

## Спектральные проявления водородного связывания бактериохлорофилла с различными полярными растворителями

© П.Д. Филин, П.А. Жулидин, И.Л. Пластун

Саратовский государственный технический университет имени Ю.А. Гагарина  
410054 Саратов, Россия

e-mail: filinbox98@gmail.com, inna\_pls@mail.ru

Поступила в редакцию 28.12.2023 г.

В окончательной редакции 02.02.2023 г.

Принята к публикации 05.03.2024 г.

Исследовано взаимодействие бактериохлорофилла *e* с различными полярными растворителями, такими как вода, метанол, этанол и изопропанол. Проведены расчеты с использованием программного пакета Gaussian и базиса 6-31G (d) для определения структуры бактериохлорофилла и свойств его водородных связей. Полученные результаты подтверждают значимость водородных связей при взаимодействии бактериохлорофилла *e* с полярными растворителями. Данные растворители чаще всего используются для экстракции бактериохлорофиллов из бактериальных клеток, поэтому настоящая работа полезна для разработки методов количественного определения бактериохлорофилла *e* в бактериальных клетках или в водоёмах.

**Ключевые слова:** бактериохлорофилл, полярные растворители, молекулярное моделирование, инфракрасный спектр, теория функционала плотности, водородные связи.

DOI: 10.61011/OS.2024.04.58214.36-24

### Введение

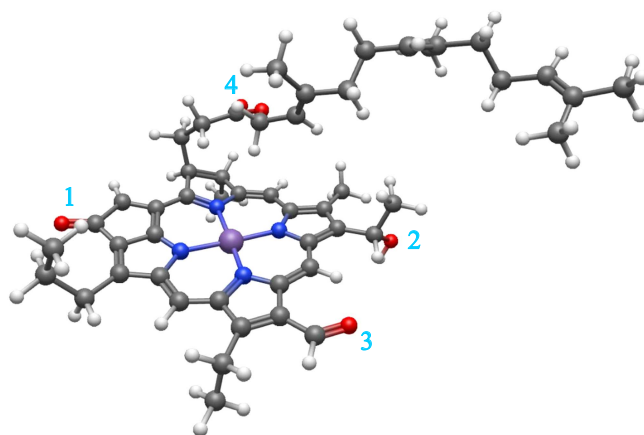
Бактериохлорофиллы — группа фотосинтезирующих тетрапиррольных пигментов, способных поглощать свет в ближней инфракрасной (ИК) области спектра, что выходит за пределы диапазона поглощения обычного хлорофилла [1]. Это свойство особенно полезно в водной среде, где свет более длинных волн проникает глубже. Фотосинтез бактерий с использованием бактериохлорофилла (BChl) обычно не производит кислород в качестве побочного продукта в отличие от кислородного фотосинтеза, который осуществляют растения [1].

Существуют несколько различных типов BChl, обозначаемых буквами от а до г, каждый из которых имеет немного отличающуюся структуру и встречается у разных групп бактерий [2]. Эти адаптации придают каждому типу уникальный спектр поглощения, что позволяет фотосинтезирующим бактериям существовать в различных экологических нишах с разнообразными световыми условиями. В настоящей работе будем рассматривать BChl *e* и его взаимодействие с полярными растворителями, такими как вода, метанол, этанол и изопропанол.

Бактериохлорофилл *e* (рис. 1) эффективно поглощает свет с длиной волны около 500–550 нм. Это отличает его от других бактериохлорофиллов, например, BChl *c* и BChl *b*, которые поглощают свет в различных областях спектра с длиной волны около 740–760 нм и 808–866 нм соответственно [1]. Кроме того, бактериохлорофилл *e* обладает некоторыми структурными отличиями. Он содержит метильную группу [4], что делает его более гидрофильным по сравнению с дру-

гими типами бактериохлорофилла. Это влияет на его растворимость и взаимодействие с другими молекулами в клетке.

Хлоросомы зеленых фотосинтезирующих серобактерий (ЗСБ) представляют собой большие фотосинтезирующие антенны, содержащие самособирающиеся структуры бактериохлорофилла *c*, *d* или *e* (рис. 2) [5]. В отличие от других светособирающих антенных структур основные антенные пигменты (BChl *c*, *d* или *e*) образуют агрегаты, которым не требуется белковый каркас [6]. Это возможно, поскольку эти BChl обладают структурными модификациями, которые отсутствуют в других встречающихся в природе производных хлорофилла. Эти свойства позволяют формировать очень большие



**Рис. 1.** Расчетная структура бактериохлорофилла *e* (цифрами отмечены места возможного образования водородных связей на основе OH-группы).

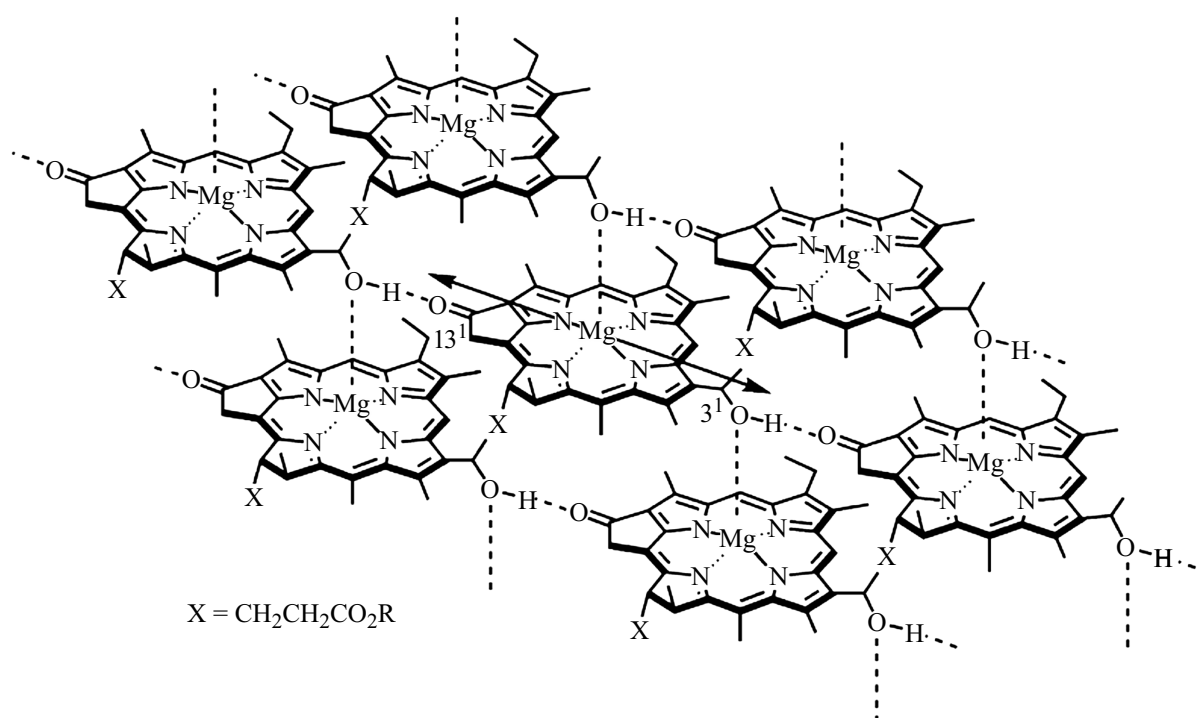


Рис. 2. Структура супрамолекулярного комплекса бактериохлорофилла [6].

и эффективные антенны [7,8], которые обеспечивают фототрофный рост при чрезвычайно низкой интенсивности света [7]. Одна фотосинтетическая единица ЗСБ (хлоросома) может содержать от 900 до 4500 молекул BChl d или e и около 80–250 молекул BChl a [9].

Спектры поглощения BChl d и e как в пробах природной воды, содержащей микроорганизмы, так и в экстрактах в органических растворителях используются для оценки концентрации ЗСБ в водоемах [10]. Наиболее удобными для количественной оценки являются методы, основанные на использовании характеристик поглощения пигментов. Концентрацию BChl в ряде проб природных вод можно оценить по спектрам флуоресценции их экстрактов [11].

Таким образом, данное направление исследований чрезвычайно важно для мониторинга стратифицированных водоемов с сульфидной аноксией, которая может возникать естественным путем или вследствие антропогенного загрязнения, в том числе реликтовых водоемов арктического региона.

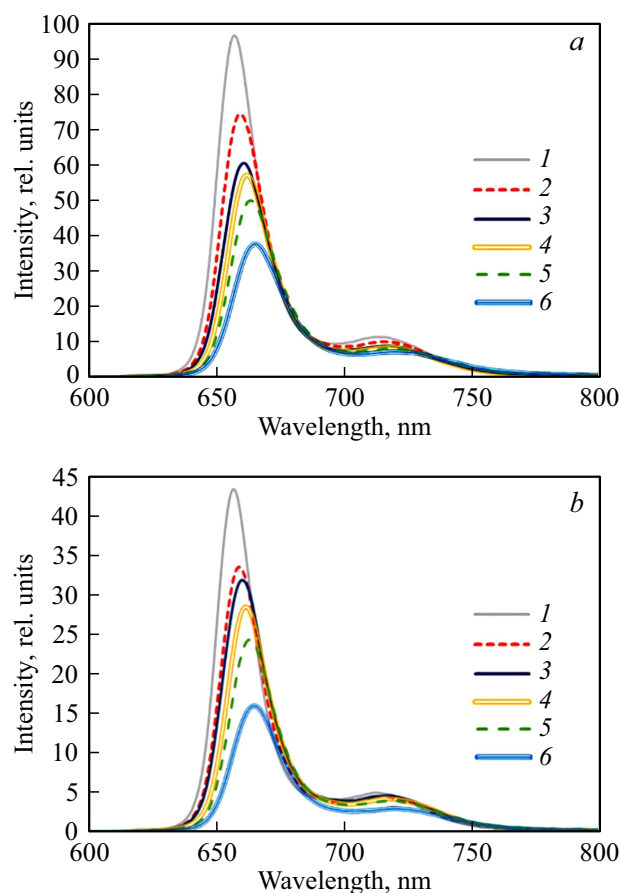
Бактериохлорофиллы неустойчивы к воздействию света, кислот и окислителей. В полярных растворителях (например, в метаноле) они легко подвергаются алломеризации, при которой выделяется мономерная форма пигмента. Это вызывает изменение спектральных свойств молекул пигмента. Экспериментальные исследования оптических спектров поглощения бактериохлорофилла с различными полярными растворителями (рис. 3) показали, что они значительно отличаются по интенсивности [9], что свидетельствует о влиянии

водородного связывания в этих мультикомпонентных смесях. Предполагается, что в цепочке полярных растворителей ацетон-изопропанол-этанол-метанол увеличивается способность к образованию водородных связей. Таким образом, водородные связи играют важную роль в процессах алломеризации и изменения спектральных свойств бактериохлорофилла в полярных растворителях. Понимание этих связей и их влияния может быть полезным для развития и применения бактериохлорофиллов в различных областях науки и технологий.

## Компьютерное моделирование ИК спектров

Моделирование структуры и расчёт спектров молекул и их комплексов осуществлялись на основе теории функционала плотности (ТФП) [12] с использованием функционала B3LYP и базисного набора 6-31G (d) [13]. Все процедуры молекулярного моделирования, включая оптимизацию молекулярных структур и расчёт ИК спектров, проведены на основе программного комплекса Gaussian [14], широко используемого для решения задач молекулярного моделирования в различных сферах вычислительной физики и химии, с использованием редактора и визуализатора молекулярных структур Avogadro [15] и авторской программы визуализации ИК спектров, воспроизводящей ИК спектр по числовым значениям, полученным в Gaussian.

Для улучшения согласия измеренных и рассчитанных спектров проведено масштабирование частот, широко



**Рис. 3.** Спектры флуоресценции, взятые из работы [9]: бактериохлорофилл d (a) и бактериохлорофилл e (b) в ацетоне (1), ацетон-этанол (7:2) (2), ацетон-метанол (7:2) (3), изопропанол (4), этаноле (5), метаноле (6) (на длине волны возбуждения 425 nm).

используемое в мировой практике [16,17]. Используемые масштабирующие множители составили следующие значения: 0.97 для диапазона частот 0–2000  $\text{cm}^{-1}$  и 0.95 для диапазона частот 2000–4000  $\text{cm}^{-1}$ .

Методами молекулярного моделирования были рассчитаны структуры бактериохлорофилла e (рис. 1), его полярных растворителей: воды, метанола, этанола, изопропанола, и комплексов бактериохлорофилла e с этими полярными растворителями: с водой (рис. 4, a), метанолом (рис. 4, b), этанолом (рис. 4, c), изопропанолом (рис. 4, d). В качестве возможного присоединения к BChl e у растворителей была рассмотрена группа OH (вода — 3658  $\text{cm}^{-1}$ , метанол — 3566  $\text{cm}^{-1}$ , этанол — 3561  $\text{cm}^{-1}$ , изопропанол — 3551  $\text{cm}^{-1}$ ). По изменению именно этих частот будем отслеживать степень комплексообразования бактериохлорофилла с полярными растворителями. Индексы 1–4 на рис. 1 помечают места связывания BChl с полярными растворителями. Также рядом с индексами расположены длины водородных связей O...H-O, выраженные в нанометрах.

На рис. 5 представлены ИК спектры молекулярных комплексов бактериохлорофилла e с полярными растворителями. Точками обозначены пики частот колебаний связей. Стоит отметить, что на рассчитанных ИК спектрах отчетливо выделяются четыре области: область частот до 1800  $\text{cm}^{-1}$  соответствует деформационным и валентным колебаниям связей C-C, C-O, C-N, N-Mg, в области от 2700 до 3150  $\text{cm}^{-1}$  присутствуют пики, соответствующие асимметричным и симметричным колебаниям связей C-H алканов, в области от 3350 до 3520  $\text{cm}^{-1}$  находятся спектральные пики, соответствующие водородному связыванию между кислородом и OH-группой полярных растворителей бактериохлорофилла e, а частота 3555  $\text{cm}^{-1}$  соответствует колебаниям связи O-H.

На рис. 6 более подробно приведена высокочастотная область ИК спектра водородного взаимодействия BChl e с полярными растворителями. Цифры над точками указывают частоту пика колебания, рядом обозначены пики в соответствии с местами присоединения, изображенными на рис. 1.

### Оценка водородных связей

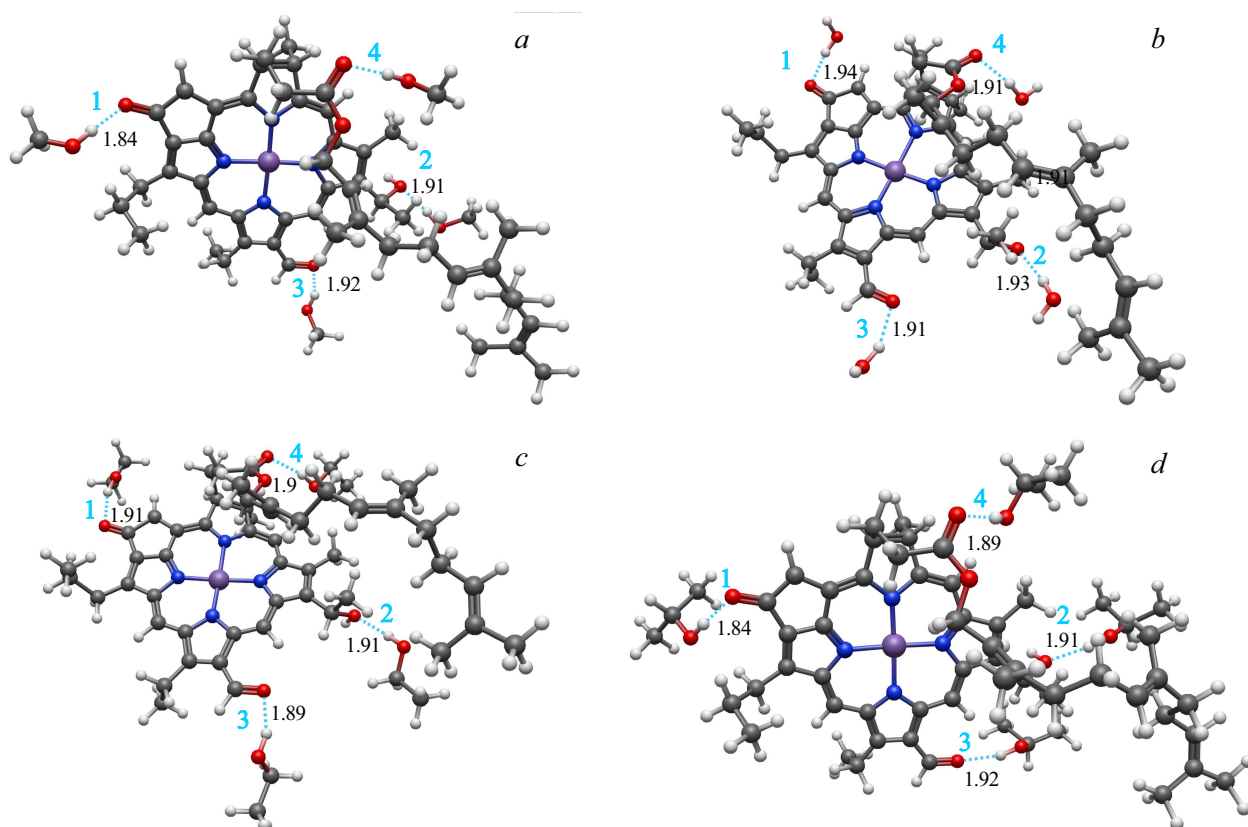
Оценка силы образующихся водородных связей производилась по следующим характеристикам: по длине водородного мостика, по частотному сдвигу валентных колебаний H-связей в ИК спектрах молекулярного комплекса относительно ИК спектра отдельных молекул.

В таблице приведены следующие параметры водородных связей: тип связи, исходная длина связи, длина водородного мостика O...H-O, интенсивность пика спектральной линии,  $\Delta\nu$  — сдвиг частоты валентных колебаний связей в ИК спектрах молекулярного комплекса относительно ИК спектра отдельных молекул, необходимый для расчёта энергии связи по эмпирической формуле Иогансена [18]:

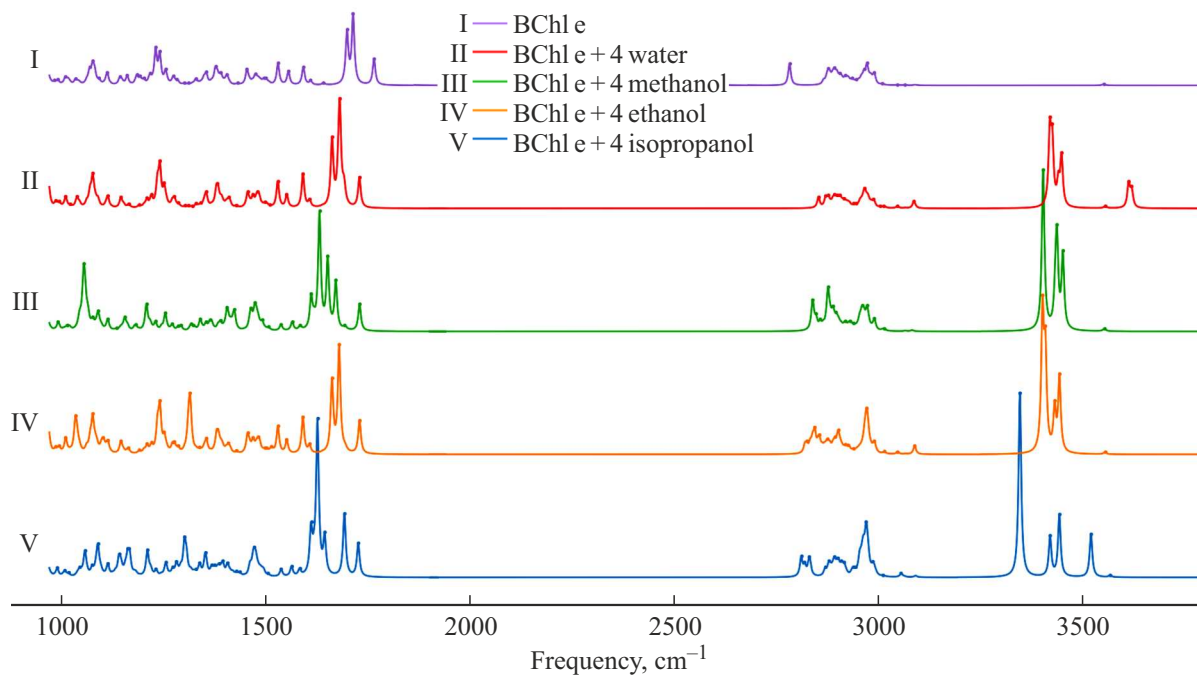
$$-\Delta H = 0.3\sqrt{\Delta\nu - 40}.$$

В таблице приведены вычисленные параметры водородных связей между молекулами BChl e и полярными растворителями. В качестве основы для оценки силы водородных связей использовалась классификация [19]. Согласно этой классификации, связи с энергией между 14.34 и 28.65 kkal/mol и длиной водородного мостика от 2.2 до 2.5 Å считались сильными водородными связями. Средние связи имели энергию в диапазоне от 3.82 до 14.43 kkal/mol и длину водородного мостика от 2.5 до 3.2 Å. Слабые связи характеризовались энергией менее 2.87 kkal/mol и длиной водородного мостика от 3.2 до 4.0 Å. В соответствии с этой классификацией связи в таблице можно отнести к средним по силе связям.

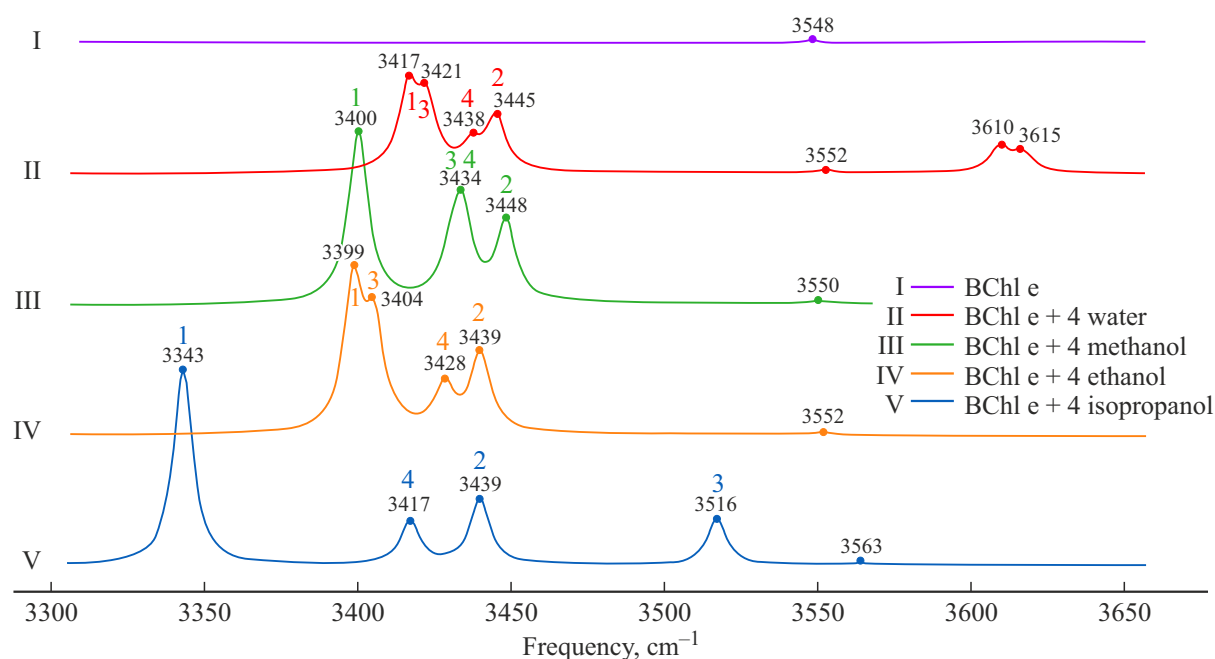
Сравнительный анализ ИК спектров стоит выполнять, учитывая места взаимодействия (рис. 1). Исключение стоит сделать для связи номер 3 изопропанола. Это



**Рис. 4.** Рассчитанные структуры BChl e с водой (a), метанолом (b), этанолом (c), изопропанолом (d). Обозначения атомов: серый — водород, темно-серый — углерод, красный — кислород, синий — азот, фиолетовый — магний.



**Рис. 5.** Инфракрасные спектры бактериохлорофилла e (фиолетовый I) и комплексов бактериохлорофилла e с различными растворителями: синий V — изопропанол, желтый IV — этанол, зеленый III — метанол, красный II — вода.



**Рис. 6.** Высокочастотная область ИК спектров бактериохлорофилла е (фиолетовый I) и комплексов бактериохлорофилла е с различными растворителями: синий V — изопропанол, желтый IV — этанол, зеленый III — метанол, красный II — вода.

Рассчитанные параметры водородных связей

Номер связи	Тип связи	Длина связи, Å	Длина водородного мостика, Å	Частота, $\text{cm}^{-1}$	Частотный сдвиг $\Delta\nu$ , $\text{cm}^{-1}$	Энергия связи, $\Delta H$ , kkal/mol	Интенсивность, km/mol
Бактериохлорофилл е с четырьмя молекулами воды $E = -3992.5$ а. е.							
1	O...H-O	1.94	2.88	3417	241	4.25	676
2	O...H-O	1.93	2.89	3445	212	3.94	467
3	O...H-O	1.91	2.83	3421	235	4.19	558
4	O...H-O	1.91	2.84	3438	220	4.03	204
Бактериохлорофилл е с четырьмя молекулами метанола $E = -4149.7$ а. е.							
1	O...H-O	1.84	2.82	3400	165	3.36	1514
2	O...H-O	1.91	2.87	3448	117	2.64	688
3	O...H-O	1.92	2.82	3434	131	2.87	777
4	O...H-O	1.90	2.88	3431	135	2.93	320
Бактериохлорофилл е с четырьмя молекулами этанола $E = -4307.05$ а. е.							
1	O...H-O	1.91	2.86	3399	162	3.32	1275
2	O...H-O	1.91	2.86	3439	121	2.70	702
3	O...H-O	1.89	2.80	3404	155	3.22	875
4	O...H-O	1.90	2.83	3428	133	2.89	393
Бактериохлорофилл е с четырьмя молекулами изопропанола $E = -4464.33$ а. е.							
1	O...H-O	1.84	2.82	3343	208	3.88	1736
2	O...H-O	1.91	2.87	3439	111	2.53	581
3	O...H-O	1.92	2.87	3516	34	0.00	413
4	O...H-O	1.89	2.83	3417	134	2.91	413

обусловлено тем, что размер молекулы изопропанола значительно превышает размер молекул остальных растворителей, что не позволяет создать достаточно устойчивую связь в точке 3. Приняв это во внимание, можно увидеть на рис. 6 и в таблице, что для мест присоединения 1, 2, 3, 4 пики частот смещаются влево, при этом сдвиг постепенно увеличивается для следующей последовательности растворителей: вода-метанол-этанол-изопропанол. Также об этом свидетельствуют более короткие длины водородных связей и водородных мостиков и возрастающие интенсивности водородных связей.

## Выводы

В результате изучения взаимодействия бактериохлорофилла с полярными растворителями была построена и оптимизирована структура BChl e и его комплексов с водой, метанолом, этанолом и изопропанолом. Также были рассчитаны ИК спектры данных структур. На основе анализа ИК спектров можно сделать вывод, что в цепочке полярных растворителей: вода, метанол, этанол, изопропанол способность к водородному связыванию возрастает.

## Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## Список литературы

- [1] J. Glaeser, L. Bañeras, H. Rütters, J. Overmann. *Arch. Microbiol.*, **177**, 475–485 (2002). DOI: 10.1007/s00203-002-0416-4
- [2] N.W. Qiu, D.C. Jiang, X.S. Wang, B.S. Wang, F. Zhou. *Photosynthetica*, **57** (4), 974–984 (2019). DOI: 10.32615/ps.2019.116
- [3] N.-U. Frigaard, D.A. Bryant. *Complex Intracellular Structures in Prokaryotes* (Springer, Berlin, 2006), p. 79–114. DOI: 10.1007/7171\_021
- [4] N.U. Frigaard, A.G.M. Chew, J.A. Maresca, D.A. Bryant. *Chlorophylls and Bacteriochlorophylls* (Springer, Dordrecht, 2006), p. 201–221. DOI: 10.1007/1-4020-4516-6\_15
- [5] A.G. Yakovlev, A.S. Taisova, V.A. Shuvalov, Z.G. Fetisova. *Biophys. Chemistry*, **240**, 1–8 (2018). DOI: 10.1016/j.bpc.2018.05.004
- [6] T. Miyatake, H. Tamiaki. *J. Photochem. Photobiol. C*, **6**, 89–107 (2005). DOI: 10.1016/j.jphotochemrev.2005.06.001
- [7] J. Psencik, M. Torkkeli, A. Zupcanova, F. Vacha, R.E. Serimaa, R. Tuma. *Photosynth. Res.*, **104**, 211–219 (2010). DOI: 10.1007/s11120-010-9541-0
- [8] G.T. Oostergetel, H. Amerongen, E.J. Boekema. *Photosynth. Res.*, **104**, 245–255 (2010). DOI: 10.1007/s11120-010-9533-0
- [9] А.А. Жильцова, О.А. Филиппова, Е.Д. Краснова, Д.А. Воронов, С.В. Пацаева. *Опт. и спектр.*, **131** (6), 817–824 (2023). DOI: 10.21883/OS.2023.06.55916.108-23
- [10] П.С. Емельянцева, А.А. Жильцова, Е.Д. Краснова, Д.А. Воронов, В.В. Рымарь, С.В. Пацаева. *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 3. Физ. Астрон.*, **75** (2), 25 (2020). [P.S. Emeliantseva, A.A. Zhiltsova, E.D. Krasnova, D.A. Voronov, V.V. Rymar, S.V. Patsaeva. *Moscow University Physics Bulletin*, **75** (2), 137 (2020). DOI: 10.3103/S0027134920020046].
- [11] A.A. Zhiltsova, E.D. Krasnova, D.A. Voronov, G.N. Losyuk, N.M. Kokryatskaya, S.V. Patsaeva. *Proc. SPIE*, **12192**, 121920K (2022). DOI: 10.1117/12.2626191
- [12] W. Kohn. *Rev. Mod. Phys.*, **71** (5), 1253–1265 (1999). DOI: 10.1103/RevModPhys.71.1253 [В. Кон. УФН, **172** (3), 336?348 (2002). DOI: 10.3367/UFNr.0172.200203e.0336].
- [13] A.D. Becke. *J. Chem. Phys.*, **98** (7), 5648–5652 (1993). DOI: 10.1063/1.464913
- [14] 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, W. Wong, C. Gonzalez, J.A. Pople. *Gaussian03, Revision B.03* (Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2003).
- [15] Avogadro — Free cross-platform molecular editor. [Электронный ресурс]. URL <https://avogadro.cc/>
- [16] H. Yoshida, A. Ehara, H. Matsuura. *Chem. Phys. Lett.*, **325** (4), 477–483 (2000). DOI: 10.1016/S0009-2614(00)00680-1
- [17] H. Yoshida, K. Takeda, J. Okamura, A. Ehara, H. Matsuura. *J. Phys. Chem. A*, **106** (14), 3580–3586 (2002). DOI: 10.1021/jp013084m
- [18] А.В. Иогансен. *Водородная связь* (Наука, М., 1981). С. 112–155.
- [19] Дж.В. Стил, Дж.Л. Этвуд. *Супрамолекулярная химия* (Академкнига, М., 2007).