含吩噻嗪锌、镉配合物的双光子激发荧光光谱*

薛照明① 田玉鹏①②③** 王 东② 易佑民④ 蒋民华②

(①安徽大学化学系, 合肥 230039; ②山东大学晶体材料国家重点实验室, 济南 250100; ③南京大学配位化学国家重点实验室, 南京 210093; ④安徽大学物理系, 合肥 230039)

摘要 报道了两种新型配体(10-乙基-3-甲酰吩噻嗪缩肼基二硫代甲酸甲酯(HL^1)及10-乙基-3-甲酰吩噻嗪缩肼基二硫代甲酸苄酯(HL^2))及其锌、镉配合物的双光子(激发)荧光性质. 入射激光强度与荧光强度关系的实验测定证明了发射光为双光子激发荧光. 比较了它们在 800 和 400 nm 激发波长下的双光子激发光谱和单光子激发光谱特性. 在 800 nm 的脉冲激光的激发下, 它们均显示出较强的峰值位于 550 ~ 595 nm 的双光子激发荧光. 用开孔 Z-扫描装置测得它们在 1064 nm 处均具有较大的双光子吸收截面.

关键词 双光子激发荧光 非线性光学性质 金属配合物 吩噻嗪

自 1961 年 Kaiser 和 Garret 用实验证明了 $CaF_2:Eu^{2+}$晶体的双光子吸收后不久[1], 双光子过程已被用于产生一系列的化学和物理过程, 包括: 光存储[2], 平版印刷[3]和荧光成像[4]等. 在荧光成像方面, 双光子激发(TPE)荧光在荧光显微和光谱[5, 6]方面已发展成重要的替代经典单光子激发(OPE)荧光技术. 双光子激发的显著优点在于: 降低焦点范围外的荧光团的背景干扰; 降低光子漂白; 降低对敏感生物样品的光子危害性[7]等.

过去, 这一领域的研究仅仅限于理论研究. 现在不仅在基础研究而且在应用研究方面都有了较大进展. 但是据我们所知, 至今所有报道的具有较强双光子激发荧光的物质均为有机染料[8,9], 没有报道过具有较强双光子激发荧光的金属配合物. 为了获得具有较强的双光子激发荧光的物质, 我们研究组新设计和合成了两种含有 S 和 N 作为给电子原子的具有大 π 共轭体系的有机染料. 在实验成功地证明其优良的双光子激发特性后, 我们的兴趣在于它们作为配体与金属离子形成配合物后, 配合物是否产生有效的双光子激发荧光. 本文报道了含吩噻嗪基的配体及其锌、镉(d^{10}结构)配合物的双光子性质.

1 理论与实验

双光子激发过程包括着被激发介质分子同时吸收具有相同量子事件的两个光子产生电子激发态, 继而自发地发射出另一个(通常为较高能量)具有特定波长的光子, 并且所发的射荧光强度与激发光功率的二次方成正比[10].

1.1 化合物

合成了以上两种新的配体(HL^1, HL^2)及它们的配合物 ZnL^1_2, ZnL^2_2和 CdL^2_2. 应用元素分析

2003-01-21 收稿

* 国家重点基础研究发展规划项目(批准号: G1998061402)和国家自然科学基金资助项目(批准号: 50272001, 29871001, 20071001)

** 联系人, E-mail: yptian@ahu.edu.cn

(Perkin-Elmer 240 analyzer), 质谱(ZAB-HS mass spectrometer, FAB source), ^{1}H 核磁(Brucker AM-500 spectrometer), 红外(Nicolet FT-IR 170SX)和紫外(UV-265 spectrophtometer)对它们进行了表征[11]. 结果表明它们都是含 S, N 给电子原子的大 π 离域体系(图 1), 配合物中锌和镉为四面体配位[12].

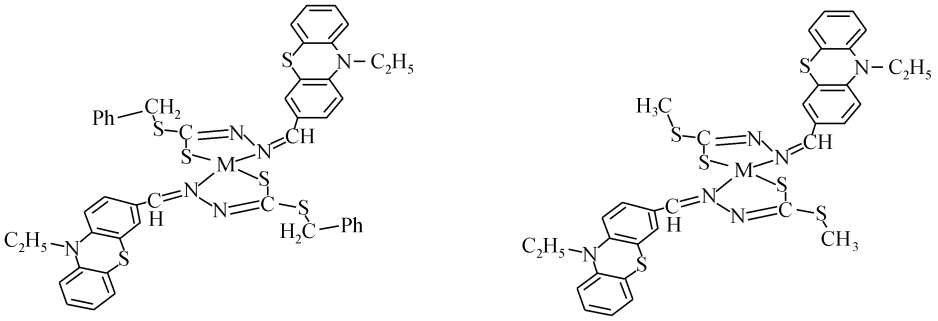

图 1 ZnL^1_2 (左) 和 $Zn\ L^2_2$, $Cd\ L^2_2$ (右)的结构

1.2 实验方法

用 Edingburg FLS920 荧光谱仪测量各样品在 DMF 溶液中的单光子激发荧光. 结果表明它们的 DMF 溶液在 0.1 μmol/L 浓度之下无聚合和自吸收现象. 因此, 我们用 0.1 μmol/L 的各样品 DMF 溶液来研究其电子吸收、发射、激发态寿命(τ)和量子产率(Φ_f). 量子产率测定的标准物为罗丹明 6G 的乙醇溶液(0.1 μmol/L, Φ_f = 0.95). 用于研究双光子激发荧光行为的装置如图 2 所示. 该套装置主要由飞秒钛宝石激光器, CCD 条纹像机组成, 用再生放大锁模飞秒钛宝石激光器(激发光波长 800 nm, 重复频率 76 MHz, 脉冲宽度<200 fs, Coherent Mira 900-D)作为光源. 样品在 DMF 溶液中的双光子吸收截面积测量用调 Q Nd∶YAG 激光器(10 ns 脉冲)532 nm 线作为激发光源. 样品池通光长度为 1 cm 的石英比色皿. 入射与透光的强度用双通道能量计(Molectron Incor. EPM2000, J25L2)测量.

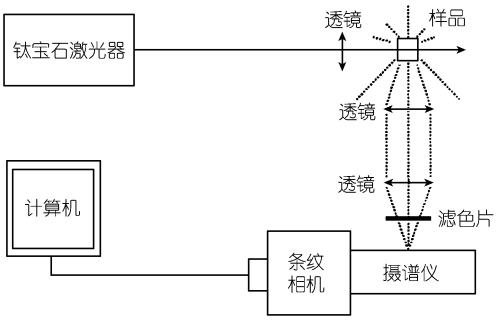

图 2 测量双光子激发荧光装置示意图

2 结果与讨论

2.1 线性光学性质

HL^1, HL^2, ZnL^1_2, ZnL^2_2 和 CdL^2_2 在 DMF 溶液中的电子吸收光谱(d_0 约为$\times10^{-5}$ mol/L)及单光子激发荧光光谱(d_0 约为$\times10^{-7}$ mol/L)见图 3.

由图 3 可见, 配体和配合物溶液的电子吸收光谱具有基本相同的形状, 即均具有强且处于低波长范围(近紫外区)吸收带. 每一体系的电子吸收光谱均表现出 3 个吸收峰, 较大的摩尔消光系数($\lg\varepsilon$ = 4 ~ 5), 表明分子具有大 π 共扼特性. 在 532 nm 处体系仅有十分微弱的吸收, 而在约 550 ~ 800 nm 波长范围均无线性吸收.

在 DMF 溶液中, 配体和配合物在紫外光的激发下(单光子激发过程), 都发射出绿色的荧光. 3 种配合物的荧光发射均有如下的共同特征: 最佳激发波长在 400 nm; 发射光谱峰值(约 550 nm), 与各自的配体相近; 具有较大的 Stokes 位移(约 150 nm). 各吸收谱带与发射谱带在波长 450 与 540 间有一定重叠. 配体和配合物(d_0 = 1.0×10^{-7} mol/L)的荧光峰强度(I)的大小顺序为: ZnL^1_2(I = 332) >HL^1(I = 179), ZnL^2_2 (I = 496) > CdL^2_2(I = 359)>HL^2(I = 175), 各体系(d_0 = 1.0×10^{-7} mol/L)的量子产率(Φ_f)的大小顺序为: ZnL^1_2(Φ_f = 0.24) > HL^1(Φ_f = 0.0.17), ZnL^2_2(Φ_f = 0.34) > CdL^2_2(Φ_f = 0.20) = HL^2(Φ_f = 0.20). 各体系的荧光光谱具有相似的特征揭示了在配体和配合物中共同基团 Y(如图 4)的$\pi^* \rightarrow \pi$跃迁是各体系发射出绿色荧光的主要根源.

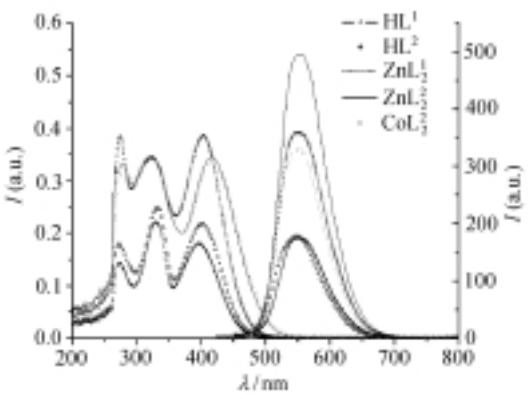

图 3　HL^1, HL^2, ZnL^1_2, ZnL^2_2 和 CdL^2_2 在 DMF 溶液中电子吸收和发射光谱(单光子激发波长为 400 nm)

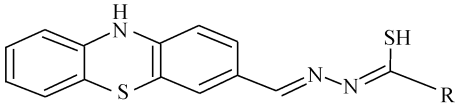

图 4　Y 基团的结构

为了进一步获得激发态本质信息, 于 400 nm 激发下测定了各物质在 DMF 稀溶液中的荧光寿命, 各体系的荧光衰减曲线能很好地用单指数模型拟合. HL^1, ZnL^1_2, HL^2, ZnL^2_2 和 CdL^2_2 的荧光寿命测定值分别为τ = 7.42, 4.97, 6.82, 4.85 和 5.54 ns.

2.2　双光子激发荧光光谱

2.2.1　稳态光谱　　图 5, 6 为 HL^1, ZnL^1_2, HL^2, ZnL^2_2 和 CdL^2_2 在 DMF 溶液(浓度为 1.0×10^{-2} mol/L)中于 800 nm 波长激发下的双光子激发荧光光谱. 配体 HL^1 和 HL^2 中特性基团 Y 800 nm 双光子激发荧光谱带的峰值波长为 550 nm, 同 400 nm 下单光子激发荧光谱带的峰值波长相同. 配合物 ZnL^1_2 和 ZnL^2_2 的双光子激发荧光谱带的峰值波长为 595 nm, CdL^2_2 的为 513nm. 双光子激发荧光强度大小顺序为: $I(HL^1)$ > $I(ZnL^1_2)$ 和 $I(HL^2)$ > $I(CdL^2_2)$ > $I(ZnL^2_2)$. 这同单光子激发荧光强度的大小顺序正相反, 发射光谱带的大部分都离电子线性吸收光谱带较远, 即 Stokes 位移较大. 并且, 就双光子激发荧光和单光子激发荧光峰比较而言, 配体与其相应配合物除了上述峰的强度

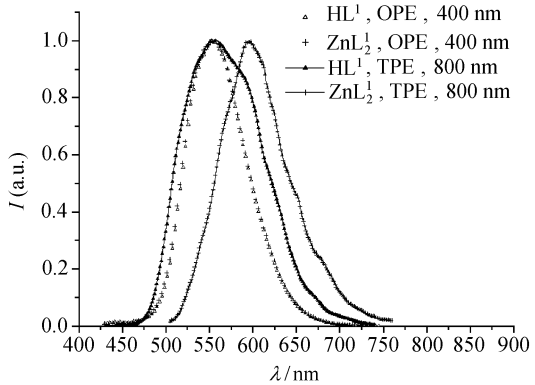

图 5　HL^1 及 ZnL^1_2 DMF 溶液中单光子(d_0 = 1.0×10^{-7} mol/L)和双光子(d_0 = 1.0×10^{-2} mol/L)激发归一化荧光光谱

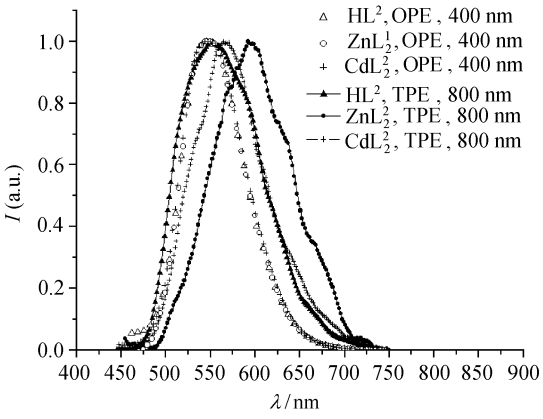

图 6 HL^2, ZnL^2_2, 和 CdL^2_2 DMF 溶液中单光子($d_0 = 1.0\times10^{-7}$ mol/L)和双光子($d_0 = 1.0\times10^{-2}$ mol/L)激发归一化荧光光谱

顺序不同外, 在更细致地考察它们的谱带精细结构时, 我们发现另一些不同点: 如, 400 nm 的单光子激发荧光谱峰呈对称曲线, 而 800 nm 双光子激发荧光峰就 HL^1, HL^2 和 CdL^2_2 来说在约 589 nm 处有一肩峰, ZnL^1_2 和 ZnL^2_2 则分别在 610 和 620 nm 处有一肩峰.

2.2.2 激发光强度与荧光强度的关系 图 7 和 8 为在 550 nm 波长处检测各体系的荧光强度与焦点处入射光子密度对数关系图. 由图可见, 入射光子密度在 HL^1 体系中低于约 8.23×10^{28}, ZnL^1_2 的低于约 12.17×10^{28}, HL^2 的低于约 9.75×10^{28}, ZnL^2_2 的低于约 12.12×10^{28} 和 CdL^2_2 的低于约 20.85×10^{28} photons · cm^{-2} · s^{-1} 时, 荧光强度与入射光子密度的二次方成正比, 其对数关系为一直线, 直线斜率如图 7 和 8 所示. 这一结果进一步证实了 800 nm 下的激发为双光子激发. 然而, 在入射光强度大于以上各体系所给数值后, 两者之间的对数曲线就向下偏离线性关系. 本文所报道的所有测定均在上述线性范围内进行.

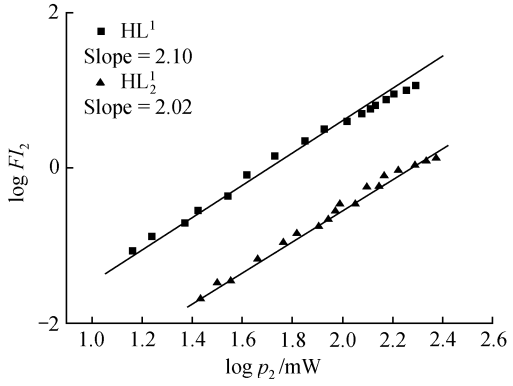

图 7 HL^1 和 ZnL^1_2 800 nm 下双光子激发荧光强度与焦点处入射光子密度对数关系图

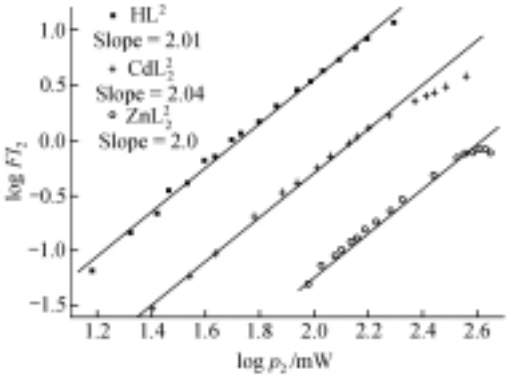

图 8 HL^2, ZnL^2_2 和 CdL^2_2 800 nm 下双光子激发荧光强度与焦点处入射光子密度对数关系图

检测到的 800 nm 下激发的二个配体的荧光光谱同各自在 400 nm 下激发的荧光光谱十分相似, 结合能量守恒事实, 说明双光子激发为同时吸收两个 800 nm 波长的光子, 即双光子吸收. 上述测得的荧光强度与 800 nm 的入射光子密度关系曲线就是直接的证据.

比较双光子激发荧光光谱与单光子激发荧光光谱的峰值波长, 发现 ZnL^1_2 有 40 nm 的红移, ZnL^2_2 有 42 nm 的红移, CdL^2_2 有 13 nm 的红移, 并且各双光子激发荧光光谱峰的短波长边变得更陡. 这些可由再吸收效应解释, 即: 如前所述, 各体系线性吸收带和单光子荧光带有部分重叠, 配合物浓度增大时, 重叠部分会有所增加. 单光子激发荧光光谱是在非常低的浓度下测量的(d_0 约为 1.0×10^{-7} mol/L), 再吸收效应不明显, 所以单光子荧光峰的短波部分无明显减

弱，谱线左右对称. 但配合物的双光子激发荧光光谱是在高浓度下测量的(d_0 约为 1.0×10^{-2} mol/L)，高浓度下溶液的再吸收效应不能忽略，谱线的短波部分由于再吸收效应而急剧下降，所以双光子荧光峰相对单光子荧光峰有明显的红移，且谱线不对称，短波部分变得更陡.

根据 HL^1 和 HL^2 的单光子激发荧光谱与双光子激发荧光谱近乎相同这一事实，我们可以得出这样的结论，即: 在这两种不同的激发形式下，发射光均主要产生于各相同的 S1 单重态到基态的电子转移. 又因为在单光子激发中激发光波长λ_0(或者对双光子激发为$\lambda_0/2$)与发射光波长之间有相当大的 Stokes 位移，则处于激发态分子在发射荧光之前一定经历一个驰豫阶段使其能量下降到 S1 单重能带的最低激发态. 因此，在开始吸收至发射光子期间必有一确定的时间延迟. 另一方面，分子内较高能级状态间的转移对单光子吸收和双光子吸收来说可能是不同的. 例如: 在结构为中心对称的分子中，因为单光子激发允许转移为 g→u，而双光子激发允许转移为 g→g，它们的允许转移是不同的. 因而，双光子激发/吸收光谱与相应体系的线性激发/吸收光谱可有明显的不同. 按照这些讨论，我们可以理解单光子荧光和双光子荧光强度顺序和光谱谱带结构的不同.

在较高入射光子密度下，双光子激发荧光的明显饱和现象(偏离对数线性关系)，为定量双光子荧光显微术给出一个入射光密度的上限. HL^1, $ZnL^1{}_2$, HL^2, $ZnL^2{}_2$ 和 $CdL^2{}_2$ 这一上限分别为 ~8.23×10^{28}, ~12.17×10^{28}, ~9.75×10^{28}, ~12.12×10^{28} 和~20.85×10^{28} photons · cm^{-2} · s^{-1}. 这一明显的饱和现象可能是由于各种各样的非线性光学过程引起的，如激励发射[13]，激发态吸收[14]，光解[15]或基态耗损[16]. 但只有在入射光子密度大于 10^{31} photons · cm^{-2} · s^{-1} 时，由高瞬间增强引起的非混沌非线性吸收现象才必须考虑; 因为在 800 nm 处，激发波长与荧光光谱无重叠，所以激励发射也可以排除; 对双光子过程来说，当$\sigma_2\rho^2{}_{peak}\tau_{pulse}\approx 1$ 时会发生饱和现象. 就配体或配合物来说，假设双光子吸收截面积为一典型值，即σ_2 =10.0×10^{-47} cm^4 · s · $photon^{-1}$，$\tau_{pulse}\approx$ 200 fs，饱和吸收光子密度峰值为$\rho_{peak}\approx 1.0\times10^{29}$ photons · cm^{-2} · s^{-1}(见图 7, 8)，则$\sigma_2\rho^2{}_{peak}\tau_{pulse}$ = 0.2. 因为在 800 nm 激发波长下，单光子激发可不考虑，前面的计算值意味着在双光子激发过程中，每次激光脉冲在焦点处有近 20%的分子被激发，因此基态耗损不会是观察到的饱和现象的重要贡献. 由此可见，在高入射光功率(入射光子密度)经过激发态吸收而发生的激发单重态淬灭应该是所测量到偏离理论值的原因.

在 532 nm 波长下用开孔 Z-扫描装置测量了配体和配合物在 DMF 溶液(约 10~5 μmol/L)中的非线性吸收性质，而开孔 Z-扫描装置测定的非线性吸收性质可由双光子吸收机理解释. HL^1, $ZnL^1{}_2$, HL^2, $ZnL^2{}_2$ 和 $CdL^2{}_2$ 的双光子吸收截面积测定结果分别为: 6.9×10^{-47}, 10.6×10^{-47}, 1.5×10^{-47}, 12.1×10^{-47} 和 6.9×10^{-47}(cm^4 · s/photon).

参　考　文　献

1 Kaiser W, Garret C G B. Two-photon excitation in CaF2: Eu^{2+}. Phys Rev Lett, 1961, 7: 229~231

2 Kawata S, Kawata Y. Three-dimensional optical data storage using photochromic materials. Chem Rev, 2000, 100: 1777~1788

3 Zhou W H, Kuebler S M, Braun K L, et al. An efficient two-photon-generated photoacid applied to positive-tone 3D microfabrication, Science, 2002, 296: 1106~1109

4 Belfield K D, Schafer K J, Liu Y, et al. Multiphoton-absorbing organic materials for microfabrication, emerging optical applications and non-destructive three-dimensional imaging. J Phys Org Chem, 2000, 13: 837~849

5 Svoboda K, Denk W, Kleinfeld D, et al. *In vivo* dendritic calcium dynamics in neocortical pyramidal neurons. Nature, 1997, 385: 161~165

6 Bewersdorf J, Pick R, Hell S W. Multifocal multiphoton microscopy. Opt Lett, 1998, 23: 655~657

7 Denk W, Piston D W, Webb W W. In Handbook of Biological Confocal Microscopy. New York: Plenum Press, 1995. 445~458

8 Ren Y, Fang Q, Yu W T, et al. Synthesis, structures and two-photon pumped up-conversion lasing properties of two new organic salts, J Mater Chem, 2000, 10: 2025~2030

9 Zhuo G Y, Wang X M, Wang D, et al. Two-photon induced optical-power limiting and upconverted superradiance properties of a new organic dye HEASPI. Optics & Laser Technology, 2001, 33: 209~212

10 Xu C, Webb W W. Measurement of two-photon excitation cross sections of molecular fluorophores with data from 690 to 1050 nm. J Opt Soc Am B, 1996, 13: 481~491

11 Xue Zh M, Zhang X J, Tian Y P, et al. Synthesis and NLO studies on metal complexes containing phenothiazine ligand. Chinese J Inorg Chem, 2002, 18(10): 1009~1014

12 Zhu X H, Chen X F, Zhang Y, et al. Crystal structure, molecular packing and picosecond optical limiting properties of quadridentate Schiff base divalent metal complexes derived from S-benzyl dithiocarbazate. New J Chem, 2000, 24: 419~423

13 Kusba J, Bogdanov V, Gryczynski I, et al. Theory of light quenching: Effects on fluorescence polarization, intensity, and anisotropy decays. Biophys J, 1994, 67: 2024~2040

14 Bradley D J M, Hutchinson H R, Koetser H, et al. Interactions of picosecond laser pulses with organic molecules. I. Two-photon fluorescence quenching and singlet states excitation in rhodamine dyes. Proc R Soc Lond: A, 1972, 328: 97~121

15 Brand L, Eggeling C, Zander C, et al. Single-molecule identification of coumarin-120 by time-resolved fluorescence detection: Comparison of one- and two-photon excitation in solution. J Phys Chem A, 1997, 101: 4313~4321

16 Xu C, Zipfel W, Shear J B, et al. Multiphoton fluorescence excitation: New spectral windows for biological nonlinear microscopy. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93: 10763~10768