

ние таких явлений должно, по-видимому, исходить из их кооперативной природы. Применительно ко многим задачам такое объяснение получено. Однако в литературе фигурируют соображения о миграции энергии в биополимере или в окружающей его якобы «структурированной» воде. На этой основе пытались, например, истолковать мышечное сокращение. «Миграционные» представления в «темновой» биологии не имеют оснований.

2. В 1923 г. Гурвич сообщил об открытии *митогенетических лучей*, испускаемых клетками при их митотическом делении и, в свою очередь, стимулирующих митозы. Продолжавшиеся в течение ряда лет попытки обнаружить это излучение точными физическими методами не привели к успеху. Существование митогенетических лучей не подтвердилось, их изучение поэтому давно оставлено. Равным образом ложны сообщения об ультрафиолетовых излучениях при гибели клеток и при иных биологических процессах.

3. Клетки и ткани растений и животных обладают зачастую на воздухе слабым свечением, которому приписывалось биологическое значение. Однако это свечение — *хемилюминесценция*, определяемая, в основном, окислением липидов. Многие органические соединения светятся при окислении. Биологического значения это свечение, по-видимому, не имеет. Оно может использоваться как индикатор окислительных процессов.

§ 5.6. Естественная оптическая активность

Как уже говорилось, биополимеры хиральны и, следовательно, обладают естественной оптической активностью, т. е. вращают плоскость поляризации света, и *круговым дихроизмом* (см. далее).

Оптическая активность — способность хиральной среды поворачивать плоскость поляризации проходящего света — была от-

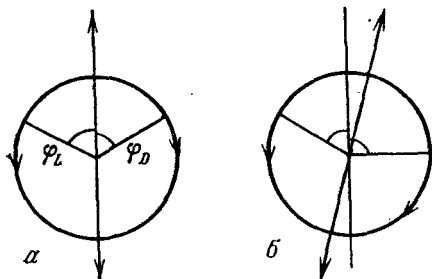


Рис. 5.14. Разложение плоскополяризованной волны на волны, поляризованные по кругу вправо и влево (а), и поворот плоскости поляризации в результате кругового двулучепреломления (б)

крыта Араго в 1811 г. Как показал Френель (1820 г.), оптическая активность есть результат *кругового двулучепреломления*, т. е. разных скоростей распространения в среде света, поляризованного по кругу вправо и влево. В правой волне вектор напря-

женности электрического поля в луче, идущем в глаз наблюдателя, вращается по часовой стрелке, в левой — против часовой стрелки. Линейно поляризованную волну можно разложить на правую и левую волны, поляризованные по кругу — электрический вектор, колеблющийся вдоль одного направления, есть сумма двух векторов, вращающихся по кругу по и против часовой стрелки (рис. 5.14, а). Если одна из этих волн распространяется быстрее другой, то суммарный вектор поворачивается на угол, тем больший, чем больше разность скоростей (рис. 5.14, б), т. е. показателей преломления. При прохождении луча через слой вещества толщиной l плоскость поляризации поворачивается на угол

$$\varphi = \frac{\pi}{\lambda} (n_L - n_D) l, \quad (5.14)$$

где λ — длина волны света, n_L и n_D — показатели преломления для левой и правой волн.

Удельным вращением раствора, содержащего c (г/см³) оптически активного вещества, называется величина

$$\varphi_{уд} = \varphi / c. \quad (5.15)$$

Если l измеряется в дм, а φ — в радианах, то

$$\varphi_{уд} = \frac{180}{\pi} \frac{10}{c} \frac{\varphi}{l} \text{ рад} \cdot \text{дм}^{-1} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{см}^3. \quad (5.16)$$

Для чистого вещества вместо c надо подставить плотность. *Молекулярным вращением* называется величина

$$\mathcal{M} = \frac{M}{100} \varphi_{уд} = \varphi \frac{18}{\pi} \frac{M}{c l}, \quad (5.17)$$

где M — м. м. оптически активного вещества.

Любое вещество и преломляет, и поглощает свет. В области собственного поглощения света веществом показателем преломления есть комплексная величина

$$\tilde{n} = n - i\kappa, \quad (5.18)$$

где κ — показатель поглощения, связанный с молекулярным коэффициентом поглощения ε (см. (5.3)) соотношением

$$\kappa = \varepsilon \frac{\lambda c}{4\pi M}, \quad (5.19)$$

где M — молекулярная масса, а c выражено в г/см³. Часто пользуются законом Бугера — Ламберта — Бэра в форме

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon' c' l}. \quad (5.20)$$

Здесь c' выражено в моль · л⁻¹, а $\varepsilon' = 0,4343\varepsilon$.

Если вещество обладает круговым двулучепреломлением, то оно по-разному поглощает свет, поляризованный по кругу влево и вправо, т. е. обладает и круговым дихроизмом. Угол поворота

плоскости поляризации — также комплексная величина

$$\tilde{\varphi} = \frac{\pi}{\lambda} (\tilde{n}_L - \tilde{n}_D) l = \frac{\pi}{\lambda} (n_L - n_D) l - i \frac{\pi}{\lambda} (\kappa_L - \kappa_D) l. \quad (5.21)$$

В области собственного поглощения линейно поляризованный свет превращается в эллиптически поляризованный. Мерой эллиптичности служит величина

$$\theta = \frac{\pi}{\lambda} (\kappa_L - \kappa_D). \quad (5.22)$$

Молекулярная эллиптичность определяется как

$$\theta_{\text{мол}} = \theta \frac{18}{\pi} \frac{M}{c} = 2,303 \cdot \frac{4500}{\pi} (\epsilon'_L - \epsilon'_D) \equiv 3300 (\epsilon'_L - \epsilon'_D). \quad (5.23)$$

Теория должна объяснить происхождение разностей $n_L - n_D$ и $\kappa_L - \kappa_D$ (т. е. $\epsilon_L - \epsilon_D$) и установить связь этих величин со строением вещества. В обычной оптике — в теории преломления и дисперсии света — размеры молекул считаются бесконечно малыми по сравнению с длиной волны света λ . Иными словами, не учитываются различия в фазах световой волны в разных точках молекулы. В действительности для малых молекул отношение их размеров к длине волны видимого света имеет порядок величины 10^{-3} , которым в теории оптической активности нельзя пренебрегать — весь эффект определяется именно разностями фаз световой волны в пределах молекулы. Спектрополяриметрия есть своего рода *молекулярная интерферометрия*, чем и объясняется высокая чувствительность оптической активности к изменениям молекулярной структуры.

Таким образом, нельзя пренебрегать расстояниями между электронами молекулы, на которые действует световая волна. Необходимо также учитывать взаимодействие этих электронов — в отсутствие такового нет и оптической активности. И; наконец, молекула или кристалл должны быть хиральными, т. е. не иметь ни плоскости, ни центра симметрии.

В строгой квантовомеханической теории оптической активности (Розенфельд) поворот плоскости поляризации выражается через электрические и магнитные переходные диполи (ср. с. 142). Для изотропной среды, содержащей N_1 хиральных молекул в 1 см^3 , получается

$$\varphi = \frac{16\pi^3 N_1 \beta}{\lambda^2} \frac{n^2 + 2}{3} l, \quad (5.24)$$

где n — показатель преломления, а β — константа, характеризующая оптическую активность. Показатель преломления связан с поляризуемостью *a* формулой Лоренца — Лоренца

$$\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} = \frac{4\pi}{3} N_1 a. \quad (5.25)$$

Поляризуемость a , определяющая преломление света, и константа β , определяющая круговое двулучепреломление, выражаются

сходным образом:

$$a = \frac{2}{3\hbar} \sum_j \frac{\omega_j p_{0j}^2}{\omega_j^2 - \omega^2}, \quad (5.26)$$

$$\beta = \frac{2\pi c}{3\hbar} \sum_j \frac{\text{Im} \{p_{0j} m_{j0}\}}{\omega_j^2 - \omega^2}. \quad (5.27)$$

Эти формулы справедливы для молекул в основном, электронно невозбужденном состоянии 0, вдали от полос поглощения с частотами $\omega_j \equiv \omega_{0j}$. Здесь ω — круговая частота падающего света, c — скорость света, $\hbar = h/2\pi$, h — постоянная Планка, p_{0j} — электрический дипольный момент перехода (см. с. 142), m_{j0} — магнитный дипольный момент перехода. Символ Im показывает, что в β входят лишь мнимые части комплексных произведений $p_{0j} m_{j0}$. Суммирование производится по всем переходам $0 \rightarrow j$. Как мы видели (с. 142), величина $p_{0j}^2 = D_j$, именуемая дипольной силой, непосредственно связана с интенсивностью поглощения света. Сумма дипольных сил по всем переходам $0 \rightarrow j$ есть константа, пропорциональная числу электронов в молекуле. Величина

$$R_j = \text{Im} \{p_{0j} m_{j0}\} \quad (5.28)$$

называется *вращательной силой* перехода $0 \rightarrow j$.

В отличие от суммы дипольных сил, сумма вращательных сил по всем j равна нулю.

Это легко доказывается:

$$\begin{aligned} \sum_j R_j &= \sum_j \text{Im} \left\{ \int \psi_0 \mathbf{p} \psi_j^* d\tau \int \psi_j \mathbf{m} \psi_0^* d\tau \right\} = \\ &= \text{Im} \left\{ \int \psi_0 (\mathbf{p}\mathbf{m}) \psi_0^* d\tau - \int \psi_0 \mathbf{p} \psi_0^* d\tau \int \psi_0 \mathbf{m} \psi_0^* d\tau \right\} = 0, \quad (5.29) \end{aligned}$$

так как диагональные матричные элементы $\langle 0 | \mathbf{p}\mathbf{m} | 0 \rangle$, $\langle 0 | \mathbf{p} | 0 \rangle$ и $\langle 0 | \mathbf{m} | 0 \rangle$ вещественны; т. е. их мнимые части равны нулю.

Вращательная сила R_j обращается в нуль при наличии у молекулы плоскости или центра симметрии. Электрический и магнитный сомножители не могут в отсутствие хиральности одновременно отличаться от нуля. В этих случаях все состояния молекулы делятся на четные и нечетные, в зависимости от того, сохраняет ли волновая функция знак или меняет его при отражении соответственно в центре или в плоскости. Операторы моментов \mathbf{p} и \mathbf{m} в декартовых координатах имеют вид

$$\begin{aligned} \mathbf{p} &= e(\mathbf{i}x + \mathbf{j}y + \mathbf{k}z), \\ \mathbf{m} &= -i \frac{e\hbar}{2m_e c} \left\{ \mathbf{i} \left(y \frac{\partial}{\partial z} - z \frac{\partial}{\partial y} \right) + \mathbf{j} \left(z \frac{\partial}{\partial x} - x \frac{\partial}{\partial z} \right) + \mathbf{k} \left(x \frac{\partial}{\partial y} - y \frac{\partial}{\partial x} \right) \right\}, \quad (5.30) \end{aligned}$$

где e и m_e — заряд и масса электрона, $\hbar = h/2\pi$, h — постоянная Планка, c — скорость света, \mathbf{i} , \mathbf{j} , \mathbf{k} — единичные векторы вдоль осей координат. Допустим, что молекула имеет центр симметрии. При отражении в центре \mathbf{p} меняет знак, а \mathbf{m} — сохраняет. Поэтому $\langle 0 | \mathbf{p} | j \rangle$ не равно нулю только при переходах от нечетных к четным состояниям и наоборот. Напротив, $\langle j | \mathbf{m} | 0 \rangle$ отлично от нуля лишь для переходов между состояниями одинаковой четности. Следовательно, скалярное произведение этих матричных элементов равно нулю для любых переходов. Аналогичным образом доказывается равенство нулю R_j для молекул с плоскостью симметрии.

При переходе от правого антипода к левому знак R , знак вращения, меняется. По порядку величины R , равно произведению электрического и магнитного моментов молекулы. Переходной момент p_{ij} имеет порядок $1D = 10^{-18}$ ед. СГСЭ, магнитный момент электрона $0,93 \cdot 10^{-20}$ эрг \cdot Гс $^{-1}$. Следовательно, порядок величины R_j есть 10^{-38} ед. СГСЭ. Удобно пользоваться значением приведенной вращательной силы, выражаемым числом порядка единицы:

$$R' = \frac{100}{\mu_B p_d} R,$$

где μ_B — магнетон Бора, $p_d = 1 D$.

В области полосы поглощения с частотой ω , необходимо учесть затухание. Тогда мы получаем комплексное выражение для β_j :

$$\beta_j = \frac{2c}{3\hbar} \frac{R_j}{\omega_j^2 - \omega^2 + i\omega\Gamma_j} = \frac{2c}{3\hbar} \frac{R_j (\omega_j^2 - \omega^2)}{(\omega_j^2 - \omega^2)^2 + \omega^2 \Gamma_j^2} - \frac{2ic}{3\hbar} \frac{R_j \omega \Gamma_j}{(\omega_j^2 - \omega^2)^2 + \omega^2 \Gamma_j^2}. \quad (5.31)$$

Величина Γ_j характеризует полуширину полосы поглощения в шкале частот. Первый член в (5.31) описывает вращение плоскости поляризации, второй — круговой дихроизм (с. 150). Аналогичным образом вблизи полосы поглощения получается комплексное выражение для поляризуемости, в котором вещественный член описывает преломление, а мнимый — поглощение света.

Вблизи полосы поглощения наблюдается аномальная дисперсия оптического вращения (АДОВ) и одновременно круговой дихроизм (КД). Модельные кривые для право- и левовращающего вещества показаны на рис. 5.15. Соответствующие кривые для преломления и поглощения аналогичны кривым АДОВ и КД для правовращающего вещества. АДОВ принято называть эффектом Коттона, хотя Коттон открыл именно КД.

Вращательную силу R_j можно определить как из АДОВ, так и из КД. Соответственно, можно перейти от одного эффекта к другому расчетом. Это частный случай соотношений Кронига — Крамерса, устанавливающих

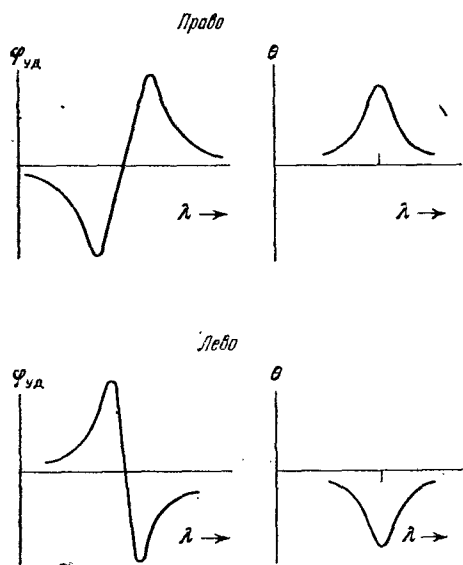


Рис. 5.15. Графики АДОВ и КД. Вверху — кривые для правовращающего вещества, внизу — для левовращающего

Вращательную силу R_j можно определить как из АДОВ, так и из КД. Соответственно, можно перейти от одного эффекта к другому расчетом. Это частный случай соотношений Кронига — Крамерса, устанавливающих

связь между вещественной и мнимой частями реакции линейной системы на внешнее воздействие. Вычисление вращения из эллиптичности и наоборот (и аналогичные вычисления для преломления и поглощения) производятся по формулам

$$\varphi(\omega) = \frac{2\omega^2}{\pi} \int_0^{\infty} \frac{\theta(\omega')}{\omega'(\omega'^2 - \omega^2)} d\omega', \quad (5.32)$$

$$\theta(\omega) = -\frac{2\omega^3}{\pi} \int_0^{\infty} \frac{\varphi(\omega')}{\omega'^2(\omega'^2 - \omega^2)} d\omega'. \quad (5.33)$$

На практике для определения R_i при исследованиях биополимеров удобнее пользоваться КД, чем АДОВ. Можно показать, что в КД значительно больше отношение сигнала к шуму.

Теоретические расчеты β являются приближенными, так как практически невозможно знать весь набор энергетических уровней молекул и соответствующих волновых функций для прямых вычислений по формуле (5.27).

Молекулу можно мысленно разбить на атомные группы, между которыми нет обмена электронами. Тогда β представится суммой

$$\beta = \beta_1 + \beta_2 + \beta_3 + \beta_4, \quad (5.34)$$

где β_1 — вклады отдельных групп, равные нулю, если группы не хиральны (например, группы CH_3), β_2 — «одноэлектронные» члены, появляющиеся в результате электрических и магнитных дипольных переходов в данной группе, находящейся в асимметричном поле остальных групп. Член β_3 возникает вследствие взаимодействия m_{j_0} одной группы с p_{0j} другой. Наконец, β_4 определяется одновременным электрическим дипольным возбуждением различных групп. Наиболее существенны вклады β_2 и β_4 . Вклад β_4 является результатом электростатического дипольного взаимодействия анизотропно поляризующихся групп в молекуле. Этот вклад определяется поляризуемостями атомных групп и непосредственно зависит от их взаимного геометрического расположения, т. е. от конфигурации и конформации молекулы, и обращается в нуль при наличии плоскости или центра симметрии.

Простейшая модель хиральной молекулы, предложенная Куном, состоит из двух линейных групп, 1 и 2, отстоящих друг от друга на расстояние r и поляризующихся только вдоль своих осей, угол между которыми равен γ (рис. 5.16). В этом случае

$$\beta_4 = \frac{1}{6} a_1 a_2 \sin \gamma \cos \gamma / r^3, \quad (5.35)$$

где a_1 и a_2 — поляризуемости групп 1 и 2. Как мы видели (с. 151), поляризуемость определяется значениями p_{0j} , т. е. интенсивностями соответствующих полос поглощения. Чем интенсивнее полоса, тем больше ее вклад в β_4 . Но вращательная сила

определяется произведением $\rho_{0j} m_{j0}$. При больших значениях ρ_{0j} величины m_{j0} обычно малы, и наоборот. В оптической активности могут быть существенны слабые полосы с малыми ρ_{0j} , но с большими m_{j0} . Такие полосы не вносят заметного вклада в поляризуемость, β_1 не учитывает роли слабых полос.

Вклад β_2 приближенно оценивается с помощью так называемой *одноэлектронной модели*. Применяется формула (5.27), по-

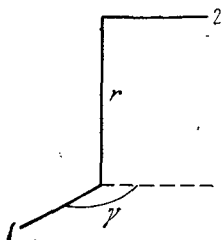


Рис. 5.16. Простейшая модель оптически активной молекулы (Куп)

рассматриваются лишь электроны хромофорных групп, ответственных за длинноволновое поглощение. Хромофорная группа (например, пептидная связь —NH—CO— и т. д.) обычно плоская и оптической активности не имеет. Но, находясь в асимметричном поле соседних атомов хиральной молекулы, группа дает вклад в β_2 . Одноэлектронная модель действительно позволяет хорошо описать дисперсию оптической активности и, в особенности, АДОВ и КД в полосе поглощения хромофора. На основе этой модели удается с хорошей точностью вычислять вращательные силы для электронных переходов в хромофорных группах. Изменение конформации молекулы меняет

β_2 . Теория с успехом была применена для конформационного анализа терпенов, стероидов и т. п.

Современное развитие спектрополяриметрии непосредственно связано с исследованиями структуры природных соединений — с биоорганической химией и молекулярной биологией. В развитии спектрополяриметрии было три этапа. В свое время для характеристики молекул и кристаллов ограничивались значениями $\Phi_{уд}$ при одной длине волны света. Это давало очень скудную информацию. В дальнейшем обратились к измерению дисперсии вне области поглощения. Наконец, в последнее время измеряются эффект Коттона (АДОВ) и КД в полосах поглощения вещества. Это наиболее информативно, но требует высокой чувствительности аппаратуры (измерение вращения с точностью до 10^{-4} град) и возможности измерений в широком интервале длин волн (для белков вплоть до 180—230 нм).

§ 5.7. Естественная оптическая активность биополимеров

Применительно к полимерам рационально выражать оптическое вращение и КД в величинах, отнесенных к одному мономеру. Среднее вращение мономера определяется как

$$m' = \frac{M_0}{100} \Phi_{уд}, \quad (5.36)$$

где M_0 — средняя м. м. мономера. Грубый учет влияния растворителя состоит во введении поправки Лорентца. Вместо m' при-