

А. В. Лобанов, Г. В. Синько, Г. Г. Комиссаров,
Л. Ф. Стоянова, Г. Е. Зайков

ДИМЕРНЫЕ И ТРИМЕРНЫЕ АГРЕГАТЫ ХЛОРИНОВ: КООРДИНАЦИОННЫЕ И ФОТОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Ключевые слова: хлорофилл, агрегация, пероксид водорода.

Рассмотрены координационные и фотохимические свойства магниевых комплексов хлоринов и их агрегатов. С помощью квантово-химических расчетов оценены энергии связи H_2O и H_2O_2 с хлорофиллом и хлорофиллидом в зависимости от формы пигмента (мономеры, димеры и тримеры). Показано, что с повышением степени агрегирования пигмента энергия связи с H_2O_2 превосходит энергию связи с H_2O . Проведен анализ экспериментальных результатов по фотохимическому разложению пероксида водорода хлорофиллом.

Keywords: chlorophyll, aggregation, hydrogen peroxide.

Coordination and photochemical properties of magnesium complexes of chlorins and their aggregates towards hydrogen peroxide were considered. The binding energy of H_2O and H_2O_2 with chlorophyll and chlorophyllide depending on their form (monomers, dimers and trimers) was estimated by quantum chemical calculations. It is shown that at an increase of the degree of the pigment aggregation binding energy of H_2O_2 was more than the energy of H_2O . Analysis of experimental results of the photochemical decomposition of hydrogen peroxide using chlorophyll was carried out.

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, моносолях 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 хлоринов (рис. 1), - хлорофилла *a* (Chl) и хлорофиллида *a* (Chld) в отношении пероксида водорода с помощью спектральных и физико-химических методов, а также квантово-химических расчетов. Моделирование взаимодействия Chl и Chld с молекулами H_2O и H_2O_2 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

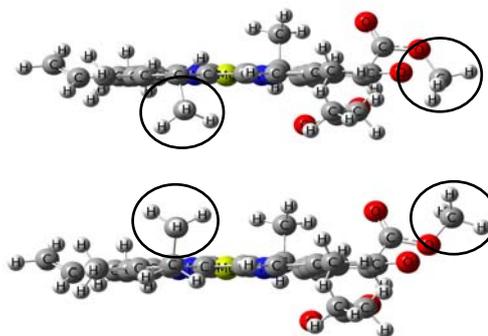
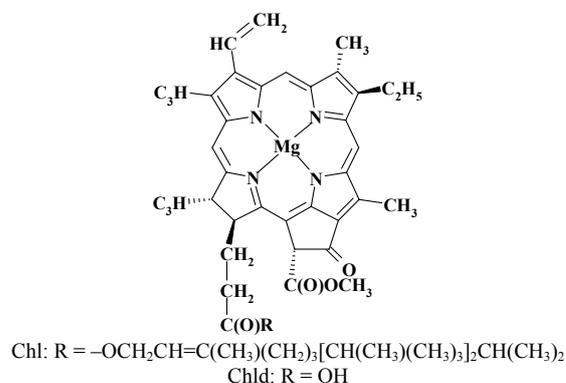


Рис. 1 – Молекула Chld в конформации 1 (вверху) и 2 (внизу)

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 фитола 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 *a*.

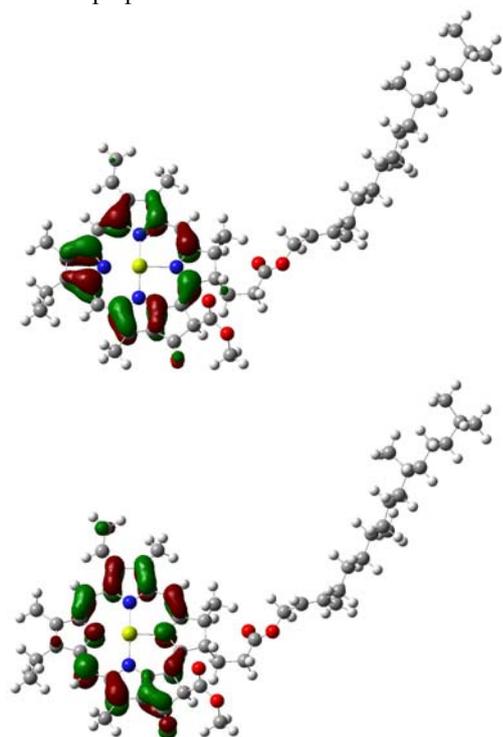


Рис. 2 – Граничные молекулярные орбитали ВЗМО (вверху) и НСМО (внизу) Chl

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 неспаренных *d*-электронов (таких как хлорофиллы *a* 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 $\pi \rightarrow \pi^*$ 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.

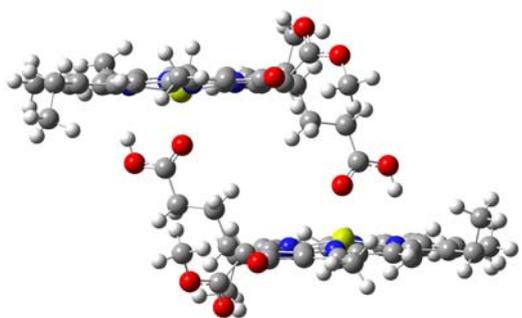


Рис. 3 - Димерный комплекс хлорофиллида Chld1...Chld1

Тримерные агрегаты хлорофиллида

В тримерах Chld энергетически предпочтительное расположение макрогетероциклов определили для молекул только в конформации Chld2. Было рассмотрено несколько возможных конфигураций тримерного хлорофиллида 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.

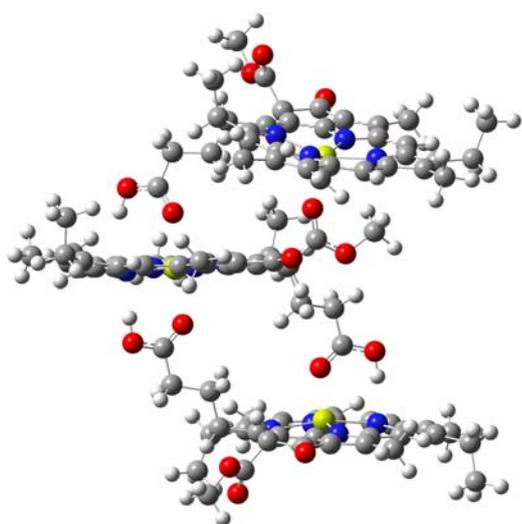


Рис. 4 - Тримерный комплекс хлорофиллида Chld2...Chld2...Chld2

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 энер-

гия 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 H₂O или H₂O₂. Для Chl так же, как и для Chld наиболее привлекательным с точки зрения энергии связи является окрестность иона магния. Для координационных ассоциатов Chl...H₂O и Chl...H₂O₂ 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 Chld, взаимодействующие с молекулой H₂O₂ или H₂O. Молекулы пероксида водорода могут находиться как по периферии димера (в данном случае Chld1) по типу Chld...Chld...H₂O₂ (с внешней стороны одного из макроколец), так и между двумя молекулами внутри димера хлорофиллида (структура типа Chld...H₂O₂...Chld). Аналогичным образом может быть координирована и молекула воды димерами хлорофиллида.

В табл. 1 приведены рассчитанные энергии связи комплексов из двух молекул хлорофиллидов, H₂O и H₂O₂. Как видно из данных табл. 1, молекула H₂O₂, размещенная между макрогетероциклами хлорофиллидов внутри димера имеет заметно большую энергию связи, чем помещенная туда молекула H₂O. Это справедливо как для димеров хлорофиллида в конформации Chld1, так и в конформации Chld2. При размещении же с внешней стороны димера результаты расчета энергии, полученные для Chld1 и Chld2, различны. Видно, что комплекс, состоящий из молекул в конформации Chld2, имеет

незначительного, на ~0,1 ккал/моль, но большую энергию связи с пероксидом водорода, чем с водой. В то время, как для конформации Chld1 ситуация обратная.

Таблица 1 - Энергии связи димеров хлорофиллида в конформациях Chld1 и Chld2 с молекулой воды и пероксида водорода

Комплекс	Ккал/моль
Chld1...Chld1...H ₂ O	17,4
Chld1...Chld1...H ₂ O ₂	16,2
Chld1...H ₂ O...Chld1	13,6
Chld1...H ₂ O ₂ ...Chld1	16,4
Chld2...Chld2...H ₂ O	12,7
Chld2...Chld2...H ₂ O ₂	12,8
Chld2...H ₂ O...Chld2	9,2
Chld2...H ₂ O ₂ ...Chld2	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 Chld2. Как показали расчеты, молекулы воды либо пероксида водорода по аналогии со случаем димеров могут быть координированы как с внешней стороны тримеров (структура типа Chld...Chld...Chld...H₂O₂ в случае пероксида водорода), так и располагаться между молекулами хлорофиллида (структура типа Chld...Chld...H₂O₂...Chld), 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 H₂O и H₂O₂.

Таблица 2 - Энергии связи молекул воды и пероксида водорода с тримерными комплексами хлорофиллида

Комплекс	Ккал/моль
Chld...Chld...Chld...H ₂ O	9,4
Chld...Chld...Chld...H ₂ O ₂	10,2
Chld...Chld...H ₂ O...Chld	10,4
Chld...Chld...H ₂ O 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 H₂O₂ над энергией связи H₂O немного возросло по сравнению со связыванием с димерными комплексами Chld и составило ~0,8 ккал/моль против ~0,1 ккал/моль.

На следующем этапе расчетов было проведено дополнительное варьирование конфигурации комплексов, образованных из двух молекул хлорофиллида и молекул H₂O и H₂O₂, проводившегося с целью найти структуру комплекса с возможно большей энергией связи молекулы H₂O₂ (H₂O). 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 H₂O₂ 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 H₂O₂/Chl. Облучение проводили светом галогенной лампы в комплекте с линзами, конденсором и светофильтром КС-13, отсекающим излучение с $\lambda < 630$ нм, в кварцевых кюветках толщиной 1 см. Мощность светового потока составляла 80 мВт/см². Распад H₂O₂ 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 CCl₄/вода с концентрацией Chl 30 мкМ, когда 60% молекул агрегировано в димеры, можно наблюдать максимальную скорость распада H₂O₂.

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 молекулярные 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 H₂O₂. 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 хлорофинов показывает, что с повышением степени агрегирования пигмента энергия связи с H₂O₂ превосходит энергию связи с H₂O, а также увеличивается фотокаталитическая активность растворенного и адсорбированного хлорофилла в процессе разложения пероксида водорода.

Работа выполнена при финансировании РФФИ (проект № 14-03-00194-а), программой Президиума РАН № 28 и Ведущей научной школой (грант № 6605.2012.3).

Литература

1. Г.Г. Комиссаров, *Фотосинтез: физико-химический подход*. Эдиториал УРСС, Москва, 2003. 224 с.
2. А.В. Лобанов, Н.А. Рубцова, Ю.А. Веденева, Г.Г. Комиссаров, *ДАН*, **421**, 6, 773-776 (2008).
3. *Проблемы зарождения и эволюции биосферы* (под ред. Э.М. Галимова). Книжный дом «Либроком», Москва, 2008. 552 с.
4. А.Б. Рубин, *Биофизика*. Книжный дом «Университет», Москва, 2000. 467 с.
5. С.В. Конев, И.Д. Вологовский, *Введение в молекулярную фотобиологию*. Наука и техника, Минск, 1971. 232 с.
6. Г.Г. Комиссаров, *Хим. физика*, **22**, 1, 24-54 (2003).
7. M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, J.A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K.N. Kudin, J.C. Burant, J.M. Millam, S.S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J.E. Knox, H.P. Hratchian, J.B. Cross, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, P.Y. Ayala, K. Morokuma, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, V.G. Zakrzewski, S. Dapprich, A.D. Daniels, M.C. Strain, O. Farkas, D.K. Malick, A.D. Rabuck, K. Raghavachari, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, Q. Cui, A.G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B.B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R.L. Martin, D.J. Fox, T. Keith, M.A. Al-Laham, C.Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P.M.W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M.W. Wong, C. Gonzalez, J.A. Pople, *Gaussian 03, Revision B.01*. Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2003.
8. *Порфирины: спектроскопия, электрохимия, применение* (Под ред. Н.С. Ениколопяна). Наука, Москва, 1987. 384 с.
9. D. Zevenhuijzen, P.J. Zandstra, *Biophys. Chem.*, **19**, 2, 121-129 (1984).
10. Y. Kuroiwa, Y. Kato, T. Watanabe, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **202**, 2-3, 191-195 (2009).

© **А. В. Лобанов** - к.х.н., ст.н.с., зам. зав. лаб. фотобионики Института химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, avlobanov@mail.ru; **Г. В. Синько** - д.х.н., в.н.с., выч. центр, Российский Федеральный ядерный центр – Всерос. научно-исслед. институт технической физики имени академика Е. И. Забабахина, gevas@uniterra.ru; **Г. Г. Комиссаров** - д.х.н., проф., зав. лаб. фотобионики Института химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, gkomiss@yandex.ru; **Л. Ф. Стоянова** – к.т.н., доц. каф. общей химической технологии КНИТУ; **Г. Е. Заиков** – д.х.н., проф. каф. технологии пластических масс КНИТУ.