

Universitatea Babeş-Bolyai Cluj-Napoca

Facultatea de Fizică

Specializarea Fizică Medicală

LUCRARE DE LICENȚĂ

Coordonator științific

Prof. dr. Vasile CHIȘ

Absolvent

Stefania Renata STEPANOV

Cluj-Napoca

2022



Universitatea Babeş-Bolyai Cluj-Napoca

Facultatea de Fizică
Specializarea Fizică Medicală



LUCRARE DE LICENȚĂ

Proprietăți fotofizice ale unor seminaftofluorene

Coordonator științific

Prof. dr. Vasile CHIȘ

Absolvent

Stefania Renata STEPANOV

Cluj-Napoca

2022

Cuprins

Abstract	1
Rezumat	3
Introducere	5
Capitolul 1	
Calculul spectrelor de absorbție electronică și emisie de fluorescență	9
1.1 Calculul spectrelor de absorbție și emisie în formalismul TD-DFT	10
1.2 Aproximațiile Franck-Condon și Herzberg-Teller. Structura vibronică a spectrelor de absorbție și emisie	12
Capitolul 2	
Detalii computaționale	17
2.1 Metode de calcul și seturi de bază	17
2.2 Algoritm de calcul a spectrelor de absorbție și emisie cu structură vibronică	18
Capitolul 3	
Structura compușilor SNAFR	22
3.1 Analiza datelor existente în literatură	22
3.2 Compararea geometriilor experimentale și calculate	23
3.3 Geometriile calculate ale derivaților SNAFR	25
3.4 Diferențe dintre geometriile stărilor fundamentale și cele excitate ale formelor neutre și anionilor SNAFR	30
Capitolul 4	
Proprietăți fotofizice calculate ale derivaților SNAFR	32
4.1 Date experimentale fotofizice disponibile în literatura de specialitate	32
4.2 Corelarea datelor fotofizice experimentale cu datele experimentale	35
4.3 Interpretarea tranzițiilor electronice	40
4.4 Structura vibronică a spectrelor de absorbție și emisie	46
Concluzii	50
Bibliografie	52

Abstract

In this work we have proposed a computational study on a class of near-infrared emission molecules (IRAs), which are of particular interest in various fields, including fluorescence imaging or photodynamic therapy. The present study addresses the photophysical properties (electronic absorption and emission, vibronic structure of UV-Vis and fluorescence spectra, Stokes shift, fluorescence radiative times) as well as structural changes due to the transition from the ground state to the excited state of a new class of molecules called seminaftofluorene (SNAFR), which presents near-infrared emission, relatively recently synthesized [Yan08] and based on the xanthene group. These molecules have a number of advantages such as low molecular weight, good water solubility, they require simple chemical synthesis methods and demonstrate low cytotoxicity.

Using molecular electronic structure calculations methods based on the DFT (time-independent) and TD-DFT (time-dependent) density functional theory, we were able to accurately reproduce the photophysical parameters of the investigated molecules.

First of all, we were interested in the accuracy of reproducing the geometries of the molecules, both in the fundamental state, for which there are experimental data only in the case of SNAFR2 and SNAFR3 neutral molecules, but also in the excited state.

Compared to the experimental data available in the literature we reproduced the geometries of the two molecules mentioned above with a value of the RMSD (root mean square deviation) parameter as low as 0.291 Å for the compound SNAFR2, and 0.143 Å for SNAFR3.

Moreover, we demonstrated that by switching from the neutral to the anionic form of the investigated molecules, the structural changes are minor, but the change in photophysical parameters, in particular the energies corresponding to the absorption and emission transitions, can change substantially. An important geometric parameter that can especially influence the intensity of emission transitions is the dihedral angle that defines the orientation of the phenyl ring relative to the frame determined by the xanthene group of molecules. The results of our study show that the differences between the structures of the molecules in the ground state and in the excited state are relatively minor and consist essentially of different values of the dihedral angle mentioned above.

The type of electronic transitions was made based on the analysis of the frontier molecular orbitals but also based on the difference of the electronic densities corresponding to the excited state and the fundamental state. For all derivatives, regardless of their form (neutral or anionic), it is shown that by electronic excitation there is a surplus of electronic density on the ring of the xanthene group which has a carbonyl group attached and on the phenyl ring attached to the xanthene.

Regarding the investigated photophysical parameters, our results show an excellent agreement between the calculated and experimental data. Particularly, the vibronic structure of the absorption and emission spectra can be reproduced with great accuracy, and calculations based on the Franck-Condon and Herzberg-Teller approximations (FCHT) are absolutely necessary to explain all spectral features, including the positions of the spectral bands and their shape.

Moreover, our DFT calculations successfully confirm the experimental results showing a bathochromic displacement for the emission of the anionic species and show that this is due to the more pronounced stabilization of the excited state of the anions compared to the stabilization of their ground state.

Rezumat

În lucrarea de față ne-am propus un studiu computațional asupra unei clase de moleculele cu emisie în infraroșu apropiat (IRA), care prezintă un interes deosebit în diverse domenii, inclusiv în imagistica moleculară de fluorescență sau în terapia fotodinamică. Studiul prezentat abordează proprietățile fotofizice (absorbția electronică și emisia de fluorescență, structura vibronică a spectrelor UV-Vis și de fluorescență, deplasarea Stokes, timpii radiativi de fluorescență) precum și modificările structurale la trecerea din starea fundamentală în stare excitată a unei clase noi de molecule numite seminaftofluorene (SNAFR), care prezintă emisie în infraroșu apropiat, sintetizate relativ recent [Yan08] și bazate pe grupul xantenă. Aceste molecule prezintă o serie de avantaje precum greutatea moleculară scăzută, solubilitatea bună în apă, necesită metode de sinteză chimică simple și demonstrează citotoxicitatea scăzută.

Folosind metode de calcul de structură electronică moleculară bazate pe teoria funcționalei de densitate DFT (independentă de timp) și TD-DFT (dependentă de timp) am reușit reproducerea cu acuratețe a parametrilor fotofizici ai moleculelor investigate. În primul rând am fost interesați de acuratețea cu care pot fi reproduse geometriile moleculelor, atât în stare fundamentală, pentru care există date experimentale doar în cazul moleculelor neutre SNAFR2 și SNAFR3, dar și în stare excitată.

Comparând cu datele experimentale disponibile în literatura de specialitate am reprodus geometriile celor două molecule menționate mai sus cu o valoare a parametrului RMSD (root mean square deviation) de numai 0.291 Å pentru compusul SNAFR2, respectiv de 0.143 Å pentru SNAFR3.

De asemenea, am arătat că prin trecerea de la forma neutră la cea anionică a moleculelor investigate, schimbările structurale sunt minore, dar modificarea parametrilor fotofizici, în particular energiile corespunzătoare tranzițiilor de absorbție și de emisie, se pot modifica substanțial. Un parametru geometric important, care poate influența mai ales intensitatea tranzițiilor de emisie este unghiul diedru care definește orientarea inelului femil față de cadrul determinat de grupul xantena al moleculelor. Rezultatele studiului nostru arată că diferențele dintre structurile moleculelor în stare fundamentală și în stare excitată sunt relativ minore și constau în esență în valori diferite ale unghiului diedru menționat mai sus.

Interpretarea tipului tranzițiilor electronice s-a făcut pe baza analizei orbitalilor moleculari de frontieră dar și pe baza diferenței densităților electronice corespunzătoare stării excitate și stării fundamentale. Pentru toți derivații, indiferent de forma lor (neutră sau anionică) este demonstrat că prin excitare electronică se produce un surplus de densitate electronică pe inelul grupului xantenic care are atașat un grup carbonil și pe inelul fenil atașat xantenei.

Referitor la parametrii fotofizici investigați, rezultatele noastre arată o concordanță excelentă între datele calculate și cele experimentale. În particular, structura vibronică a spectrelor de absorbție și emisie poate fi reprodusă cu mare acuratețe, iar calculele bazate pe aproximațiile Franck-Condon și Herzberg-Teller (FCHT) sunt absolut necesare pentru explicarea tuturor trăsăturilor spectrale, incluzând pozițiile benzilor spectrale dar și forma acestora.

Calcululele DFT confirmă cu succes rezultatele experimentale care arată o deplasare batocromică pentru emisia anionilor moleculei și demonstrează că acest fapt este datorat stabilizării mai accentuate a stării excitate a anionilor comparativ cu stabilizarea stării fundamentale a acestora.

Introducere

În lucrarea de față ne-am propus un studiu computațional asupra unei clase de molecule cu emisie în infraroșu apropiat (IRA). Interesul pentru astfel de molecule este datorat faptului că își găsesc aplicabilitate în domenii diverse, precum: înregistrarea optică, imprimantele laser, filtre laser sau fotosensibilizatori pentru utilizare în terapia fotodinamică [Yan08]. În particular, interesul nostru pentru aceste molecule este datorat faptului că proprietățile lor fotofizice (de absorbție electronică și emisie de fluorescență) sunt potrivite pentru aplicații în domeniul biomedical, acest lucru fiind datorit posibilității penetrării în adâncime a țesuturilor biologice de către radiația IR [Yan08].

Concret, în lucrare am abordat o nouă clasă de molecule cu emisie în infraroșu apropiat, sintetizate relativ recent [Yan08], bazate pe grupul xantenă, numite seminaftofluorene (SNAFR). Aceste molecule au avantaje unice pentru aplicații biomedicale datorită unor proprietăți specifice precum: greutate moleculară mică (339 uam), solubilitate crescută în apă, emisie atât de la de la emițătorul fluorescent neutru cât și cel anionic.

În plus, prin modificări structurale țintite și prin ionizarea speciilor neutre este posibilă ajustarea emisieii acestor derivați de la roșu intens până la infraroșu apropiat (în particular de la speciile anionice), precum și obținerea unor deplasări Stokes semnificative.

În mod surprinzător, doar câteva clase de coloranți cu emisie IRA sunt disponibile pentru utilizare în aceste domenii, cum ar fi ftalocianinele, cianinele și scuarainele. Fiecare dintre aceste clase de coloranți au beneficii și dezavantaje distincte. Limitările comune includ deplasări Stokes relativ mici și incompatibilitatea cu fluorofori obișnuiți pentru aplicații de multiplexare. Așadar, este evidentă nevoia și interesul crescut pentru extinderea fondului de fluorofori disponibili cu emisie în IRA.

O posibilitate de modificare a emisieii moleculelor, în particular pentru obținerea unor deplasări batocromice (deplasări la lungimi de undă crescute a benzilor de absorbție sau emisie) semnificative constă în "anelarea" moleculelor, adică extinderea sistemului conjugat al structurilor pigmentilor. Concret, anelarea constă în adăugarea (fuziunea) unui nou inel benzenic la o moleculă. Așadar, modularea judicioasă a proprietăților arhitecturale de bază ale fluoronelor benzanulate poate conduce la obținerea unei noi

clase de seminaftofluorone (SNAFR), care au fluorescență distinctă în spectrul roșu intens până la infraroșu apropiat.

O nouă abordare de sinteză pentru coloranții de xantenă permite ajustarea parametrilor de proiectare, cum ar fi direcția de anulare și regiochimia fragmentelor ionizabile. Greutatea moleculară scăzută, solubilitatea în apă, sinteza simplă și citotoxicitatea scăzută sunt printre avantajele fluoroforilor rezultanți. Modificările structurale minore pot duce la modificări spectrale dramatice și proprietăți fotofizice distincte. Proprietățile de emisie ale unor astfel de fluorofori sunt determinate atât de geometria sistemului conjugat, dar și de poziția grupului OH în grupul xantenă [Ham17].

Au fost observate emisii IRA apreciabile de la anionii SNAFR (maxime de emisie variind de la 713 la 757 nm în soluție apoasă și 725–789 nm în DMSO) pentru trei combinații ale parametrilor de proiectare menționați mai sus. În special, atunci când este excitat în regiunea lungimii de undă albastru/verde, s-a observat că noul compus (SNAFR-6) prezintă o emisie de fluorescență IRA foarte intensă [Yan08].

Anionul SNAFR-6 poate fi excitat cu un laser obișnuit, în domeniul vizibil și emite în regiunea IRA. Ca urmare, această moleculă devine în special atractivă pentru aplicații de multiplexare. În general, pentru aplicații de multiplexare, fluoroforii ar trebui să posede excitație uzuală, dar să prezinte emisii la lungimi de undă distincte.

O problemă actuală în domeniul fluoroforilor este lipsa de pigmenți cu emisie în roșu sau IRA, care totodată să prezinte deplasări Stokes suficient de mari, astfel permițând excitații simultane cu alți fluorofori obișnuiți, precum fluoresceina, rodamina, comarina și coloranții de tip BODIPY. SNAFR-6 devine astfel un candidat pentru rezolvarea problemei, datorită absorbției sale anionice largi, de la ≈ 420 nm până la ≈ 650 nm și a deplasării sale Stokes excepțional de mare, de cca. 200 nm. Forma neutră SNAFR-6 este și ea fluorescentă într-o soluție bufer de fosfat cu 1% DMSO, având un maxim de emisie de aproape 579 nm.

Emisia IRA al anionului SNAFR-6 poate fi de asemenea utilă pentru imagistica celulară [ABFlu, TFSci, NCArt, PMMit] constatându-se faptul că SNAFR-6 intră cu ușurință în celulele HEP2 și prezintă o intensitate a fluorescenței IRA suficientă pentru astfel de studii [Li19] În plus, a fost demonstrat faptul că acest fluorofor prezintă un nivel scăzut de citotoxicitate. Aceste experimente au fost realizat de către echipa de cercetare din cadrul Departamentului de Chimie de la Universitatea Louisiana State, SUA.

Extinderea studiului asupra acestor prototipuri de pigmenți de primă generație, ar putea oferi un acces rapid la alți fluorofori cu caracteristici noi. De exemplu, introducerea unor substituenți în poziția ortho al inelului de aril inferior al moleculelor SNAFR, poate conduce la creșterea randamentului cuantic prin mărirea rigidității structurale și prin împiedicarea formării aducților cu moleculele de solvent.

Totodată, este de interes sintetizarea unor analogi ale acestor molecule de tip SNAFR pentru a se putea obține randamente cuantice mai mari, fotostabilitate îmbunătățită și emisie de fluorescență la lungimi de undă mai mari.

În concluzie, seria de seminaftofluorone (SNAFR) prezintă proprietăți spectrale unice, incluzând emisii între Vis și IRA pentru speciile anionice, împreună cu deplasări Stokes moderate și mari. Folosind metode sintetice, adică variații în orientarea anelării, respectiv regiochimia fragmentelor de hidroxil ionizabile, se pot realiza investigații structurale și funcționale, care să ofere informații utile pentru sinteza generației următoare de pigmenți.

Parametrii structurali au un efect relativ mic asupra proprietăților spectrale ale formelor neutre SNAFR în DMSO. Astfel, în discordanță cu formele neutre, formele anionice SNAFR prezintă proprietăți spectrale semnificativ diferite în soluții bufer de DMSO și apoase. Chiar pentru schimbări structurale nesemnificative, se observă diferențe mari în proprietățile acestor pigmenți. Cel mai bun exemplu s-a dovedit a fi molecula SNAFR-6.

Studiul proprietăților fotofizice în corelare cu stările electronice ale acestor noi arhitecturi pot oferi o înțelegere experimentală și teoretică mai bună asupra parametrilor fotofizici. Aceste prototipuri SNAFR reprezintă abia prima generație a unei clase de molecule active în NIR, fiind niște șabloane generale, care pot fi funcționalizate în diferite moduri [Yan08]. Alți parametri fotofizici, de interes pentru fluorofori sunt: posibilitatea folosirii lor în microscopia confocală, în imagistica FLIM (fluorescence lifetime imaging microscopy), rezolvarea suficientă a benzilor de emisie, sensibilitate la pH-ul soluțiilor în care se gasesc cromoforii sau valori pK_a neutre. În particular, pentru emisia de lumină albă, fluoroforii trebuie să prezinte maxime de emisie de intensități relativ apropiate la trei lungimi de undă în jurul valorilor corespunzătoare culorilor albastru, verde și roșu [You06, You07].

Investigațiile computaționale asupra parametrilor fotofizici ai fluoroforilor pot fi de ajutor, în particular prin puterea de predicție a acestora, dar și prin faptul că aceste metode pot include simultan o serie de parametri în modelare: efecte de solvent, efecte de pH (molecule neutre, protonate sau deprotonate), efecte de solvent, efectele chimice de funcționalizare, efectele autoasamblării fluoroforilor, etc. În plus, metodele computaționale pot prezice și parametrii structurali ai stărilor excitate ale moleculelor, redistribuția electronică datorată excitării moleculelor, structura vibronică a spectrelor de absorbție și emisie sau timpii radiativi de fluorescență. Acestea sunt motivele principale pentru care ne-am propus acest studiu computațional, încercând să validăm metode de calcul pe sistemele SNAFR, pentru care există o multitudine de date legate de parametrii fotofizici ai acestora.

Lucrarea de față este structurată în 4 capitole. În primul capitol sunt discutate pe scurt metodele de calcul folosite, cu accent pe calculul spectrelor de absorbție electronică și a celor de emisie de fluorescență cu structură vibronică.

În capitolul 2 sunt prezentate metodele de calcul și seturile de bază folosite în această lucrare. Tot aici este inclus și un algoritm de calcul al spectrelor de absorbție și emisie cu structură vibronică, cu exemple concrete pentru fișierele de input pentru lucrul cu programul Gaussian [Gau16].

În cel de-al treilea capitol sunt discutate geometriile moleculelor studiate, transformările structurale ale geometriilor la trecerea de la formele neutre la cele anionice sau de la starea fundamentală la starea excitată. Capitolul include și o compartie directă a rezultatelor computaționale cu rezultate structurale experimentale găsite în literatura de specialitate pentru compușii SNAFR2 și SNAFR3 în stare neutră.

În cel de-al patrulea capitol am inclus rezultatele studiului efectuat, prin raportare la datele experimentale existente în literatura de specialitate și raportate în lucrarea "Seminaphthofluorones are a family of water-soluble, low molecular weight, NIR-emitting fluorophores, PNAS, 105 (2008) 8829–8834" de către Yang și colaboratorii.

Rezultatele se referă la calculul parametrilor fotofizici ai celor 6 molecule în stare neutră și anionică, incluzând: energii de tranziție, deplasări Stokes, momente de dipol electric și de dipol al tranziției, redistribuția densității electronice ca urmare a tranziției din starea fundamentală în cea excitată, structura vibronică a spectrelor UV-Vis și de emisie pentru moleculele studiate.

1. Calculul spectrelor de absorbție electronică și emisie de fluorescență

Calculul spectrelor UV-Vis și de fluorescență sunt necesare atunci când se are în vedere interpretarea datelor fotofizice ale moleculelor. Parametrii calculați în astfel de cazuri sunt: energiile de excitare (verticale, adiabatică și tranzițiile 0 – 0), energiile de emisie prin fluorescență, geometriile stărilor excitate, deplasările Stokes (diferențele dintre maximele de absorbție și cele de fluorescență), momentele de dipol ale tranzițiilor, timpii radiativi de fluorescență, factorii Franck-Condon. De asemenea, din analiza orbitalilor implicați în tranzițiile electronice poate fi determinate perechile de orbitali responsabile de tranzițiile electronice, intensitatea și tipul tranzițiilor electronice.

Spectrele de absorbție și emisie se calculează folosind formalismul TD-DFT (Time-Dependent – Density Functional Theory) care descrie stările moleculare excitate pe baza tuturor excitațiilor monoelectronice posibile între orbitalii moleculari ocupați în starea fundamentală a moleculei și cei virtuali.

În particular, structura vibronică a spectrelor electronice, datorată excitării simultane a unei tranziții electronice și a cel puțin unui mod de vibrație a moleculei, este extrem de utilă pentru explicarea detaliată a spectrelor experimentale. Cuplajul dintre modurile vibraționale și tranzițiile electronice este determinat, esențial, de către factorii Franck-Condon. Prin analiza structurii vibronice a spectrelor electronice pot fi identificate modurile vibraționale fundamentale, armonicile acestora sau modurile de combinare, implicate într-o tranziție electronică și contribuțiile acestor moduri la spectrul electronic observat experimental [Olt12].

Considerarea structurii vibronice a spectrelor de absorbție și emisie duce la îmbunătățirea substanțială a acordului dintre datele experimentale și cele computaționale față de cazul în care spectrele sunt obținute în primul nivel de aproximare, calculând numai energiile de tranziție verticale, pe geometriile optimizate ale stărilor fundamentale. Acest lucru este datorat faptului că în acest caz sunt neglijate complet efectele dinamice (vibraționale), care pot avea un impact major asupra formei spectrelor calculate.

1.1 Calculul spectrelor de absorbție și emisie în formalismul TD-DFT

Calculul spectrelor de emisie și absorbție poate fi făcut aplicând teoria TD-DFT (Time Dependent Density Functional Theory) pe baza formalismului răspunsului liniar, cunoscut sub numele LR-TD-DFT [Cas12].

Formalismul TD-DFT se bazează pe teorema introdusă de Runge și Gross [Run84] care demonstrează că pentru un sistem aflat inițial în starea fundamentală și care este supus unei perturbații externe slabe dependente de timp de forma

$$v'_{ext}(\mathbf{r}, t) = -E(t) \cdot \mathbf{r}$$

densitatea de sarcină $\rho(\mathbf{r}, t)$ determină potențialul extern dependent de timp în limita unei funcții aditive dependente de timp. Această teoremă definește fundamentele teoretice pentru formalismul TD-DFT care a devenit unul dintre cele mai utilizate instrumente pentru calculul proprietăților stărilor excitate ale moleculelor. Lista de proprietăți care pot fi calculate pe baza teoriei TD-DFT include: geometrii ale stărilor excitate, energii de excitație, intensitatea oscilatorului, timpi radiativi de fluorescență, polarizabilități dependente de timp. Pe baza acestor proprietăți pot fi apoi simulate spectrele de absorbție electronică UV-Vis, spectrele de emisie de fluorescență sau spectrele Raman rezonante.

Modelarea stărilor excitate pe baza TD-DFT presupune ca prim pas calculul energiilor verticale de tranziție electronică. Acest calcul se realizează pe geometria stării fundamentale (geometrie optimizată sau experimentală), determinându-se energiile verticale de absorbție pe baza relației [Lau14, Jac15, Esc17]:

$$E_{abs}^v = E_{ES}(R_{GS}) - E_{GS}(R_{GS}) \quad (1.1.1)$$

unde $E_{ES}(R_{GS})$ reprezintă energia stării excitate calculată pe geometria stării fundamentale, iar $E_{GS}(R_{GS})$ este energia stării fundamentale calculată pe geometria stării fundamentale.

Energia adiabatică de absorbție se obține cu pe baza ecuației:

$$E_{abs}^{adiab} = E_{ES}(R_{ES}) - E_{GS}(R_{GS}) \quad (1.1.2)$$

unde $E_{ES}(R_{ES})$ reprezintă energia stării excitate calculată pe geometria stării excitate. Evident, acest calcul presupune optimizarea geometriei stării excitate a moleculei.

Energia verticală de emisie se calculează cu o relație asemănătoare celei date de ec. (1.1.1):

$$E_{emi}^v = E_{ES}(R_{ES}) - E_{GS}(R_{ES}) \quad (1.1.3)$$

Un astfel de calcul implică optimizarea stării excitate și calculul energiilor stării excitate și a celei fundamentale pe geometria stării excitate (R_{ES}).

O altă mărime de interes în analiza tranzițiilor electronice este energia tranziției $0-0$, adică a tranziției între stările vibraționale caracterizate de numărul cuantic de vibrație $v = 0$ ale stărilor electronice fundamentală și cea excitată. Aceasta valoare se obține conform ecuației (1.4):

$$E^{0-0} = E^{adiab} + \Delta E^{ZPVE} \quad (1.1.4)$$

unde ΔE^{ZPVE} este diferența dintre energiile vibraționale de punct zero corespunzătoare stării excitate și celei fundamentale.

Este important de menționat aici că atât E^{adiab} cât și ΔE^{ZPVE} trebuie calculate în regim de echilibru, adică pe geometriile complet relaxate în solvent.

Din punct de vedere al calculului implicate, conform recomandărilor din ref. [Esc17], este necesară folosirea unui set de bază care să includă funcții difuze și funcții de polarizare pentru calculul stărilor fundamentale de energie scăzută. Adăugarea funcțiilor difuze, cel puțin pentru atomii grei, poate duce la o scădere de peste 0.2 eV între valoarea experimentală și cea calculată pentru energiile de tranziție [Cio07].

Fără a intra în detaliile de calcul a energiilor de tranziție care se găsesc, de exemplu, în ref. [Cas12, Dre05], vom atrage atenția asupra câtorva recomandări practice de calcul a acestora. Astfel în ce privește funcționale de schimb-corelare, în literatura de specialitate este demonstrat [Lau13] că:

- funcționalele pure furnizează energii de tranziției prea mici (lungimi de undă prea mari).
- funcționalele hibride furnizează energii de tranziție mai apropiate de valorile experimentale.
- pentru stări de valență moleculare funcționalele hibride standard (B3LYP, PBE0, M06) furnizează rezultate de bună calitate pentru energiile de tranziție verticale, dar funcționalele hibride cu domeniu separat (de scurtă și lungă distanță), par să furnizeze rezultate mai bune decât funcționalele hibride standard.
- este necesară considerarea efectelor de solvent, în particular pentru descrierea stărilor excitate.
- în majoritatea cazurilor, pentru calculul energiei verticale de fluorescență trebuie optimizată geometria primei stări excitate deoarece aceasta este responsabilă de emisia de fluorescență, conform regulii lui Kasha [Kas50].

1.2 Aproximațiile Franck-Condon și Herzberg-Teller. Structura vibronică a spectrelor de absorbție și emisie

Probabilitatea unei tranziții electronice UV-Vis între o stare inițială i și o stare finală f în unitatea de timp (rata tranziției), determinată de interacțiunea dintre o moleculă și un câmp electromagnetic extern, este dată regula lui Fermi [Dir27, Fer50]:

$$D_{if} = \frac{2\pi}{\hbar} \langle \Psi_i | \vec{\mu}_e \vec{E}_0 | \Psi_f \rangle^2 \rho(E_f) = \frac{2\pi E_0^2}{\hbar} \langle \Psi_i | \vec{\mu}_e \vec{e} | \Psi_f \rangle^2 \rho(E_f) \quad (1.2.1)$$

unde

- Ψ_i și Ψ_f sunt funcțiile de undă corespunzătoare stărilor între care are loc tranziția
- $\vec{\mu}_e$ este momentul de dipol electric al moleculei, iar \vec{e} este vectorul unitar care indică direcția câmpului electric (de intensitate E_0).
- $\rho(E_f)$ este densitatea de stări care descrie distribuția stărilor finale
- E_f și E_i reprezintă energiile nivelurilor energetice între care are loc tranziția.

Deoarece probabilitatea unei tranziții din starea inițială i în starea finală f este centrată pe valoarea energetică:

$$E_f = E_i + \hbar\omega \quad (1.2.2)$$

unde ω frecvența radiației incidente,

densitatea de stări

$$\rho(E_f = E_i + \hbar\omega)$$

este înlocuită cu funcția Dirac:

$$\delta(E_f - E_i - \hbar\omega)$$

Un spectru de absorbție sub formă de linii (stick spectrum) al unei molecule date, corespunzător unei stări vibronice i , se obține prin calculul sumei peste toate stările vibronice finale f a coeficientului de absorbție $\sigma(\omega)$, pe baza ecuației [Blo08]:

$$\sigma_{abs}(\omega) = \frac{4\pi^2}{3c} \cdot \omega \cdot \sum_i \rho_i \sum_f |\langle \Psi_i | \vec{\mu}_e \vec{e} | \Psi_f \rangle|^2 \delta(E_f - E_i - \hbar\omega) \quad (1.2.3)$$

unde:

- $\sigma_{abs}(\omega)$ este secțiunea eficace de absorbție definită ca și rata de absorbție a fotonului pe moleculă și pe unitatea de energie radiantă [Blo08].
- c este viteza luminii
- factorul $\frac{1}{3}$ ține cont de faptul că orientările sistemului molecular sunt complet aleatoare, componentele Carteziene ale momentului de dipol electric sunt egale și în consecință, pătratul momentului de dipol electric este

$$|\mu|^2 = 3|\mu_e(x)|^2$$

de unde

$$|\mu_e(x)|^2 = \frac{1}{3} |\mu|^2$$

astfel că:

$$\sigma_{abs}(\omega) = \frac{4\pi^2}{3c} \cdot \omega \cdot \sum_i \rho_i \sum_f |\langle \Psi_i | \mu | \Psi_f \rangle|^2 \delta(E_f - E_i - \hbar\omega) \quad (1.2.4)$$

În cazul în care calculul spectrelor vibronice de absorbție și emisie se efectuează pentru temperatura de 0 K, sunt luate în considerare numai excitațiile de pe nivelurile vibraționale cu numărul cuantic de vibrație egal cu zero (singurul nivel populat la această temperatură).

Dacă se ține cont de faptul că temperatura sistemului este finită (diferită de 0 K), atunci se iau în considerare diferitele stări inițiale corespunzătoare diferitelor stări vibraționale ocupate în starea fundamentală, precum și populațiile lor Boltzmann, ρ_i .

Formula corespunzătoare pentru spectrul de emisie este [Bar10]:

$$\sigma(\omega)_{emi} = \frac{4\pi^2}{3\hbar c^3} \cdot \omega^3 \cdot \sum_i \rho_i \sum_f |\langle \Psi_i | \vec{\mu}_e \vec{e} | \Psi_f \rangle|^2 \delta(E_f - E_i + \hbar\omega) \quad (1.2.5)$$

Dacă notăm cu ΔE diferența dintre minimele corespunzătoare suprafețelor de energie potențială a celor două stări implicate în tranziție, și cu ε_I și ε_F energiile stărilor vibraționale, atunci cantitatea $E_f - E_i$ poate fi rescrisă sub forma [For19]:

$$\Delta E + |\varepsilon_F - \varepsilon_I|$$

iar spectrele de emisie și absorbție vor fi date de relațiile:

$$\sigma_{abs}(\omega) = \frac{4\pi^2}{3c} \cdot \omega \cdot \sum_i \rho_i \sum_f |\langle \Psi_i | \mu | \Psi_f \rangle|^2 \delta(\Delta E + |\varepsilon_F - \varepsilon_I| - \hbar\omega) \quad (1.2.6)$$

respectiv:

$$\sigma(\omega)_{emi} = \frac{4\pi^2}{3\hbar c^3} \cdot \omega^3 \cdot \sum_i \rho_i \sum_f |\langle \Psi_i | \vec{\mu}_e \vec{e} | \Psi_f \rangle|^2 \delta(\Delta E + |\varepsilon_F - \varepsilon_I| - \hbar\omega) \quad (1.2.7)$$

Menționăm că relațiile de mai sus sunt valabile pentru procesele de absorbție sau de emisie a unui singur foton (proces OPA, respectiv OPE). De asemenea, în practică funcția Dirac se înlocuiește cu o funcție de distribuție care să simuleze lărgirea liniilor spectrelor observate experimental.

Din ecuațiile (1.4) și (1.5) este evident faptul că probabilitatea unei tranziții de absorbție sau emisie este proporțională cu pătratul momentului de dipol al tranziției (MDT), dat de integrala:

$$\langle \Psi_i | \vec{\mu}_e \vec{e} | \Psi_f \rangle$$

Pentru evaluarea acestei integrale se folosește principiul Franck-Condon, conform căruia, în timpul necesar unei tranziții electronice, pozițiile relative și vitezele nucleelor moleculei nu se modifică semnificativ [Fra26]. Pe baza acestui principiu se calculează suprapunerile dintre funcțiile de undă vibraționale ale stării inițiale și ale celei finale. Astfel, separând momentul de dipol electric μ într-o parte electronică, μ_e și una nucleară μ_n , se poate demonstra ușor (vezi ref. [Blo08], pag. 21-22) că expresia MDT se scrie sub forma:

$$\langle \Psi_i | \mu | \Psi_f \rangle = \langle \Psi_n^i | \mu_{if} | \Psi_n^f \rangle$$

cu expresia pentru MDT electronic:

$$\mu_{if} = \langle \Psi_e^i | \mu_e | \Psi_e^f \rangle$$

unde Ψ_e și Ψ_n reprezintă funcția de undă electronică, respectiv nucleară, iar Ψ^i și Ψ^f se referă la funcția de undă inițială, respectiv finală.

Prin separarea funcției de undă nucleare într-o parte rotațională și una vibrațională și apoi prin neglijarea funcției de undă rotaționale se obține forma finală a integralei momentului de dipol al tranziției:

$$\langle \Psi_i | \mu | \Psi_f \rangle = \langle \Psi_v^i | \mu_{if} | \Psi_v^f \rangle \quad (1.2.8)$$

unde Ψ_v^i și Ψ_v^f reprezintă funcția de undă vibrațională pentru starea inițială, respectiv pentru starea finală.

Totuși, pentru MDT electronic μ_{if} din ecuația (1.6) nu există o soluția analitică, astfel încât această cantitate se dezvoltă în serie Taylor după setul de coordonate normale $\{Q_i\}$ în care fiecare coordonată normală reprezintă toate deplasările nucleelor în timpul unei vibrații date și este exprimată ca o transformare liniară a deplasărilor Carteziene. Dezvoltarea în serie Taylor a părții electronice a momentului de dipol al tranziției după setul de N coordonate normale este:

$$\mu_{if}(Q^f) \cong \mu_{if}(Q_0^f) + \sum_{k=1}^N \left(\frac{\partial \mu_{if}}{\partial Q_k^f} \right)_0 + \frac{1}{2} \sum_{k=1}^N \sum_{l=1}^N \left(\frac{\partial^2 \mu_{if}}{\partial Q_k^f \partial Q_l^f} \right)_0 Q_k^f Q_l^f + \dots \quad (1.2.9)$$

unde Q_0^f reprezintă geometria de echilibru a stării finale.

Primul termen din expresia (1.7) corespunde unui MDT electronic static și este asociat principiului Franck-Condon. Aproximația definită de egalitatea:

$$\mu_{if}(Q^f) \cong \mu_{if}(Q_0^f) \quad (1.2.10)$$

este cunoscută sub numele de aproximația Franck-Condon (FC). Pentru tranziții permise, $(\mu_{if}(Q_0^f))^2 \gg 0$, iar aproximația FC furnizează rezultate suficient de bune pentru reproducerea spectrelor vibronice.

Pe de altă parte, în cazul tranzițiilor de dipol slabe sau a celor interzise, $(\mu_{if}(Q_0^f))^2 = 0$, și în consecință spectrul vibronic total este descris incorect din cauza faptului că lipsesc tranzițiile cele mai probabile. În astfel de cazuri este necesară includerea celui de-al doilea termen din dezvoltarea (1.7), termen care ține cont de variația liniară a momentului de dipol al tranziției de coordonatele normale. Aproximația corespunzătoare acestui termen liniar este cunoscută sub numele de aproximația Herzberg-Teller (HT) [Her33].

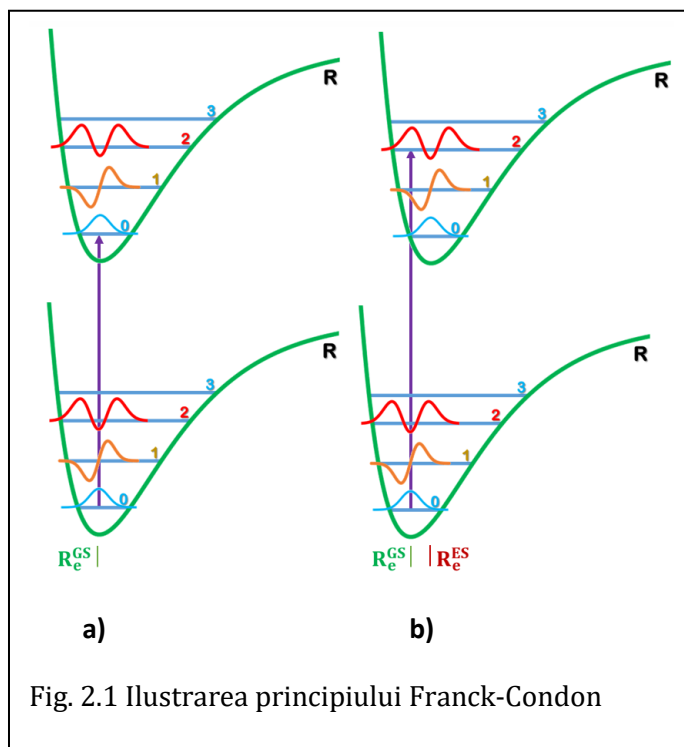
Considerând doar primii doi termeni din ec. (1.7), integrala momentului de dipol al tranziției este:

$$\langle \Psi_i | \boldsymbol{\mu} | \Psi_f \rangle = \mu_{if}(Q_0^f) \langle \Psi_v^i | \Psi_v^f \rangle + \sum_{k=1}^N \left(\frac{\partial \mu_{if}}{\partial Q_k^f} \right)_0 \langle \Psi_v^i | Q_k^f | \Psi_v^f \rangle \quad (1.2.11)$$

Integrala de suprapunere dintre funcțiile vibraționale din starea inițială și cea finală, $\langle \Psi_v^i | \Psi_v^f \rangle$, este denumită integrala Franck-Condon.

Deducerea relațiilor de calcul a integralelor din ecuația (1.9) este detaliată în ref. [Blo08], pag. 23 – 50.

Menționăm aici faptul că în conformitate cu principiul Condon, cea mai intensă



tranziție vibronică din starea electronică fundamentală cu $v = 0$ va fi cea corespunzătoare tranziției în starea excitată verticală (cu aceeași geometrie ca și starea inițială) pe nivelul vibrațional $v = 0$, acest lucru asigurând suprapunerea maximă a funcțiilor de undă de vibrație din cele două stări (vezi Fig. 2.1 a).

Pe de altă parte, dacă se ține cont de deplasarea minimului suprafeței de energie potențială în starea excitată ($R_{ES} \neq R_{GS}$) cea mai intensă bandă vibronică poate fi diferită de cea

corespunzătoare tranziției 0 – 0, putând fi, de exemplu, tranziția $v_i = 0 \rightarrow v_f = 2$, așa cum este ilustrat în Fig. 2.1 b).

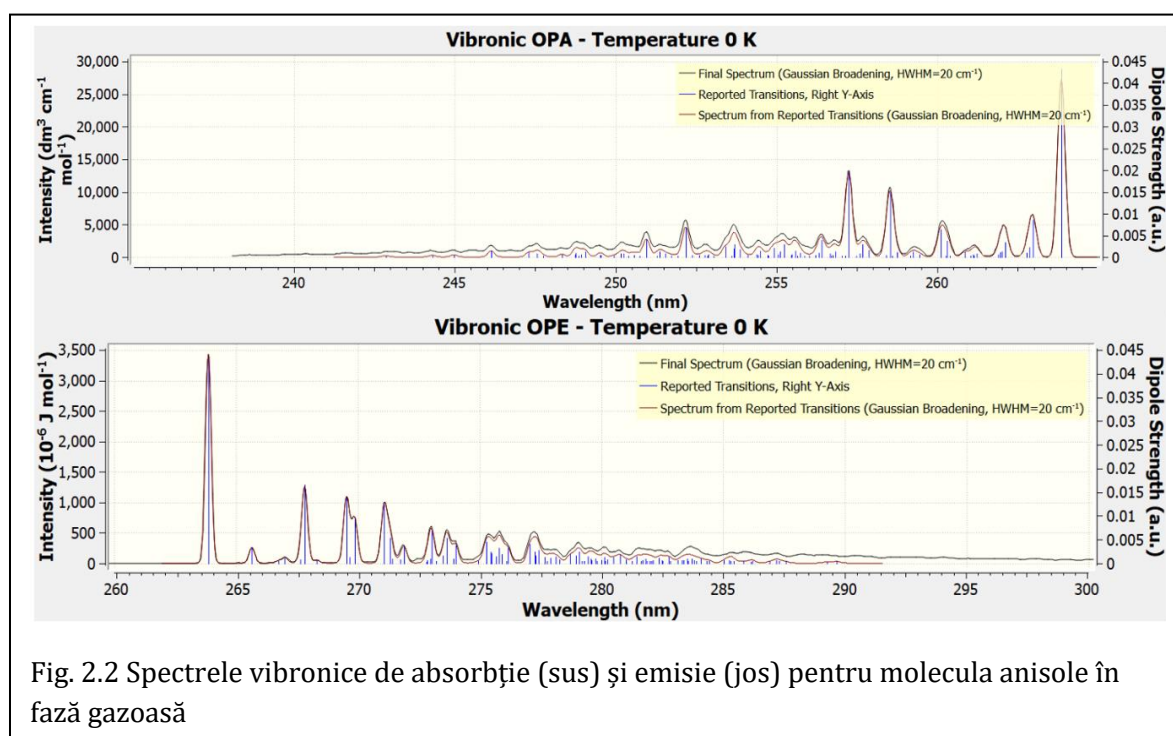
În subcapitolul 2.2 sunt date exemple pentru fișierele de input necesare unui calcul de absorbție UV-Vis și emisie de fluorescență cu structură vibronică.

Pentru molecule în fază gazoasă sunt necesari 4 pași de calcul:

1. optimizarea și calculul de frecvențe pentru starea fundamentală a moleculei
2. optimizarea și calculul de frecvențe pentru starea excitată a moleculei
3. calculul spectrului de absorbție
4. calculul spectrului de emisie

Primii doi pași, optimizarea a geometriei și calculul de frecvențe pentru cele două stări moleculare, pot fi executați separat.

Ca exemplu, în Fig. 2.2 sunt prezentate spectrele calculate de absorbție și emisie pentru molecula de anisole în fază gazoasă, la nivelul de teorie B3LYP/6-31G(d).



2. Detalii computaționale

2.1 Metode de calcul și seturi de bază

Pentru calculele efectuate în această lucrare am folosit metode de calcul a structurii electronice a moleculelor bazate pe teoria funcționalei de densitate (DFT) independentă de timp, dar și dependență de timp (TD-DFT), cu diferite funcționale de schimb-corelare și diferite seturi de bază. Astfel, am folosit funcționala hibridă B3LYP [Bec93, Lee88, Ste94, Vos80] pentru marea majoritate a calculelor, dar am testat și performanța funcționalei AFPD (cu corecție dispersivă inclusă) [Aus12], în particular pentru compararea structurilor moleculare calculate cu date experimentale existente în literatura de specialitate.

Funcționala hibridă B3LYP este una dintre cele mai populare funcționale utilizate pentru calcule de tip DFT în literatura de specialitate. Avantajele oferite de aceasta constau în predicția cu acuratețe ridicată a mai multor proprietăți moleculare, incluzând: geometrii optime, rezultate spectroscopice vibraționale, RMN, RES, de absorbție electronică și emisie de fluorescență, energii de ionizare, atomizare sau de legătură.

Funcționala hibridă APFD este introdusă relativ recent în domeniul calculelor de structură electronică moleculară și a fost proiectată astfel încât să elimine interacțiunile false reziduale, atractive sau repulsive, de distanță lungă care apar în cazul folosirii celor mai multe dintre funcționalele de schimb-corelare. A fost demonstrat [Aus12] că funcționala APFD descrie cu acuratețe ridicată energiile relative ale conformerilor moleculelor organice, suprafețele de energie potențială ale complexilor moleculari, iar acuratețea cu care prezice interacțiunile slabe este comparabilă cu cea oferită de către metodele post-Hartree-Fock la nivelul de teorie CCSD(T)/aug-cc-pVTZ.

La fel ca și B3LYP, funcționala APFD oferă unul dintre cele mai bune compromisuri între acuratețea rezultatelor calculate și costul resurselor computaționale, pentru sisteme moleculare diverse și o serie întreagă de proprietăți fizico-chimice [For15]. Această funcțională furnizează date calitative corecte în particular atunci când este necesară tratarea interacțiunilor dispersive sau pentru descrierea sistemelor moleculare extinse, inclusiv sisteme "open-shell" ori când este folosită împreună cu metoda ONIOM [For15].

O parte dintre calcule au fost efectuate în fază gazoasă, iar altele în soluție, folosind un model implicit de solvatare. Pentru simularea solventului am folosit modelele implicite PCM (Polarizable Continuum Model) [Tom05] și SMD (Solvation Model Based on Solute

Electron Density) [Mar09]. Modelul SMD este universal, în sensul că este aplicabil oricărui solut (neutru sau ionic) în orice solvent și este bazat pe densitatea de sarcină obținută prin metode de mecanică cuantică a solutului aflat în interacțiune cu un solvent reprezentat ca un mediu dielectric continuu cu tensiunea superficială (de suprafață) la limita dintre solut și solvent [Mar09].

Setul de bază folosit în mod uzual în această lucrare este 6-311+G(d,p) [Rag80]. Alegerea acestuia a fost determinată pe baza compromisului între dimensiunea moleculelor investigate (40 de atomi, 176 de electroni) și timpii de calcul așteptați pentru diferite proprietăți moleculare. Menționăm că cele mai costisitoare calcule au fost cele pentru obținerea spectrelor Raman anarmonice și cele de optimizare a stărilor excitate ale moleculelor. Fiecare dintre cele 6 molecule a fost calculată în starea fundamentală (doi conformeri corespunzător orientării inelului fenil față de restul scheletului moleculei) și în cea excitată, sub formă neutră și anionică, în gaz și în soluție de DMSO, urmărindu-se proprietăți precum: optimizarea geometriei și calculul de frecvențe, calculul spectrului de absorbție electronică, calculul spectrelor vibronice de absorbție și emisie. Numărul total de joburi necesare a fost de peste 150, iar timpul de calcul pe procesor pentru optimizarea geometriei stărilor excitate a fost de cca 5 zile, pentru calculul modurilor normale de vibrație în stare excitată de cca. 6 zile, iar pentru obținerea unui spectru Raman anarmonic a fost de cca. 90 de zile.

Calcululele au fost efectuate pe clusterul Kotys din centru de calcul de înaltă performanță HPC UBB (20 și 40 core pe node) și pe clusterul Tornado (32 și 64 core pe node) de la Facultatea de Fizică. Cel mai mare timp de calcul efectiv (elapsed time) a fost de sub 5 zile.

2.2 Algoritm de calcul a spectrelor de absorbție și emisie cu structură vibronică

Mai jos sunt date exemple pentru fișierele de input pentru calculul spectrelor de absorbție și emisie cu structură vibronică în fază gazoasă. Pentru fiecare dintre cei 4 pași de calcul implicați este dat un exemplu concret. Cu fonturi italice sunt date comentariile necesare și care trebuie eliminate din fișierul de input, textul subliniat "nivelul de teorie = metodă/set de bază" trebuie înlocuit cu cuvintele cheie corespunzătoare necesităților de calcul, iar textul "Geometria de start a stării fundamentale" trebuie înlocuit geometria moleculei.

Pasul 1: //Optimizarea geometriei și calculul de frecvențe pentru starea //fundamentală (GS)
 %chk=GS.chk
 #p opt freq=savenm nivelul de teorie = metodă/set de bază
 <blank line >
 Job title
 <blank line >
 0 1
Geometria de start a stării fundamentale
 <blank line>
 <blank line>

Observații

1. Se va păstra copia originală a fișierului GS.chk file deoarece fișierul va fi modificat în timpul calculului spectrului de absorbție
2. Se vor verifica frecvențele calculate pentru starea fundamentală. Dacă există valori negative se va reface calculul de optimizare pe o geometrie distorsionată în lungul modului de vibrație cu numărul de undă negativ.

Pasul 2a: //Optimizarea stării excitate
 %chk=ES.chk
 #p opt TD=(root=starea de interes, nstates=xx) nivelul de teorie
 <blank line>
 Job title
 <blank line>
 0 1
Geometria de start a stării excitate GES
 // GES va fi alterată ușor față de GS optimizată, prin modificarea unor unghiuri diedre
 <blank line>
 <blank line>

Pasul 2b: // Calculul de frecvențe pentru starea excitată
 %chk=ES.chk
 #p freq=savenm TD=(root=starea de interes, nstates=xx) nivelul de teorie
 <blank line>
 Job title
 <blank line>
 0 1
Geometria stării excitate
 // Alternativ, se poate folosi opțiunea geom=check în secțiunea route, pentru citirea geometrie GES din fișierul chk
 <blank line>
 <blank line>

Observație

1. Se vor verifica frecvențele calculate pentru starea excitată.
2. Dacă există valori negative se va reface calculul de optimizare pe o geometrie distorsionată în lungul modului de vibrație cu numărul de undă negativ.

Pasul 3 // Calculul spectrului de absorbție

```
%chk=GS.chk // Păstrați o copie a fișierului GS.chk deoarece acesta va fi
//modificat în acest pas.
%mem=4GB
%nprocs=4
#P Geom=AllCheck Frequency=(ReadFC, FCHT, SaveNM, ReadFCHT) NoSymm
nivelul de teorie
<blank_line>
SPECHWHM=20.0 MAXBANDS=10 maxc1=40 maxc2=40 MAXINT=2000 PRTINT=0.001
prtmat=12 specres=1. noreli00 specmin=36000 specmax=42000
transition=absorption FORCEPRTSPECTRUM
<blank_line>
ES.chk
<blank_line>
<blank_line>
```

Observație

1. Nivelul de teorie nu este necesar în pasul 3 dar poate fi inclus în secțiunea route a fișierului de input pentru a corela calculul spectrului vibronic cu celelalte calcule de optimizare a geometriei și a modurilor normale de vibrație

Pasul 4 // Calculul spectrului de emisie

```
%chk=GS.chk
%mem=4GB
%nprocs=4
#P Geom=AllCheck Frequency=(ReadFC, FCHT, SaveNM, ReadFCHT) NoSymm
nivelul de teorie
<blank_line>
SPECHWHM=20.0 MAXBANDS=10 maxc1=40 maxc2=40 MAXINT=2000 PRTINT=0.001
prtmat=12 specres=1. noreli00 transition=emission specmin=32000
specmax=40000 FORCEPRTSPECTRUM
<blank_line>
ES.chk
<blank_line>
<blank_line>
```

Observație

1. Nivelul de teorie nu este necesar în pasul 4 dar poate fi inclus în secțiunea route a fișierului de input pentru a corela calculul spectrului vibronic cu celelalte calcule de optimizare a geometriei și a modurilor normale de vibrație

Atenționări și recomandări [Bar10, Blo08, Gau16a]:

- Pasul 2 necesită cele mai importante resurse computaționale.
- Pașii 3 și 4 sunt efectuați într-un interval de tip de ordinul minutelor sau zecilor de minute.
- Pentru obținerea spectrului final pot fi variați o serie de parametri, precum: SPECHWHM=200.0 MAXBANDS=10 MAXINT=1000 PRTINT=0.0001, maxc1, maxc2, etc.

- In cazul unei progresii slabe a spectrului se vor folosi recomandările făcute de Julien Bloino (vezi ref. [CCL22]).

De exemplu, în cazul unei erori de tipul "ERROR: The Franck-Condon factor corresponding to the overlap integral between both vibrational ground states is too small" se pot avea în vedere următoarele recomandări:

Cel mai probabil această eroare este datorată unei valori foarte mici a integralei de suprapunere $\langle 0^i | 0^f \rangle$, rezultată ca urmare a unei diferențe semnificative între unul sau mai multe dintre modurile normale de vibrație dinn starea fundamentală și cea excitată.

O prima recomandare este de a crește valorile numărului MaxC1 de armonice considerate și valorii MaxC2 corespunzător benzilor de combinare (de exemplu, MaxC1 = 100 și MaxC2 = 60).

O altă opțiune este de a folosi opțiunea pentru utilizarea formalismului TD, caz în care spectrul va converge întotdeauna.

In sfârșit, alte două opțiuni pot fi utile și anume Advanced=ForceFCCalc și Advanced=ForcePrtSpectrum. Prima opțiunea anulează oprirea calculului dacă nu se obține un progres de minim 20% în convergență după calculul benzilor de combinare de două moduri vibraționale, iar a doua forțează tipărirea spectrului în fișierul de output chiar și în cazul în care convergența obținută în calculul spectrului vibronic este de sub 50%.

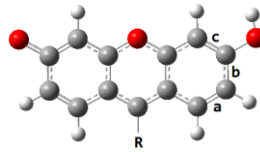
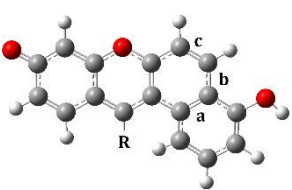
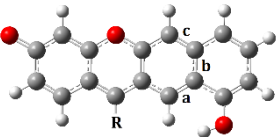
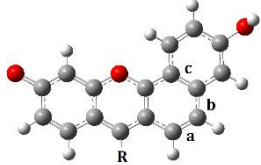
Ca exemplu, pentru calculul spectrelor vibronice raportate în referința [Olt12], au fost folosiți următorii parametri pentru secțiunea de input FCHT: SPECHWHM=200.0
MAXBANDS=10 MAXINT=1000 PRTINT=0.0001

Un exemplu de calcul al spectrului vibronic cu progresie vibronică slabă a spectrului este:
MAXBANDS=10 maxc1=40 maxc2=40 MAXINT=2000 PRTINT=0.001 prtmat=12
specres=1. noreli00 specmin=14000 specmax=34000 transition=emission
TD=GauHWHM=500.

3. Structura compușilor SNAFR

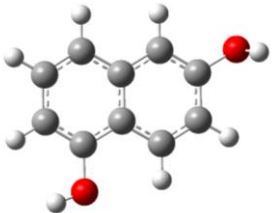
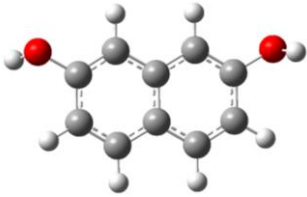
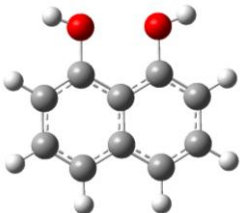
3.1 Analiza datelor existente în literatură

Conform datelor existente în literatura de specialitate, există șase posibili regioizomeri ale familiei de seminaftofluorene (SNAFR). Fiecare dintre acestea sunt bazate pe câte o xantenă benzanelată, de diferite tipuri, conform structurilor arătate în Tabelul 3.1 [Yan08]:

Tabelul 3.1 Tipurile de xantene care stau la baza compușilor SNAFR			
Xantenă simplă	Benzo[a]xantenă	Benzo[b]xantenă	Benzo[c]xantenă
			

Grupul funcțional R reprezintă grupul fenil care este atașat unităților xantenice de bază. Aceste molecule sunt benzanelări unghiulare și liniare, unde SNAFR -1 și -4 sunt clasificate drept tip [a], -2 și -5 de tip [c], iar -3 și -6 sunt de tip [b], cei șase compuși SNAFR fiind arătați în Tabelul 3.3.

Moleculele SNAFR 1-3 au fost sintetizate de către echipa de cercetare din cadrul Departamentului de Chimie, din Universitatea Louisiana State, SUA [Yan07, Yan08], folosind 1,6-dihidroxi-naftalenă, reprezentată în Tabelul 3.2. Urmând sinteza acestora, s-a constatat faptul că și alte dihidroxi-naftalene, precum 2,7- sau 1,8- dihidroxi-naftalena, reprezentate în Tabelul 3. 2, pot fi folosite pentru sinteza izomerilor structurali. Prin această abordare, trei arhitecturi de benzoxantene au fost produse, adică SNAFR -4, -5 și -6, completându-se astfel familia de izomeri SNAFR [Yan08].

Tabelul 3.2. Compușii folosiți pentru sinteza familiei de regioizomeri SNAFR		
1,6-dihidroxi-naftalenă	2,7- dihidroxi-naftalenă	1,8- dihidroxi-naftalenă
		

Proprietățile spectrale ale compușilor SNAFR sunt puternic influențate de orientarea fragmentului de naftalină și de locația grupului hidroxil. Dintre cei șase izomeri structurali, SNAFR5 prezintă emisia IRA cu cea mai mare valoare a lungimii de undă, la 789 nm, urmată de SNAFR1 la 768 nm și SNAFR6 la 725 nm. Emisia anionică a SNAFR4 se află la interfața dintre regiunile Vis și IRA, în timp ce radiația emisă de molecula SNAFR2 are cea mai scurtă lungime de undă a familiei, adică 673 nm.

Deși molecula SNAFR3 a fost sintetizată cu succes, proprietățile spectrale ale acesteia nu au fost încă raportate. De aceea în comparațiile ce urmează nu va fi prezentată. SNAFR5 și SNAFR2 au aceeași bază de benzoxantenă, însă locația grupului funcțional -OH este diferită [Yan08].

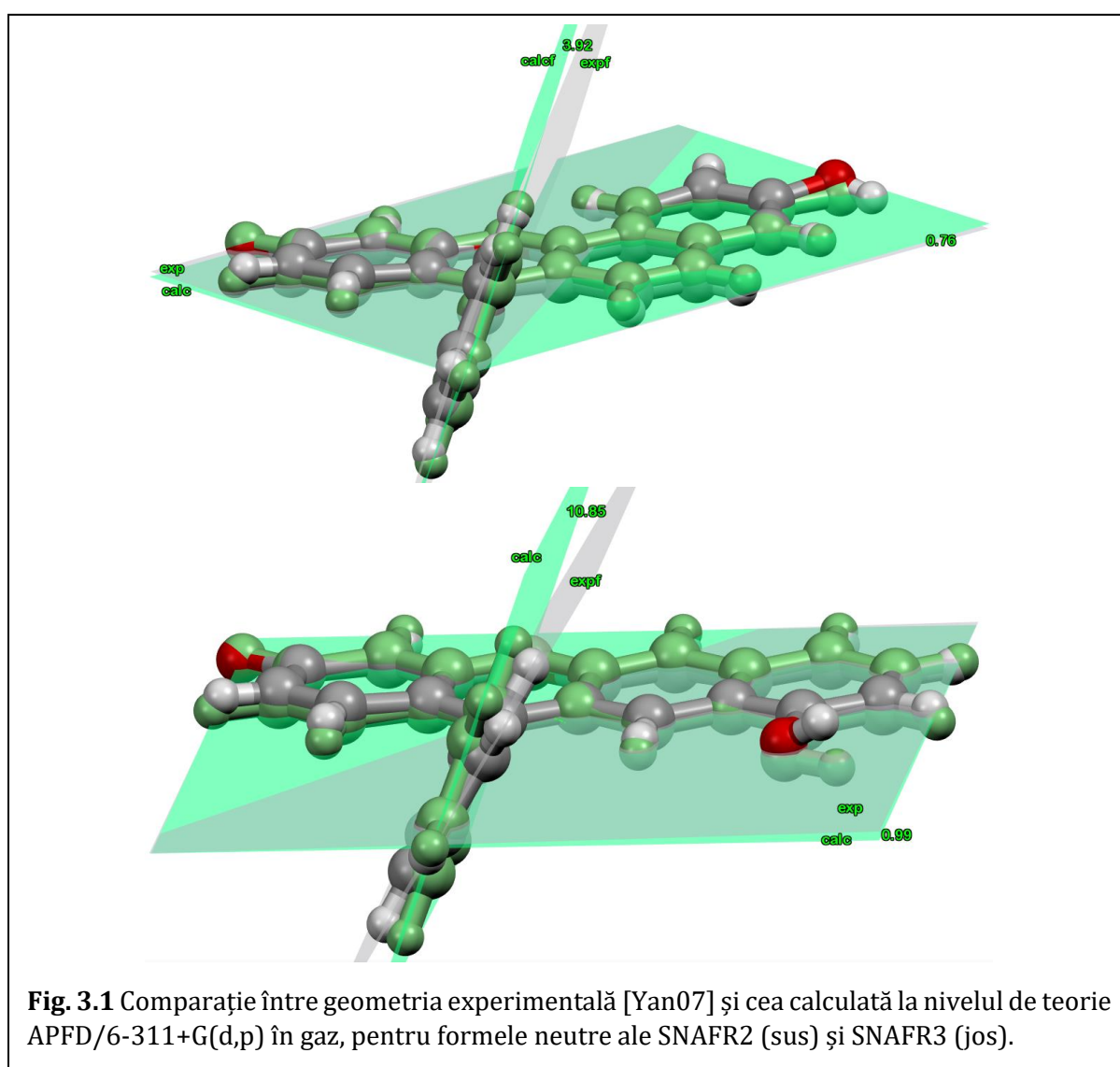
3.2 Compararea geometriilor experimentale și calculate

Considerând faptul că geometriile moleculelor influențează crucial proprietățile spectroscopice ale acestora, este extrem de importantă compararea dintre geometriile optimizate prin calcule de structură electronică și cele experimentale. Conform datelor existente în literatura de specialitate, dintre toate cele 12 sisteme moleculare investigate nu există geometrii experimentale decât pentru moleculele SNAFR 2 și SNAFR3 în formă neutră [Yan07].

Pentru a verifica acuratețea cu care sunt reproduse geometriile moleculelor am comparat geometriile experimentale pentru SNAFR2 și SNAFR3 cu cele calculate la nivelul de teorie APFD/6-311+G(d,p) în gaz. Rezultatele sunt prezentate în Fig.3.1. Am folosit pentru aceste calcule funcționala APFD [Aus12] deoarece aceasta include și corecție dispersivă la energia totală a moleculei.

Analizând geometriile prezentate în Fig. 3.1 reiese că ambele structuri experimentale sunt foarte bine reproduse de calculele DFT, rezultând un factor RMSD între geometria experimentală de 0.291 Å pentru compusul SNAFR2, respectiv de 0.143 Å pentru SNAFR3. Valoarea RMSD mai mare pentru derivatul SNAFR2 se datorează deviației mai mari, în afara planului, a inelului adăugat grupului xantenă în structura experimentală față de cea calculată.

Unghiurile diedre dintre planele medii ale grupurilor de xantenă din geometria experimentală și cea calculată sunt de doar 0.76° și 0.99° pentru SNAFR2, respectiv SNAFR3. Un parametru geometric important este unghiul de rotație a grupului fenil față de scheletul xantic al moleculei. Diferențele dintre valorile calculate și cele



experimentale pentru acest unghi sunt de 3.92° pentru compusul SNAFR2, respectiv de 10.85° pentru derivatul SNAFR3.

Cea mai mare diferență în structurile comparate se observă la unghiurile diedre corespunzătoare orientării relative a grupurilor fenil față de grupul xanten. Astfel, diferența experimental-calculat pentru SNAFR2 este de 6.0° pentru SNAFR2 și de 9.0° pentru SNAFR3.

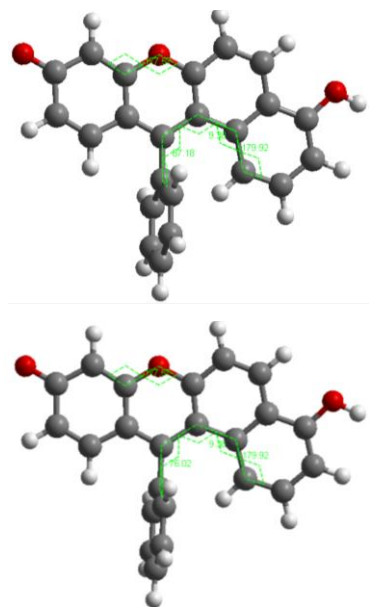
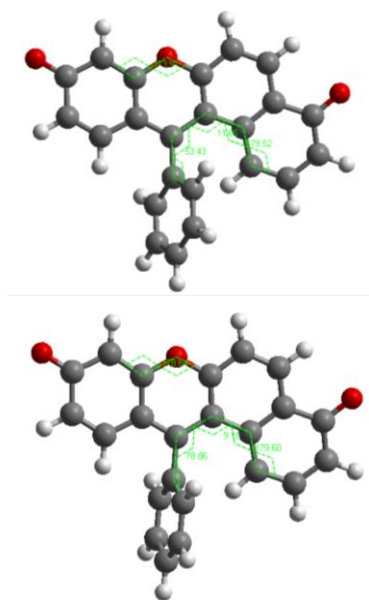
În concluzie, pe baza datelor structurale experimentale și calculate putem concluziona că geometriile calculate sunt reproduse cantitativ de calculele DFT, iar geometriile optimizate obținute sunt de încredere și pot fi folosite pentru calculul proprietăților compușilor investigați.

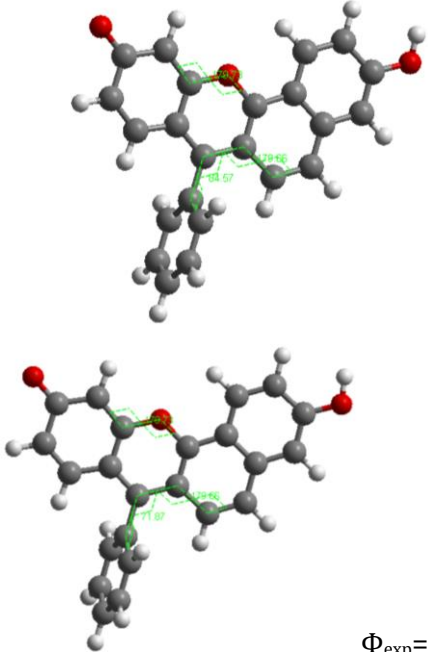
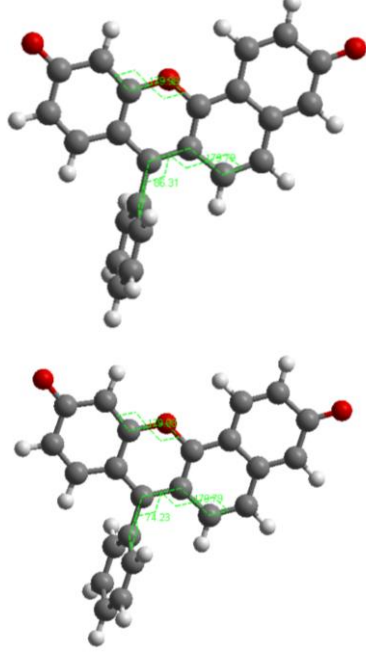
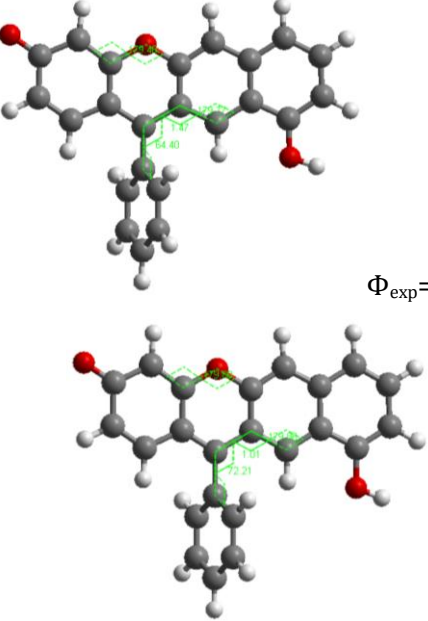
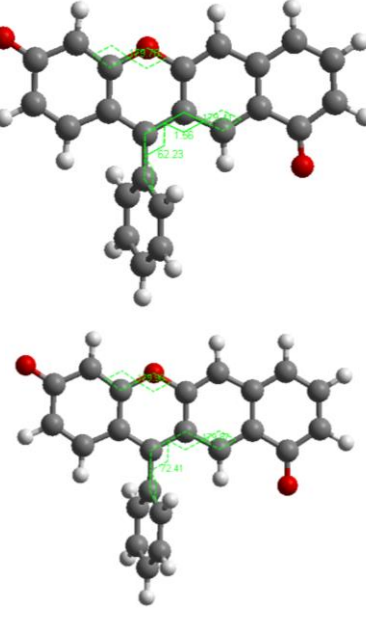
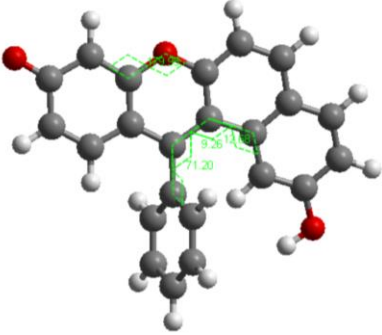
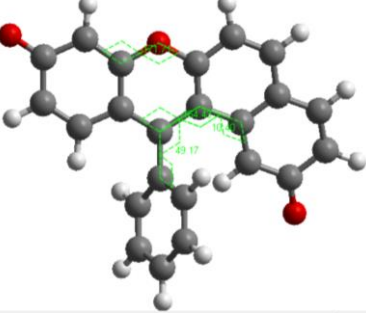
3.3 Geometriile calculate ale derivaților SNAFR

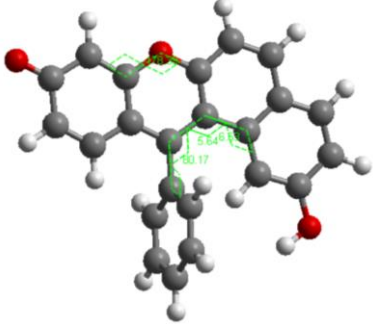
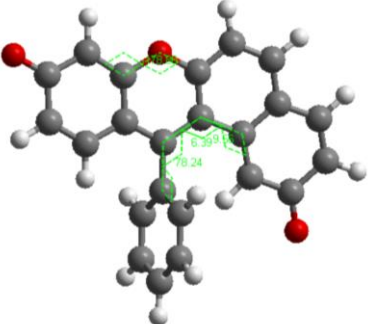
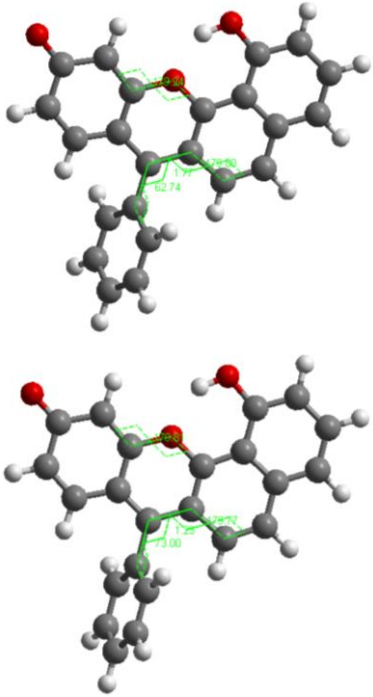
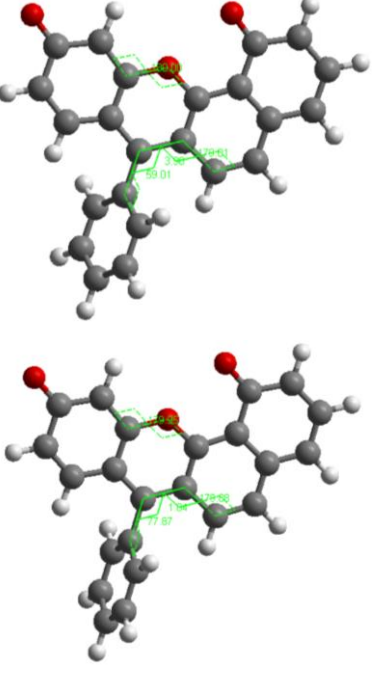
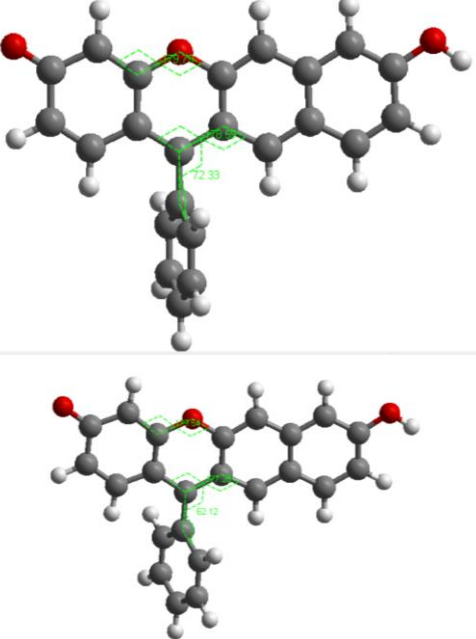
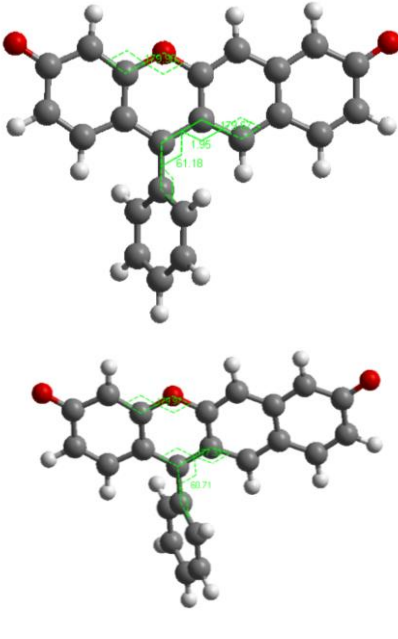
Forma sau aranjarea tridimensională a atomilor într-o moleculă este cunoscută sub numele de geometrie moleculară sau structură moleculară. Polaritatea, reactivitatea, proprietățile fotofizice, magnetismul sau activitatea biologică a unei substanțe pot fi toate determinate prin cunoașterea structurii sale moleculare.

Cu ajutorul aplicației GaussView am realizat structurile familiei de molecule SNAFR, atât pentru forma lor neutră, cât și pentru anionul fiecăruia, respectiv am reprezentat la fiecare dintre acestea starea fundamentală (ground state - GS) și starea excitată (excited state - ES). De asemenea, cu ajutorul aplicației Mercury am măsurat unghiul diedru, corespunzător rotației grupului fenil față de structura (cvasi)planară a cadrului format de către cele patru inele benzenice ale moleculei. Structurile optimizate în starea fundamentală și cea excitată ale celor 6 derivați în stare neutră și anionică sunt reprezentate în Tabelul 3.3.

Tabelul 3.3. Structurile optimizate în starea fundamentală (jos) și cea excitată (sus) ale celor 6 derivați în stare neutră (coloana din stânga), respectiv anionică (coloana din dreapta)

	Neutru GS/ES	Anion GS/ES
1		

2	 <p>$\Phi_{\text{exp}}=74.73$</p>	
3	 <p>$\Phi_{\text{exp}}=59.48$</p>	
4		

		
5		
6		

Rotația grupului de fenil (unghiul Φ) față de planul inelului central al moleculei are un efect important asupra caracteristicile geometrice și electronice ale moleculelor SNAFR, de aceea le-am trecut separat într-un tabel pentru o comparație directă mai ușoară. De asemenea, am calculat modificarea unghiului de rotație la trecerea de la forma neutră la forma anionică a aceleiași molecule, respectiv diferențele unghiurilor diedre pentru stările fundamentale și cele excitate, pentru întreaga serie a celor 6 derivați SNAFR. Rezultatele sunt sumarizate în Tabelul 3.4.

Tabelul 3.4. Modificarea unghiului diedru corespunzător orientării grupului fenil față de planul inelului central al moleculei pentru cei 6 derivați SNAFR între formele neutre și anionice, respectiv între stările fundamentale și cele excitate						
SNAFR		$\Phi(^{\circ})$ neutru	$\Phi(^{\circ})$ anion	$\Delta\Phi$ (neutru- anion)	$\Delta\Phi_{GS-ES}$ (neutru)	$\Delta\Phi_{GS-ES}$ (anion)
1	GS	76.02	78.86	-2.84	-11.16	25.43
	ES	87.18	53.43	33.75		
2	GS	71.87	74.23	-2.36	-12.7	-12.08
	ES	84.57	86.31	-1.74		
3	GS	72.21	72.41	-0.2	7.81	10.18
	ES	64.4	62.23	2.17		
4	GS	80.17	78.24	1.93	8.97	29.07
	ES	71.20	49.17	22.03		
5	GS	73.00	77.87	-4.87	10.26	18.86
	ES	62.74	59.01	3.73		
6	GS	72.33	73.55	-1.22	10.21	12.84
	ES	62.12	60.71	1.41		

După cum reiese din Tabelul 3.4, unghiul diedru determinat de planului grupului fenil și planul cadrului xantena este cuprins în general între 50 și 90 grade, atât pentru formele neutre cât și pentru cele anionice, adică grupurile fenil au o rotație estică (pozitivă).

Conform datelor de mai sus, cea mai mare diferență a unghiului Φ , se produce în urma tranziției de la starea fundamentală la starea excitată a anionilor. Diferența în unghiul Φ pentru o moleculă SNAFR în aceeași stare electronică ($\Delta\theta$ neutru- anion) și pentru

anionul moleculei în starea fundamentală, respectiv în starea excitată ($\Delta\theta$ GS-ES anion) este în medie apropiată: 16.68° pentru prima variană, respectiv 18.00° pentru a doua.

Unghiul de rotație theta este aproape dublu, atunci când are loc o trecere de la o stare în alta, față de restul situațiilor. Astfel se poate concluziona că tranziția între stările energetice are cel mai mare impact asupra un important aspect al geometriei moleculelor SNAFR, adică asupra rotației grupului de fenil față de restul moleculei.

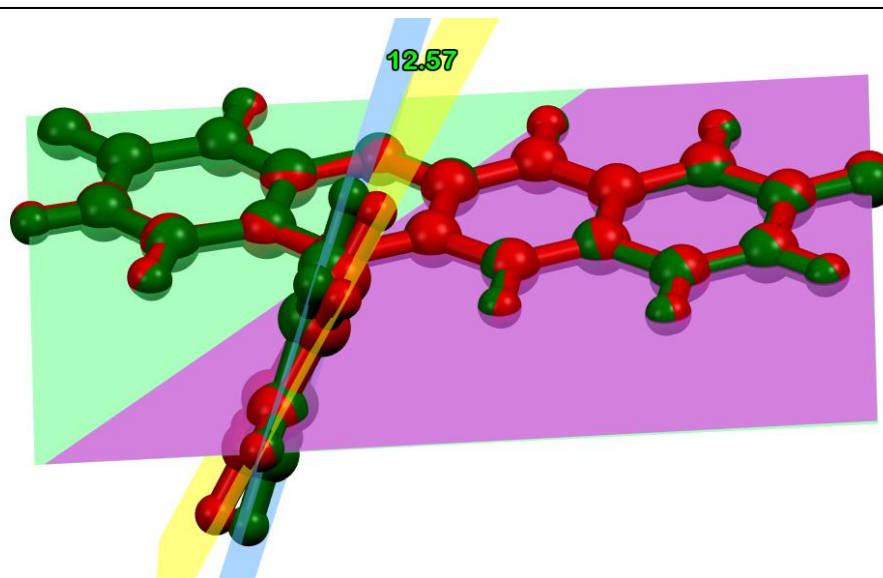


Fig. 3.2. Comparația geometriilor stărilor fundamentale și excitată ale anionului SNAFR6. Calculul de optimizare a geometriilor a fost făcut la nivelul de teorie PCM-B3LYP/6-311+G(d,p) în DMSO.

Cu culoare roșie este reprezentată geometria stării excitate, iar cu verde geometria stării fundamentale a moleculei.

Unghiul dintre planele medii care conțin grupul xantena este de 0.29° .

Un exemplu în acest sens este prezentat în Fig. 3.2 unde sunt prezentate geometriile optimizate ale stării fundamentale și ale stării excitate pentru anionul SNAFR6. Într-adevăr, unghiul diedru definit de scheletele xantena în cele două stări este aproape nul (0.29°), iar diferența dintre unghiurile de rotație ale grupului fenil față de grupul xantena este 12.57° .

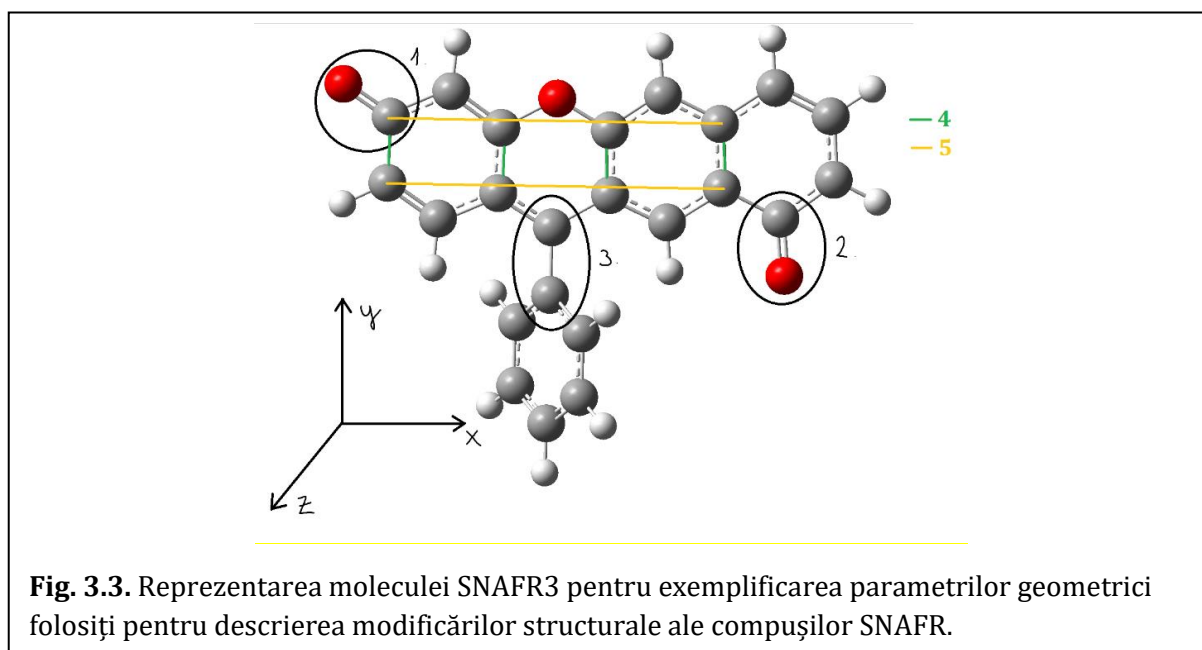
Menționăm că orientarea relativă a grupului fenil poate avea o influență semnificativă asupra parametrilor fotofizici ai derivaților SNAFR, în particular ratele de dezexcitare a moleculelor [Yan08].

3.4 Diferențe dintre geometriile stărilor fundamentale și cele excitate ale formelor neutre și anionilor SNAFR

După cum am văzut, este utilă cunoașterea structurii moleculare a unei substanțe pentru determinarea polarității, culorii, activității biologice și altor proprietăți importante. De aceea am realizat un studiu al parametrilor geometrici ai moleculelor, cu accent pe modificarea lungimii legăturilor în urma trecerii moleculei dintr-o stare electronică în alta. De asemenea, am analizat modificarea parametrilor structurali ai derivaților SNAFR între formele neutre și formele anionice ale acestora.

Pentru discuția acestor modificări au fost folosiți următorii parametri geometrici: legătura dublă de oxigen (1), legătura grupului funcțional de hidroxil atașat grupului xantenă (2) și legătura dintre grupul fenil și grupul xantenă (3). Pentru determinarea modificărilor structurale ale moleculelor în direcția Oy, adică pe direcția transversală a grupului xantenă, am măsurat lungimile legăturilor dintre atomii de carbon, perpendiculare pe direcția considerată (4) și am calculat media acestora. Pentru direcția Ox (longitudinală) am măsurat distanța dintre cei mai îndepărtați atomi de carbon (5), calculând și aici o medie. Parametrii mășurați pentru acest studiu sunt reprezentați în Fig. 3.3.

Aalizând parametrii geometrici indicați am constatat că pentru molecula SNAFR1 există o concordanță între modificările valorilor lungimilor legăturilor dintre atomi între forma anionică a moleculei față de forma neutră ($\Delta d_{NA,GS}$ și $\Delta d_{NA,ES}$), respectiv în urma excitării moleculei din starea fundamentală în prima stare excitată ($\Delta d_{GS,ES}^0$ și $\Delta d_{GS,ES}^-$). Astfel, legătura dublă C=O (1) crește de fiecare dată, legătura dintre grupul de hidroxil și



inelul benzenic descrește (2), iar media lungimilor legăturilor orientate în lungul axei Oy (4) arată că molecula se scurtează pe direcția considerată. Ceilalți doi parametri analizați arată că molecula se alungește pe direcția Ox (5), ceea ce nu se aplică pentru $\Delta d_{NA,ES}$, iar grupul de fenil se apropie de xantenă, cu excepția cazului $\Delta d_{NA,GS}$.

Pentru molecula SNAFR2, lungimile celor două legături CO, respectiv lungimea legăturii dintre grupul fenil și grupul xantenă, (1), (2) și (3) sunt asemănătoare cazului moleculei SNAFR1, în sensul că parametrul (1) crește, (2) scade, iar (3) se mărește doar pentru $\Delta d_{NA,GS}$. Totodată, această derivat al familiei SNAFR se alungește mereu pe direcția Ox (5) și în general și pe Oy (4), excepție fiind $\Delta d_{GS,ES}^o$.

Schimbările parametrilor geometrici (1), (2), (3) și (5) ale lui SNAFR-3 urmează modelul derivatului precedent, iar parametrii de la (4) arată o creștere a lungimilor legăturilor, exceptând $\Delta d_{NA,GS}$.

Valorile lungimilor legăturilor SNAFR4 urmează modelul derivaților precedenți pentru parametrii (1), (2) și (3). Molecula SNAFR4 se alungește pe direcția Ox (5), cu excepția cazului $\Delta d_{NA,ES}$, iar pentru legăturile (4), conform rezultatelor computaționale, rezultă o reducere pentru cazurile $\Delta d_{NA,GS}$ și $\Delta d_{GS,ES}^o$, respectiv o alungire pentru $\Delta d_{NA,ES}$ și $\Delta d_{GS,ES}^-$.

Modificările parametrilor geometrici (1), (2) și (3) sunt similare pentru compusul SNAFR5. Molecula își reduce dimensiunea pe direcția paralelă a structurii xantenei și crește pe direcția verticală, caz contrar fiind în ambele situații $\Delta d_{NA,GS}$.

În ceea ce privește parametrii geometrici (1), (2) și (3), compusul SNAFR6 nu face excepție față de ceilalți derivați SNAFR. Dimensiunea moleculei crește în plan orizontal, dar nu și la $\Delta d_{NA,ES}$, respectiv schimbările geometrice pe plan vertical reprezintă în jumătatea situațiilor o alungire: $\Delta d_{NA,GS}$ și $\Delta d_{NA,ES}$, iar în cealaltă jumătate are loc o descreștere: $\Delta d_{GS,ES}^o$ și $\Delta d_{GS,ES}^-$.

4. Proprietăți fotofizice calculate ale derivaților SNAFR

4.1 Date experimentale fotofizice disponibile în literatura de specialitate

Spectrele experimentale ale derivaților seminaftofluorenici, atât în formă neutră cât și anionică au fost raportate de către grupul lui M. Strongin de la Departamentul de Chimie al Universității din Louisiana.

În Tabelul 4.1 sunt prezentate rezumativ datele experimentale disponibile în literatură [Yan08]. Pentru cazul speciilor neutre sunt prezentate 3 valori, corespunzătoare peak-urilor de structură vibronică a spectrelor de absorbție electronică și de emisie de fluorescență. Valoarea marcată în bold corespunde celui mai intens peak din spectrul de absorbție, respectiv cel de emisie.

Tabelul 4.1 Date fotofizice experimentale pentru derivații SNAFR în formă neutră și anionică, măsurate în soluție de DMSO. Datele sunt preluate din ref. [Yan08].

Derivat SNAFR	Neutru (cel mai intens peak)				Anion (cel mai intens peak)			
	λ_{abs} (nm)	λ_{emi} (nm)	Deplasare Stokes (nm)	Φ (%)	λ_{abs} (nm)	λ_{emi} (nm)	Deplasare Stokes (nm)	Φ (%)
1	478, 506 , 539	583, 616 , 645	110	n.a.	747	768	21	n.a.
2	466, 493 , 527	561 , 601, 646	68	n.a.	614	673	59	n.a.
3*	435, 455 , 490	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4	470, 498 , 532	564, 606 , 646	108	n.a.	680	694	14	n.a.
5	464, 505 , 535	593, 621 , 641	116	n.a.	676	789	113	n.a.
6	440, 462 , 495	543, 581 , 639	119	n.a.	637	725	88	0.09

Datele din Tabelul 4.1 arată că pentru toți derivații SNAFR în stare neutră, atât spectrele de absorbție cât și cele de emisie prezintă structură vibronică. Valoarea λ_{max} din spectrele

de absorbție variază considerabil în intervalul 490 nm pentru SNAFR3 și 539 nm pentru SNAFR1. Dacă se compară cele mai intense peak-uri vibronice ale spectrelor, intervalul de valori pentru maximele din spectrul de absorbție este cuprins între 462 nm pentru SNAFR6 și 506 nm pentru SNAFR1.

Analog, pentru spectrele de emisie, intervalul de valori pentru cea mai mică lungime de undă este 543 nm pentru SNAFR6 și 593 nm pentru SNAFR5, iar în cazul celor mai intense peak-uri vibronice lungimile de undă de emisie sunt cuprinse între 581 nm pentru SNAFR6 și 621 nm pentru SNAFR5.

Cea mai mare valoare pentru deplasarea Stokes este observată pentru SNAFR6, 119 nm, iar cea mai mică pentru SNAFR2, de 68 nm.

Pentru anionii SNAFR spectrele de absorbție și emisie sunt complet diferite față de cele ale formelor neutre. În primul rând, acestea nu mai au structura vibronică rezolvată. În plus, lungimile de undă de absorbție și emisie sunt semnificativ mai mari (energii de tranziție mai mici) decât în cazul formelor neutre. Spre exemplu, pentru SNAFR6 diferența dintre λ_{\max} de absorbție dintre forma anionică și cea neutră este de 175 nm, iar diferența lungimilor de undă de emisie este de 144 nm.

Deplasările Stokes pentru anioni sunt mai mici decât în cazul formelor neutre și se află în intervalul 14 nm, pentru SNAFR4 și 113 nm pentru SNAFR5.

Comparând formele neutre cu cele anionice pentru fiecare dintre derivați, reiese că pentru toți compușii se produce o deplasare spre roșu a lungimilor de undă de absorbție și de emisie. SNAFR1 prezintă cea mai mare deplasare, atât în spectrul de absorbție (241 nm) cât și în spectrul de emisie (152 nm).

Analizând datele fotofizice experimentale din punctul de vedere al emisie de fluorescență la lungimi de undă cât mai mari, este evident faptul că anionul moleculei SNAFR5 prezintă cele mai convenabile valori, acesta putând fi excitat în domeniul vizibil cu un laser cu lungimea de undă în jurul valorii $\lambda = 676$ nm, având emisia în domeniul IRA, la 789 nm. În plus, acest anion prezintă și cea mai mare deplasare Stokes (113 nm).

Deplasarea Stokes este un parametru crucial pentru fluorofori deoarece valori mari ale acestuia conduc la minimizarea efectului de auto-stingere a fluorescenței [Liu13] și de asemenea are un efect important asupra raportului semnal/zgomot în imagistica de fluorescență [Lak06]. O valoare apropiată a deplasării Stokes (116 nm) este observată și pentru forma neutră a SNAFR5.

Conformul datelor din Tabelul 4.1, pentru anionul SNAFR6 este posibilă excitarea cu un laser roșu, emisia acestuia fiind, de asemenea în domeniul IRA, deplasarea Stokes pentru acest cromofor având o valoare rezonabil de mare (88 nm).

Pe de altă parte anionul SNAFR1 prezintă și el absorbție și emisie în domeniul IRA, cu lungimile de undă respective de 747 nm și 768 nm, dar are dezavantajul unei deplasări Stokes de numai 21 nm.

Întrucât măsurătorile datelor fotofizice au fost efectuate pentru toți derivații în DMSO, este evident faptul că diferențele mari între deplasările Stokes ale acestora nu pot fi explicate pe baza interacțiunii fluorofor – solvent și, în consecință, pot fi atribuite doar pozițiilor substituentului grupului OH și modului de anelare a grupului hidroxinaftalenă. Formele neutre ale derivaților SNAFR1 și SNAFR5 pot fi excitate ambele în domeniul VIS cu un laser verde și emit radiație de fluorescență cu lungimea de undă corespunzătoare culorii roșii.

Tabelul 4.2 Date fotofizice experimentale pentru anionii compușilor SNAFR în soluție apoasă preluate din ref. [Yan08].

Derivat SNAFR	λ_{abs} (nm)	λ_{emi} (nm)	Deplasare Stokes (nm)	Φ (%)
1	670	713	43	n.a.
2	542	629	87	n.a.
3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4	630	653	23	n.a.
5	591	757	166	n.a.
6	536	733	197	n.a.

Un alt parametru critic al fluoroforilor este eficiența lor cuantică pentru care sunt necesare valori cât mai mari în scopul a obținerii unui semnal de fluorescență cât mai intens. Din păcate, în ref. [Yan08] acest parametru este dat doar pentru compusul neutru SNAFR6 ($\Phi = 9\%$), iar în literatura de specialitate nu am găsit astfel de date pentru acești compuși. Eficiența cuantică scăzută este datorată rotației inelului fenil, care duce la relaxarea rapidă a stărilor excitate [Ura05].

Interesul pentru molecule cu astfel de proprietăți fotofizice este acela de a fi folosite în imagistica medicală, în particular în imagistica prin fluorescență. Această tehnică este cea mai potrivită la ora actuală pentru urmărirea proceselor dinamice intracelulare în celule vii [Ura05].

Din acest motiv, sunt de interes molecule care să fie solubile în apă și care să manifeste proprietăți corespunzătoare în acest solvent.

Pentru compușii investigați în acest studiu, există date experimentale pentru formele anionice înregistrate și în soluție apoasă și acestea sunt colectate în Tabelul 4.2.

Conform datelor din acest tabel, pentru toți anionii se observă o scădere drastică a lungimii de undă de absorbție în apă, comparativ cu cazul soluției în DMSO. Astfel, scăderea valorii λ_{\max} de absorbție este între 50 nm pentru anionul SNAFR4 și 101 nm pentru anionul SNAFR6. În paralel, se observă și scăderea lungimii de undă de emisie pentru anioni în apă cu valori cuprinse între 32 nm pentru SNAFR5 și -55 nm pentru SNAFR1. Totuși, pentru anionul SNAFR6 se observă o ușoară creștere a lungimii de undă de emisie (cu 8 nm) pentru anionul SNAFR6.

Pe de altă parte, pentru toți anionii se observă o creștere semnificativă a deplasării Stokes la trecerea de la soluția în DMSO la soluția apoasă, cu valori cuprinse între 9 nm pentru SNAFR4 și 109 nm pentru SNAFR6 a cărui valoare crește de la 88 la 197 nm. Astfel, în soluție apoasă, anionul SNAFR6 furnizează cea mai convenabilă lungime de undă de emisie și în același timp, cea mai mare valoare pentru deplasarea Stokes, dintre toți derivații investigați.

4.2 Corelarea datelor fotofizice experimentale cu datele experimentale

În acest studiu, interesul nostru a fost acela de a explica proprietățile fotofizice ale compușilor investigați. Pentru aceasta am folosit metode de calcul a structurii electronice a moleculelor, bazate pe teoria funcționalei de densitate.

În prima fază au fost optimizate geometriile formelor neutre și anionice ale celor 6 derivați SNAFR în soluție de DMSO (vezi Cap.3) și spectrele de vibrație ale moleculelor pentru a caracteriza minimele de pe suprafețele de energie potențială a fiecărei molecule în parte. În general, nivelul de teorie folosit a fost PCM-B3LYP/6-311+G(d,p), unde PCM

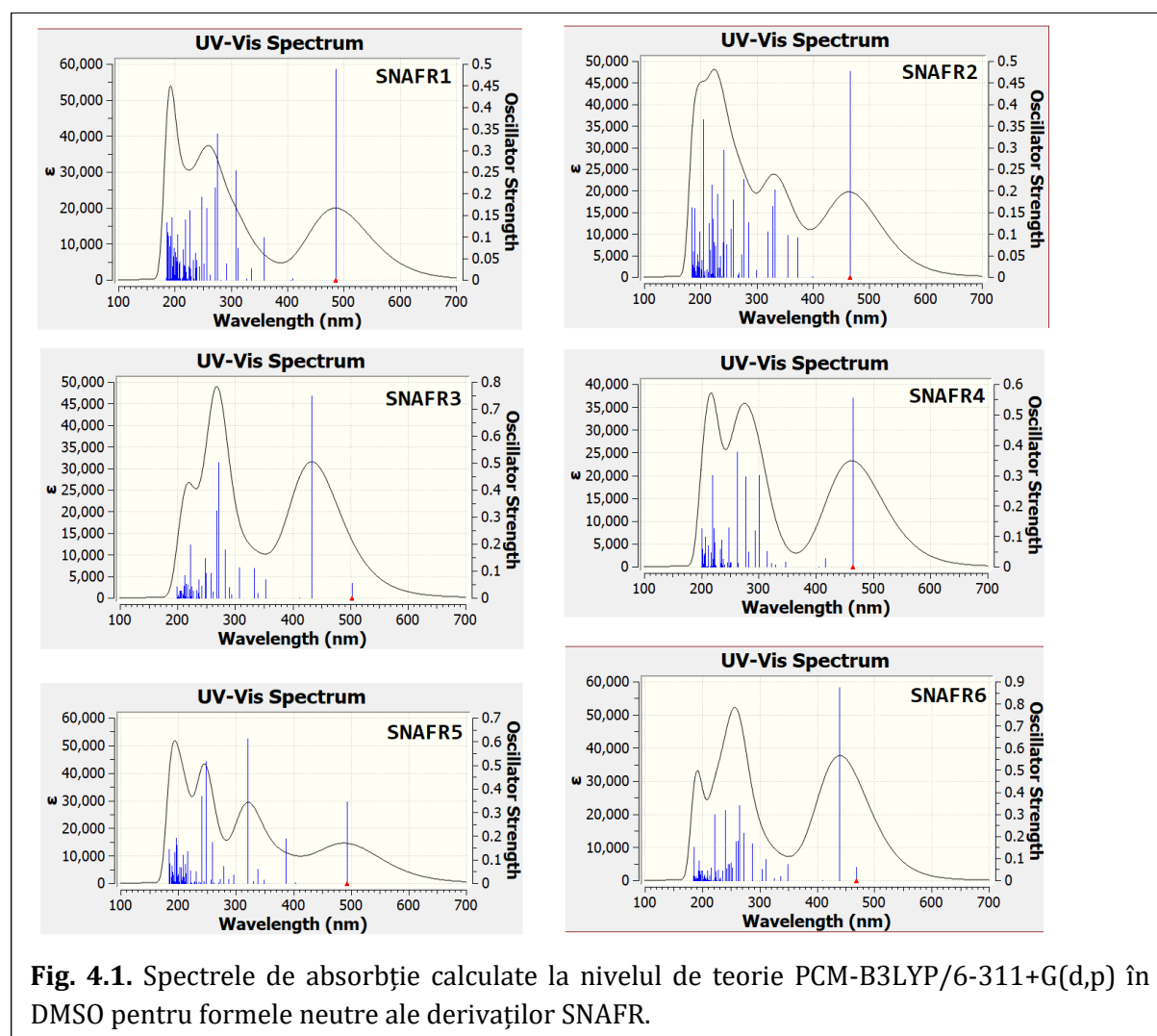


Fig. 4.1. Spectrele de absorbție calculate la nivelul de teorie PCM-B3LYP/6-311+G(d,p) în DMSO pentru formele neutre ale derivaților SNAFR.

Tabelul 4.3 Date fotofizice calculate pentru derivații SNAFR în formă neutră la nivelul de teorie PCM-B3LYP/6-311+G(d,p)

SNAFR	Absorbție		Emisie				Deplasare Stokes
	Verticală λ (nm)	f	Verticală λ (nm)	Adiabatică λ (nm)	0 - 0 λ (nm)	τ_{radiativ} (ns)	λ (nm)
1	486	0.49	593	550	515	7.55	107
2	466	0.48	567	525	491	8.19	101
3	503, 432	0.05, 0.75	615	558	513	54.49	112
4	464	0.56	578	529	491	7.42	114
5	492	0.35	580	547	519	9.93	88
6	468, 438	0.06, 0.87	563	514	476	45.37	95

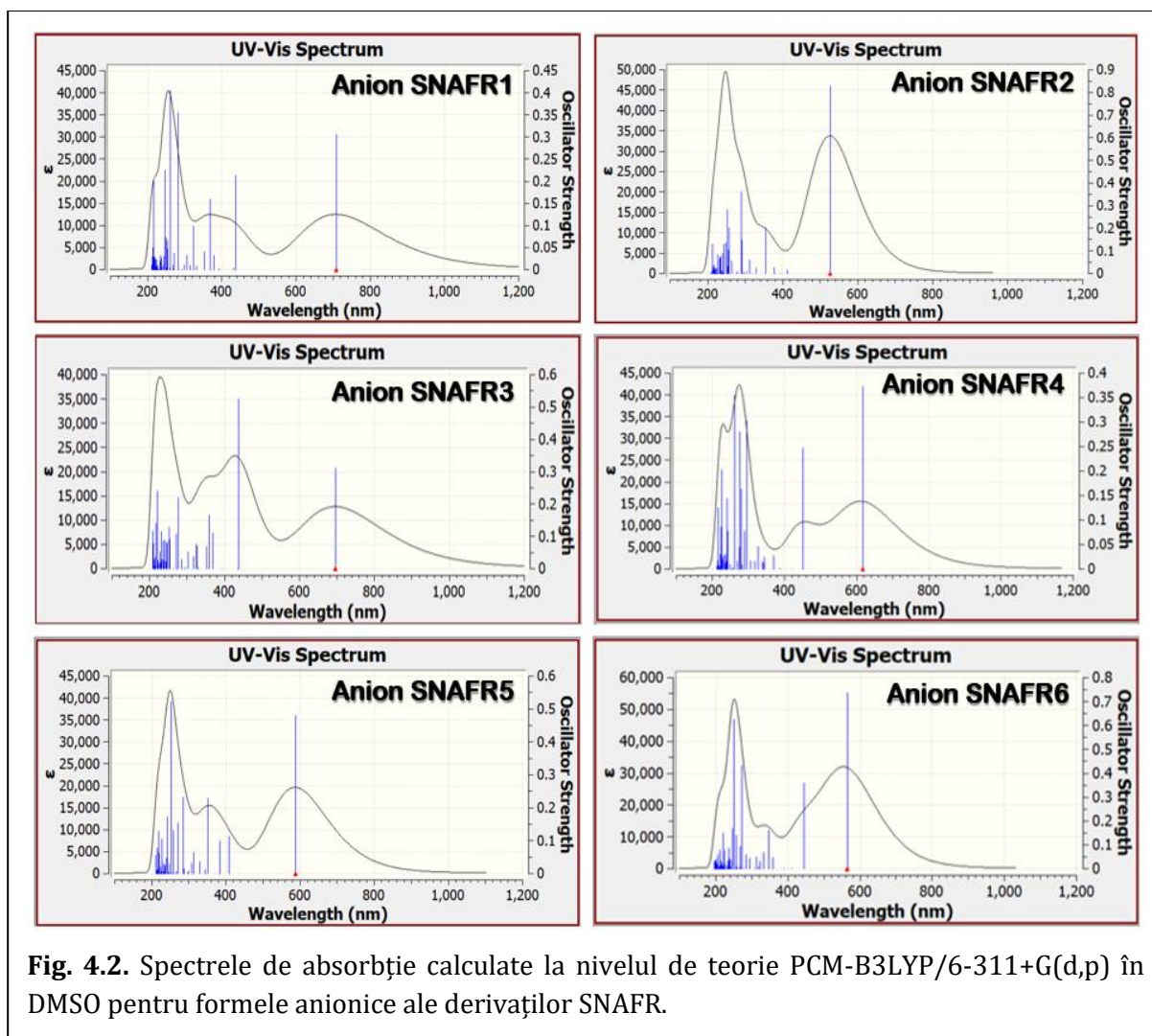


Fig. 4.2. Spectrele de absorbție calculate la nivelul de teorie PCM-B3LYP/6-311+G(d,p) în DMSO pentru formele anionice ale derivaților SNAFR.

Tabelul 4.4 Date fotofizice calculate pentru anionii derivaților SNAFR la nivelul de teorie PCM-B3LYP/6-311+G(d,p)

Anion SNAFR	Absorbție		Emisie				Deplasare Stokes
	Verticală $\lambda(\text{nm})$	f	Verticală $\lambda(\text{nm})$	Adiabatică $\lambda(\text{nm})$	0 – 0 $\lambda(\text{nm})$	τ_{radiativ} (ns)	$\lambda(\text{nm})$
1	708	0.31	946	827	737	48.14	238
2	527	0.82	625	598	574	5.84	98
3	697	0.31	896	810	743	36.64	199
4	617	0.37	819	712	631	34.44	202
5	587	0.48	722	675	635	14.05	135
6	565	0.74	684	646	614	7.98	119

(Polarizable Continuum Model) reprezintă modelul de solvatare folosit în calcule, B3LYP este funcționala de schimb-corelare utilizată, iar 6-311+G(d,p) este setul de bază folosit pentru construcția orbitalilor moleculari.

Pentru calculul proprietăților fotofizice (energii de absorbție și emisie, timpul radiativ de fluorescență) am folosit formalismul Time-dependent DFT (TD-DFT), la același nivel de teorie (PCM-B3LYP/6-311+G(d,p)). Datele calculate pentru formele neutre și cele anionice ale moleculelor în soluție de DMSO sunt prezentate în Tabelele 4.3 și 4.4, iar spectrele de absorbție calculate sunt arătate în Figurile 4.1 și 4.2.

Din analiza datelor reiese că energiile de absorbție verticală pentru formele neutre sunt reproduse într-un interval de erori definit de valorile 0 nm (pentru SNAFR2) și +68 nm pentru SNAFR3. În unele cazuri, diferențele dintre valorile calculate și cele experimentale sunt pozitive (SNAFR1, SNAFR3, SNAFR5 și SNAFR6), iar pentru în altele sunt negative (SNAFR4). Erorile de reproducere a energiilor de excitație sunt în limitele raportate în literatură pentru astfel de valori, fiind recunoscut faptul că funcționalele de schimb-corelare reproduc negativ energiile de excitație (la lungimi de undă mai mari). Mai mult, este demonstrat faptul că pentru compuși similari, funcționala B3LYP este una dintre funcționalele hibride care furnizează un acord foarte bun între datele experimentale și cele calculate [Nar20].

Pentru compușii SNAFR3 și SNAFR6 se observă cea mai mare eroare în reproducerea spectrelor UV-Vis. Conform datelor prezentate în Fig. 4.1, este evident că valoarea intensității oscilatorului corespunzător tranziției $S_0 \rightarrow S_1$ este mică comparativ cu ceilalți derivați. Pentru acești doi compuși este mai probabilă tranziția în a doua stare excitată a moleculei. În particular, dacă se compară valoarea calculată a energiei de excitație cu valoarea corespunzătoare maximului de absorbție, eroarea cu care se reproduce energia de excitație scade pentru compusul SNAFR6 de la +28 nm la -2 nm, iar pentru compusul SNAFR3 aceeași eroare scade de la +68 nm la -23 nm.

Energiile corespunzătoare emisiei de fluorescență sunt, de asemenea, reproduse foarte bine prin calculele DFT. Astfel cea mai mică diferență dintre valorile calculate și cele experimentale este observată pentru compusul SNAFR2 (+6 nm), iar cea mai mare eroare corespunde compusului SNAFR6 (+20 nm).

Diferențele dintre deplasările Stokes calculate și experimentale pentru cei 6 derivați sunt cuprinse între -3 nm pentru SNAFR1 și +34 nm pentru SNAFR2. Valori mari experimentale, de peste 100 nm sunt observate pentru 4 dintre cei 6 derivați și acestea

sugerează o distorsionare semnificativă a geometriei moleculelor în starea excitată față de starea fundamentală.

Un alt parametru fotofizic important este timpul radiativ de fluorescență. Acesta a fost calculat pe baza relației:

$$\tau_r = \frac{3c^3}{4} \frac{1}{\mu_{fi}^2 \Delta E^3} \quad (4.1)$$

unde:

μ_{fi} este momentul de dipol al tranziției din starea excitată în starea fundamentală, iar ΔE este energia verticală de emisie din starea excitată (vezi valoarea marcată cu roșu în Fig. 4.3).

Dacă este cunoscută valoarea timpului de viață de fluorescență al moleculei (τ_{exp}), folosind relația:

$$\Phi = \frac{\tau_{exp}}{\tau_r} \quad (4.2)$$

se poate estima eficiența cuantică a acestuia sau, dacă este cunoscută valoarea Φ atunci se poate estima valoarea τ_{exp} care include și mecanismele neradiative de dezexcitare a moleculei.

În cazul compușilor studiați de noi, se cunoaște eficiența cuantică doar pentru compusul SNAFR6 în stare neutră (9%), ceea ce conduce la un timp de viață de fluorescență pentru acest compus de 4.08 ns.

Menționăm că nu am găsit în literatura de specialitate date referitoare la timpii radiativi sau timpii totali de fluorescență pentru acești compuși.

După cum se observă în Tabelul 4.3, timpii radiativi calculați pentru derivații

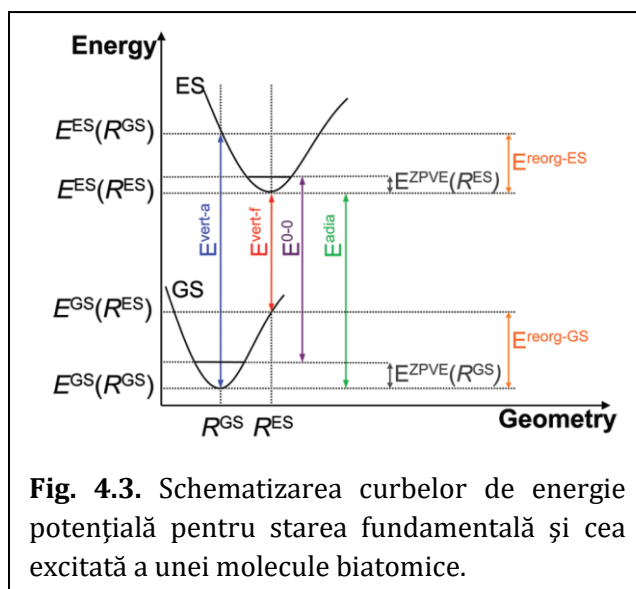


Fig. 4.3. Schematizarea curbelor de energie potențială pentru starea fundamentală și cea excitată a unei molecule biatomice.

SNAFR neutri sunt de ordinul nanosecundelor, cu excepția compușilor SNAFR3 și SNAFR6, ale căror valori sunt aproximativ cu un ordin de mărire mai mari decât pentru ceilalți. Cel mai probabil, acest lucru este datorat absorbției scăzute a acestor doi compuși la excitarea din starea fundamentală în starea excitată. Acest lucru va fi investigat în studii viitoare.

Pentru anionii SNAFR în soluție de DMSO, după cum rezultă din spectrele calculate prezentate în Fig. 4.2, toate tranzițiile de excitare sunt de tipul $S_0 \rightarrow S_1$.

Lungimile de undă de excitare electronică sunt estimate prin calcul TD-DFT în intervalul 527 nm (pentru SNAFR2) și 708 nm (pentru SNAFR1), cu diferențe între valorile calculate și cele experimentale între -35 nm pentru SNAFR1 și -89 nm pentru SNAFR5.

Tranziții mai puțin intense, cu $f = 0.3 - 0.4$, sunt prezise pentru anionii SNAFR 1, 3 și 4, cea mai intensă tranziție fiind estimată pentru anionul SNAFR6, cu $f = 0.74$.

Pe de altă parte, lungimile de undă de emisie (verticală) ale anionilor SNAFR sunt prezise într-un interval larg de valori, cu minimum la 625 nm pentru anionul SNAFR2 și maximum la 946 nm pentru anionul SNAFR1. Erorile cu care sunt estimate aceste lungimi de undă se încadrează între -41 nm pentru SNAFR6 și +178 nm pentru SNAFR1.

Erori semnificative în reproducerea deplasărilor Stokes sunt observate pentru SNAFR1 și SNAFR4 (+207, respectiv +188 nm), în timp ce pentru ceilalți anioni diferențele dintre valorile calculate și cele experimentale sunt de ordinul zecilor de nm, conform datelor din Tabelul 4.3.

Deplasarea batocromică a emisiei anionilor poate fi explicată pe baza stabilizării mai accentuate a stării excitate a anionilor comparativ cu stabilizarea stării fundamentale. Spre exemplu, diferența dintre energiile stărilor fundamentale ale formei neutre și anionice a derivatului SNAFR6 este de 12.68 eV, iar diferența dintre energiile stărilor excitate este de 12.19 eV. Diferența acestei diferențe este de 0.59 eV, valori similare fiind obținute și pentru ceilalți derivați SNAFR, în intervalul 0.29 eV pentru SNAFR5 și 0.75 eV pentru SNAFR1.

Timpii radiativi de fluorescență calculați pentru anioni sunt de ordinul zecilor de nanosecunde pentru anionii SNAFR 1, 3, 4 și 5, în timp ce pentru anionii SNAFR2 și SNAFR6 valorile acestora sunt de 5.84, respectiv 7.98 ns. Aceste două valori reflectă situația observată în cazul timpilor radiativi pentru derivații neutri și, cel mai probabil, situația poate fi pusă pe seama lungimilor de undă de absorbție și emisie pentru cei doi anioni semnificativ mai mici decât în cazul celorlalți.

4.3 Interpretarea tranzițiilor electronice

În subcapitolul 4.2 au fost discutați parametrii fotofizici ai derivaților SNAFR pe baza valorilor măsurate pentru lungimile de undă de excitație și emisie și a timpilor

radiativi de fluorescență. O altă informație utilă pentru caracterizarea tranzițiilor de excitare electronică este tipul acestora. Informația aferentă poate fi dedusă în analiza orbitalilor moleculari de frontieră, în principal orbitalii HOMO și LUMO, sau pe baza diferenței dintre densitatea electronică a moleculelor în starea excitată și în starea fundamentală. Pentru o descriere cu cât mai mare acuratețe a tipului tranzițiilor, în studiul de față au fost folosite ambele metode.

Cum tranzițiile electronice pentru toți derivații, atât în formă neutră cât și anionică sunt de tipul $S_0 \rightarrow S_1$ pentru discutarea tipului tranzițiilor pe baza orbitalilor moleculari am luat în considerare numai orbitalii HOMO și LUMO, care sunt reprezentați în Fig. 4.4.

Pentru ambele forme ale derivaților se observă că orbitalii HOMO sunt de tip π , extinși peste cadrul principal al moleculei, cadru care constă din grupul xantenic și inelul suplimentar anelat acestuia. În plus, nu se observă nici un fel de contribuție la acest orbital din partea orbitalilor atomici centrați pe atomii inelului fenil.

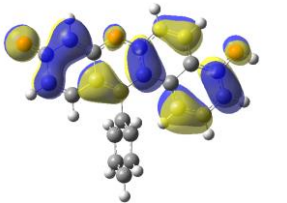
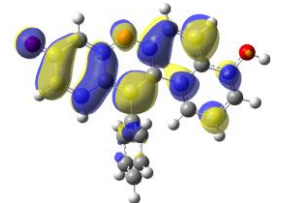
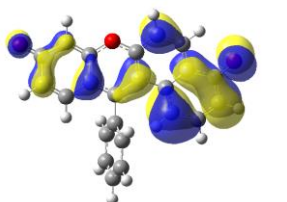
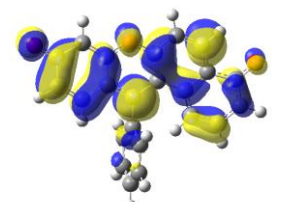
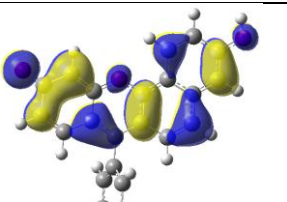
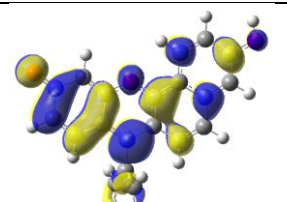
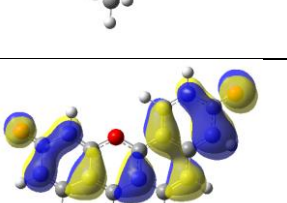
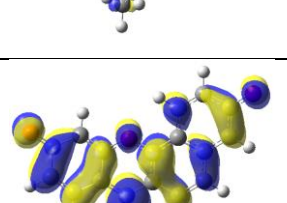
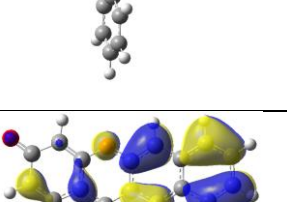
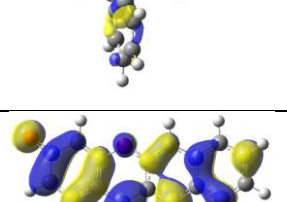
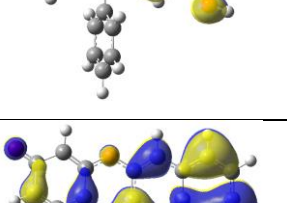
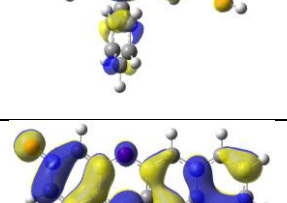
Pentru orbitalul HOMO al SNAFR3 neutru și anionic se observă o contribuție mică de la orbitalii atomici ai inelului din extrema stângă a xantenei.

Pe de altă parte, pentru orbitalii HOMO ai formelor anionice se observă o contribuție aproape nulă de la atomul de O din inelul central al grupului xantenă.

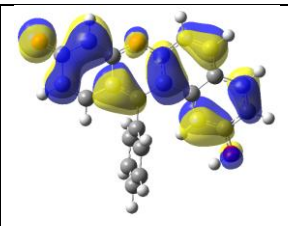
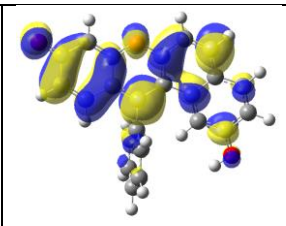
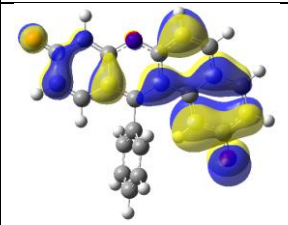
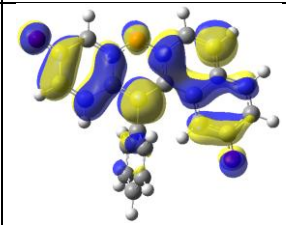
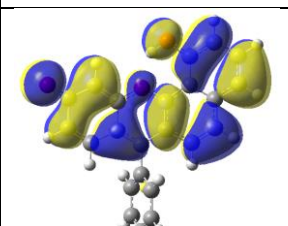
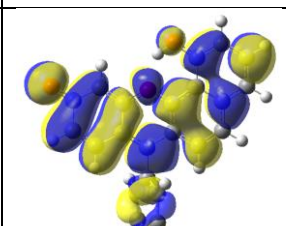
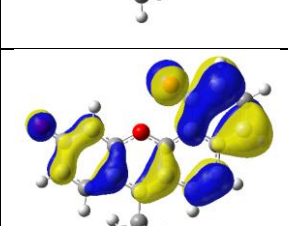
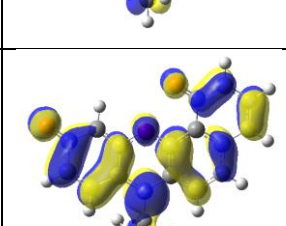
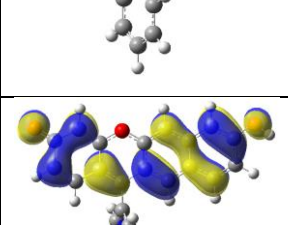
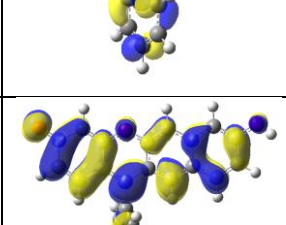
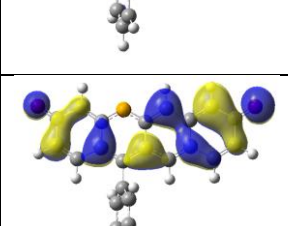
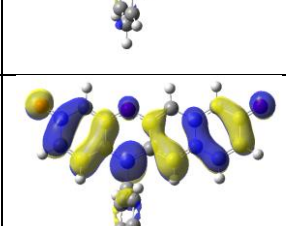
În ce privește orbitalii LUMO, o caracteristică evidentă a acestora este contribuția orbitalilor atomici centrați pe grupul fenil. Conform orbitalilor prezentați în Fig. 4.4, pentru compusul SNAFR5, indiferent dacă este în formă neutră sau anionică, se observă cea mai mare contribuție de la grupul fenil. Concomitent cu delocalizarea orbitalului LUMO peste grupul fenil, pentru toți derivații, indiferent de forma lor (neutră sau anionică), se mai observă o reducere a contribuției de la grupul anelat cadrului xantenic, ceea ce sugerează scăderea densității electronice a moleculei în starea excitată în zona grupului anelat.

Acest efect este mult mai ușor observat în Fig. 4.5 unde sunt reprezentate diferențele dintre densitatea electronică corespunzătoare stării excitate și densitatea electronică corespunzătoare stării fundamentale. În această figură sunt reprezentate diferențele menționate pe sus pe o izosuprafață de densitate electronică a moleculei în stare fundamentală, iar zonele roșii indică o lipsă reducere a densității electronice, în timp ce zonele albastre indică un surplus de densitate electronică în starea excitată a moleculelor comparativ cu starea fundamentală.

Fig. 4.4 Reprezentarea orbitalilor moleculari de frontieră HOMO și LUMO pentru derivații SNAFR în formă neutră și anionică, calculate la nivelul de teorie PCM(DMSO)-B3LYP/6-311+G(d,p)

	HOMO	LUMO
SNAFR1 Netru		
SNAFR1 Anion		
SNAFR2 Netru		
SNAFR2 Anion		
SNAFR3 Netru		
SNAFR3 Anion		

În Fig. 4.6 au fost reprezentate potențialele electrostatice moleculare (MEP) pentru toți derivații SNAFR în formă neutră și anionică. Pentru maparea MEP am folosit o izosuprafață de densitate electronică cu valoarea densității de $4 \cdot 10^{-4}$ a.u.

SNAFR4 Neutru		
SNAFR4 Anion		
SNAFR5 Neutru		
SNAFR5 Anion		
SNAFR6 Neutru		
SNAFR6 Anion		

Astfel de suprafețe sunt utile pentru analiza reactivității moleculelor cu reactanți cu sarcină electrică pozitivă sau negativă, întrucât regiunile negative ale MEP sunt susceptibile la atacul electrofil, iar cele pozitive la atac nucleofil.

După cum se observă în Fig. 4.6, zona susceptibilă pentru atac electrofil în cazul formelor neutre este grupul carbonil atașat fragmentului xantena, iar zona de atac nucleofil este asociată grupului fenil și inelului anelat xantenei.

În cazul anionilor, întregul cadru xantenic este susceptibil la atac electrofil, în particular pentru anionii SNAFR 2, 5 și 6. În cazul celorlalți trei anioni, probabilitatea mai mare de atac electrofil este asociată celor două grupuri carbonil.

Fig. 4.5 Diferențele dintre densitățile electronice din starea excitată și cea fundamentală pentru derivații SNAFR în formă neutră și anionică, calculate la nivelul de teorie PCM(DMSO)-B3LYP/6-311+G(d,p)

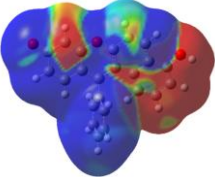
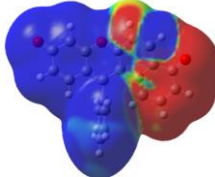
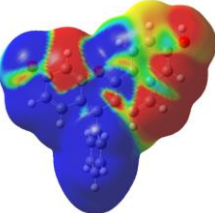
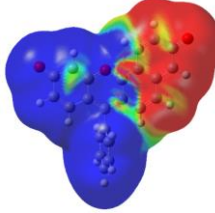
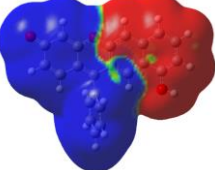
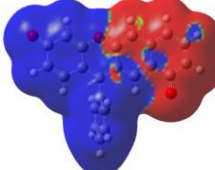
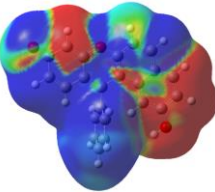
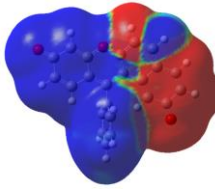
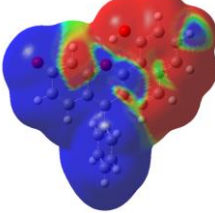
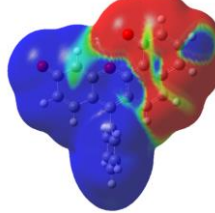
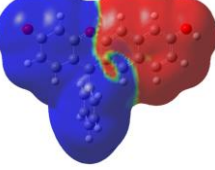
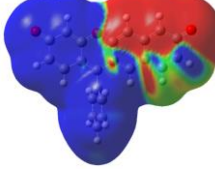
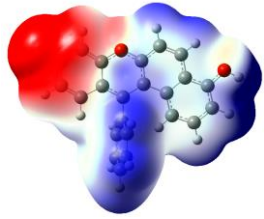
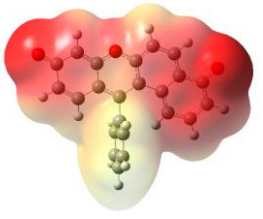
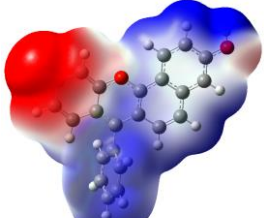
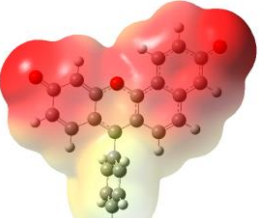
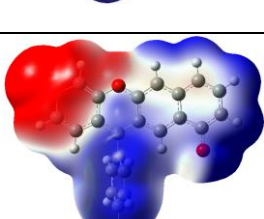
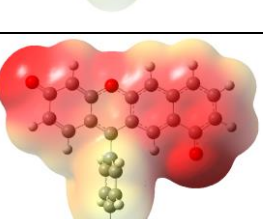
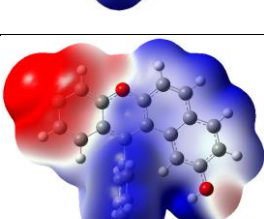
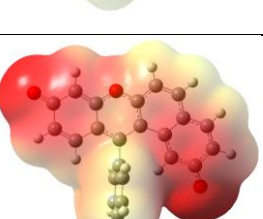
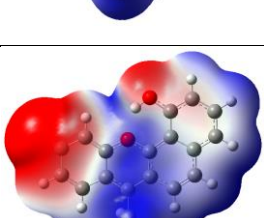
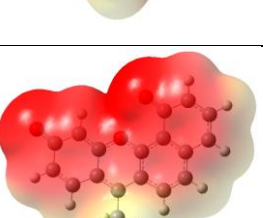
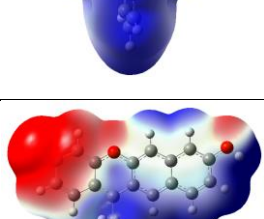
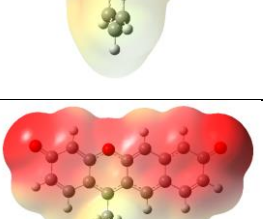
	Forma neutră	Forma anionică
SNAFR1		
SNAFR2		
SNAFR3		
SNAFR4		
SNAFR5		
SNAFR6		

Fig.4.6. Reprezentarea potențialelor electrostatice moleculare pentru derivații SNAFR în formă neutră și anionică, calculate la nivelul de teorie PCM(DMSO)-B3LYP/6-311+G(d,p)

	Forma neutră Valoarea isodensității = $4 \cdot 10^{-4}$ a.u.	Forma anionică Valoarea isodensității = $4 \cdot 10^{-4}$ a.u.
SNAFR1		
SNAFR2		
SNAFR3		
SNAFR4		
SNAFR5		
SNAFR6		

4.4 Structura vibronică a spectrelor de absorbție și emisie

În subcapitolul precedent au fost prezentate și discutate spectrele electronice de absorbție ale derivaților SNAFR obținute prin calculul energiilor de excitare verticale, calculul fiind făcut pe baza geometriei moleculare corespunzătoare stării fundamentale a moleculei, în așa-numita "aproximație verticală". Această aproximație este folosită preponderent în studii referitoare la proprietățile pigmentilor deoarece nu este necesară optimizarea geometriei stării excitate a moleculelor și nici calcule de frecvențe pentru starea excitată. Totuși, această aproximație nu ia în considerare efectele dinamice vibraționale care pot influența semnificativ forma spectrelor de absorbție electronică și de emisie de fluorescență.

Pe de altă parte, calculul structurii vibronice a spectrelor electronice implică evaluarea intensității tranzițiilor electronice între diferite stări vibraționale din stări electronice diferite [Blo08, Bar14, Lau14, Jac15] și care se bazează pe aproximațiile Franck-Condon și Herzberg-Teller. Principiile teoretice ale aproximațiilor FC și HT au fost descrise în capitolul 1.

În acest subcapitol vom prezenta rezultatele obținute pe baza aproximației FC/HT pentru spectrele de absorbție și emisie ale compusului SNAFR6. Înaintea analizei spectrelor vibronice vom discuta rezultatele din Tabelul 4.4, unde sunt prezentate momentele de dipol electric și pătratele momentului de dipol al tranziției (intensitățile tranzițiilor) ale stărilor fundamentale și excitate ale derivaților SNAFR neutri și anionici. Pentru roate formele neutre ale SNAFR se observă o creștere a momentului de dipol electric la trecerea din starea fundamentală în starea excitată, cu valori în jurul a 1-2 Debye, cea mai mare diferență fiind asociată formei neutre SNAFR4. Aceeași tendință se manifestă și în cazul anionilor SNAFR, cu diferențe, totuși mai mici între cele două stări. Din nou, pentru anionul SNAFR4 se observă cea mai mare creștere a momentului de dipol electric ca urmare a excitării moleculei. Pentru anionii SNAFR3 și SNAFR4 sunt evidente valorile mult mai mici ale momentelor de dipol în ambele stări, această sugerând o polaritate mai scăzută a acestora, atât în stare fundamentală cât și excitată.

Intensitățile tranzițiilor, determinate de pătratul momentului de dipol al tranziției, sunt prezise în general mai mici pentru formele neutre decât pentru cele anionice, excepție făcând derivații SNAFR1 și SNAFR4 pentru care se observă o scădere a valorii MDT^2 de cca 5 a.u. la trecerea de la forma neutră la cea anionică.

Tabelul 4.4. Momentele de dipol electric și pătratele momentelor de dipol ale tranzițiilor în prima stare excitată pentru formale neutre și anionice ale derivaților SNAFR în stare fundamentală și în stare excitată

SNAFR	$\mu(\text{GS})$ (D)	$\mu(\text{ES})$ (D)	MDT ² OS1(a.u.)	f OS1
1n	15.61	17.60	13.61	0.70
1a	11.97	12.11	8.68	0.28
2n	11.77	13.64	10.98	0.59
2a	19.33	20.25	20.58	1.00
3n	14.78	16.05	2.11	0.10
3a	5.21	6.57	9.69	0.33
4n	13.07	15.36	12.85	0.68
4a	2.51	5.21	7.89	0.29
5n	12.82	13.93	9.68	0.51
5a	21.05	21.83	13.21	0.56
6n	15.73	16.93	1.94	0.10
6a	17.06	18.20	19.83	0.88

a.u. – unități atomice; D - Debye

În figurile 4.7 și 4.8 sunt prezentate spectrele de absorbție UV-Vis și de emisie ale compusului SNAFR6 în formă neutră, înregistrate în soluție de DMSO. Diferența, în cm^{-1} , dintre peak-urile observate în spectrul de absorbție (495 și 462 nm) este de 1443 cm^{-1} , adică de ordinul energiilor de excitare a modurilor normale de vibrație ale moleculei. La fel, cele două diferențe observate între peak-urile din spectrul de emisie sunt de 1204 și 1562 cm^{-1} , adică de ordinul numerelor de undă corespunzătoare excitării modurilor

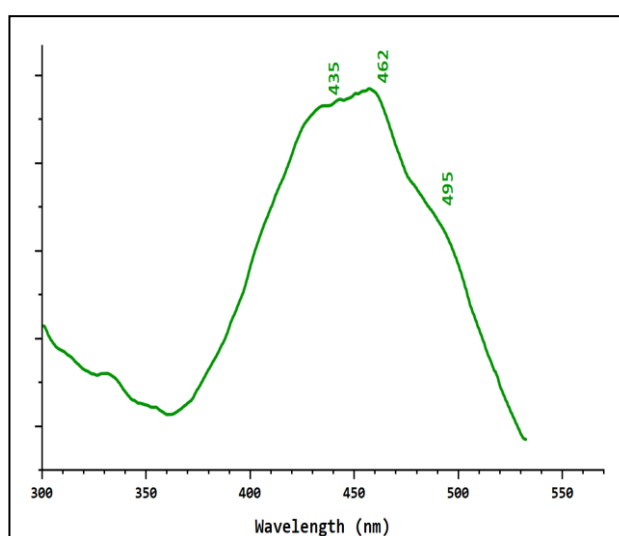


Fig. 4.7 Spectrul de absorbție UV-Vis al SNAFR6 neutru în soluție de DMSO (figură digitalizată și adaptată din ref. [Yan08])

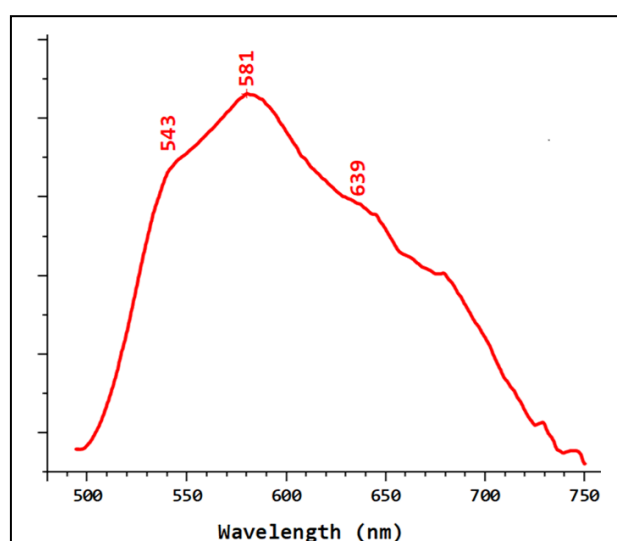
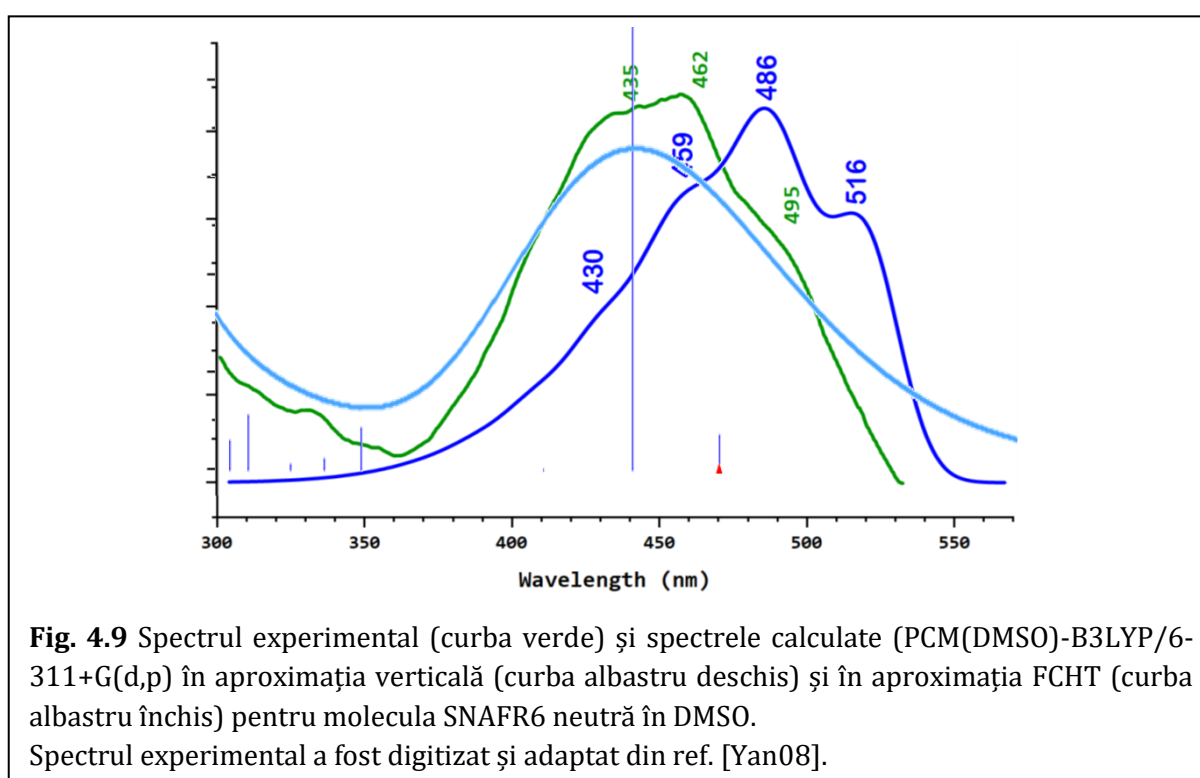


Fig. 4.8 Spectrul de emisie de fluorescență al SNAFR6 neutru în soluție de DMSO (figură digitalizată și adaptată din ref. [Yan08])

normale de vibrație ale moleculei. În consecință, peak-urile din spectrul de absorbție nu sunt atribuite tranzițiilor din starea fundamentală în diferite stări excitate ci tranzițiilor vibronice, adică tranzițiilor din starea electronică fundamentală și nivelul cu numărul cuantic de vibrație $v = 0$ în prima stare excitată, pe diferite niveluri vibraționale. În mod identic, peakurile observate în spectrul de emisie sunt atribuite tranzițiilor din starea excitată pe diferite niveluri vibraționale în starea fundamentală.

În Fig. 4.9 sunt prezentate spectrele (în aproximația verticală și în aproximația FCHT) calculate la nivelul de teorie PCM(DMSO)-B3LYP/6-311+G(d,p) pentru SNAFR6 neutru în comparație cu spectrul experimental.



Peak-ul calculat în aproximația verticală centrat la 438 nm corespunde de fapt tranziției din starea fundamentală a moleculei în a doua stare excitată, iar peak-ul corespunzător tranziției în prima stare excitată este cel de la 468 nm. Este evident că această aproximație nu reproduce forma corectă a spectrului observat experimental.

Pe de altă parte, spectrul calculat în aproximația FCHT reproduce toate detaliile spectrului experimental. Astfel, peak-urile vibronice calculate la 516, 486 și 459 nm corespund valorilor experimentale observate la 495, 462, respectiv 435 nm. Diferențele dintre valorile calculate și cele experimentale sunt în domeniul 20 – 25 nm, obținându-se un acord foarte bun între rezultatele teoretice și cele experimentale.

Spectrul de emisie al moleculei este reprezentat în Fig. 4.10. Și în acest caz se observă că spectrul calculat în aproximația verticală, cu maximum la 563 nm diferă calitativ de spectrul experimental. Pe de altă parte spectrele calculate în aproximația FCHT reproduc toate detaliile spectrului experimental, adică forma spectrului experimental dar și pozițiile peak-urilor. Concret, peakurile vibronice calculate au pozițiile la 545, 587 și 640 nm, în acord cantitativ cu cele experimentale observate la 543, 581, respectiv 639 nm.

Rezultatele prezentate în acest subcapitol arată în mod clar necesitatea calculului structurii vibronice de absorbție și emisie pentru interpretarea corectă a spectrelor electronice.

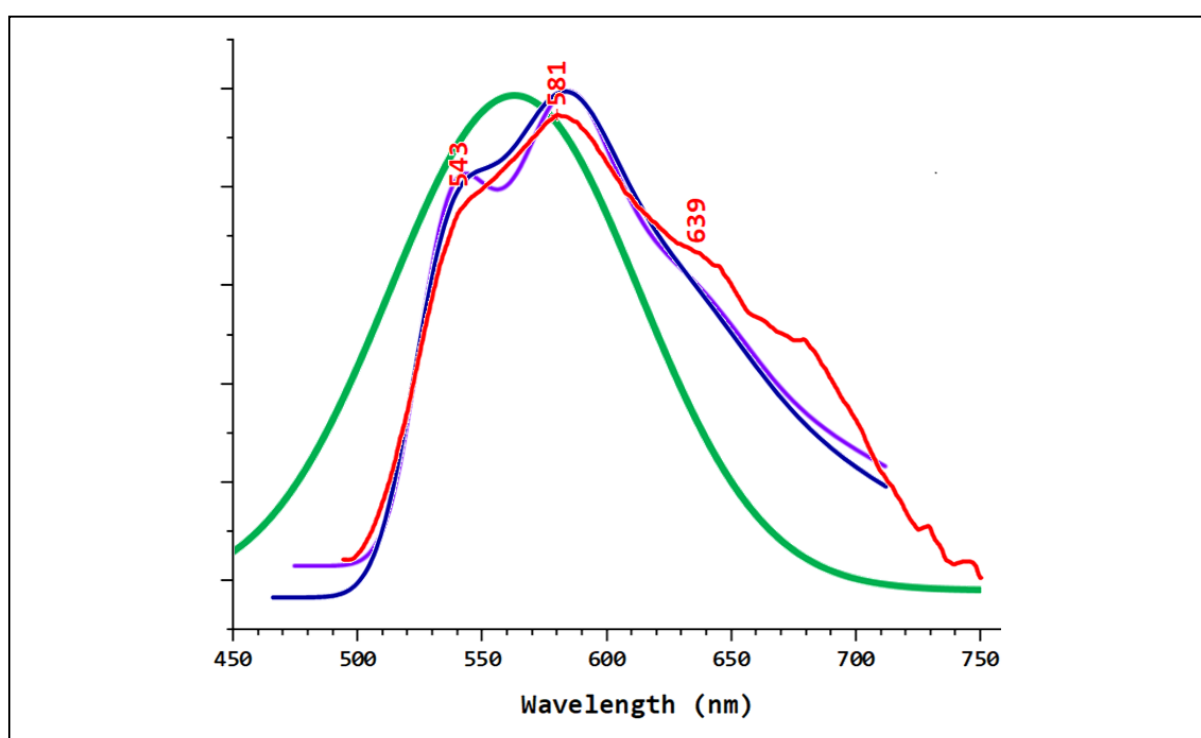


Fig. 4.10 Spectrul de emisie experimental și spectrele corespunzătoare calculate (PCM(DMSO)-B3LYP/6-311+G(d,p) în aproximația verticală (curba verde) și în aproximația FCHT (curbele indigo și albastru) pentru molecula SNAFR6 neutră în DMSO.

Curba roșie - spectrul de emisie de fluorescență al SNAFR6 neutru în soluție de DMSO (figură digitalizată și adaptată din ref. [Yan08])

Curba verde - spectrul de emisie calculat TD-DFT pe baza aproximației verticale (convoluție Gaussian cu HWHM = 500 cm^{-1})

Curba indigo - spectrul vibronic calculat pe baza aproximației FCHT (convoluție Gaussian cu HWHM = 500 cm^{-1})

Curba albastră - spectrul vibronic calculat pe baza aproximației FCHT (convoluție Gaussian cu HWHM = 600 cm^{-1})

Concluzii

Scopul studiului prezentat în această lucrare a constat în explicarea proprietăților fotofizice ale unei serii de șase derivați seminaftofluorenici, atât în formă neutră cât și în formă anionică.

Pentru atingerea obiectivelor studiului propus am folosit date experimentale găsite în literatura de specialitate, date care au fost explicate pe baza rezultatelor computaționale efectuate pe baza teoriei funcționalei de densitate. Nivelul de teorie folosit în general în acest studiu a fost PCM(DMSO)-B3LYP/6-311+G(d,p), în formalismul DFT și TD-DFT. Pentru calculul structurii vibronice a spectrelor de absorbție și emisie am folosit atât aproximația verticală cât și aproximațiile Franck-Condon și Herzberg-Teller (FCHT).

Principalele concluzii ale studiului de față sunt:

1. Geometriile moleculelor în stare fundamentală sunt reproduse cu acuratețe ridicată, determinându-se o eroare definită de parametru RMSD de numai 0.291 Å pentru compusul SNAFR2, respectiv de 0.143 Å pentru SNAFR3, compuși pentru care există date experimentale în literatura de specialitate.

Valoarea RMSD mai mare pentru derivatul SNAFR2 se datorează deviației mai mari în afara planului a inelului adăugat grupului xantenă în structura experimentală față de cea calculată.

2. Orientarea relativă a grupului fenil față de grupul xantenă este reprodusă cu erori de sub 10°.

Modificarea datorată excitării a acestui unghi diedru este mai accentuată pentru formele anionice (cca -12° - 29°) decât pentru cele neutre (cca. -13 - 10°).

3. În urma excitării electronice a formelor neutre, lungimea legăturii grupului carbonil (C=O) crește și moleculele se alungesc după axa longitudinală a grupului xantenă.
4. Valorile lungimilor de undă corespunzătoare tranzițiilor de absorbție și emisie sunt reproduse cu suficientă acuratețe numai dacă se folosește aproximația FCHT pentru calculul spectrelor.

-
5. Trecerea de la forma neutră la cea anionică a moleculelor investigate conduce la modificări substanțiale a parametrilor fotofizici, în particular a energiilor corespunzătoare tranzițiilor de absorbție și de emisie.
 6. Tranzițiilor electronice pentru toți derivații și pentru ambele forme sunt de tip $\pi - \pi^*$, acest lucru fiind demonstrat prin analiza orbitalilor moleculari de frontieră și prin analiza diferenței densităților electronice dintre starea fundamentală și cea excitată.
 7. Pentru toți derivații se produce un surplus de densitate electronică pe inelul grupului xantenic care are atașat un grup carbonil și pe inelul fenil atașat xantenei, ca urmare a tranziției din starea fundamentală în starea excitată.
 8. Structura vibronică a spectrelor de absorbție și emisie poate fi reprodusă cu acuratețe suficientă, iar calculele bazate pe aproximațiile Franck-Condon și Herzberg-Teller (FCHT) sunt absolut necesare pentru explicarea poziției benzilor și formei generale a spectrelor electronice.
 9. Deplasare batocromică în cazul emisie anionilor moleculei este datorată stabilizării mai accentuate a stării excitate a anionilor comparativ cu stabilizarea stării lor fundamentale.
 10. Am stabilit o metodologie de calcul a parametrilor fotofizici, metodologie care va permite studiul unor derivați ai moleculelor investigate, derivați care să fie proiectați în scopul obținerii unor lungimi de undă de emisie cât mai mari, astfel încât să fie potriviți pentru imagistică de fluorescență.

Bibliografie

- [Aus12] A. Austin, G. Petersson, M. J. Frisch, F. J. Dobek, G. Scalmani, and K. Throssell, A density functional with spherical atom dispersion terms, *J. Chem. Theory and Comput.* 8 (2012) 4989. DOI: <https://doi.org/10.1021/ct300778e>
- [Bar10] V. Barone, J. Bloino, M. Biczysko, Vibrationally-resolved electronic spectra in Gaussian 09, https://smart.sns.it/pdf/vibronic_spectra_G09-A02.pdf (accesat: 12.12.2021)
- [Bec93] A.D. Becke, *J. Chem. Phys.* 98 (1993) 5648-5652.
- [Ben19] Isaac Benkyi, Enrico Tapavicza, Heike Fliegl, Dage Sundholm, Calculation of vibrationally resolved absorption spectra of acenes and pyrene, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 21 (2019) 21094-21103. DOI: <https://doi.org/0.1039/c9cp04178h>
- [Bic11] M. Biczysko, J. Bloino, F. Santoro, V. Barone, Chapter 8 - Time-independent approaches to simulate electronic spectra lineshapes: from small molecules to macrosystems, in *Computational Strategies for Spectroscopy: From Small Molecules to Nano Systems* (Editor V. Barone), John Wiley & Sons, Inc., 2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781118008720.ch8>
- [Blo08] Julien Bloino, Development and Application of time dependent and time independent models for the study of spectroscopic properties in compounds of biological interest, PhD Thesis, Università degli studi di Napoli Federico II, 2008.
- [Cas12] M.E. Casida and M. Huix-Rotllant, Progress in Time-Dependent Density-Functional Theory, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 63 (2012) 287-323, DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-physchem-032511-143803>
- [CCL22] ccl.net/cca/archived-messages/18/11/15, accesat 23.01.2022).
- [Cho94] M.F. Choi, P. Hawkins, Solvatochromic studies of fluorescein dianion in N,N-dimethylformamide/water and dimethylsulphoxide/water mixtures, *Spectrosc. Lett.* 27 (1994) 1049-1063. DOI: <https://doi.org/10.1080/00387019408006653>
- [Cio07] I. Ciofini, C. Adamo, Accurate Evaluation of Valence and Low-Lying Rydberg States with Standard Time-Dependent Density Functional Theory, *J. Phys. Chem. A*, 111 (2007) 5549. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp0722152>
- [Con28] E.U. Condon, Nuclear Motions Associated with Electron Transitions in Diatomic Molecules, *Phys. Rev.* 32 (1928) 858. DOI: <https://doi.org/10.1103/PhysRev.32.858>
- [Dir27] P.A.M. Dirac, The Quantum Theory of Emission and Absorption of Radiation, *Proceedings of the Royal Society A*, 114 (1927) 243-265.
- [Dre05] A. Dreuw, M. Head-Gordon, Single-Reference ab Initio Methods for the Calculation of Excited States of Large Molecules, *Chem. Rev.*, 105 (2005) 4009-4037. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr0505627>
- [Esc17] D. Escudero, A. D. Laurent, D. Jacquemin, Time-Dependent Density Functional Theory: A Tool to Explore Excited States, in *Handbook of Computational Chemistry*, (J. Leszczynski et al. (eds.)), Springer International Publishing Switzerland, 2017. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-27282-5_43
- [Fab92] J. Fabian, H. Nakazumi, M. Matsuoka, Near-infrared absorbing dyes, *Chem. Rev.* 92 (1992) 1197-1226. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr00014a003>
-

[Fab96] W.M.F. Fabian, S. Schuppler, O.S. Wolfbeis, Effects of annulation on absorption and fluorescence characteristics of fluorescein derivatives: A computational Study, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 5 (1996) 853–856. DOI: <https://doi.org/10.1039/P29960000853>

[Fer50] E. Fermi, *Nuclear Physics*, University of Chicago Press, 1950.

[For15] J.B. Foresman, A. Frisch, *Exploring Chemistry With Electronic Structure Methods*, 3rd edition, Gaussian Inc, Wallingford, CT USA, 2015

[For19] M. Fortino, J. Bloino, E. Collini, L. Bolzonello, M. Trapani, F. Faglioni, A. Pedone, On the simulation of vibrationally resolved electronic spectra of medium-size molecules: the case of styryl substituted BODIPYs, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 21 (2019) 3512–3526. DOI: <https://doi.org/10.1039/c8cp02845a>

[Fra26] J. Franck, *Transactions of the Faraday Society* 21, 536 (1926).

[Gau16] Gaussian 16, Revision C.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.

[Gau16a] <https://gaussian.com/freq/> (accessed 20.01.2022)

[Kas50] M. Kasha, Characterization of electronic transitions in complex molecules, *Discuss. Faraday Soc.*, 9 (1950) 14–19. DOI: <https://doi.org/10.1039/DF9500900014>

[Ham17] P. Hammershøj, E. Thyraug, P. Harris, P. K. Ek, T. L. Andresen, M. H. Clausen, Convenient one-step synthesis of 5-carboxy-seminaphthofluoresceins, *Tetrahedron Lett.*, 58 (2017) 1611–1615. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.03.028>

[Her33] G. Herzberg, E. Teller, Fluctuation Structure of Electron Transfer in Multiatomic Molecules, *Zeitschrift Für Physikalische Chemie-Abteilung B - Chemie Der Elementarprozesse Aufbau Der Materie*, 21 (1933) 410–446.

[Jac15] D. Jacquemin, C. Adamo, Computational Molecular Electronic, Spectroscopy with TD-DFT, in *Top. Curr. Chem.*, 368 (2015) 347–375, in *Density-Functional Methods for Excited States*, Springer International Publishing Switzerland 2015. DOI: http://doi.org/10.1007/128_2015_638

[Lak06] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Springer: New York, NY, 2006.

[Lan95] Langmuir ME, Yang J-R, Moussa AM, Laura R, LeCompte KA (1995) New naphthopyranone based fluorescent thiol probes. *Tetrahedron Lett* 36:3989–3992. 15. Reichardt C (1994) Solvatochromic dyes as solvent polarity indicators. *Chem Rev* 94:2319–2358. 16. Sheldrick GM (1997) SHELXL97 (University of Gottingen, Germany)

-
- [Lau13] A.D. Laurent, D. Jacquemin, TD-DFT benchmarks: A review. *International Journal of Quantum Chemistry*, 113 (2013) 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/qua.24438>
- [Lau14] A.D. Laurent, C. Adamo, D. Jacquemin, Dye chemistry with time-dependent density functional theory, *Phys.Chem.Chem.Phys.*, 2014, 16, 14334, DOI: <http://doi.org/10.1039/c3cp55336a>
- [Lee88] C. Lee, W. Yang and R.G. Parr, *Phys. Rev. B* 37 (1988) 785-789.
- [Lee89] Lee LG, Berry GM, Chen, C-H (1989) Vita blue: A new 633-nm excitable fluorescent dye for cell analysis. *Cytometry* 10:151-164
- [Li19] J.-B. Li, H.-W. Liu, T. Fu, R. Wang, X.-B. Zhang, W. Tan, Recent Progress in Small-Molecule Near-IR Probes for Bioimaging, *Trends Chem.*, 1 (2019) 224-234. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.trechm.2019.03.002>
- [Liu13] X. Liu, Z. Xu, J. M. Cole, Molecular Design of UV-vis Absorption and Emission Properties in Organic Fluorophores: Toward Larger Bathochromic Shifts, Enhanced Molar Extinction Coefficients, and Greater Stokes Shifts, *J. Phys. Chem. C.*, 117 (2013) 16584-16595. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp404170w>
- [Mar09] V. Marenich, C. J. Cramer, and D. G. Truhlar, Universal solvation model based on solute electron density and a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions, *J. Phys. Chem. B*, 113 (2009) 6378-96. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp810292n>
- [Mar75] M.M. Martin, Hydrogen bond effects on radiationless electronic transitions in xanthene dyes. *Chem Phys Lett* 35 (1975) 105-111.
- [Mur05] C. Murata, T. Masuda, Y. Kamochi, K. Todoroki, H. Yoshida, H. Nohta, M. Yamaguchi, A. Takadate, Improvement of fluorescence characteristics of coumarins: Syntheses and fluorescence properties of 6-methoxycoumarin and benzocoumarin derivatives as novel fluorophores emitting in the longer wavelength region and their application to analytical reagents, *Chem. Pharm. Bull.*, 53 (2005) 750-758. DOI: <https://doi.org/10.1248/cpb.53.750>
- [Nar20] A.K. Narsaria, J.D. Ruijter, T.A. Hamlin, A.W. Ehlers, C. Fonseca Guerra, K. Lammertsma, F.M. Bickelhaupt, Performance of TDDFT Vertical Excitation Energies of Core-Substituted Naphthalene Diimides, *J. Comput. Chem.*, 41 (2020) 1448-1455. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.26188>
- [Olt12] Mircea Oltean, Adrian Calborean, George Mile, Mihai Vidrighin, Monica Iosin, Loredana Leopold, Dana Maniu, Nicolae Leopold, Vasile Chiş, Absorption spectra of PTCDI: a combined UV-Vis and TD-DFT study, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 97 (2012) 703-710, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.07.056>.
- [Rag80] K. Raghavachari, J. S. Binkley, R. Seeger, and J. A. Pople, Self-Consistent Molecular Orbital Methods. 20. Basis set for correlated wave-functions, *J. Chem. Phys.*, 72 (1980) 650-54. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.438955>
- [Rao07] Rao J, Dragulescu-Andrasi A, Yao H (2007) Fluorescence imaging in vivo: Recent advances. *Curr Opin Biotech* 18:17-25
- [Run84] E. Runge, E.K.U. Gross, Density-functional theory for time-dependent systems, *Phys. Rev. Lett.*, 52 (1984) 997.
-

[Ste94] P.J. Stephens, F.J. Devlin, C.F. Chabalowski and M.J. Frisch, *J. Phys. Chem.* 98 (1994) 11623-11627.

[Tom05] J. Tomasi, B. Mennucci and R. Cammi, *Chem. Rev.* 105 (2005) 2999-3093.

[Ura05] Y. Urano, M. Kamiya, K. Kanda, T. Ueno, K. Hirose, T. Nagano, Evolution of fluorescein as a platform for finely tunable fluorescence probes, *J. Am. Chem. Soc.*, 127 (2005) 4888–4894. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja043919h>

[Vos80] S.H. Vosko, L. Wilk and M. Nusair, *Can. J. Phys.* 58 (1980) 1200-1211.

[Whi91] Whitaker JE, Haugland RP, Prendergast FG (1991) Spectral and photophysical studies of benzo[c]xanthene dyes: Dual emission pH sensors. *Anal Biochem* 194:330–344.

[YaJ04] Yang J, et al.(2004) Arylethynyl substituted 9,10-anthraquinones: Tunable stokes shifts by substitution and solvent polarity. *Chem Mater* 16:3457–3468

[Yan06] Youjun Yang, et al., An organic white light-emitting fluorophore. *J. Am. Chem. Soc.*, 128 (2006) 14081–14092.

[Yan07] Youjun Yang, et al., An organic white light-emitting fluorophore. *J. Am. Chem. Soc.*, 129 (2007) 1008–1008

[Yan08] Youjun Yang, Mark Lowry, Xiangyang Xu, Jorge O. Escobedo, Martha Sibrian-Vazquez, Lisa Wong, Corin M. Schowalter, Timothy J. Jensen, Frank R. Fronczek, Isiah M. Warner, and Robert M. Strongin, Seminaphthofluorones are a family of water-soluble, low molecular weight, NIR-emitting fluorophores, *PNAS*, 105 (2008) 8829–8834. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0710341105>

DECLARAȚIE PE PROPRIE RĂSPUNDERE

Subsemnatul, Stefania-Renata Stepanov, declar că Lucrarea de licență/diplomă/disertație pe care o voi prezenta în cadrul examenului de finalizare a studiilor la Facultatea de Fizică din cadrul Universității Babeș-Bolyai, în sesiunea iunie 2022 , sub îndrumarea Prof.dr. Vasile Chiș, reprezintă o operă personală. Menționez că nu am plagiat o altă lucrare publicată, prezentată public sau un fișier postat pe Internet. Pentru realizarea lucrării am folosit exclusiv bibliografia prezentată și nu am ascuns nici o altă sursă bibliografică sau fișier electronic pe care să le fi folosit la redactarea lucrării.

Prezenta declarație este parte a lucrării și se anexează la aceasta.

Data,

Stefania-Renata Stepanov,

21.06.2022