirinktas kartu su pakaitiniu funkcionalu CAM-B3LYP [233] ir koreliaciją įskaitančia bazine funkcija cc-pVDZ [234]. Įprastas pasirinkimas, modeliuojant sužadintas būsenas TD-DFT metodu, yra hibridiniai pakaitinės koreliacijos funkcionalai BLYP ir B3LYP kartu su 6-31G ar tikslesnėmis bazinėmis funkcijomis. Viena vertus jie aptinka dvi singletiškai sužadintas būsenas artimas  $2^1A_g^-$  ir  $1^1B_u^+$  būsenoms, tačiau gauti rezultatai nėra pakankamo tikslumo. Ši problema išlieka ir naudojant TD-DFT/CAM-B3LYP/cc-pVDZ metodą, bet yra mažiau neapibrėžta, nagrinėjant tik  $1^1B_u^+$  būseną. Buvo nustatyta, kad šis metodas nėra visiškai tinkamas, nustatant  $2^1A_g^-$  būseną, bet duoda pakankamai gerus rezultatus, lyginant juos su eksperimentu. Kaip ir su geometrijos optimizavimo metu, energijos buvo gautos *in vacuo* artėjime. Šis artėjimas yra plačiai naudojamas [230] ir yra pakankamas pasirinktoms skaičiavimo galimybėms.

Violoksanino ir zeaksantino  $S_2$  būsenos vertikalios sužadintos energijos ir šuolio dipoliniai momentai yra pateikti 7.4 lentelėje. Eksperimentinės vertės, atitinkančios *in vivo* vertes, yra paimitos iš [235], tuo tarpu šuolio momentų tikėtini dydžiai yra pateikti [236]. Apskaičiuotos vertės pakankamai gerai dera su eksperimentinėmis vertėmis, žinoma išlieka sužadintos būsenos pervertinimas dėl artinio, susijusio su elektronų koreliacijomis. Apskaičiuoti šuolio momentai nėra pakankamai tikslūs, bet visgi jie yra labiau patikimi nei skaičiuojant, pasitelkus TD-DFT/B3LYP/6-31G metodą. Pervertinimas taip pat gali būti siejamas tiek neatsižvelgiant į aplinką, tiek su nepakankamu elektronų koreliacijos įskaitymu. Vis dėlto dimerų skaičiavimams  $S_2$  būsenai šie pervertinimai nedaro esminės įtakos.

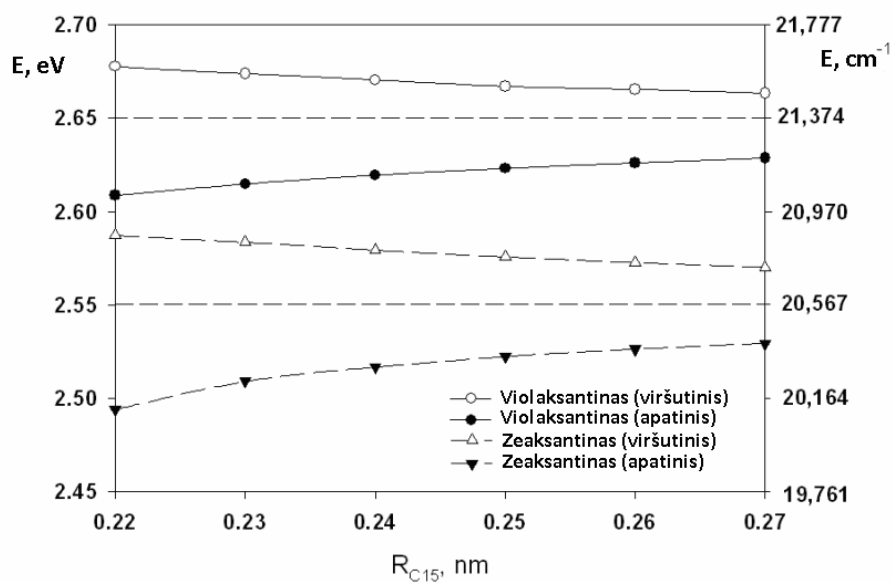
**Lentelė 7.4** Teorinės ir eksperimentinės sužadintos būsenos energijos ir šuolio dipolinio momento vertės violoksaninui ir zeaksantinui.

	Teorinė			Eksperimentinė		
	E (eV)	E (cm <sup>-1</sup> )	μ  (D)	E (eV)	E (cm <sup>-1</sup> )	μ  (D)
Violaxanthin	2.65	21373	20.0	2.54	20486	14.1
Zeaxanthin	2.55	20567	20.6	2.46	19841	14.1

Ksantofilo S<sub>2</sub> būsenos eksitoninis suskilimas buvo gautas naudojant TD-DFT/CAM-B3LYP/cc-pVDZ skaičiavimus ksantofilo dimerams. Violoksantino ir zeaksantino dimerų geometrijos yra pavaizduotos atitinkamai 7.9 A ir C paveiksluose. Vizualizavimo tikslais yra pavaizduota viena iš nagrinėtų situacijų, tačiau modeliuojant tarppigmentinis atstumas R<sub>C15</sub> buvo keičiamas ribose 2,20 nm ≤ R<sub>C15</sub> ≤ 2,70 nm. Šių ksantofilų dimerų sužadintos būsenos eksitoniniai lygmenys yra pavaizduoti 7.10 paveiksle. Kaip ir tikėtasi, rezonansinė sąveika duoda S<sub>2</sub> būsenos suskilimą, kurios dydis mažėja, didinant tarmolekulinį atskyrimą. Eksitoninis suskilimas tarp šių būsenų, esant atstumui R<sub>C15</sub> = 2.5 nm, yra lygus maždaug 44 meV (355 cm<sup>-1</sup>) violoksantinui ir 53 meV (347 cm<sup>-1</sup>) zeaksantinui. Pagal (2.30) lygtį rezonansinė sąveika tarp molekulių turėtų būti lygi 22 meV (177 cm<sup>-1</sup>) violoksantinui ir 27 meV (218 cm<sup>-1</sup>) zeaksantinui. Šių eksitoninių būsenų šuolio dipoliniai momentai šiek tiek kinta, kintant atstumui. Violoksantinui jis yra lygus maždaug 15.3 D žemesnei eksitoniniei būsenai ir 23.8 D aukštesnei. Zeaksantinui šios vertės atitinkamai yra 17.5 D ir 23.6 D. Energijų išsidėstymas yra nusakomas molekulių tarpusavio orientacija, taigi šie rezultatai yra gauti dimero geometrijai, atitinkančiai kristolografinių LHCII kompleksų duomenis.

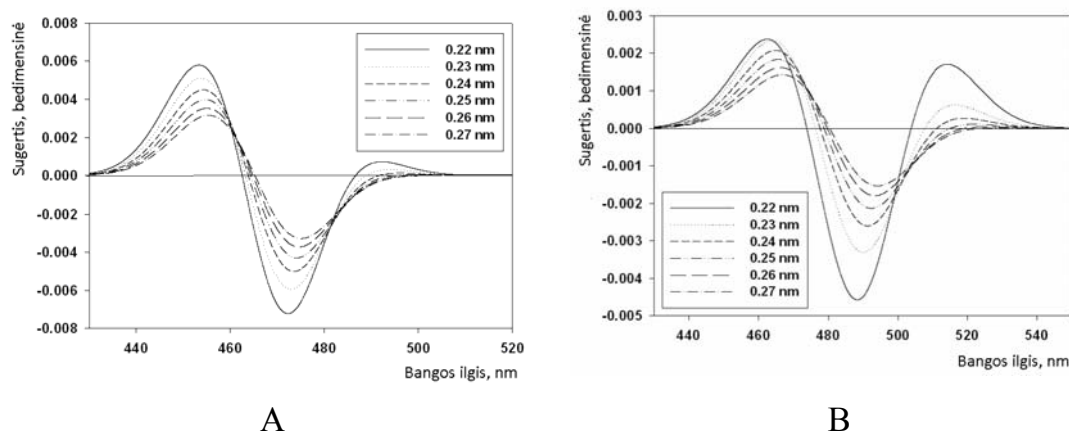


**Pav. 7.9** Violoksanino ir zeaksantino dimerų geometrijos. A – violoksanino dimeras iš originalios PDB struktūros (kaip 7.7 pav). C – zeaksantino dimeras iš originalios PDB struktūros (kaip 7.7 pav). B – postuluojamas violoksanino dimeras, susidarantis NPQ sąlygomis. D – postuluojamas zeaksantino dimeras, galintis susidaryti NPQ sąlygomis.



**Pav. 7.10** Violoksanino ir zeaksantino dimerų sužadintos būsenos  $S_2$  eksitoninio suskilimo priklausomybė nuo  $RC_{15}$  atstumo.

Energijų lygmenys yra gauti, naudojant TD-DFT skaičiavimus. Tačiau šie skaičiavimai neleidžia įvertinti linijų pločių, kai tuo tarpu eksperimentiniai *in vitro* violoksantino ir zeaksantino  $S_2$  sugerties linijos pločiai yra atitinkamai lygūs 24 nm ir 34 nm [236]. Tad norint palyginti skirtuminius spektrus, gautus iš skaičiavimų su eksperimentiniais rezultatais,  $S_2$  sugerties linijos buvo apvelkamos Gauso funkcijomis, parametrus derinant su eksperimentinėmis vėrtėmis. Santykiniai intensyvumai kiekvienos iš šių linijų buvo parenkami proporcingai šuolio dipoliniams momentams, o pločiai, kaip jau minėta, parinkti lygūs 24 nm violoksantinui ir 34 nm zeaksantinui. Gauti abiejų molekulių ir dimero spektrai buvo normuoti, o sugerties skirtumo spektras buvo gaunamas atimant vienos molekulės spektrą iš ksantofilų dimero spektro. Gauti skirtuminiai spektrai violoksantinui ir zeaksantinui yra pavaizduoti atitinkamai 7.11 A ir B paveiksluose.



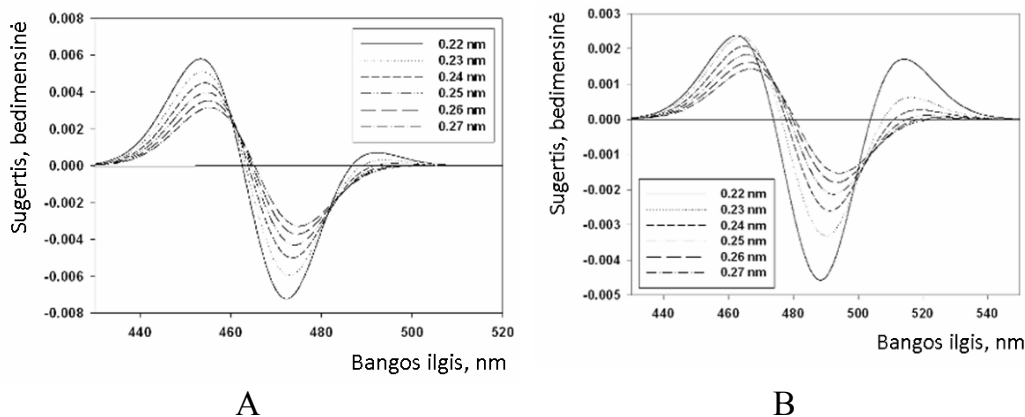
**Pav. 7.11** Suskaičiuoti skirtuminiai sugerties spektrai (dimero minus dviejų atskirų viloksantino (A) ir zeaksantino (B) monomerų sugertiems spektrai) didinant tarpmolekulinį atskyrimą. Linijų tipai atspindi  $R_{C15}$  atstumą.

Paveikslas 7.11 A rodo, kad violoksantino dimero spektras turi komponentus, kurie yra pasislinkę ir į raudonųjų, ir mėlynųjų bangų puses, lyginant su vienos molekulės sugertiems juosta. Tai yra tikėtina, žinant, kad abu eksitoniniai dimero šuoliai yra dipoliškai leistini. Visgi raudonojo poslinkio komponentė yra daug mažesnė nei mėlynojo poslinkio komponentė. Pažymėtina, kad

energijos skirtumas tarp skirtuminio sugerties spektro įdubos ir piko (suvidurkinto per  $R_{C15}$  šešias vertes) yra lygus 112 meV ( $902\text{ cm}^{-1}$ ), kai tuo tarpu eksperimentinė šio skirtumo vertė yra lygi 143 meV ( $1153\text{ cm}^{-1}$ ). Taigi, dimero geometrija, tiesiogiai paimta iš kritolografinių duomenų, nepaaiškina eksperimentiškai aptinkamo raudonojo poslinkio, atsirandančio didelės apšvitos sąlygomis.

Paveikslas 7.11 B vaizduoja, kad zeaksantino dimeras turi panašias fotofizikines savybes, nors ir su daug stipresniu raudonuoju poslinkiu. Visgi raudonojo poslinkio komponentė išryškėja tik kai  $R_{C15} = 2.3\text{ nm}$ . Tačiau ir šiuo atveju mėlynasis spektro poslinkis yra daug ryškesnis. Vidutinis energijos skirtumas tarp skirtuminio sugerties spektro minimumo ir mėlynojo teigiamo signalo siekia 143 meV ( $1153\text{ cm}^{-1}$ ), kai tuo tarpu eksperimentinė šio skirtumo vertė yra lygi 187 meV ( $1508\text{ cm}^{-1}$ ).

Šie rezultatai rodo, kad norint susieti raudonąjį spektro poslinkį su eksitoniniais dimerais, jų konfigūracija privalo būti kitokia nei 7.9 B ir D paveiksle. Nagrinėjami ksantofilai yra labiau horizontaliai orientuoti tilakoido membranos atžvilgiu, tad šį aspektą įskaičius dimero struktūra turėtų šiek tiek kisti. Žinoma, kad NPQ sąlygomis tilakoido membrana tampa ~30% plonesnė [237]. Tad yra pagrindo manyti, jog šiuo atveju išoriniai ksantofilai LHCI kompleksuose gali šiek tiek pakeisti savo orientaciją ir tuo pačiu eksitoninių dimero būsenų intensyvumus [237]. Toks hipotetinis dimero geometrijos pokytis yra pavaizduotas 7.9 B ir D paveiksluose. Šioms konfigūracijoms žemiausia eksitoninė juosta jau turi daug intensyvesnę sugertį. Pažymėtina, jog šios geometrijos konfigūracijos yra gaunamos pasukus pigmento molekules apie  $15^\circ$  violoksantinui ir  $18^\circ$  zeaksantinui. Skaičiavimų rezultatai yra panašūs pavaizduotiems 7.10 paveiksle. Sugerties skirtuminis spektras šiuo atveju, jį skaičiuojant taip pat, kaip ir pradinei ksantofilų konfigūracijai violoksantinui ir zeaksantinui, pavaizduoti 7.12 A ir B paveiksluose. Šie rezultatai demonstruoja galimybę paaiškinti eksperimente stebimą skirtuminį spektrą.

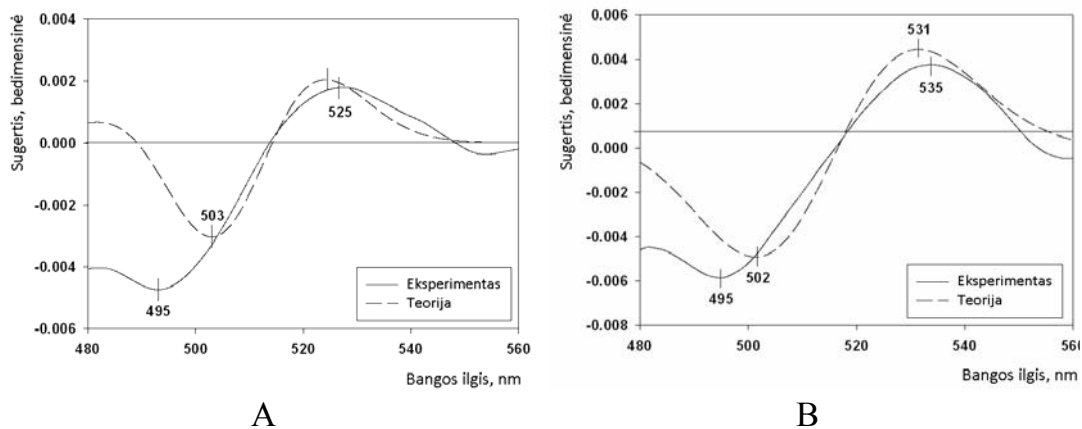


**Pav. 7.12** Apskaičiuotas skirtuminis sugerties spektras (dimeras minus viena molekulė) violoksantinui (A) ir zeaksantinui (B), esant skirtingiems tarpmolekuliniams atstumams.

Yra du esminiai skirtumai tarp teorinio ir eksperimentinio spektro (7.11 pav). Pirmiausia, teoriniame skirtuminiame spektre visgi yra stebima eksonine dimero sugertis mėlynoje spektro pusėje. Šis skirtumas gali būti siejamas su keliais modelio aspektais. Pirmiausia modelis neįskaito galimo tirpiklio poveikio. Pažymėtina taip pat, jog energijų skirtumai tarp skirtuminio sugerties spektro minimumo ir maksimumo yra lygus 99 meV ( $798 \text{ cm}^{-1}$ ) puvioloksantino dimerui ir 143 meV ( $1153 \text{ cm}^{-1}$ ) zeaksantino dimerui, kas yra mažiau, nei vertės 143 meV ( $1153 \text{ cm}^{-1}$ ) ir 187 meV ( $1508 \text{ cm}^{-1}$ ), gaunamos iš eksperimentinių duomenų. Nepaisant šių nesutapimų, teoriškai apskaičiuoti skirtuminiai spektrai, kuriuose atsiranda indukuotas sugertis raudonojoje spektro srityje, pakankamai gerai atspindi eksperimente gaunamus rezultatus.

7.13 A ir B paveiksluose pateiktas apskaičiuotas sugerties skirtuminis spektras, gretinant jį su eksperimentiniu spektru, kuris buvo pateiktas 7.11 paveiksle. Teorinis spektras buvo pastumtas energijų ašyje taip, kad juos būtų galima sulyginti. Matyti, kad eksperimente stebimi spektriniai ypatumai yra atspindėti skaičiuojant tiek violoksantino, tiek ir zeaksantino skirtuminius spektrus.





**Pav. 7.13** Teorinis skirtuminis sugerties spektras (brūkšninė linija) sulyginamas su eksperimentiniu (ištisinė linija) *npq1* mutantams (A) ir natūraliems augalams (B).

Eksitoninė sąveika heterodimere taip pat gali turėti įtakos, aiškinant eksperimentinius spektrus. Galimas heterodimeras – tai violoksnatinas-zeaksantinas ir zeaksantinas-violaksantinas, tačiau luteinas nesudaro dimerinės struktūros, nes dvi luteino molekulės yra LHCI kompleksu centre. Violaksantino-zeaksantino heterodimeras egzistuoja natūraliuose augaluose, o *npq1* mutante jo negali būti, nes jame nėra zeaksantino. Violaksantino heterodimeras negali būti natūraliose augaluose, nes dėl vykstančių violoksnantino ciklinių reakcijų toks dimeras yra mažai tikėtinas. Bet kuriuo atveju tokie heterodimerai turi sudaryti darinius, pavaizduotus 7.9 B ir D paveiksluose, tad iš to seka, jog norint šiuos spektrus susieti su eksperimentiniais rezultatais, rezonansinė sąveika turi būti tos pačios eilės, kaip kad gauta modeliuojant zeaksantino-zeaksantino dimerą. Violaksantino-zeaksantino ir neoksnatino-zeaksantino heterodimeruose įvertinimai rodo, jog šiuo atveju rezonansinė sąveika yra maža (mažesnė nei 10 meV). Tačiau ir šiuo atveju violaksantino-neoksnatino heterodimero eksitoninis suskilimas yra palyginamas su rezultatu, gaunamu zeaksantino homodimerui. Taigi iš principo gali būti, kad šis heterodimeras irgi yra sietinas su 525 nm sugerties poslinkiu, stebimą *npq1* mutantuose.

## 7.5 Rezultatai ir išvados

Lutenai LHCII baltymuose gali turėti tris struktūrinės konfigūracijas, nulemtas  $\beta$ -žiedo. Gauta, kad sužadinta būseną  $1^1B_u^-$ , skiriasi nuo polienuose esančios  $1^1B_u^-$ , o būtent luteine esanti būseną turi papildomą konfigūraciją  $1 \rightarrow 1'$ . Kitų būsenų konfigūracijų indėlis tiek luteine, tiek polienuose yra panašus. Pirma sužadinta  $2^1A_g^-$  būseną yra draustinė ir ją, kaip ir polienuose, daugiausia nulemia dvielektroniniai HOMO LUMO šuoliai ( $(1)^2 \rightarrow (1')^2$ ).

LHCII agregato skirtuminis sugerties spektras NPQ sąlygomis (esant didelėms apšvitoms), lyginant su sugertiems spektru, gaunamu normaliomis sąlygomis, aiškiai parodo karotinoidų sugertiems juostos ties 535 nm raudonąjį poslinkį. Šis spektro pokytis yra aiškinamas eksitonine sąveika, atsirandančia ksantofilų dimere, kuri suformuoja sąveikaujantys LHCII kompleksai. Tačiau aiškinimui taip pat reikia papildomai postuluoti, jog šios dvi ksantofilų molekules NQP sąlygomis taip pat šiek tiek pakeičia tarpusavio konfigūraciją. Toks konfigūracijos pokytis yra grindžiamas stebimu membranos suplonėjimu NPQ sąlygomis. Pastaroji prielaida sustiprina sugertiems intensyvumą į žemiausią eksitoninę dimero būseną ir tuo pačiu susilpnina šuolio intensyvumą į aukštesnę eksitoninę būseną. Remiantis kristalogafiniais LHCII kompleksų duomenimis buvo postuluojama, jog dvi ksantofilų molekules, o būtent violoksantino arba zeaksantino molekules, esančios V1 baltymo padėtyje, gali sudaryti tokį dimerą (7.12 pav.). Naudojant TD-DFT/CAM-B3LYP/cc-pVDZ metodologiją buvo parodyta, kad tokio dimero atveju rezonansinė sąveika siekia  $J \sim 22$  meV ( $177 \text{ cm}^{-1}$ ) violoksantinui ir  $J \sim 27$  meV ( $218 \text{ cm}^{-1}$ ) zeaksantinui.

Visi šie rezultatai yra gauti neįskaičius galimo aplinkos poveikio į spektrus. Tačiau tai kokybiškai nekeičia gautų rezultatų. Taip pat pažymėtina, jog aprašant skirtuminius spektrus, spektrų pločiai buvo parenkami kaip laisvai derinami parametrai. Gauti rezultatai demonstruoja raudonąjį dimero sugerties spektro poslinkį, lyginant jį su monomero sugertimi, lygų 99 meV ( $798 \text{ cm}^{-1}$ ) ir 143 meV ( $1153 \text{ cm}^{-1}$ ) atitinkamai violoksantinui ir zeaksantinui. Šie vertinimai kokybiškai pilnai paaiškina eksperimentiškai stebimą poslinkį, kuris yra lygus 143 meV ( $1153 \text{ cm}^{-1}$ ) ir 187 meV ( $1508 \text{ cm}^{-1}$ ).

Taip pat trumpai aptarta galimybė susidaryti ksantofilo heterodimerams NPQ sąlygomis. Buvo pastebėta, kad sužadintos sąveikos tarp violoksantino ir zeaksantino, ir zeaksantino ir neoksantino yra nereikšmingas, o sąveikos tarp violoksantino ir neoksantino galėtų, iš principo, būti svarbios.

## Santrumpos

Angl. – angliškai

ATP – adenzintrifosfatas

BO – bakterioopsinas

BR – bakteriorodopsinas

Chem. – cheminis

CI – konfigūracijų sąveikos metodas (*angl.* Configuration Interaction)

DFT – tankio funkcionalo teorija (*angl.* Density Functional Theory)

DM – dipolinis momentas

EP – elektros krūvio pokytis

FF – jėgų laukas (*angl.* Force Field)

HOMO – aukščiausia užimta molekulinė orbitalė (*angl.* Highest Occupied Molecular Orbital)

HF – Hartrio Foko teorija

KS – Kohnas ir Šamas (W.Kohn, L. J. Sham)

LDA – lokalaus tankio artinys (*angl.* Local-density approximation)

Lit. – litratūroje

Lot. - lotyniškai

LUMO – žemiausia neužimta molekulinė orbitalė (*angl.* Lowest Occupied Molecular Orbital)

MD – molekulių dinamika

MIEP – 2-(*N*-metil- $\alpha$ -iminoethyl)-fenolio molekulė

MM – molekulių mechanika

MP2 – Møllerio Plesseto antros eiles energijos trikdžių pataisa

MP $n$  – Møllerio Plesseto  $n$  eiles energijos trikdžių pataisa

MS1 – *N*-triphenylmethylsalicylidene imine

NPQ – nefotocheminis gesimas (*angl.* Non-Photochemical Quenching)

PCM – poliarizuojamos aplinkos modelis (*angl.* Polarized Continuum Model)

PERS – fotoindukuotas elektrinis atsakas (*angl.* Photo-Induced Electric Response)

PES – potencialinės energijos paviršius (*angl.* Potential Energy Surface)  
PM – purpurinė membrana  
QM – kvantinė mechanika (*angl.* Quantum Mechanics)  
QM/MM – kvantinė machnika ir molekulių mechanika  
RCIS – vienkartinių šuolių CI  
SA – Salicylideneanilino molekulė  
SCF – suderintinio lauko metodo procedūra (*angl.* Self-Consistent Field)  
SCRF – suderintinio reakcijos lauko metodo procedūra (*angl.* Self-Consistent Reaction Field)  
SMA – salicylidene methylamino molekulė  
TD-DFT – nestacionarioji tankio funkcionalo teoriją (*angl.* Time-Dependent Density Functional Theory)  
UV - ultravioletinė  
VR – valentinių ryšių teorija  
ZVE – nulinių virpesių energija (*angl.* Zero-Point Energy)  
Žr. – žiūrėti

## Literatūra

- [1] van Amerongen H , Valkunas L , van Grondelle R (2000) Photosynthetic excitons, World Scientific, Singapore
- [2] Praškevičius A, Ivanovienė L, Stasiūnaitė N, Burnevkienė J, Rodovičius H, Lukoševičius L, Kondratas D (2003) Biochemija, KMU leidykla
- [3] Armstrong G. (2010) Nat Chem 1755-4330
- [4] Kietis P, Vengris M, Valkunas L (2001) Biophys J 80, 1631
- [5] Demmig-Adams B, Adams W (2002) Science 13 298, 2149
- [6] Holt NE, Zigmantas D, Valkunas L, Li XP, Niyogi KK, Fleming GR (2005) Science 307, 433
- [7] Kerešiče S, Kiss AZ, Kouřil R, Boekema EJ, Horton P (2010) FEBS Lett 584 4, 759
- [8] Ahn TK, Avenson TJ, Ballottari M, Cheng YC, Niyogi KK, Bassi R, Fleming GR (2008) Science 9 320, 794
- [9] Agmon N (2005) Biophys J 88, 2452
- [10] Neutze R, Pebay-Payroula E, Edman K, Royant R, Navarro J, Landau EM, (2002) BBA 1565, 144
- [11] Lanyi JK (2004) BBA, 1658
- [12] Kandt C, Schlitter J, Gerwert K (2004) Biophys J 86, 705
- [13] Shinar R, Druckmann S, Ottolenghi M, Korenstein R (1977) Biophys J 19, 1
- [14] Saigo S (1978) Tokyo, 127
- [15] Keszthelyi L (1980) Biochim Biophys Acta 598, 429
- [16] Druckmann S, Ottolenghi M (1981) Biophys J 33, 263
- [17] Tsuji K, Neumann E (1981) Int J Biol Macromol 3, 231
- [18] Kimura Y, Ikegami A, Ohno K, Saigo S, Takeuchi Y (1981) Photochem Photobiol 33, 435
- [19] Kimura Y, Fujiwara M, Ikegami A (1984) Biophys J 45, 615
- [20] Porschke D (1996) Biophys J 71, 3381
- [21] Barabas K, Der A, Dancshazy Z, Ormos P, Keszthelyi L, Marden M (1983) Biophys J 43, 5

- [22] Petkanchin IB, Taneva SG, Todorov GS (1991) *Coll Surf* 52, 257
- [23] Papp E, Fricsovszky G, Meszena G (1986) *Biophys J* 49 1089
- [24] Achuster P, Zundel G, Sandorfy C (1976) Noth-Holland Pub, Amsterdam
- [25] Jeffrey A (1997) Oxford University Press, New York
- [26] Scheiner S (1997) Oxford University Press, New York
- [27] Murata K, Fujii Y, Enomoto N, Hata M, Hoshino T, Tsuda M (2000) *Biophys J* 79, 982
- [28] Hayashi S, Ohmine I (2000) *J Phys Chem* 104, 10678
- [29] Hayashi S, Tajkhorshid E, Schulten K (2003) *Biophys J* 85, 1440
- [30] Lanyi JK. (2004) *Annu Rev Physiol* 66, 665
- [31] Warshel A, Parson WW (2001) *Quart Rev Biophys* 34, 563
- [32] Subramaniam S, Henderson R. (2000) *Nature* 406, 653
- [33] Michel H, Behr J, Harrenga A, Kannt A (1998) *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 27, 329
- [34] Mitchell P (1961) *Nature* 191, 144
- [35] Stoeckenius W, Bogomolni RA (1982) *Annu Rev Biochem* 51, 587
- [36] Warshel A (1981) *Acc Chem Res* 14, 284
- [37] Wikstrom MKF (1997) *Nature* 266, 271
- [38] Gulbinas V, Kodis G, Valkunas L, Gruodis A, Mialocq JC, Pommeret S, Gustavsson T (1999) *J Phys Chem* 103:3969
- [39] Schulten K, Tavan P (1978) *Nature* 272:85–86. PubMed: 628439
- [40] Hayashi S, Tajkhorshid E, and Schulten K (2002) *Biophysical Journal* 83, 1281
- [41] Luecke H, Schobert B, Richter HT, Cartailler JP, Lanyi JK (1999) *J Mol Biol* 291, 899
- [42] Cohen MD, Schmidt GMJ (1964) *J Chem Soc*, 1969
- [43] Becker RS, Richey WF (1967) *J Am Chem Soc* 89, 1298
- [44] Richey WF, Becker RS (1968) *J Chem Phys* 49, 2092
- [45] Potashnik R, Ottolenghi M (1969) *J Chem Phys* 51, 3671
- [46] Barbara PF, Rentzepis PM, Brus LE (1980) *J Am Chem Soc* 102, 2786
- [47] Lewis JW, Sandorfy C (1982) *Can J Chem* 60, 1738

- [48] Yuzawa T, Takahashi H, Hamaguchi H (1993) Chem Phys Lett 202, 221
- [49] Mitra S, Tamai N (1998) Chem Phys Lett 282, 391
- [50] Mitra S, Tamai N (1999) Chem Phys 246, 463
- [51] Shen MY, Zhao LZ, Goto T, Mordzinski AJ (2000) Lumin 87, 667
- [52] Zgierski M, Grabowska A (2000) J Chem Phys 112, 6329
- [53] Ogawa K, Harada J, Fujiwara T, Yoshida S (2001) J Phys Chem A 105, 3425
- [54] Vargas V, Amigo LJ (2001) Chem Soc Perkin Trans 2, 1124
- [55] Mitra S, Tamai N (2003) Phys Chem Chem Phys 5, 4647
- [56] Ziolk M, Kubicki J, Maciejewski A, Naskrecki R, Grabowska A (2003) Chem Phys Lett 369, 80
- [57] Rospenk M, Krol-Starzomska I, Filarowski A, Koll A (2003) Chem Phys 287, 113
- [58] Ogawa K, Harada J (2003) J Mol Struct 647, 211
- [59] Fabian WMF, Antonov L, Nedeltcheva D, Kamounah FS, Taylor PJ (2004) J Phys Chem 108, 7603
- [60] Okabe C, Nakabayashi T, Inokuchi Y, Nishi N, Sekiya H (2004) J Chem Phys 121, 9436
- [61] Ziolk M, Kubicki J, Maciejewski A, Naskrecki R, Grabowska A (2004) Phys Chem Chem Phys 6, 4682
- [62] Lewanowicz A, Olszowski A, Dziekonski P, Leszczynski J (2005) J Mol Model 11, 398
- [63] Rodriguez-Cordoba W, Zugazagoitia JS, Collado-Fregoso E, Peon J (2007) J Phys Chem A 111, 6241
- [64] Macernis M, Kietis BP, Sulskus J, Lin SH, Hayashi M, Valkunas L (2008) Chem Phys Lett 466, 223
- [65] Ortiz-Sanchez JM, Gelabert R, Moreno M, Lluch JM (2008) J Chem Phys 129, 214308
- [66] Ziolk M, Filipczak K, Maciejewski A (2008) Chem Phys Lett 464, 181
- [67] Ruckebusch C, Sliwa M, Rehault J, Naumov P, Huvenne JP, Buntinx G (2009) An Chim Acta 642, 228



- [68] Ziolek M, Burdzinski G, Karolczak J (2009) *J Phys Chem A* 113, 2854
- [69] Sliwa M, Mouton N, Ruckebusch C, Aloise S, Poizat O, Buntinx G, Metivier R, Nakatani K, Masuhara H, Asahi T (2009) *J Phys Chem C* 113, 11959
- [70] Sliwa M, Mouton N, Ruckebusch C, Poisson L, Idrissi A, Aloise S, Potier L, Dubois J, Poizat O, Buntinx G (2010) *Photochem Photobiol Sci* 9, 661
- [71] Hadjoudis E, Mavridis IM (2004) *Chem Soc Rev* 33, 579
- [72] Sliwa M, Letard S, Malfant I, Nierlich M, Lacroix PG, Asahi T, Masuhara H, Yu P, Nakatani K (2005) *Chem Mater* 17, 4727
- [73] Edreym TG, Honig BQ (1975) *Rev Biophys* 8, 129
- [74] Buchert J, Stefancis V, Doukas AG, Alfano RR, Callender RH, Pande J, Akita H, Balogh-Nair V, Nakanishi K (1983) *Biophys J* 43, 279
- [75] Whitten DG, McCall MT (1969) *J Am Chem Soc* 91, 5097
- [76] Liu Z, Yan H, Wang K, Kuang T, Zhang J, Gui L, An X, Chang W (2004) *Nature* 428, 287
- [77] Standfuss J, van Sceltinga TAC, Lamborghini M, Kuhlbrandt W (2005) *The EMBO Journal* 24, 919
- [78] Fahrenkamp-Uppenbrink J, Szuromi P, Yeston J, Coontz R (2008) *Science* 321, 783
- [79] Bartlett RJ (1989) *J Phys Chem* 93, 1697
- [80] Martin JML, de Oliveira G (1988) *J Chem Phys* 111, 1843
- [81] Thomas JR, Deeleeuw BJ, Vacek G, Crawford TD, Yamaguchi Y, Schaefer HF (1993) *J Chem Phys* 99, 403
- [82] Tsuzuki S, Uchimaru T, Matsumura K, Mikami M, Tanabe K (1999) *J Chem Phys* 110, 11906
- [83] Murphy RB, Beach MD, Friesner RA, Ringnalda MN (1995) *J Chem Phys* 103, 1481
- [84] Roos BO, Andersson K, Fulscher MP, Malmqvist PA, Serrano-Andres L, Pierloot K, Merchán M (1996) *Adv Chem Phys* 93, 219
- [85] Dutta A, Sherrill CD (2003) *J Chem Phys* 118, 1610
- [86] Robb MA, Olivucci M, Bernardi F (1998) *Encyc Comp Chem*, 2056
- [87] Tavan P, Schulten K (1986) *J Chem Phys* 85, 11

- [88] Friesner RA (2005) PNAS 102, 6648
- [89] Hohenberg P, Kohn W (1964) Phys Rev B 864, 1326
- [90] Kohn W, Sham LJ (1965) Phys Rew A 140, 1133
- [91] Kohn W, Sham LJ (1965) Phys Rew A 137, 1697
- [92] Sham LJ, Kohn W (1964) Phys Rev 145, 561
- [93] Kohn W, Becke AD, Parr RG (1996) J Phys Chem 100, 12974
- [94] Johnson BG, Gill PMW, Pople JA (1993) J Chem Phys 98, 5612
- [95] Becke AD (1998) Phys Rev A 38, 3098
- [96] Becke AD (1998) J Chem Phys 98, 5648
- [97] Lee CT, Yang WT, Parr RG (1988) Phys Rev B 37, 785
- [98] Murray CW, Laming GJ, Handy NC, Amos RD (1992) Chem Phys Lett, 199
- [99] Redfern PC, Zapol P, Curtiss LA, Rajh T, Thurnauer MC (2003) J Phys Chem B 107, 11419
- [100] Slater J C (1951) Phys. Rev 81, 385
- [101] Ceperly DM, Alden BJ (1980) Phys Rev Let 45, 566
- [102] Becke AD (1983) J Quantum Chem 23, 1915
- [103] Becke AD (1986) J Chem Phys 84, 4524
- [104] Becke AD (1988) Phys Rev A 38, 3098
- [105] Curtiss LA, Raghavachari K, Redfern PC, Pople JA (1997) J Chem Phys 106, 1063
- [106] Marques MAL, Ullrich CA, Nogueira F (2006) Springer
- [107] Casida ME, Casida KC, Salahub DR (1998) Int J Quantum Chem 70, 993
- [108] Parac M, Grimme S (2002) J Phys Chem A 106, 6844
- [109] Alder BJ, Wainright TE (1959) J Chem Phys 27, 1208
- [110] Field MJ, Bash PA, Karplus M (1990) J Comput Chem 11, 700
- [111] Neese F, Orca Version 2.8 Bonn University
- [112] Tomasi J, Persico M (1994) Chem Rev 94, 2027
- [113] Tannor DJ, Marten B, Murphy R, Friesner RA, Sitkoff D, Nicholls A, Ringnalda M, Goddard WA, Honig B (1994) J Am Chem Soc 116, 11875
- [114] Klicic JJ, Friesner RA, Liu SY, Guida WC (2002) J Phys Chem A 106, 1327

- [115] Ulig HH (1937) *J Phys Chem* 41, 1215
- [-116] Hummer G, Garde S, Garcia AE, Paulaitis ME, Pratt LR (1996) *Proc Natl Acad Sci USA* 93, 8951
- [117] Pierotti RA (1976) *Chem Rev* 76, 712
- [118] Vigne-Maeder F, Claverie P (1987) *J Am Chem Soc* 109, 24
- [119] Maseras F, Morokuma K (1995) *J Comp Chem* 16, 1170
- [120] Humbel S, Sieber S, Morokuma K (1996) *J Chem Phys* 105, 1959
- [121] Matsubara T, Sieber S, Morokuma K (1996) *Int J Quant Chem* 60, 1101
- [122] Svensson M, Humbel S, Froese RDJ, Matsubara T, Sieber S, Morokuma K (1996) *J Phys Chem* 100, 19357
- [123] Svensson M, Humbel S, Morokuma K (1996) *J Chem Phys* 105, 3654
- [124] Dapprich S, Komáromi I, Byun KS, Morokuma K, Frisch MJ (1999) *J Mol Struct (Theochem)* 462, 1
- [125] Vreven T, Morokuma K (2000) *J Comp Chem* 21, 1419
- [126] Davydov AS (1964) *Sov Phys Usp* 7, 145
- [127] Heisenberg (1926) *Zeitschrift für Physik* 38, 411
- [128] Dirac PAM (1926) *Proc Roy Soc Lond A* 112, 762
- [129] Altshuler BL, Aronov AG, Khmelnskiy DE (1982) *J Phys C* 15, 7367
- [130] Redfield AG (1957) *IBM J Res Develop* 1, 19
- [131] Förster T (1948) *Ann Physik* 437, 55
- [132] Frisch MJ et al. (2004) *GAUSSIAN 03, Revision C.02*, Gaussian Inc., Wallingford, CT
- [133] Aprà E, Bernholdt DE et al. (2000) *Computer Phys Comm* 128, 260
- [134] Young D (2001) *Computational Chemistry*, Wiley-Interscience, GAMESS
- [135] Werner HJ et al. *MOLPRO*
- [136] Karlström G et al. (2003) *Computational Material Science* 28, 222
- [137] Case DA, Darden TA, Cheatham TE et al (2006) *AMBER 9*, University of California, San Francisco
- [138] Stewart JJP, *MOPAC 2006 Version 1.0*, Fujitsu Limited, Tokyo, Japan.
- [139] Michael JS et al. (1985) *J Am Chem Soc (ACS Publications)* 107, 3902

- [140] Scheiner S (2000) *J Phys Chem A* 104, 5898
- [141] Gilli G, Bellucci F, Ferretti V, Betolasi V (1989) *J Am Chem Soc* 111, 1023
- [142] Koll A (2003) *Int J Mol Sci* 4, 434
- [143] Król-Starzomska I, Filarowski A, Rospenk M, Koll S, Melikova S (2004) *J Phys Chem A* 108, 2131
- [144] Markova N, Enchev V (2004) *J Mol Struct Theochem* 679, 195
- [145] Yong-Hong L, Ping-Gui Y, Chen-Zhong C (2005) *J Mol Struct Theochem*. 729, 163
- [146] Marek Z, Grabowska A (2000) *J Chem Phys* 12, 6329
- [147] Sánchez JM, Gelabert R, Moreno M, Lluch JM (2006) *J Chem Phys A* 110, 4649
- [148] Sánchez JM, Gelabert R, Moreno M, Lluch JM (2008) *J Chem Phys* 129, 214
- [149] Ziólek M, Burdziński G, Karolczak J (2009) *J Chem Phys A* 113, 2854
- [150] Babic D, Bosanac SD, Došlic N (2002) *Chem Phys Lett* 358, 337
- [151] Becke AD (1993) *J Chem Phys* 98, 5648
- [152] Bakker HJ, Nienhuys HK(2002) *Science* 297, 587
- [153] Elsaesser T, Bakker HJ (2002) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- [154] Koll A, Janski J, Karpfen A, Wolschann P (2010) *J Mol Struct* 976, 19
- [155] Kubicki M, J., Maciejewski A, Naskrecki R, Grabowska A (2003) *Chem Phys Lett* 369, 80
- [156] Karpicz R. et al. (2010) *J Phys Chem*, in press.
- [157] Mathies RA, Lin SW, Ames JB, Pollard WT (1991) *Annu Rev Biophys Biophys Chem* 20, 491
- [158] Krebs MP, Khorana HJ (1993) *J Bacteriol* 175, 1555
- [159] Kietis P, Saudargas P, Valkunas L (2005) *Lith J Phys* 45, 397
- [160] Kietis PB, Saudargas P, Varo G, Valkunas L (2007) *Eur Biophys J* 36, 199
- [161] Ziólek M, Kubicki J, Maciejewski A, Naskrecki R, Luniewski W, Grabowska A (2006) *J Photochem Photobiol A* 180, 101
- [162] Otsubo N, Okabe C, Mori H, Sakota K, Amimoto K, Kawato T, Sekiya H (2002) *J Photochem. Photobiol A* 154, 33

- [163] Mukhopadhyay M, Banerjee D, Koll A, Filarowski A, Mukherjee S (2006) *Chem Phys Lett* 420, 316
- [164] Oesterhelt D, Stoeckenius W (1973) *Proc Natl Acad Sci USA* 70, 2853
- [165] Lanyi JK, Schobert B (2003) *J Mol Biol* 328, 439
- [166] Todorov G, Sokerov S, Stoylov SP (1982) *Biophys J* 40, 1
- [167] Taneva S, Todorov G, Petkanchin IB, Stoylov SP (1987) *Eur Biophys J* 14, 415
- [168] Otomo J, Ohno K, Takeuchi Y, Ikegami A (1986) *Biophys J* 50, 205
- [169] Taneva SG, Petkanchin IB (1999) *Trends Photochem Photobiol* 6, 113
- [170] Kietis P, Vengris M, Valkunas L (2001) *Biophys J* 80, 1631
- [171] Jonas R, Koutalos Y, Ebrey TG (1990) *Photochem Photobiol* 52, 1163
- [172] Ehrenberg B, Berezin Y (1984) *Biophys J* 45, 663
- [173] Varo G (1981) *Acta biol Acad Sci hung* 32, 301
- [174] Fisher KA, Yanagimoto K, Stoeckenius W (1978) *J Cell Biol* 77, 611
- [175] Schobert B, Cupp-Vickery J, Hornak V, Smith S, Lanyi J (2002) *J Mol Biol* 321, 715
- [176] Luecke H, Schobert B, Richter HT, Cartailler JP, Rosengarth A, Needleman R, Lanyi JK (2000) *J Mol Biol* 300, 1237
- [177] Edman K, Royant A, Larsson G, Jacobson F, Taylor T, Van Der SD, Landau EM, Pebay-Peyroula E, Neutze R (2004) *J Biol Chem* 279, 2147
- [178] Sass HJ, Buldt G, Gessenich R, Hehn D, Neff D, Schlesinger R, Berendzen J, Ormos P (2000) *Nature* 406, 649
- [179] Kouyama T, Nishikawa T, Tokuhisa T, Okumura H (2004) *J Mol Biol* 335, 531
- [180] Takeda K, Matsui Y, Kamiya N, Adachi S, Okumura H, Kouyama T (2004) *J Mol Biol* 341, 1023
- [181] Facciotti MT, Rouhani S, Burkard FT, Betancourt FM, Downing KH, Rose RB, McDermott G, Glaeser RM (2001) *Biophys J* 81, 3442
- [182] Matsui Y, Sakai K, Murakami M, Shiro Y, Adachi S, Okumura H, Kouyama T (2002) *J Mol Biol* 324, 469

- [183] Bondar AN, Fischer S, Smith JC, Elstner M, Suhai S (2004) *J Am Chem Soc* 126, 14668
- [184] Bondar AN, Elstner M, Suhai S, Smith J, Fischer S (2004) *Structure* 12, 1281
- [185] Song YF, Mao JJ, Gunner MR (2003) *Biochemistry* 42, 9875
- [186] Ferreira AM, Bashford D (2006) *J Am Chem Soc* 128, 16778
- [187] Spassov VZ, Luecke H, Gerwert K, Bashford D (2001) *J Mol Biol* 312, 203
- [188] Lanyi JK, Schobert B (2007) *J Mol Biol* 365, 1379
- [189] Lanyi J, Schobert B (2002) *J Mol Biol* 321, 727
- [190] Parr RG, Yang W (1989) Oxford University Press: Oxford, U.K
- [191] Guex N, Peitsch MC (1997) *Electrophoresis* 18, 2714
- [192] Humphrey W, Dalke A, Schulten K (1996) *J Molec Graphics* 14, 33
- [193] Varo G, Keszthelyi L (1983) *Biophys J* 43, 47
- [194] Langer H (1973) Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, and New York
- [195] Whitten DG, Wildes PD, DeRosier CA (1972) *J Am Chem Soc* 94, 7811
- [196] Wang DY, Zhan CL, Chen Y, Li YJ, Lu ZZ, Nie YX (2003) *Chem Phys Lett* 369, 621
- [197] Yoshida N, Nakamura H, Karube I, Yano K, Morita T, McNiven SJ (2000) *Analyst* 125, 2280
- [198] Koherentinės antistoksinės Ramano sklaidos mikrospektrometras molekulių nanostruktūrų sandaros ir savybių tyrimams (KARSKOPAS). Lietuvos valstybinio mokslo ir studijų fondo aukštųjų technologijų plėtros programos projekto ataskaitos (2007-2009) Registracijos Nr. B-07013
- [199] Niyogi K, Li X, Li Z et al. (2007) *Photosynth Res* 91, 284
- [200] Horton P, Ruban AV, Walters RG (1996) *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 47, 655
- [201] Holt NE, Fleming GR, Niyogi KK (2004) *Biochem* 43, 8281
- [202] Horton P, Ruban AV (2005) *J Exp Bot* 56, 365
- [203] Ma YZ, Holt NE, Li XP, Niyogi KK, Fleming GR (2003) *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 100, 4377

- [204] Holt NE, Zigmantas D, Valkunas L, Li XP, Niyogi KK, Fleming GR (2005) *Science* 307, 433
- [205] Ruban AV, Berera R, Iliaia C et al (2007) *Nature* 450, 575
- [206] Bode S et al (2009) *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 106, 12311
- [207] Muller, M. G.; Lambrev, P.; Reus et al (2010) *ChemPhysChem* 11, 1289
- [208] Polivka T, Sundström V (2009) *Chem Phys Lett* 477, 1
- [209] Polivka T, Sundström V (2004) *Chem Rev* 104, 2021
- [210] Kurashige Y, Nakano H, Nakao Y, Hirao K (2004) *Chem Phys Lett* 400, 425
- [211] Starcke H, Wormit M, Schirmer J, Dreuw A (2006) *Chem Phys* 329, 39
- [212] Haque SA, Nelson J (2010) *Science* 327, 1466
- [213] Dreuw A, Head-Gordon M (2005) *Chem Rev* 105, 4007
- [214] Wormit M, Harbach PHP, Mewes JM, Amarie S, Wachtveitl J, Dreuw A, (2009) *BBA - Bioenergetics* 1787, 738
- [215] Schulten K, Ohmine, Karplus M (1976) *J Chem Phys* 64, 4422
- [216] Dreuw A (2006) *J Phys Chem A* 110, 4592
- [217] Roos BO, Taylor PR, Siegbhan PEM (1980) *Chem Phys* 48, 157
- [218] Shao Y, Molnar LF et al. (2004) *Phys Chem Chem Phys Lett* 289, 39
- [219] Karabunarliev S, Baumgarten M, Müllen K (2000) *J Phys Chem A* 104, 8236
- [220] Orlandi G, Zerbetto F, Zgierski MZ (1999) *Chem Rev* 91, 867
- [221] Pariser R (1956) *J Chem Phys* 24, 250
- [222] Horton P, Ruban AV, Rees D et al. (1991) *FEBS Lett* 292, 1
- [223] Horton P, Wentworth M, Ruban AV (2005) *FEBS Lett* 579, 4201
- [224] Bilger W, Bjorkman O, Thayer SS(1989) *Plant Physiol* 91, 542
- [225] Bilger W, Björkman O (1994) *L Planta* 193, 238
- [226] Ruban AV, Young AJ, Horton P (1993) *Plant Physiol* 102, 741
- [227] Johnson MP, Perez-Bueno ML, Zia A, Horton P, Ruban AV (2009) *Plant Physiol* 149, 1061
- [228] Chang JC (1977) *J Chem Phys* 67, 3901

- [229] Krueger BP, Scholes GD, Flemming GR (1998) *J Phys Chem B* 102, 5378
- [230] Dreuw A et al. (2010) *Theor Chem Acc* 125, 419
- [231] Curutchet C, Munoz-Losa A, Monti S, Kongsted J, Scholes DG (2009) *J Chem Theor Comput* 5, 1838
- [232] Neugebauer J et al. (2010) *J Chem Theor Comput* 6, 1843
- [233] Yanai T, Tew DP, Handy NC (2004) *Chem Phys Lett* 393, 51
- [234] Dunning JTH (1989) *Chem Phys* 90, 1007
- [235] Ruban AV, Pascal AA, Robert B, Horton P (2001) *J Biol Chem* 276, 419
- [236] Gradinaru CC, van Stokkum IHM, Pascal AA, van Grondelle R, van Amerongen H (2000) *J Phys Chem B* 104, 9330
- [237] Ruban AV, Lee PJ, Wentworth M, Young AJ, Horton P (1999) *J Biol Chem* 274, 10458