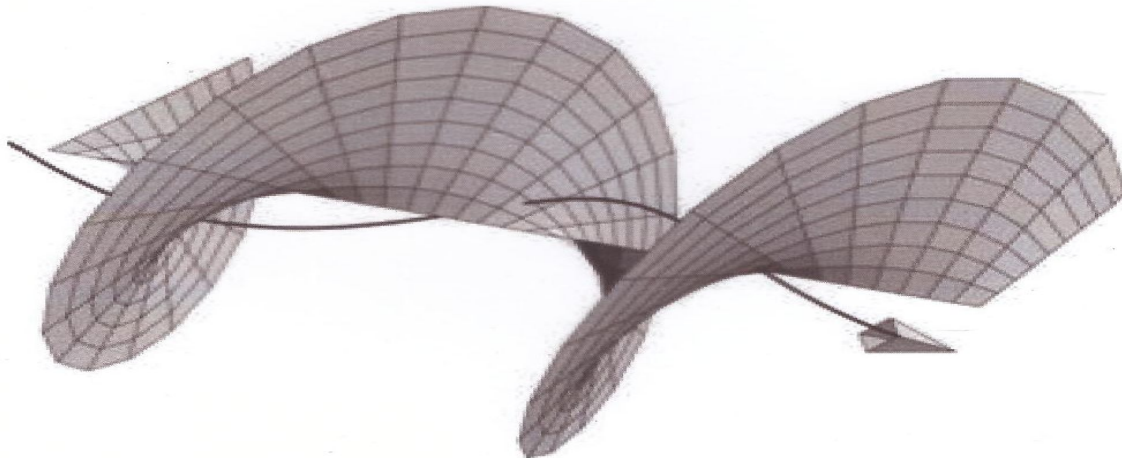


Метод кругового дихроизма и дисперсии оптического вращения

Лекция 4

Основные понятия

Дисперсия света. Оптическое вращение, эллиптичность, круговой дихроизм. Дисперсия оптического вращения. Спектры дисперсии оптического вращения и кругового дихроизма. Сила вращения полосы в спектре кругового дихроизма.



Распространение света в диэлектрике

Согласно электронной теории дисперсии

$$\left. \begin{aligned} c &= \frac{1}{\sqrt{\mu_0 \epsilon_0}} \\ v &= \frac{1}{\sqrt{\mu_0 \epsilon_0 \mu \epsilon}} \end{aligned} \right\} n = \frac{c}{v} = \sqrt{\mu \epsilon}$$

В диэлектрике:

$$\mu = 1 \quad n = \sqrt{\epsilon} \quad n^2 = \epsilon$$

ϵ_0 – электрическая постоянная, ϵ - диэлектрическая проницаемость, μ_0 – магнитная постоянная, μ - магнитная проницаемость среды,

ДИЭЛЕКТРИКОМ

Согласно электронной теории дисперсии показатель преломления

Электромагнитная волна в среде вызывает вынужденные колебания электронов

Индукция D и диэлектрическая проницаемость ε

Уравнение движения электрона с учетом всех действующих сил - $F_e, F_{mp}, F_{упр}$ - имеет вид:

$$m \frac{d^2 r}{dt^2} + \eta \frac{dr}{dt} + k_0 r = q E_0 e^{i\omega t}$$

Решение находится в виде $r = r_0 e^{i\omega t}$

Вводят обозначения

$$P_0 = Nqr_0, \omega_0 = \frac{k_0}{m}, \gamma = \frac{\eta}{m}$$

P - вектор поляризации, r - смещение электронов в диэлектрике
 N - число электронов в ед. объема.

$$n^2 = \varepsilon$$

$$F_e = E_0 q e^{i\omega t}$$

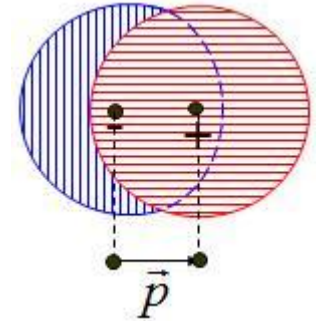
$$D = D_0 + P$$

$$D = \varepsilon_0 \varepsilon E$$

$$D_0 = \varepsilon_0 E$$

$$p_e = qr$$

$$P = p_e N = Nqr$$



$$\varepsilon \varepsilon_0 E = \varepsilon_0 E + P$$

$$\varepsilon = 1 + \frac{Nqr}{\varepsilon_0 E}$$

$$r_0 = \frac{qE_0}{-m\omega^2 + i\eta\omega + k_0}$$

$$n^2 = 1 + \frac{Nq^2}{m\varepsilon_0 \sqrt{((\omega_0^2 - \omega^2) + \gamma\omega^2)}}$$

$$F_{mp} = \eta \frac{dr}{dt}, F_{упр} = k_0 x$$

Дисперсия света в диэлектрике

Дисперсия света – зависимость показателя преломления (фазовой скорости), от длины волны (частоты).

$$n^2 = \varepsilon = 1 + \frac{Nq^2}{m\varepsilon_0 \sqrt{((\omega_0^2 - \omega^2) + \gamma\omega^2)}}$$

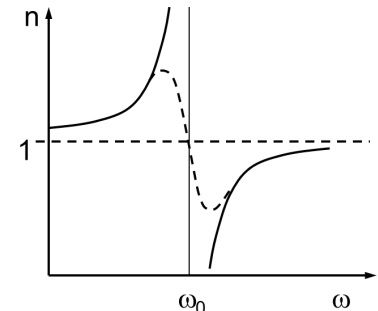
При приближении частоты световой волны к частоте собственных колебаний электронов возникает явление резонанса, обусловленное поглощением света.

Т.к. r_0 – величина комплексная, то ε^* , n^* , k^* – комплексные величины. Пусть

тогда

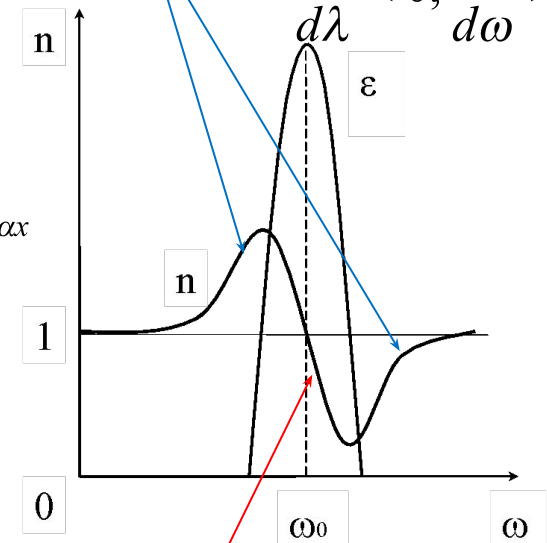
$$k^* = k + i\alpha$$

Это значит, что электромагнитная волна $e^{i(\omega t - k^* x)} = e^{i(\omega t - kx)} e^{-\alpha x}$ распространяется в среде с затуханием; коэффициент α является мнимой частью комплексного значения волнового числа. Если $\gamma=0$, то коэффициент затухания $\alpha=0$. Расчеты показывают, что коэффициент затухания зависит от частоты; вблизи ω_0 коэффициент α значительно возрастает, а вдали α мало. Опыт показывает, что в области аномальной дисперсии действительно наблюдается поглощение.



Нормальная дисперсия :

$$\frac{dn}{d\lambda} < 0, \frac{dn}{d\omega} > 0$$



Аномальная дисперсия: $\frac{dn}{d\lambda} > 0, \frac{dn}{d\omega} < 0$

Дисперсия показателя преломления

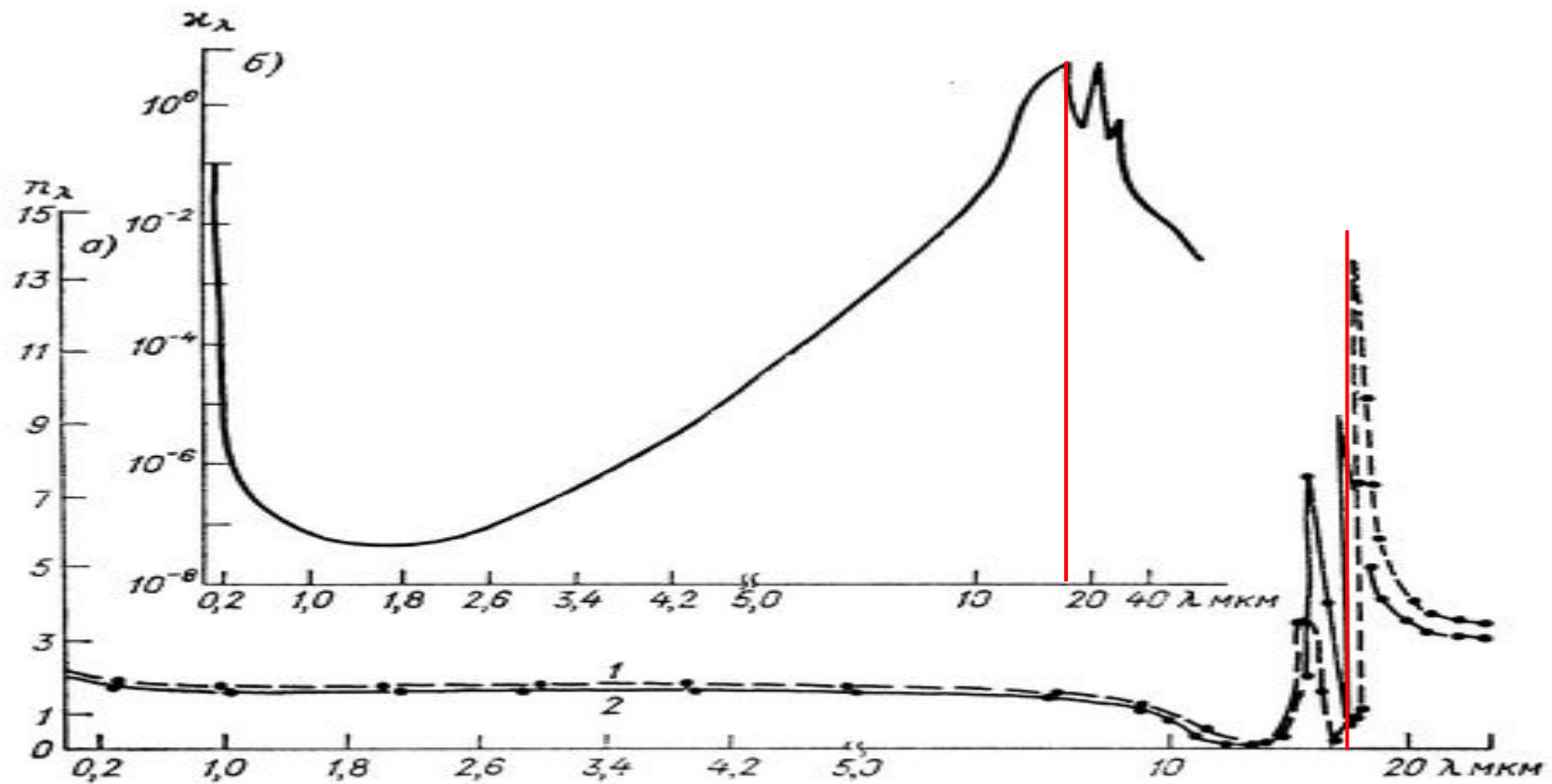
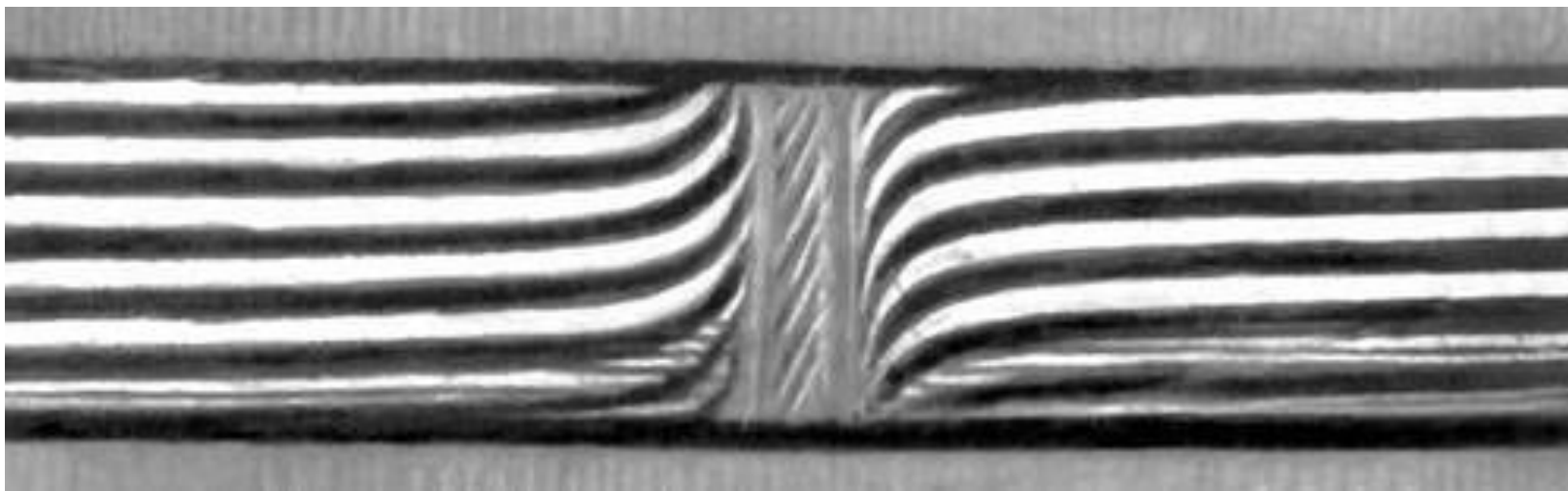


Рис. 2.2. Спектральная зависимость действительной (а) и мнимой (б) частей комплексного показателя преломления Al_2O_3 .

1 — обыкновенный луч, 2 — необыкновенный луч.

Аномальная дисперсия в парах натрия



Оптически активные вещества

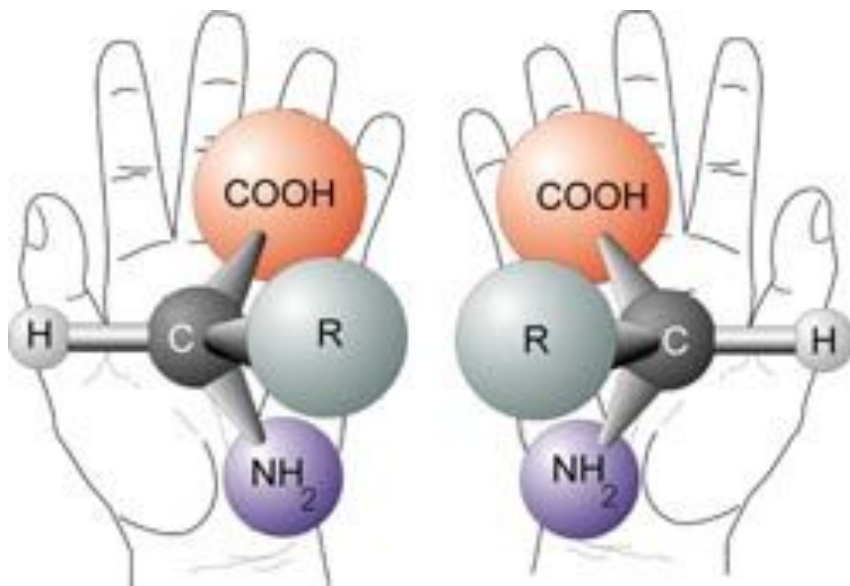
Оптической активностью обладают многие молекулы. Практически все молекулы, синтезируемые живыми организмами, обладают оптической активностью.

В частности, такими свойствами обладают биополимеры.

Молекулы биополимеров хиральны.

Хиральность — свойство молекулы не совмещаться в пространстве со своим зеркальным отражением.

Хиральные молекулы не имеют зеркально-поворотные оси симметрии.



Взаимодействие света с оптически активной средой

Влияние оптической активности среды на проходящий через нее свет удобно изучать, рассматривая каждую из круговых составляющих линейно поляризованного света по отдельности.

Если обозначить E_x и E_y компоненты электрического вектора E , то для волны с правой круговой поляризацией:

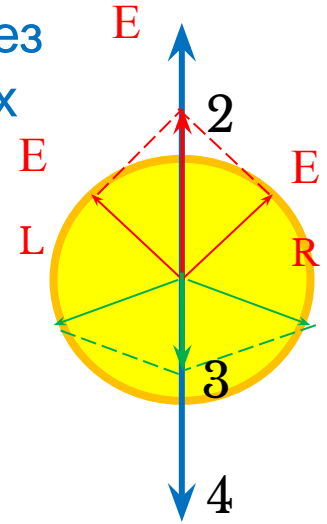
$$\left. \begin{aligned} E_x &= E_0 \cos(\omega t - kz) \\ E_y &= -E_0 \sin(\omega t - kz) \end{aligned} \right\} E$$

для волны с левой круговой поляризацией:

$$\left. \begin{aligned} E_x &= E_0 \cos(\omega t - kz) \\ E_y &= E_0 \sin(\omega t - kz) \end{aligned} \right\} \begin{matrix} R \\ E \\ L \end{matrix}$$

где $\omega = 2\pi\nu$,

$k = \omega/c$



$$\left. \begin{aligned} E_x &= 2E_0 \cos(\omega t - kz) \\ E_y &= 0 \end{aligned} \right\} E$$

правая круговая поляризация

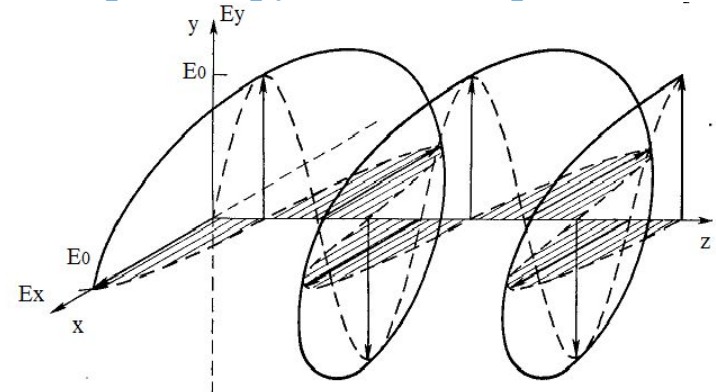
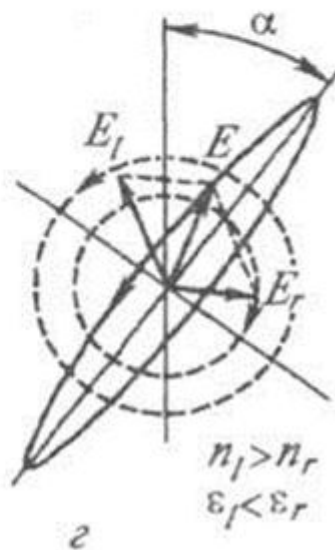
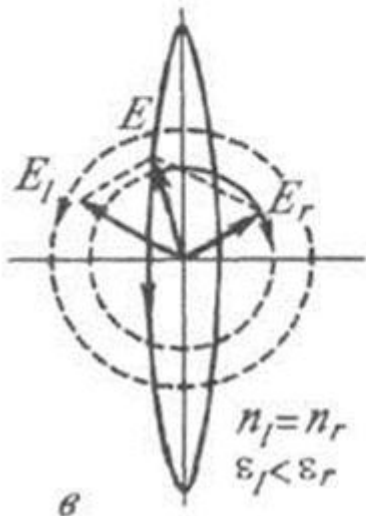
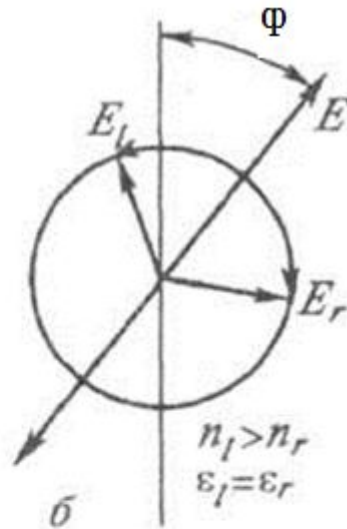
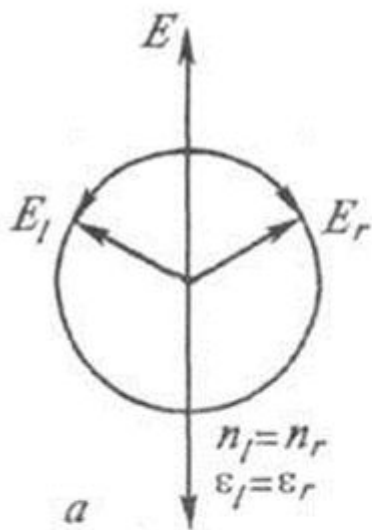


Схема возникновения оптической активности и эллиптичности



В изотропной среде

$$v_L = v_R, \quad n_L = n_R, \quad \varepsilon_L = \varepsilon_R$$

В оптически активной среде

$$v_L \neq v_R, \quad n_L \neq n_R, \quad \varepsilon_L \neq \varepsilon_R$$

$$\left. \begin{aligned} v_L &= \frac{c}{n_L} \\ v_R &= \frac{c}{n_R} \end{aligned} \right\} \Rightarrow \varphi \sim \Delta v \Rightarrow \varphi \sim \frac{1}{\Delta n}$$

- а) плоскополяризованный луч;
- б) плоскополяризованный луч после прохождения через ОАВ (без КД);
- в) эллиптически поляризованный луч;
- г) эллиптически поляризованный луч после прохождения через ОАВ

Оптическое вращение

Оптическое вращение

$$\varphi = \frac{\pi}{\lambda} (n_L - n_R) l$$

Молярное вращение

$$\Phi_M = \frac{\varphi_{\text{уд}} M}{100} = \varphi \frac{18M}{\pi c l}$$

Удельное вращение

$$\varphi_{\text{уд}} = \frac{1800}{\pi} \frac{\varphi}{lc}$$

$$[\varphi] = [\text{рад}]$$

$$[\varphi_{\text{уд}}] = [\text{град}], [l] = [\text{дм}], [c] = [\text{г/см}^3]$$

$$[\Phi_M] = [\text{град}]$$

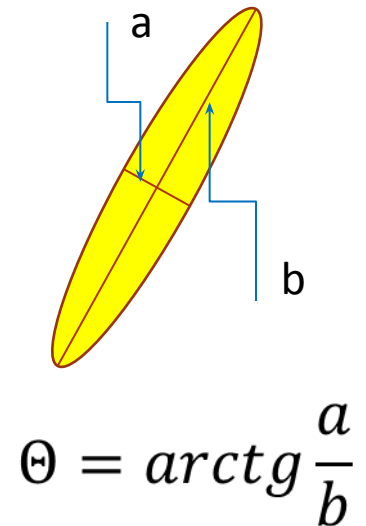
$$\tilde{\varphi} = \frac{\pi}{\lambda} (\tilde{n}_L - \tilde{n}_R) l = \frac{\pi}{\lambda} (n_L - n_R) l - i \frac{\pi}{\lambda} (\chi_L - \chi_R) l$$

Круговой дихроизм. Эллиптичность

$$\tilde{\varphi} = \frac{\pi}{\lambda} (\tilde{n}_L - \tilde{n}_R) l = \frac{\pi}{\lambda} (n_L - n_R) l - i \frac{\pi}{\lambda} (\chi_L - \chi_R) l$$

**Эллиптичност
ть**

$$\theta = \frac{\pi}{\lambda} (\chi_L - \chi_R) l$$



χ_L, χ_R - показатели поглощения,

$\varepsilon_L, \varepsilon_R$ - молярными коэффициентами поглощения

$\chi = \varepsilon \lambda k$, k – константа, характерная для данного вещества. θ

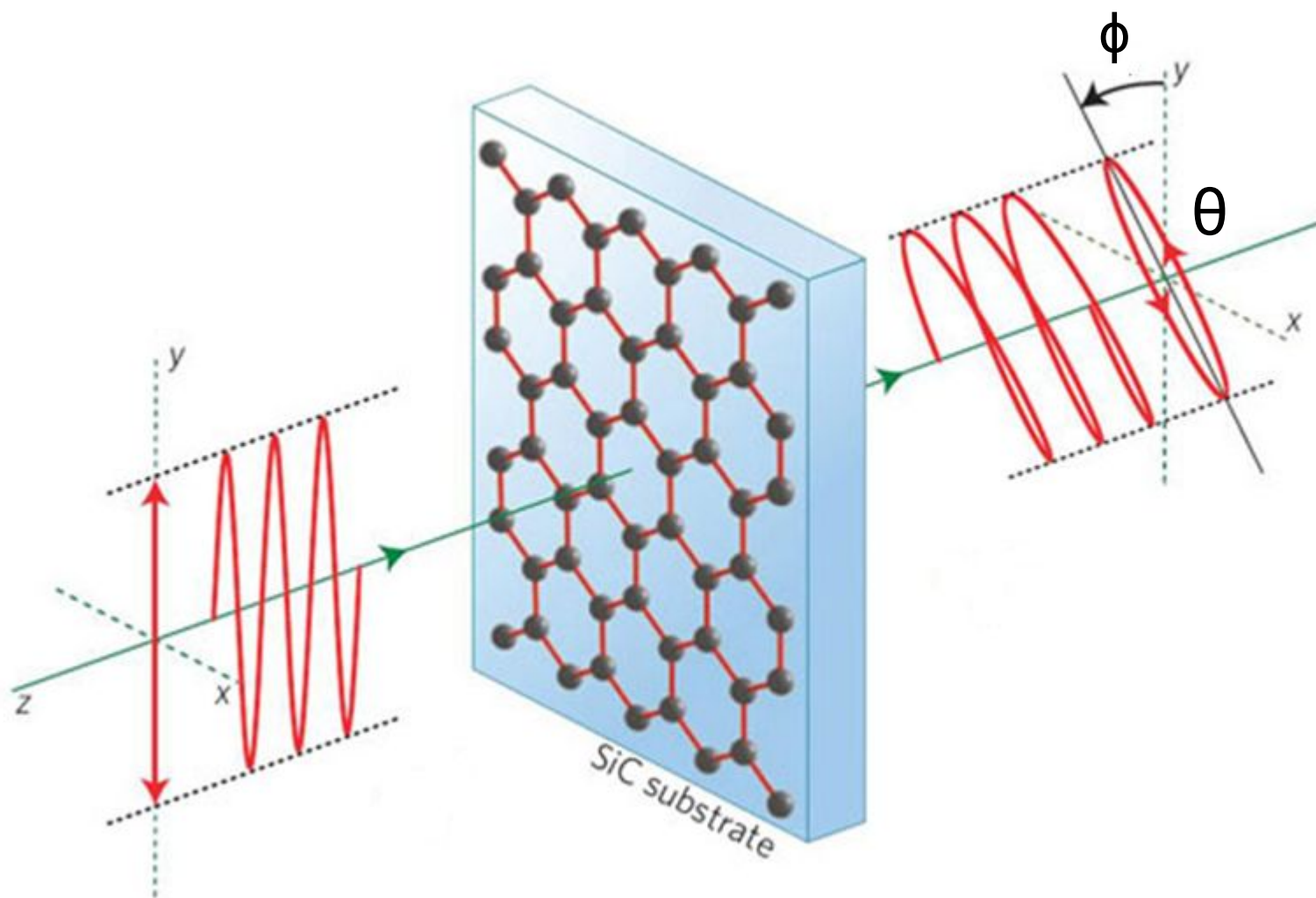
**Молярная
эллиптичность**

$$\theta_M = 3300 (\varepsilon_L - \varepsilon_R)$$

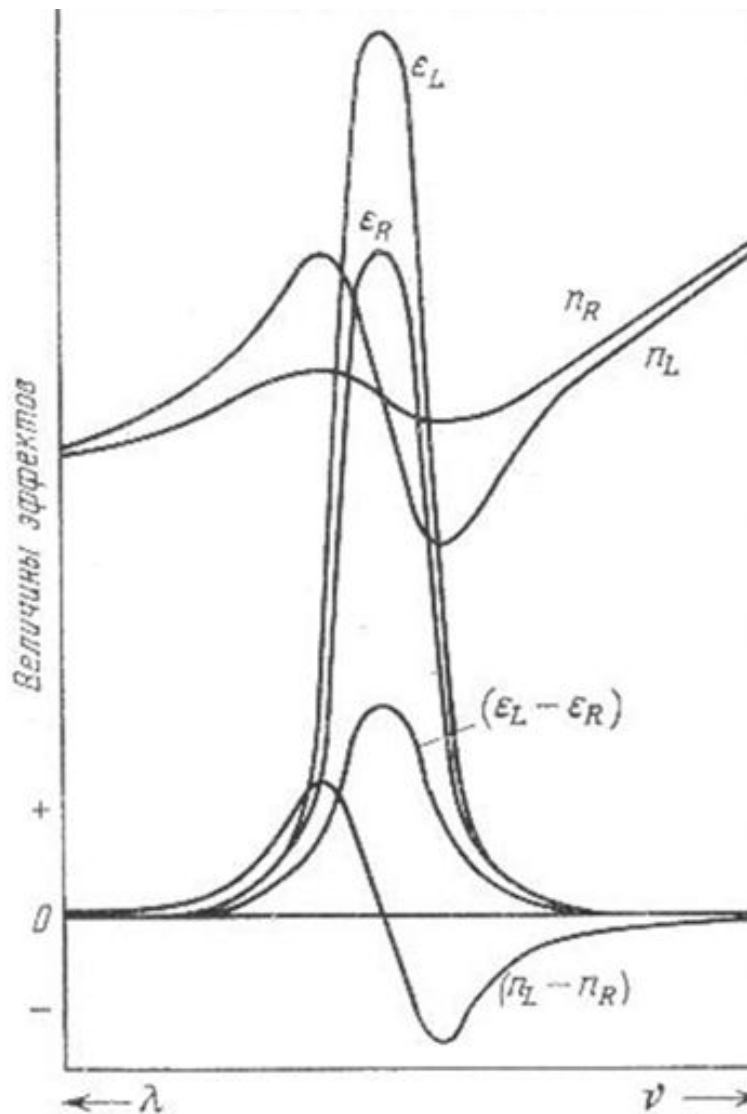
**Разностное дихроичное
поглощение**

$$\Delta \varepsilon = (\varepsilon_L - \varepsilon_R)$$

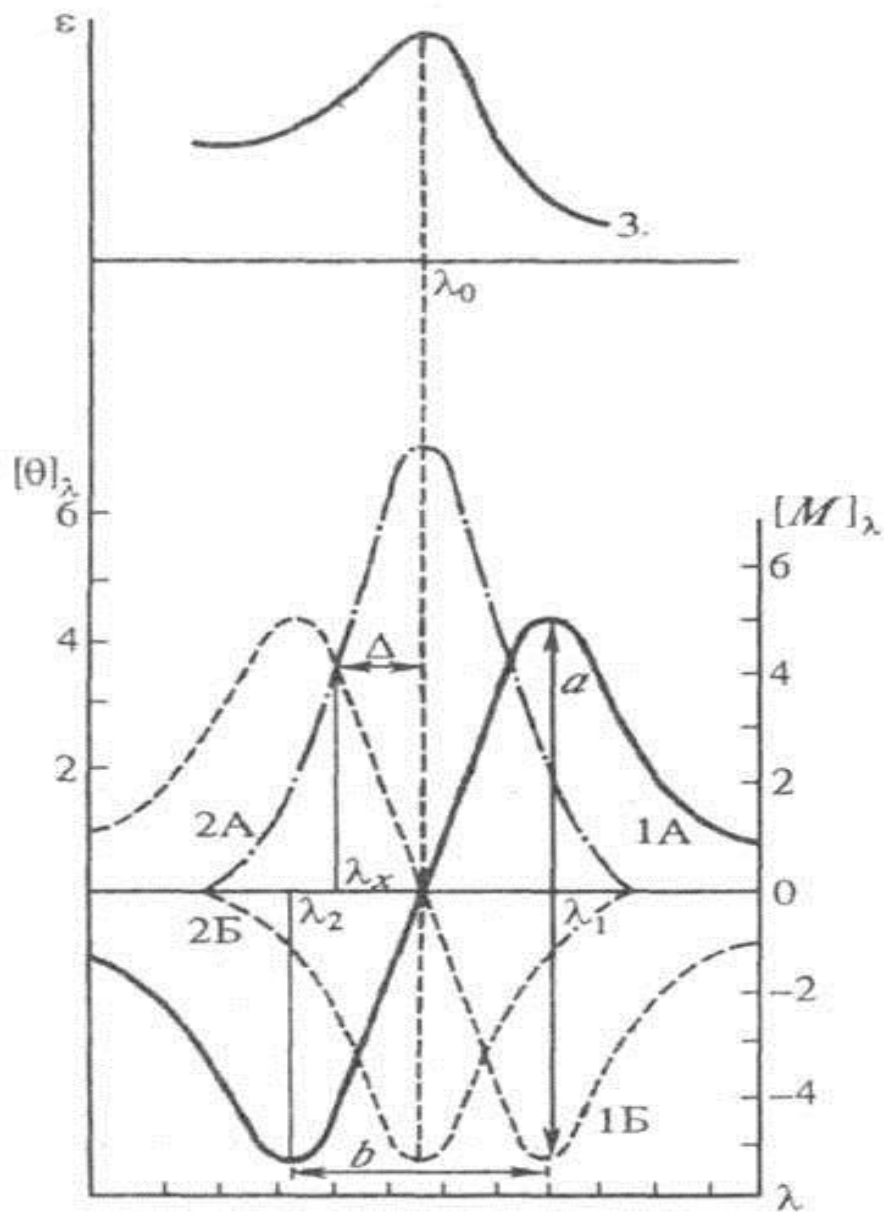
Оптическое вращение и круговой дихроизм



Дисперсия оптического вращения. Кривые кругового дихроизма

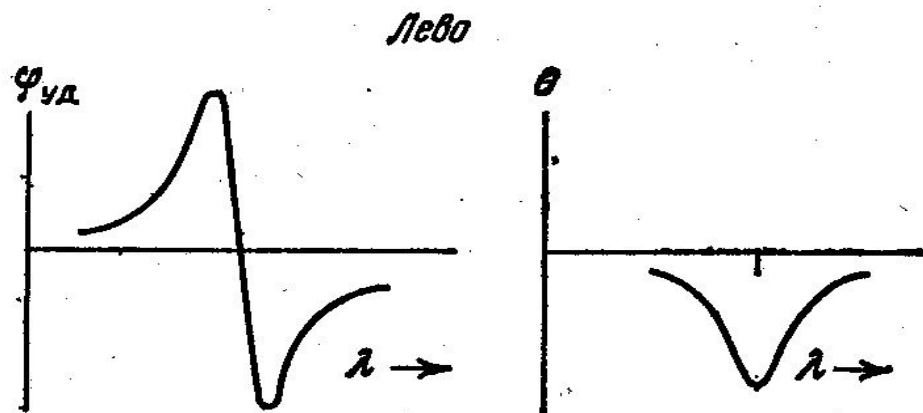
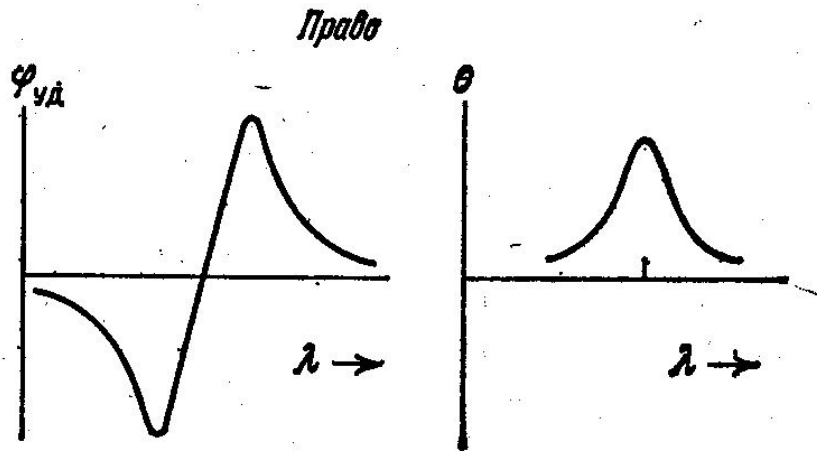


Поглощение и преломление в
спектральной области эффекта
Коттона

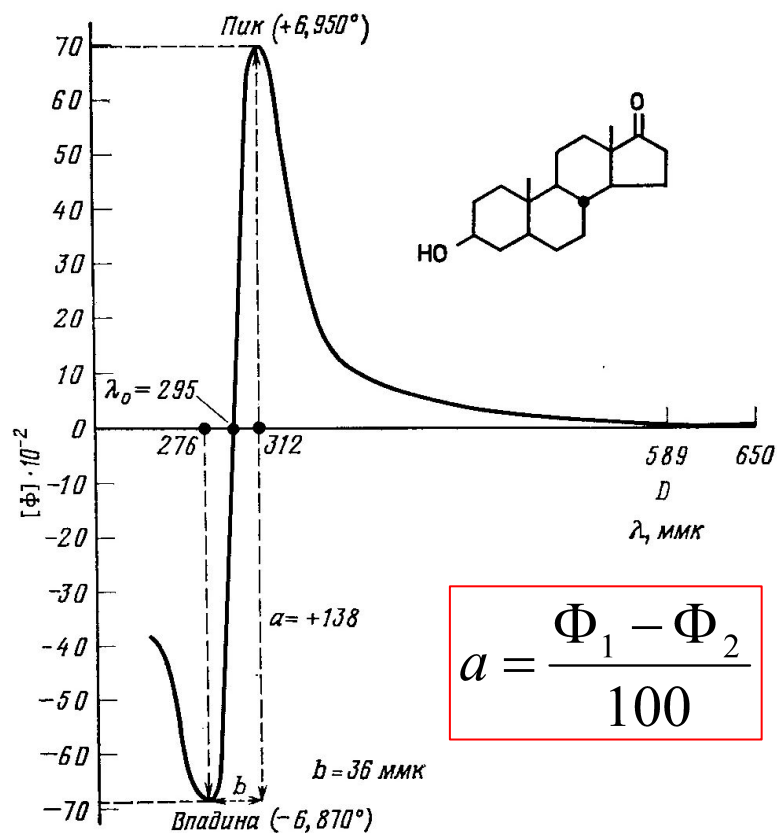


Спектры ДОВ (кривые 1А, 1Б), КД (2А, 2Б) и УФ (3); кривые А - положительные, Б - отрицательные эффекты Коттона

Дисперсия света и круговой
ДИХРОИЗМ
(в оптически активной среде)



Кривые эффекта Коттона



$$a = \frac{\Phi_1 - \Phi_2}{100}$$

Кривая ДОВ с положительным эффектом Коттона для 3β-окси-5α-андростана-17

Карбонильный хромофор дает полосу поглощения в ультрафиолетовой области спектра, обусловленную $n \rightarrow \pi^*$ переходом. Эта полоса оптически активна и ей соответствует кривая дисперсии оптического вращения с положительным эффектом Коттона.

Кривая имеет два экстремума при $\lambda = 312 \text{ нм}$ – пик, $\lambda = 276 \text{ нм}$ – впадина. Точка $\lambda = 295 \text{ нм}$, где вращение $\Phi_m = 0$ и кривая меняет свой знак, приблизительно соответствует максимуму полосы поглощения в ультрафиолетовой области.

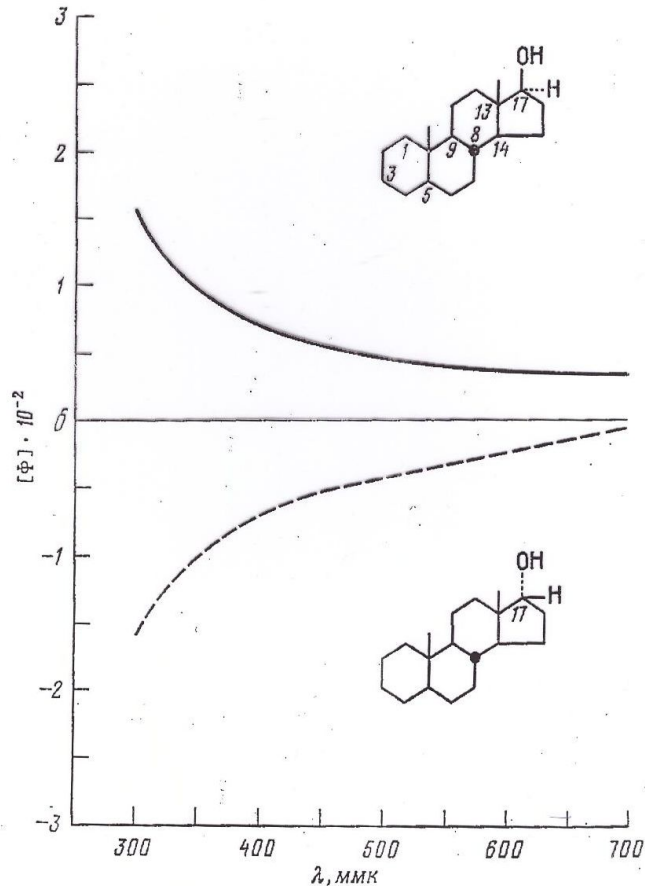
a - молекулярная амплитуда ДОВ.

($a = +138$)

b - ширина эффекта Коттона и [нм].

Молекулярная амплитуда кривой ДОВ является характеристикой данного вещества.

Плавные кривые ДОВ.



Нормальная дисперсия (увеличение оптической активности с уменьшением длины волны) обычно изменяется плавно, подчиняясь уравнению Друде.

$$\varphi(\lambda) = \frac{R_i \lambda_i^2}{\lambda^2 - \lambda_i^2}$$

Положительная плавная кривая ДОВ 17 β -окси-5 α -андростана (сплошная линия) и отрицательная плавная кривая ДОВ 17 α -окси-5 α -андростана (пунктирная линия)

Сила вращения i -ого перехода (R_i),

В строгой квантово-механической теории оптической активности поворот плоскости поляризации выражается через электрические и магнитные дипольные моменты переходов (дипольные моменты переходов).

$$R_i = |\mu_{ei}| |\mu_{mi}| \cos \psi$$

Сила вращения R_i в спектре КД определяется площадью этой полосы с учетом ее знака

$$R_i = \frac{3hc}{8\pi^3 N_A} \int_{\lambda} \frac{\theta(\lambda)}{\lambda} d\lambda$$

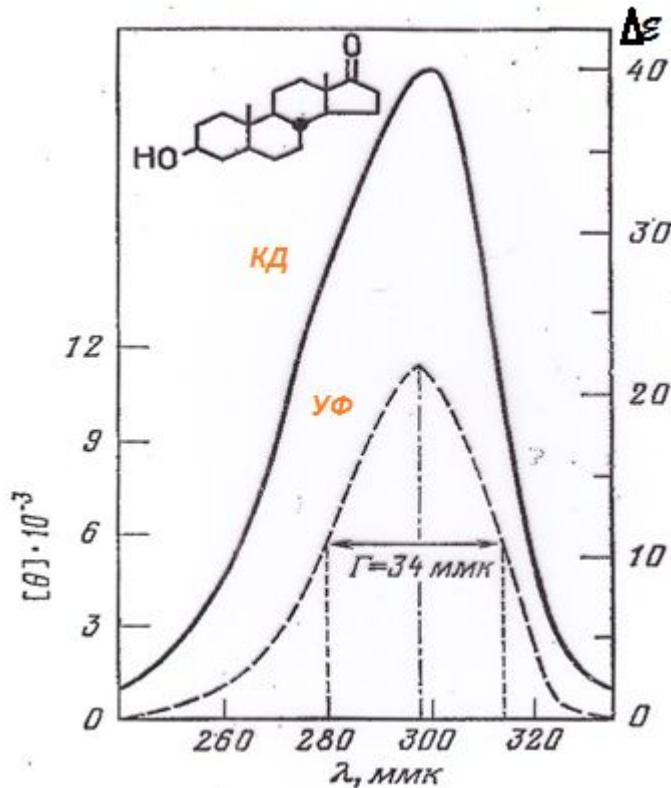
Связь параметров спектров ДОВ и КД (соотношения Кронига - Крамерса.)

$$\Phi_{\lambda} = \frac{2}{\pi} \int_0^{\infty} \theta_{\lambda_i} \frac{\lambda_i^2}{\lambda^2 - \lambda_i^2} d\lambda_i$$

$$\theta_{\lambda} = \frac{2}{\pi\lambda} \int_0^{\infty} \Phi_{\lambda_i} \frac{\lambda_i^2}{\lambda^2 - \lambda_i^2} d\lambda_i$$

R_i - постоянная, характеризующая интенсивность полосы в спектре КД, λ_i – длина волны в максимуме полосы, λ - длина волны падающего света, $R_i \lambda_i^2$ - постоянная, характеризующая интенсивность полосы в спектре КД

Кривая КД



Кривая УФ-поглощения и положительная кривая КД для 3β-окси-5α-андростана-17

Кривая КД представлена в виде зависимости $\Delta\varepsilon$ (сплошная линия) или θ (пунктирная линия) от длины волны.

Эффект Коттона в данном случае положителен – на кривой КД имеется положительный максимум.

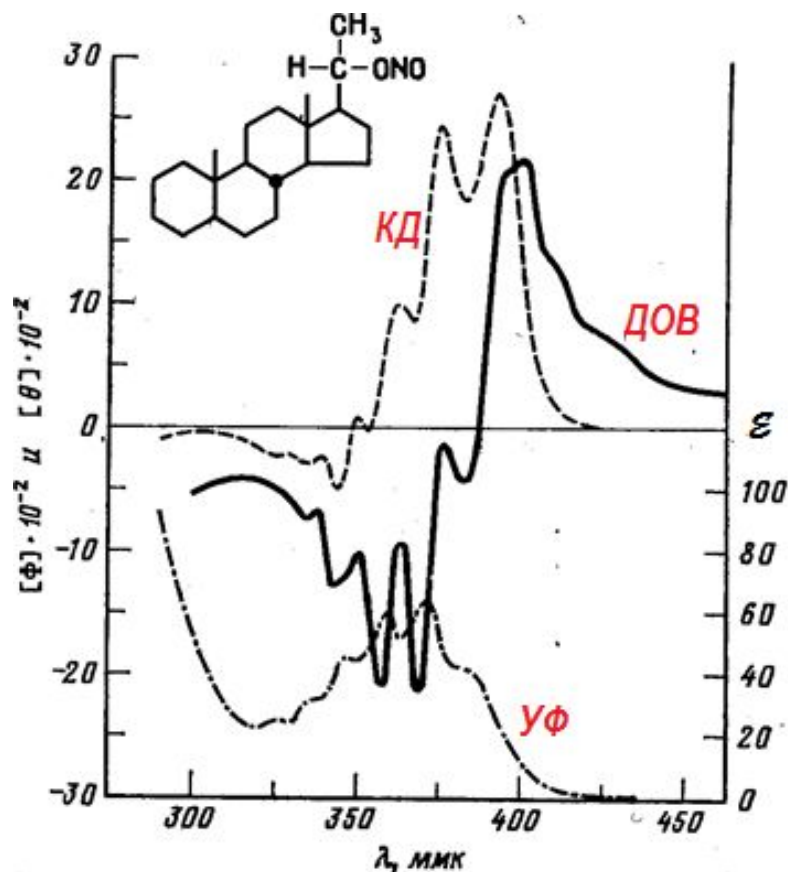
Длина волны положительного максимума почти точно соответствует длине волны поглощения в УФ спектре.

На рисунке $\Gamma = 34 \text{ мкм}$ – ширина полосы на кривой КД.

В результате теоретических исследований было предложено выражение, которое связывает молекулярную амплитуду a кривой ДОВ с дихроичным поглощением $\Delta\varepsilon$ кривой КД: $a = 40,28 \Delta\varepsilon$ или $a = 0,0122\theta$

Применяя это уравнение к эффекту Коттона, наблюдаемому с помощью КД ($\theta = +11440$) получим молекулярную амплитуду $a = +140$. Это значение хорошо согласуется с экспериментальным значением, полученным из кривой ДОВ ($a = +138$).

Сложные эффекты Коттона



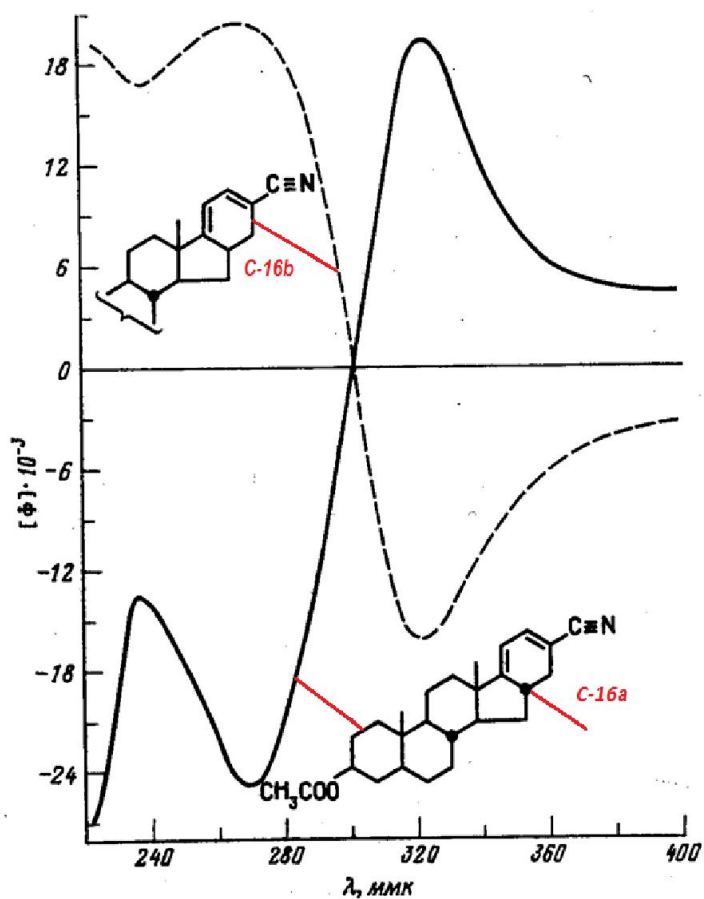
Кривые УФ поглощения, ДОВ, КД
нитрита 20 α -окси-5 α -прегнана

Сложный эффект Коттона хорошо заметен на кривой ДОВ кривой КД.

Его присутствие показывает, что переходы в УФ области спектра оптически активны, причем **положительные** эффекты Коттона связаны с более **длинноволновыми**, а **отрицательный** - с **коротковолновыми переходами** в УФ области.

хромофоры

Среди **ОА** хромофоров можно выделить два предельных случая: **диссимметричные хромофоры** и **симметричные хромофоры**, которые асимметрично возмущены.

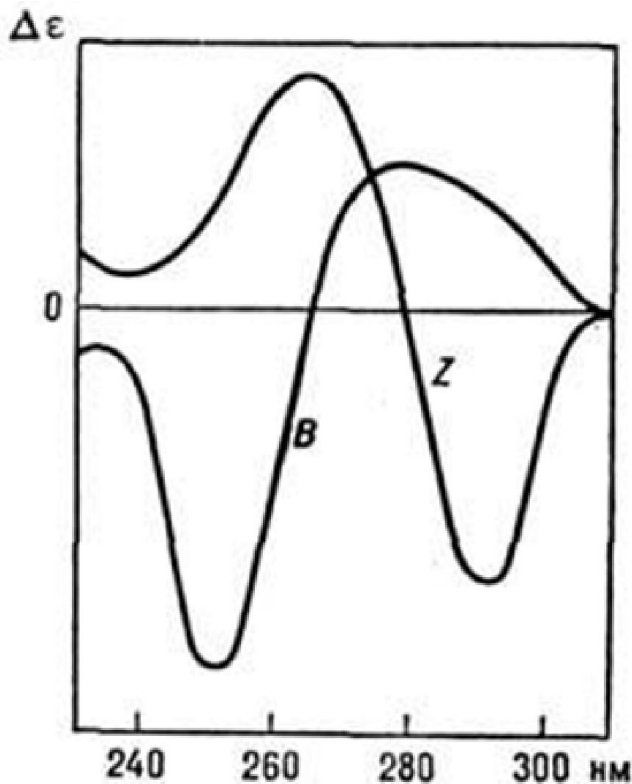


На рисунке – кривые ДОВ для двух оптически активных диенов (внутренне диссимметричные хромофоры). Соединения отличаются стехиометрией при **C-16**, и **конфигурация атома водорода при C-16 определяет ориентацию хромофора** в диене, а следовательно и знак эффекта Коттона. **16 β -Изомер образует правую спираль, и ему соответствует положительная кривая ДОВ.** **16 α -Изомер образует левую спираль, и ему соответствует кривая с отрицательным эффектом Коттона.**

Типичным примером внутренне симметричной группы является карбонильная (например, альдегидная, кетонная, кислотная, эфирная, амидная и т.д.). В этом случае сам хромофор не имеет оптической активности, но если поместить его в несимметричное молекулярное окружение, то переходы в нем становятся оптически активными. Это является причиной меньшего эффекта Коттона по сравнению с предыдущим примером

Спектры кругового дихроизма ДНК в В-и Z-формах

Особый интерес представляет исследование конформационных превращений биополимеров в растворе, с этой целью используют спектрофотометрию в УФ-области и измерения кругового дихроизма. Биологические пептиды обладают оптической активностью, свойственной всем аминокислотам (кроме глицина) и, соответственно, полипептидам и белкам. Наиболее информативны измерения кругового дихроизма, который зависит от конформации полимера

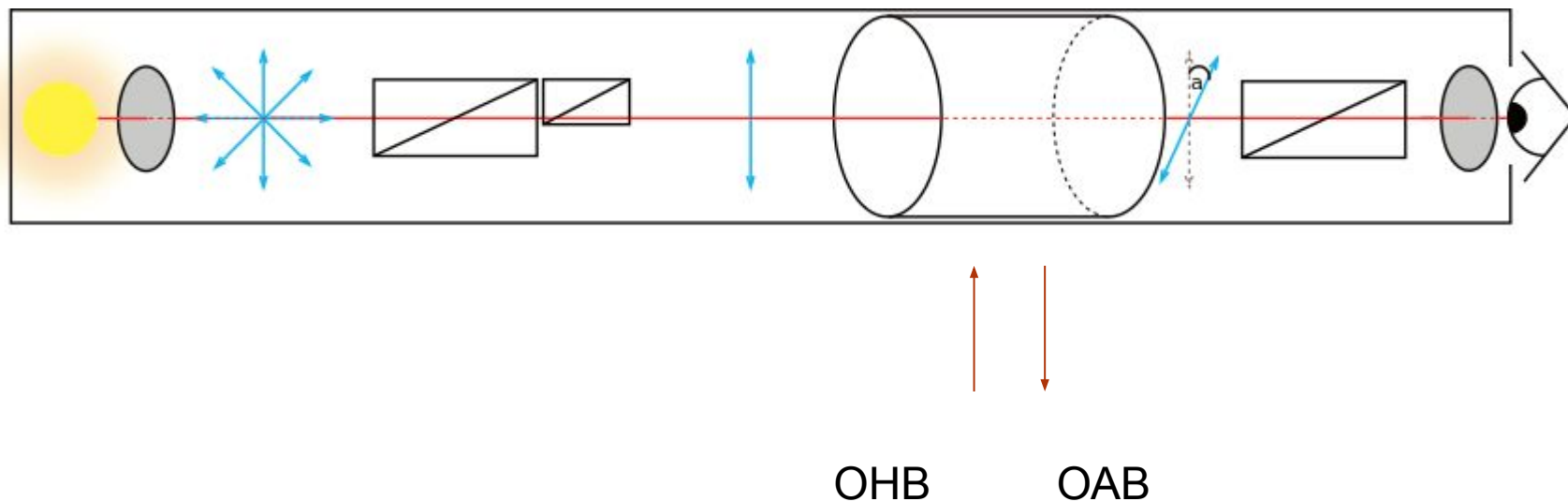


В-форма - Основная вторичная структура ДНК - представляет собой *правую двойную спираль*.

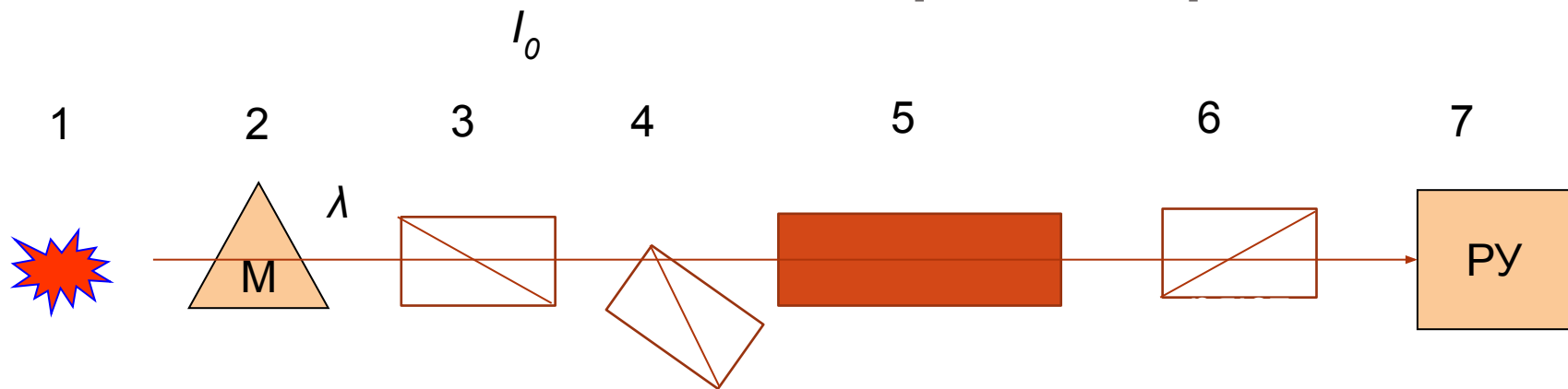
Z-форма ДНК представляет собой *левую двойную спираль*

Поляризаторы визуальные

Поляриметрия — метод физических исследований, основанный на измерении степени поляризации света и угла поворота плоскости поляризации света при прохождении его через оптически активные вещества. Угол поворота в растворах зависит от их концентрации, поэтому поляриметрия широко применяется для измерения концентрации оптически активных веществ.

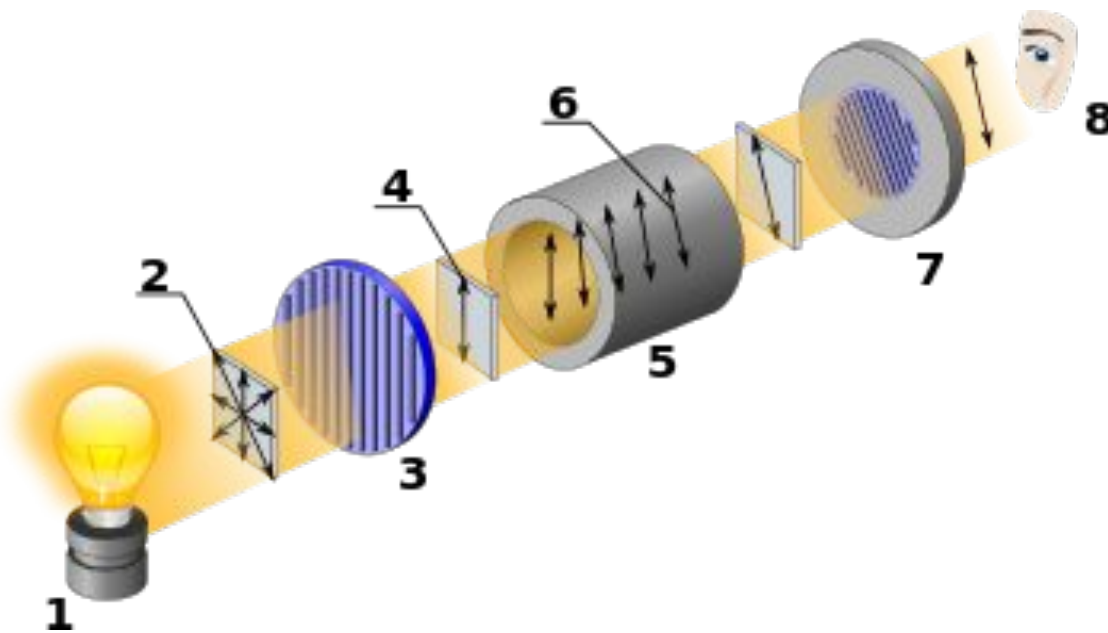


Блок-схема поляриметра



ПОЛЯРИМЕТР - прибор для измерения угла вращения плоскости поляризации монохроматического света в веществах, обладающих естественной или наведённой магнитным полем оптической активностью.

Поляризаторы делятся на визуальные и фотоэлектрические. Конечным измерительным элементом и тех, и других является светочувствительное устройство (глаз или фотоэлектрический приёмник), реагирующее на изменение интенсивности света, а не на состояние его поляризации. В поляриметрах, построенных по схеме полутеневых приборов исследуемое вещество 5 помещается между полутеневым поляризатором, состоящим из двух половин 3-4, и анализатором 6.



Измерение оптической активности при помощи поляриметра:
1 — источник света, 2 — неполяризованный свет, 3 — поляризатор,
4 — поляризованный свет, 5 — кювета с раствором вещества,
6 — оптическое вращение 30° , 7 — анализатор, 8 — наблюдатель

Спектрополяриметры

При измерении спектров КД в настоящее время используют современные спектрополяриметры с двойным монохроматором для уменьшения влияния рассеянного света, с кварцевыми призмами для выделения монохроматического светового потока, которые одновременно служат поляроидами, и пьезомодулятором переменного напряжения для преобразования линейно поляризованного света в эллиптически поляризованный с определенной частотой модуляции.

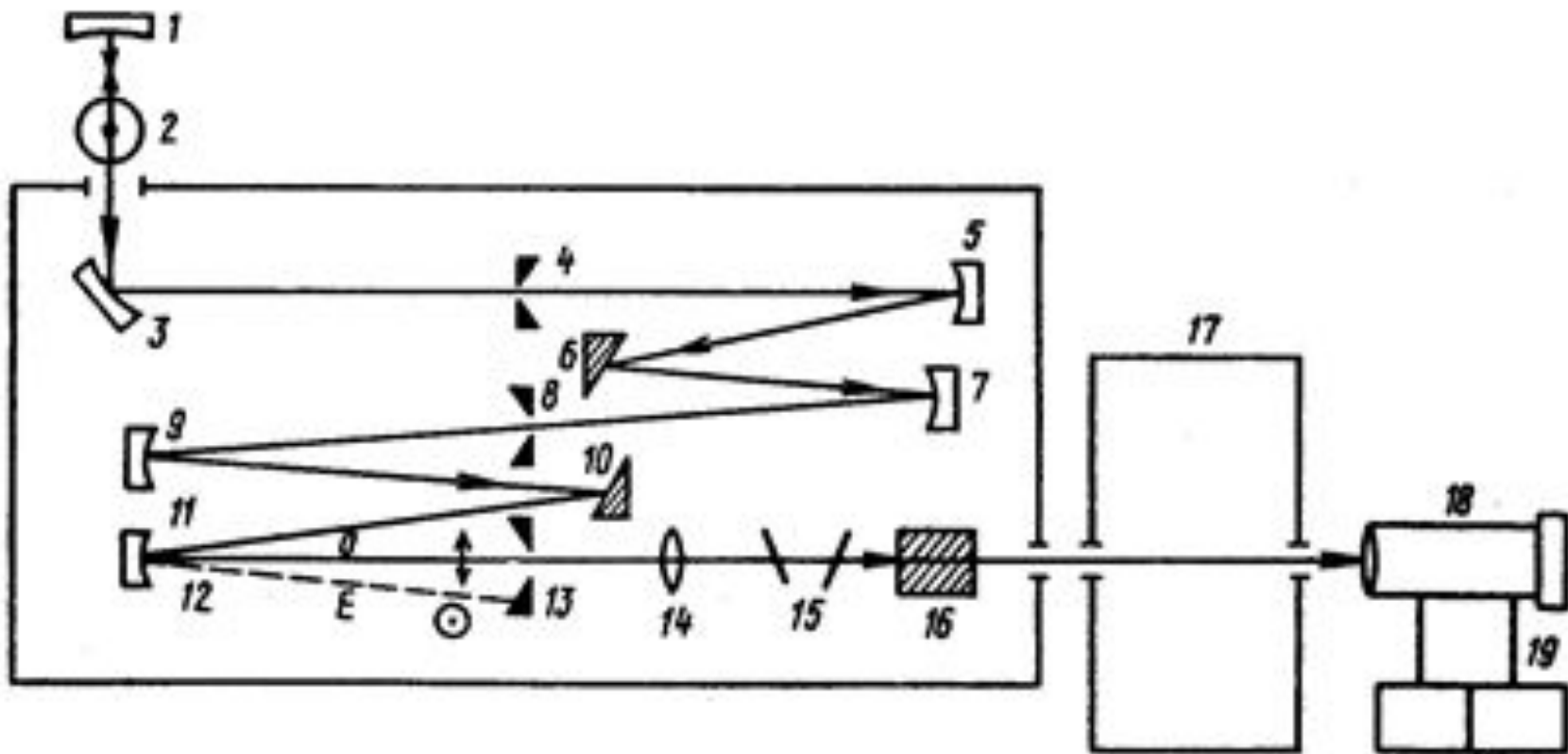


Рис. 12. Схема спектрополяриметра для измерения КД:

1, 3, 5, 7, 9, 11 — сферическое зеркало, 2 — источник света, 4 — входная щель, 6 — первая призма (с горизонтальной осью), 8 — промежуточная щель, 10 — вторая призма (с вертикальной осью), 12 — обыкновенный (O) и необыкновенный (E) лучи, 13 — входная щель, 14 — фокусирующая линза, 15 — фильтр, 16 — пьезомодулятор, 17 — камера с объектом, 18 — фотоумножитель, 19 — система питания и регистрации

Принципиальная схема спектрополяриметра, который используют для измерения КД различных биополимеров

Луч света от источника (ксеноновая лампа) фокусируется сферическим зеркалом 3 на входную щель 4. Часть оптической системы от входной щели 4 до промежуточной щели 8 представляет собой первый монохроматор, другая часть оптической системы от 8 до выходной щели 13 - второй монохроматор. Первый и второй монохроматоры идентичны и совместно образуют двойной монохроматор, что необходимо для уменьшения рассеянного света, который может приводить к различным артефактам при измерении вращения плоскости поляризации в области сильного поглощения света в оптически активном веществе. С помощью системы сферических зеркал луч света попадает на кристаллические призмы 6 и 10, отличающиеся направлением осей. Проходя призмы монохроматоров, луч света становится монохроматичным и одновременно линейно поляризованным в горизонтальной плоскости.

В некоторых приборах призмы изготовлены из расплавленного кварца, и в этом случае луч света оказывается монохроматичным, но не поляризованным. Для линейной поляризации монохроматического луча на его пути помещают дополнительно призму Рошона. Линейно поляризованный свет далее преобразуется в свет с левой и правой круговой поляризацией с помощью специального устройства пьезомодулятора. Пьезомодулятор формирует с помощью кварцевого элемента (на основе пьезоэлектрического эффекта) из проходящего через него светового пучка свет с круговой поляризацией.

При подаче на электроды пьезомодулятора переменного напряжения линейно поляризованный свет становится после прохождения через пьезокристалл эллиптически поляризованным. Эллиптичность поляризации изменяется в такт с частотой переменного напряжения. При некотором оптимальном напряжении свет, проходящий через кристалл, приобретает левую или правую круговую поляризацию. Если в луч такого света с круговой поляризацией поместить оптически активное вещество, то интенсивность света, прошедшего через это вещество, будет изменяться во времени. Сигнал, регистрируемый с помощью специальной электрической схемы, пропорционален разнице в поглощении лучей с правой и левой круговой поляризацией.

Аминокислота	Удельное вращение, $[\alpha]_D^{25^\circ}$
L-аланин	+ 1,8
L-аргинин	+ 12,5
L-гистидин	- 38,5
L-глутаминовая кислота	+ 12,0
L-изолейцин	+ 12,4
L-лизин	+ 13,5
L-пролин	- 86,2
L-серин	- 7,5
L-треонин	- 28,5
L-фенилаланин	- 34,5

Относительные преимущества методов ДОВ и КД

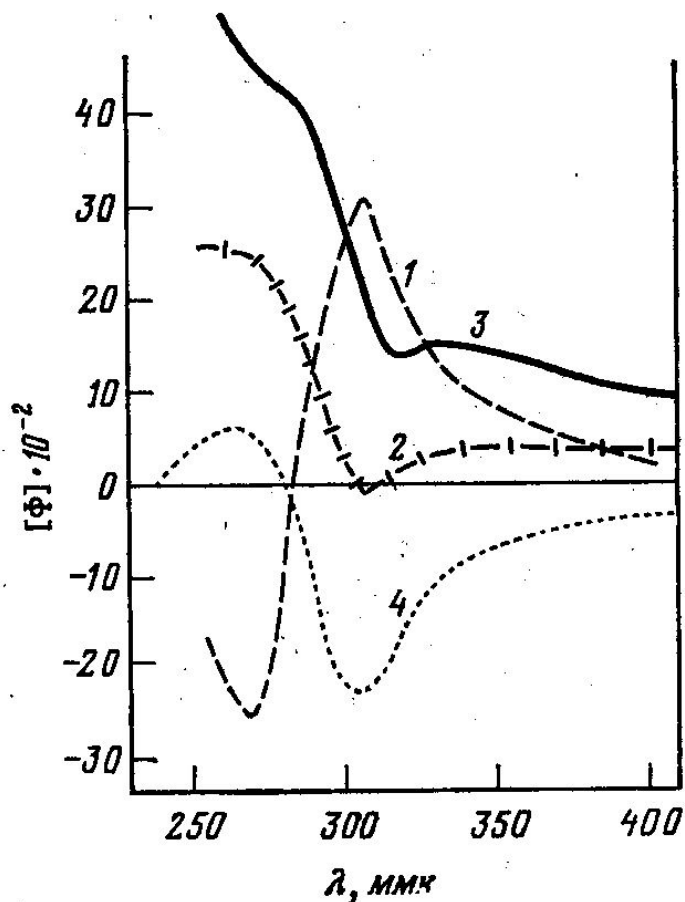
Для громадного большинства случаев применения оба метода дают одинаковые данные по ДОВ и КД.

Отличительной чертой кривой ДОВ является проявление фоновых эффектов, т.е. вклада вращения более далеких полос поглощения этого хромофора или других атомов той же молекулы, что может изменить форму кривой ДОВ и **не проявляться на кривой КД**.

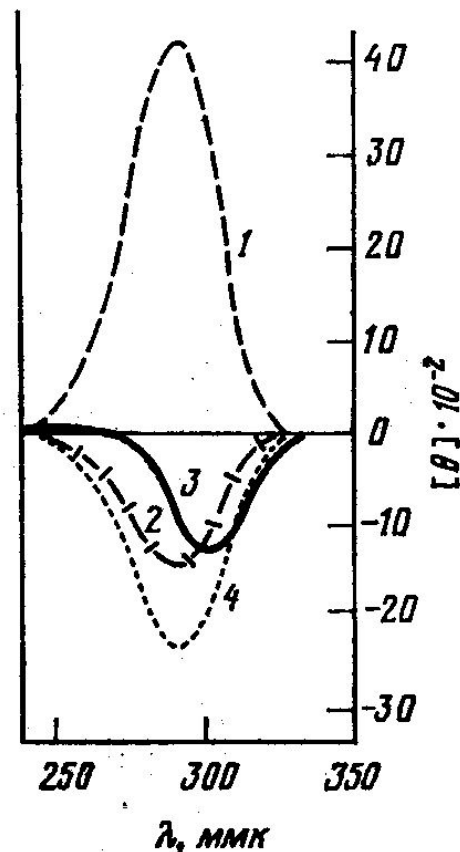
Кривые КД могут быть только положительными или отрицательными.

Кривые ДОВ из-за фоновых эффектов приобретают «индивидуальность», и их характерную форму можно использовать для описания строения вещества.

Кривые ДОВ и КД



Р и с. 3. Кривые ДОВ (в метаноле) холестерона-3 (1), копростанона-3 (2), холестерона-1 (3) и холестерона-7 (4).



Р и с. 4. Кривые КД (в метаноле) холестерона-3 (1), копростанона-3 (2), холестерона-1 (3) и холестерона-7 (4).

Таким образом, можно сделать вывод:

- для идентификации соединений метод ДОВ предпочтительнее, чем метод КД.
- Колебательная структура спектров КД проявляется при понижении температуры до температуры кипения жидкого азота.
- Присутствие фоновых эффектов в ДОВ и их отсутствие в КД является преимуществом при структурных исследованиях, но недостатком при вычислении сил вращения.
- Метод КД имеет преимущество в том случае, когда полосы поглощения перекрываются (но существуют исключения).
- В тех случаях, когда желательно получить более детальную информацию, проводят параллельные измерения обоих параметров.

Применение методов

Методы ДОВ и КД широко применяют для изучения конформации белков, нуклеиновых кислот, при исследовании взаимодействия белков с малыми молекулами, при анализе образования крупных комплексов из субъединиц, при изучении структуры пигмент-белковых комплексов и т.п.

Спектры КД очень чувствительны к локальным взаимодействиям, и даже в том случае, если не удастся дать полное структурное описание, изменения в структуре обычно проявляются при регистрации КД.

- Спектры КД часто применяют при изучении связывания биополимеров с малыми молекулами. При этом малые молекулы сами по себе могут быть и оптически неактивными, однако при связывании с полимером из-за электронных взаимодействий с центром связывания или вследствие конформационных изменений величина полос в индуцированном спектре КД будет фактически отражать свойства биополимера. Наиболее удобными в этом случае будут такие молекулы, которые способны поглощать видимый свет.

- В индуцированный КД будут вносить вклад как одноэлектронные члены (отражающие влияние окружения), так и экситонные члены (отражающие взаимодействие между компонентами). Например, в гемоглобине оптическая активность групп гема в основном будет определяться взаимодействием с соседними остатками белковой молекулы.

- Спектры КД и ДОВ широко используют для определения количества спиральных структур в макромолекулах. Асимметричная природа α -углеродного атома полипептидов и белков частично связана с поглощающими в видимой и ультрафиолетовой областях близко расположенными амидными группами. Это, в свою очередь, приводит к появлению КД и ДОВ, которые могут значительно увеличиваться из-за влияния вторичной структуры белка (наличия оптически активных α -спиралей или β -структур). Поскольку полосы в спектре КД лучше разрешены, чем в спектрах ДОВ, первый метод с успехом используют для количественного определения содержания вторичных структур (α -спиралей, β -структур, конформации беспорядочного клубка). Однако ДОВ, распространяясь на более широкий диапазон частот, дает информацию о тех областях спектра, которые лежат вне полос поглощения и часто за пределами спектрального интервала, регистрируемого на обычно используемых приборах (например, расположены в ультрафиолетовой части спектра)

- Определение относительной доли вторичных структур белков производят при измерении КД в диапазоне от 190 до 230 нм. Белковую молекулу при этом рассматривают как линейную комбинацию конформационных участков в состояниях α -спирали, β -слоев и беспорядочного клубка, а спектры КД сравнивают со спектрами гомополипептидов известной конформации. Такое приближение оказывается возможным, поскольку экспериментальные данные показали, что спектр КД в исследуемом диапазоне мало зависит от природы алифатических боковых групп, а в основном определяется полипептидным остовом.

Магнитный круговой дихроизм

Метод магнитного кругового дихроизма (МКД) основан на индуцировании оптической активности (в том числе и у «нехиральных» молекул) наложением статического сильного магнитного поля. При этом у оптически неактивных молекул появляется как КД, так и ДОВ, а у «хиральных» молекул наряду с полосами в естественном КД обнаруживаются индуцированные магнитным полем новые полосы.

Например, при достаточно близких для триптофана и тирозина спектрах поглощения, спектры МКД имеют различия

Модель Куна

Простейшая модель хиральной молекулы предложена Куном. Она состоит из двух линейных групп, отстоящих друг от друга на расстояние R и поляризующихся только вдоль своих осей, угол между которыми равен ϕ .

Известно, что каждой полосе поглощения можно поставить в соответствие линейный осциллятор. Он не обладает способностью вращать плоскость поляризации света. Однако если осцилляторы взаимодействуют, что случается, например, при сближении хромофоров, то в таких системах возникает оптическая активность. Если осцилляторы до их сближения имели одинаковые частоты, то при взаимодействии между ними полоса поглощения ν_0 , соответствующая невзаимодействующим осцилляторам (невзаимодействующим мономерам), расщепляется. Для двух связанных осцилляторов (димера), ν_0 расщепляется на две с частотами ν_1 и ν_2 .

При поглощении кванта димером возмущение будет расщеплять возбужденное состояние, и величина этого расщепления составляет $2\Delta\nu$ и по энергии $2h\Delta\nu$. Частоты полос поглощения будут равны $\nu_1 = \nu_0 + \Delta\nu$, $\nu_2 = \nu_0 - \Delta\nu$. Величина расщепления $2\Delta\nu$ является функцией расстояния между мономерами R и угла ϕ между моментами переходов, которые соответствуют поглощению этих мономеров. Интенсивность полос поглощения димера D_1 и D_2 зависит только от угла ϕ , поскольку

$$D_1 = D_0 + D_0 \cos \phi \qquad D_2 = D_0 - D_0 \cos \phi$$

где D_0 – дипольная сила мономера.

Полная интегральная интенсивность поглощения димера не зависит от его геометрии и равна: $D_1 + D_2 = 2D_0$.

При прохождении линейно поляризованного света ν через слой вещества единичной толщины с концентрацией димеров d , плоскость поляризации повернется на угол ϕ

$$\Phi = \pi d f_0 \frac{e^2 \nu^2}{mc^2} \left(\frac{1}{\nu_1^2 - \nu^2} - \frac{1}{\nu_2^2 - \nu^2} \right) R \sin \phi$$

где e и m – заряд и масса электрона, c – скорость света, f_0 – сила осциллятора, R – расстояние между мономерами, ϕ – угол между моментами переходов мономеров, ν_1 и ν_2 – частоты полос поглощения димера. Уравнение показывает, что $\Phi = 0$, если R или ϕ равны нулю, и что при отсутствии взаимодействия ($\nu_1 = \nu_2 = \nu$) между осцилляторами оптическое вращение отсутствует. Система, имеющая плоскость или центр симметрии, оптически не активна.

В спектре КД димера, образованного двумя взаимодействующими молекулами мономера, проявятся две полосы, которые будут соответствовать экситонным полосам поглощения с частотами ν_1 и ν_2 . Вклад в эти полосы поглощения в соответствии с теорией будут вносить три компонента, отражающие соответственно суммарный КД двух изолированных мономеров и возмущение мономеров электрическим полем димера, магнитоэлектрическое взаимодействие и экситонное взаимодействие. В большинстве случаев КД димера будет определяться именно третьим компонентом, т. е. экситонным взаимодействием, и зависеть от расстояния между мономерами и их взаимной ориентации. В том случае, если значение силы вращения определяется экситонным взаимодействием, интенсивность обеих полос поглощения в спектре КД димера будет одинакова, однако полосы будут иметь противоположную направленность («+» и «-» соответственно). Такой спектр называется *консервативным*, поскольку суммарная сила вращения будет равна нулю ($R_1 + R_2 = 0$).

В том случае, если величина расщепления $2\Delta v$ невелика, измеряемый КД окажется гораздо меньшим по сравнению с интенсивностью каждой из полос в отдельности вследствие суммирования двух противоположно направленных компонентов. С другой стороны, спектр КД имеет значительное преимущество перед обычным спектром поглощения благодаря существованию полос противоположного знака, которые значительно легче обнаружить по КД, в особенности при небольшой величине экситонного расщепления. Так как экситонный член в уравнении для определения силы вращения переходов в димере будет представлять собой смешанное произведение трех векторов (моментов перехода для обоих мономеров и расстояния между центрами мономеров), то для некоторых конформаций димера КД исчезает. Так, если хромофоры в димере параллельны, компланарны или взаимно перпендикулярны, спектра КД не будет (в первых двух случаях расщепление есть, а сигнала КД - нет, в последнем - отсутствует расщепление и суммарный КД равен нулю).

Таким образом, метод КД оказывается весьма чувствительным к конформации молекул, включающих совокупность хромофоров. В том случае, если мономеры обладают относительно малым КД, обычно исследуют разностные спектры КД ($\Delta\Theta = \Theta_{\text{димера}} - \Theta_{\text{мономера}}$). Расчет КД различного ряда олигомеров биологического происхождения, как правило, производят таким же образом, как и для димеров. Конформационный анализ значительно упрощается, если спектр КД в основном определяется экситонным членом. В этом случае дипольные силы для различных полос можно определить из спектра поглощения, направления дипольных моментов - из спектров линейного дихроизма и необходимо вычислить лишь величину расщепления. Однако, поскольку мономер часто может иметь несколько полос поглощения, вычисление магнитоэлектрического и экситонного членов сильно затрудняется из-за необходимости учитывать взаимосвязь между полосой одного мономера и набором полос всех других мономеров.

Тем не менее для целого ряда биологически важных полипептидов ситуация упрощается, например из-за малого влияния боковых групп молекулы на ее оптические свойства (как в случае поли-L-аланина), и тогда в ближнем ультрафиолете учитываются лишь $\pi \rightarrow \pi^*$ $n \rightarrow \pi^*$ переходы в полипептиде. Оказалось, что в этих случаях расчетный спектр КД хорошо совпадает с экспериментальным (например, для поли-L-аланина).

Вопросы к зачету

1. Какие виды поляризации вы знаете?
2. Что такое оптическая анизотропия?
3. В чем заключается явление двойного лучепреломления?
4. В чем заключается явление оптической активности?
5. В каких веществах может существовать оптическая активность?
6. Какова природа оптической активности?
7. Где применяется явление оптической активности?
8. Распространение света в диэлектрике.
9. Дисперсия света.
10. Оптическое вращение, круговое двулучепреломление, эллиптичность, круговой дихроизм.
11. Дисперсия оптического вращения.
12. Сила вращения полосы в спектре кругового дихроизма.
13. Модель Куна.
14. Понятие о методе магнитного кругового дихроизма