

Введение Гетерогенность хлорофилла в тилакоидных мембранах хлоропластов растений надежно установлена. Так, обнаруживается спектральная дискретность химически тождественных молекул пигментов, обусловленная различиями в характере и силе взаимодействия пигмент-микроокружение и пигмент-пигмент [1-3]. Эти формы различаются по расположению электронно-колебательных уровней и по фотохимическим свойствам [4]. По данным спектральных методов в хлоропластах хлорофилл представлен целым рядом надмолекулярных форм, каждая из которых обладает своей узкой полосой поглощения и флуоресценции в красной области спектра. Эти формы представляют собой термодинамически устойчивые агрегаты пигмента. Самосборку агрегатов с аналогичными или близкими спектральными свойствами удается проследить в пленках, монослоях и растворах пигментов [5].

Примечательно, что по данным флуоресцентной и адсорбционной спектроскопии в листьях растений хлорофилл даже при малых концентрациях сгруппирован в агрегаты [6]. В настоящей работе проведен сравнительный анализ электронных, фотофизических, координационных и фотохимических свойств молекулярных и ассоциированных хлорофилов (рис. 1), - хлорофилла а (Chl) и хлорофиллида а (Chld) в отношении пероксида водорода с помощью спектральных и физико-химических методов, а также квантово-химических расчетов. Моделирование взаимодействия Chl и Chld с молекулами H₂O и H₂O₂ проводили с использованием программы Gaussian 03 [7]. Расчеты выполнены с набором базисных функций 6-31G** в DFT-приближении, с использованием обменно-корреляционного функционала PBE1PBE. Геометрия всех показанных ниже молекул оптимизирована. Граничные орбитали молекулы хлорофилла и особенности фотофизических свойств Для выяснения особенностей фотофизических свойств металлокомплексов принципиально важно рассмотреть электронное строение их молекул и оценить вклад ее фрагментов. Геометрия макроколец Chl и Chld очень близка для обеих молекул. Макрогетероциклы Chl и Chld после оптимизации геометрии в обоих случаях остаются практически плоскими. Расчеты показали, что у каждой из этих Chl: R = -OCH₂CH=C(CH₃)(CH₂)₃[CH(CH₃)(CH₃)₃]₂CH(CH₃)₂ Chld: R = OH

Рис. 1 – Молекула Chld в конформации 1 (вверху) и 2 (внизу) молекул существует, по крайней мере, две конформации с полной энергией, близкой к минимуму. На рис. 1 показаны две эти конформации для молекулы Chld. Обозначим их как Chld1 и Chld2. На рис. 1 окружностями выделены отличия в пространственном расположении заместителей в зависимости от конформации Chld. Энергия молекулы хлорофиллида в конформации Chld1 на 5,9 ккал/моль выше энергии в конформации Chld2. Таким же в точности образом отличаются и подобные конформации молекул хлорофилла. Необходимо отметить, что гидрофобный остаток фитила после оптимизации геометрии молекулы в обеих конформациях занимает несколько отличающееся положение. Рассмотрим особенности

природы граничных молекулярных орбиталей Chl. Длинноцепочечный фитольный заместитель не должен существенно определять сопряжение двойных связей макрогетероциклического лиганда (ароматичность), что было подтверждено квантово-химическими расчетами. По этой причине особенности электронного строения хлоринов Chl и Chld крайне близки, а, следовательно, подобны и их фотофизические свойства, определяемые электронными переходами, главным образом, энергетической щелью ВЗМО-НСМО. На рис. 2 показаны граничные молекулярные орбитали ВЗМО и НСМО хлорофилла а. Рис. 2 – Граничные молекулярные орбитали ВЗМО (вверху) и НСМО (внизу) Chl. Из рис. 2 видно, что как ВЗМО, так и НСМО хлорофилла локализованы исключительно на хлориновом макрогетероцикле и не охватывают центральный ион магния. Такая особенность природы граничных орбиталей связана с отсутствием у иона магния неспаренных d-электронов. Известно, что для комплексов тетрапиррольных пигментов с ионами металлов с частично заполненными d-оболочками в результате сильного обменного взаимодействия неспаренных электронов металла с молекулярными орбиталями порфиринового макрогетероцикла наблюдаются высокие константы скорости безызлучательной дезактивации возбужденных состояний [8]. В то же время для безметалльных порфиринов и родственных им соединений, а также их комплексов с металлами, не содержащими неспаренные d-электроны (таких как хлорофиллы а и b) характерна генерация долгоживущих (до 1 мс) триплетных возбужденных состояний с высоким (60-90%) квантовым выходом. Способность к генерации долгоживущих возбужденных состояний играет важнейшую роль в фотохимических реакциях металлокомплексов. Другим следствием лиганд-центрированной локализации граничных орбиталей является то, что электронные переходы имеют чистую природу $p \rightarrow p^*$ и не являются полосами переноса заряда. Таким образом, возбужденные состояния, являясь высоко реакционноспособными и кинетически неустойчивыми, обладают в то же время высокой термодинамической стабильностью. Кроме того, энергетика подобных электронных переходов и соответствующие спектральные характеристики чувствительны лишь к координационным взаимодействиям макроциклического лиганда. Электронное строение молекул Chl и Chld чрезвычайно близко, обе молекулы имеют одинаковые особенности локализации граничных орбиталей и природу электронных переходов. Крайне близки и фотофизические свойства Chl и Chld. Для упрощения расчетов большинства процессов координирования и фотохимического взаимодействия в качестве модельного фотоактивного соединения мы использовали Chld. При сравнении взаимодействия Chld с водой и пероксидом водорода квантовохимические расчеты мы провели с использованием конформаций Chld1 и Chld2. В случае Chl результаты получены только для имеющей наименьшую энергию конформации Chl2, обозначаемую далее в тексте как Chl. Димерные агрегаты хлорофиллида Спектрально

наблюдаемые димеры металлокомплексов хлоринов теоретически могут быть образованы из молекул под разными двугранными углами [9]. Расчеты показывают, что энергетически наиболее выгодно располагать молекулы хлорофиллида друг над другом. Однако, и таких конфигураций может быть множество. Поэтому были проведены расчеты нескольких комплексов из двух молекул хлорофиллида, из которых для дальнейших расчетов выбирали один, имеющий наибольшую энергию связи. На рис. 3 показан такой комплекс из двух молекул хлорофиллидов в конформации Chld1. Энергия связи димерного комплекса Chld1...Chld1 равна 38,8 ккал/моль, что, по крайней мере, на 1,2 ккал/моль больше всех остальных рассмотренных конфигураций этого ассоциата. Энергия связи димера хлорофиллида Chld2...Chld2 несколько больше и равна 42,9 ккал/моль. Рис. 3 - Димерный комплекс хлорофиллида Chld1...Chld1

Тримерные агрегаты хлорофиллида В тримерах Chld энергетически предпочтительное расположение макрогетероциклов определили для молекул только в конформации Chld2. Было рассмотрено несколько возможных конфигураций тримерного хлоринового агрегата Chld2...Chld2...Chld2. На рис. 4 показан тример, имеющий наибольшую энергию связи. Энергия связи молекул в этом ассоциате равна 68,2 ккал/моль, что, по крайней мере, на 3,3 ккал/моль больше, чем у всех остальных рассмотренных комбинаций трех молекул хлорофиллида. Рис. 4 - Тримерный комплекс хлорофиллида Chld2...Chld2...Chld2

Координационные свойства молекулярного и агрегированного хлорофиллида при взаимодействии с H₂O и H₂O₂ Рассмотрим сначала взаимодействие одной молекулы хлорофиллида с молекулой воды и с молекулой пероксида. Существует множество возможностей разместить молекулу H₂O или H₂O₂ в окрестности хлорофиллида. Расчеты показали, что наиболее по энергии связи положение молекулы H₂O и H₂O₂ находится в центре макрокольца в окрестности иона магния. Рассчитанная для таких структур энергия связи как минимум на 40% больше, чем для любого другого положения. Исходя из полученных расчетных конфигураций комплексов Chld1...H₂O и Chld1...H₂O₂, малые молекулы связаны не с хлориновым макрогетероциклом, а внутрисферно координированы ионом магния при участии неподеленных электронных пар атома(ов) кислорода. Этот вывод подтверждается методом электронной спектроскопии. Последовательное добавление H₂O₂ к раствору Chl приводит к изменению электронного спектра. При этом изменяется лишь экстинкция полос, тогда как их положение по энергетической шкале остается неизменным. Это говорит о том, что координирование H₂O₂ происходит без участия фрагментов хлоринового макрогетероцикла и не меняет строение граничных орбиталей ВЗМО и НСМО. Кроме этого, по данным квантовохимических расчетов вблизи иона магния для молекулы H₂O₂ существуют несколько локальных минимумов. Они отличаются по энергии связи не более чем на 2,5 ккал/моль, изменяясь в интервале 16,8-21,3 ккал/моль. Для обеих конформаций Chld1 и Chld2

наибольшую энергию связи молекула хлорофиллида имеет с водой. Рассмотрим теперь взаимодействие хлорофилла с молекулами H_2O или H_2O_2 . Для ChI так же, как и для ChId наиболее привлекательным с точки зрения энергии связи является окрестность иона магния. Для координационных ассоциатов ChI... H_2O и ChI... H_2O_2 значения энергии связи молекул воды и пероксида водорода с металлокомплексом составляют 19,4 и 17,2 ккал/моль соответственно. Как видно, энергия связи хлорофилла с водой больше, чем с пероксидом примерно на 2,2 ккал/моль, что вполне согласуется с результатами по хлорофиллиду, где комплекс с водой также имеет наибольшую энергию связи. Для того, чтобы учесть влияние коллективного взаимодействия нескольких молекул хлорофиллида при взаимодействии с водой либо с пероксидом водорода, были рассмотрены димеры ChId, взаимодействующие с молекулой H_2O_2 или H_2O . Молекулы пероксида водорода могут находиться как по периферии димера (в данном случае ChId1) по типу ChId...ChId... H_2O_2 (с внешней стороны одного из макроколец), так и между двумя молекулами внутри димера хлорофиллида (структура типа ChId... H_2O_2 ...ChId). Аналогичным образом может быть координирована и молекула воды димерами хлорофиллида. В табл. 1 приведены рассчитанные энергии связи комплексов из двух молекул хлорофиллидов, H_2O и H_2O_2 . Как видно из данных табл. 1, молекула H_2O_2 , размещенная между макрогетероциклами хлорофиллидов внутри димера имеет заметно большую энергию связи, чем помещенная туда молекула H_2O . Это справедливо как для димеров хлорофиллида в конформации ChId1, так и в конформации ChId2. При размещении же с внешней стороны димера результаты расчета энергии, полученные для ChId1 и ChId2, различны. Видно, что комплекс, состоящий из молекул в конформации ChId2, имеет ненамного, на $\sim 0,1$ ккал/моль, но большую энергию связи с пероксидом водорода, чем с водой. В то время, как для конформации ChId1 ситуация обратная.

Таблица 1 - Энергии связи димеров хлорофиллида в конформациях ChId1 и ChId2 с молекулой воды и пероксида водорода

Комплекс	Ккал/моль
ChId1...ChId1... H_2O	17,4
ChId1...ChId1... H_2O_2	16,2
ChId1... H_2O ...ChId1	13,6
ChId1... H_2O_2 ...ChId1	16,4
ChId2...ChId2... H_2O	12,7
ChId2...ChId2... H_2O_2	12,8
ChId2... H_2O ...ChId2	9,2
ChId2... H_2O_2 ...ChId2	11,8

Также были выполнены квантовохимические расчеты координационных комплексов тримерных агрегатов хлорофиллида с пероксидом водорода и водой. Расчеты проводили только для молекул в наиболее стабильной конформации ChId2. Как показали расчеты, молекулы воды либо пероксида водорода по аналогии со случаем димеров могут быть координированы как с внешней стороны тримеров (структура типа ChId...ChId...ChId... H_2O_2 в случае пероксида водорода), так и располагаться между молекулами хлорофиллида (структура типа ChId...ChId... H_2O_2 ...ChId), как это было сделано в наших расчетах на примере молекулы пероксида водорода. В табл. 2 приведены энергии связи воды и пероксида водорода в комплексах, состоящих из трех молекул хлорофиллида и

молекулы H_2O и H_2O_2 . Таблица 2 - Энергии связи молекул воды и пероксида водорода с тримерными комплексами хлорофиллида

Комплекс	Энергия связи (ккал/моль)
$Chld...Chld...Chld...H_2O$	9,4
$Chld...Chld...Chld...H_2O_2$	10,2
$Chld...Chld...H_2O...Chld$	10,4
$Chld...Chld...H_2O_2...Chld$	12,4

Из результатов, представленных в табл. 2, видно, что наибольшую энергию связи с комплексом, содержащим три молекулы $Chld$, имеет молекула пероксида водорода, внедренная между макрогетероциклами. Следует отметить, что при координировании воды и пероксида водорода внешней частью тримера превышение энергии связи H_2O_2 над энергией связи H_2O немного возросло по сравнению со связыванием с димерными комплексами $Chld$ и составило $\sim 0,8$ ккал/моль против $\sim 0,1$ ккал/моль. На следующем этапе расчетов было проведено дополнительное варьирование конфигурации комплексов, образованных из двух молекул хлорофиллида и молекул H_2O и H_2O_2 , проводившегося с целью найти структуру комплекса с возможно большей энергией связи молекулы H_2O_2 (H_2O). Молекулы хлорофиллида, как и выше, были взяты в конформациях $Chld1$ и $Chld2$. Найденные значения энергии связи показали, что максимальная энергия связи, с которой пероксид водорода связан с димером $Chld$, может достигать 26,0 ккал/моль (молекулы хлорофиллида, образующие димер, в этом комплексе находятся в конформации $Chld2$). Это значение примерно на 3,9 ккал/моль превосходит максимальную энергию связи воды, 22,1 ккал/моль, имеющую место в аналогичном по конфигурации комплексе. Кроме этого, оказалось, что в случае конформации хлорофиллида $Chld2$ в каждой из рассмотренных конфигураций комплекса с малыми молекулами пероксид водорода всегда имеет большую энергию связи, чем вода. Фотокаталитическое разложение H_2O_2 в присутствии молекулярного и агрегированного хлорофилла. Ранее мы показали, что хлорофилл проявляет фотокаталитическую и фотосенсибилизирующую активность в процессах образования и распада пероксида водорода [3]. Нами рассмотрены кинетические особенности разложения пероксида водорода при облучении видимым светом водных суспензий H_2O_2/Chl . Облучение проводили светом галогенной лампы в комплекте с линзами, конденсором и светофильтром КС-13, отсекающим излучение с $\lambda < 630$ нм, в кварцевых кюветах толщиной 1 см. Мощность светового потока составляла 80 мВт/см². Распад H_2O_2 можно было описать моноэкспоненциальной кинетической зависимостью. Фотокаталитическая активность растворенного и адсорбированного Chl экстремально увеличивалась с ростом его содержания (концентрации), в том числе и в интервалах существования агрегатов Chl . Так, в двухфазных растворах CCl_4 /вода с концентрацией Chl 30 мкМ, когда 60% молекул агрегировано в димеры, можно наблюдать максимальную скорость распада H_2O_2 . В адсорбционных системах, для которых даже при содержании меньше монослоя Chl адсорбируется в виде «островков», также увеличивается фотокаталитическая активность с увеличением содержания пигмента.

Концентрационные зависимости фотоактивности пигментов имеют экстремальный характер, и, по-видимому, сложные многомолекулярные агрегаты Chl, а также полностью сформированные монослои фотохимически малоактивны, тогда как активность небольших агрегатов (димеров и мультимеров) выше по сравнению с изолированными молекулами. Наблюдаемый эффект обусловлен тремя причинами. Во-первых, как было показано выше, в агрегатах Chl облегчается координация молекул пероксида водорода. Во-вторых, известно, что при димеризации Chl наблюдается отрицательный сдвиг редокс-потенциала в возбужденном состоянии [10], и, следовательно, повышается изменение теплоты реакции переноса электрона с Chl на H_2O_2 . В-третьих, в составе агрегата образующийся в ходе отрыва электрона катион-радикал хлорофилла, по всей видимости, стабилизирован взаимодействием с соседними молекулами пигмента. Таким образом, рассмотрение координационных и фотохимических свойства магниевых комплексов хлоринов показывает, что с повышением степени агрегирования пигмента энергия связи с H_2O_2 превосходит энергию связи с H_2O , а также увеличивается фотокаталитическая активность растворенного и адсорбированного хлорофилла в процессе разложения пероксида водорода.