

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра оптики и биофотоники

**Исследование конформационной подвижности и колебательных
спектров хромофоров реакционного центра фотосинтеза методом
функционала плотности**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

студента 2 курса 253 группы
направления 03.04.02 «Физика»
физического факультета

Нечаева Владимира Владимировича

Научный руководитель
профессор кафедры
оптики и биофотоники,
д.ф.-м.н., профессор



К.В. Березин

Заведующий кафедрой
оптики и биофотоники
д.ф.-м.н., профессор



В.В. Тучин

Саратов 2020

Введение

Исследование первичных процессов фотосинтеза на молекулярном уровне представляет фундаментальную проблему современного естествознания. Принципы действия реакционного центра (РЦ) фотосинтеза не в полне ясны, причем наибольший интерес представляют первичные ультрабыстрые процессы разделения заряда. Так как их глубокое понимание позволило бы синтезировать искусственные молекулярные комплексы, способные к запасанию энергии света, а также дало возможность получать фотоматериалы с новыми характеристиками.

Хлорофилл и его безметалльный аналог феофитин играют ключевую роль первичных процессах фотосинтеза у высших растений и бактерий. Установлено, что ассоциаты хлорофилла в антенных комплексах служат для улавливания световой энергии и передачи ее в форме электронного возбуждения в фотореакционные центры (ФРЦ).

Колебательная спектроскопия ИК, РКР, а также тонкоструктурные спектры поглощения и флуоресценции дают богатую информацию как о внутримолекулярных взаимодействиях хромофоров с белковой матрицей. Поэтому детальная теоретическая интерпретация колебательных спектров хлорофилла и других переносчиков электрона в ФРЦ представляет значительный интерес.

Задача интерпретации нормальных колебаний хлорофиллов возникает также в связи с исследованиями ультрабыстрых процессов разделения зарядов между первичным донором электрона (димером хлорофилла) и первичным акцептором (мономерный хлорофилл). Неэмпирические расчеты структуры реалистических моделей хлорофиллов и их колебательных спектров в литературе отсутствуют, что объясняется относительно большими размерами молекул и нетривиальностью решения колебательной задачи в естественных координатах для хлорофиллидного макроцикла.

Хлорофилл является сложным соединением, состоящим из хлорофиллида и остаток фитола. Большое число атомов и наличие различных заместителей

на периферии макроцикла затрудняет понимание экспериментальных данных этой молекулы. Хлорофилл и феофитин являются производными свободного основания порфина. Порфин, несмотря на большое число атомов, является молекулой с высокой симметрией и имеет полосы поглощения в видимой области. Поэтому порфин и его производные были выбраны в качестве первичных объектов исследования.

Основной целью диссертационной работы является интерпретация и классификация колебаний молекулы каротина, хлорофилла (a), бактериохлорофилла (a) в основном состоянии на основании квантовомеханических расчетов силового поля методом функционала плотности (DFT/B3LYP), а также изучение конформационной подвижности заместителей хромофоров фотосинтеза.

Результаты и положения, выносимые на защиту

1. Интерпретация колебательного ИК и КР спектров бета-каротина в двух изомерных формах полностью транс и 15,15'- цис.
2. Использование концепции локальной симметрии позволяет установить соответствие между нормальными колебаниями Mg-порфина, свободного основания порфина, хлорина, Mg-хлорина и Mg-пиррофеофорбида, что дает возможность отделить вклад кольцевых колебаний макроцикла хлорофилла от вклада колебаний заместителей в спектре и интерпретировать кольцевые колебания в терминах нормальных колебаний наиболее симметричного представителя гомологического ряда – Mg-порфина.
3. Квантово-химические расчеты методом функционала плотности в приближении b3lyp/6-31G(d) потенциалов внутреннего вращения для подвижных заместителей хлорофилла показывают, что метильные группы находятся в состоянии свободного вращения при комнатных температурах. Крутильное движение заместителя с двойной связью, находящейся в частичном сопряжении с хлорофиллидным макроциклом, могут выполнять

роль координаты реакции первичного разделения зарядов в специальной паре реакционного центра фотосинтеза.

Структура и объем магистерской работы

Магистерская работа состоит из введения, 3-х разделов, заключения и списка литературы из 31 наименования. Общий объем магистерской работы составляет 57 страниц текста, включающего две таблицы и 13 рисунков.

В первом разделе рассматриваются методы квантовой химии, используемые для получения количественной информации из молекулярных спектров. Описываются основы метода Хартри-Фока-Рутана и теории функционала плотности density functional theory (DFT).

В данной работе все расчеты проводились методом функционала плотности DFT/B3LYP/6-31G(d) с использованием программ Gaussian 03. Для корректного сравнения рассчитанных частот нормальных колебаний с экспериментальными данными они были пересчитаны по формуле (1), предложенной в [4]:

$$\nu_{\text{эксп}} = a\nu_{\text{выч}}^2 + b\nu_{\text{выч}}, \quad (1)$$

где $\nu_{\text{эксп}}$, $\nu_{\text{выч}}$ – опытная и вычисленная частота в см⁻¹ (волновое число), a и b – эмпирические коэффициенты ($a = -8.35(3) \times 10^{-6}$ см, $b = 0.9813(4)$). Сопоставление колебаний проводилось с использованием программы визуализации молекулярных колебаний Molekel и численных значений декартовых координат векторов смещений атомов при колебаниях.

Во второй раздел посвящен теоретическому исследованию колебательных спектров молекулы свободного основания порфина (Рис.1) и его металлокомплексов, которую можно рассматривать как базовое соединение в гомологическом ряду порфиринов. На основании квантовомеханического расчета частот нормальных колебаний молекулы порфина и металлопорфинов впервые выполнена полная интерпретация форм нормальных мод в терминах колебаний их структурных элементов (пиррольных колец (P), метиновых мостиков и координационного узла).

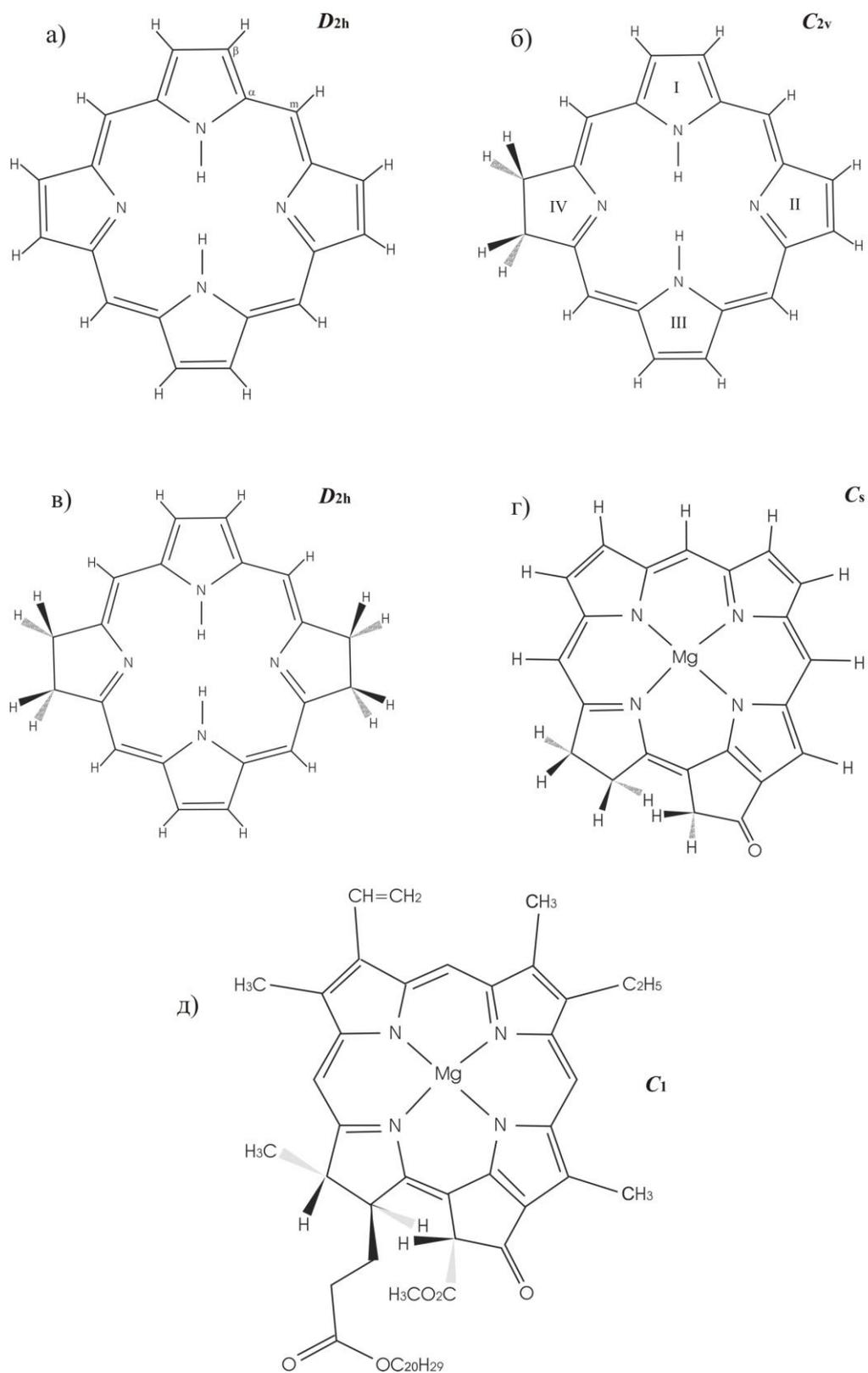


Рис.1. Структурные формулы модельных соединений хлорофилла: а) свободное основание порфин; б) хлорин; в) бактериохлорин; г) Mg-пиррофоефорбид; д) хлорофилл (а)

Природный хлорофилл, входящий в состав реакционного центра фотосинтеза, в центре макроцикла содержит атом металла, нами была поставлена задача сопоставления форм колебаний Mg-P, Zn-P, Ni-P и P с целью изучения влияния центрального атома металла на частоты нормальных колебаний тетрапиррольного цикла. Анализ форм колебаний показал, что частоты которые мало реагируют на введение в центр макроцикла атома металла ($\Delta\nu < 10 \text{ см}^{-1}$) представляют собой плоские и неплоские колебания связей СН пиррольных и пирролениновых колец. Это следующие колебания (ρ (СβН): 768, 772, 776, 792, 880, 885, 890, 892 см^{-1} ; β (СβН): 1053, 1058, 1061, 1067, 1191, 1248, 1286, 1357 см^{-1}), метиновых С-Н связей (ρ (С α Н): 828, 838, 839, 850 см^{-1} ; β (С α Н): 1140, 1143, 1159, 1179 см^{-1}); плоские (411, 716 см^{-1} – изменение углов С α С α С β , С α С α С α) и неплоские колебания макроцикла, в которых атомы N неподвижны (293 см^{-1} – противофазный поворот противоположных пиррольных колец вокруг осей, соединяющих атомы N; 470, 694 см^{-1} – выход из плоскости атомов С α , С α и С β) или совершают колебания с малой амплитудой (696, 697 см^{-1} – выход из плоскости атомов С α , N). Колебания, частоты которых изменяются на величину более 30 см^{-1} – это колебания в которые значительный вклад вносит изменение длин координационных связей, углов между ними и неплоские колебания, в которых атомы N движутся с относительно большой амплитудой.

Представлены результаты квантовомеханических расчетов колебательных спектров модельных соединений хлорофилла (хлорина, Mg- и Zn-хлорина, бактериохлорина, Mg-пиррофеофорбида, этилхлорофиллида (а)). Дана частичная интерпретация спектра резонансного комбинационного рассеяния хлорофилла (а). Проведено соотнесение форм нормальных колебаний Mg- и Zn-хлорина и хлорина (Рис.1б). Обнаружено, что около 54% всех частот меняются незначительно (в пределах от 0 до 10 см^{-1}). Частоты восьми плоских колебаний хлорина при переходе к его металлокомплексам изменяются свыше 40 см^{-1} . Это колебания с частотами: $\nu = 96 \text{ см}^{-1}$ – трансляция P I ,P II ,P III ,P IV -; $\nu = 286 \text{ см}^{-1}$ – трансляция P I ,P III +; $\nu = 301 \text{ см}^{-1}$ – ”дыхание” всего макроцикла; $\nu = 956 \text{ см}^{-1}$ – ”дыхание” P I ,P III +; $\nu = 976 \text{ см}^{-1}$ – симметричное сжатие пиррольных

колец PI,PIII -; $\nu = 1169 \text{ см}^{-1}$ – симметричное сжатие пиррольных колец PI,PIII +; $\nu = 1363 \text{ см}^{-1}$ – асимметричное сжатие пиррольных колец PI,PIII; $\nu = 1487 \text{ см}^{-1}$ – изменение длины связи C β -C β PI.

Важно отметить, что подобная закономерность наблюдается при переходе от свободного основания порфина к его металлокомплексам. У порфина при введении атома металла в центр макроцикла также максимально изменяются частоты восьми колебаний, которые аналогичны по форме выше перечисленным колебаниям.

Представлены результаты квантовомеханического расчета частот нормальных колебаний молекулы бактериохлорина (Рис.1в). Проведено соотнесение форм нормальных колебаний этой молекулы и свободного основания порфина. Выявлены 12 колебаний бактериохлорина, которым нет аналогов в порфине. Это крутильные колебания с частотами: 1130 см^{-1} (B2g), 1130 см^{-1} (B1u), 1224 см^{-1} (Au), 1224 см^{-1} (B3g); ножничные: 1454 см^{-1} (B2u), 1456 см^{-1} (B1g), 1479 см^{-1} (B3u), 1480 см^{-1} (Ag); валентные ν (C β H): 2942 см^{-1} (Au), 2942 см^{-1} (B3g), 2960 см^{-1} (B2g), 2960 см^{-1} (B1u). Обнаружено, что основная масса частот понижается при переходе от порфина к бактериохлорину. Около половины (54%) всех частот изменяются мало – $\Delta\nu$ лежит в интервале от 0 до 20 см^{-1} .

Впервые проведено соотнесение форм нормальных колебаний молекулы Mg-пиррофеофорбида (Рис.1г) и молекулы Mg-хлорина. Определены характерные колебания Mg-пиррофеофорбида, связанные с дополнительным пятым кольцом, которым нет соответствия в Mg-хлорине. Это колебания с частотами: 563 см^{-1} – $\rho(\text{C}=\text{O})$, 623 см^{-1} – $\beta(\text{C}=\text{O})$, 851 см^{-1} – ”дыхание” изоцикла, 939 см^{-1} – CH₂ маятниковое, 1130 см^{-1} – CH₂ крутильное, 1221 см^{-1} – CH₂ веерное, 1436 см^{-1} – CH₂ ножничное, 1744 см^{-1} – валентное $\nu(\text{C}=\text{O})$, 2910 см^{-1} – валентное $\nu(\text{CH}_2)^+$, 2939 см^{-1} – валентное $\nu(\text{CH}_2)^-$. Обнаружено, что при переходе от Mg-хлорина к Mg-пиррофеофорбиду подавляющее большинство частот (79%) изменяется мало ($\Delta\nu$ от 0 до 10 см^{-1}). Сильно ($\Delta\nu$ свыше 35 см^{-1}) меняются семь колебаний Mg-пиррофеофорбида с частотами: 265 см^{-1} –

шарнирный поворот пиррольного кольца PII; 370 см⁻¹ – γ (C α Cm) +; 646 см⁻¹ – деформация PI,PIII+; 754 см⁻¹ – складывание пиррольных колец PI,PIII -; 819 см⁻¹ – ρ (CH) (PI,PIII)-; 927 см⁻¹ – симметричное сжатие пиррольного кольца PIV; 1312 см⁻¹ – ν (C α Cm)+. Одно колебание с частотой 1163 см⁻¹ изменяется особенно сильно ($\Delta\nu = 437$ см⁻¹) – это изменение угла C α NC α -. Такое большое повышение частоты связано с изменением в структуре – появлением пятого циклопентанонового кольца.

На основании соотнесения колебаний Mg-пиррофеофорбида с колебаниями Mg-хлорина построена корреляционная таблица. Впервые сделано полное соотнесение и интерпретация нормальных мод модельных соединений хлорофилла от порфина до Mg-пиррофеофорбида в терминах колебаний их структурных элементов (метиновых мостиков, пиррольных колец и координационного узла).

В третьем разделе в качестве реалистичной модели хлорофилла (a) (Рис.2) был выбран этилбактериохлорофиллид (a) (Рис.3). Сравнение геометрии, рассчитанной в настоящей работе и найденной методом рентгеноструктурного анализа, показало их хорошее согласие: средняя ошибка для длин связей хлоринового макроцикла не превышает 0.02 Å и 1° для углов. Высказана гипотеза об экранирующей роли насыщенных заместителей в стабилизации состояний с неспаренным электроном у хлорофилла в реакционных центрах фотосинтеза.

Представлен квантовомеханический расчет частот нормальных колебаний, наблюдаемых в спектре резонансного комбинационного рассеяния хлорофилла (a), а также его изотопозамещенных типов ¹⁵N, ¹³C, ¹³C+¹⁵N. Сделано отнесение и проведена интерпретация колебательных частот в спектре резонансного комбинационного рассеяния при резонансном возбуждении в полосе Core (457,9 нм). Отнесение и интерпретация низкочастотной области экспериментального спектра (184 – 1050 см⁻¹), показали, что рассчитанные частоты хорошо согласуются с экспериментальными.

Малый сложноэфирный заместитель имеет сложный многоямный потенциал внутреннего вращения с наибольшим барьером 5.2 кДж/моль.

Анализ рентгено-структурных данных о взаимном расположении групп в димере хлорофилла (специальная пара), отвечающем за резделение зарядов, показывает, что винильный заместитель находится над одним из пиррольных колец парной молекулы и по-нашему мнению может образовывать слабую связь с азотом за счет ванн-дер-ваальсовой связи.

Расчет потенциала внутреннего вращения винильной группы в хлорофилле с присоединенным дополнительным электроном показал, что барьер внутреннего вращения несколько снижается и минимум смещается на ~15 градусов к более плоской структуре, аналогичный эффект наблюдается и в первом электронно возбужденном состоянии. Ситуация в данном случае оказывается полностью аналогична той, которая наблюдается для молекулы бифенила. В бифениле в основном состоянии бензольные кольца повернуты друг относительно друга на 45 градусов, а в электронно возбужденном состоянии и в состоянии отрицательного иона угол между кольцами становится равным нулю. Винильная группа хлорофилла, как было выяснено ранее, выходит из плоскости макроцикла за счет стерических затруднений. При переходе электрона на более высокую вакантную орбиталь молекулы хлорофилла она стремится повернуться так, чтобы быть в плоскости цикла.

На основании расчетов мы предположили, что внутреннее вращение винильной группы в хлорофилле и формильной группы в бактериохлорофилле может быть сопоставлено с координатой реакции переноса электрона в специальной паре вовремя первичного процесса резделения зарядов в реакционных центрах фотосинтеза.

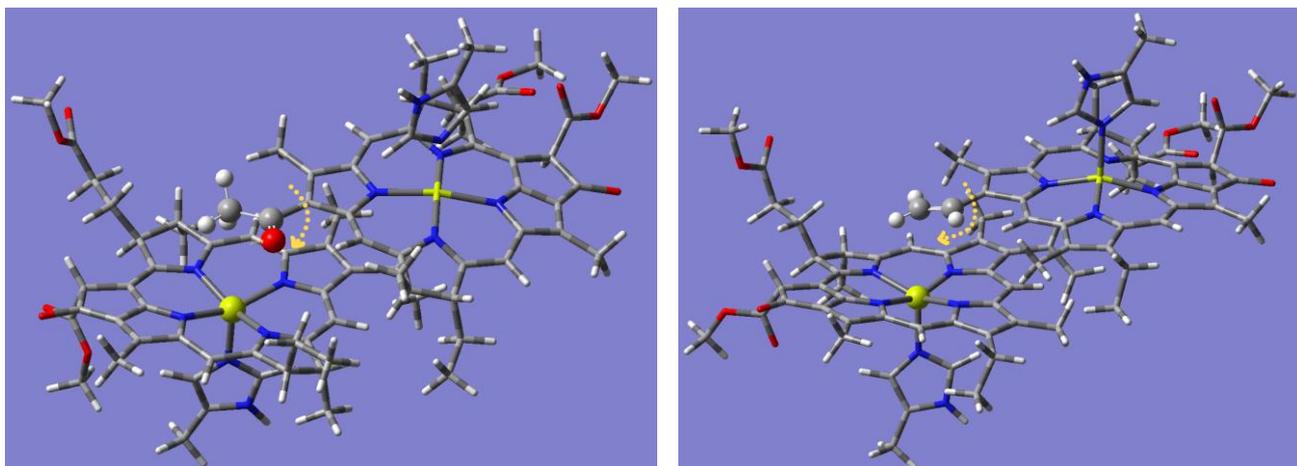


Рис. 3. Внутреннее вращение ацетилной группы в бактериохлорофилле (А), слева. Внутреннее вращение винильной группы в хлорофилле (А).

Если придерживаться механистической аналогии, то вращающийся заместитель можно уподобить своеобразному ключу, работающему на размыкание, то есть при локализации электрона на одном из хлорофиллов, заместитель с сопряженной двойной связью поворачивается, увеличивая эффективное расстояние между компонентами димера и тем самым предотвращая аннигиляцию электрона и дырки. Не исключено, что предложенный механизм вносит свой вклад в необратимый характер первичного разделения заряда под действием света или поглощенного экситона.

Заключение

1. Показано, что для корректной интерпретации колебательных ИК спектров указанных соединений модель полиенового фрагмента оказывается недостаточной и необходим полный учет колебаний β -иноновых колец. Большинство колебаний полностью транс-бета-каротина образуют квазивырожденные пары, которые сохраняются для его 15,15'-цис изомера.

2. Использование концепции локальной симметрии позволяет установить соответствие между нормальными колебаниями Mg-порфина, свободного основания порфина, хлорина, Mg-хлорина и Mg-пиррофеофорбида, что дает возможность отделить вклад кольцевых колебаний макроцикла хлорофилла

от вклада колебаний заместителей в спектре и интерпретировать кольцевые колебания в терминах нормальных колебаний наиболее симметричного представителя гомологического ряда – Mg-порфина.

3. Квантово-химические расчеты методом функционала плотности в приближении b3lyp/6-31G(d) потенциалов внутреннего вращения для подвижных заместителей хлорофилла показывают, что метильные группы находятся в состоянии свободного вращения при комнатных температурах. Крутильное движение заместителя с двойной связью, находящегося в частичном сопряжении с хлорофиллидным мекроциклом, может выполнять роль промотирующей моды в реакции первичного разделения зарядов в специальной паре реакционного центра фотосинтеза.

Список использованных источников

1. Photosynthetic Protein Complexes. A Structural Approach. Ed. P, Fromme. John Wiley & Sons, 2008, P. 386.
2. Á. Nagy. Density functional. Theory and application to atoms and molecules. Physics Reports, 1998. V,298. P.1 – 79.
3. Yoshida H., Takeda K., Okamura J. et al. A new approach to vibrational analysis of large molecules by density functional theory: wavenumber-linear scaling method // J. Phys. Chem. A. – 2002. V.106. N 14. – P. 3580 – 3586.
4. Березин К.В., Нечаев В.В., Кривохижина Т.В. Применение метода линейного масштабирования частот в расчетах нормальных колебаний многоатомных молекул // Опт. и спектр., 2003.- Т.94.№3.С.398-401.
5. С.Л.Бондарев. Фотофизика β-каротина и родственных соединений. Журн. прикл. спектр., 64 (1997) С.5-19
6. M.O.Senge, H.Hope, K.M.Smith. Notes. Structure and conformation of photosynthetic pigments and related compounds. 3. Crystal structure of β – carotene, Z. Naturforsch., 1992, C47. P.474-476.