

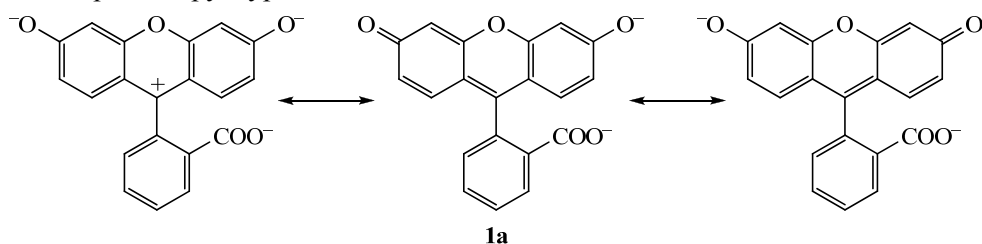
А. В. Лебедь<sup>1\*</sup>, А. В. Бирюков<sup>1</sup>, Н. О. Мчедлов-Петросян<sup>1</sup>

## КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТАУТОМЕРНЫХ РАВНОВЕСИЙ ФЛУОРЕСЦЕИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ В ДМСО

Представлены оценки относительной термодинамической стабильности различных таутомеров молекулярных и анионных форм флуоресцеина, его 2,4,5,7-тетрабромпроизводного (эозина), а также сульфифлуоресцеина, 4'- и 5'-аминофлуоресцеинов и 2,4,5,7-тетранитрофлуоресцеина в ДМСО на основании квантово-химического исследования; в отдельных случаях расчёты проведены для газовой фазы и водных растворов. Эти результаты, полученные для 39 структур (15 из них впервые изучены квантово-химическим методом), в целом согласуются с опубликованными ранее экспериментальными данными.

**Ключевые слова:** аминифлуоресцеин, тетранитрофлуоресцеин, флуоресцеин, эозин, квантово-химические расчёты, таутомерия ионов и молекул в растворах.

Ксантеновые красители, в том числе флуоресцеин, его производные и аналоги, издавна относятся к числу наиболее широко применяемых гетероциклических соединений, главным образом благодаря своим флуоресцентным свойствам [1–3]. Интенсивно флуоресцирующий двухзарядный анион (дианион)  $R^{2-}$  флуоресцеина **1a** условно изображён ниже в виде различных мезомерных структур.



Сложность и своеобразие протолитических превращений, претерпеваемых этими оксиксантенами в растворах, обусловлены наличием нескольких кислотно-основных центров, а также склонностью к кольчато-цепной таутомерии [4–8].

Ионы  $R^{2-}$  протонируются, последовательно превращаясь в формы  $HR^-$ ,  $H_2R$  и  $H_3R^+$  (последний тип частиц в данной статье мы не рассматриваем). На сегодня имеется обширная информация о полученных в большинстве случаев при помощи спектрофотометрического метода константах кислотно-основных равновесий указанных соединений, главным образом флуоресцеина, эозина и других галогенопроизводных в растворителях различной природы [4–6, 9–14].

Сведения о таутомерных равновесиях ионов и молекул в растворах основываются преимущественно на данных об электронных спектрах, а в некоторых случаях на результатах колебательной спектроскопии [4, 15–19] и спектроскопии ЯМР [13, 20–22].

В противоположность экспериментальным, методы квантово-химического изучения флуоресцеиновых красителей представлены не так широко. Кроме того, большая часть работ посвящена изучению геометрии и электронных

спектров дианионов, вопросы таутомерных превращений рассматриваются достаточно редко. Имеется несколько работ, посвящённых применению квантово-химических методов для расчёта как электронных [23–27], так и колебательных [16, 18, 19, 28] спектров, а также для оценки термодинамической устойчивости различных структур [13, 29–32]. Пожалуй, особо можно выделить работу, в которой таутомерные превращения флуоресцеина в воде и диметилсульфоксиде (ДМСО) исследованы систематически [29].

В данной работе мы задались целью сопоставить накопившиеся многочисленные сведения о таутомерии ионов и молекул, полученные экспериментально (главным образом методами молекулярной спектроскопии, в том числе и в наших работах), с результатами квантово-химических расчётов. При этом как молекулярные, так и анионные формы красителей рассматривались нами как равновесные смеси таутомеров, а критерием относительной устойчивости, определяющей долю того или иного таутомера (его "заселённость"), служило соотношение энергий Гиббса.

В качестве растворителя был выбран ДМСО. Сложность квантово-химического описания таутомерных равновесий обусловлена проблемой учёта влияния растворителя. В случае равновесий флуоресцеина и его производных в воде существенную роль играет образование водородных связей. В таких системах адекватное теоретическое описание можно построить лишь с явным учётом молекул растворителя, например с использованием кластерно-континуального подхода или ещё более сложных моделей. В случае же ДМСО специфическое взаимодействие проявляется в меньшей степени, что позволяет применить для оценки влияния растворителя известную модель поляризованного континуума (PCM) [33] без явного учёта молекул растворителя. Приведённые далее результаты показывают, что использование даже сравнительно "дешёвого" расчёта в рамках теории функционала плотности (DFT) в сочетании с моделью растворителя PCM позволяет в большинстве случаев получить адекватный результат.

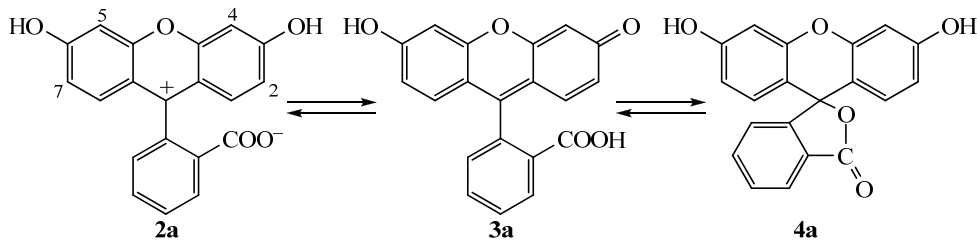
Все расчёты выполнены на уровне B3LYP/6-31G(d,p) с использованием программного пакета Gaussian 09 [34]. Функционал и базисный набор такие же, как в работе [29]. Для всех структур проведена оптимизация геометрии и расчёт частот нормальных колебаний. Свободные энергии различных форм рассчитаны с учётом колебательной энергии молекулы (иона) при 0 К (zero point energy, ZPE), температурной коррекции к 298 К (thermal correction) и энергии сольватации в рамках PCM:

$$\Delta G^0 = \Delta E_0 + \Delta(ZPE) + \Delta G_{0 \rightarrow 298}^0 + \Delta G_{\text{solv}}^0.$$

Поскольку основной целью являлось исследование таутомерных равновесий, далее анализируются в первую очередь не абсолютные, а относительные энергии различных форм  $\Delta \Delta G^0$  (которые соответствуют энергиям таутомерных превращений), а геометрические параметры обсуждаются лишь в отдельных случаях. Известно также, что на результат расчёта влияют параметры PCM, в частности выбор радиусов атомов для построения полости вокруг молекулы, однако систематических исследований в этой области нет. Для флуоресцеинов в работе [30] показано, что модель UA0 (United Atoms) даёт худшие результаты, чем модели, явно учитывающие атомы водорода при построении полости. В нашей работе все расчёты проведены с использованием одной из таких моделей – UFF (Universal Force Field), в некоторых случаях для сравнения также использована модель UA0.

Ниже последовательно рассмотрены наиболее вероятные таутомеры форм  $H_2R$ ,  $HR^-$  и  $R^{2-}$  как наиболее распространённых, так и мало изученных представителей гидроксиксантенов.

Как известно, для молекулярной формы флуоресцеинов характерны три таутомера: окрашенные цвиттер-ионный **2**, хиноидный **3** и бесцветный (вследствие  $sp^3$ -гибридизации узлового атома углерода) лактонный **4**. Для флуоресцеина все они были выделены в твёрдом состоянии и исследованы при помощи ИК спектроскопии [15, 35–37], рентгеноструктурного анализа [37–39] и твёрдофазной спектроскопии ЯМР  $^{13}C$  [22], а в растворах между таутомерами существует подвижное равновесие, положение которого определяется главным образом полярностью растворителя и способностью его молекул быть донорами водородной связи [4–7] (табл. 1).



В ходе оптимизации как в ДМСО, так и в вакууме цвиттер-ионная структура **2a** флуоресцеина превращается в лактон, совершенно идентичный оптимизированной структуре таутомера **4a**.

И действительно, согласно экспериментальным данным, в ДМСО цвиттер-ионная структура **2a** для флуоресцеина практически исключена, а концентрация лактона **4a** на три порядка превышает концентрацию хиноида **3a** [4].

В табл. 1 также представлены результаты расчётов для таутомеров **2–4 b** другого распространённого красителя данной группы – эозина (2,4,5,7-тетрабромфлуоресцеина).

Таким образом, подтверждается более выраженная тенденция к образованию лактона для флуоресцеина (**4a**) по сравнению с эозином (**4b**), ранее выявленная экспериментально по данным спектрофотометрии. Например, в ДМФА, 90% водном ацетоне и 91% водном ДМСО для незамещённого соединения лактон стабильнее хиноида на 16.9, 18.4 и 15.5 кДж/моль соответственно, в то время как для 2,4,5,7-тетрабромпроизводного в тех же средах это различие составляет всего 6.8, 6.6 и 5.4 кДж/моль соответственно [6].

Таблица 1

Относительные свободные энергии  $\Delta\Delta G^0$  (кДж/моль) таутомеров нейтральных форм  $H_2R$  флуоресцеина, эозина и сульфифлуоресцеина в ДМСО

Соединение	Флуоресцеин (2–4 a)		Эозин (2–4 b)		Сульфифлуоресцеин (2–4 c)
	UFF*	UA0**	UFF	UA0	UFF
Цвиттер-ион <b>2</b>	–***	–	–	–	–37.2
Хиноид <b>3</b>	0	0	0	0	0
Лактон <b>4</b>	–20.2	–5.4	–15.7	–2.2	–21.6

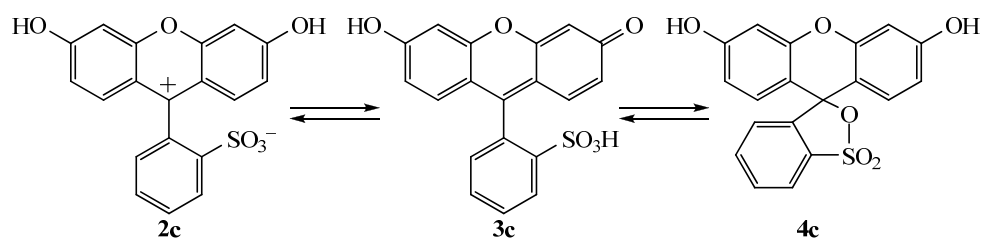
\* Расчёты с использованием радиусов UFF в РСМ.

\*\* Расчёты с использованием радиусов UA0 в РСМ.

\*\*\* Тире означает, что энергию данной структуры рассчитать не удалось либо что расчёты не проводились.

Хотя в растворителях – донорах водородной связи лактонные таутомеры по-прежнему более стабильны, чем хиноидные, но различие между ними все же заметно снижается. Так, в этаноле, метаноле и воде разность энергий составляет соответственно 9.9, 9.7 и 4.0 кДж/моль для флуоресцеина и 5.6, 4.5 и 1.4 кДж/моль для эозина [6]. При этом цвиттер-ион **2a** флуоресцеина регистрируется в заметных количествах только в воде (либо в водно-органических смесях с очень малым содержанием неводного компонента), а для эозина таутомер **2b** и вовсе не характерен, ввиду усиления кислотных свойств группы OH под влиянием атомов брома в *орто*-положениях [6].

В отличие от флуоресцеина, его аналог сульфифлуоресцеин (**2–4 c**) не склонен, судя по экспериментальным данным, к таутомерным превращениям [4, 5, 11, 15].



Нейтральная форма красителя существует преимущественно в виде цвиттер-иона в растворителях самой различной природы. Для фенолсульффталеина, отличающегося от данного соединения лишь отсутствием кислородного мостика, в зависимости от характера заместителей, возможно преобладание как цвиттер-ионного, так и хиноидного таутомеров [6, 7, 15, 40, 41], а в таких растворителях, как ацетонитрил [40], диметилформамид [6] или водный ацетон [41], возможно превращение в сульфон. Тем интереснее было исследовать данную проблему для случая сульфифлуоресцеина. Результаты расчёта (табл. 1) показали, что, по крайней мере, в ДМСО доля молекул  $H_2R$ , существующих в виде хиноида **3c**, пренебрежимо мала, а цвиттер-ион **2c** (на рис. 1 представлена его оптимизированная структура), в отличие от флуоресцеина и эозина, стабилен. Его энергия на 15.7 кДж/моль ниже по сравнению с сультоном **4c**.

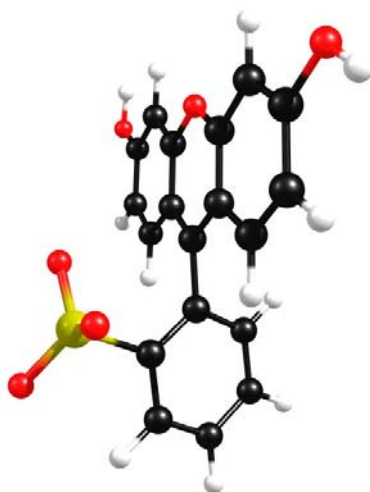


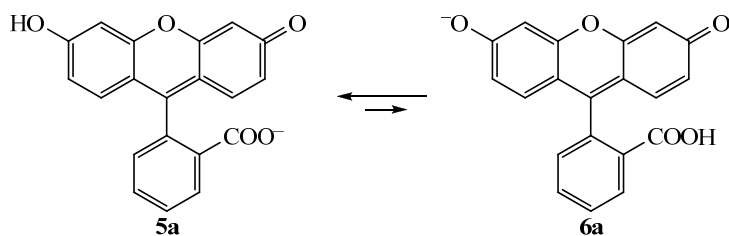
Рис. 1. Молекулярная структура цвиттер-иона сульфифлуоресцеина **2c** по данным квантово-химических расчётов

Этот результат находится в полном соответствии с экспериментальными данными [4, 5, 11, 15]. При этом понятно, что небольшие примеси бесцветного таутомера **4c** экспериментально обнаружить на фоне интенсивно поглощающего в видимой области цвиттер-иона нелегко. Именно поэтому было важно, как и в случае других сильно смещённых равновесий, теоретически оценить термодинамическую выгодность или невыгодность той или иной таутомерной структуры.

В воде, водно-органических смесях и в большинстве неводных растворов для аниона флуоресцеина экспериментально наблюдается исключительно карбоксилатный таутомер **5a**, в то время как для эозина (равно как и для эритрозина и бенгальского розового) ион  $HR^-$  представлен фенолятным таутомером **6b** [4–9, 11, 13, 14, 16, 20, 42, 43]. (Термин "фенолятный" – условный, так как отрицательный заряд делокализован по всему ксантеновому гетероциклу; согласно старой терминологии, предложенной Акри, структуры типа **6** назывались "хинон-фенолятными" [44].)

Эти выводы основаны, прежде всего, на принципиальном различии электронных спектров поглощения моноанионов флуоресцеина и эозина. Последний во всех изученных средах по форме и интенсивности длинноволновой полосы напоминает спектр полностью ионизированного дианиона  $R^{2-}$ , но, вследствие отсутствия дополнительного отрицательного заряда в остатке фталевой кислоты, смещён bathochromно [4, 6–9, 11, 14, 42, 43]. Такой характер влияния отрицательного заряда на поглощение как окси- так и аминоксантеновых хромофоров наблюдался многократно и находится в согласии с результатами квантово-химических расчётов [25].

Соотношение  $[6a]/[5a]$ , косвенно оценённое в восьми растворителях при помощи анализа микроконстант ионизации с привлечением данных о модельных соединениях [4–11, 45], принимает значения от 0.002 в воде и 0.02 в этаноле до 0.16 в 91 % (по массе) водном ДМСО [45, сопроводительные материалы].



Как известно, сила карбоксильных кислот и фенола в вакууме сближается [46], а ДМСО, молекулы которого не способны выступать в качестве доноров водородных связей, проявляет тенденцию похожим образом влиять на относительную кислотность групп  $COOH$  и  $OH$  [47].

Недавние экспериментальные исследования показали, что в газовой фазе моноанион флуоресцеина представлен исключительно фенолятным таутомером **6a** [28, 48–50], тем более это ожидаемо для 2,7-дихлор- и 2,7-дифторфлуоресцеинов [28, 50], для которых и в растворах, особенно неводных, доли таутомеров типа **5** и **6** часто бывают соизмеримыми [8]. Вообще, в отношении карбоксилатно-фенолятной таутомерии моноанионов дигалогенопроизводные, содержащие заместители в кольцах резорцина, предсказуемо занимают промежуточное положение между флуоресцеином и эозином [6–9, 11, 51–53].

Относительные свободные энергии  $\Delta\Delta G^0$  (кДж/моль) таутомеров моноанионов  $\text{HR}^-$  флуоресцеина и эозина в ДМСО

Соединение	Флуоресцеин (5–7 а)		Эозин (5–7 б)
	UFF	UA0	UFF
Карбоксилат <b>5</b>	0	0	0
Фенолят <b>6</b> (конформер I)	-7.8	4.9	-37.9
Фенолят <b>6</b> (конформер II)	-9.8	4.1	-43.1
Лактон <b>7</b>	9.6	-	-18.1

Ещё раньше нам удалось экспериментально обнаружить в обезвоженных растворителях ДМСО, ацетонитриле, ацетоне и в некоторых их смесях наличие фенолятного таутомера даже для незамещённого флуоресцеина [45, 54]. Доля ионов **6a** в ДМСО составляет, по нашим оценкам, 10–12% [45], и, таким образом, карбоксилатный таутомер **5a** всё же преобладает и в этих апротонных (не содержащих гидроксильной группы) растворителях.

В случае же теоретических расчётов (табл. 2) мы имеем пример явно выраженной зависимости результатов от выбора радиусов для РСМ. В случае радиусов UFF фенолятный таутомер **6a** доминирует над карбоксилатным (соотношение 35:1), в то время как при использовании радиусов UA0 более выгодным оказывается карбоксилатный таутомер: соотношение таутомеров **5a:6a** приблизительно составляет 6:1.

Интересно отметить, что по данным более ранней работы доли обоих таутомеров моноаниона  $\text{HR}^-$  практически одинаковы [29]. При этом расчёт для водного раствора привёл авторов работы [29] к выводу о значительной относительной концентрации таутомера **6a** (37% от общей концентрации ионов  $\text{HR}^-$ ), что, безусловно, противоречит экспериментальным данным [4–8, 13, 16, 30].

Аналогичные расчёты для эозина в ДМСО привели к выводу о несомненном доминировании фенолятного таутомера **6b** (табл. 2), что находится в полном соответствии с многочисленными экспериментальными данными [4, 6–9, 11, 17, 42, 43, 52, 53]. Все расчёты для фенолятных таутомеров проведены для двух возможных конформеров, различающихся расположением группы  $\text{COOH}$  относительно ксантенового гетероцикла (рис. 2).

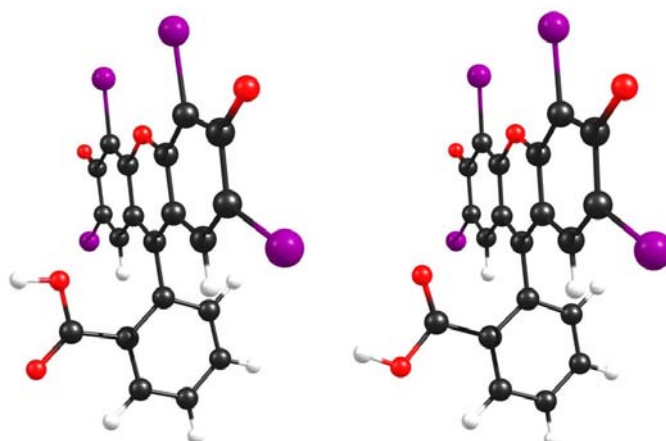
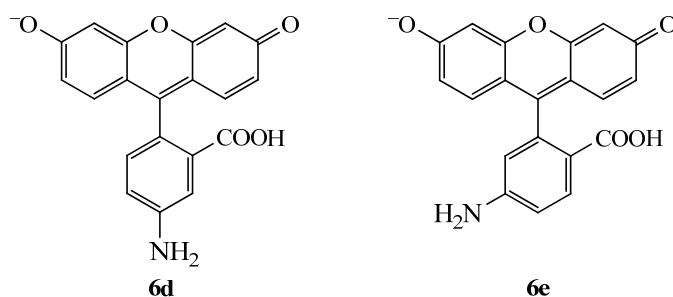


Рис. 2. Молекулярная структура конформеров I (слева) и II (справа) фенолятного моноаниона эозина **6b** по данным квантово-химических расчётов

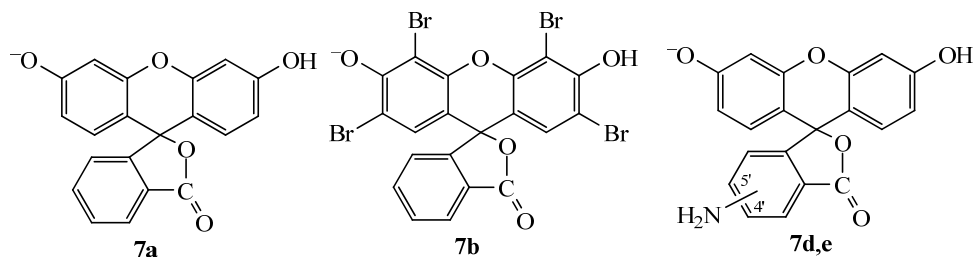
Обычно существование лактонных структур предполагалось лишь для нейтральных форм флуоресцеина и его производных, хотя для родственного соединения фенолфталеина лактонные таутомеры как моно-, так и дианиона давно идентифицированы даже в водных растворах [44, 55, 56], причём в случае иона  $\text{HR}^-$  лактон доминирует. Но, как выяснилось в ходе исследований методами молекулярной спектроскопии, анионы-лактоны достаточно типичны для некоторых производных флуоресцеина, содержащих нитрогруппы в ксантеновом фрагменте молекулы [10, 17, 53]. Эти наши данные нашли подтверждение и в недавней работе других авторов [14].

Судя по имеющимся расчётным данным для вакуума, ДМСО и воды [29], а также экспериментальным результатам для газовой фазы [28, 50], замыкание лактонного цикла в моноанионе  $\text{HR}^-$  не характерно ни для флуоресцеина, ни для его 2,7-дихлорпроизводного.

Но экспериментальные исследования, проведённые одним из авторов (Н. О. Мчедловым-Петросяном) совместно с Т. А. Чейпеш\* с использованием электронной спектроскопии, показали, что для аминифлуоресцеинов, содержащих группу  $\text{NH}_2$  в фрагменте фталевой кислоты, в ДМСО не только наблюдается полоса поглощения в видимой области, указывающая на наличие фенолятных таутомеров **6d** и **6e**, но и заметно снижается (в случае 5'-аминифлуоресцеина) коэффициент молярного поглощения формы  $\text{HR}^-$ , что позволяет предположить наличие бесцветного лактонного таутомера **7e**.



Поэтому мы провели расчёты для моноанионов-лактонов четырёх красителей: флуоресцеина, эозина, 4'- и 5'-аминифлуоресцеинов **7d,e**.



Для первых двух красителей моноанион типа **7** оказался невыгодным по сравнению с другими таутомерами, хотя для эозина структура **7b** всё же выгоднее явно нестабильного карбоксилата **5b** (табл. 2). Что же касается аминифлуоресцеинов, то для 4'-производного значения энергий в ДМСО довольно близки к результатам, полученным для флуоресцеина, но заметно отличаются от таковых для 5'-аминифлуоресцеина (табл. 3).

\* Неопубликованные данные.

Относительные свободные энергии  $\Delta\Delta G^0$  (кДж/моль) таутомеров моноанионов  $\text{HR}^-$  аминифлуоресцеинов в вакууме, ДМСО и воде\*

Среда	Карбоксилат <b>5</b>	Фенолят <b>6</b>	Лактон <b>7</b>
4'-аминофлуоресцеин			
	<b>5d</b>	<b>6d</b>	<b>7d</b>
Вакуум	0.0	-29.9	6.1
ДМСО	0.0	-8.25**	9.7
Вода	0.0	-6.3	9.7
5'-аминофлуоресцеин			
	<b>5e</b>	<b>6e</b>	<b>7e</b>
Вакуум	0.0	-41.3	0.2
ДМСО	0.0	-19.5***	1.1
Вода	0.0	-17.0	1.3

\* Расчёты с использованием радиусов UFF в РСМ, для фенолятных таутомеров **6** расчёты проведены для конформера **I**.

\*\* Для конформера **II**  $\Delta\Delta G^0 = -6.9$  кДж/моль.

\*\*\* Для конформера **II**  $\Delta\Delta G^0 = -17.5$  кДж/моль.

Таким образом, фенолятный моноанион аминифлуоресцеинов в вакууме предпочтительнее карбоксилатного, а в ДМСО и воде эта тенденция сохраняется, но не столь выражено. Причём можно полагать, что неучёт в расчётах возможности образования водородных связей в воде даёт завышенную долю фенолята. При этом в случае 5'-аминофлуоресцеина "заселенность" фенолята **6d** во всех случаях выше, чем 4'-аминофлуоресцеина (**6e**). То же относится и к лактону, в соответствии с упомянутыми выше экспериментальными данными. Расчёты для воды носят предварительный характер: в них не учитывалась возможность существования структуры с группами  $\text{COO}^-$  и  $\text{NH}_3^+$ . Но в ДМСО, судя по спектрам ЯМР  $^1\text{H}$ , аминогруппы нейтральных форм  $\text{H}_2\text{R}$  аминифлуоресцеинов остаются непротонированными, и есть все основания предположить, что это справедливо в условиях измерения электронных спектров моноанионов.

Таким образом, как экспериментальные, так и теоретические результаты говорят в пользу большей стабильности таутомеров **6e** и **7e** по сравнению с таутомерами **6d** и **7d** (рис. 3).

Естественно, что лактонную структуру следует рассмотреть и для дианиона  $\text{R}^{2-}$  (структура **8**). Еще раньше равновесие  $\mathbf{1} \rightleftharpoons \mathbf{8}$  было исследовано нами при помощи аналогичных расчётов [32]. Ниже приводим эти результаты, дополненные в настоящей работе данными для 5'-аминофлуоресцеина.

Как показали расчёты [32], для флуоресцеина таутомер **8a** не существует ни в вакууме, ни в ДМСО, ни в воде: в ходе оптимизации происходит превращение в таутомер **1a** (рис. 4). Для эозина в ДМСО и в воде всё же удаётся оценить значения свободной энергии таутомера **8b**, которые оказались соответственно на 27.5 и 23.8 кДж/моль выше, чем для таутомера **1b**. Наконец, для 2,4,5,7-тетранитрофлуоресцеина в вакууме существует лишь дианион-лактон **8f** [10, 17], а в ДМСО и в воде он заметно выгоднее таутомерного открытого дианиона **1f**, причём различие в энергиях составляет 20.1 и 18.6 кДж/моль соответственно [32], что согласуется с экспериментальными данными [10, 17]. Это безусловно связано с сильными электроноакцепторными



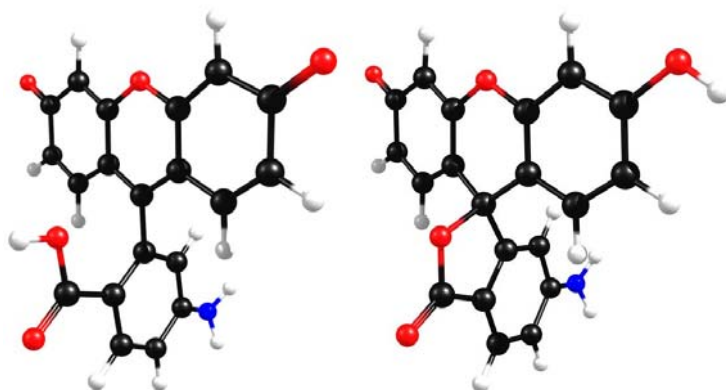


Рис. 3. Молекулярная структура фенолятного моноаниона **6e** и моноанион-лактона 5'-аминофлуоресцеина **7e** по данным квантово-химических расчётов

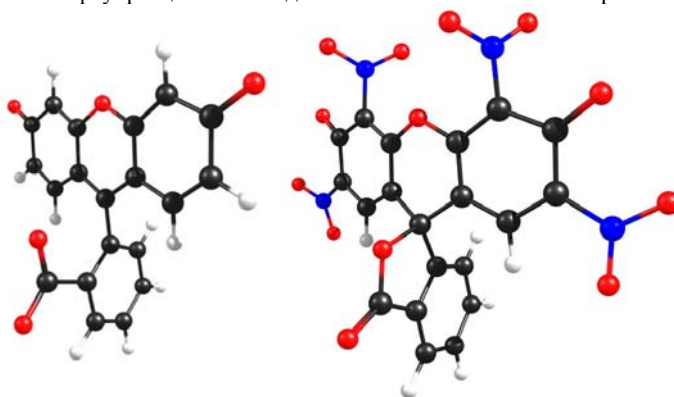
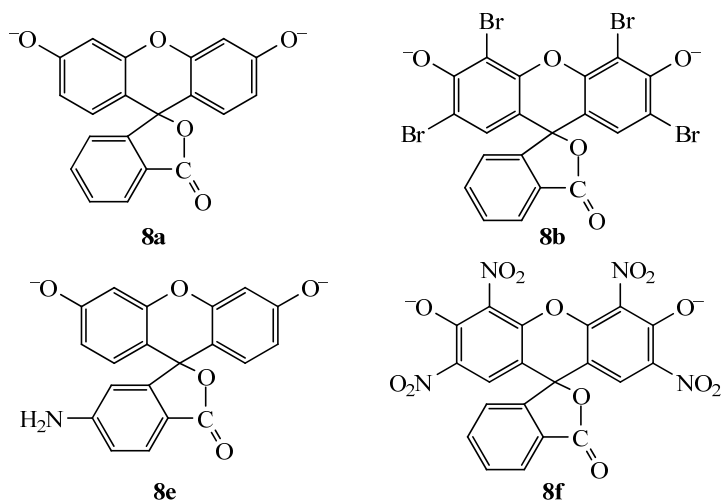


Рис. 4. Молекулярная структура дианионов флуоресцеина (окрашенный люминофор **1a**) и 2,4,5,7-тетранитрофлуоресцеина (жёлтый нефлуоресцирующий лактон **8f**) по данным квантово-химических расчётов

свойствами нитрогрупп, повышающими эффективный положительный заряд на центральном атоме углерода в структуре **1f**. При этом таутомер **8f** (рис. 4), в отличие от прочих лактонных структур, несмотря на  $sp^3$ -гибридизацию центрального атома углерода, не бесцветный, а жёлтый (в ДМСО  $\lambda_{\max}$  441 нм), вследствие "нитрофенольного" поглощения.



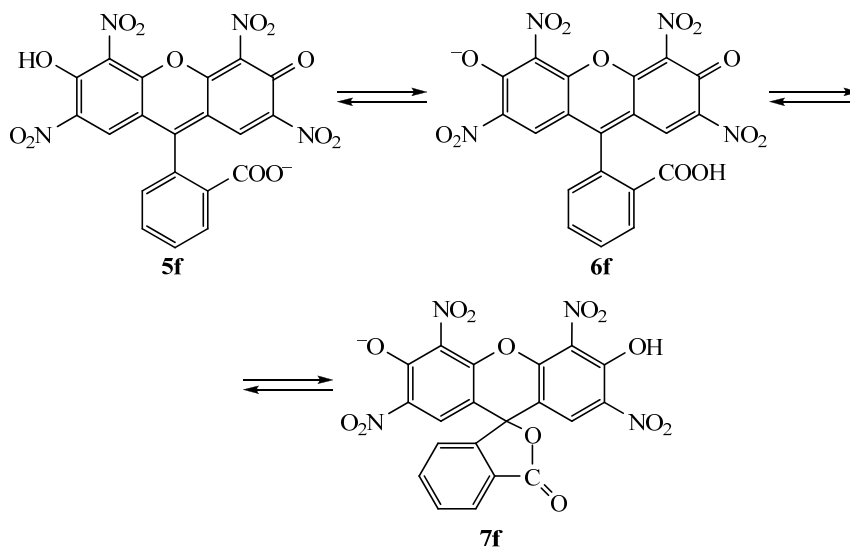
Относительные свободные энергии  $\Delta\Delta G^0$  (кДж/моль) таутомеров дианионов  $R^{2-}$  флуоресцеина, эозина, 5'-аминофлуоресцеина и 2,4,5,7-тетранитрофлуоресцеина в ДМСО

Таутомер	Флуоресцеин (1, 8 a)	Эозин (1, 8 b)		5'-амино-флуоресцеин (1, 8 e)	2,4,5,7-Тетранитро-флуоресцеин (1, 8 f)	
	UFF, UA0	UFF	UA0	UFF	UFF	UA0
Глубоко окрашенный таутомер (1a,f)	0	0	0	0	–*	0
Лактон (8a,f)	Не обнаружен	12.9	27.5	36.2	–	–20.1

\* В процессе оптимизации дианион **1f** замыкается в лактон **8f**, что делает невозможным расчёт разности энергий.

Для 5'-аминофлуоресцеина в ДМСО структура **8e** не характерна, в этом отношении данное производное флуоресцеина занимает промежуточное положение между незамещённым красителем и эозином (табл. 4).

Для полноты картины следует также рассмотреть таутомерию моноаниона 2,4,5,7-тетранитрофлуоресцеина.



Расчёты с использованием радиусов UFF показали, что таутомер **5f** совершенно не характерен для тетранитропроизводного флуоресцеина: в ходе оптимизации происходит замыкание лактонного цикла с образованием структуры, идентичной оптимизированному таутомеру **7f**. Последний оказался на 14.1–18.2 кДж/моль (в зависимости от типа конформера) выгоднее фенолят-ного таутомера **6f**. Это несколько противоречит экспериментальным данным, так как в ДМСО, ацетоне и в разнообразных водно-органических смесях моноанион  $HR^-$  представлен преимущественно ярко флуоресцирующим и интенсивно поглощающим свет ( $\lambda_{\max}$  507–525 нм,  $\epsilon_{\max}$   $(41-62) \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) фенолятным таутомером **6f**. Однако в ходе ИК спектроскопического исследования в ДМСО мы предположили сосуществование обоих таутомеров, отнеся полосы 1710 и 1765  $\text{cm}^{-1}$  в спектре формы  $HR^-$  к валентным колебаниям связи  $C=O$  в группе  $COOH$  фенолята **6f** и карбонила лактона **7f** соответственно [17]. Поэтому вероятно присутствие в растворах некоторого количества бесцветного таутомера **7f**, хотя предсказываемого расчётами его

Длины связей С–О в лактонных таутомерах в ДМСО (Å)

Соединение	H <sub>2</sub> R, <b>4</b>	HR <sup>-</sup> , <b>7</b>	R <sup>2-</sup> , <b>8</b>
Флуоресцеин ( <b>4,7,8 а</b> )	1.504	1.549	–
Эозин ( <b>4,7,8 б</b> )	1.496	1.521	1.565
5'-Аминофлуоресцеин ( <b>4,7,8 в</b> )	1.498	1.536	1.593
2,4,5,7-Тетранитрофлуоресцеин ( <b>4,7,8 г</b> )	1.477	1.495	1.514

доминирования не наблюдается. Отметим, что при использовании радиусов UAO указанная выше разность составляла 6.6–10.5 кДж/моль, что, по крайней мере, ближе к оценкам, сделанным на основании спектров поглощения. То есть, как и в случае флуоресцеина, для моноанионов этот набор радиусов даёт лучшее приближение к экспериментальным данным.

Таким образом, здесь, как и в случае карбоксилатно-фенолятного равновесия в ДМСО для флуоресцеина, квантово-химические расчёты без учёта специфических взаимодействий с молекулами растворителя, могут и не совпадать с картиной, наблюдаемой экспериментальными методами.

В табл. 5 представлены длины связей С–О, образованные центральным (узловым) атомом углерода в лактонных циклах различных таутомеров исследованных соединений.

Налицо две тенденции: 1) удлинение этой связи при последовательном переходе от молекулы к моноаниону и далее к дианиону и 2) укорочение по мере введения в ксантеновый гетероцикл заместителей, оттягивающих электронную плотность от центрального углеродного атома. Разумеется, термодинамическая устойчивость того или иного лактонного таутомера будет определяться не только длиной этой связи, но также и большей или меньшей выгодностью таутомеров, находящихся с ним в равновесии.

В то время как плоскость, образованная лактонным циклом и арильным кольцом, практически строго перпендикулярна плоскости, образованной четырьмя углеродными атомами пиронового цикла (в случае молекул, моно- и дианионов красителей отклонение не превышает 1.0°), центральный атом углерода выходит из плоскости ксантена тем заметнее, чем длиннее вышеупомянутая связь С–О. В результате угол между двумя плоскостями колец резорцина составляет от 8° для лактона флуоресцеина **4а** до 15° для дианиона-лактона 2,4,5,7-тетранитрофлуоресцеина **8г**.

Для нелактонных структур ксантеновый гетероцикл является плоским. При этом угол между этим фрагментом и плоскостью 9-арильного заместителя для симметричных структур типа **1**, **6** и **8** всегда составляет 90.0°, а для несимметричных нейтральных хинонов **3** и карбоксилатных моноанионов **5** варьирует от 82.5 до 77.8°. Что касается цвиттер-иона сульфофлуоресцеина **2с** (рис. 1), то значение соответствующего угла 87.8° может отражать асимметричное расположение сульфонатной группы относительно плоскости ксантена.

Квантово-химические оценки относительной термодинамической устойчивости различных таутомеров нейтральных форм H<sub>2</sub>R флуоресцеиновых соединений в ДМСО находятся в хорошем соответствии с экспериментальными данными о константах таутомерных равновесий. Склонность к образованию нейтрального лактона более выражена для флуоресцеина, чем для эозина,

а цвиттер-ионы этих красителей в ДМСО совершенно неустойчивы. В то же время последний тип таутомеров является доминирующим в случае сульфифлуоресцеина в полном согласии с данными электронной спектроскопии.

В этих расчётах использование радиусов UFF в РСМ даёт результаты, более близкие к экспериментальным данным, чем при использовании радиусов UA0. Между тем в случае оценки сравнительной устойчивости в ДМСО как карбоксилатного и фенолятного моноанионов флуоресцеина  $\text{HR}^-$ , так и фенолятного и лактонного моноанионов 2,4,5,7-тетранитрофлуоресцеина ситуация противоположная.

Расчёты для эозина и 2,4,5,7-тетранитрофлуоресцеина подтверждают обнаруженное ранее экспериментально доминирование фенолятных таутомеров моноанионов над карбоксилатными. В случае изомеров аминифлуоресцеина полученная нами оценка энергий образования различных таутомеров подтверждает большую вероятность образования моноаниона-лактона для 5'-аминифлуоресцеина по сравнению с 4'-производным.

В случае дианионов  $\text{R}^{2-}$  гидроксиксантенов квантово-химическое исследование не только подтверждает в согласии со спектральными данными устойчивость лактонной формы дианиона 2,4,5,7-тетранитрофлуоресцеина, но и демонстрирует невозможность образования в ДМСО такого таутомера для флуоресцеина и его 5'-аминопроизводного. Последний результат представляет особый интерес, так как количественная оценка доли бесцветных лактонных таутомеров на фоне преобладающих глубоко окрашенных ионов открытой формы при помощи спектрофотометрических измерений не может дать надёжных результатов. Для дианионов различия в стабильности таутомеров настолько велики, что выбор радиусов для РСМ не сказывается на конечных выводах.

Длина связи между атомом кислорода и центральным углеродным атомом в лактонном цикле увеличивается для каждого из исследованных соединений при переходе от молекулы к моноаниону и далее к дианиону и уменьшается тем сильнее, чем больше вводимые заместители оттягивают электронную плотность от центрального углеродного атома.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А. Н. Теренин, *Фотоника молекул красителей*, Наука, Ленинград, 1967.
2. R. P. Haugland, *Handbook of Fluorescent Probes and Research Products*, Molecular Probes, Inc., Eugene, 2002, 9th ed.
3. Y. Urano, M. Kamiya, K. Kanda, T. Ueno, K. Hirose, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 4888 (2005).
4. Н. О. Мчедлов-Петросян, Р. Салинас Майорга, Ю. Н. Суров, *Журн. общ. химии*, **61**, 225 (1991).
5. N. O. Mchedlov-Petrosyan, R. Salinas Mayorga, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **88**, 3025 (1992).
6. N. O. Mchedlov-Petrosyan, V. I. Kukhtik, V. D. Bezugliy, *J. Phys. Org. Chem.*, **16**, 380 (2003).
7. Н. О. Мчедлов-Петросян, *Дифференцирование силы органических кислот в истинных и организованных растворах*, Изд-во Харьк. нац. ун-та, Харьков, 2004.
8. N. O. Mchedlov-Petrosyan, N. A. Vodolazkaya, Yu. A. Gurina, W.-C. Sun, K. R. Gee, *J. Phys. Chem. B*, **114**, 4551 (2010).
9. Н. О. Мчедлов-Петросян, Л. В. Васецкая, *Журн. общ. химии*, **59**, 691 (1989).

10. Д. В. Самойлов, Н. О. Мchedlov-Петросян, В. П. Мартынова, А. В. Ельцов, *Журн. общ. химии*, **70**, 1343 (2000).
11. Н. О. Мchedlov-Петросян, В. И. Кухтик, С. И. Егорова, *Журн. общ. химии*, **76**, 1677 (2006). [*Russ. J. Gen. Chem.*, **76**, 1607 (2006).]
12. A. Niazi, A. Yazdanipour, J. Ghasemi, A. Amini, S. Bozorgzad, M. Kubista, *Chem. Eng. Commun.*, **195**, 1257 (2008).
13. V. R. Batistela, J. de Costa Cedran, H. P. M. de Oliveira, I. S. Scraminio, L. T. Ueno, A. E. da Hora Machado, N. Hioka, *Dyes Pigm.*, **86**, 15 (2010).
14. V. R. Batistela, D. Silva Pellosi, F. Dutra de Souza, W. Ferreira da Costa, S. M. de Oliveira Santin, V. R. de Souza, W. Caetano, H. P. M. de Oliveira, I. S. Scraminio, N. Hioka, *Spectrochim. Acta, Part A*, **79**, 889 (2011).
15. Н. О. Мchedlov-Петросян, Ю. Н. Суров, С. И. Егорова, Р. Салинас Майорга, Э. Ариас Кордова, *Докл. АН СССР*, **317**, 152 (1991).
16. L. Wang, A. Roitberg, C. Meuse, A. K. Gaigalas, *Spectrochim. Acta, Part A*, **57**, 1781 (2001).
17. N. O. Mchedlov-Petrossyan, N. A. Vodolazkaya, Yu. N. Surov, D. V. Samoylov, *Spectrochim. Acta, Part A*, **61**, 2747 (2005).
18. А. В. Бирюков, А. В. Лебедь, Н. О. Мchedlov-Петросян, *Вісн. Харк. нац. ун-та.*, № 895, Хімія, Вип. 18 (41), 133 (2010).
19. N. G. Greenelch, A. S. Davis, N. A. Valley, F. Casadio, G. C. Schatz, R. P. Van Duynes, N. C. Shah, *J. Phys. Chem. A*, **116**, 11863 (2012).
20. D. Fompeydie, A. Rabaron, P. Levillain, R. Bourdon, *J. Chem. Res., Miniprint*, 4049 (1981).
21. F. Amat-Guerri, M. M. C. López-González, R. Martínez-Utrilla, R. Sastre, *Dyes Pigm.*, **12**, 249 (1990).
22. U. Anthoni, C. Christophersen, P. H. Nielsen, A. Püschl, K. Schaumburg, *Struct. Chem.*, **6**, 161 (1995).
23. В. Г. Маслов, З. Н. Тураева, Т. А. Шахвердов, *Журн. аналит. химии*, **41**, 622 (1986).
24. A. Tamulis, J. Tamulienė, M. L. Balevicius, Z. Rinkevicius, V. Tamulis, *Struct. Chem.*, **14**, 643 (2003).
25. Н. О. Мchedlov-Петросян, В. В. Иванов, *Журн. физ. химии*, **81**, 117 (2007). [*Russ. J. Phys. Chem.*, **81**, 112 (2007).]
26. C. C. Spagnuolo, W. Massad, S. Miskoski, G. O. Menendez, N. A. Garcia, E. A. Jares-Erijman, *Photochem. Photobiol.*, **85**, 1082 (2009).
27. Е. А. Слюсарева, Ф. Н. Томилин, А. Г. Сизых, Е. Ю. Танкевич, А. А. Кузубов, С. Г. Овчинников, *Оптика и спектроскопия*, **112**, 729 (2012). [*Opt. Spectrosc.*, **112**, 671 (2012).]
28. H. Yao, J. D. Steill, J. Oomens, R. A. Jockusch, *J. Phys. Chem. A*, **115**, 9739 (2011).
29. Y. H. Jang, S. Hwang, D. S. Chung, *Chem. Lett.*, **30**, 1316 (2001).
30. M. Król, M. Wrona, C. S. Page, P. A. Bates, *J. Chem. Theory Comput.*, **2**, 1520 (2006).
31. M. Aschi, A. A. D'Archivio, A. Fontana, A. Formiglio, *J. Org. Chem.*, **73**, 3411 (2008).
32. А. В. Бирюков, А. В. Лебедь, Н. О. Мchedlov-Петросян, *Доп. НАН України*, № 7, 113 (2010).
33. V. Barone, M. Cossi, J. Tomasi, *J. Chem. Phys.*, **107**, 3210 (1997).
34. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar,

- J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, *Gaussian 09, Revision A.02*, Gaussian, Inc., Wallingford, 2009.
35. M. Davies, R. L. Jones, *J. Chem. Soc.*, 120 (1954).
  36. R. Markuszewski, H. Diehl, *Talanta*, **27**, 937 (1980).
  37. И. Н. Полякова, З. А. Старикова, Б. В. Парусников, И. А. Красавин, Г. М. Добрякова, Б. В. Жаданов, *Журн. структур. химии*, **25**, № 5, 98 (1984). [*J. Struct. Chem.*, **25**, 752 (1984).]
  38. R. S. Osborn, D. Rogers, *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.*, **31**, 359 (1975).
  39. M. Tremayne, B. M. Kariuki, K. D. M. Harris, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **36**, 770 (1997).
  40. I. M. Kolthoff, S. Bhowmik, M. K. Chantooni, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **56**, 1370 (1966).
  41. Н. О. Мчедлов-Петросян, Л. В. Васецкая, Е. В. Коваль, И. Н. Любченко, *Докл. АН СССР*, **284**, 394 (1985).
  42. Н. О. Мчедлов-Петросян, В. Ф. Миндрин, Л. Е. Никишина, *Докл. АН СССР*, **283**, 670 (1985).
  43. N. O. Mtschedlov-Petrossjan, E. Arias Kordowa, S. A. Schapowalow, I. V. Rappoport, S. I. Egorowa, *Z. Chemie*, **30**, 442 (1990).
  44. R. T. Birge, S. F. Acree, *J. Am. Chem. Soc.*, **41**, 1031 (1919).
  45. N. O. Mchedlov-Petrossyan, N. A. Vodolazkaya, N. V. Salamanova, A. D. Roshal, D. Yu. Filatov, *Chem. Lett.*, **39**, 30 (2010).
  46. Л. М. Эпштейн, *Успехи химии*, **48**, 1600 (1979).
  47. К. М. Дюмаев, Б. А. Королев, *Успехи химии*, **49**, 2065 (1980).
  48. P. D. McQueen, S. Sago, H. Yao, R. A. Jockusch, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **49**, 9193 (2010).
  49. T. Tanabe, M. Saito, K. Noda, E. B. Starikov, *Eur. Phys. J. D*, **66**, 163 (2012).
  50. H. Yao, R. A. Jockusch, *J. Phys. Chem. A*, **117**, 1351 (2013).
  51. N. O. Mchedlov-Petrossyan, N. V. Salamanova, N. A. Vodolazkaya, Yu. A. Gurina, V. I. Borodenko, *J. Phys. Org. Chem.*, **19**, 365 (2006).
  52. Н. А. Водолазкая, П. В. Шахова, Н. О. Мчедлов-Петросян, *Журн. общ. химии*, **79**, 1081 (2009). [*Russ. J. Gen. Chem.*, **79**, 1437 (2009).]
  53. N. A. Vodolazkaya, Y. A. Gurina, N. V. Salamanova, N. O. Mchedlov-Petrossyan, *J. Mol. Liq.*, **145**, 188 (2009).
  54. Н. О. Мчедлов-Петросян, Н. В. Саламанова, Н. А. Водолазкая, *Доп. НАН України*, № 12, 138 (2006).
  55. A. Thiel, L. Jungfer, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, **178**, 49 (1929).
  56. Н. О. Мчедлов-Петросян, А. В. Романенко, Л. Е. Никишина, *Журн. аналит. химии*, **39**, 1395 (1984).

<sup>1</sup> Харьковський національний університет  
ім. В.Н. Каразіна,  
пл. Свободи, 4, Харків 61022, Україна  
e-mail: alebed@karazin.ua

Поступило 17.02.2014