

определяется произведением  $\rho_{0j} m_{j0}$ . При больших значениях  $\rho_{0j}$  величины  $m_{j0}$  обычно малы, и наоборот. В оптической активности могут быть существенны слабые полосы с малыми  $\rho_{0j}$ , но с большими  $m_{j0}$ . Такие полосы не вносят заметного вклада в поляризуемость,  $\beta_1$  не учитывает роли слабых полос.

Вклад  $\beta_2$  приближенно оценивается с помощью так называемой *одноэлектронной модели*. Применяется формула (5.27), по-

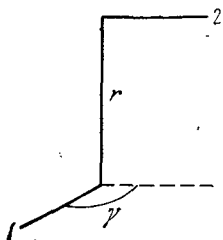


Рис. 5.16. Простейшая модель оптически активной молекулы (Куп)

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  $\beta_2$ . 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

$\beta_2$ . 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-

меняется приведенное среднее вращение мономера:

$$\tilde{m}' = \frac{3}{n^2 + 2} m' = \frac{3}{n^2 + 2} \frac{M_0}{100} \Phi_{\text{уд}}, \quad (5.37)$$

где  $n$  — показатель преломления среды. Для воды при 20°C множитель Лорентца  $3/(n^2 + 2)$  меняется от 0,7945 при 600 нм до 0,7306 при 185 нм.

Биополимеры в ряде случаев обладают двойкой хиральностью — хиральностью мономерных звеньев и хиральностью  $\alpha$ -спиралей белков и полипептидов или дуспиральных участков нуклеиновых кислот. При полной денатурации, т. е. при переходах спираль — клубок, сохраняется лишь хиральность мономеров. Соответственно эти переходы сопровождаются резкими изменениями вращения и КД. Эти характеристики очень чувствительны к изменениям конформаций. С помощью АДОВ и КД удастся получать ценные сведения о конформациях биополимеров и их изменениях.

Вдали от области собственного поглощения для любой молекулярной системы можно выразить приведенное вращение мономера в виде суммы однопленных формул Друде (ср. (5.27))

$$\tilde{m}' = \sum_j \frac{a_j \lambda_j^2}{\lambda^2 - \lambda_j^2}. \quad (5.38)$$

Здесь  $\lambda$  — длина волны падающего света,  $\lambda_j$  и  $a_j$  — константы. Приближенно уравнение (5.38) заменяется одночленной формулой

$$\tilde{m}' = \frac{a_0 \lambda_0^2}{\lambda^2 - \lambda_0^2}. \quad (5.39)$$

Эта формула хорошо описывает оптическое вращение полиаминокислот в состоянии клубка, если  $\lambda_0 = 268$  нм. Для  $\alpha$ -спиралей можно пользоваться формулой Моффита

$$\tilde{m}' = \frac{a_0^{(\alpha)} \lambda_0^2}{\lambda^2 - \lambda_0^2} + \frac{b_0^{(\alpha)} \lambda_0^4}{(\lambda^2 - \lambda_0^2)^2}, \quad (5.40)$$

где  $a_0^{(\alpha)}$  и  $b_0^{(\alpha)}$  — константы. Второй член характеризует вклад «второй хиральности». Формулу (5.40) следует считать эмпирической. Согласно формулы (5.40) с опытом для  $\alpha$ -спирали получается при  $\lambda_0 = 212$  нм и  $b_0^{(\alpha)} = -630$ ,  $a_0^{(\alpha)} = 630 - 650$ . Для частично спирализованного белка

$$a_0 = a_0^{(\text{ак})} + x_\alpha a_0^{(\alpha)},$$

где  $a_0^{(\text{ак})}$  характеризует вращение, обусловленное аминокислотными остатками,  $x_\alpha$  — доля спирализованных остатков. Получаем

$$\tilde{m}' = a_0^{(\text{ак})} \frac{\lambda_1^2}{\lambda^2 - \lambda_1^2} + x_\alpha \left( a_0^{(\alpha)} \frac{\lambda_0^2}{\lambda^2 - \lambda_0^2} + b_0^{(\alpha)} \frac{\lambda_0^4}{(\lambda^2 - \lambda_0^2)^2} \right). \quad (5.41)$$

Разлагая первый член в ряд по  $(\lambda^2 - \lambda_0^2)^{-1}$  и ограничиваясь вторым членом разложения, получаем

$$\tilde{m}' = a_0^{(ак)} \frac{\lambda_0^2}{\lambda^2 - \lambda_0^2} + b_0^{(ак)} \frac{\lambda_0^4}{(\lambda^2 - \lambda_0^2)^2} + x_\alpha \left( a_0^{(\alpha)} \frac{\lambda_n^2}{\lambda^2 - \lambda_0^2} + b_0^{(\alpha)} \frac{\lambda_0^4}{(\lambda^2 - \lambda_0^2)^2} \right) \quad (5.42)$$

Обычно  $b_0^{(ак)}$  мало и лежит в пределах  $\pm 50$ . Величина  $a_0^{(ак)}$  находится из данных по дисперсии вращения для денатурированных белков. Для нахождения  $x_\alpha$  строится зависимость  $\tilde{m}' (\lambda^2/\lambda_0^2 - 1)$  от  $(\lambda^2/\lambda_0^2 - 1)^{-1}$ . Получается прямая с наклоном  $x_\alpha b_0^{(\alpha)}$ ; отрезок, отсекаемый на оси ординат, равен  $a_0^{(ак)} + x_\alpha a_0^{(\alpha)}$ . Таким образом, значение  $x_\alpha$  определяется двумя независимыми способами. Следует отметить, что присутствие ароматических остатков заметно влияет на значения констант в уравнении Моффита. Степень спиральности  $x_\alpha$ , определенная таким образом для

ряда белков, хорошо согласуется с результатами других поляриметрических определений (с помощью одночленной или двучленной формул Друде). Эта величина согласуется также с данными рентгеноструктурного анализа.

Строгая квантовомеханическая теория оптической активности гомополимера рассматривает резонансное расщепление

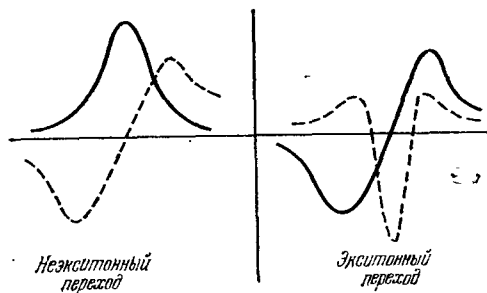


Рис. 5.17. Кривые АДОВ (сплошные линии) и КД (штриховые) для неэкситонного и экситонного вкладов

электронных энергетических уровней мономеров в зону — экситонное расщепление (см. с. 143). Расчет вращательных сил зависит от того, является ли рассматриваемый переход  $0 \rightarrow j$  «сильным» оптическим переходом с большим  $p_{0j}$ , но малым  $m_{j0}$  или «слабым» переходом с малым  $p_{0j}$ , но большим  $m_{j0}$ . Для «сильных» переходов можно выделить экситонный вклад, обусловленный взаимодействием возбужденных уровней в разных мономерах. Сумма экситонных вращательных сил по всем мономерам равна нулю — эти вклады «консервативны». Неэкситонные вклады, определяемые взаимодействием уровня  $j$  с другими уровнями, на которые разрешены переходы, условию консервативности не удовлетворяют. На рис. 5.17 показаны типичные кривые АДОВ и КД экситонного и неэкситонного взаимодействий для консервативного и неконсервативного вкладов. Для  $\alpha$ -спирали неэкситонные вклады значительно меньше экситонных: теоретическая кривая КД для  $\alpha$ -спирали длиной в 20 звеньев имеет три экстремума в области

пл\*-переходов (см. с. 142) с экситонными вкладами в  $R$  (в  $10^{-40}$  эрг·см<sup>3</sup>), равными  $-221, 321, -100$  (их сумма равна нулю) и неэкситонными соответственно  $3,8, -8,6$  и  $-17,1$ .

Другая регулярная форма полипептидной цепи —  $\beta$ -форма — в принципе также описывается формулой Моффита, но с малым значением  $b_0$ . Опыт и расчет дают  $b_0^{(\beta)} = -30$ . Подробный анализ КД в области пл\*-перехода показывает, что и у параллельной,

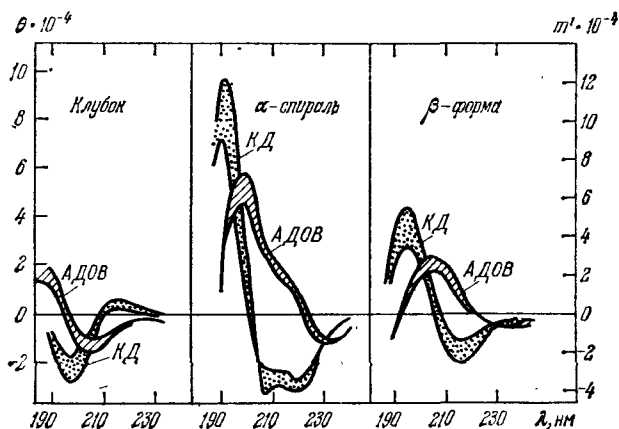


Рис. 5.18. Кривые АДОВ и КД для  $L$ -полипептидов

и у антипараллельной  $\beta$ -формы доминирует неэкситонный вклад. На рис. 5.18 показаны кривые АДОВ и КД для  $L$ -полипептидов в различных конформациях.

Для понимания оптической активности нуклеиновых кислот необходимо рассмотреть явление *индуцированной оптической активности* (ИОА). Симметричные, т. е. лишенные хиральности, молекулы красителей, будучи присоединены к  $\alpha$ -спиральным полипептидам, обнаруживают АДОВ и КД в областях собственного поглощения. Этот эффект исчезает при денатурации комплекса  $\alpha$ -спирали с красителем. Эффект объясняется взаимодействием молекулы красителя с пептидным остатком вблизи асимметричного центра. О том же свидетельствует ИОА протестических групп и коферментов. АДОВ и КД в области поглощения *пиридоксальфосфата* — кофермента *аспаргатаминотрансферазы* (с. 184) послужили источником информации о структуре активного центра этого фермента. На рис. 5.19 показаны кривые АДОВ: дезоксигемоглобина, оксигемоглобина и карбоксигемоглобина в областях поглощения протестической группы гема, которая сама по себе симметрична (см. с. 50). Под влиянием хиральности биополимера возникает оптическая асимметрия электронной оболочки хромофора. В строгой теории ИОА необходимо рассмотрение колебаний атомных ядер, решение электронно-колебательной задачи.

Оптическая активность нуклеозидов, нуклеотидов, ДНК и РНК характеризуется АДОВ и КД в областях поглощения около 260 нм — в полосах поглощения азотистых оснований. Эти основания плоские и хиральности не имеют, АДОВ и КД возникают

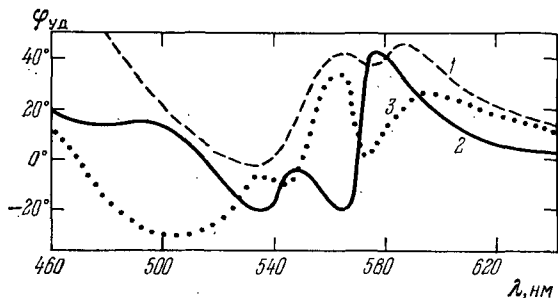


Рис. 5.19. Кривые АДОВ дезоксигемоглобина (1), оксигемоглобина (2) и карбоксигемоглобина (3)

вследствие присоединения оснований к хиральным сахарам. Следовательно, эти эффекты определяются индуцированной оптической активностью. Действительно, замена  $\beta$ -рибозы или  $\beta$ -дезоксирибозы на соответствующие  $\alpha$ -соединения меняет знак эффекта.

Вращательная сила  $R_i$  (5.28) есть тензорная, а не скалярная величина, она имеет разные значения по разным направлениям в молекуле. В обычных условиях в жидкости измеряется значение  $R_3$ , усредненное по всем направлениям. В дальнейшем были измерены анизотропные значения  $R_i$  для комплексов ДНК с красителями и антибиотиками. Метод состоит в ориентации молекул ДНК в потоке через оптическую ячейку, представляющую собой набор капилляров. КД измеряется дважды — без ориентации, когда

и при ориентации молекул ДНК, когда

$$\Delta\epsilon = \frac{1}{3}(\Delta\epsilon_{\parallel} + 2\Delta\epsilon_{\perp}), \quad (5.43)$$

и при ориентации молекул ДНК, когда

$$\Delta\epsilon_{op} = (1 - q)\Delta\epsilon + q\Delta\epsilon_{\parallel}. \quad (5.44)$$

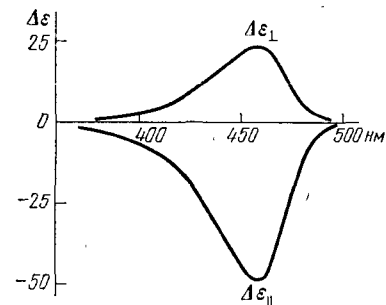


Рис. 5.20. Кривые  $\Delta\epsilon_{\parallel}$  и  $\Delta\epsilon_{\perp}$  для комплекса ДНК — профлавин

Здесь  $\Delta\epsilon$  и  $\Delta\epsilon_{op}$  — измеряемые амплитуды КД,  $\Delta\epsilon_{\parallel}$  и  $\Delta\epsilon_{\perp}$  — значения КД вдоль и поперек оси двойной спирали,  $q$  — степень ориентации, определяемая по линейному дихроизму ДНК. На рис. 5.20 показаны кривые  $\Delta\epsilon_{\parallel}$  и  $\Delta\epsilon_{\perp}$  для комплекса ДНК — профлавин. Примечательно, что эти величины имеют разные знаки и, следовательно, измеряемое значение  $\Delta\epsilon$  является малой разностью двух больших величин. Изучение анизотропии вращательной силы дает ценную информацию о структуре биополимеров и их комплексов.

В ориентированной системе условия симметрии особые — возможна оптическая активность и у молекул, имеющих плоскости симметрии, но лишенных центра симметрии. Эта «скрытая» оптическая активность, проявляющаяся лишь при ориентации, была открыта при изучении комплексов ДНК и РНК (Макаров и Полетаев). Установлено, что молекулы красителя в комплексах перпендикулярны к оси двойной спирали нуклеиновой кислоты.

## § 5.8. Магнитная оптическая активность

В 1845 г. Фарадей записал в своем дневнике «...в конце концов мне удалось намагнитить и наэлектризовать луч света и осветить магнитную силовую линию». Речь шла об открытии магнитного вращения плоскости поляризации света, распространяющегося вдоль направления магнитного поля. Это явление получило название *эффекта Фарадея*. Приведенные слова имеют лишь фигуральный смысл — магнитное поле действует не на свет, а на вещество, которое обретает в поле круговое двулучепреломление. Сравнительно недавно эффект Фарадея — *магнитное оптическое вращение* (МОВ) и *магнитный круговой дихроизм* (МКД) — нашли важные применения в молекулярной биофизике.

Угол вращения  $\varphi$ , выраженный формулой (5.14), пропорционален напряженности магнитного поля  $H$  (формула Беккереля):

$$\varphi = \frac{\pi}{\lambda} (n_L - n_D) l = \mathcal{V} H, \quad (5.45)$$

$\mathcal{V}$  — константа магнитного вращения (*постоянная Вердье*). В классической электронной теории эффект Фарадея сводится к *эффекту Зеемана*. Электрон, рассматриваемый как гармонический осциллятор, колеблется в отсутствие магнитного поля с круговой частотой  $\omega_0$ . В магнитном поле, направленном вдоль луча света, спектральная линия с частотой  $\omega_0$  расщепляется на две, поляризованные по кругу влево и вправо. Величина расщепления равна  $2|\omega_H|$ , где  $\omega_H$  — круговая частота *ларморовой прецессии*

$$\omega_H = -eH/(2m_e c) \quad (5.46)$$

( $e$ ,  $m_e$  — заряд и масса электрона,  $c$  — скорость света).

Круговое двулучепреломление выражается величиной

$$\Delta n = n_L - n_D = \left( \frac{\partial n}{\partial \omega} \right)_{H=0} \cdot 2|\omega_H| = \frac{eH}{m_e c} \left( \frac{\partial n}{\partial \omega} \right)_{H=0} \quad (5.47)$$

или

$$\Delta n = \lambda^2 \left( \frac{\partial n}{\partial \lambda} \right)_{H=0} \cdot \frac{eH}{2\pi m_e c^2}, \quad (5.48)$$

где  $\lambda$  — длина волны света. Следовательно,

$$\varphi = \frac{eH}{2m_e c^2} \lambda \left( \frac{\partial n}{\partial \lambda} \right)_{H=0} \cdot l \quad (5.49)$$