



Miskolci Egyetem
Anyag- és Vegyészmérnöki Kar
Szuperszámítógépes Modelllezés Kutatócsoport

TDK-Dolgozat

**Biológiai membránok megfestésére alkalmas fluoreszcens festékek
gerjesztési tulajdonságainak vizsgálata kvantumkémiai módszerekkel**

Bitó Patrik

Vegyészmérnök BSc. hallgató

Témavezető: Prof. Dr. Szőri Milán

2024.

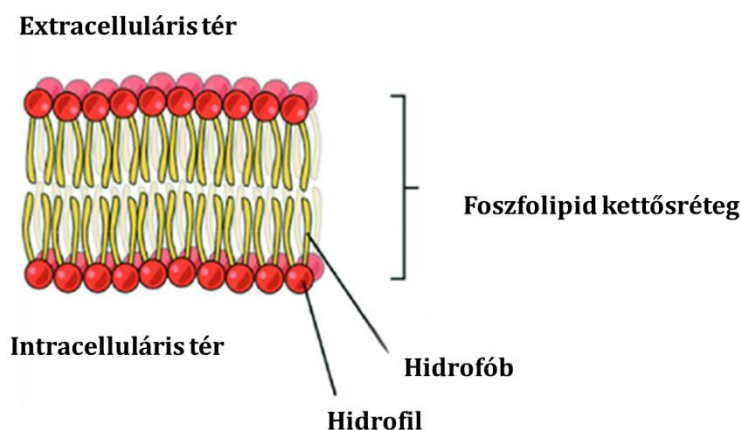
Tartalomjegyzék

1.	BEVEZETÉS	1
1.1	BIOLÓGIAI SEJTMEMBRÁN SZERKEZETE ÉS IONÁRAMOK	1
1.2	FESZÜLTSGÉRZÉKENY FLUORESCENS FESTÉKEK	2
2.	KVANTUMKÉMIAI MÓDSZEREK	6
2.1	HARTREE-FOCK MÓDSZER (HF)	6
2.2	SŰRŰSÉGFUNKCIONÁL-ELMÉLET (DFT)	9
2.3	CSATOLT KLASZTER MÓDSZER (COUPLED CLUSTER, CC)	12
2.4	GERJESZTETT ÁLLAPOTOK DINAMIKÁJA (ESD)	15
3.	MÓDSZERTAN	18
3.1	BEVEZETÉS A SPEKTRUMSZÁMÍTÁSBA	18
3.2	SPEKTRUMSZÁMÍTÁSOK RÉSZLETES ISMERTETÉSE	20
3.3	KVANTUMKÉMIA SZÁMÍTÁS MENETE	22
4.	EREDMÉNYEK	25
4.1	DI-4-ANNEPS	25
4.1.1	KVANTUMKÉMIAI PROTOKOLL VALIDÁLÁSRA DI-4-ANNEPS RENDSZEREN	27
4.2	DI-4-ANNEPQ	32
4.3	RHOVR	34
4.4	TA2YN	37
5.	KONKLÚZIÓ	39
6.	IRODALOMJEGYZÉK	41

1. Bevezetés

1.1 Biológiai sejtmembrán szerkezete és ionáramok

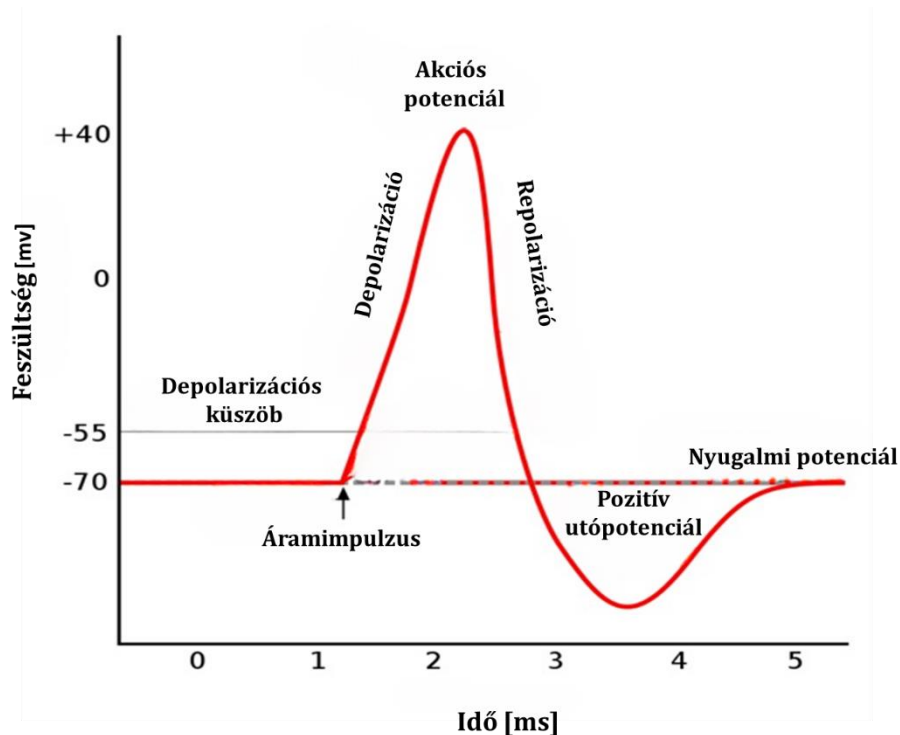
Biológiai sejtmembránok szemi-permeábilis szerkezetek melyek kulcsfontosságú szerepet töltenek be minden élő szervezetben. A sejtmembránt alkotó foszfolipid kettős réteg egyrészt a sejt és környezet között fizikai határt teremt, másrészt védelmez és emellett messze nem passzív szemlélő. A sejtmembrán aktív szerepet játszik genetikai anyagok, fehérjék, tápanyagok és élet szempontjából nélkülözhetetlen ionok szállításában, elszigetelésében és felhalmozásában. A membrán szerkezete nagy komplexitással és varianciával bír, több százféle fehérjét és lipidet tartalmazhat, ámátor rendelkezik egy mindenkor kritikus szerkezeti motívummal; a foszfolipid kettős réteggel, amelynek molekulái amfipatikusak (**1. ábra**).



1. ábra. Biológiai sejtmembrán mindenkor szerkezeti egysége; foszfolipid kettős réteg

A sejtek energiájának nagy része fordítódik a sejtmembránon megoszló ionok egyenlőtlenségének fenntartására, mely elektromos potenciál feszültség formájában jelentkezik. Az extra- és intracelluláris tér közti egyensúlyi feszültségkülönbséget nevezzük nyugalmi potenciálnak, mely szerint az intracelluláris tér potenciálja mindig negatív az extracelluláriséhoz képest. Ennek a membránfeszültségnek a gyors változásai adják az ingerlékeny sejtek, mint például az idegsejtek egyedi fiziológiáját. A sejtekre általánosan jellemző a sejten belüli nagy K^+ és kis Na^+ koncentráció, míg az extracelluláris térben fordított a helyzet [1]. A koncentrációkülönbség miatt a Na^+ ionok a sejt belsejébe diffundálnak és kialakul az extracelluláris térben egy töltésfelesleg, áramimpulzus.

Depolarizációs küszöb feszültségértékét meghaladva a depolarizáció az áramimpulzustól függetlenné válik, miszerint újabb feszültség gátolt Na^+ csatornák nyílhatnak meg. Az így kialakuló feszültségjel az akciós potenciál (**2. ábra**). A neuronok membránján az akciós potenciál gyengítetlenül továbbterjed, majd az axonhoz érkezte az adott akciós potenciál repolarizációs fázisban feszültség gátolt Ca^{2+} ioncsatornák is kinyílnak. A Ca^{2+} ionok áramlása az idegsejt belsejébe, kiindulási feltétele az ingerület átvitel mechanizmusának. Ennek fényében az akciós potenciál jelalakjának vizsgálatával betekintést nyerünk az idegsejtek fiziológiájába és esetleges rendellenes működésének okaiba.



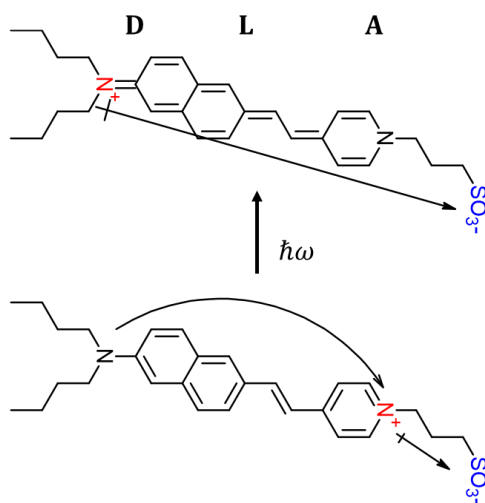
2. ábra. Az akciós potenciál jelalakja

1.2 Feszültségérzékeny fluoreszcens festékek

A fluoreszcens feszültségérzékeny festékek napjainkban hatékony eszköznek bizonyulnak biológiai sejtmembránok dinamikus elektrikus aktivitásának vizsgálatára. Ezek a festékek *in vivo* képesek a membránpotenciál hatására fluoreszcens spontán emisszióval reagálni, ami ebben az esetben fluoreszcens fény kibocsátását jelenti, ezáltal lehetőséget adnak az idegsejtek működésének nagy felbontású nem invazív megfigyelésére.

Mechanizmusuk megértéséhez elengedhetetlen a foton abszorpciója és emissziója mögött rejlő fizikai kémia folyamat ismerete. Minden fluoreszcens festék központi eleme a fluorofór – a molekulának azon része mely kölcsönhatásba lép a fotonnal. Foton abszorpciója akkor lehetséges, amennyiben a fluorofór alapállapota és gerjesztett állapota közti energiakülönbség megegyezik a fotonéval. Fontos kiemelni, hogy a gerjesztési folyamathoz ezt az energiát kell biztosítani a rendszernek, ám bátor nem szükséges foton formájában. Amint a molekula gerjesztett állapotába kerül, relaxációs folyamat végett pikoszekundumok alatt a legkisebb energiájú rezgési állapotába lép. Nanoszekundumokig tartózkodik ezen állapotban, miután vagy mint fényforrás spontán foton emisszióval vagy pedig belső konverzióval visszajut alapállapotába. A relaxációs folyamat lehetőséget ad a molekula konformáció változására, elektronszerkezeti változására és a környezet ehhez alkalmazkodó újra rendeződésére. Ennek fényében a fluoreszcencia kisebb energiájú fotont eredményez, mint amekkora energia szükséges magához a gerjesztéshez. Mindemellett lehetséges fotokémiai reakció, miszerint a képződött gerjesztett részecske kémia változáson megy át és más molekulává alakul. Lehetséges olyan feszültségérzékeny fluoreszcens festékek tervezése, melyek elektronszerkeztére, elektronsűrűségére közvetlen hatást gyakorol a biológia sejtmembrán elektromos erőtere.

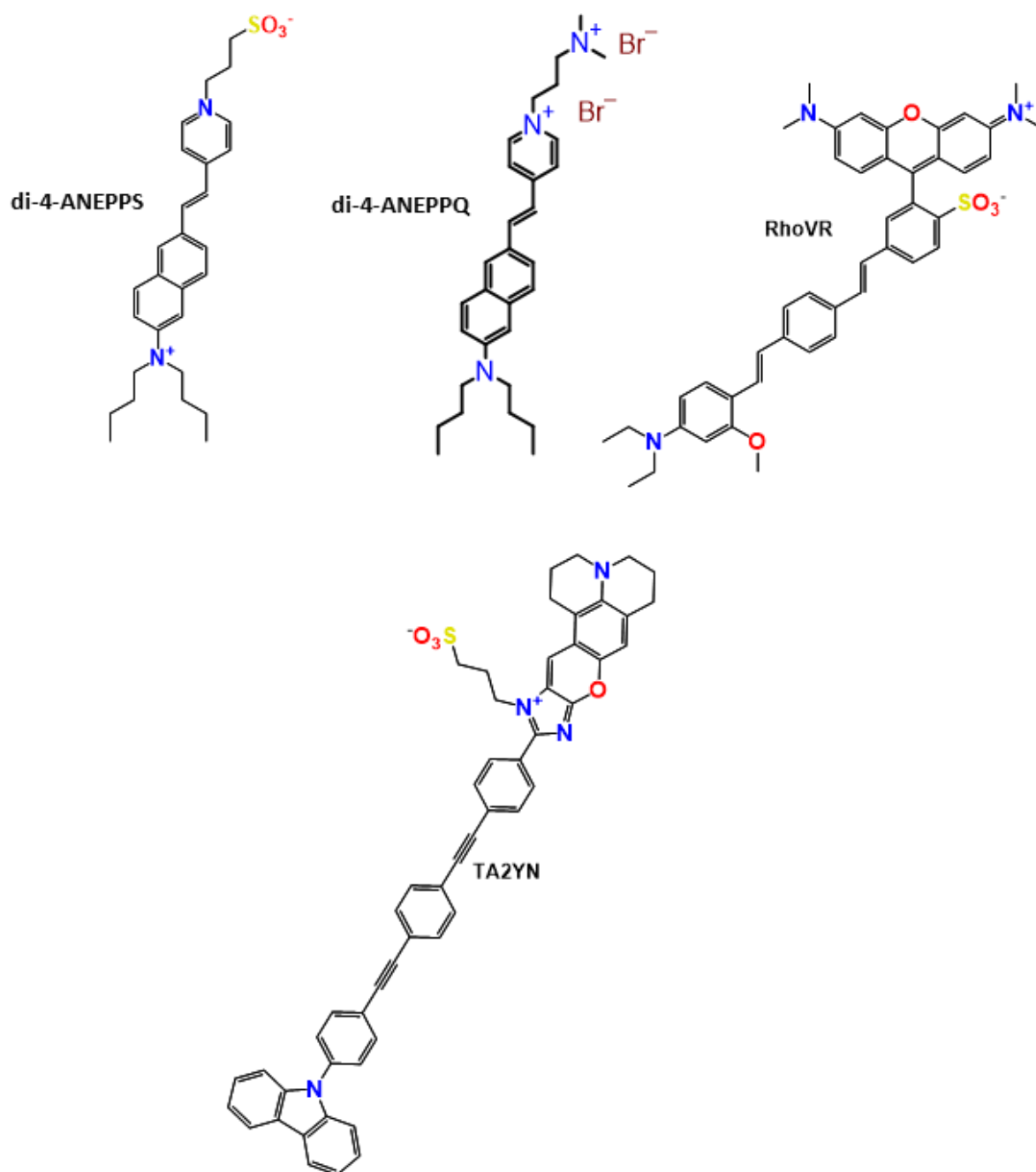
Létezik többféle mechanizmus miszerint a festékek reagálnak a sejtmembrán potenciál változására (pl. FRET, reorientáció ON-OFF). Ebben a dolgozatban csupán fotoindukált intramolekuláris elektrontranszfer alapú feszültségérzékeny fluoreszcens festékekről lesz szó, amelynek működését a **(3. ábra)** di-4-ANNEPS molekuláján keresztül mutatom be.



3. ábra. di-4-ANNEPS fotoindukált intramolekuláris elektrontranszfer mechanizmusa, rezonancia formái és szerkezeti egységei. **D:** donor, **L:** linker, **A:** akceptor

A **(3. ábra)** szemléleti, hogy az idegsejt biológia sejtmembrán potenciálja mi módon képes a tárgyalt fluorofórokkal kölcsönhatni. A feszültségérzékeny fluoreszcens festékek ezen fajtája három eltérő molekuláriszletből épülnek fel: elektronban gazdagabb elektrondonor régió (D), elektronban szegényebb elektronakceptor (A) és a kettőt összekötő (L) régió [2]. Egy $\hbar\omega$ energiájú foton hatására ezen festékek képesek az alapállapothoz képest drasztikusan eltérő gerjesztett elektronkonfigurációt létrehozni. Az elektronsűrűségbeli egy eltérő irányú és nagyobb nagyságú elektromos dipólusmomentum vektort eredményez, melynek révén erősebbé válnak a környezettel való intermolekuláris kölcsönhatások. A relaxáció során jelentősen csökken az állapot energiaszintje és kisebb energiájú lesz a kibocsátott foton [3]. A láncvégi csoportok az amfipatikus tulajdonságot és a membrán felületére merőleges beállást biztosítják. A propilszulfonát oldallánc a hidrofób fejcsoportok közé ágyazódást míg a szénhidrogén láncok a membránba oldódást biztosítják. A merőleges beágyazódás indukálja a membrán elektromos potenciáljának irányába történő elektronáramlást. Következésképpen az alapállapotot és gerjesztett állapotot az elektromos erőteret más mértékben stabilizálja, ezáltal a membrán potenciálváltozás spektrális változásokat eredményez.

Jól alkalmazható fluoreszcens festékek intenzív abszorpcióval és fluoreszcenciával bírnak, érzékenyek környezeti hatásokra és nem vesznek részt fotokémiai reakcióban. Évtizedek óta létezik igény az említett tulajdonságú molekulák szintetizálására. Már 1978-ban a festékek molekulatervezési folyamatának alappilléret a kvantumkémia biztosította [4]. Dolgozatomban napjaink technológiájával és elméleti modelljeivel egy olyan kvantumkémia módszertan megtalálására törekszem, amellyel feszültségérzékeny fluoreszcens festékek gerjesztési tulajdonságai prediktálhatók. Céлом, hogy meghatározam a mai módszerek alkalmazhatóságának és pontosságának határát nagy méretű molekulákra (70 - 102 atom). Módszeremet a jól ismert, széleskörűen és régóta használt di-4-ANNEPS molekula segítségével validálom és megkísérelem a még nem szintetizált festékek **(4. ábra)** gerjesztési tulajdonságainak legpontosabb elméleti meghatározását. A di-4-ANNEPQ nem szintetizált festék, mely a sztirol típusú festékek családjába tartozik, úgy, mint a di-4-ANNEPS. A RhoVR az ismert rhodamin alapú festékcsalád még nem létező tagja. A TA2YN az eddigiekkel egyetemben még nem szintetizált festék.



4. ábra. A vizsgált feszültségérzékeny fluoreszcens festékek: di-4-ANEPPS, di-4-ANEPPQ, RhoVR, és TA2YN,

2. Kvantumkémiai módszerek

2.1 Hartree-Fock módszer (HF)

Kvantumkémia az a tudományág, amely leírja a kémiai rendszerek elektronkonfigurációját és prediktálja a kémiai szempontból jelentős fizikai mennyiségeket. Alapja a kvantummechanika. Központi eleme a hullámfüggvény, ami tartalmazza egy rendszer minden dinamikus tulajdonságát és meghatározza a lehetséges energetikai állapotait a Schrödinger egyenlet által.

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad (1)$$

$\hat{H}$ a Hamilton operátor, mely leírja a rendszer kinetikus és potenciális energiáját, Ψ a hullámfüggvény, E a teljes energia és (1) az időfüggetlen nemrelativisztikus Schrödinger egyenlet. Több részecskés rendszerekre a Schrödinger egyenlet egzakt megoldása nem lehetséges. Közelítési módszerekre van szükség. A számítási kémiában széleskörűen alkalmazott közelítési módszer a Hartree-Fock *ab initio* módszer. A Born-Oppenheimer közelítés eredendően feltételezett, miszerint a teljes molekuláris hullámfüggvény szeparálható részhullámfüggvényekre; az atommagok rezgési hullámfüggvényeinek és az elektronok elektronikus hullámfüggvényeinek megoldásai szeparálhatók. Az egyelektronfüggvények jellemezhetők, mint egyelektronos pálya- Ψ_i és egyelektronos spinfüggvények η_i szorzata.

$$\phi_i = \Psi_i \eta_i \quad i = 1, \dots, n \quad (2)$$

A Hartree-Fock módszer egyik legjelentősebb alapelve, hogy az elektronkonfiguráció, a többelektronos Schrödinger egyenlet megközelíthető egy átlagos potenciáltérrel Slater-determináns formájában.

$$\Phi_0^{HF} \equiv \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{bmatrix} \phi_1(1) & \cdots & \phi_1(n) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \phi_n(1) & \cdots & \phi_n(n) \end{bmatrix} \quad (3)$$

Amiben $N!$ egy normálási tényező, ϕ az egyelektronfüggvények Φ_0^{HF} pedig a Hartree-Fock hullámfüggvény. A determináns-hullámfüggvény egy olyan állapotot ír le, miszerint nem lehet két vagy több elektron ugyanabban a kvantumállapotban. A Pauli-elv teljesül.

Legjellegzetesebb alapelve a Hartree-Fock módszernek a variációs elv, ami egy olyan hullámfüggvény megtalálására törekszik, mely által meghatározható egy rendszer alapállapotú energiája. Ezt az iteratív eljárást önkonzisztens erőterek módszerének nevezzük. Egy többelektronos rendszerből egy adott elektronra közelítő Schrödinger egyenletből meghatározható a potenciális energia, ami a mag vonzásából és a többi elektron átlagos tasztításából áll; tehát az egyenlet függ a betöltött pályáknak hullámfüggvényétől:

$$\hat{f} \phi_i = \sum_{j=1}^n \varepsilon_{ij} \phi_j \quad i = 1, \dots, n \quad (4)$$

Amiben $\hat{f}$ a Fock operátor, ϕ_j, ϕ_i a pályák, melyekhez tartozó pályaeenergia az ε_{ij} (4) pedig a Hartree-Fock egyenletek, melyben $\hat{f}$ eredményezi a molekulapályák lineáris kombinációját. A Fock operátor definíció szerint:

$$\hat{f} = \hat{h} + \sum_{i=1}^n (\hat{J}_i - \hat{K}_i) \quad (5)$$

$\hat{h}$ az egyelektron operátor, amely meghatározza egy elektron kinetikus és potenciális energiáját, $\hat{J}_i$ és $\hat{K}_i$ az alábbi módon definiált:

$$\hat{J}_i \phi_j(2) = \langle \phi_i(1) \left| \frac{1}{r_{12}} \right| \phi_i(1) \rangle \phi_j(2) \quad (6)$$

$$\hat{K}_i \phi_j(2) = \langle \phi_i(1) \left| \frac{1}{r_{12}} \right| \phi_j(1) \rangle \phi_i(2) \quad (7)$$

$\hat{J}_i$ a Coulomb operátor, amely a klasszikus fizikából ismert elektrontaszításnak megfelelője, míg $\hat{K}_i$ a kicserélődési operátor nem rendelkezik semmilyen egyszerű fizikai interpretációval, csupán a Pauli-féle antiszimmetria-követelményből ered. (1) és (2) két különböző elektront jelöl, ϕ_i és ϕ_j a hozzájuk tartozó pályák, r_{12} pedig az elektronok közti távolság.

A Hartree-Fock egyenletek megoldásához szükséges a molekulapályák matematikai formájának ismerete. Bázisfüggvények, báziskészletek olyan matematikai függvények sokasága, melyek segítségével létrehozható egy molekuláris rendszer kvantummechanikai hullámfüggvénye. Klasszikus megközelítés szerint atomokon centrált Slater-típusú pályák χ_{STO} , vagy Gauss-típusú pályák χ_{GTO} (egyelektron bázisfüggvények) lineáris kombinációjával állíthatók elő a ϕ_i pályák [5].

$$\chi_{STO} = N r^{n-1} e^{-\zeta r} Y_l^m(\zeta, \varphi) \quad (8)$$

$$\chi_{GTO} = N x^k y^p z^q e^{-\zeta r^2} \quad (9)$$

Ahol N a normálási tényező, n az effektív kvantumszám, ζ variációs paraméter és $Y_l^m(\zeta, \varphi)$ hidrogénszerű atom gömbfelületi függvényei, k , p és q együttesen jelentenek egy adott impulzusmomentum-kvantumszámot, azaz egy s , p vagy d típusú függvényt. Az STO-k jobban közelítik a pontos hullámfüggvényt, viszont GTO-k tulajdonságai számítási szempontból kedvezőbbek, GTO analitikusan számolható továbbá két Gauss-függvény szorzata is egy Gauss-függvény. A Slater-pályákat leíró függvény komplexitásából fakadóan célszerű azt Gauss-pályák lineáris kombinációjából közelíteni, ötvözve a STO pontosságát a GTO számítástechnikai előnyeivel. A GTO relatíve alacsony számítási igénye

lehetővé teszi bázisfüggvények számának növelését, ily módon lehetőséget kínál a számítási pontosság javítására. Ámbátor a hullámfüggvényt tetszőleges pontossággal közelíteni akkor lehetséges, ha végtelen sok bázisfüggvényt alkalmazunk. A számítások elvégezhetőségének érdekében véges számú bázissal kell dolgozni. Kiindulási eset a minimál bázis, amely annyi függvényből áll, ahány elektront tartalmaz az adott rendszer. Az n -szeres zeta bázis megadja, hogy a bázis a minimálbázis hányszorosa. Egy háromszoros zeta bázis (TZ) megháromszorozza az atompályákat. Ugyanígy számítható négyszeres, ötszörös bázis is.

A Hartree-Fock módszer alkalmazásával a megadott bázisok lineárkombinációjával létrejönnek a kiindulási pályák. Ezek közül a betöltött pályákkal kezdjük a minimálást. Megszerkesztjük a Fock operátort és Slater-determinánst, majd megoldva a Hartree-Fock egyenleteket, új pályákat kapunk, melyekkel újra megoldhatóak az egyenletek és addig folytatjuk az eljárást, amíg a pályák és hozzátartozó energiák konvergálnak. Ennek az *ab initio* módszernek egyelektronos közelítéséből származnak hiányosságok. A főbb hiányosság, hogy az elektronok mozgása korrelált és egyetlen Slater-determinánssal, egy átlagolt elektrontérrel nem írható le az elektronkorreláció. Az egzakt nemrelativisztikus energia és Hartree-Fock energia közti energiakülönbséget nevezzük korrelációs energiának. A továbbiakban ismertetett módszerek, legalább részben, az említett hiányosság korrigálására jöttek létre.

2.2 Sűrűségfunkcionál-elmélet (DFT)

Fontosnak tartom a sűrűségfunkcionál-elmélet részletesebb tárgyalását, mivel sematikusán hasonlít a Hartree-Fock módszerre, egyfajta megoldást talál hiányosságaira, mindemellett alacsony számítási igényei miatt széleskörűen és gyakran alkalmazott. Dolgozatomban ún. hibrid funkcionált alkalmaztam, amelyben szerepel mind a Hartree Fock módszer és a sűrűségfunkcionál-elmélet is. A két módszer közti eltérés az elméleti alapokban rejlik. Míg a Hartree-Fock módszer elméleti alapja az atomi pályák lineáris kombinációja, a sűrűségfunkcionál-elmélet központi eleme az elektronvalószínűségi sűrűség $\rho(\vec{r})$, amely megadja az elektronok megtalálási valószínűségét a tér egy $\vec{r}$ által definiált pontjában. A Hohenberg-Kohm tételek [6] lehetővé teszik, egy oly módszer alkalmazását, miszerint „ n ” elektrontól álló elektronfelhőbe merítjük az atommagokat,

melynek hatását az elektronfelhőre, mint külső potenciált $\hat{v}(\vec{r})$ tekintünk és e szerint csoportosítjuk a rendszer egyes kölcsönhatásait. A sűrűségfunktional-elmélet segítségével hullámfüggvények helyett, elektronsűrűségből kiszámíthatóak a molekuláris tulajdonságok. A külső potenciálból meghatározható a Hamilton operátor és ezáltal a hullámfüggvény energiája. A pályákhoz tartozó energia meghatározásához Kohm és Sham kidolgozott egy eljárást, ami alapja egy nem kölcsönható referenciarendszer, melynek az alapállapotához tartozó elektronsűrűség pont ugyanolyan, mint egy kölcsönhatóé. Az említett rendszer Schrödinger-egyenlete automatikusan szeparálódik egyelektronos egyenletekre, melyeket Kohn-Sham pályáknak nevezünk. A nem kölcsönható referenciarendszer hullámfüggvényét egy Kohn-Sham pályákat tartalmazó determináns-hullámfüggvény pontosan leírja. Ebből adódóan egy molekuláris rendszer teljes energiáját meghatározza egy ún. energiafunktional

$$E[\rho] = T_s[\rho] + V_{ne}[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad \rho(\vec{r}) = \sum_i |\vartheta_i|^2 \quad (10)$$

amiben ϑ_i a determinánsban szereplő Kohn-Sham pályák. $T_s[\rho]$ a kinetikus energia funkcionálja a nem kölcsönható referencia rendszernek, $V_{ne}[\rho]$ a külső potenciál funkcionál és $J[\rho]$ a Coulomb elektrontaszítás. Az utolsó tag $E_{xc}[\rho]$ a kicserőlédési-korrelációs funkcionál, amely magába foglalja a $T_s[\rho]$ és $J[\rho]$ közti különbséget. Az utolsó három tag hozzájárulása az energiafunktionalhoz, összefoglalható, mint a molekuláris rendszer effektív külső potenciálja $\hat{v}_{eff}$.

Hohenberg és Kohn bizonyította, hogy a kiindulási elektronsűrűség, mely jellemzi, egy rendszer teljes energiájának minimumát, nem más, mint az alapállapot egzakt elektronsűrűsége. Annak ismeretében, hogy az elektronsűrűség meghatározható az egyelektron egyenletekből, melyek a nem kölcsönható referenciarendszer Schrödinger egyenletéből következnek, a Hartree-Fock módszerhez analóg módon alkalmazható az iteratív minimálási eljárás [7]. Ez a sűrűségfunktional-elmélet variációs elve:

$$(\hat{t}_s + \hat{v}_{eff})\vartheta_i = \varepsilon_{ij}\vartheta_j \quad (11)$$

ahol $\hat{t}_s$ az egyelektron kinetikus energia operátora a referenciarendszernek, $\hat{v}_{eff}$ az említett effektív külső potenciál és (11) a *Kohn-Sham egyenletek*. Mind a (4) és (11) egyenletek önkonzisztens erőter iterációs sémát követik.

A sűrűségfunkcionál-elmélet hátránya, hogy E_{xc} ismeretlen. Pontos meghatározása helyett különböző közelítő módszerek használhatóak. A közelítés pontosításához különböző modellek, sűrűségfunkcionálok alkalmazása lehetséges, melyek tartalmazhatnak empirikus paramétereket. Egy sűrűségfunkcionál alkalmazhatósága attól függ, hogy a E_{xc} funkcionált milyen pontossággal lehet közelíteni. E_{xc} szétválasztható $E_{xc} = E_x + E_c$ tagokra és így a kicserélődési és korrelációs hatások külön modellezhetőek. Az olyan funkcionálokat, amelyek az egzakt Hartree-Fock kicserélődési tagot (E_x^{HF}) valamilyen arányban tartalmazznak, hibrid funkcionáloknak nevezzük. Általában használt az ún. B3LYP hibrid funkcionál [8].

$$E_{xc}^{B3LYP} = (1 - a) E_x^{LSDA} + a E_x^{HF} + b E_x^{B88} + (1 - c) E_c^{LSDA} + c E_c^{LYP} \quad (12)$$

Amiben empirikus paraméter (a) az egzakt kicserélődés, míg b és c konstans a kicserélődési és korrelációs gradiens korrekciói. E_x^{B88} a Becke-féle kicserélődési funkcionál, E_c^{LYP} a Lee, Yang és Parr által paraméterezett korrelációs funkcionál, E_x^{LSDA} és E_c^{LSDA} a lokális spinsűrűség közelítésből származó kicserélődési és korrelációs funkcionálok. A B3LYP hibrid-funkcionál gyors és relatíve pontos eredményeket eredményez. Optimált geometriák előállításaira kifejezetten jól alkalmazható, ezt jól mutatja a szakirodalmi dominanciája is. Egy 2007-es összefoglaló cikk [9] szerint a vizsgált 52 sűrűségfunkcionálból a B3LYP funkcionál tette ki a hivatkozások 80%-át.

2.3 Csatolt klaszter módszer (Coupled cluster, CC)

Az *ab initio* csatolt klaszter módszer alapja az alábbi elektronkorrelációt figyelembe vevő hullámfüggvény egyenlete [10], [11] .

$$\Phi_0^{CC} = e^{\hat{T}} \Phi_0^{HF} \quad \hat{T} = \hat{T}_1 + \hat{T}_2 \dots \hat{T}_n \quad (13)$$

Amiben Φ_0^{CC} az egzakt nemrelativisztikus alapállapotú elektron hullámfüggvény, amennyiben $n = \infty$, Φ_0^{HF} pedig Hartree-Fock pályákból felépülő determináns-hullámfüggvény (3). $\hat{T}$ a klaszter operátor, melynek elemei állnak egy- $\hat{T}_1$, két- $\hat{T}_2$, illetve többszörös $\hat{T}_n$ gerjesztési operátorból. A módszer alapja, hogy az átlagolt elektronter közelítést alkalmazó Hartree-Fock Slater-determinánsból, a gerjesztési operátorok gerjesztett Slater-determinánsokat hoznak létre. A gerjesztés ebben a kontextusban arra utal, hogy a betöltött pályákat ún. virtuális (nembetöltött) pályákra cseréljük és az így létrejött elektronkonfigurációknak számítjuk a súlyfaktorát. Ezeket a súlyfaktorokat nevezzük amplitúdónak. Az amplitúdók jellege közvetlen kapcsolatban áll az elektronkorreláció mértékével. Fontos kiemelni, hogy ezek nem valós fizikai gerjesztések, hanem csupán egy matematikai modell az elektronkorreláció számítására. Alapvetően a csatolt klaszter módszer egy elektronkorreláció korrigált Hartree-Fock.

Az említett amplitúdók meghatározása lehetővé teszi az elmélet alapegyenletének (13) megoldását, feltéve, ha végtelen számú virtuális pályát állítunk elő. Egyelektronbázisok használatából eredően véges számú virtuális pályát használhatunk a gerjesztett determináns előállításához. Ezekből a közelítésekből következik a módszer nomenklatúrája. Abban az esetben amikor $\hat{T}_1$ -t vesszünk figyelembe akkor, egyszeresen gerjesztett csatolt klaszter módszernek nevezzük (CCS), míg, ha teljes $\hat{T}_1$ -t és $\hat{T}_2$ -t is használjuk, akkor egyszeresen és kétszeresen gerjesztett csatolt klaszter módszernek nevezzük (CCSD). A továbbiakban kivétel nélkül az utóbbira fogok utalni.

A gerjesztett állapotok leírására szolgál az EOM (Equation of Motion) formalizmus [12]. A CC módszerből származó súlyfaktorokat, egy lineáris gerjesztési operátor $\hat{\mathcal{R}}_k$

(EOM-CC Ansatz) kicseréli, így létrehozva a gerjesztett állapot hullámfüggvényét Φ_k^{CC} , a k-adik gerjesztett állapotra vonatkozóan.

$$\Phi_k^{CC} = \hat{\mathcal{R}}_k \Phi_0^{CC} \quad \hat{\mathcal{R}}_k = \hat{\mathcal{R}}_{k,0} + \hat{\mathcal{R}}_{k,1} + \hat{\mathcal{R}}_{k,2} \quad (14)$$

Ahol $\hat{\mathcal{R}}_{k,0}$ feladata a Φ_0^{CC} együtthatóinak megváltoztatása, a $\hat{\mathcal{R}}_{k,1}$ és $\hat{\mathcal{R}}_{k,2}$ feladata pedig az egyszeresen és kétszeresen gerjesztett elektronkonfigurációk súlyfaktorainak megfelelő modifikációja. Az $\hat{\mathcal{R}}_k$ operátornak különleges tulajdonsága, hogy kommutatív a klaszter operátorral $e^{\hat{T}}$,

$$\hat{\mathcal{R}}_k e^{\hat{T}} = e^{\hat{T}} \hat{\mathcal{R}}_k \quad (15)$$

A kommutatív jelleg lehetővé teszi az alábbi hasonlósági transzformációt

$$\hat{\mathcal{H}} = e^{\hat{T}} \hat{H} e^{\hat{T}} \quad (16)$$

$$[\hat{\mathcal{H}} \hat{\mathcal{R}}_k] |\Phi_0^{HF}\rangle = (E_k - E_0) \hat{\mathcal{R}}_k |\Phi_0^{HF}\rangle \quad (17)$$

A CC módszer és az EOM-CC módszer sematikusan ugyanaz. A csatolt klaszter esetében a Hartree-Fock determináns hullámfüggvényt korrigálja a klaszter operátor $e^{\hat{T}}$, majd a lineáris gerjesztési operátor $\hat{\mathcal{R}}_k$ hatása a transzformált Hamilton-operátorra $\hat{\mathcal{H}}$ kibővíti a CC-egyenletet (13) gerjesztett állapotokra. Az EOM-CC egyenlet (17) megoldható a transzformált Hamilton-operátor egyszeresen és kétszeresen gerjesztési operátorok alkotta térben való diagonalizálással. A mátrix sajátértékei az ionizációs potenciál, elektronaffinitás és a gerjesztési energia. Az EOM-CC eljárás hátránya, hogy számítási költsége hatodik hatványon skálázódik a molekulamérettel. Ennek csökkentése érdekében elvégezhető egy második hasonlósági transzformáció, mely segítségével a végső mátrix diagonalizálási lépés redukálható csupán egyszeresen gerjesztésekre, melyek magukba foglalják a kétszeresen gerjesztéseket is. Ezt nevezzük STEOM formalizmusnak [13], [14].

$$\hat{\mathcal{G}} = \{e^{\hat{\mathcal{S}}}\}^{-1} \hat{\mathcal{H}} \{e^{\hat{\mathcal{S}}}\} \quad \hat{\mathcal{S}} = \hat{\mathcal{S}}^{IP} + \hat{\mathcal{S}}^{EA} \quad (18)$$

A transzformáció operátor $\hat{\mathcal{S}}$ ionizációs potenciál $\hat{\mathcal{S}}^{IP}$ és elektronaffinitás $\hat{\mathcal{S}}^{EA}$ amplitúdóinak meghatározása egy aktív tér kiválasztási sémán alapszik [9], mely szerint felhasználó által megszabott paraméterek alatti betöltöttséggel bíró betöltött, illetve virtuális pályákat nem vesszük számításba. Elsődlegesen transzformált Hamilton operátor $\hat{\mathcal{H}}$ diagonalizálásának eredményéből megkapható $\hat{\mathcal{S}}^{IP}$ és $\hat{\mathcal{S}}^{EA}$. Végül másodlagosan transzformált Hamilton operátor $\hat{\mathcal{G}}$ egyszeres gerjesztési térben való diagonalizálással számítható a STEOM gerjesztési energia.

Ámbátor ez így még nem elég, ahhoz, hogy képesek legyünk csatolt klaszter szintű gerjesztési energiáit meghatározni nagy méretű rendszereknek. A transzformáció operátor $\hat{\mathcal{S}}$ megszerkesztéséhez szükséges alapállapotú csatolt klaszter egyenlet megoldása kihívást okoz, mivel a kiszámítandó amplitúdók száma meghaladhatja a több milliárdot. A számítási igény csökkentése érdekében a korrelált hullámfüggvény Φ_0^{CC} kompaktabb leírását kell elérni. Megoldást nyújt a DLPNO [15] (domain-based local pair natural orbitals) algoritmus, ami a molekuláris rendszert kisebb lokalizált részekre osztja fel. Lokalizált betöltött pályák létrehozásához használható a Foster-Boys-féle lokalizációs séma [16] és virtuális nem betöltött pályákra használható a DLPNO módszer. Minden pár lokalizált betöltött pályához, virtuális pályákra vonatkoztatva definiálunk egy „sűrűséget”, amikből képzett mátrixot diagonalizáljuk és így megkapjuk az úgynevezett természetes elektronpár pályák [17],[18] (PNO) betöltöttségének mértékét. Felhasználó által definiált küszöbértéken kívüli pályákat elhanyagoljuk vagy alacsonyabb elméleti szinten számítjuk és ezáltal könnyítünk az amplitúdók és korrelált hullámfüggvény Φ_0^{CC} számításán.

Gerjesztett állapot számítása DLPNO-STEOM-CCSD módszerrel a következő: A DLPNO módszerrel lokalizáljuk a molekuláris rendszert. Megoldjuk az alapállapotú csatolt klaszter egyenletet (13). Elvégezzük az első hasonlósági transzformációt (16). Hamilton operátort $\hat{\mathcal{H}}$ diagonalizáljuk, megkapjuk eredményként $\hat{\mathcal{S}}$ transzformáció operátort. Elvégezzük a második hasonlósági transzformációt (20). Már lokalizált pályákból kiválasztjuk az aktív teret. Végül a Hamilton operátort $\hat{\mathcal{G}}$ egyszeres gerjesztések

terében diagonalizáljuk. A számított STEOM gerjesztési energia pontossága jelentősen függ a DLPNO lokalizációtól és STEOM aktív tér kiválasztástól.

2.4 Gerjesztett állapotok dinamikája (ESD)

Abszorpció és emisszió spektrumszámítás alappillére a dipólusmomentum közelítés korrigált Fermi-féle arany szabály, mely megadja $|\Phi_i\rangle$ kezdeti és $|\Phi_f\rangle$ végső állapot közti átmenet energiaspecifikus sebességi állandóját a dipólusmomentum operátor $\hat{\mu}$ által.

$$k(\omega)_{if} = \frac{4\omega^3 n^2}{3\hbar c^3} |\langle \Phi_i | \hat{\mu} | \Phi_f \rangle|^2 \delta(E_i - E_f \pm \hbar\omega) \quad (19)$$

Az átmeneti dipólusmomentumok átfedési integrálja kvalitatíve leírja a rendszer valamilyen elektromágneses térrel való kölcsönhatásnak erősségét. Elektronátmenet megengedettsége vagy tiltottsága az átfedési integrál jellegétől függ. Az energiamegmaradás törvényét biztosító Dirac deltában szereplő összeadás jel megfelel $E_f = E_i + \hbar\omega$ energiájú abszorpciónak míg kivonás jel $E_f = E_i - \hbar\omega$ energiájú emisszióknak. n az oldószer törésmutatója [19]. ω energiájú fotonnal lévő kölcsönhatás eredményeképpen a teljes spektrum $\sigma_{\pm}$ meghatározható hőmérsékletileg súlyozott kezdeti és végső állapotok összegzésével.

$$\sigma_{\pm}(\omega) = \alpha_{\pm}(\omega) \sum_{if} P_i(T) |\langle \Phi_i | \hat{\mu} | \Phi_f \rangle|^2 \delta(E_i - E_f \pm \hbar\omega) \quad (20)$$

Amiben $\alpha_{\pm}$ frekvenciáktól függő előfaktor [20], mely különböző abszorpcióra és emisszióra, $P_i(T)$ a kezdeti állapotok Boltzmann eloszlása. A kifejezés ω szerinti integrálja megadja az átmenetek sebességi állandóját.

$$k_{\pm} = \int \sigma_{\pm}(\omega) d\omega \quad (21)$$

$k_{\pm}$ számításához szükséges a Dirac delta inverz Fourier transzformációnak behelyettesítése (20) kifejezésbe. A hullámfüggvény szeparálható elektronikus ψ és

nukleáris Θ (rezgési) hullámfüggvényekre. Felülvonással jelölve a végső állapotokat és feltételezve egyetlen kezdeti és végső elektronikus állapotot, a teljes hullámfüggvény felírható, mint $|\Phi_i\rangle = |\psi\Theta\rangle$ és $|\Phi_f\rangle = |\bar{\psi}\bar{\Theta}\rangle$, mely a következő kifejezésekhez vezet.

$$\sigma_{\pm}(\omega) = \alpha'_{\pm}(\omega) \int \chi_{\pm}(t) e^{\pm i\omega t} dt \quad (22)$$

Amiben $\alpha'_{\pm}$ magába foglal minden konstans tagot [20] és a korreláció függvény meghatározható az alábbi módon:

$$\chi_{\pm}(t) = \sum_i \langle \Theta_i | |\mu_e|^2 e^{-i\hat{\mathcal{H}}\tau} e^{-i\hat{\mathcal{H}}\bar{\tau}} | \Theta_i \rangle e^{\mp \Delta E t} \quad (23)$$

melyben ΔE az adiabatikus energiakülönbség a két állapot között, $\mathcal{H}$ és $\hat{\mathcal{H}}$ a rezgési Hamilton operátora a kezdeti és végső állapotnak, $\tau = t$ és $\bar{\tau} = -t - \frac{i}{k_B T}$ [20],

$$\mu_e = \langle \psi | \hat{\mu} | \bar{\psi} \rangle \quad (24)$$

Az integrál (24) megadja az elektronikus átmenet dipólusmomentumot, mely függ az atommagok helyzetétől. A normál koordinátái kezdeti $\mathbf{Q}$ és végső $\bar{\mathbf{Q}}$ állapotnak egy lineáris transzformációval térnek el egymástól

$$\mathbf{Q} = \mathbf{J}\bar{\mathbf{Q}} + \mathbf{K} \quad (25)$$

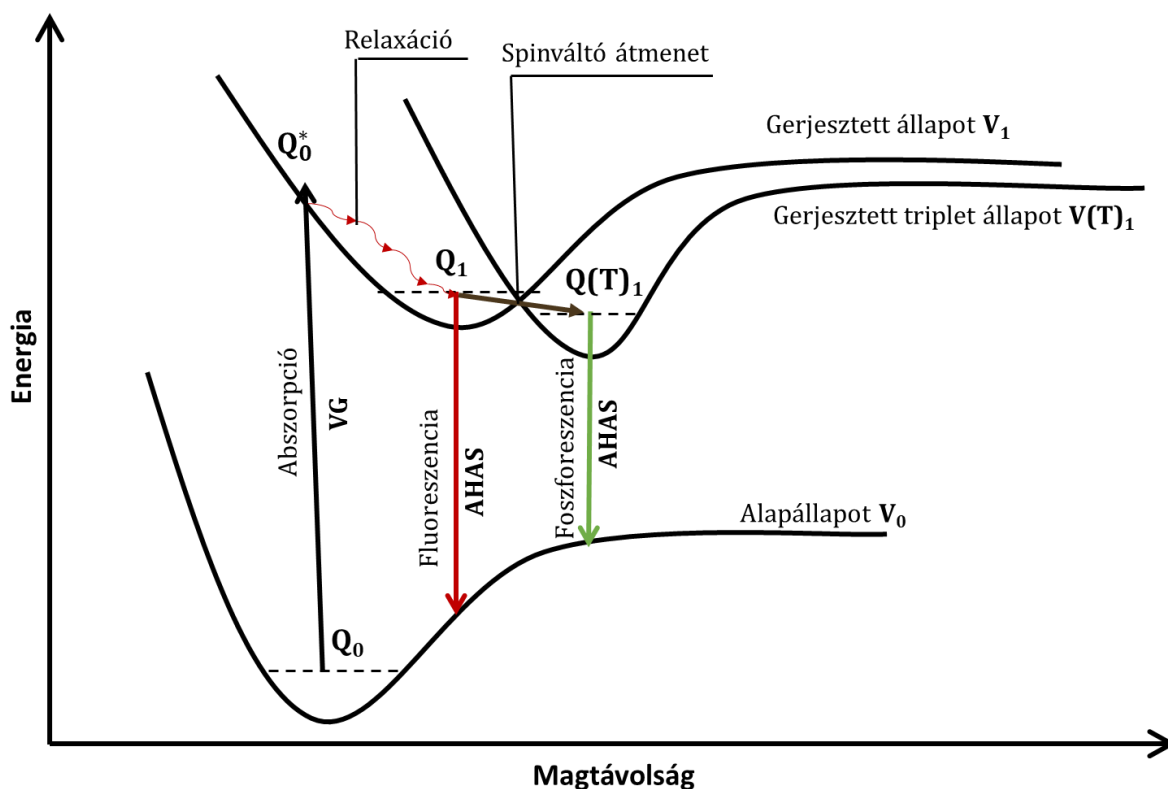
Amiben $\mathbf{J}$ Duschinsky-féle forgatási mátrix [21] és $\mathbf{K}$ az elmozdulás vektor. $\mathbf{J}$ és $\mathbf{K}$ számításához szükséges egy modellt választani a kezdeti és végső potenciálfelülethez. A számítás alapelve a harmonikus közelítés, miszerint leírható a rezgési elmozdulás, mint független normál módok, melyek mindegyikét egy egydimenziós harmonikus potenciál meghatároz. Harmonikus közelítés keretein belül a kezdeti potenciálfelület V kifejezhető az egyensúlyi geometriája mentén, az adott geometriához tartozó frekvenciák diagonalizált mátrixának (Hesse-féle mátrix) $\mathbf{\Omega}$ igénybevételével. Azonban el kell dönteni, milyen módon állítjuk elő a végső állapot potenciálfelületét $\bar{V}$ [22]. Adiabatikus modellek a végső

állapot potenciálfelületét a gerjesztett állapot egyensúlyi geometriája mentén fejtik ki. A legprimitívebb modell, az ún. vertikális gradiens (VG) megközelítés szerint, feltételezett, hogy a végső állapot Hesse-féle mátrixa megegyezik a kiindulásival, ebből kifolyólag a gerjesztett állapot gradiensének $\bar{\mathbf{g}}$ meghatározása és egy geometria optimálási lépés után ($\Delta\bar{x}_0 = x_0 - \Omega^{-1}\bar{\mathbf{g}}$ [20]) számítható ki a gerjesztett állapot potenciálfelületének $\bar{\mathbf{V}}$ fordulópontjához tartozó geometria. Az ún. AHAS (Adiabatic Hessian After Step) közelítés annyiban tér el, hogy a geometriai optimálási lépés a $\bar{\mathbf{V}}$ potenciálfelületének minimumához tartozó magkonfiguráció közelíti, melyen újraszámításra kerül a Hesse-féle mátrix. Mindezen által $\mathbf{J} = \mathbf{1}$ és $\mathbf{K} = \Omega^{-2}\bar{\mathbf{g}}$ amiben $\bar{\mathbf{g}}$ a gerjesztett potenciálfelület gradiense a kiindulási alapállapotú geometrián számítva. Ez azt jelenti, hogy $\mathbf{Q}$ és $\bar{\mathbf{Q}}$ közti különbség csupán egy eltolás és a $\mathbf{V}$ és $\bar{\mathbf{V}}$ közti kvadratikus különbségek elhanyagolhatók. Mindazonáltal a végső állapot geometriája megközelíthető a gerjesztett potenciálfelületről és alapállapot Hesse-féle mátrixából adódó extrapolációval.

A kezdeti és végső geometriák, Hesse-féle mátrixok ismeretében kiszámítható a Duschinsky-féle forgatási mátrix és az elmozdulás vektor, melyek után kiszámításra kerül az átmeneti dipólusmomentum deriváltjai és ezáltal a korrelációs függvény is meghatározható. Végül kiszámításra kerül a sebességi állandó, melyhez arányosak az átmenetek intenzitásai, ezáltal meghatározható a teljes spektrum.

3. Módszertan

3.1 Bevezetés a spektrumszámításba



5. ábra. Spektrumszámítások főbb lépései, potenciálfelületekkel illusztrálva.

Az 5. ábra által bemutatott potenciálfelületek (V) egy kémiai rendszer potenciális energiáinak grafikus ábrázolása az atomok különböző térbeli elrendezései (Q) függvényében. Q jelöléssel láttam el az gerjesztési folyamatok kezdeti és végső magkonfigurációit. A szaggatott vonal a potenciálfelület zérus ponti rezgési állapotát jelöli, melyekhez tartozó nukleáris koordináták stabil molekuláris konfigurációkat jelentenek. A nyilak iránya bemutatja egy állapotváltozás (abszorpció, fluoreszcencia etc.) kezdeti és végső állapotát, nagyságuk pedig az állapotok közti energiakülönbséget szemléltetik. A VG és AHAS elnevezések az adott állapotváltozás végső állapotához tartozó magkonfiguráció extrapolálási sémáját jelentik.

Spektrumszámításhoz elsősorban szükséges a potenciálfelületek (V_0 , V_1 , $V(T)_1$) adott pontjainak, magkonfigurációinak meghatározása, hiszen azokhoz tartozó

elektronikus és rezgési hullámfüggvényeiből, számítható **(2.4)** fejezet alapján a (de)gerjesztődés küszöbenergiája, sebességi állandója és intenzitása. Q_0 , Q_0^* , Q_1 , $Q(T)_1$ nukleáris koordinátákat és hozzájuk tartozó rezgési állapotokat DFT módszerek eredményeként kapjuk. A gerjesztett potenciálfelület V_1 fordulópontja Q_0^* vertikális gradiens közelítésből származik és ezáltal Q_0 -val azonos rezgési frekvenciákkal rendelkezik. V_1 egyensúlyi minimum állapotát Q_1 -et AHAS közelítéssel határozzuk meg. Q_0 -hoz képest megfigyelhető egy geometria eltolás, továbbá a rezgési állapotok is eltérőek. Az így meghatározott geometriákon, az elektronikus hullámfüggvényeket csatolt-klaszter módszerekkel számítjuk, majd kiszámítjuk az állapotok közti energiakülönbséget és átmeneti dipólusmomentum integrálokat. Az energiakülönbség nem más, mint a küszöbenergia, tehát az abszorpció, illetve fluoreszcens maximum, míg az átmeneti dipólusmomentum kvalitatív jellemzése az adott állapotváltozás, megengedettségének. Továbbá **(19)** alapján a sebességi állandó és ezáltal az intenzitások közvetlen összefüggésben állnak az átmeneti dipólusmomentummal. Degerjesztődésnél a csatolt klaszter energiákat TD-DFT szintű perturbatív solvatációs energiákkal korrigáljuk, azaz figyelembe vesszük a solvatációs relaxációt, ezáltal csökkentve a gerjesztett állapot energiaszintjét. Abszorpció esetén V_0 zérusponthoz rezgési energia szintjéről kerül a rendszer V_1 szélsőhelyzetébe, ahonnan elindul egy relaxációs folyamat, majd V_1 zérusponthoz rezgési energia szintjéről fluoreszcens emisszió által jut vissza a rendszer V_0 állapotba. A relaxáció mértéke, V_1 szélsőhelyzete és energiaminimuma közti energiakülönbség (Stokes-féle eltolódás) meghatározható az abszorpció és fluoreszcencia maximumának különbségéből. di-4-ANNEPS festékre kiszámítottam a spinváltó átmenet sebességi állandóját, mely hét nagyságrenddel kisebbnek bizonyult a fluoreszcencia sebességéhez képest. Ennek fényében, az elhanyagolható mértékű spinváltó átmenet és foszforeszcencia tárgyalásától eltekintek.

3.2 Spektrumszámítások részletes ismertetése

A Herzberg-Teller effektus oly rendszerekben releváns melyek tiltott átmenetekkel bírnak, hiszen ilyen esetekben a gerjesztődés intenzitása főként vibronikus csatolás következménye. Az effektus relatív hozzájárulása szolvatált rendszerekben jelentősen kisebb. A vizsgált rendszerek méretükből és rezgési állapotuk számából fakadóan, a tiltott átmenetek szerepe elhanyagolhatóan kicsi. Ezt igazolja, hogy gázfázisban végzett TD-DFT számítások, melyek a pontatlanság felső korlátját határozzák meg, kimutatták, hogy a Herzberg-Teller effektus relatív hozzájárulása kevesebb mint 8 százalék. Mindazonáltal a számításokat elegendő Frank-Condon szinten végrehajtani.

Legjelentősebb tulajdonsága mind a VG és AHAS közelítésnek, hogy a végső állapotok potenciálfelületének adott pontjai az alapállapotból extrapolálva számíthatók. A **(2.4)** fejezetben bemutatott eljárás harmonikus közelítésen alapszik. Ennek következménye, hogyha a kezdeti és végső állapot geometriája, normál módjai túlságosan eltérnek, akkor spektrumszámítás nem elvégezhető ezen a módon. A VG és AHAS közelítések azt teszik lehetővé, hogy az extrapolált gerjesztett állapotok energetikailag kellően megközelítik az optimált szerkezeteket, de geometriailag az alapállapottól nem térnek el annyira, hogy a számítást ellehetetlenítsék.

Abszorpciós spektrum számítás esetében a vertikális gradiens megközelítés a legmegfelelőbb, míg fluoreszcencia terén az AHAS közelítést részesítettem előnyben. VG megközelítés szerint a gerjesztődés során a rendszer az alapállapot minimumáról Q_0 a gerjesztett állapot potenciálfelületének fordulópontjára Q_0^* kerül. A magkonfiguráció és rezgési állapotok kvázi azonosak. Az AHAS közelítés modellezi az emissziós folyamatot a gerjesztett potenciálfelület minimumától kiindulva.

A DLPNO-STEOM-CCSD elmélet használata során a korábbiakban említett gerjesztett gradiens $\bar{g}$ numerikusan számított. Numerikus gradiens számítások folyamán elmozdított geometriákon történik energiaszámolás, melynek kivitelezéséhez az atomok számának hatszorosának megfelelő számú ($6 \times N_{\text{atom}}$) energiaszámolás szükséges. Az ORCA kvantumkémia programcsomagban implementált módszer tökéletesen parallelizált, tehát egy folyamat végez egy geometriai elmozdítást és energiaszámolást. Ámbátor a sikeres számításhoz, minden egyes folyamatnak egyenként rendelkeznie kell elegendő erőforrással. A STEOM formalizmus parallelizálása megosztott memória architektúrára épül, ennek következtében megnövelve a folyamatok számát drasztikusan

megnő a számítás sebessége, viszont ugyanolyan mértékben nő a számítási igény is. Di-4-ANNEPS; egy 70 atomos rendszer esetében a gradiens számolás becsülten nettó 2100 órát vesz igénybe *ab initio* számítással. Mindazonáltal a gradiens és frekvencia számításokat az analitikusan implementált DFT, TD-DFT elméleti szinten végeztem. A sűrűségfunkcionál-elmélet segítségével számított geometriák, rezgési frekvenciák a STEOM elméleti szinten számított gerjesztési energiával és átmeneti dipólusmomentummal való ötvözése, abszorpcióra nézve számos tanulmány által bizonyítottan pontos értékeket eredményez [23], [24], [25].

Az abszorpciós folyamat lejátszódásának időtartama femtoszekundum, emisszióknak nanoszekundum tartományba esik. Ezzel szemben a magkonfiguráció és szolvens újraorientációjának időskálája pikoszekundum. Ennélfogva a szolvatációs hatások abszorpciónál nemegyensúlyi állapotként kezelendők, míg fluoreszcenciánál relaxáció utáni egyensúlyi állapot áll fent. Szolvatációs hatások figyelembevétele érdekében egy implicit szolvatációs modellt használtam. A biológiai sejtmembrán belsejét oktanol oldószer közeggel szimuláltam, fejrészét víz modellel. Jelenleg DLPNO-STEOM-CCSD módszerrel meghatározott energia szolvatációs korrekciójára nincsen csatolt-klaszter szintű implicit szolvatációs modell, csupán egy Hartree-Fock szintű perturbációs korrekció. Figyelembevéve, az ilyen jellegű perturbáció által képzett energiakorrekció additív kezelhetőségét; a Hartree-Fock szolvatációs effektusok helyettesíthetőek TD-DFT szolvatációs effektusokkal. Mind az átmeneti dipólusmomentum és szolvatációs korrekció, az elektronsűrűségtől, illetve alap és gerjesztett állapot hullámfüggvényei közti átfedési integráltól függ **(19)**. Amennyiben a TD-DFT nem a STEOM módszer által számított átmeneti dipólusmomentumokat eredményezi ugyanazokhoz a gerjesztett állapotokhoz, a STEOM energiák TD-DFT perturbatív szolvatációsenergia korrekciója nem ajánlott. Olyan rendszerek melyek több jelentős átmeneti dipólusmomentumú **(24)** gerjesztett állapottal bírnak a TD-DFT módszer közelítéseiből és formulációjából fakadóan kihívást okozhat [26], [27].

A geometriákat és rezgési állapotukat DFT használatával, míg gerjesztési energiákat, átmeneti dipólusmomentumokat és sebességi állandókat DLPNO-STEOM-CCSD alkalmazásával határoztam meg. Az alap- és gerjesztettállapot közti rezgési energiák különbségének korrekciója a gerjesztési energiával megadja a legkisebb energiájú rezgési állapotok közti átmenethez szükséges küszöbenergiát, amely után a sebességi állandó és általa a teljes spektrum kiszámítható.

3.3 Kvantumkémia számítás menete

Geometria optimálást DFT, extrapolációt TD-DFT szinten végeztem a B3LYP hibrid-funkcionállal, mely igazoltan jól alkalmazható gerjesztett állapotok geometriájának meghatározására is [28]. Báziskészletként a módszernek megfelelő háromszoros ζ Karlsruhe báziskészleteket [29], [30] használtam. Ezentúl alkalmaztam a Grimme és munkatársai által paraméterezett D3 diszperzió korrekciót [31], [32]. A kételektron integrálok, Coulomb operátor, és kicserélődési operátor számításának könnyítésének érdekében igénybe vettem az RIJCOSX bázistranszformációt [33], [34]. Az energia konvergencia feltételek szűkítésére a TightSCF beállítást használtam (10^{-8} au. és 10^{-5} au. energia, illetve gradiens küszöbértékek.), míg a geometria konvergenciának feltételeit a TightOpt beállítást segítségével szűkítettem (10^{-6} au. és 10^{-5} au. energia, illetve maximális gradiens komponens küszöbértékek). Mind a DFT és RIJCOSX tekintetében az adaptív DEFGRID2 rácsparamétereket vettem igénybe. Extrapolált geometriákat TD-DFT módszerrel határoztam meg a „Gerjesztett Állapotok Dinamikája” (ESD) modul használatával. Öt gerjesztett állapotot határoztam meg, melyek közül az elsőnek extrapoláltam a geometriáját. A harmonikus rezgések frekvenciáját az optimálás, illetve extrapolálással azonos elméleti szinten számítottam. Az implicit szolvatációs effektusok figyelembevételéhez a CPCM vezetőszerű polarizálható kontinuum [35] modellt választottam, melyet a további gerjesztett állapotok számításánál is alkalmaztam.

Átmeneti dipólusmomentumokat, gerjesztési energiákat és sebességi állandókat a DLPNO-STEOM-CCSD módszerrel számítottam a DFT módszerrel optimált és TD-DFT módszerrel extrapolált geometriákon, a hozzájuk tartozó Hesse-féle mátrixok felhasználásával. Di-4-ANNEPS és di-4-ANNEPQ rendszerek esetében a módszernek megfelelő f polarizációfüggvény mentes háromszoros ζ Karlsruhe báziskészleteket használtam $\zeta(-f)$ melyek gerjesztési energiákra hasonló pontosságot eredményeznek, mint teljes 2df1 polarizációfüggvénnyel rendelkező báziskészlet amellet, hogy számítási igény jelentősen kisebb [36]. Technológia korlátókból fakadóan TA2YN és RhoVR rendszerekre kétszeres ζ bázist alkalmaztam. Öt gerjesztett állapot határoztam meg TightPNO paraméterek mellett: $T_{\text{CutPNO}} = 10^{-7}$, $T_{\text{CutPairs}} = 10^{-5}$, $T_{\text{cutDO}} = 5 \times 10^{-3}$. Abból kifolyólag, hogy $\hat{S}^{EA}$ számítása jelentősen függ az egyszeres természetes elektronpár pályák jellegétől [37], különálló, alapértelmezettnél szűkebb küszöbérték paramétert

szabtam ki ($T_{\text{CutPNOsingles}} = 10^{-11}$). Továbbá a kellően nagy aktív hozzájárulással rendelkező gerjesztett állapotok meghatározásához, a természetes elektronpár pályák betöltöttségének határértékeit (V_{thresh} , O_{thresh}) 5×10^{-3} -ra rögzítettem. Amikor az külön nem kerül jelzésre, a vizsgálat alanya csupán az első elektronikus gerjesztett állapot. A továbbiakban az alapállapotú energiát CCSD energiának míg a gerjesztési energiát STEOM energiának fogom nevezni. Az eddig ismertetett paraméterek az összes további számításban megegyeznek. Vibronikus hatásokat Franck-Condon elv segítségével határoztam meg a STEOM gerjesztési energiából, átmeneti dipólusmomentumból, illetve a DFT rezgési frekvenciákból az ORCA „Gerjesztett Állapotok Dinamikája” (ESD) moduljának igénybevételével. A spektrumokat Gauss típusú görbével ábrázoltam.

Abszorpció számításához a vertikális gradiens modellel extrapoláltam a gerjesztett állapot geometriáját $\mathbf{Q}_0^*$, anélkül, hogy ezen a magkonfiguráción újra számíttattam a STEOM energiát. Ennek következtében csupán az optimált geometriához $\mathbf{Q}_0$ tartozó STEOM energia meghatározására volt szükség. A potenciálfelületek adott pontjai közti adiabatikus energiakülönbség automatikusan megkapható az extrapolált gerjesztett állapot $\mathbf{Q}_0^*$ Hesse-féle mátrixából, anélkül, hogy a geometriáján egy második energiaszámolást számolást kellene végezni.

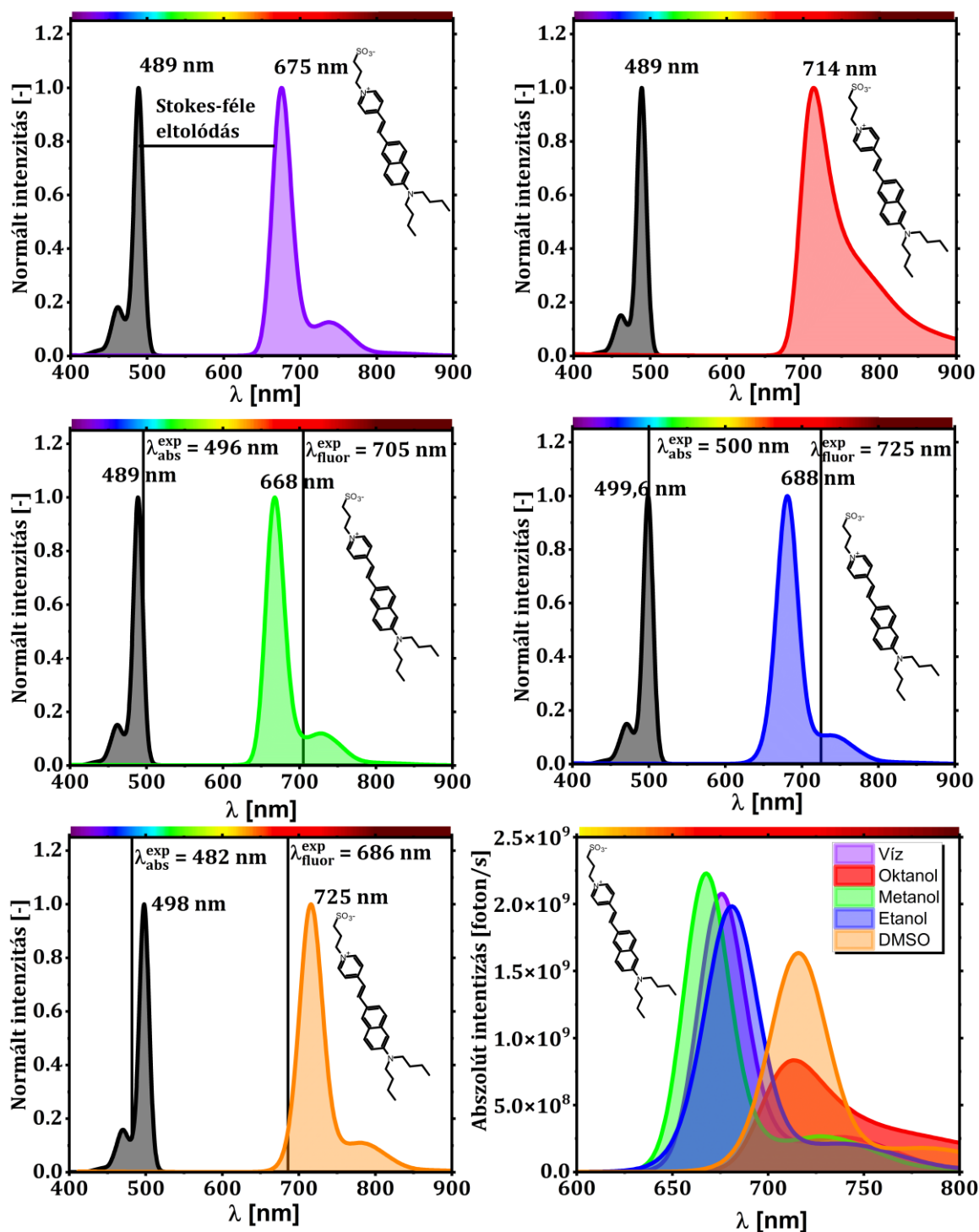
Fluoreszcencia meghatározásához az AHAS közelítéssel extrapoláltam a $\mathbf{Q}_1$ gerjesztett állapotú geometriát, alapállapotú Hesse-féle mátrix és gerjesztett gradiens segítségével. Ezután az így kapott geometrián újraszámítottam a Hesse-féle mátrixot. Ezen az extrapolált geometrián $\mathbf{Q}_1$ meghatároztam TD-DFT módszerrel a (de)gerjesztési energia perturbatív szolvatációs energiakorrekcióját (LRPCM false). Di-4-ANNEPS, di-4-ANNEPQ, TA2YN rendszerekre ehhez a B3LYP funkcionált használtam. A RhoVR esetében **(4.3. fejezet)** DLPNO-STEOM-CCSD módszer által meghatározott gerjesztett állapotok átmeneti dipólusmomentumait, nem képes a B3LYP funkcionál kellő pontossággal reprodukálni, emiatt az LC-BLYP funkcionált használtam. Ugyanezen a geometriákon kiszámítottam az átmeneti dipólusmomentumot és a STEOM energiát, melyben szereplő Hartree-Fock szolvatációs dielektrikumot tagot, az előbbi TD-DFT számításból származó szolvatációs dielektrikum energiával helyettesítettem. Továbbá, korrigáltam a STEOM energiát a perturbatív szolvatációs energiával. Az optimált alapállapot $\mathbf{Q}_0$ CCSD energiájában lévő Hartree-Fock szolvatációs dielektrikum tagot, a geometria optimálásból származó DFT minőségű szolvatációs dielektrikum energiával

helyettesítettem. Adiabatus energiakülönbség a korrigált STEOM energia és korrigált CCSD energia különbségéből adódik. Az átmeneti dipólusmomentum a Q_0 geometrián végzett STEOM számításból származik. Fluoreszcencia spektrumot és sebességi állandót az ESD modul segítségével számítottam a Hesse-féle mátrixok, átmeneti dipólusmomentum és adiabatus energiakülönbség felhasználásával.

Az összes számításhoz az ORCA kvantumkémiai programcsomagot [38]. használtam a Kormányzati Informatikai Fejlesztési Ügynökség (KIFÜ) Komondor megnevezésű szuperszámítógépén.

4. Eredmények

4.1 di-4-ANNEPS



6. ábra. di-4-ANNEPS háromszoros $\zeta(-f)$ bázissal számított abszorpciós és fluoreszcens spektrumai különböző oldószerekben (Víz, Oktanol, Metanol, Etanol, DMSO).

Az általam vizsgált rendszerek közül a di-4-ANNEPS az egyetlen, amely ismert, szintetizált és széles körben használt molekula. Ennek fényében, mint tesztalany szolgált a módszertan validálásra. A számított abszorpció intenzitásának mértékegysége $[L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}]$, míg fluoreszcenciájé $[\text{foton/s}]$, ebből kifolyólag a spektrumok alakjának összehasonlításához normált intenzitásokra van szükség. A di-4-ANNEPS a **6. ábra** alapján egyetlen határozott abszorpciós maximummal (λ_{abs}) rendelkezik, amelynek más-más oldószerekben való varianciája minimális (490-500 nm). Fluoreszcencia maximuma (λ_{fluor}) szintúgy egyetlen szűk sávon belül található. A Stokes-féle eltolódás és fluoreszcencia maximum spektrumbeli helye már ezzel ellentétben jelentősen függ a közeg tulajdonságaitól (675-725 nm). Nagyobb dielektrikummal (ϵ) rendelkező közegben csökken mind az alapállapot, mind gerjesztett állapot energiája. Ámbátor a gerjesztett állapot perturbatív solvatációs energiakorrekciója elsősorban a szolvens törésmutatójától (n) függ; oktanolban, amely kis dielektrikummal ($\epsilon=10,3$) és nagy törésmutatóval ($n=1,421$) bír, a gerjesztett állapot energiája nagyobb mértékben csökken, mint az alapállapoté. Vízben pedig ennek fordítottja áll fenn ($\epsilon=80,4$ és $n=1,33$). Ez a két ellentétes folyamat adja meg víz és oktanolban számított Stokes-féle eltolódás különbségét. Di-4-ANNEPS esetében azt eredményezi, hogy oktanolban kisebb az alap és gerjesztett állapot közti energiakülönbség. Az átmenet sebességi állandója és a spektrum intenzitása között lineáris kapcsolat áll fenn, tehát az intenzitásnál is fellép két ellentétes folyamat, merthogy **(19)** alapján a kisebb energia kisebb energiaspecifikus sebességi állandóhoz nagyobb törésmutató pedig nagyobb energiaspecifikus sebességi állandóhoz vezet, feltéve, hogy az átmeneti dipólusmomentum változatlan.

A spektrumok szélesedése vibronikus hatások eredményeként adódik, spektrumszélességnek meghatározó tényezője pedig a **K** elmozdulás vektor **(25)** nagysága. Vibronikus spektrumnál a sáv szélesség információt ad a rezgési hozzájárulások mértékéről **(23)**. Szélesebb a spektrum, jelentősebbek a rezgési hozzájárulások, nagyobb a belső konverzió mértéke, és kisebb maximális abszolút intenzitás.

4.1.1 Kvantumkémiai protokoll validálása di-4-ANNEPS rendszeren

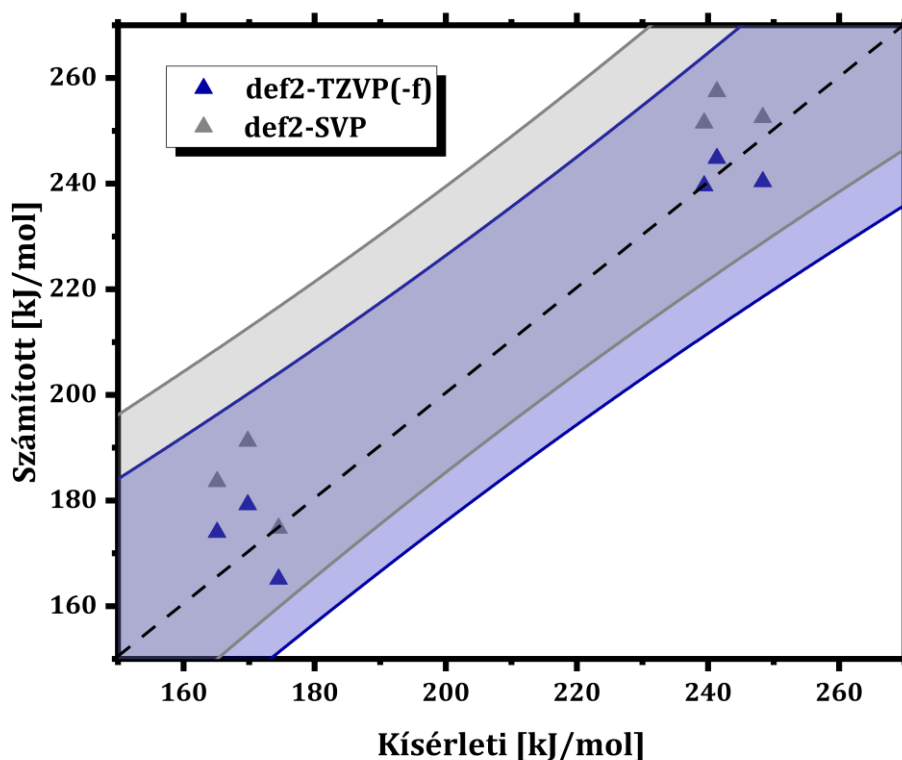
1. táblázat. di-4-ANNEPS abszorpciós és fluoreszcens maximumai háromszoros, illetve kétszeres ζ bázis készlettel számítva, eltérő szolvatációs közegekben. Kísérleti értékekkel szembeni statisztikai jellemzés.

Vegyület	Oldószer	Küszöbenergiák [nm]					
		Abszorpció			Fluoreszcencia		
		kísérleti	def2-TZVP(-f)	def2-SVP	kísérleti	def2-TZVP(-f)	def2-SVP
di-4-ANNEPS	Víz	-	489	465	-	675	627
	Oktanol	-	489	465	-	714	650
	Metanol	496	489	465	705	668	626
	Etanol	500	499,6	476	725	688	652
	DMSO	482	498	474	686	725	685

Kísérleti eredménytől
való eltérés [kJ/mol]

Max(-)	-	-7,98	4,19	-	-9,39	0,25
Max(+)	-	3,45	16,09	-	8,09	21,43
SD	-	5,89	6,05	-	10,70	11,47
MAE	-	3,88	10,78	-	9,22	13,39

Kísérleti értékek: [39], [40], [41]



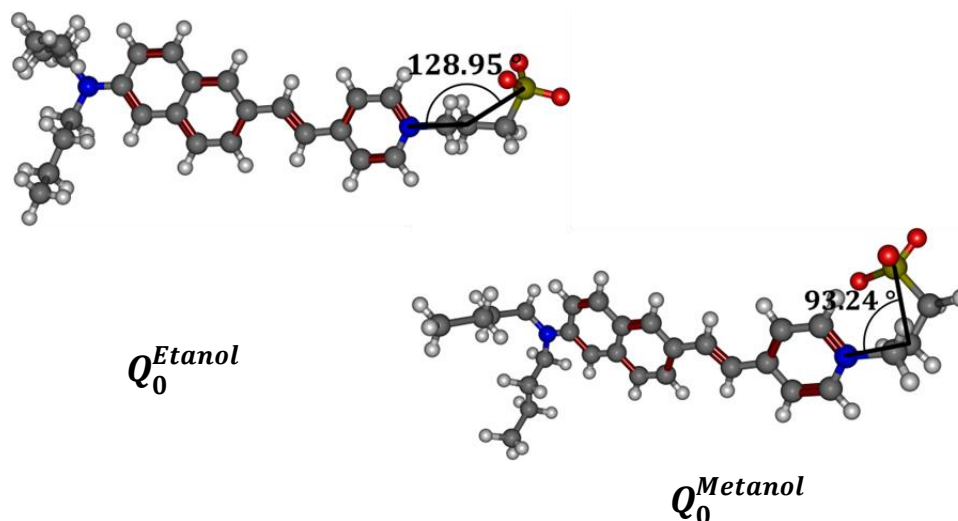
7. ábra. Kétszeres (def2-SVP), háromszoros (def2-TZVP(-f)) ζ bázissal számított gerjeszési és degerjesztődési energiaértékek és kísérleti értékek közti kapcsolat; a szaggatott vonal azt az esetet jelzi amikor a számított és mért értékek megegyeznek, a beárnyékolt rész pedig a 95 százalékos precíziósáv. A bal alsó szekcióban a fluoreszcencia, jobb felsőben az abszorpció maximumok szerepelnek.

Már az előző fejezetben említett küszöbenergiák alatt a kezdeti és végső állapotok közti STEOM energia zérusponti energiával való korrekcióját értem. Abszorpciós folyamatoknál a STEOM energia és küszöbenergia ekvivalens egymással, hiszen jelentős geometria változás hiányában az állapotok közti zérusponti energiakülönbség közel nulla. Fluoreszcencia esetében a küszöbenergia áll a STEOM energiából, zérusponti energiából és DFT perturbatív szolvatációs energiakorrekcióból. Az abszorpció és fluoreszcencia eredmények pontosságát külön tárgyalom, abból adódóan a szolvatációs energiakorrekció egy jelentős módszertani különbség. Az abszorpciós maximumumok a STEOM energia számításának pontosságát írja le. Ez pedig a háromszoros ζ bázis használata esetén konzisztensen közel spektroszkópai pontosság ($< 4\text{ kJ/mol}$). A DLPNO-STEOM-CCSD módszer önmagában egy *ab initio* majdnem „black-boxként is használható” metódus, ezáltal rendszerről rendszerre alacsony varianciát mutat energia számolás pontosságára nézve. Egyetlen korlátja a molekulamérettől való függés és az aktív tér kiválasztásának jósága. A fenti eredmények alapján akár egy 70 atomos rendszer abszorpciója is prediktálható.

Ellenben a fluoreszcencia esetében maga az energiaszámolás is tartalmaz empirikus paramétert DFT perturbatív szolvatációs energia révén, mely nagyobb szórást eredményez az energia számítások pontosságában **(7. ábra)**. A sűrűségfunkcionál-elmélet hátulütője, hogy a számított eredményeket jelentősen befolyásolhatja a választott funkcionál, továbbá egy funkcionál jósága változhat különböző sajátságú rendszerekre. Megszokott DFT protokollal, többféle funkcionállal meghatározott eredmények viszonyítása kísérleti értékekkel. Ámbátor dolgozatomban célja egy olyan protokoll megtalálása, mellyel még nemlétező kísérleti értékeket prediktálunk, nem pedig meglévőket értelmezzünk, így a funkcionál váltásból származó energiakülönbség vizsgálatától eltekintettem. A maximális hiba fluoreszcencia maximumokra nézve háromszoros ζ báziskészlettel közel 10 kJ/mol , amely bőven megfelel STEOM energiának $10 - 50\text{ kJ/mol}$ közti elvárt pontosságának [42]. Ennek fényében a DLPNO-CCSD-STEOM módszer és TD-DFT funkcionál kevert metódusa alkalmas nagy méretű, zwitterionos szerkezetű, szerves molekulák gerjesztési és degerjesztődési küszöbenergiáinak predikciójára.

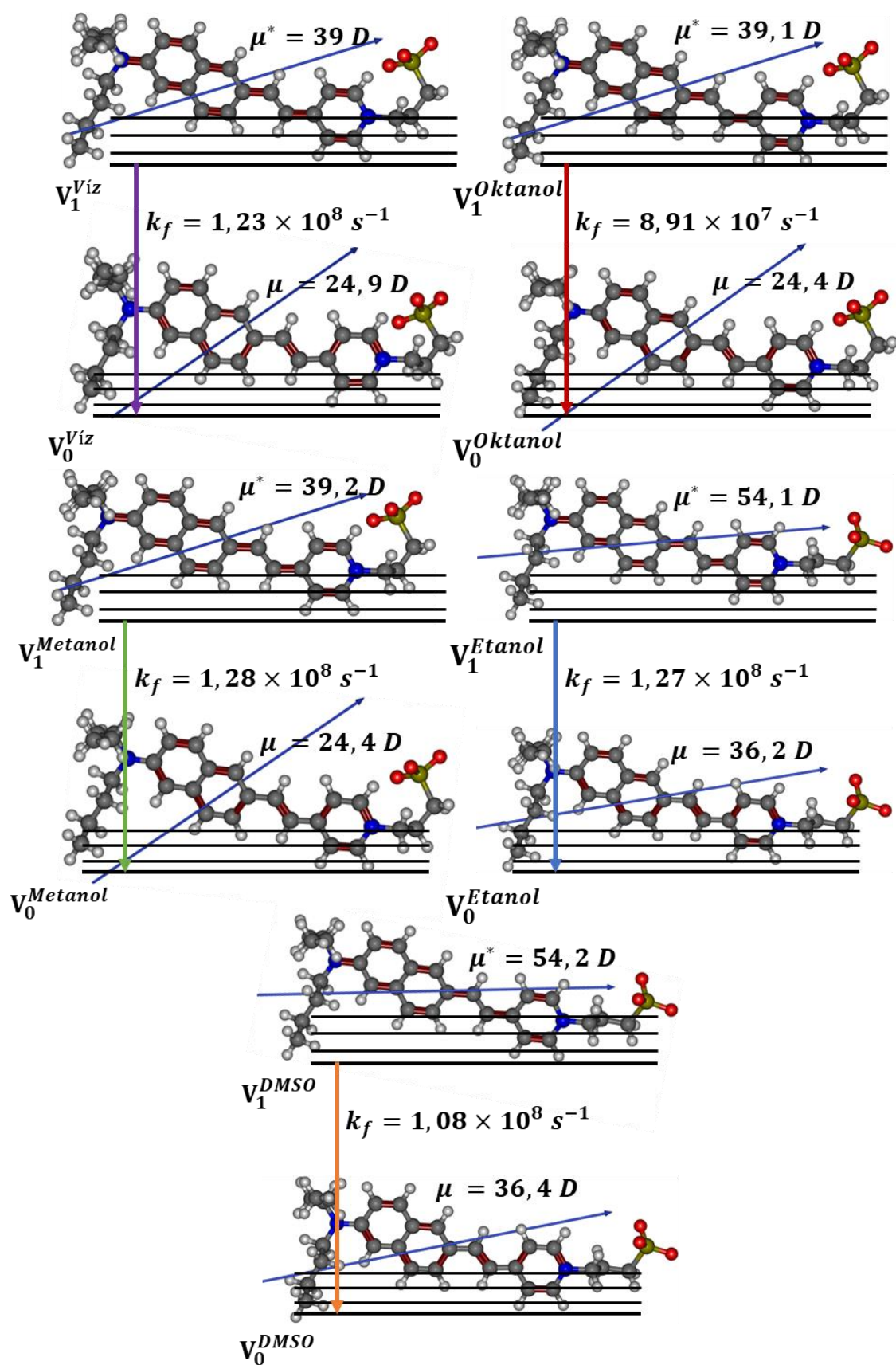
Fontosnak tartom a kétszeres ζ bázissal számított eredményeket vizsgálatát abból kifolyólag, hogy a számítások jelentősen kevesebb időt és erőforrást igénylenek, így még nagyobb molekuláris rendszerekre is elvégezhető. Az energiák pontossága még így is a várható értékek alsó határát (10 kJ/mol) közelítik. Lényeges, hogy az energia értékek

konzisztensen nagyobbak a háromszoros ζ bázissal számítottaknál, mely lehetőséget ad arra, hogy a DFT szolvatációs korrekcióból származó hibát a kétszeres ζ bázis kioltja, így esetenként pontosabb eredményeket is adhat. Továbbá a bázis készlet váltás egy konstans különbséget (10,0 kJ/mol) jelent energiákban, mely lehetőséget nyújt empirikus korrekciók használatához.



8. ábra. di-4-ANNEPS optimált alapállapotú geometriái metanol és etanol oldószerekben; a propilszulfonát orientációja.

A **6. ábra** spektrumain látható abszorpciós maximumokban való különbségek nem szolvatokróm effektusnak tudhatók be, hiszen csatolt-klaszter szintű nemegyensúlyi implicit szolvatációs modell hiányában az abszorpciós gerjesztési energiák korrekciójától eltekintettem. Az abszorpciós maximumok varianciája, több stabil rotációs konformer létezésének köszönhető (**8. ábra**). Elsősorban a propilszulfonát lánc képes eltérő orientációkra. A metanol és etanol hasonló tulajdonságokkal bíró oldószerek ezáltal jól kimutatható csupán a propilszulfonát lánc orientációjából származó energiakülönbség. Az etanol esetében a számított spektrum 1 nanométeren belül megközelíti a kísérletit, melyből következtethető, hogy az optimált geometria egy nagy Boltzmann eloszlással rendelkező konformer. A metanol esetében pedig egy ezzel ellenkező helyzet áll fenn, szemlélítve azt, hogy rotációs konformerektől függetlenül, a számított küszöbenergia kellően pontos, Metanolban, vízben és oktanolban oldott di-4-ANNEPS ugyanaz a konformer ezáltal megegyeznek az abszorpciós maximumok ahogy azt az **6. ábra** mutatja. Ugyanez igaz az etanolban és DMSO-ban modellezett di-4-ANNEPS-re is.



9. ábra. Jablonski-diagramm; di-4-ANNEPS degerjesztődési folyamatának fő elemei; fluoreszcencia sebességi állandói, alapállapotú és gerjesztett szerkezetei, illetve dipólusmomentumai különböző oldószerekben.

A **9. ábra** bemutatja **3. ábra** segítségével szemléltett elektrontranszfer mechanizmusnak kvantumkémiai alátámasztását. Az ábrán ugyanazon szögből láthatóak a di-4-ANNEPS szerkezetei, kék nyíl mutatja a dipólusmomentum vektor irányát és nagyságát. Az alap és gerjesztett állapot dipólusmomentum vektorjainak iránya és nagysága is mutatja az intramolekuláris töltéstranszfer okozta elektronsűrűség megváltozását. Az Etanol és DMSO közegben nagyban eltér a dipólusmomentum a többihez képest, mely annak tudható be, hogy az optimált alapállapot és ezáltal a gerjesztett állapot is a többitől eltérő konformer. A propilszulfonát lánc képezi a negatív pólusát rendszernek így orientációja értelemszerűen kihat az elektronsűrűsége és dipólusmomentumra.

A k_f sebességi állandó információt ad fluoreszcencia időbeli lefutásáról, csakúgy, mint a fluoreszcencia-élettartam τ_f , mely alatt az gerjesztett molekulák száma e-ad részére csökken $\tau_f = \frac{1}{k_f}$. Minél kisebb az élettartam annál intenzívebb a fluoreszcencia, továbbá a rövid élettartama azt is jelenti, hogy a biológia membrán akciós potenciáljának (**2. ábra**) időtartama alatt, több (de)gerjesztési folyamat megy végbe ezáltal az akciós potenciál változása nagyobb felbontásban megfigyelhető. A számítások alapján di-4-ANNEPS vegyület, metanolban rendelkezik a legkisebb élettartammal ($\tau_f = 7,8\text{ns}$), viszont a többi oldószer esetén sem haladja meg a 11,2 ns-ot. A többi közegben számított kinetikai paramétert a **2. táblázat** foglalja össze, mely alapján bázis készlet váltás egy nagyjából konstanssal való eltolást eredményez, tehát a kétszeres bázis használható a háromszoros bázis eredményeinek becslésére.

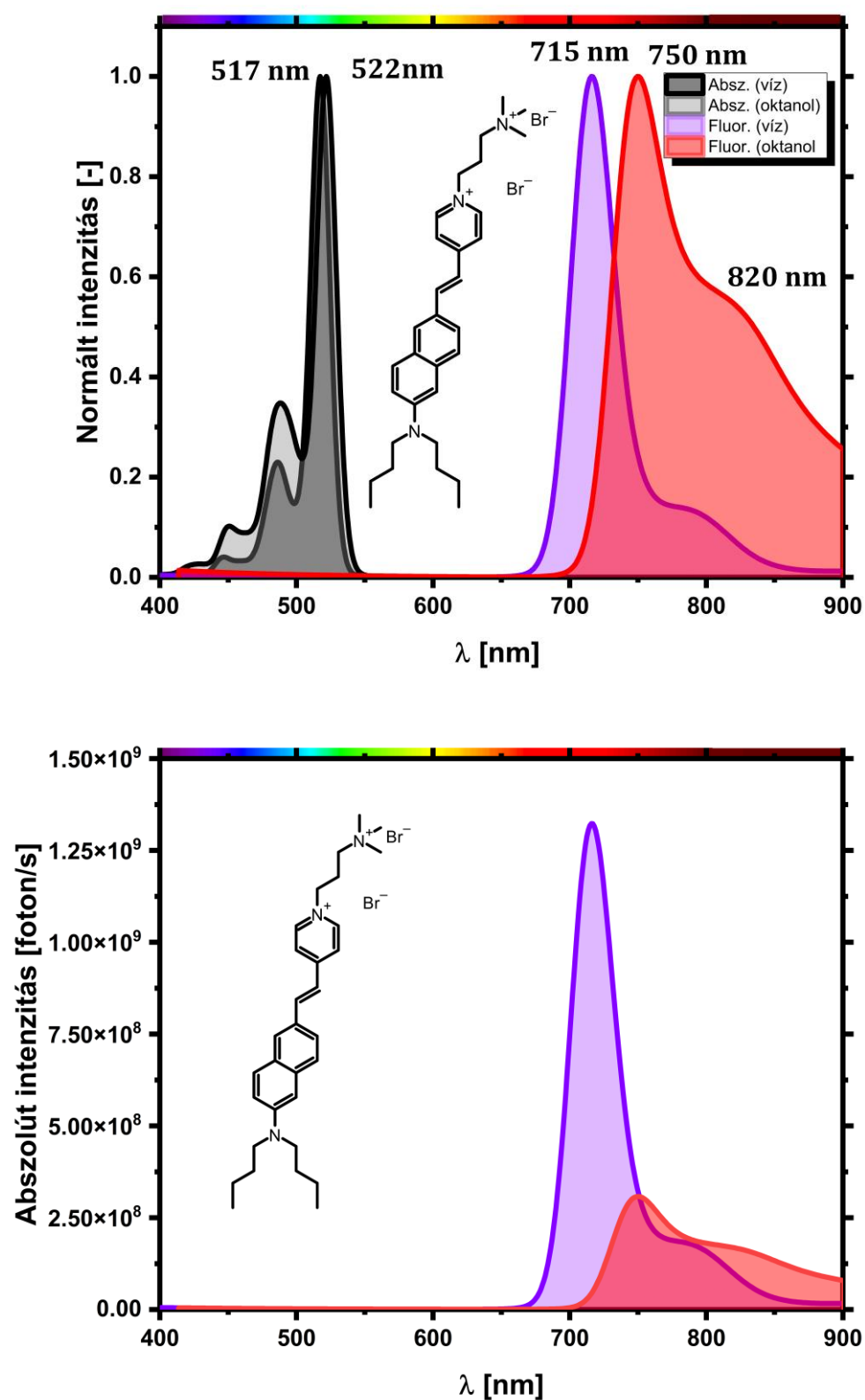
2. táblázat. di-4-ANNEPS sebességi állandójának és ezáltal fluoreszcencia élettartamának báziskészlet függése

Vegyület	Oldószer	Sebességi állandó k_f [s^{-1}]		Fluoreszcencia élettartam τ_f [ns]	
		def2-TZVP(-f)	def2-SVP	def2-TZVP(-f)	def2-SVP
Di-4-ANNEPS	Víz	$1,23 \times 10^8$	$1,46 \times 10^8$	8,1	6,8
	Oktanól	$8,91 \times 10^7$	$1,08 \times 10^8$	11,2	9,2
	Metanol	$1,28 \times 10^8$	$1,48 \times 10^8$	7,8	6,7
	Etanol	$1,27 \times 10^8$	$1,45 \times 10^8$	7,9	6,9
	DMSO	$1,08 \times 10^8$	$1,25 \times 10^8$	9,3	8,0

*def2-TZVP(-f) báziskészlettől való
százalékos eltérés*

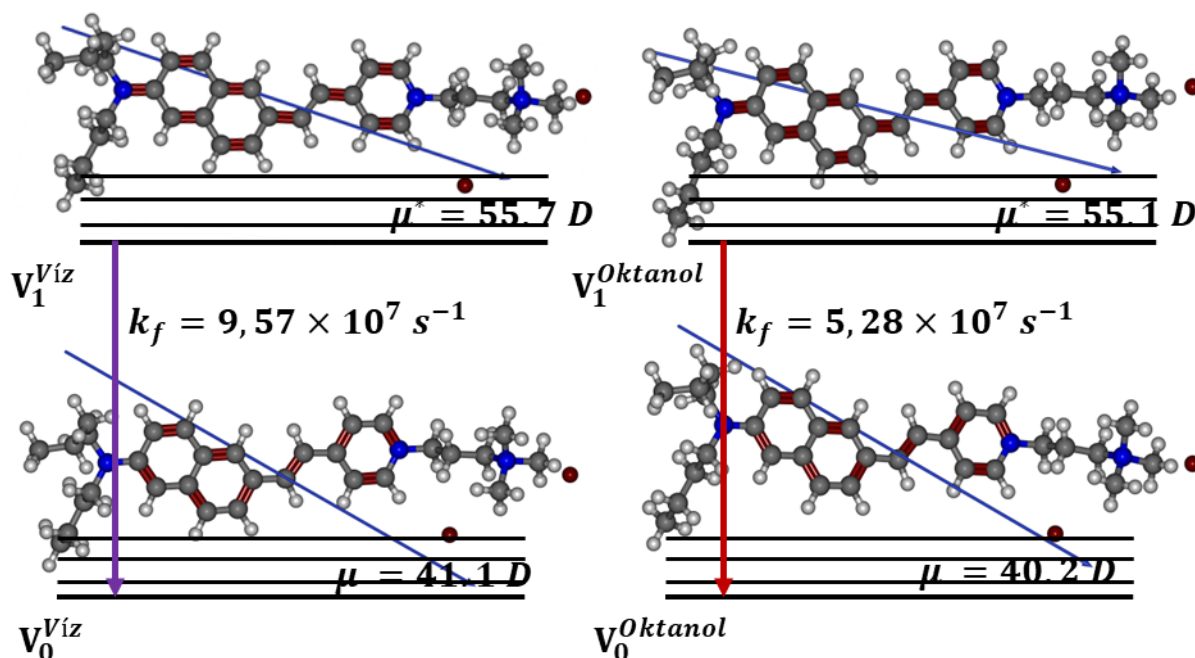
Max(-)	-	13%	-	14%
Max(+)	-	18%	-	22%
SD	-	2%	-	3%
MAE	-	15%	-	18%

4.2 di-4-ANNEPQ



10. ábra. di-4-ANNEPQ abszorpció és fluoreszcencia spektruma vízben és oktanolban háromszoros ζ bázissal számítva.

A következő vizsgált molekula az di-4-ANNEPS-től annyiban tér el, hogy az negatív töltésű alkil-szulfonát oldalláncot egy pozitív töltésű trimetilezett kvaterner alkilaminra cseréltük. A vizsgált di-4-ANNEPQ részecske neutralitását bromidionok biztosítják. Ez a szerkezeti eltérés a di-4-ANNEPQ és az előző fejezetben tárgyalt di-4-ANNEPS között, a di-4-ANNEPQ küszöbenergiáinak vörös eltolódásaként mutatkoznak. Az abszolút intenzitásokat nézve **(10. ábra)** a fluoreszcencia mértéke oktanolban körülbelül ötödakkora mint vízben. Különlegessége, hogy közel egyenletesen csökkenő intenzitással bocsát ki egyre nagyobb hullámhosszú fényt, ezáltal egy szélesebb hullámhossz skálán történő mérés során a detektált fotonok száma nem feltételül csökken drasztikusan. di-4-ANNEPS-hez viszonyítva azt mondható az fluoreszcencia intenzitása mindkét közegben feleakkora.

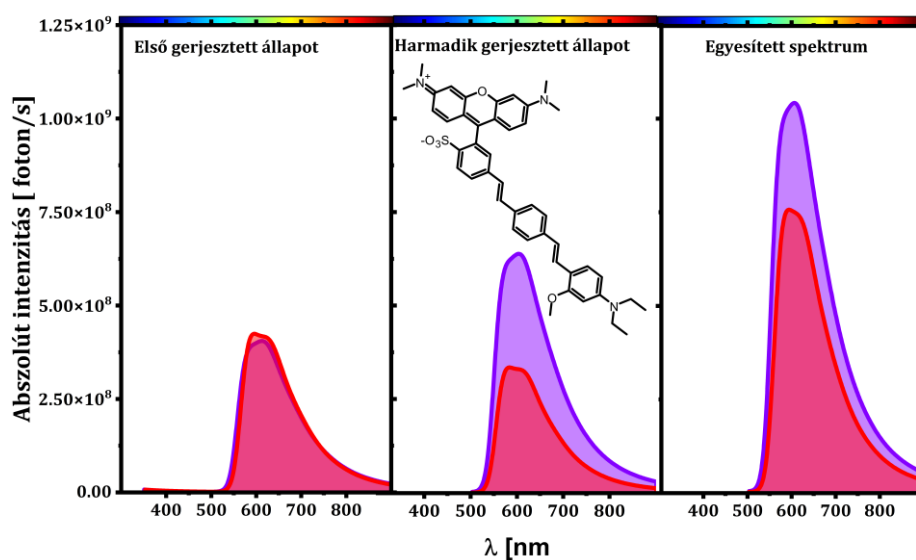
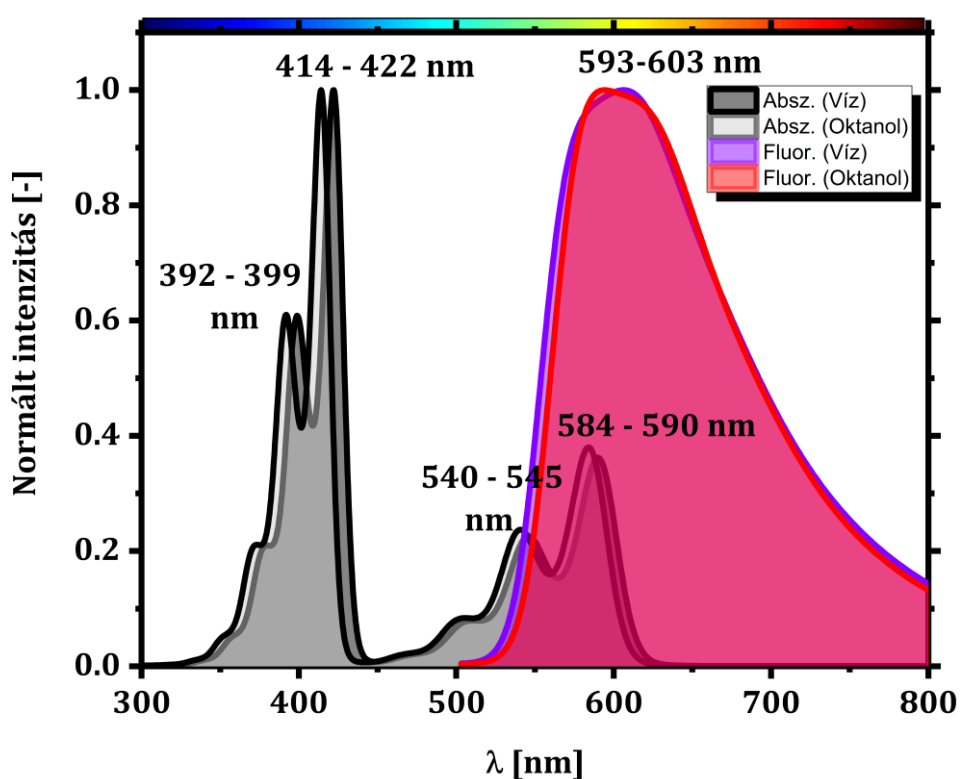


11. ábra. Jablonski-diagramm; di-4-ANNEPQ degerjesztődési folyamatának fő elemei; fluoreszcencia sebességi állandói, alapállapotú és gerjesztett szerkezetei, illetve dipólusmomentumai víz és oktanol oldószerekben.

A di-4-ANNEPQ vegyület gerjesztése során intramolekuláris töltéstranszfer megy végbe, mint a di-4-ANNEPS esetében is, viszont a dipólusmomentum vektorok eltérő irányúak és nagyobbak: a di-4-ANNEPQ alapállapotában 40 D körüli érték, míg ez a di-4-ANNEP esetén 24 D körül volt, a di-4-ANNEP gerjesztett állapota 39 D nagyságú dipólusmomentumvektor tartozik, míg a di-4-ANNEPQ esetén ez akár 55D is lehet. A rendszer negatív pólusát a brómíd képezi, így a dipólusmomentum nagyobb a di-4-

ANNEPS-hez képest, de gerjesztés során történő növekedése hasonló mértékű (15D). A kisebb intenzitásokból következik, hogy nagyobb az a fluoreszcens élettartam. Vízben 10,4 nanoszekundum, míg oktanolban 18,9 nanoszekundum.

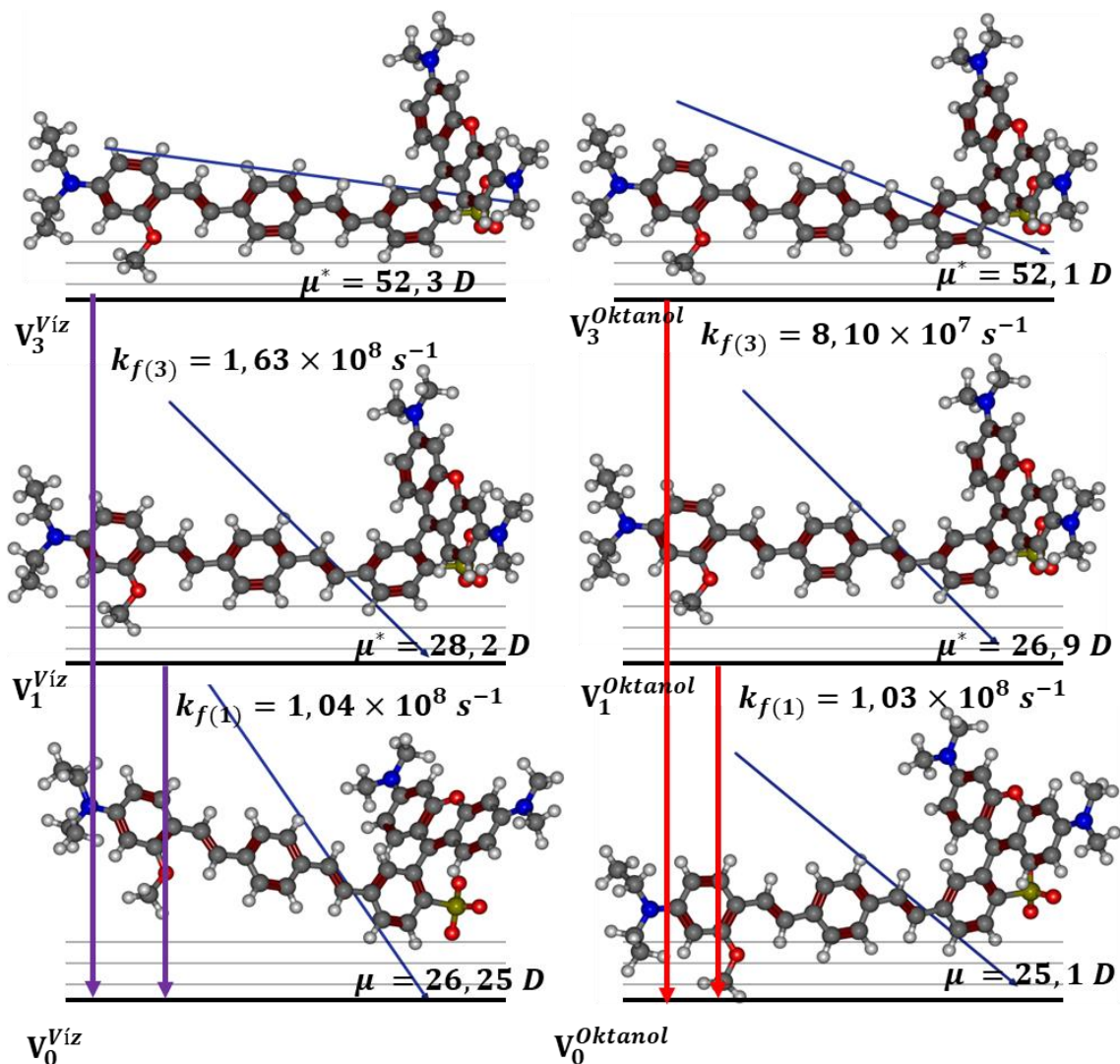
4.3 RhoVR



12. ábra. RhoVR első, és harmadik gerjesztett állapotához tartozó spektrumok vízben és oktanolban, kétszeres ζ bázissal számítva.

A RhoVR kettő nagy átmeneti dipólusmomentumú gerjesztett állapottal bír. Ezen állapotok egyesített és különálló spektrumait mutatja a **12. ábra**. Az első gerjesztett állapot 584-590 nanométeres abszorpciós maximummal bír, és egy kis mértékű Stokes-féle eltolódást követően 596-604 nanométer hullámhosszú fotont emissziójával visszajut alapállapotába. A harmadik gerjesztett állapot 414-422 nanométeres abszorpciós maximummal rendelkezik, és nagy mértékű Stokes-féle eltolódást követve 584-603 nanométer hullámhosszú fényt bocsát ki. Amikor a két degerjesztődés egyidejűleg megy végbe akkor 593 – 603 nanométer hullámhosszú kibocsátott fotonok száma a legnagyobb. A Stokes-féle eltolódásokban lévő eltérés két különböző mechanizmus eredménye (**13. ábra**). A harmadik gerjesztett állapotban megy végbe fotonindukált intramolekuláris elektrontranszfer. Ennek a gerjesztett állapotnak a Stokes-féle eltolódása oktanolban és vízben ugyanaz, vagyis a **4.1. fejezetben** tárgyalt dielektrikum és törésmutatókból származó ellentétes folyamatok, kiegyenlítik egymást.

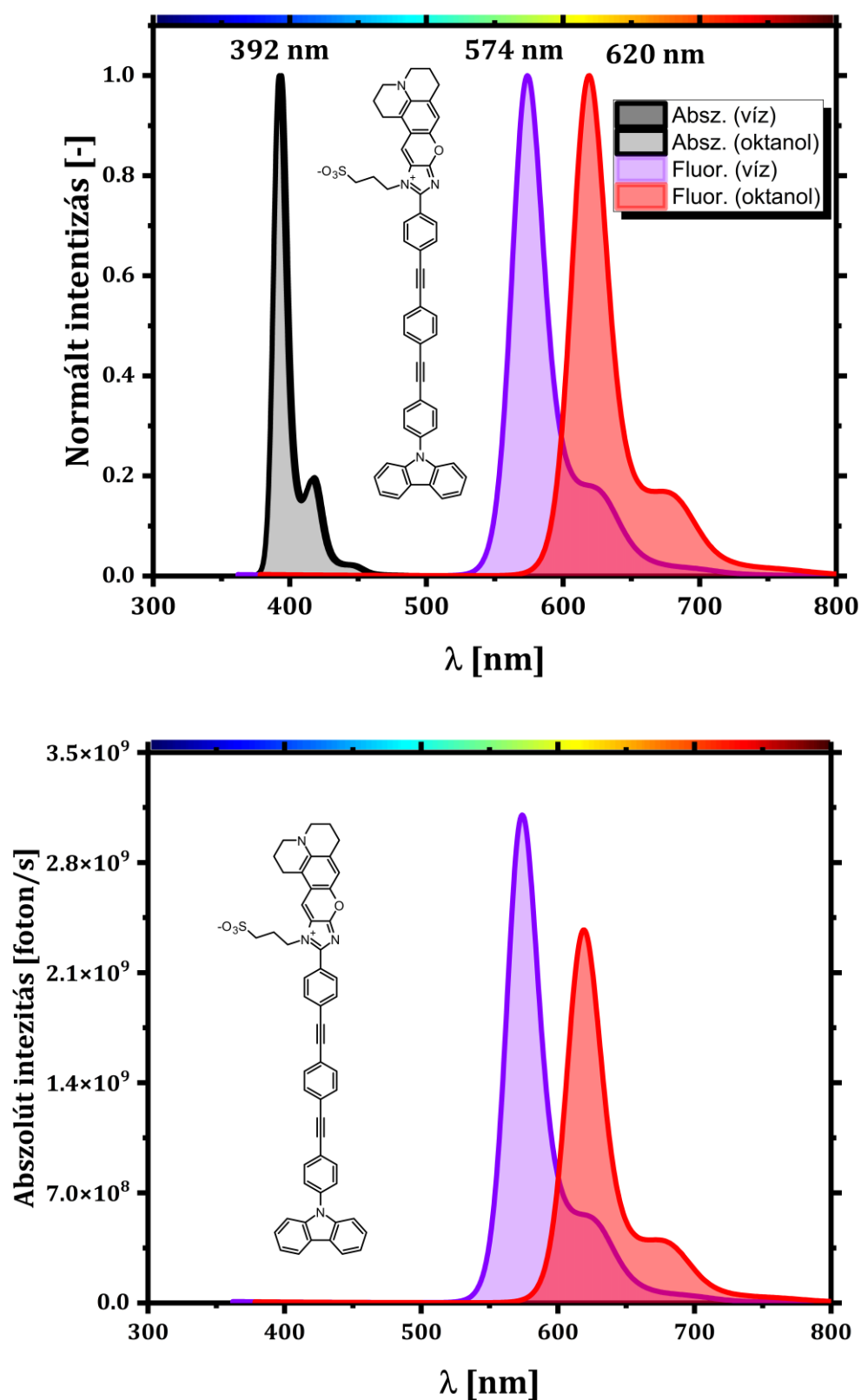
Az abszolút intenzitásokból az következik, hogy oktanolban kisebb mértékben megy végbe elektrontranszfer és ezáltal csökken a fluoreszencia intenzitása. Az intenzitáscsökkenés oktanolban magának az átmeneti dipólusmomentumnak csökkenésének okozata. Sávszélességben nincs változás a két oldószer között, a vibronikus hatások csupán közelítő jellegűek abból adódóan, hogy csupán az első gerjesztett állapot geometriája került meghatározásra.



13.ábra Jablonski-diagramm; RhoVR degerjesztődési folyamatának fő elemei; fluoreszcencia sebességi állandói, alapállapotú és gerjesztett szerkezetei, illetve dipólusmomentumai víz és oktanol oldószerekben.

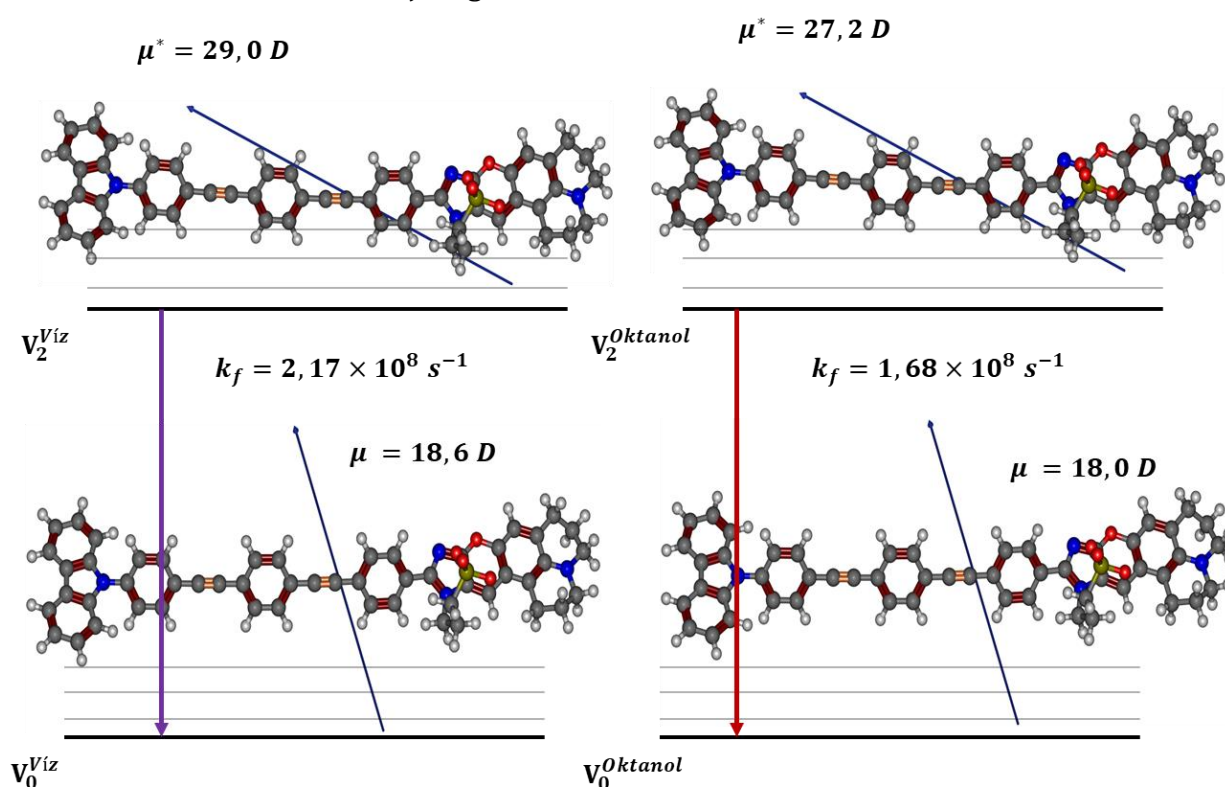
A dipólusmomentum vektor nagyságának növekedése és irányának változása jelzi a harmadik gerjesztett állapotban az elektrontranszfer végmenetét. Sebességi állandók szerint, vízben az első és harmadik gerjesztett állapot élettartama 7,1 és 6,1 nanoszekundum. Oktanolban 12,3 és 9,7 nanoszekundum. Oktanolban annyira csökken az elektrontranszfer okozta fluoreszcencia intenzitása, hogy az emittált fotonok többsége az első gerjesztett állapot dezaktivációjából származik.

4.4 TA2YN



14. ábra. TA2YN második gerjesztett állapotának abszorpció és fluoreszencia spektruma kétszeres ζ bázissal számítva

A TA2YN festék második gerjesztett állapota bír nagy átmeneti dipólusmomentummal. Ennek abszorpciós maximuma bőven a kék színskálán, egy szűk sávon belül helyezkedik. Fluoreszcens emissziója szintúgy egy szűk sávon belül található. A spektrumok alakja nagyrészen hasonlít a di-4-ANNEPS (**6. ábra**) és di-4-ANNEPQ (**10. ábra**) festékekhez. Az vizsgált vegyületek közül a TA2YN rendelkezik a legnagyobb intenzitással és Stokes-féle eltolódással. Az eddigiekkel megegyezően oktanolban nagyobb hullámhosszú fotont bocsát ki, kisebb intenzitással. A RhoVR festékhez analóg módon a spektrumban a vibronikus hatások közelítő jellegűek.



15.ábra. Jablonski-diagramm; TA2YN degerjesztődési folyamatának fő elemei; fluoreszcencia sebességi állapotai, alapállapotú és gerjesztett szerkezetei, illetve dipólusmomentumai víz és oktanol oldószerekben.

A **15.ábra** által szemléltetett dipólusmomentumok irányaik arra utalnak, hogy második gerjesztett állapotban végbemegy elektrontranszfer, de nem az akceptor és donor régiók között (**3. ábra**), hanem az akceptor régió belül. Az eddig előfordult elektrontranszfer mechanizmus TA2YN negyedik gerjesztett állapotában megy végbe, amihez 260 nanométer hullámhosszú UV sugárzás szükséges, és akkor is csak kis valószínűségű a gerjesztődés (60-szor kisebb az oszcillátor erőssége, mint a második gerjesztett állapoténak).

A TA2YN fluoreszcencia sebességi állandóból, következik, hogy fluoreszcens élettartama vízben 4,6, oktanolban 5,9 nanoszekundum, tehát a vizsgált festékek közül a TA2YN a legrövidebb élettartamú.

5. Konklúzió

Dolgozatom céljának egy olyan kvantumkémia protokoll megtalálását tűztem ki, amellyel prediktálható nagyméretű, komplex elektronszerkezetű, feszültségérzékeny fluoreszcens festékek gerjesztési tulajdonsága, Ily módon feszegetve a legmodernebb kvantumkémia módszerek alkalmazhatóságának felső határait. A módszer kidolgozásához egy ismert biológiai rendszerekben feszültségérzékeny fluoreszcens festékként használt molekulát, a di-4-ANNEPS-t választottam.

A DLPNO-CCSD-STEOM módszer sűrűségfüggő elmélettel számított geometriák és harmonikus rezgések felhasználásával képes akár 100 atomos rendszerek abszorpciós spektrumának predikciójára. Képes pontos dipólusmomentumok és átmeneti dipólusmomentumok meghatározására is. Mindazonáltal információt ad az egyes gerjesztési mechanizmusokra, melyek felhasználhatóak további spektrális tulajdonságok meghatározására, mint például fluoreszcencia és egyéb degerjesztődési folyamatok. Ámbátor vannak hiányosságok. A vizsgált fotonindukált intramolekuláris elektrontranszferrel működő fluoreszcens festékek, jellegzetes tulajdonsága a nagy mértékű szolvatációs relaxáció és Stokes-féle eltolódás. Magára a mechanizmus mivoltára fényt derít az abszorpció számításból származó eredmények. A dolgozatban vizsgált konkrét esetekben Hartree-Fock szintű kiátlagolt elektrontér értelemszerűen nem elegendő elektrontranszfer mechanizmusok közegérzékenységének leírására. Csatolt-klaszter szintű szolvatációs modell hiányában szükséges TD-DFT szintű szolvatációs modell igénybevétele, mely magával hordozza a TD-DFT hiányosságait és alkalmazásának nehézségeit. Még továbbra is igaz marad, hogy a TD-DFT módszerekkel való energiaszámoláshoz szükséges egy viszonyítási alap. Különbséget képez ugyan, hogy ezt az alapot a DLPNO-STEOM-CCSD módszerrel számított eredmények szolgálják, nem pedig kísérleti értékek.

A di-4-ANNEPS-en túl fluoreszcens festékfejlesztés kezdeti lépéseként még további ismert típusú (di-4-ANNEPQ, RhoVR) és jövőben szintetizálni tervezett (TA2YN)

molekulákon végeztem el a számításaimat. A vizsgált festékek mindegyike megfelel fluoreszcens festékek kritériumának. Intenzív abszorpcióval, fluoreszcenciával bírnak, érzékenyek a környezeti hatásokra és gerjesztésük során nem vesznek részt fotokémia reakciókban. Kibocsájtott fotonjaik a látható tartományhoz tartozó hullámhosszal bírnak. Mindegyikük rendelkezik fotonindukált intramolekuláris elektrontranszfer alapú elektronikus gerjesztett állapottal, melynek emissziós intenzitása környezet hatására jelentősen változhat, mindazonáltal képesek eltérő fluoreszcens intenzitással jelezni az akciós potenciál megváltozását. Rövid fluoreszcens élettartamuk által az akciós potenciál több milliszekundumos időtartama alatt, folyamatos visszajelzést adnak annak jellegéről, ezáltal lehetővé teszik a nagy felbontású vizsgálatot.

Összességében sikerült egy flexibilis, komplex és prediktív protokoll megtalálása, mely eszközként szolgálhat, adott spektrális tulajdonságú molekulák tervezéséhez. A számítási kapacitás növekedtével és egy fejlettebb szolvatációs modell kifejlesztésével, a használati nehézségei enyhülni, eredmények pontossága pedig javulni fog. Mindaddig a dolgozatomban bemutatott módszertan képezi a spektrumszámítás felső korlátját.

6. Irodalomjegyzék

- [1] D. Sándor, F. Judit, and S. János, *Orvosi biofizika*, 3. javított kiadás. Medicina könyvkiadó.
- [2] L. M. Loew, "Design and Use of Organic Voltage Sensitive Dyes," *Adv Exp Med Biol*, vol. 859, pp. 27–53, 2015,
- [3] J. R. Lakowicz, "Principles of fluorescence spectroscopy," *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, pp. 1–954, 2006,
- [4] P. R. Dragsten and W. W. Webb, "Mechanism of the Membrane Potential Sensitivity of the Fluorescent Membrane Probe Merocyanine 540," *Biochemistry*, vol. 17, no. 24, pp. 5228–5240, 1978,
- [5] Attila Szabó and Neil S. Ostlund, *Modern Quantum Chemistry: Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*. Courier Corporation, 1996.
- [6] P. Hohenberg and W. Kohn, "Inhomogeneous electron gas," *Physical Review*, vol. 136, no. 3B, p. B864, Nov. 1964,
- [7] T. Veszprémi and M. Fehér, *A kvantumkémia alapjai és alkalmazása*. Műszaki Könyvkiadó, 2002.
- [8] A. D. Becke, "Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange," *J Chem Phys*, vol. 98, no. 7, pp. 5648–5652, Apr. 1993,
- [9] S. F. Sousa, P. A. Fernandes, and M. J. Ramos, "General Performance of Density Functionals," *Journal of Physical Chemistry A*, vol. 111, no. 42, pp. 10439–10452, Oct. 2007,
- [10] R. J. Bartlett and M. Musiał, "Coupled-cluster theory in quantum chemistry," *Rev Mod Phys*, vol. 79, no. 1, pp. 291–352, Feb. 2007,
- [11] R. J. Bartlett, "Coupled-cluster approach to molecular structure and spectra: A step toward predictive quantum chemistry," *Journal of Physical Chemistry*, vol. 93, no. 5, pp. 1697–1708, 1989,
- [12] L. Piela, "Ideas of Quantum Chemistry," *Ideas of Quantum Chemistry*, pp. 1–1086, Jan. 2006,
- [13] M. Nooijen and R. J. Bartlett, "Similarity transformed equation-of-motion coupled-cluster theory: Details, examples, and comparisons," *J Chem Phys*, vol. 107, no. 17, pp. 6812–6830, Nov. 1997,

- [14] A. K. Dutta, M. Nooijen, F. Neese, and R. Izsák, "Automatic active space selection for the similarity transformed equations of motion coupled cluster method," *J Chem Phys*, vol. 146, no. 7, Feb. 2017,
- [15] C. Riplinger and F. Neese, "An efficient and near linear scaling pair natural orbital based local coupled cluster method," *J Chem Phys*, vol. 138, no. 3, Jan. 2013,
- [16] J. M. Foster and S. F. Boys, "Canonical Configurational Interaction Procedure," *RvMP*, vol. 32, no. 2, pp. 300–302, 1960,
- [17] P. O. Löwdin, "Quantum Theory of Many-Particle Systems. I. Physical Interpretations by Means of Density Matrices, Natural Spin-Orbitals, and Convergence Problems in the Method of Configurational Interaction," *Physical Review*, vol. 97, no. 6, p. 1474, Mar. 1955,
- [18] P. Pulay, "Localizability of dynamic electron correlation," *Chem Phys Lett*, vol. 100, no. 2, pp. 151–154, Sep. 1983,
- [19] S. J. Strickler and R. A. Berg, "Relationship between Absorption Intensity and Fluorescence Lifetime of Molecules," *J Chem Phys*, vol. 37, no. 4, pp. 814–822, Aug. 1962,
- [20] B. De Souza, F. Neese, and R. Izsák, "On the theoretical prediction of fluorescence rates from first principles using the path integral approach," *Journal of Chemical Physics*, vol. 148, no. 3, Jan. 2018,
- [21] "Duschinsky, F. *Acta Physicochim. URSS*, 7, 551," 1937.
- [22] F. J. Avila Ferrer and F. Santoro, "Comparison of vertical and adiabatic harmonic approaches for the calculation of the vibrational structure of electronic spectra," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 14, no. 39, pp. 13549–13563, Sep. 2012,
- [23] M. H. Lechner, F. Neese, and R. Izsák, "An excited state coupled-cluster study on indigo dyes," *Mol Phys*, vol. 119, no. 21–22, Nov. 2021,
- [24] R. Berraud-Pache, F. Neese, G. Bistoni, and R. Izsák, "Computational Design of Near-Infrared Fluorescent Organic Dyes Using an Accurate New Wave Function Approach," *Journal of Physical Chemistry Letters*, vol. 10, no. 17, pp. 4822–4828, Sep. 2019,
- [25] A. Sirohiwal, R. Berraud-Pache, F. Neese, R. Izsák, and D. A. Pantazis, "Accurate Computation of the Absorption Spectrum of Chlorophyll a with Pair Natural Orbital Coupled Cluster Methods," *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 124, no. 40, pp. 8761–8771, Oct. 2020,

- [26] F. Neese, "Prediction of molecular properties and molecular spectroscopy with density functional theory: From fundamental theory to exchange-coupling," *Coord Chem Rev*, vol. 253, no. 5–6, pp. 526–563, Mar. 2009,
- [27] F. Neese, "A critical evaluation of DFT, including time-dependent DFT, applied to bioinorganic chemistry," *J Biol Inorg Chem*, vol. 11, no. 6, pp. 702–711, 2006,
- [28] R. Berraud-Pache, F. Neese, G. Bistoni, and R. Izsák, "Unveiling the Photophysical Properties of Boron-dipyrromethene Dyes Using a New Accurate Excited State Coupled Cluster Method," *J Chem Theory Comput*, vol. 16, no. 1, pp. 564–575, Jan. 2020,
- [29] F. Weigend and R. Ahlrichs, "Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 7, no. 18, pp. 3297–3305, Aug. 2005,
- [30] F. Weigend, "Accurate Coulomb-fitting basis sets for H to Rn," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 8, no. 9, pp. 1057–1065, Feb. 2006,
- [31] S. Grimme, S. Ehrlich, and L. Goerigk, "Effect of the damping function in dispersion corrected density functional theory," *J Comput Chem*, vol. 32, no. 7, pp. 1456–1465, May 2011,
- [32] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, and H. Krieg, "A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu," *Journal of Chemical Physics*, vol. 132, no. 15, Apr. 2010,
- [33] F. Neese, F. Wennmohs, A. Hansen, and U. Becker, "Efficient, approximate and parallel Hartree–Fock and hybrid DFT calculations. A 'chain-of-spheres' algorithm for the Hartree–Fock exchange," *Chem Phys*, vol. 356, no. 1–3, pp. 98–109, Feb. 2009,
- [34] R. Izsák and F. Neese, "An overlap fitted chain of spheres exchange method," *Journal of Chemical Physics*, vol. 135, no. 14, Oct. 2011,
- [35] V. Barone and M. Cossi, "Quantum Calculation of Molecular Energies and Energy Gradients in Solution by a Conductor Solvent Model," *Journal of Physical Chemistry A*, vol. 102, no. 11, pp. 1995–2001, Mar. 1998,
- [36] R. Berraud-Pache, F. Neese, G. Bistoni, and R. Izsák, "Unveiling the Photophysical Properties of Boron-dipyrromethene Dyes Using a New Accurate Excited State Coupled Cluster Method," *J Chem Theory Comput*, vol. 16, no. 1, pp. 564–575, Jan. 2020,

- [37] A. K. Dutta, M. Saitow, B. Demoulin, F. Neese, and R. Izsák, "A domain-based local pair natural orbital implementation of the equation of motion coupled cluster method for electron attached states," *Journal of Chemical Physics*, vol. 150, no. 16, Apr. 2019,
- [38] F. Neese, F. Wennmohs, U. Becker, and C. Riplinger, "The ORCA quantum chemistry program package," *Journal of Chemical Physics*, vol. 152, no. 22, Jun. 2020,
- [39] "Di-4-ANEPPS *CAS#: 90134-00-2* | AAT Bioquest." Accessed: Apr. 17, 2024. [Online]. Available: <https://www.aatbio.com/products/di-4-anepps-cas-90134-00-2>
- [40] "Di-4-ANEPPS - Biotium." Accessed: Apr. 17, 2024. [Online]. Available: <https://biotium.com/product/di-4-anepps/>
- [41] "Di-4-ANEPPS | Potentiometric Probes." Accessed: Apr. 17, 2024. [Online]. Available: <https://potentiometricprobes.com/di-4-anepps/>
- [42] V. Barone *et al.*, "Computational molecular spectroscopy," *Nature Reviews Methods Primers* 2021 1:1, vol. 1, no. 1, pp. 1–27, May 2021,