

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ХЕМОСЕНСОРНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ ЛЕТУЧИХ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

В.А. Сажников, М.В. Алфимов

В обзоре дано описание основных этапов и результатов исследований по разработке флуоресцентных хемосенсорных материалов, выполненных в ЦФ РАН в 2004-2013 гг.

Начиная с момента образования ЦФ РАН, изучение процессов селективного связывания катионов и молекул с фотоактивными супрамолекулярными структурами в растворах было одним из основных направлений проводившихся исследований. Предполагалось, что эти работы послужат в будущем основой для создания хемосенсорных материалов с оптическим откликом, предназначенных для контроля химических примесей в жидких средах. Однако переход от исследований к практической разработке хемосенсорных материалов был осуществлен в первую очередь не для мониторинга состава жидких сред, а для контроля летучих химических соединений в газовой фазе.

Выбор разработки хемосенсорных материалов и устройств контроля летучих соединений в качестве одной из основных целей был сделан на основе анализа спроса на системы контроля жидких и газообразных сред. В начале 2000 г. проблема мониторинга летучих химических соединений с помощью малогабаритных устройств индивидуального контроля стала формироваться как одна из задач современной цивилизации. Наряду с проблемой контроля окружающей среды и технологических производств, возникла проблема использования таких детекторов для диагностики заболеваний человека, контроля состояния природных объектов и технических сооружений, задач персональной и коллективной безопасности и т.д. Все эти проблемы требовали создания высокоселективных и высокочувствительных детекторов летучих веществ, работающих в реальном времени и позволяющих создавать сети детекторов с удаленным контролем сигналов от датчиков.

Анализ результатов наших исследований и компетенций показал, что ЦФ может ответить на стоящие вызовы. Мы поставили перед собой задачу создания материалов, которые позволяют создавать системы датчиков, различающих индивидуальные компоненты в смеси и работающих в реальном времени.

Была разработана методология создания таких хемосенсорных материалов и намечены пути конкретной реализации. Мы исходили из опыта разработки светочувствительных материалов, в первую очередь результатов разработки люминесцентных фотографических материалов. В качестве метода контроля связывания летучего вещества с хемосенсорным материалом был выбран флуоресцентный сигнал. В основу подхода к созданию селективных центров связывания аналитов была положена идея конструирования супрамолекулярных

систем. Хемосенсорные материалы должны быть композитами флуоресцентных супрамолекулярных рецепторных центров и носителей этих центров. Высокая хемочувствительность и быстрый отклик требуют, чтобы носитель имел высокую газопроницаемость и большую поверхность, на которой иммобилизуются рецепторные центры. Было предположено, что разрабатываемый материал может быть создан на основе интегрированных в слои наночастиц с иммобилизованных на их поверхности рецепторными центрами. Такой материал имеет сложную архитектуру и состав и является иерархическим материалом.

Для разработки таких материалов требовались не только многочисленные и трудоемкие эксперименты, но и многоплановое моделирование структуры и свойств материалов. В связи с этим в ЦФ РАН вокруг поставленной задачи стал формироваться большой исследовательский коллектив, работающий по единому согласованному плану. Основной платформой для этих работ стали контракты Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России».

В течение 2005–2013 гг. были проведены работы по нескольким Государственным контрактам: ГК № 02.434.11.2039 (2005–2006 гг.) «Разработка материалов для создания сенсорных элементов устройств оптического контроля химических веществ»; ГК № 02.513.11.3206 (2007–2008 гг.) «Разработка методов создания органических наноматериалов для сенсорных устройств, содержащих структурно-интегрированные сенсорный, электролюминесцентный, светопоглощающий, фотовольтаический и фотодетекторный слои»; ГК № 02.523.11.3014 (2008–2010 гг.) «Разработка методов многомасштабного моделирования и виртуального проектирования наноструктурированных материалов»; ГК № 02.527.11.0009 (2009–2011 гг.) «Оптические химические сенсоры на основе наночастиц, нановолноводов и фотонных структур»; ГК № 11.519.11.3018 (2011–2013 гг.) «Разработка новых наноструктурированных высокочувствительных хемосенсорных материалов для детектирования летучих алифатических и гетероциклических аминов».

Основные результаты разработки флуоресцентных хемосенсорных материалов представлены ниже. Результаты разработки программ многомасштабного моделирования сенсорных материалов подробно представлены в данном сборнике в обзоре А.А. Багатурьянца и М.В. Алфимова, а результаты разработки устройств контроля на основе разработанных сенсорных материалов представлены в обзоре Д.С. Ионова и Е.В. Дмитриева.

1. Актуальность проблемы детектирования летучих химических соединений.

Проблема обнаружения, идентификации и измерения малых концентраций летучих летучих химических соединений (ЛХС) (и, в частности, летучих органических соединений (ЛОС, англ. VOCs от volatile organic compounds) актуальна как для мониторинга состава воздуха в окружающей атмосфере или в

замкнутых помещениях, так и для неинвазивной диагностики состояния здоровья человека, в том числе в стрессовых ситуациях.

Очевидно, что диапазоны концентраций ЛХС, которые необходимо измерять с помощью разрабатываемых сенсорных материалов, следует оценивать, исходя из регламентируемых значений предельно допустимых концентраций (ПДК) вредных примесей в воздухе и тех типичных значений концентраций летучих соединений в выдохе человека, которые характерны для здоровых и больных людей.

1.1. Концентрации ЛХС в мг/м^3 и в ppm. Концентрации газообразных примесей в воздухе могут быть выражены в миллионных долях (млн^{-1}) (parts per million, ppm), исходя из общего соотношения:

$$\text{млн}^{-1} = \text{ppm} = (p_A/p_0) \times 10^6,$$

где p_A – парциальное давление паров аналита, p_0 – общее давление (обычно 760 мм.рт.ст.). Аналогичные выражения можно записать для миллиардных (ppb) и триллионных долей (ppt) с коэффициентами 10^9 и 10^{12} соответственно.

Так как парциальное давление аналита определяется массой его паров, содержащихся в данном объеме, согласно уравнению

$$p_A V = (m/M_w) RT,$$

где M_w – молярная масса, то концентрации, выраженные в ppm, легко пересчитываются в концентрации, выраженные в мг/м^3 . Для температуры 25°C соотношения между концентрациями в ppm и в мг/м^3 выражаются следующими уравнениями:

$$c(\text{мг/м}^3) = c(\text{ppm}) \times (M_w/24.45)$$

$$c(\text{ppm}) = c(\text{мг/м}^3) \times (24.45/M_w),$$

где M_w выражается в (г/моль).

Таким образом, коэффициент пересчета (conversion factor) $\kappa(25^\circ\text{C}) = c(\text{мг/м}^3)/c(\text{ppm})$ равен отношению $M_w/24.45$. Например, для аммиака ($M_w = 17.03$ г/моль) $1 \text{ ppm} = 0.70 \text{ мг/м}^3$ (и соответственно $1 \text{ мг/м}^3 = 1.44 \text{ ppm}$), для этанола ($M_w = 46$ г/моль) $1 \text{ ppm} = 1.9 \text{ мг/м}^3$, для ацетона ($M_w = 58.1$ г/моль) $1 \text{ ppm} = 2.4 \text{ мг/м}^3$, для бензола ($M_w = 78.1$ г/моль) $1 \text{ ppm} = 3.2 \text{ мг/м}^3$, для толуола ($M_w = 92.1$ г/моль) $1 \text{ ppm} = 3.8 \text{ мг/м}^3$. Таким образом, средним значением для обычных ЛХС можно считать значение $1 \text{ ppm} = 1\text{-}5 \text{ мг/м}^3$ и, соответственно, $1 \text{ ppb} = 1\text{-}5 \text{ }\mu\text{г/м}^3$ и $1 \text{ ppt} = 1\text{-}5 \text{ нг/м}^3$.

1.2. Предельно допустимые значения концентраций ЛХС. В таблице 1.1 приведены значения ПДК для некоторых ЛХС, введенные в России в 2003 г. распоряжением Минздрава на основании Положения о государственном санитарно-эпидемиологическом нормировании (гигиенические нормативы «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны. ГН 2.2.5.1313-03»).

Таблица 1.1 – Значения ПДК для некоторых вредных примесей в воздухе.

п/п	Наименование вещества	Формула	Величина ПДК (мг/м ³) (максимальная разовая/ среднесменная)	Переводной коэффициент для пересчета 1 ppm = k (мг/м ³)	Величина ПДК (млн ⁻¹ или ppm)
1	Бензол	C ₆ H ₆	15/5	3.20	4.7/1.6
2	Толуол	C ₇ H ₈	150/50	3.78	40/13.2
3	Ксилол (смесь изомеров)	C ₈ H ₁₀	150/50	4.34	35/11.5
4	Нафталин	C ₁₀ H ₈	20	5.24	3.8
5	Пирен	C ₁₆ H ₁₀	0,03	8.27	0.003

Принятые значения ПДК все время корректируются в соответствии с результатами новых медицинских исследований и могут довольно сильно отличаться в разных странах. Для примера в таблице 1.2 приведены значения предельных величин концентраций (permissible exposure limit, PEL), которые установлены Occupational Safety and Health Administration (OSHA) для рабочих зон в США, и соответствующие значения, принятые в Японии (согласно литературным данным).

Таблица 1.2 – Значения допустимых концентраций в воздухе бензола и метилбензолов в разных странах.

Соединение	Россия (ПДК)	США (PEL)	Япония
Бензол	5 mg/m ³ 1.6 ppm	3.2 mg/m ³ 1.0 ppm	0.001 ppm
Толуол	50 mg/m ³ 13.2 ppm	750 mg/m ³ 200 ppm	0.07 ppm
Ксилолы	50 mg/m ³ 11.5 ppm	435 mg/m ³ 100 ppm	0.20 ppm

Таким образом, разрабатываемые сенсорные устройства для рабочих зон должны обеспечивать возможность измерения концентраций вредных примесей в окружающем воздухе в среднем интервале от 1 до 100 ppm.

Приведенные в таблицах данные относятся к ЛХС из группы ароматических углеводородов. Проблема детектирования паров бензола, толуола и ксилолов (БТК, англ. ВТХ от benzene-toluene-xylenes) является весьма актуальной в связи с тем, что эти соединения широко используются в промышленности и присутствуют в выбросах автомобильных двигателей. Поскольку соединения группы БТК являются канцерогенно-активными, они представляют опасность даже при очень низких концентрациях в окружающем воздухе. Поэтому достаточно широко ведутся

исследования по поиску новых сенсорных материалов, имеющих высокую чувствительность к БТК и по конструированию соответствующих малогабаритных сенсорных устройств.

1.3. Типичные концентрации ЛХС в выдохе человека. Средний состав атмосферных компонентов в выдыхаемом воздухе представлен в таблице 1.3. Альвеолярный воздух состоит в основном из смеси N_2 , O_2 и CO_2 и водяных паров. При общем давлении смеси газов 760 мм рт.ст. парциальное давление O_2 (P_{O_2}) в выдыхаемом воздухе составляет около 120 мм рт.ст., CO_2 (P_{CO_2}) — 27 мм рт.ст. N_2 (P_{N_2}) — 566 мм рт.ст. Парциальное давление водяных паров при температуре 37°C составляет 47 мм рт.ст.

Таблица 1.3 – Газовый состав атмосферного, альвеолярного и выдыхаемого воздуха (%). В скобках приведены значения парциальных давлений газов в мм рт.ст.

Газовый состав воздуха	Атмосферный воздух	Альвеолярный воздух	Выдыхаемый воздух
O_2	20.85 (160)	13.5 (104)	15,5 (120)
CO_2	0.03 (0.2)	5.3 (40)	3.7 (27)
N_2	78.62 (596)	74.9 (569)	74,6 (566)
H_2O	0.5 (3.8)	6,3 (47)	6,2 (47)
Общий	100.0 (760)	100.0 (760)	100.0 (760)

Кроме атмосферных компонентов выдыхаемый воздух содержит в виде следов различные ЛХС, которые продуцируются в организме в результате разнообразных биохимических процессов. Многокомпонентная газовая смесь ЛХС скапливается сначала в альвеолах легких. В выдыхаемый воздух летучие метаболиты проникают из крови, диффундируя через стенки альвеол. Благодаря большой поверхности легких (около 90 м²), летучие вещества (этанол, аммиак, ацетон, уксусная кислота, фенолы и другие) очень быстро переходят из кровяного русла во внешнюю среду с выдыхаемым воздухом. В таблице 1.4 представлены литературные данные о ЛХС в выдыхаемом воздухе.

Таблица 1.4 – Типичные летучие соединения, детектируемые в выдохе, диапазоны наблюдаемых концентраций ЛХС и метаболические процессы их генерации.

Соединение	Интервал концентраций	Метаболический цикл
Ацетальдегид	ppb	Метаболизм этанола
Ацетон	ppm	Декарбоксилирование ацетоацетата
Аммиак	ppb	Метаболизм протеинов
Этан	ppb	Перекисное окисление липидов
Этанол	ppb	Бактериальный метаболизм сахаров

Этилен	ppb	Окисление липидов
Изопрен	ppb	Биосинтез холестерина
Метантиол	ppb	Метаболизм метионина
1-пентан	ppb	Окисление липидов

В таблице 1.5 приведены усредненные за 6 месяцев наблюдения конкретные данные о составе выдоха 30 здоровых пациентов. Как видно, концентрации выдыхаемых ЛХС, как правило, на порядки меньше, чем обычные значения ПДК вредных примесей в воздухе (десятки и сотни ppb по сравнению с десятками и сотнями ppm).

Таблица 1.5 – Средние значения концентрации аналитов в выдохе здоровых людей (в единицах ppb).

Соединение	Аммиак	Ацетон	Метанол	Этанол	Ацетальдегид
Среднее значение	833	477	461	112	22

Средние значения концентраций ЛХС могут отличаться для разных людей (например, средняя концентрация ацетона у здоровых людей может колебаться в пределах от 300 до 900 ppb). Однако для больных диабетом средние значения концентраций выдыхаемого ацетона колеблются уже в области концентраций больше 1800 ppb [11]. Таким образом, ацетон является одним из наиболее очевидных биомаркеров диабета. Аналогичные соотношения, но в разных пропорциях, между концентрациями в выдохе здоровых и больных людей существуют и для других ЛХС, используемых в качестве аналитов в медицине. В таблице 1.6 приведены типичные биомаркеры широко распространенных заболеваний.

Таблица 1.6. Аналиты и связанные с ними заболевания.

Биомаркер	Заболевания
Аммиак	Острая и хроническая лучевая болезнь, почечная недостаточность, рак легкого
Этилен	Хроническая астма, воспаление внутренних органов, острый инфаркт миокарда
Этанол	Сахарный диабет
Метанол	Заболевания центральной нервной системы
Ацетон	Диабет, панкреатит, сердечная недостаточность, рак легкого
Пентан	Рак груди,

	ревматоидный артрит, острый инфаркт миокарда
Бензол и его производные	Рак легкого

Анализ литературных данных о концентрациях ЛХС в выдохе здоровых и больных людей показывает, что для установления факта значительного отклонения содержания биомаркеров в выдохе человека от нормы необходимо иметь сенсорные устройства, измеряющие концентрации аммиака в интервале 700 ppb – 3 ppm, ацетона в интервале 300 ppb – 3 ppm, этанола в интервале 10 ppb – 1 ppm, метанола в интервале 100 ppb – 2 ppm, пропанола в интервале 1–50 ppb. Таким образом, в среднем, любой разрабатываемый сенсор на содержание ЛХС в выдохе человека должен обеспечивать возможность измерений концентраций летучих биомаркеров в интервале от 1 ppb до 5 ppm.

1.4. Объем выдыхаемого воздуха, доступный для анализа. Соотношение объемов вдыхаемого, выдыхаемого и остаточного воздуха приведено на рисунке 1.2. Легкие взрослого человека вмещают в среднем около 4-5 л воздуха. Дыхательный объем — это количество воздуха, которое человек вдыхает и выдыхает при спокойном дыхании. Его объем составляет 300 – 700 мл (в среднем 450 мл). После спокойного вдоха человек может вдохнуть сверх 450 мл еще около 1500 мл (так называемый «дополнительный» воздух). После спокойного выдоха он может выдохнуть дополнительно около 1500 мл (так называемый «резервный» воздух). Длительность вдоха у взрослого человека от 0,9 до 4,7 с, длительность выдоха — 1,2–6 с. Дыхательная пауза различна по величине. Остаточный объем (1000–1500 мл) — это объем воздуха, который остается в легких после максимально глубокого выдоха.

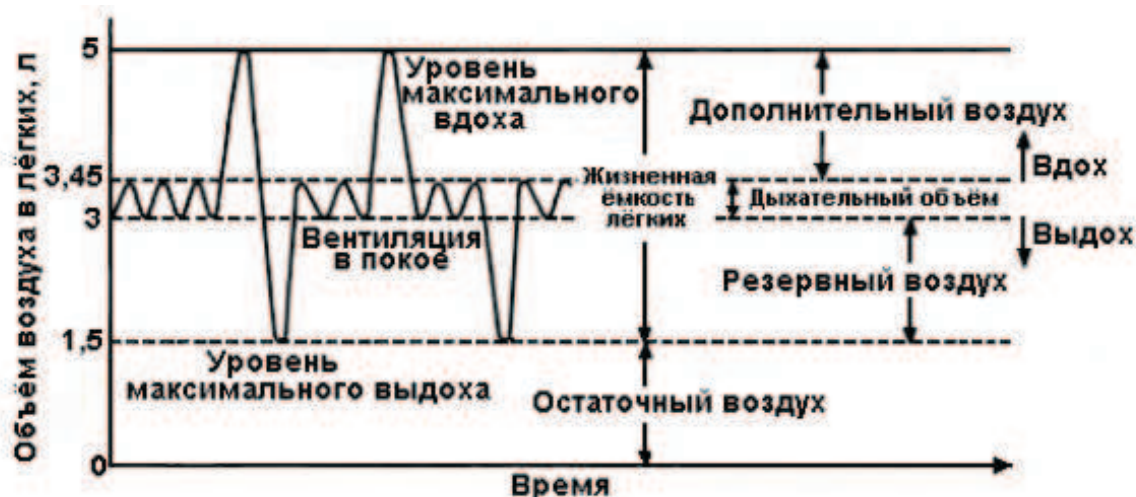


Рисунок 1.1. Соотношение различных объемов воздуха, находящегося в легких.

При вдохе из 450-500 мл вдыхаемого атмосферного воздуха в альвеолы попадает лишь около 300 мл, а приблизительно 100-150 мл остается в воздухоносных путях и в газообмене не участвует. При выдохе, который следует за

вдохом, этот воздух выводится наружу неизменным, не отличающимся по своему составу от атмосферного воздуха. Это так называемый “dead space air” (бесполезный воздух с точки зрения анализа). Воздух, достигающий альвеол, смешивается здесь с 3000 мл уже находящегося в них воздуха. Вновь поступившая порция невелика по сравнению с объемом, к которому она добавляется, вследствие чего полное обновление всего находящегося в легких воздуха является сравнительно медленным процессом.

Таким образом, объем однократно выдыхаемого воздуха, который содержит аналиты-биомаркеры, ограничен приблизительно 300 миллилитрами, которые должны собираться для анализа в основном во вторую половину выдоха. Очевидно, что в ряде случаев это может налагать некоторые ограничения на методы подготовки образцов для анализа состава выдыхаемого воздуха.

Согласно приводимым в литературе данным, среднее значение концентрации ацетона в выдохе здорового человека составляет около 500 ppb, т.е. $1200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ или $1.2 \mu\text{g}/\text{L}$. Таким образом, в 300 мл (один выдох) содержится около $0.4 \text{ мкг} = 400 \text{ нг}$ ацетона.

Очевидно, что чувствительность выбираемой методики детектирования связана с тем количеством воздуха, который необходим для точного определения концентрации. Часто в используемых на практике методиках для достижения нужных значений используется преконцентрирование аналитов. Флуоресцентные методики основаны на адсорбции аналита на твердой матрице с иммобилизованным на ней флуорофором-индикатором. Исходя из времени, необходимого для измерений в реальном времени (примерно 10-30 с), можно предположить, что для адсорбции нужного количества аналита потребуется объем воздуха около 10 мл, в котором содержится около 10-15 нг ацетона.

1.5. Актуальность проблемы анализа выдоха человека. Метод диагностики заболеваний, основанный на запахе дыхания пациентов, издавна использовался в медицине. Например, хорошо известно, что запах ацетона характерен для больных диабетом, запах аммиака в выдыхаемом воздухе свидетельствует о заболевании почек, запах кленового сиропа появляется при нарушении метаболизма жирных кислот и накоплении кетокислот и аминокислот в крови и т.п. Также хорошо известно, что специально натренированные собаки и крысы могут различать по выдыхаемому запаху людей, страдающих определенными заболеваниями.

Благодаря прогрессу в создании высокочувствительных и высокоточных аналитических методов, прежде всего, таких как хроматография и масс-спектрометрия, стала возможной идентификация летучих органических соединений (ЛОС), присутствующих в выдыхаемом воздухе. В 1971 г. Л. Полинг проанализировал с помощью газового хроматографа и масс-спектрометра компоненты выдыхаемого воздуха, которые были получены путем конденсации (с помощью сухого льда) в трубке из нержавеющей стали, и обнаружил в выдыхаемом воздухе около 250 соединений. Последующие исследования показали, что

соединений при выдохе человека гораздо больше и по современным оценкам их число может достигать 2500-3000. Исходя из сегодняшнего уровня знаний, некоторые из ЛОС можно уверенно отнести к диагностически значимым биомаркерам, входящим в симптомокомплекс определенных заболеваний.

В последние годы анализ компонентов выдыхаемого воздуха с целью неинвазивной диагностики заболеваний привлекает все большее внимание ученых различных научно-медицинских центров США и Европы. С 2007 г. издается журнал *Journal of Breath Research*, выпускаемый совместно двумя научными сообществами *International Society for Breath Odor Research* (основано в 1995 г.) и *International Society for Breath Research* (основано в 2005 г.). Журнал целиком посвящен проблемам, связанным с анализом состава выдыхаемого воздуха и диагностикой болезней на основе такого анализа. С 2003 года регулярно проводятся международные конференции (в последнее время ежегодно). Последняя по времени конференция «Breath Analysis Summit 2013: International Conference on Breath Research» состоялась в июне 2013 г. в Германии.

На сегодняшний день очевидно, что уникальный для каждого человека состав выдыхаемого воздуха станет в будущем одним из вариантов диагностики заболеваний наряду с анализами крови и мочи. Рисунок 1.3 иллюстрирует один из вариантов применяемой аналитической аппаратуры и сравнение результатов анализа выдоха здорового и больного человека [Monks, P.S. *Breath Analysis // Education in Chemistry*. 2010. – No. 6 – P. 110].

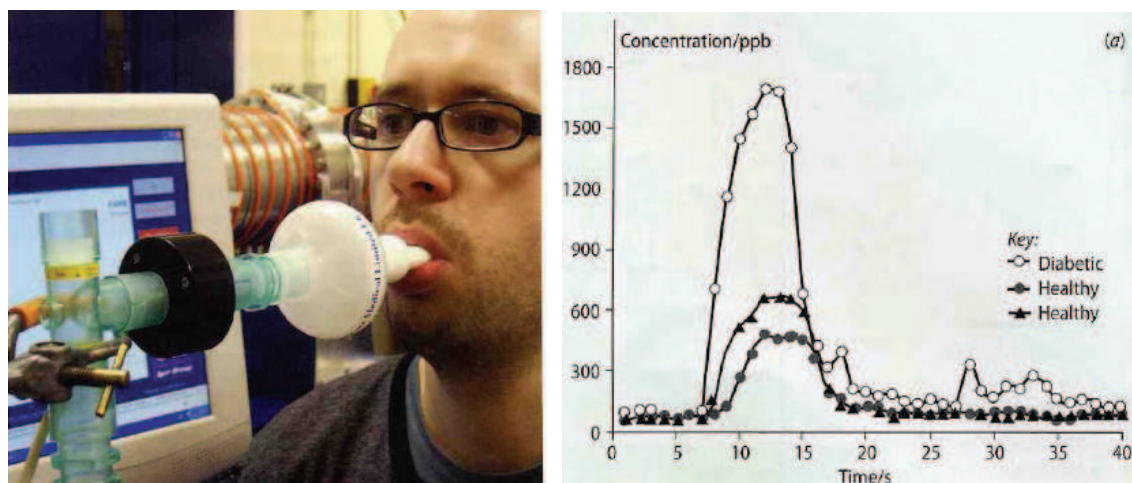


Рисунок 1.3 - Общий вид устройства для сбора выдыхаемого воздуха и аналитического оборудования (слева) и пример получаемых данных о составе выдыхаемого воздуха (справа).

Современные методы анализа, позволяющие достаточно точно установить состав воздуха в помещении или в выдохе человека, основаны в основном на газовой хроматографии и масс-спектрометрии. Однако соответствующее

оборудование, как правило, сложно, дорого, и его миниатюризация представляет большую проблему.

В более общем плане диагностика состояния здоровья может включать также анализ ЛХС, эмиттируемых через кожу человека. На рис. 1.4. приведена схема вывода аммиака из организма, которая включает как выдыхаемый аммиак, так и аммиак, эмиттируемый через кожный покров.

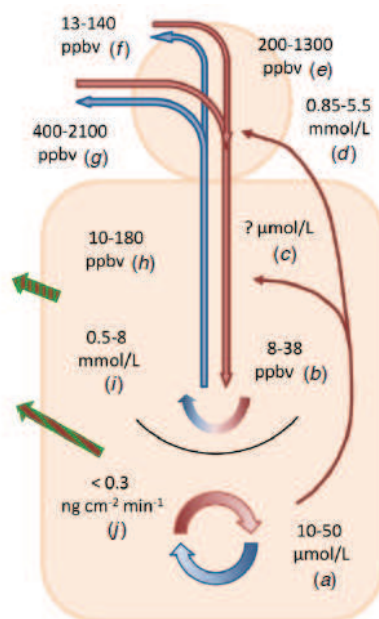


Рис. 1.4. Схема вывода аммиака из организма.

В литературе есть упоминания о разработке соответствующих датчиков. В частности, Министерство обороны США финансирует разработку систем беспроводного мониторинга состояния физического и психического здоровья солдат. Предполагается, что это будет гибкая платформа, включающая в себя миниатюрные сенсоры, например, эпидермические, которые будут работать с соответствующим интеллектуальным программным обеспечением и беспроводными сетями (рис 1.5).

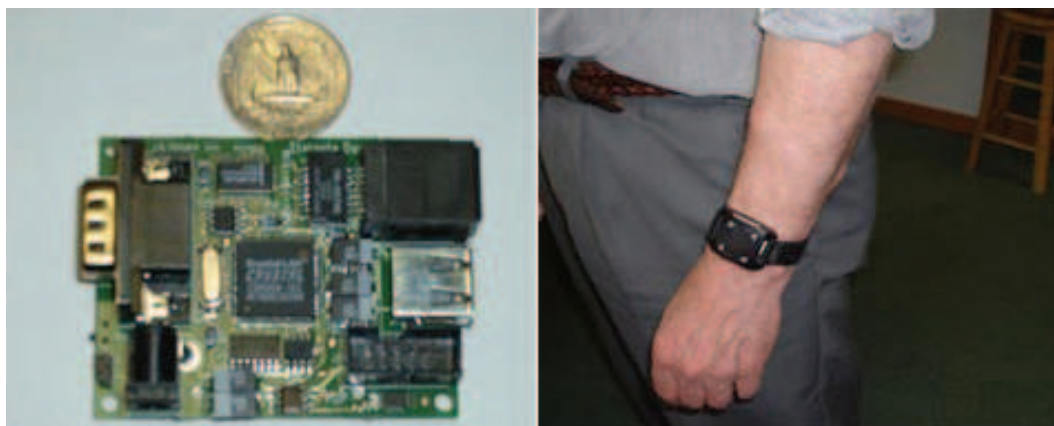


Рис. 1.5. Слева – миниатюрное устройство для сбора и беспроводной передачи данных размером чуть больше монеты. Справа – датчик на запястье в виде часов, предназначенный для аналогичных целей.

Очевидно, что через какое-то время, такие системы, если они будут разработаны, могут стать основой нового подхода к проблеме мониторинга здоровья населения.

2. Методика детектирования ЛХС на основе флуоресценции

Как известно, методики аналитической химии, основанные на флуоресцентном анализе, являются одними из самых простых (требуются источник света и фотодетектор, функцию которого может в некоторых случаях исполнять глаз), и в то же время очень чувствительных (в настоящее время в лабораторных условиях возможна регистрация флуоресценции одной молекулы). Непрерывный прогресс в создании новых миниатюрных источников света и фотодетекторов на базе нанотехнологий делают такие методики все более перспективными с практической точки зрения. Однако в настоящее время промышленно выпускаемых флуоресцентных хемосенсоров нет, хотя разработки соответствующих материалов и устройств ведутся довольно широко.

2.1. Преимущества флуоресцентных методик. Одним из основных преимуществ разрабатываемых флуоресцентных сенсорных материалов является возможность создания на их основе портативных сенсорных устройств, работающих в реальном времени. Из современных достаточно миниатюрных источников света и фотодетекторов можно сконструировать компактные устройства, имеющие встроенные средства обработки выходных сигналов. Для адсорбции газообразных аналитов на поверхности твердых матриц в количестве, необходимом для измеряемого изменения интенсивности флуоресценции, требуется в среднем от 1 до 10 секунд, процессы десорбции (т.е. восстановления исходного состояния) могут происходить также достаточно быстро.

Очевидно, что внедрение органических свето- и фотодиодов может сделать в дальнейшем возможной разработку соответствующих сенсорных устройств на основе органических наноматериалов, содержащих структурно-интегрированные фотовольтаический, электролюминесцентный, сенсорный и фотодетекторный слои.

Еще одним преимуществом разрабатываемого подхода является тот факт, что в литературе известны несколько способов и механизмов усиления флуоресценции. В частности, усиление флуоресценции молекул может быть достигнуто с помощью плазмонного резонанса. Например, показано, что эффективный квантовый выход молекулы флуоресцеина может быть увеличен почти в 5 раз, если ее поместить на расстоянии порядка 20 нм от поверхности серебряной наночастицы диаметром около 70 нм. В литературе есть указания, что использование плазмонного резонанса позволяет в некоторых случаях достичь усиления более чем на три порядка

Возможность создания матриц из сенсорных элементов, каждый из которых содержит один флуорофор, также является одним из существенных преимуществ разрабатываемого подхода. Благодаря тому, что каждый флуорофор имеет специфический отклик на разные аналиты, становится возможной идентификация целевого аналита на основе анализа суммарного сигнала от матрицы элементов. Как известно, этот принцип использован Природой при построении обонятельной системы животных и человека, которая характеризуется исключительно высокой селективностью. Например, обонятельная система человека использует 350 различных типов хеморецепторов, отличающих структурные элементы молекул одорантов (функциональные группы, пространственное расположение атомов, длину углеводородной цепи), что позволяет человеку различать тысячи запахов.

Следует отметить также, что для увеличения селективности сенсорных элементов по отношению к отдельным компонентам газовых смесей может быть использован молекулярный импринтинг, с помощью которого на поверхности полимерных матриц возможно формирование рецепторных центров с полостями, имеющими определенный объем и содержащими сайты связывания, которые специфичны для целевых аналитов.

2.2. Методика флуоресцентных измерений на базе оптоволоконной техники. В качестве основы разрабатываемых сенсорных систем, включающих сенсорные материалы и считывающие устройства были использованы оптоволоконные малогабаритные спектрофотометры, спектрофлуориметры и соответствующие источники света и зонды.

Измерения спектральных характеристик образцов проводили в боксе, содержащем пары аналитов, с помощью оптоволоконного спектрофлуориметра SF-2000 (рис. 2.1).



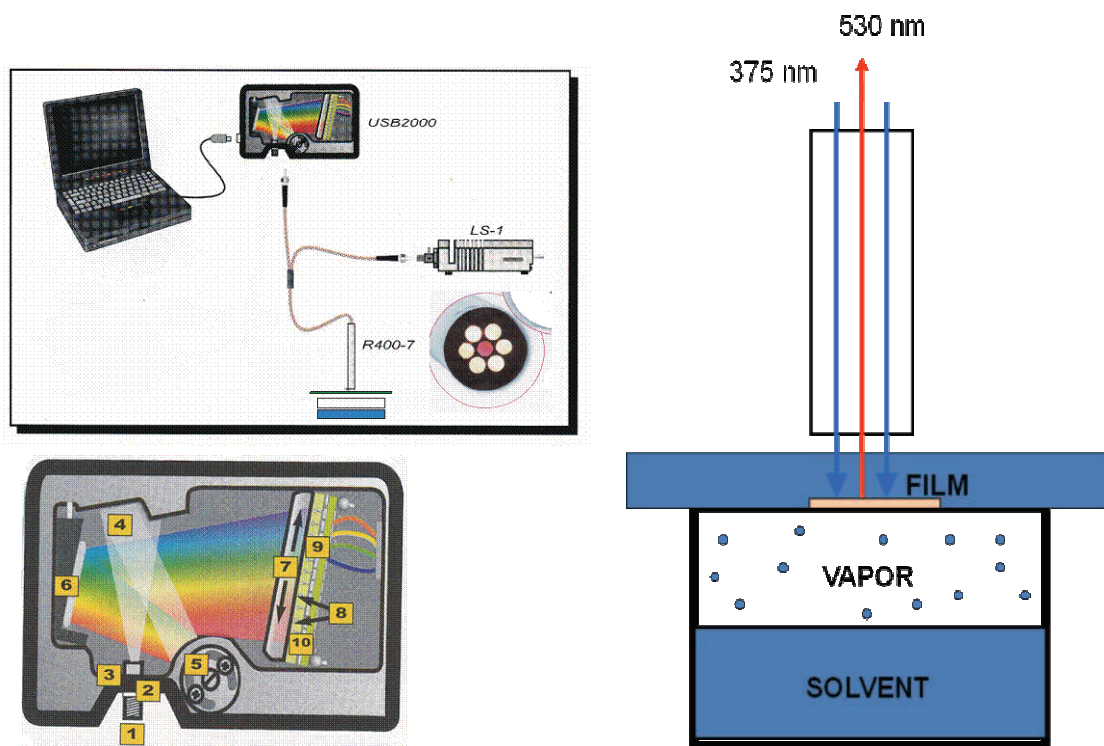


Рисунок 2.1. Общий вид двойного оптоволоконного спектрофлуориметра и источника света фирмы Ocean Optics (вверху) и схема измерения флуоресценции паров с помощью флуоресцентного зонда R400-7 (6 волокон сечением 400 мкм для освещения образца и центральное волокно для сбора флуоресцентного сигнала). Справа – схематическое изображение ячейки с парами растворителя и облучаемой светом 375 нм полимерной пленки, нанесенной на стеклянную подложку, которая накрывает кювету с растворителем.

Для анализа выходных сигналов с матриц сенсорных элементов использовался бокс, в который вводилась система из 4 флуоресцентных зондов. Последовательное возбуждение зондов достигалось с помощью автоматического переключателя каналов (рис. 2.2).



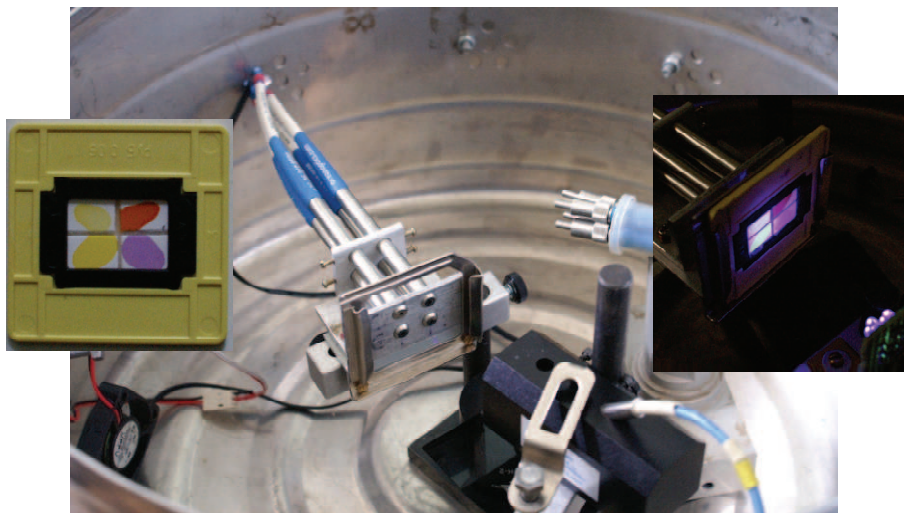


Рисунок 2.2. Общий вид установки для измерения флуоресценции матрицы из 4 сенсорных элементов на основе автоматического переключателя каналов MPM-2000 Fiberoptic Multiplexer.

Позднее на основе оптоволоконной техники и соответствующей газовой схемы был сконструирован специальный контрольно-измерительный стенд (КИС), позволяющий создавать в измерительной ячейке контролируемые малые концентрации (на уровне сотен ppb) аналитов (рис. 2.3). В настоящее время на базе этого стенда создана установка, имитирующая выдох человека.

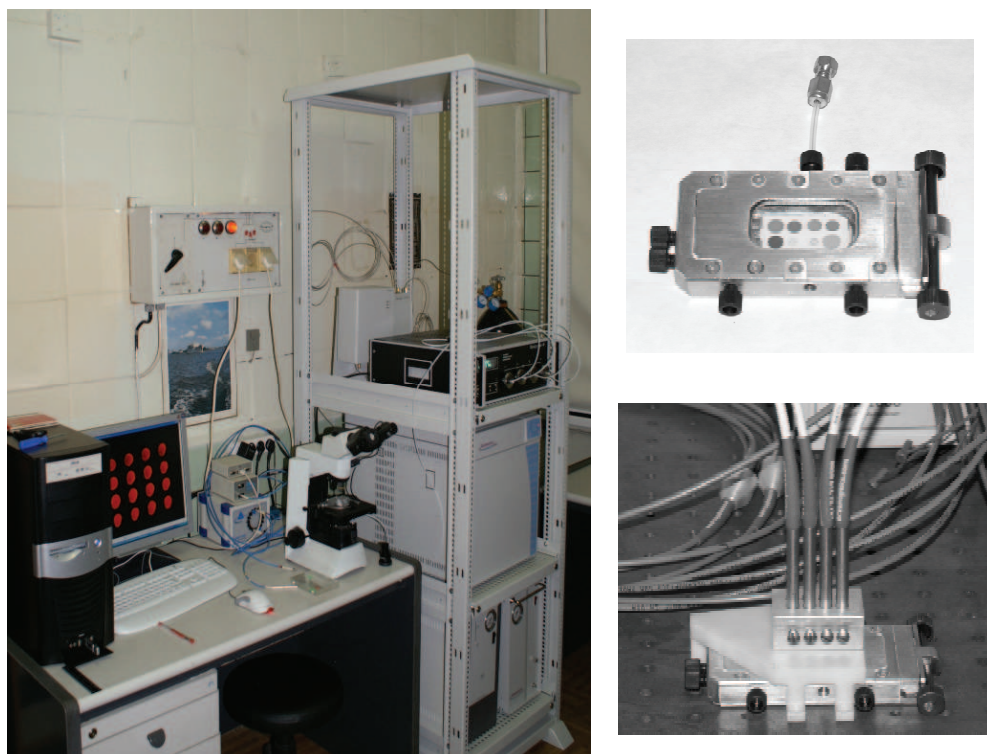


Рис. 2.3 Общий вид контрольно-измерительного стенда (слева), измерительной ячейки (справа сверху) и ячейки с 4 флуоресцентными зондами (справа внизу).

3. Разработка сенсорных материалов на основе 9-диариламиноакридинов.

3.1. Литературные данные о 9-аминопроизводных акридина. В литературе интерес к изучению свойств акридина и его производных, в частности, 9-аминоакридина и 9-анилиноакрина (рис. 3.1), был всегда связан, в основном, с их многочисленными применениями в качестве биоактивных молекул в биологии и медицине благодаря способности акридинового цикла к образованию π -комплексов с основаниями нуклеиновых кислот. К настоящему времени установлено, что возможно образование также тройных комплексов 9-анилиноакридин/ДНК/энзим за счет дополнительного образования комплекса анилинового фрагмента с протеинами.

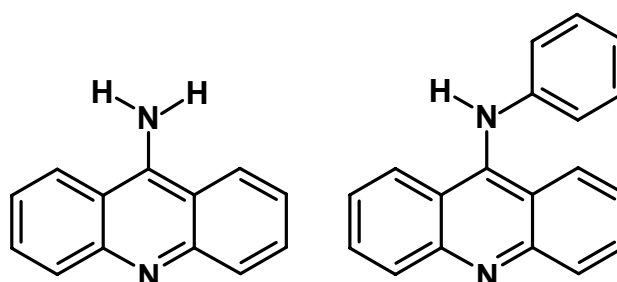


Рис. 3.1. Молекулярная структура 9-аминоакридина и 9-анилиноакридина.

Спектрально-люминесцентные свойства 9-ариламино-производных акридина и иона акридиния (рис. 3.2) вызвали большой интерес, вследствие того, что для них при электронном возбуждении характерен внутримолекулярный перенос электрона с донорного фрагмента (например, анилина или диметиланилина) на акридин, который выступает в качестве акцепторного фрагмента.

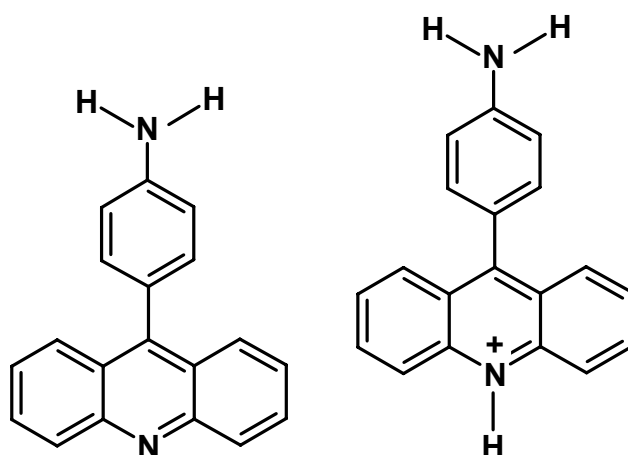


Рис. 3.2. Молекулярная структура 9-(4-аминофенилакридина) и соответствующего иона 10-метилакридиния.

Зависимость спектров флуоресценции таких донорно-акцепторных соединений от полярности среды была использована при разработке сенсоров для определения малых количеств воды в органических растворителях. Следует также отметить, что для иона 9-мезитил-10-метилакридиния была доказана возможность формирования состояний с внутримолекулярным переносом электрона с очень большим временем жизни.

3.2. Фотоиндуцированный синтез 9-дифениламиноакридинов. В ЦФ РАН впервые было установлено, что при УФ-облучении растворов дифениламина и тетрабромметана в толуоле или гексане наряду с трифенилметановыми красителями образуется новый, неизвестный в литературе краситель 9-дифениламиноакридин (9-ДФАА) (рис. 3.3, соединение **1**). Было показано также, что применение различных производных дифениламина и тетрабромметана позволяет провести в растворах фотоиндуцированный синтез акридина, фенилакридина, 9-дитолиламиноакридина (9-ДТАА) (рис. 3.3, соединение **2**), более сложное производное (соединение **3**) и т.п.

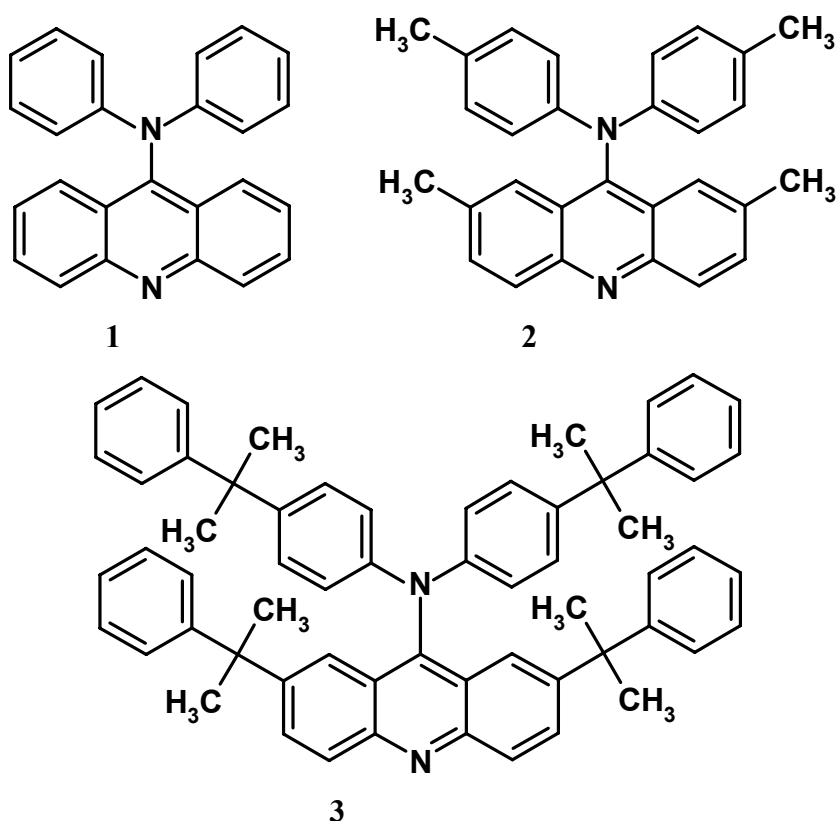


Рис. 3.3. Структурные формулы 9-дифениламиноакридина (1), 9-дитолиламиноакридина (2), полученного на основе ди-*пара*-толиламина (ДТА) и соединения 3, полученного из исходного (4,4'-бис(альфа,альфа-диметилбензил)дифениламина, ДМБДФА).

Возможный механизм реакции фотоиндуцированного синтеза этих соединений представлен на рис. 3.4. Выбор ДТА и ДБМДФА в качестве исходных реагентов обусловлен тем, что при этом блокируется синтез нефлуоресцирующих трифенилметановых красителей. Согласно описанному механизму реакции, в ходе фотоинициированного синтеза выделяется НВг, что приводит к протонированию продуктов фотореакции, т.е. образованию $1\text{H}^+ \cdot 3\text{H}^+$. Таким образом, 9-диариламиноакридины легко могут быть получены как в нейтральной, так и в протонированной форме.

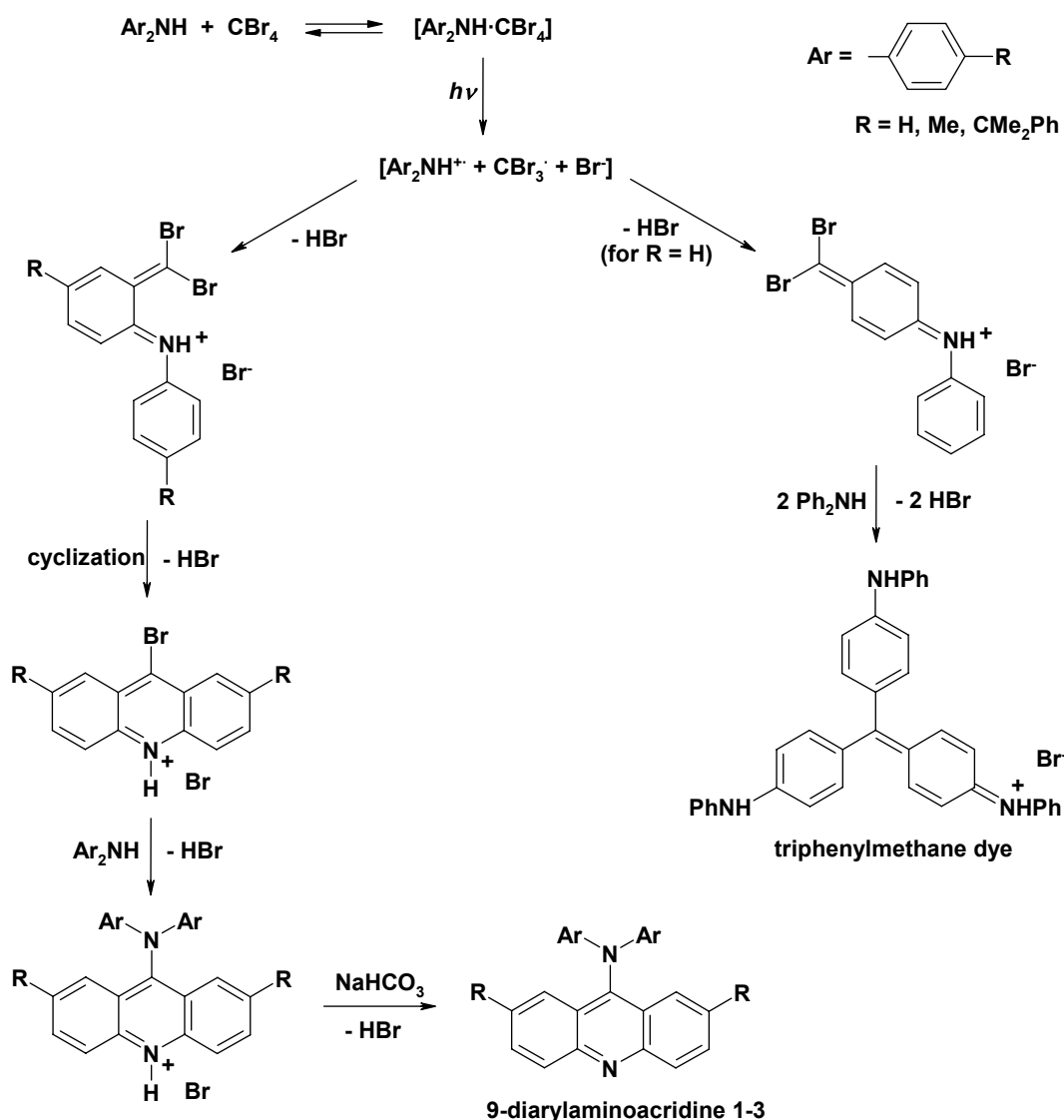


Рис. 3.4. Схема фотоиндуцированного синтеза 9-диариламиноакридинов **1-3**.

3.3. Пространственная структура диариламиноакридинов. На рис. 3.5 приведены результаты рентгеноструктурного анализа кристаллов некоторых из синтезированных диариламиноакридинов. Методика синтеза кристаллов включала облучение раствора соответствующего амина и тетрабромметана в гексане полным светом ртутной лампы ДРШ-1000 в течение 4-6 часов, растворение осадка в бензоле, промывание водным раствором бикарбоната натрия, упаривание в вакууме и очищение продуктов перекристаллизацией или хроматографированием на колонке. В таблице 3.1 приведены значения наиболее важных с геометрической точки зрения длин связей и углов для соединений **1-3**.

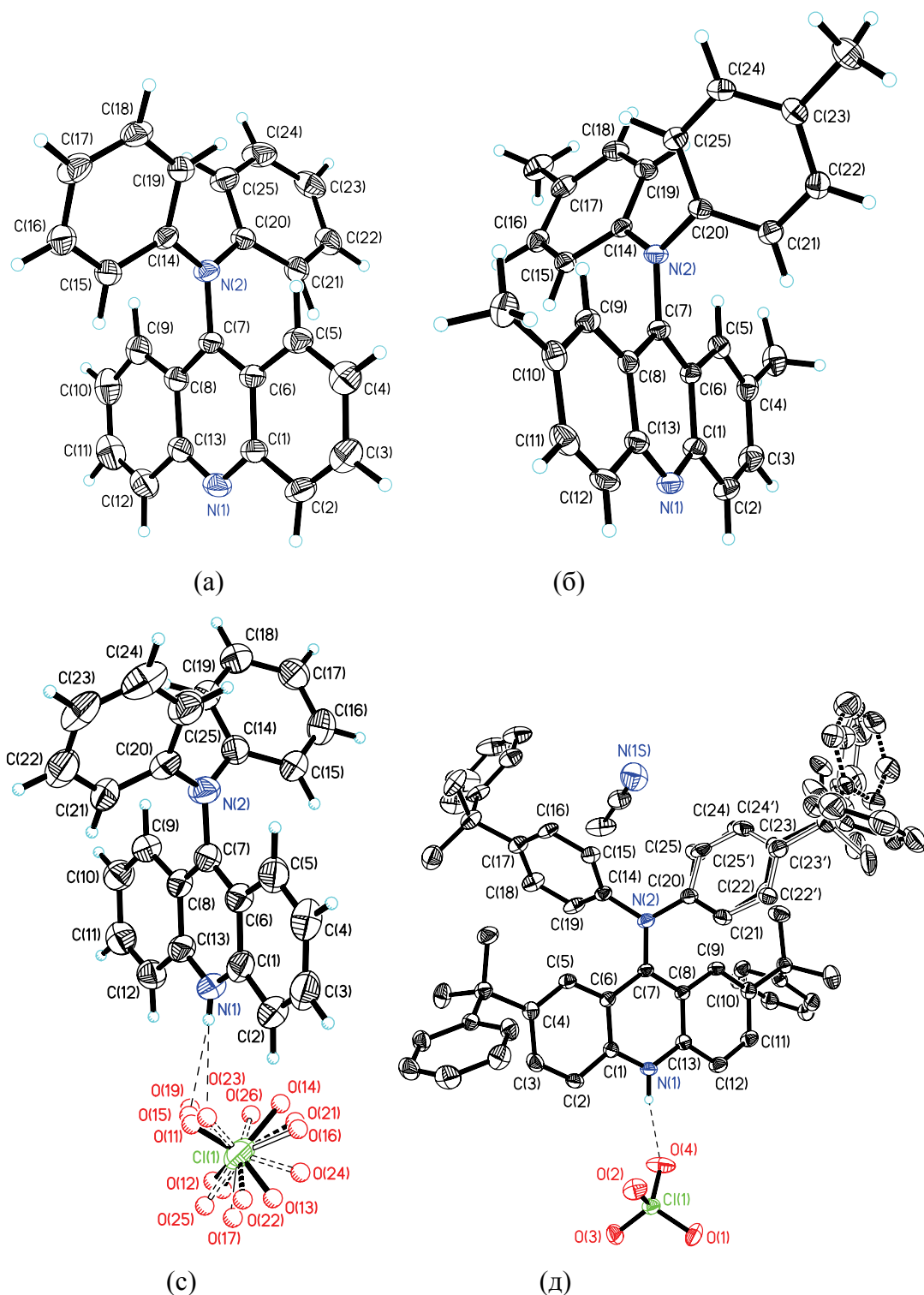


Рис. 3.5. Пространственная структура (а) 9-дифениламиноакридина (**1**), (б) 9-дитолиламиноакридина (**2**), (в) протонированного 9-дифениламиноакридина, 9-ДФААН⁺ (**1H⁺**) и (д) протонированного **2H⁺**.

Таблица 3.1. Длины связей (Å), значения двугранных углов (°) для **1**, **2**, **1·HClO₄** и **3·HClO₄·MeCN**.

Параметр	1	2	1·HClO₄	3·HClO₄·MeCN
N(2)–C(7)	1.428(2)	1.424(4)	1.413(5)	1.394(3)
N(2)–C(14)	1.415(2)	1.423(5)	1.407(5)	1.433(4)
N(2)–C(20)	1.416(2)	1.430(4)	1.420(5)	1.426(4)
C(7)–N(2)–C(14)	117.5(2)	119.7(3)	120.0(3)	120.6(3)
C(7)–N(2)–C(20)	117.6(2)	117.6(3)	118.4(3)	120.2(3)
C(14)–N(2)–C(20)	124.9(2)	121.9(3)	121.5(3)	119.1(2)
Сумма углов около атома N(2)	360.0(2)	359.2(3)	359.9(3)	359.9(3)
N(1)H...OCl(1)O ₃			2.03(5)- 2.24(5) ^a	1.96(3)
N(1)–H...O			167(5)-174(5) ^a	168(3)
N(1),C(1)...C(13) / 78		65	68	46
N(2),C(7),C(14),C(20) C(14)...C(19) / 29		29	39	41
N(2),C(7),C(14),C(20) C(20)...C(25) / 26		40	40	38, 33 ^b
N(1),C(1)...C(13) / 89		78	88	74
N(1),C(1)...C(13) / 89		87	90	65, 68 ^b
C(14)...C(19) / 50		63	67	70, 62 ^b

^a Для 4 конформеров. ^b Для двух конформеров.

Из приведенных данных следует, что во всех изученных соединениях плоскость дифениламинного фрагмента развернута относительно плоскости акридинового фрагмента на угол от 80 до 45 градусов. Один из самых важных результатов состоит в том, что при протонировании этот двугранный угол уменьшается (например, от 78° до 68° при переходе от **1** к **1H⁺**). Для соединения **3H⁺** этот угол наименьший и составляет 46°. Поскольку в литературе отсутствуют рентгеноструктурные данные о структуре 9-арилакридинов и их ионов, то полученный результат является первым экспериментальным доказательством того, что пространственные структуры нейтральных и протонированных форм могут существенно отличаться. Как видно из приведенных данных, некоторые длины связей также изменяются довольно существенно (в частности, для **1** длина связи C–N между фрагментами уменьшается от 1.428 Å до 1.413 Å).

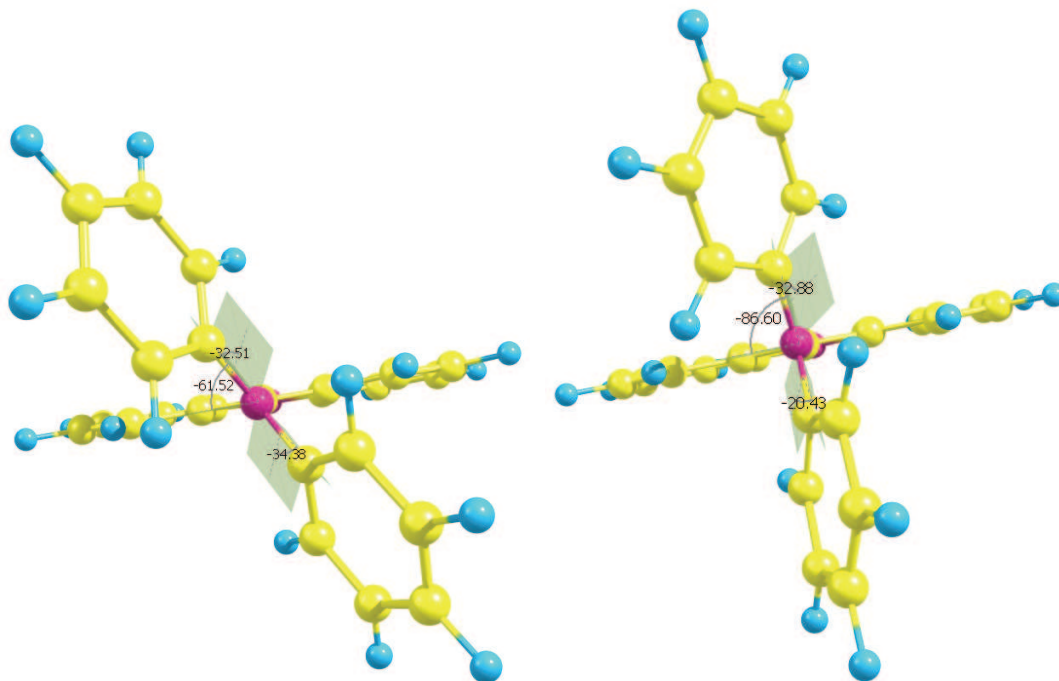
Проведенные в рамках DFT-методики квантово-химические расчеты структуры диариламиноакридинов дали очень хорошее совпадение с приведенными экспериментальными данными. В таблице 3.2. показаны результаты расчетов для 9-

ДФАА (двугранные углы α_2 и α_3 соответствуют поворотам фенильных колец в дифениламинном фрагменте). Для сравнения включены также данные результатов расчета геометрии 9-ДФАА в возбужденном состоянии.

Таблица 3.2. Длины связей (Å) и двугранные углы (°) для нейтрального **1**, протонированного **1H⁺** и электронно-возбужденного состояния **1***, вычисленные в рамках приближения DFT//PBE0/SVP. Экспериментальные значения приведены в скобках.

Соединение	N(2)– C(7)	N(2)– C(14)	N(2)– C(20)	Двугранный угол α_1	Двугранные углы α_2, α_3
1	1.415 (1.428)	1.411 (1.415)	1.413 (1.416)	59 (78)	33, 34 (29, 26)
1·H⁺	1.371 (1.413)	1.426 (1.407)	1.433 (1.420)	42 (68)	42, 49 (39, 40)
1*	1.447	1.377	1.397	87	21, 33

Видно, что теория правильно предсказывает тенденции изменения основных геометрических характеристик при протонировании. В этой связи очень интересным фактом является предсказываемый расчетами противоположный характер изменений геометрии в электронно-возбужденном состоянии (увеличение длины связи и двугранного угла между двумя фрагментами) по сравнению с изменениями в протонированном состоянии (рис. 3.6).



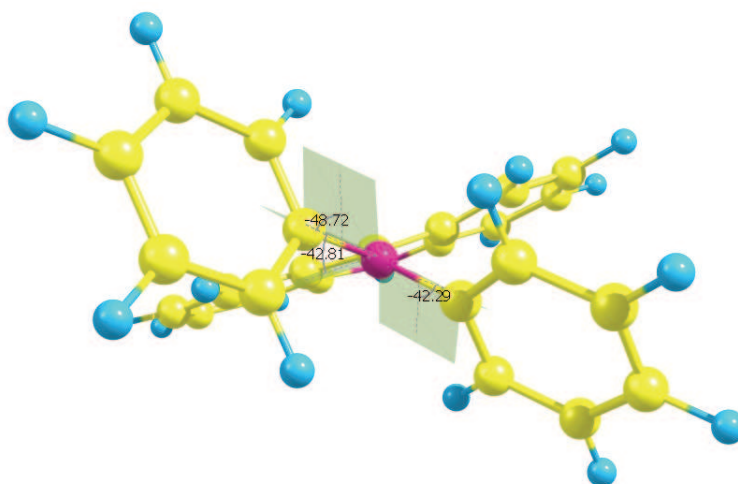


Рис. 3.6. Равновесные конфигурации 9-ДФАА (**1**) в основном (вверху слева), в первом синглетно-возбужденном состоянии (вверху справа), и в протонированном состоянии (внизу), рассчитанные на PBE0/SVP уровне теории.

3.4. Спектры поглощения синтезированных диариламиноакридинов.

Спектр поглощения соединения **2** в гексане показан на рис. 3.7. Спектры поглощения соединений **1** и **3** в гексане практически совпадают со спектром **2**, имеющим максимумы полос поглощения в районе 290 нм, 360 нм и 450 нм.

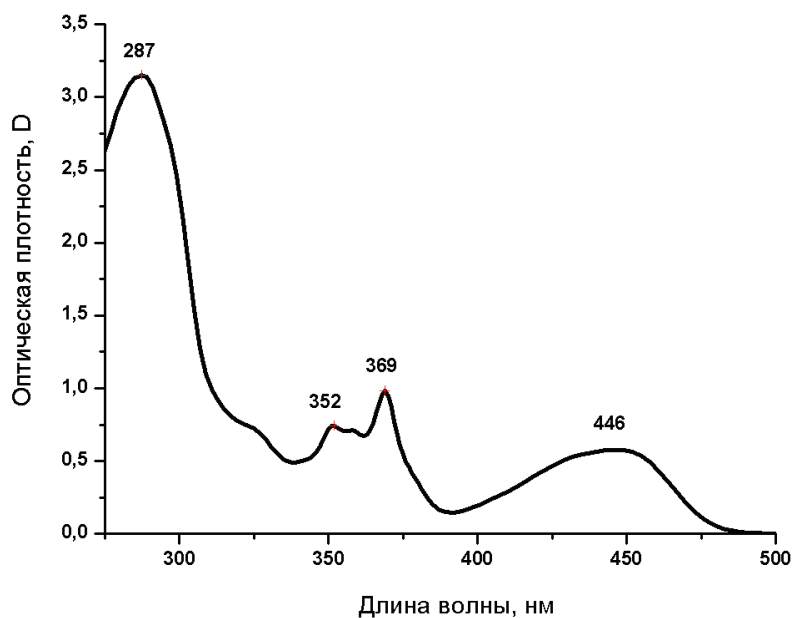


Рис. 3.7. Спектр поглощения 9-ДФАА в гексане ($c = 10^{-4}$ М). Цифры указывают положение максимумов полос.

При переходе к полярным растворителям (ТГФ, ацетон, ДМСО для всех трех соединений наблюдается небольшой bathochromный сдвиг (от 300 до 500 см^{-1}) длинноволновой полосы. Во всех растворителях коэффициенты экстинкции в максимуме длинноволновых полос **1** и **2** составляют в среднем около 11000 л моль $^{-1}$ см^{-1} , для **3** – около 15000 л моль $^{-1}$ см^{-1} .

Спектры поглощения протонированных форм соединений **1-3**, были получены путем добавления соляной кислоты в разбавленные метанольные растворы. Максимумы полос в коротковолновой области спектра практически не сдвигаются. На рис. 3.8 видно, что максимумы длинноволновых полос для протонированных форм **1H⁺–3H⁺** расположены в районе 520-540 нм. Таким образом, протонирование атома азота в акридиновом цикле приводит к довольно сильному bathochromному смещению (около 80 нм) длинноволновых полос поглощения **1–3**. Коэффициент экстинкции при этом увеличивается для **1** и **2** (до 19000 и 16000 л моль $^{-1}$ см^{-1} соответственно) и уменьшается для **3** (до 7000 л моль $^{-1}$ см^{-1}).

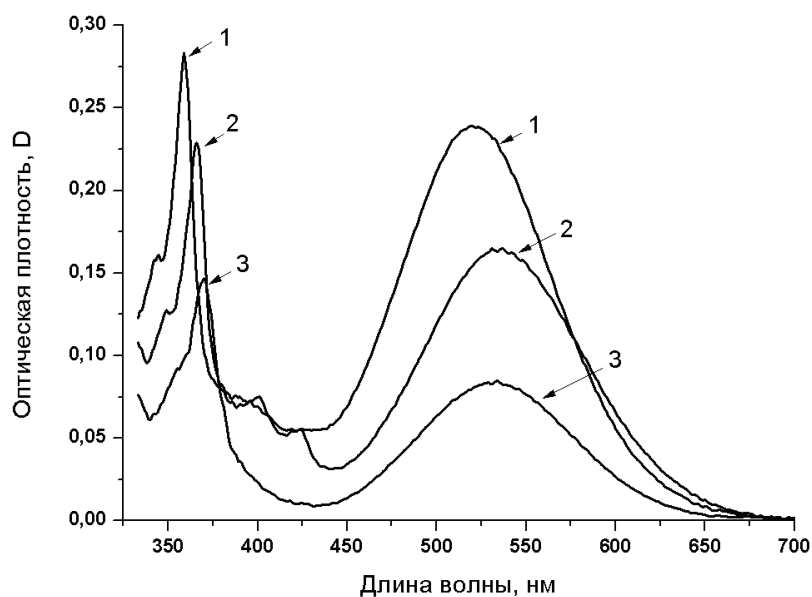


Рис. 3.8. Спектры поглощения протонированных 9-дифениламиноакридинов **1H⁺–3H⁺** в подкисленном метаноле ($c = 10^{-5}$ моль/л, $c(\text{HCl}) = 0.5$ моль/л, стрелками показано соотношение полос).

Были проделаны расчеты спектров поглощения нейтральных и протонированных форм 9-диариламиноакридинов. Некоторые из результатов представлены в таблице 3.3. Из приведенных данных видно, что длинноволновая полоса поглощения в 9-9-диариламиноакридинах практически на 100% связана с переходом электрона с высшей заполненной (HOMO) на низшую вакантную (LUMO) молекулярную орбиталь (МО). Вид рассчитанных МО, приведенный на рис. 3.9, показывает, что длинноволновый переход является переходом с

внутримолекулярным переносом электрона от дифениламинного фрагмента на акридиновый цикл. Этим и объясняется большое изменение дипольного момента молекул при возбуждении. Поглощение в области 360 нм связано с переходом электрона с со второй заполненной орбитали (HOMO-1) на первую незаполненную (LUMO). При этом этот переход сопровождается перераспределением электронной плотности в основном в акридиновом фрагменте, что и объясняет его практически неизменное положение во всех 9-арилзамещенных акридинах.

Таблица 3.3. Молекулярные орбитали, энергии электронных переходов и силы осцилляторов электронных переходов в **1** and **1H⁺**, рассчитанные методом DFT//PBE0/SVP на основе оптимизированной геометрии основного и возбужденного состояний, полученной методом DFT//B3LYP/6-31G. Включены также экспериментальные значения длин волн переходов.

	Переход	Орбитали и веса переходов	f	$\lambda_{\text{теор}}$ (нм/эВ)	$\lambda_{\text{эксп}}$ нм
1	S0 → S1	HOMO → LUMO (0.944)	0.119	449/2.76	455
	S0 → S2	HOMO-1 → LUMO (0.921)	0.079	347/3.57	369
	S0 → S3	HOMO → LUMO+1 (0.603)	0.087	293/4.23	286
		HOMO-2 → LUMO (0.370)			
1H⁺	S0 → S1	HOMO → LUMO (0.970)	0.307	472/2.63	521
	S0 → S2	HOMO-1 → LUMO (0.935)	0.044	382/3.24	359

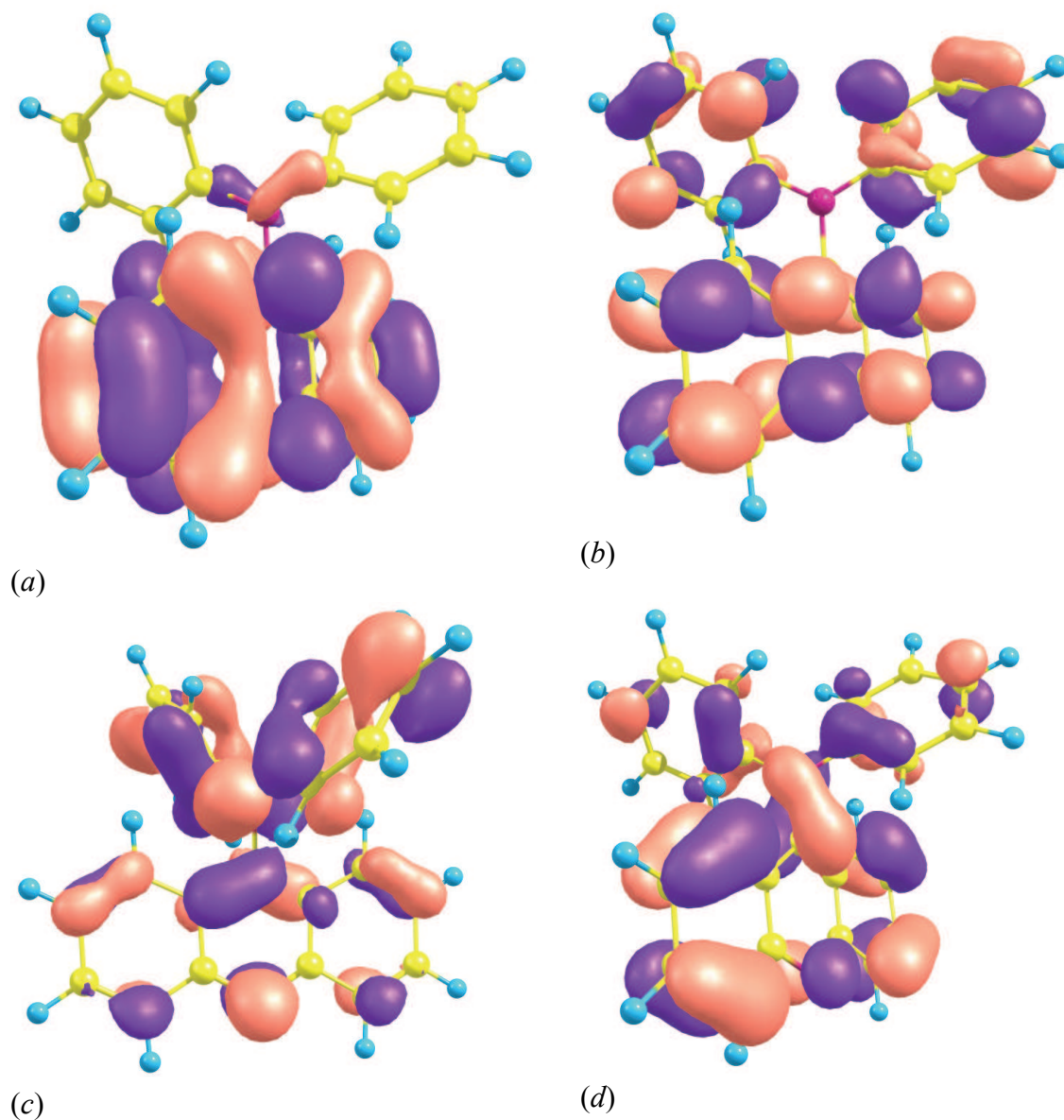


Рис. 3.9. Топология высших молекулярных орбиталей в 9-ДФАА: (a) LUMO, (b) LUMO+1, (c) HOMO и (d) HOMO-1.

Расчеты показывают, что при протонировании энергетический интервал между HOMO и LUMO уменьшается (все орбитали при этом резко сдвигаются вниз по энергиям), чем и объясняется наблюдаемый сдвиг длинноволновой полосы в красную область.

3.4. Флуоресцентные свойства диариламиноакридинов 1-3. В отличие от спектров поглощения, максимумы полос флуоресценции нейтральных 9-дифениламиноакридинов **1–3** при переходе от неполярных к полярным растворителям испытывают значительные батохромные сдвиги (от 3000 до 5000 см⁻¹

¹). В качестве примера на рис. 3.10 представлен сдвиг полос флуоресценции при переходе от гексана к толуолу и ацетону.

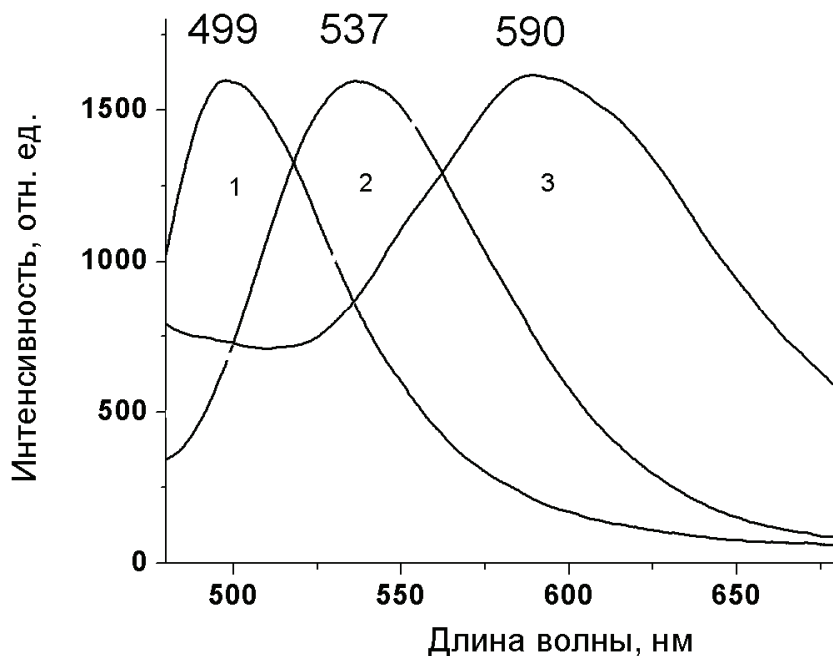


Рис. 3.10. Нормированные спектры флуоресценции 9-ДТАА в гексане (1), толуоле (2) и ацетоне (3). Цифрами указаны положения максимумов полос в нм.

На рис. 3.11 проиллюстрирован аналогичный сольватофлуорохромный эффект для ряда хлорированных растворителей — тетрахлорметана (ТХМ), хлороформа (ХФ) и дихлорметана (ДХМ). Для сравнения приведен также спектр в толуоле. Как видно из рисунка, в нейтральном ТХМ полоса флуоресценции 9-ДТАА смещена в сторону коротких длин волн ($\lambda_{\text{max}} = 515$ нм) по сравнению со слабо-полярным толуолом ($\lambda_{\text{max}} = 537$ нм), в то время как для ХФ и ДХМ, обладающих большими дипольными моментами, наблюдаются значительные батохромные сдвиги (65–70 нм).

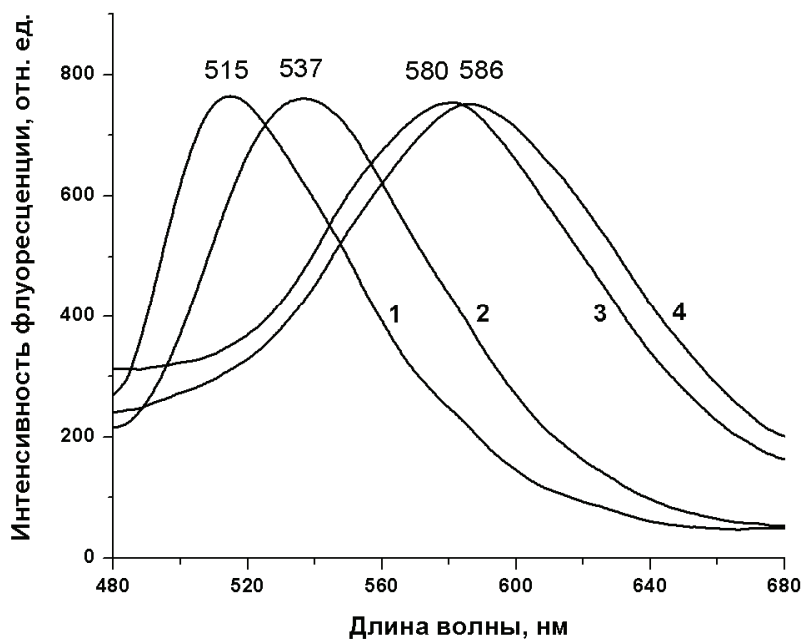


Рис. 3.11. Нормированные спектры флуоресценции раствора 9-ДТАА (2) в четыреххлористом углероде (1), толуоле (2), хлороформе (3) и дихлорметане (4). Цифрами обозначены положения максимумов полос.

Следует отметить, что интенсивность флуоресценции 9-ДТАА уменьшается при переходе к более полярным растворителям. Этот факт проиллюстрирован на рис. 3.12 на примере гексана, толуола и ТГФ.

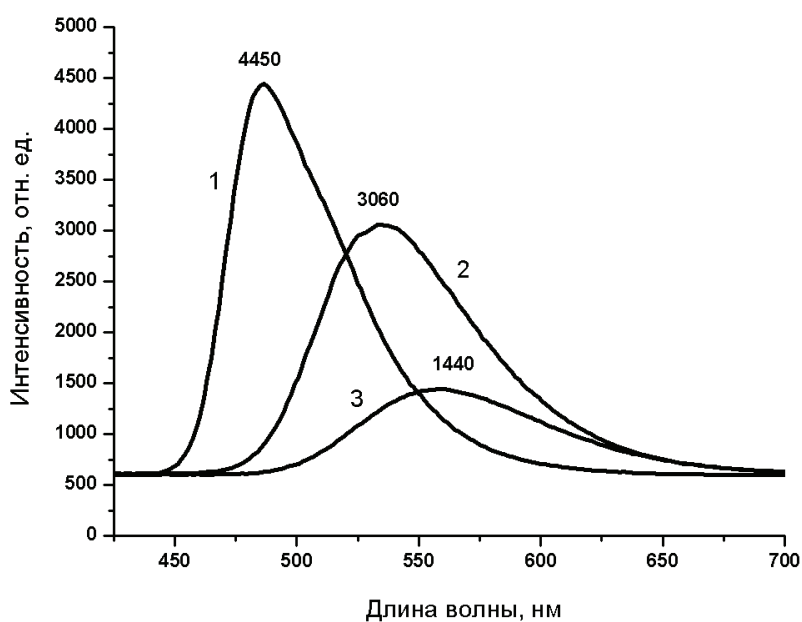


Рис. 3.12. Изменение интенсивности флуоресценции 9-ДТАА при переходе от гексана (1) к толуолу (2) и ТГФ (3). Цифрами указаны максимальные интенсивности полос.

3.5. Оценка дипольных моментов 9-диариламиноакридинов в основном и в первом возбужденном состоянии. Как известно, сольватохромный эффект связан с изменением дипольного момента флуорофора при переходе в первое синглетное возбужденное состояние. Исходя из наблюдаемых сдвигов полос поглощения или флуоресценции, величины дипольных моментов молекул могут быть оценены в рамках сравнительно простой теоретической модели. Во всех растворителях полосы флуоресценции 9-ДТАА и других диариламиноакридинов являются широкими и бесструктурными, причем наблюдается значительный батохромный сдвиг (более 100 нм) при переходе от неполярного гексана (максимум в районе 496 нм) к полярным растворителям типа ацетона и ацетонитрила (максимумы в районе 600–615 нм).

Чтобы исключить из рассмотрения эффекты, связанные с образованием водородных связей между молекулами флуорофора и молекулами растворителей (из-за наличия неподеленной пары электронов в эндоциклическом атоме азота акридинового гетероцикла), для анализа сольватофлуорохромного эффекта выбирается ряд апротонных растворителей, таких как толуол, хлороформ, диэтиловый эфир, ТГФ, ацетон и ацетонитрил.

В таблице 3.4 приведены полученные экспериментальные данные о положении максимумов полос флуоресценции 9-ДТАА в указанных полярных растворителях в нм и см^{-1} , причем значения в обратных сантиметрах приведены с точностью до 100 см^{-1} с учетом того факта, что ошибка в положении максимумов широких полос может составлять 2–3 нм. В последних двух столбцах приведены округленные значения диэлектрических постоянных и показателей преломления растворителей, необходимые для вычисления функций полярности. Значения функции полярности растворителей Липперта-Матаги приведены в Табл. 3.5.

Таблица 3.4 Максимумы полос поглощения 9-ДТАА в полярных растворителях и значения диэлектрической проницаемости ϵ и показателя преломления n .

Растворитель	Максимум полосы флуоресценции (нм)	Максимум полосы флуоресценции (см^{-1})	ϵ	n
Толуол	535	18700	2,4	1,495
ТГФ	570	17600	7,4	1,405
CHCl_3	586	17000	4,8	1,446
Ацетон	594	16800	20,7	1,358
Ацетонитрил	615	16300	37,1	1,343

Таблица 3.5. Функция полярности растворителя Липперта-Матаги

$$\Delta F = [(\varepsilon - 1)/(2\varepsilon + 1) - (n^2 - 1)/(2n^2 + 1)]$$

	Растворитель	ε	$(\varepsilon - 1)/(2\varepsilon + 1)$	N	$(n^2 - 1)/(2n^2 + 1)$	ΔF
1	Толуол	2,4	0,2414	1,495	0,2258	0,0156
2	Хлороформ	4,8	0,3585	1,446	0,2105	0,1480
3	Тетрагидрофуран	7,4	0,4051	1,405	0,1968	0,2083
4	Ацетон	20,7	0,4646	1,358	0,1801	0,2845
5	Ацетонитрил	37,1	0,4801	1,343	0,1744	0,3057

Как видно из таблицы, диапазон значений функции полярности находится в интервале от 0,016 для толуола до 0,306 для ацетонитрила. Формула, используемая для определения дипольных моментов имеет вид:

$$\Delta \nu = \frac{2}{cha^3} \Delta F (\mu_e - \mu_g)^2 + const$$

где $h = 6,62 \cdot 10^{-27}$ эрг·с, $c = 3 \cdot 10^{10}$ см/с, $a = m \cdot 10^{-8}$ см.

Исходя из приведенных выше данных для 9-ДТАА, получаем, что в неполярных растворителях (гексане, тетрахлорметане) максимум флуоресценции 9-ДТАА расположен в области 19400–20100 см^{-1} , т.е. в среднем на 19700–19800 см^{-1} (505 нм). Если считать толуол первой полярной молекулой, то для него максимум расположен примерно на 18700 см^{-1} (535 нм). Обобщая, можно принять, что для наиболее полярных растворителей (ацетонитрила и ДМСО) максимум расположен в районе 16500 см^{-1} (606 нм). Таким образом, сдвиг $\Delta \nu$ при переходе от неполярных к полярным растворителям в ряду гексан–ацетонитрил равен 3200 см^{-1} , а в ряду полярных растворителей толуол–ТГФ– CHCl_3 –ацетон–ацетонитрил $\Delta \nu$ равен приблизительно 2200 см^{-1} .

Таким образом, из экспериментальных данных следует, что для 9-ДТАА при переходе от толуола к ацетонитрилу соотношение $\frac{\Delta \nu}{\Delta F}$ равно примерно 7240 см^{-1} .

Предполагая что радиус молекулы равен 5 Å, получаем для 9-ДТАА изменение $\Delta \mu = 9,4 D$.

Те же самые экспериментальные данные, но в другой комбинации, могут быть использованы для оценки дипольного момента основного состояния. Вычисления, проделанные для 9-ДТАА, дают значения $\mu_g = 2,6 D$ для основного и $\mu_e = 12 D$ для первого синглетного состояния.

Очевидно, что аналогичные изменения дипольных моментов при возбуждении следует предполагать и для соединений **1** и **3**.

3.5. Оценка констант излучательных и безызлучательных переходов в 9-диариламиноакридинах. В таблице 3.6 приведены данные о квантовых выходах и временах жизни флуоресценции соединения 9-ДТАА (**2**) в различных растворителях. Аналогичные данные были получены для **1** и **3**. Видно, что

увеличение полярности растворителя, которая характеризуется индексом полярности Рейхардта $E_T(30)$ [16], приводит к уменьшению квантового выхода и времени жизни флуоресценции соединения **2**. Расчет по обычным формулам $k_r = \phi_F/\tau_F$ и $k_{nr} = (1 - \phi_F)/\tau_F$ показывает, что наблюдаемые изменения ϕ_F и τ_F с увеличением полярности растворителя соответствуют уменьшению константы излучательного перехода k_r и увеличению константы безызлучательного перехода k_{nr} , являющейся суммой констант внутренней и интеркомбинационной конверсии. По аналогии со случаем сольватофлуорохрома Нильского красного, качественно такое поведение может быть объяснено, в основном, учетом двух факторов, являющихся следствием батохромного сдвига максимума полосы флуоресценции: уменьшением вероятности радиационных переходов с увеличением длины волны излучения (формула Стриклера-Берга) и увеличением вероятности безызлучательного распада первого возбужденного состояния вследствие усиления электрон-колебательных взаимодействий с основным состоянием по мере уменьшения величины энергетического интервала между ними. Вклад процессов интеркомбинационной конверсии в распад первого синглетного состояния 9-диариламиноакридинов **1–3** требует отдельного изучения.

Таблица 3.6. Квантовые выходы флуоресценции, времена жизни флуоресценции и константы излучательных и безызлучательных переходов для соединения **2**

Растворитель	$E_T(30)$ (kcal/mol)	ϕ_F	τ_F (ns)	k_r (10^7 s^{-1})	k_{nr} (10^7 s^{-1})
Циклогексан	30.9	0.57	29.3	1.95	1.47
Толуол	33.9	0.30	27.0	1.11	2.59
Диоксан	36.0	0.27	24.2	1.12	3.02
ТГФ	36.2	0.15	18.9	0.79	4.50
Хлороформ	39.1	0.13	18.0	0.72	4.83
Ацетон	42.2	0.06	12.5	0.48	7.52
ДМСО	45.1	0.02	10.2	0.20	9.61
Ацетонитрил	45.6	0.03	7.8	0.38	12.4
2-Пропанол	48.4	0.008	7.2	0.11	13.78

Следует отметить, что в метанольных подкисленных растворах при возбуждении длинноволновой полосы поглощения протонированных молекул **1H⁺–3H⁺** заметной флуоресценции в красной области спектра зарегистрировать не удастся. Вероятнее всего, это является следствием как сравнительно низких квантовых выходов такой флуоресценции, так и ее дополнительного тушения вследствие образования водородных связей с молекулами спирта.

3.7. Результаты квантовохимических расчетов спектров флуоресценции диариламиноакридинов. На рис. 3.13 проиллюстрированы основные результаты расчетов флуоресцентных характеристик 9-ДФАА.

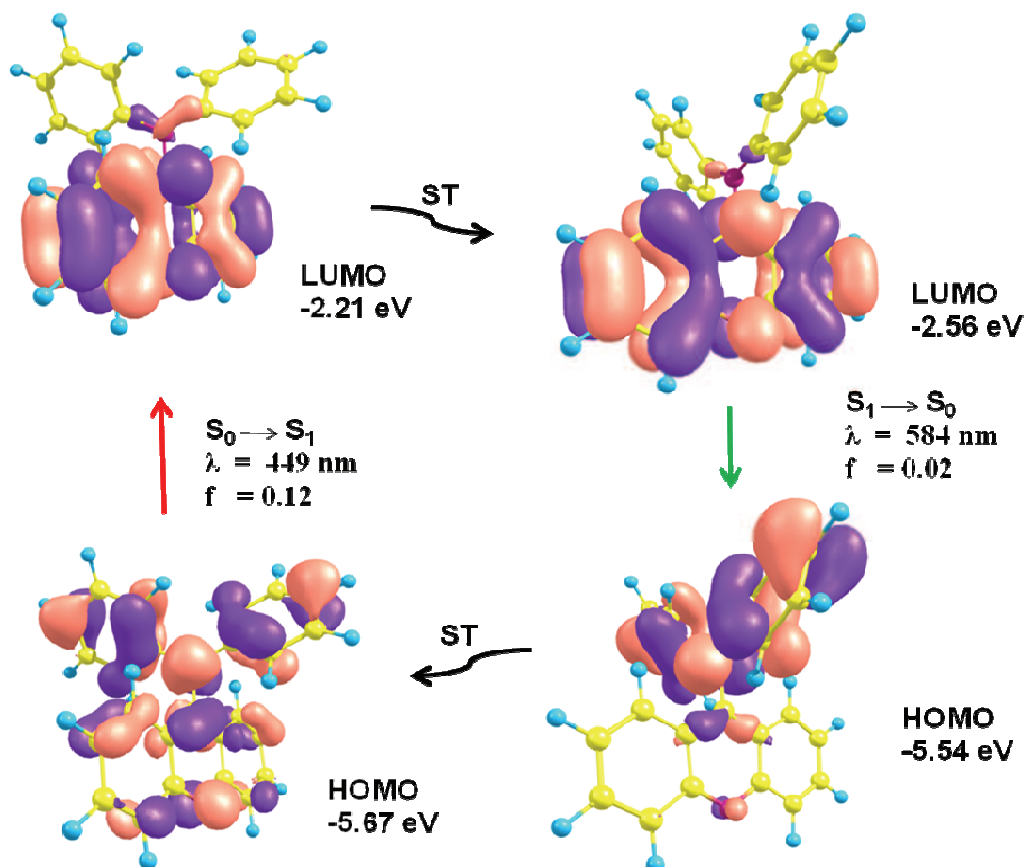


Рис. 3.13. Топология, энергии высших орбиталей, длины волн (λ) переходов и силы осцилляторов (f) в **1** и **1*** согласно расчетам в приближении DFT//PBE0/SVP. Красная и зеленая стрелки относятся к процессам поглощения и эмиссии. ST означает структурные перестройки (structural transformations).

Видно, что при возбуждении геометрия молекулы изменяется (численные данные были приведены в табл. 3.2), что ведет к уменьшению величины энергетической щели между HOMO и LUMO и, как следствие, к сдвигу полосы флуоресценции в длинноволновую область по сравнению со спектром поглощения (Стоксов сдвиг). Хотя численное совпадение расчетных и экспериментальных сдвигов недостаточно хорошее, тенденция к батохромному сдвигу выражена отчетливо. Следует отметить также, что геометрическая перестройка сопровождается еще более полной локализацией волновых функций (т.е. концентрацией электронной плотности) на дифениламинном фрагменте в возбужденном состоянии и на акридиновом фрагменте в основном состоянии. Таким образом, расчеты с большой наглядностью демонстрируют, что этот переход связан с полным переносом электрона с донорного фрагмента на акцепторный.

3.10. Сенсорные материалы на основе нейтральных диариламиноакридинов. Общий вид зависимости основных параметров флуоресценции 9-ДТАА (интенсивности и положения полосы) от полярности растворителей, показанный на рис. 3.14, дает основания полагать, что на базе диариламиноакридинов могут быть разработаны флуоресцентные сенсорные материалы, чувствительные к парам полярных растворителей. Ниже представлены некоторые результаты проведенных исследований.

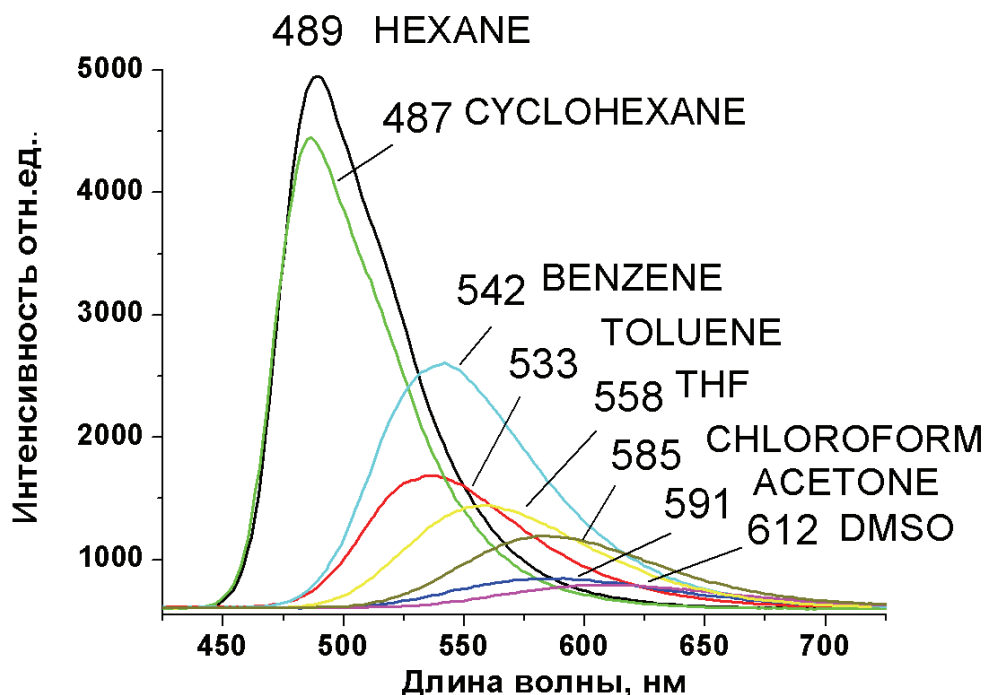


Рис. 3.14. Изменение интенсивности и положения полос флуоресценции 9-ДТАА в зависимости от полярности растворителей.

В качестве полимерных матриц для приготовления сенсорных слоев на основе нейтральных флуорофоров **1-3** использовали полистирол (ПС), полиметилметакрилат (ПММА) и этилцеллюлозу (ЭЦ). Для приготовления образцов растворы **1-3** (10^{-3} моль/л) в соответствующем растворителе смешивали с 10% раствором полимера, наносили дозатором на стеклянную подложку и высушивали. Средняя толщина полученных пленок равнялась 20–40 мкм. Для получения тонких полимерных пленок использовали методику спин-коатинга с помощью установки SCS 6720D. Подложки с образцами помещали в атмосферу насыщенных паров растворителей, наблюдение изменений интенсивности флуоресцентного сигнала проводили с помощью оптоволоконного спектрофлуориметра (раздел 2). Было найдено, что полимерные пленки, допированные соединениями **1-3**, обладают достаточно яркой флуоресценцией с максимумом в районе 510–520 нм при возбуждении светодиодом с $\lambda = 375$ нм.

На рис. 3.15 представлены данные относящиеся к ПС-пленкам, допированных 9-ДТАА. Видно, что выдерживание пленок в насыщенных парах толуола приводит к сдвигу максимума флуоресценции до 537 нм, что соответствует максимуму флуоресценции **2** в чистом толуоле (рис. 3.11). По всей вероятности, наблюдаемые изменения отражают процесс достраивания диффундирующими в пленку молекулами толуола сольватной оболочки вокруг молекул **2** до оболочки, характерной для чистого толуола. Процесс изменения флуоресценции полностью обратим: после удаления образца из атмосферы паров толуола спектр быстро (20 с) и полностью восстанавливается.

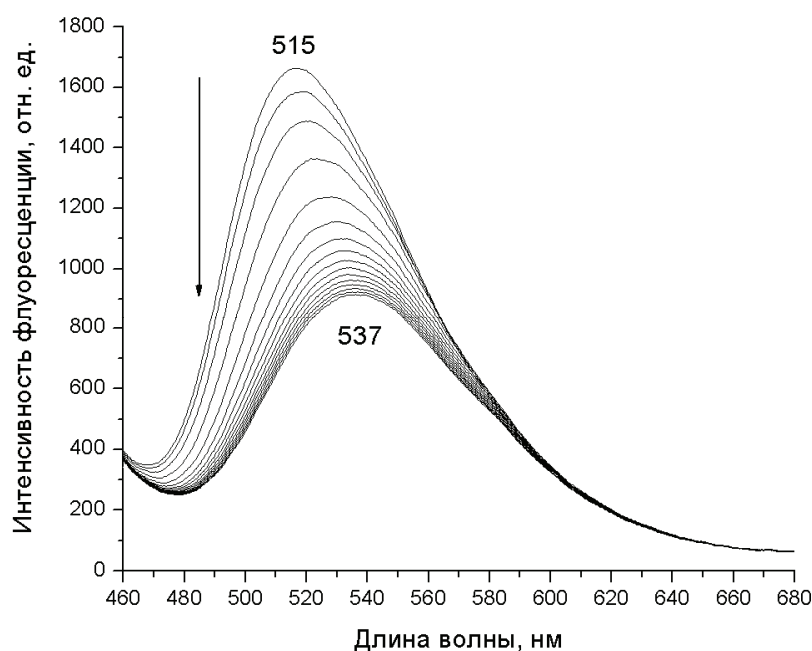


Рис. 3.15. Изменение со временем спектра флуоресценции ПС-пленки, допированной 9-ДТАА (**2**), при выдерживании в насыщенных парах толуола (кривые записаны с интервалом 3 с).

На рис. 3.16 представлено изменение спектра флуоресценции ПС-пленки после выдерживания ее в течение нескольких минут в атмосфере насыщенных паров хлороформа. Видно, что по мере диффузии молекул CHCl_3 в пленку интенсивность флуоресценции уменьшается и одновременно наблюдается значительный сдвиг максимума полосы флуоресценции в сторону длинных волн (от 515 нм до 564 нм), хотя и меньший, чем в растворе хлороформа (сдвиг до 580 нм). Отметим, что сдвига до 580 нм не удастся добиться даже при очень больших временах экспозиции. Кинетика падения интенсивности носит почти линейный характер.

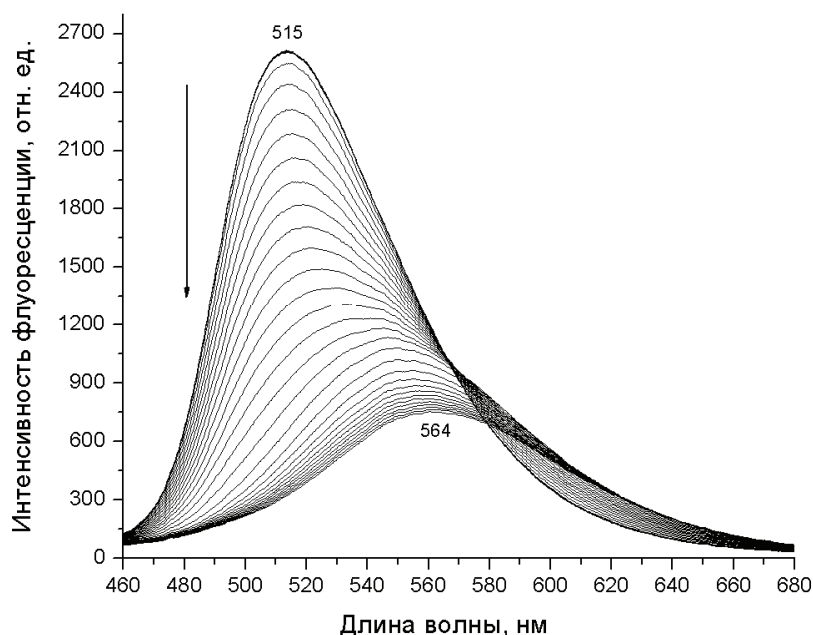


Рис. 3.16. Изменение со временем спектра флуоресценции ПС-пленки, допированной 9-ДТАА (2), при выдерживании в насыщенных парах хлороформа (кривые записаны с интервалом 3 с).

Очевидно, что такое поведение может быть объяснено частичной сольватацией флуорофора **2** полярными молекулами ХФ. Наблюдаемые спектральные изменения в целом тоже носят обратимый характер. Однако при испарении молекул ХФ из пленки обратный сдвиг полосы в коротковолновую область происходит достаточно быстро (30 с) только для области от 560 до 530 нм, а процесс окончательного перехода от 530 нм до первоначального спектра с максимумом в районе 515 нм требует уже большего времени (до 100-300 с). Возможно, это следствие того, что энергия взаимодействия молекулы 9-ДТАА с одной или двумя оставшимися в сольватной оболочке молекулами ХФ имеет сравнительно большое значение.

Для дихлорметана процессы изменения спектров и кинетические кривые аналогичны случаю хлороформа. При насыщении парами ДХМ максимум полосы флуоресценции 9-ДТАА сдвинут сильнее (до 574 нм), чем в случае ХФ, однако и в этом случае наблюдаемый сдвиг меньше, чем сдвиг для раствора ДХМ (586 нм). В отличие от случая полярных ХФ и ДХМ, выдерживания пленки ПС-ДТАА в парах неполярного тетрахлорметана (ТХМ) приводит только к равномерному падению интенсивности флуоресценции без изменения положения максимума полосы флуоресценции (рис. 3.17). Сам по себе этот факт представляет интерес с точки зрения сенсорных свойств ПС-слоев, допированных **1–3**, так как он означает,

что по характеру изменения спектра флуоресценции можно отличить случаи наличия в воздухе паров ТХМ от случая присутствия паров ДХМ или ХФ.

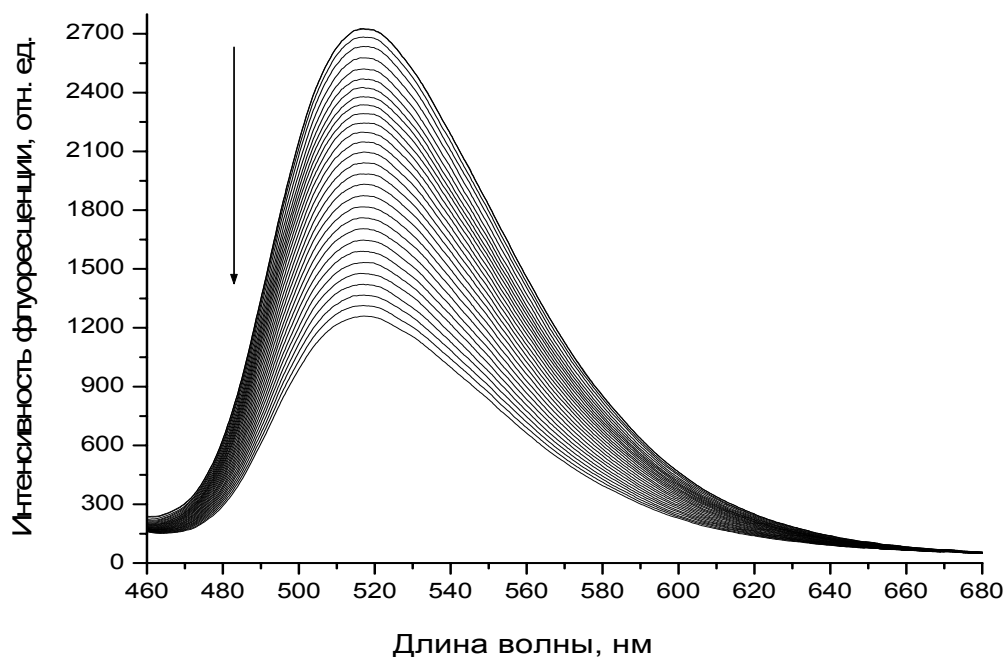


Рис. 3.17. Тушение флуоресценции ПС-пленки с 9-ДТАА в насыщенных парах четыреххлористого углерода (кривые записаны с интервалом в 10 сек).

Аналогичные сдвиги наблюдаются для пленок на основе других полимеров. На рисунке 3.18 показано изменение спектра флуоресценции полиметилметакрилатной пленки в парах ацетона.

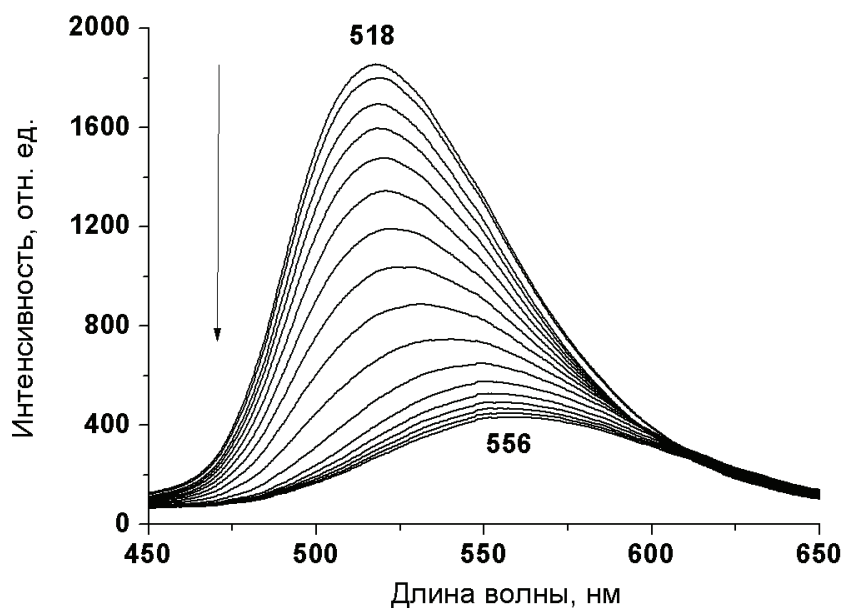


Рис. 3.18. Изменение спектра ПММА-пленки с 9-ДТАА в насыщенных парах ацетона.

Характер изменения спектров может сильно изменяться при варьировании природы полимера. В качестве иллюстрации на рис. 3.19 и 3.20 приведены спектры пленок на основе полистирола и этилацетата. Видно, что как начальные, так и конечные спектры флуоресценции 9-ДТАА довольно сильно отличаются в этих двух пленках.

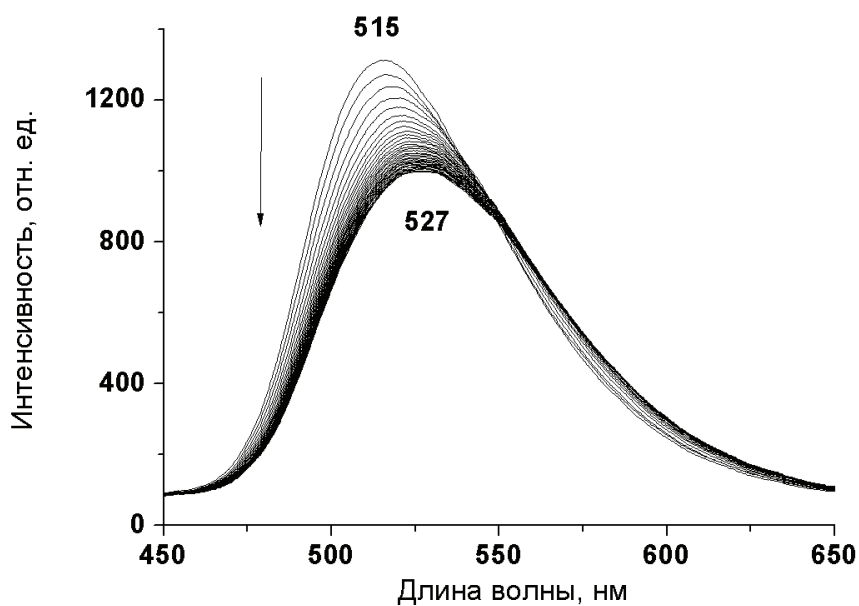


Рис. 3.19. Изменение спектра флуоресценции ПС-пленки с 9-ДТАА в насыщенных парах этанола.

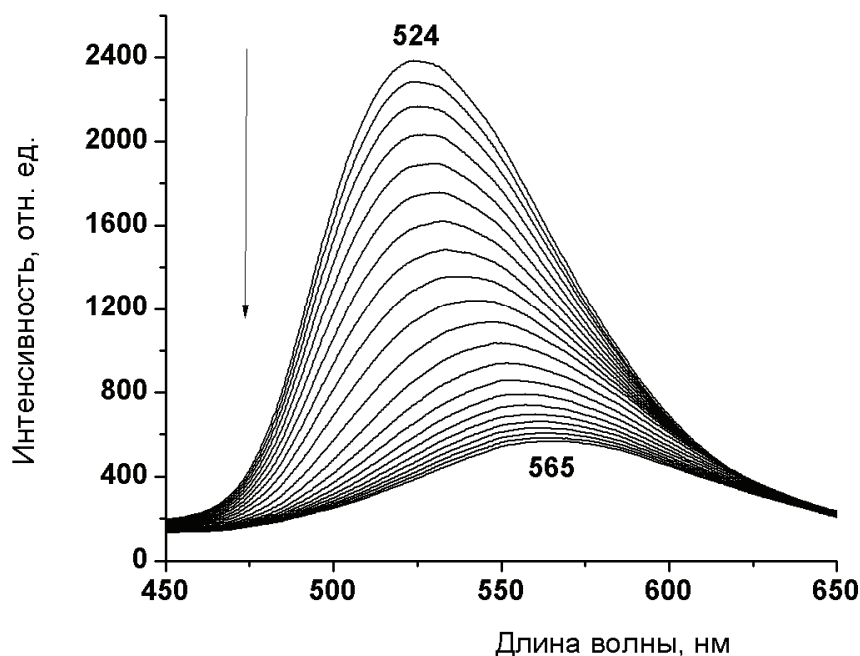


Рис. 3.20. Изменение спектра флуоресценции ЭЦ-пленки с 9-ДТАА в насыщенных парах этанола.

Как уже упоминалось выше, эффект сдвига спектров флуоресценции индикатора в зависимости от матрицы может быть использован для создания матриц сенсорных элементов на базе одного флуорофора. На рис. 3.21 это наглядно продемонстрировано для случая 9-ДТАА. Видно, что суммарный флуоресцентный отклик матрицы из 3 сенсорных элементов на основе 9-ДТАА различается для ацетона, толуола и этанола, что может быть использовано для их идентификации.



Рис. 3.21. Схематическое изображение матрицы флуоресцентных сенсорных элементов на основе 9-ДТАА и полимерных матриц. Числами обозначены максимумы полос флуоресценции, окраска кругов символизирует цвет флуоресценции элементов.

3.11. Протонированные 9-диариламиноакридины в качестве молекулярных сенсоров. Как было отмечено выше, фотоинициированный синтез соединений **1-3** из ДФА, ДТА, ДБМДФА и тетрабромметана (ТБМ) может быть проведен в растворах гексана или толуола при комнатной температуре. Было установлено также, что реакции фотоинициированного синтеза эффективно протекают и в полимерных пленках, содержащих достаточные концентрации исходных аминов и ТБМ. Для проведения синтеза соединений **1-3** в полимерных слоях растворы исходных аминов и тетрабромметана (10^{-1} моль/л) наносятся на стеклянные подложки с помощью дозатора или методом спин-коатинга и облучали УФ-светом.

На рис. 3.22 показан результаты облучения УФ-светом ПС-пленок, содержащих ДФА и ТБМ в концентрациях 10^{-2} - 10^{-1} моль/л. Спектральные изменения в ходе реакций аналогичны тем, что имеют место в растворах. Исходные реагенты образуют в полимерных пленках комплекс с переносом заряда ДФА/ТБМ, спектр поглощения которого находится в области короче 400 нм (кривая 1). При УФ-облучении пленка окрашивается (кривая 2) за счет образования как начальных фотопродуктов, имеющих максимум поглощения при 670 нм, так, по-видимому, и протонированного 9-ДФАА $1H^{+}$ с максимумом поглощения в районе 530 нм. С течением времени начальный спектр преобразуется в спектр, характерный для нейтрального 9-ДФАА (кривая 3). Этот процесс можно значительно ускорить, прогревая образцы горячим воздухом или подвергая их воздействию паров аммиака.

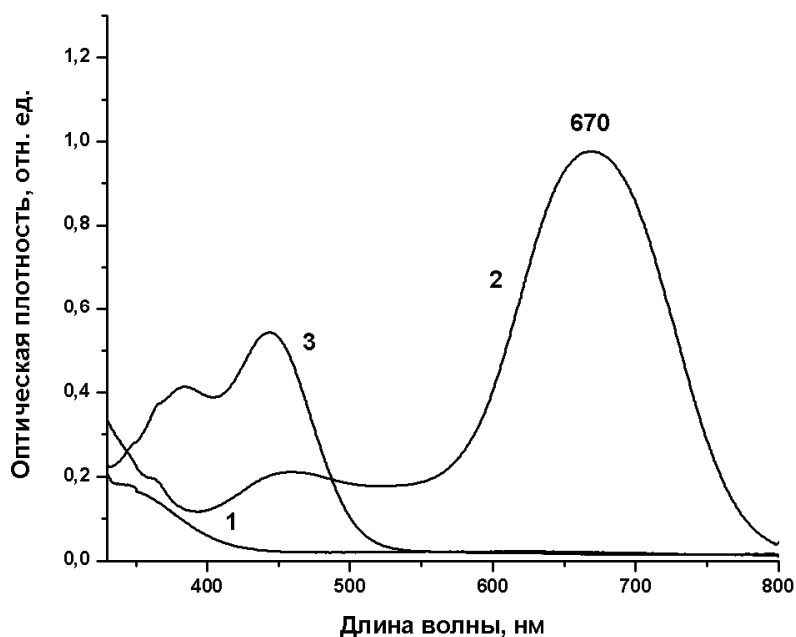


Рис. 3.22. Спектры поглощения ПС-пленки, содержащей ДФА и тетрабромметан, до облучения (1) после облучения УФ-светом (2) и после действия паров аммиака (3).

Образующиеся протонированные 9-ДФААН⁺ (**1H**⁺) и 9-ДТААН⁺ (**2H**⁺) имеют, по-видимому, сравнительно низкий квантовый выход флуоресценции в случае, когда противоионом является анион Br⁻. Однако было установлено, что 9-ДБААН⁺ (**3**⁺), имеющий объемные заместители в пара-положениях, в этих условиях обладает уже достаточно высоким квантовым выходом. На рис. 3.23 представлено изменение со временем интенсивности флуоресценции ПС-пленки, в которой под действием света с происходит фотоинициированный синтез **3H**⁺. В присутствии паров аминов или пиридина такая пленка меняет цвет флуоресценции с красного на зеленый.

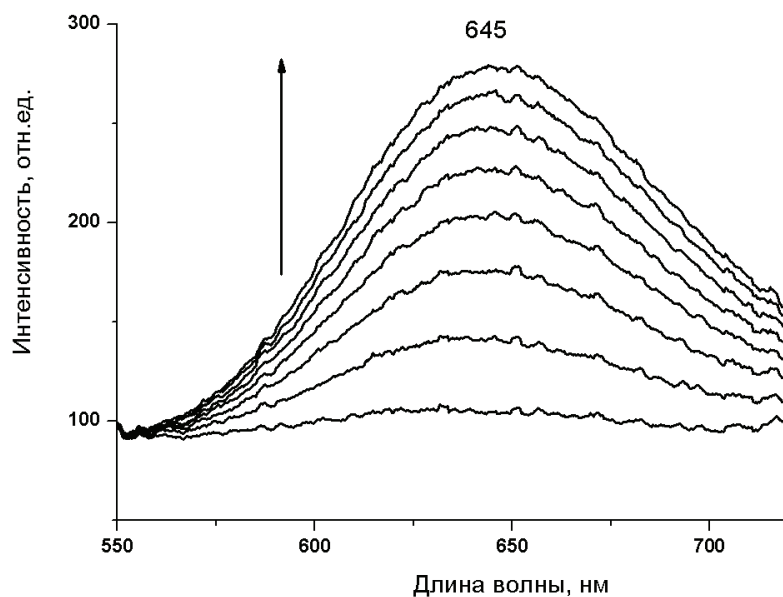


Рис. 3.23. Изменение со временем спектра флуоресценции 3H^+ в ПС-пленке, содержащей в качестве исходных продуктов ДБМДФА (10^{-1} М) и ТБМ (10^{-1} М), при облучении светодионом с $\lambda_{\text{max}} = 375$ нм. Кривые записаны с интервалом 10 с.

В описанном выше случае действия паров ТХМ на ПС-слои с нейтральным 9-ДТАА, одновременно с уменьшением интенсивности зеленой флуоресценции появляется новая, хотя и менее интенсивная полоса флуоресценции в красной области спектра с максимумом при 630 нм (рис. 3.24). При длительном экспонировании ПС-пленок в парах ТХМ (до 10 минут и более) наблюдается почти полный переход зеленой флуоресценции в красную.

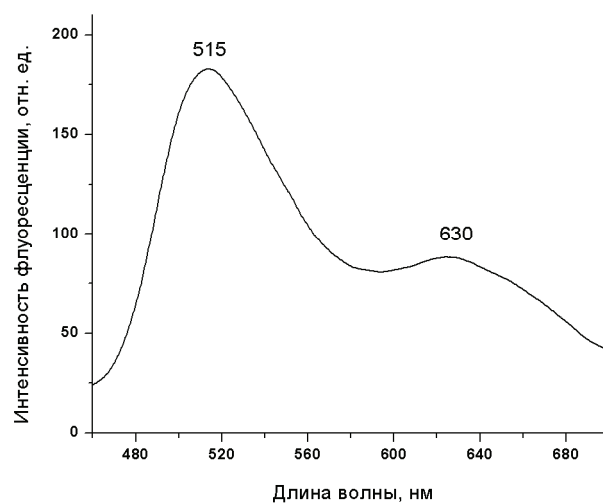


Рис. 3.24. Спектр флуоресценции ПС-пленки с 9-ДТАА (**2**) после облучения светодиодом с $\lambda_{\text{max}} = 375$ нм в течение нескольких минут в парах четыреххлористого углерода.

Наиболее вероятным объяснением является предположение, что свечение в красной области спектра связано с появлением протонированной формы 2H^+ , которая легко отдает протон аммиаку или органическому основанию, обладающему большим, чем у **2**, сродством к протону. Протонированный 2H^+ может образоваться путем присоединения к **2** молекулы HCl , образующейся в ходе реакции фотопереноса электрона с молекулы **2** на молекулу CCl_4 и последующей необратимой диссоциации анион-радикала CCl_4 на ион Cl^- и радикал CCl_3 .

Таким образом, в случае, когда для 2H^+ противоионом является Cl^- , флуоресценция в красной области спектра уже легко регистрируется и может быть использована для аналитических целей. На рис. 3.25 показано, как начальная слабая красная флуоресценция пленки преобразуется в яркую зеленую флуоресценцию под действием насыщенных паров пиридина. Аналогичные изменения наблюдаются в случае паров аммиака.

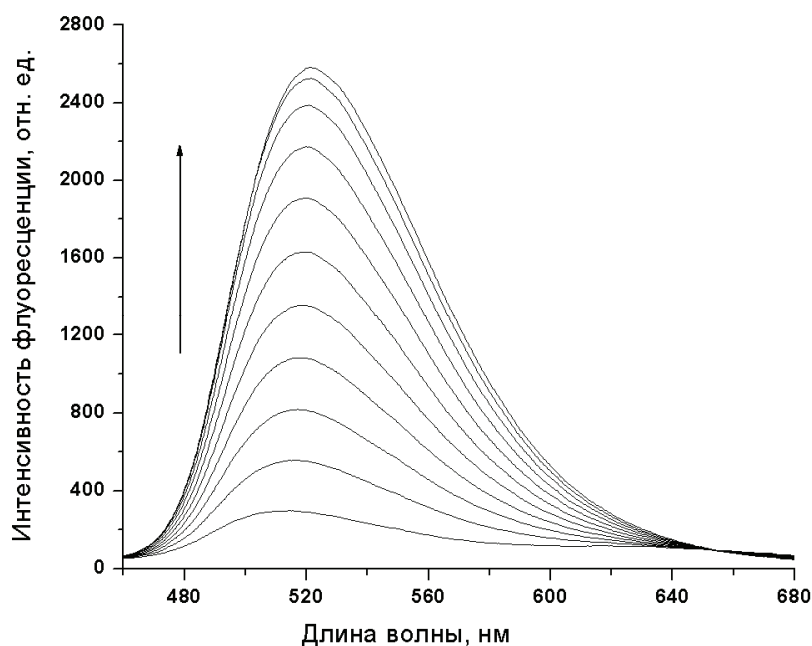


Рис. 3.25. Изменение спектра флуоресценции ПС пленки с 9-ДТААН⁺ (2H^+) в парах пиридина (спектры записаны с интервалом в 5 сек).

Полученные данные являются указанием на то, что синтезированные соединения **1-3**, также как и исходные ариламины, могут образовывать с ТХМ комплексы с переносом заряда. Это в свою очередь означает, что реакции образования фотопродуктов **1-3** из исходных ариламинов и тетрабромметана

являются реакциями с автосенсибилизацией, так как продукты фотореакции сами являются сенсибилизаторами образования следующих молекул **1-3**.

Было показано, что эффект автосенсибилизации приводит к экспоненциальному росту количества образующихся молекул фотопродуктов в месте облучения пленки видимым светом (например, светом гелий-неонового лазера с $\lambda = 630$ нм). В принципе, этот эффект может быть использован для резкого увеличения локальной концентрации флуорофоров в нужном месте пленки.

Было показано также, что фотоинициированный синтез соединений **1-3** может быть осуществлен не только в тонких полимерных слоях, но и на поверхности полимерных микро- и наночастиц, которые затем могут быть использованы для формирования матриц сенсорных элементов с помощью установок для струйной печати.

3.15. Квантово-химические расчеты комплексов 9-диариламиноакридинов с аналитами. Взаимодействие флуорофоров-индикаторов и аналитов основано на межмолекулярных силах, включающих зарядовые взаимодействия, образование водородных связей, ван дер Ваальсовские силы и др. Молекулы 9-диариламиноакридинов являются классическими сольватофлуорохромами, т.е. молекулами, меняющими свою флуоресценцию в полярных растворителях. Однако очевидно, что при малых концентрациях молекул-аналитов в воздухе, образование полных сольватных оболочек из молекул-аналитов вокруг адсорбированных или ковалентно-привитых на поверхности матрицы молекул флуорофоров-индикаторов маловероятно. Следовательно, возможно, что при образовании комплексов аналит/индикатор состава 1:1 соответствующие изменения параметров флуоресценции флуорофоров будут весьма незначительны. С целью выяснения, насколько существенно может влиять на флуоресценцию индикатора взаимодействие с одной или несколькими молекулами аналитов, на примере 9-дифениламиноакридина (9-ДФАА) были проведены соответствующие квантово-химические расчеты. На рисунке 3.26 показаны расчетные структуры комплексов с метанолом и ацетоном (аналогичные комплексы были рассчитаны для других аналитов типа аммиака и ацетальдегида). Видно, что в случае метанола длина межмолекулярных связей существенно меньше, чем для ацетона, что указывает на большую энергию взаимодействия. Расчетные энергии образования комплексов с аналитами в возбужденном состоянии 9-ДФАА довольно велики и составляют 8.7–8.9 ккал/моль для ацетальдегида, аммиака и ацетона и 10.2 ккал/моль для метанола

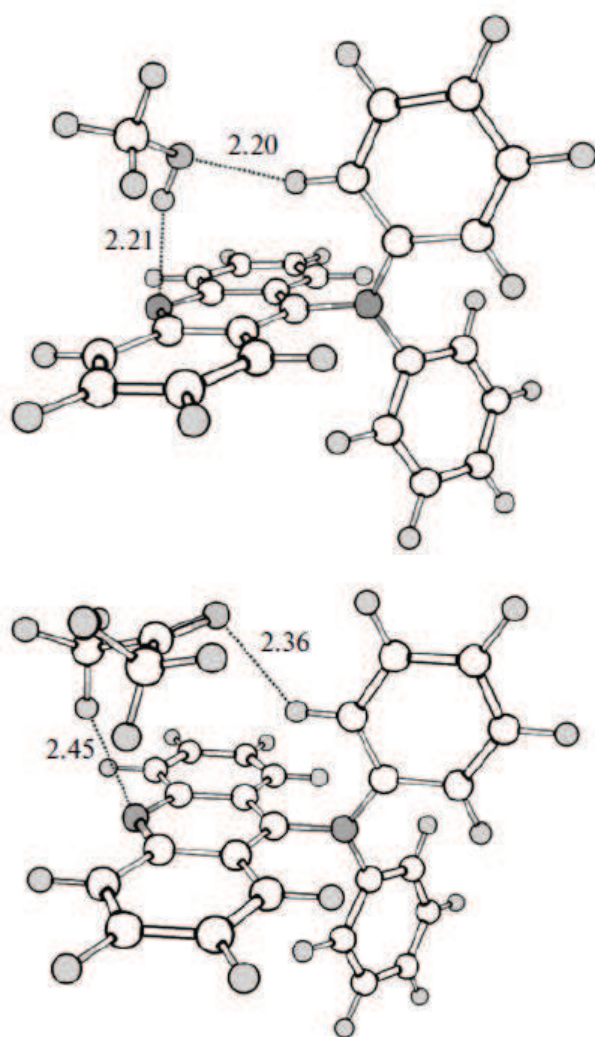


Рисунок 3.26. Рассчитанные равновесные структуры комплексов 9-ДФАА с метанолом (слева) и ацетоном (справа).

Рассчитанные методом TD-DFT положения полос флуоресценции комплексов состава 1:1 аналит/9-ДФАА довольно хорошо коррелируют с полученными данными по сдвигам полос поглощения 9-ДФАА при переходе от растворов в нейтральном гексане к полярным растворителям (рис. 3.27).

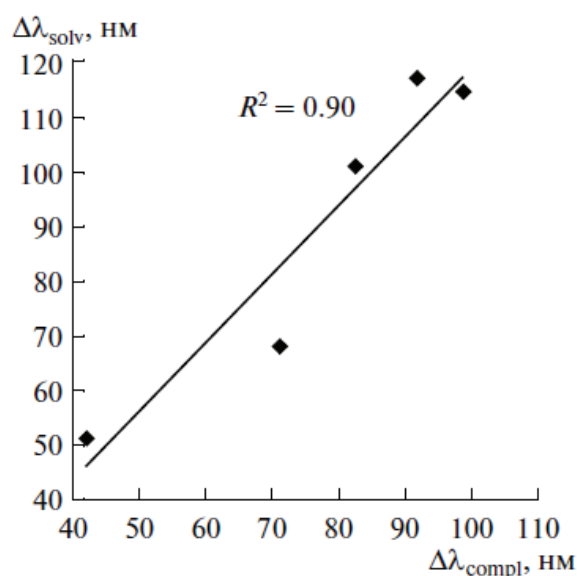
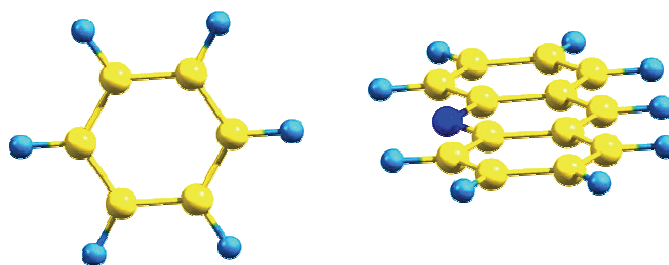


Рисунок 3.27. Корреляция рассчитанных сдвигов полос флуоресценции при образовании комплексов и экспериментальных сдвигов полос флуоресценции 9-ДТАА в растворах при переходе от гексана к полярным растворителям.

Расчеты показывают, что положение полосы флуоресценции 9-ДТАА при взаимодействии с тремя молекулами бензола не существенно отличается от положения полосы при учете взаимодействия с одной молекулой бензола (рис. 3.28). Учет взаимодействия с еще большим количеством молекул бензола, имитирующим полную сольватную оболочку вокруг молекулы индикатора, практически не сказывается на положении расчетной полосы флуоресценции.



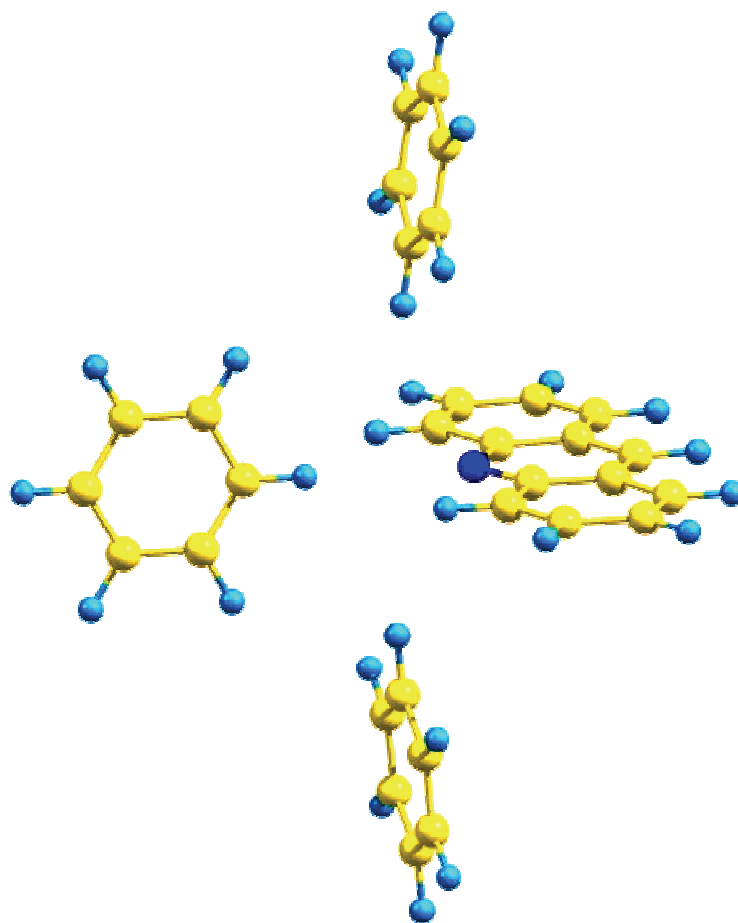


Рис. 3.28. Равновесные конфигурации комплексов бензол/9-ДТАА состава 1:1 (вверху) и 3:1 (внизу).

Полученные данные указывают на то, что учет взаимодействия молекулы флуорофора с одной молекулой аналита позволяет почти полностью объяснить наблюдаемые сольватофлуорохромные сдвиги, т. е. роль остальных молекул в сольватной оболочке сравнительно незначительна. Таким образом, даже образование комплексов состава 1:1 при малых концентрациях аналитов может привести к достаточно большим наблюдаемым эффектам.

Расчеты позволяют также оценить, насколько энергии взаимодействия аналитов с индикатором зависят от их взаимного расположения. На рис. 3.29 и 3.30 приведены результаты расчетов энергий комплексов 9-ДТААс с молекулами аммиака и ацетона при двух разных конфигурациях, отвечающим локальным равновесным состояниям.

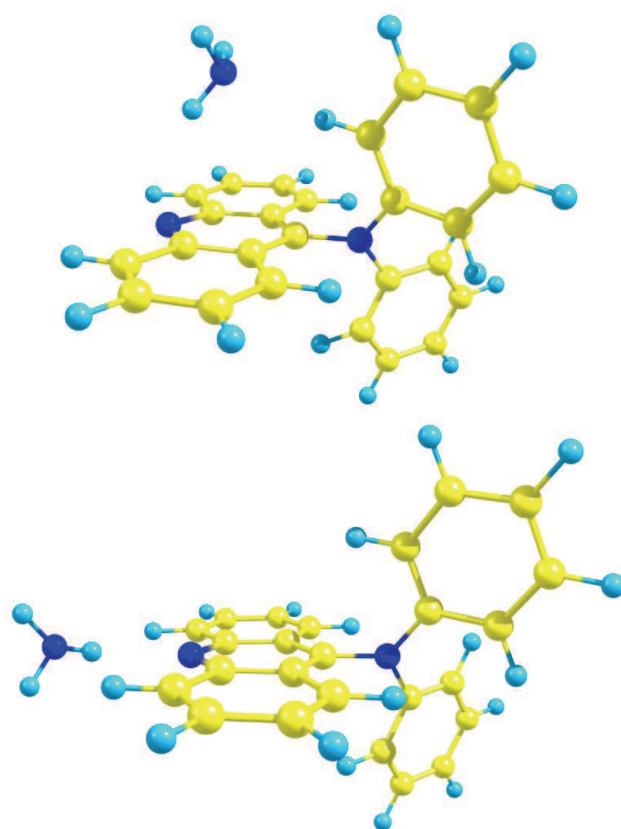
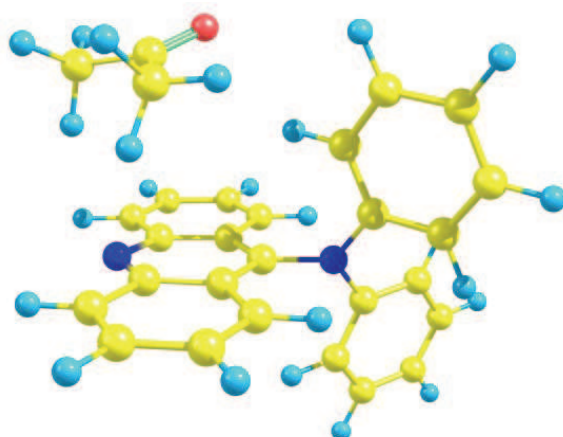


Рис. 3.29. Рассчитанные структуры двух комплексов 9-ДТАА с молекулой аммиака. Энергия взаимодействия для комплекса слева равна -4.6 ккал/моль, для комплекса справа -6 ккал/моль



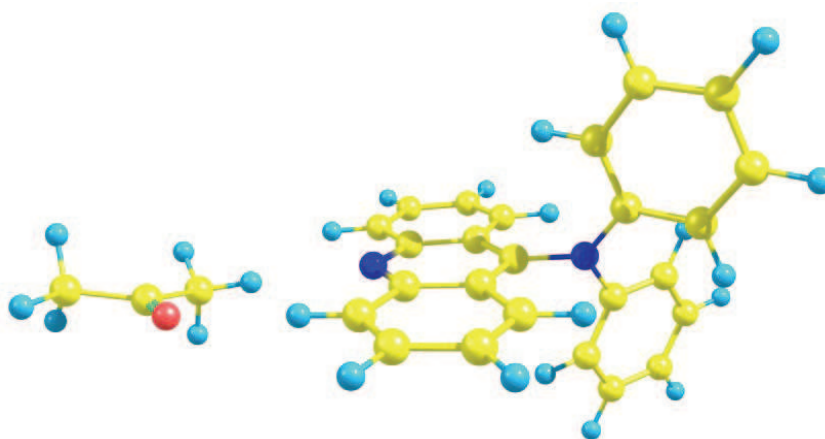


Рис. 3.30 Рассчитанные структуры двух комплексов 9-ДТАА с молекулой ацетона. Энергия взаимодействия для комплекса сверху равна -4.4 ккал/моль, для комплекса снизу -5.1 ккал/моль.

Расчеты позволяют также понять, в какой степени молекулы в смеси паров могут конкурировать за образование комплексов с молекулой флуорофора-индикатора. На рис. 3.31 проиллюстрирована ситуация с вытеснением молекулы бензола молекулой метанола из первоначального комплекса бензол/9-ДТАА. Равновесная конфигурация комплекса бензол/9-ДТАА заменяется на равновесную конфигурацию тройного комплекса метанол/9-ДТАА/бензол, в котором молекула метанола занимает наиболее энергетически важное положение по отношению к атому азота акридинового цикла.

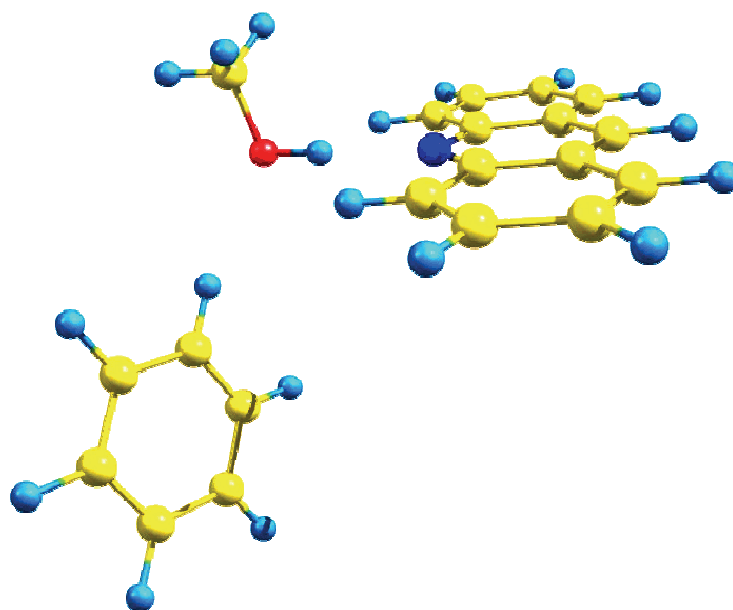


Рис. 3.31. Иллюстрация перехода от равновесной конфигурации комплекса бензол/9-ДТАА к равновесной конфигурации тройного комплекса метанол/9-ДТАА/бензол.

Таким образом, соединения 9-дифениламиноакридинового ряда – 9-ДФАА, 9-ДТАА и 9-ДВАА (**1-3**), иммобилизованные в полимерных пленках, могут быть использованы как флуоресцентные молекулярные сенсоры, интенсивность и цвет флуоресценции которых меняется в присутствии молекул органических полярных растворителей или аминов. Реакция фотоинициированного образования флуорофоров **1-3** может быть использована для создания сенсорных материалов особого типа, так как образование флуорофора-индикатора в полимерном слое можно инициировать непосредственно перед измерением, получая флуорофор-индикатор в нужном месте и с нужной концентрацией. Возможно также создание сенсорных слоев, пригодных для визуальной индикации по изменению цвета флуоресценции в присутствии аналитов.

Так как 9-диариламиноакридины меняют свои флуоресцентные свойства в ходе реакции протонирование–депротонирование, они могут быть использованы в качестве кислотно-основных индикаторов в различных средах.

Следует добавить, что синтезированные дифениламиноакридины **1-3** могут рассматриваться как производные 9-анилиноакридина и, следовательно, могут оказаться полезными в медико-биологических исследованиях. Возможно, что наличие двух фенильных колец может увеличивать их способность к образованию комплексов с протеинами по сравнению с 9-анилиноакридинами. Наличие в молекулах **1-3** донорных и акцепторных фрагментов и разнообразие их флуоресцентных свойств могут служить их дополнительным преимуществом.

4. Разработка сенсорных материалов на основе красителей различных классов.

Поскольку сольватофлуорохромные свойства присущи большому количеству широко известных красителей, некоторые из них наряду с 9-диариламиноакридинами были изучены в качестве перспективных молекулярных сенсоров. Ниже приведены структуры некоторых соединений, относящихся ко второй группе изученных индикаторов-флуорофоров.

4.1. Структура изученных красителей-флуорофоров. Прежде всего, был изучен краситель Нильский красный (рис. 4.1), спектральные свойства которого близки к свойствам 9-диариламиноакридинов.

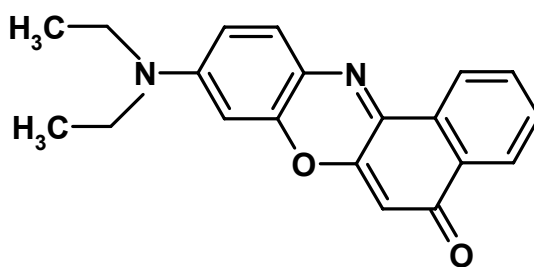


Рис. 4.1. Молекулярная структура красителя Нильского красного.

На рис. 4.2 приведены литературные данные о спектрах флуоресценции Нильского красного (НК) в различных растворителях.

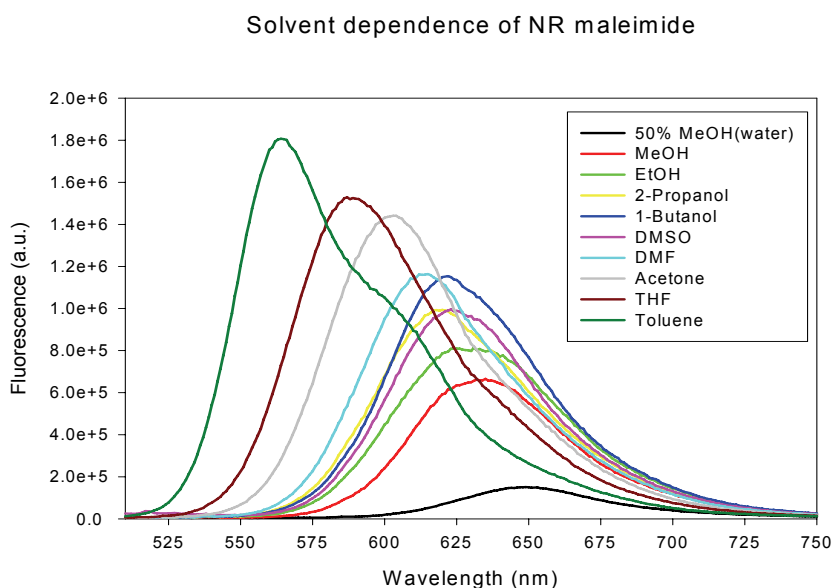


Рис. 4.2. Зависимость спектра флуоресценции Нильского красного от полярности растворителей.

Видно, что сдвиги максимумов полос флуоресценции НК и изменения их интенсивности аналогичны изменениям, которые были описаны в разделе 3 для 9-диариламиноакридинов. Отметим, что НК, как и 9-ДТАА, является нейтральным красителем, однако в отличие от 9-ДТАА он имеет несколько гетероатомов, способных образовывать межмолекулярные водородные связи (прежде всего, это атомы кислорода и азота центрального кольца, которые имеют неподеленные пары электронов).

Для других красителей – Акрифлавина, Флуоресцеина, Эозина, Родаминов Б и 6Ж, структурные формулы которых приведены на рис. 4.3–4.6, характерно присутствие боковых функциональных групп, способных образовывать различного типа водородные связи, а также возможность образования в некоторых случаях заряженных или лактонных форм.