

Тема: Фотобіологічні процеси.

Фотобіологічні процеси йдуть під дією поглинених фотонів ультрафіолетової, видимої та інфрачервоної областей спектру. Вони властиві організмам всіх царств від прокариот до людини. В ході біохімічної еволюції сформувалися спеціальні речовини, що поглинають світло, – **пігменти**.

По біологічному значенню фотобіологічні процеси ділять на:

1. **Фотофізіологічні**, які забезпечують процеси енергозапасання, при яких енергія поглинених фотонів перетворюється на інші форми вільної енергії (енергія хімічних зв'язків, градієнта концентрації іонів); регуляції, при яких світло визначає напруженість ряду фізіологічних функцій, і **фотосинтетичні процеси**, що викликають утворення на світу ряду біологічно важливих речовин (наприклад, фотосинтез);
2. **Фотодеструктивні**, які полягають у виникненні під дією світла пошкоджень біомакромолекул (білків, нуклеїнових кислот, що володіють хромофорними групами) і відносяться до патологічних явищ. Вони можуть супроводжуватися загибеллю клітин, виникненням мутацій, порушенням фізіологічних функцій.

Для захисту від фотодеструкції вироблені пристосування – екранування світлочутливих компонентів клітини особливими пігментами. У клітині діють механізми дезактивації виникаючих фотопродуктів і процеси відновлення пошкоджених молекул.

Пігменти біологічних систем.

Пігменти – це різноманітні по хімічній природі забарвлені з'єднання. Їх ділять на 4 групи:

- Пігменти, що беруть участь у фотобіологічних процесах, що є функціонально значущими в життєдіяльності організму. Це фотосинтетичні пігменти (хлорофіл зелених рослин, бактеріохлорофіли фотосинтетичних бактерій), допоміжні пігменти фотосинтезу

(каротиноїди, ксантофілли, фікобіліни), зоровий пігмент родопсин, регуляторні пігменти (фітохром, криптохром).

- Пігменти, пов'язані з фотобіологічними процесами не безпосередньо, а завдяки наявності в їх молекулах хромофорних груп, що вибірково поглинають світло у видимій частині спектру. До цієї групи відносяться пігменти, забарвлені в червоний колір: пігмент крові гемоглобін і продукти його розпаду – жовчні пігменти; хромопротеїд м'язів – міоглобін; окислювально-відновні ферменти – каталаза, пероксидаза; цитохроми рослинних і тваринних тканин.
- Пігменти, що екранують світлочутливі клітини і тканини. Це меланіни у тварин і каротиноїди, флавоноїди у рослин.
- Пігменти морфолого-пристосувального значення. Вони додають певне забарвлення тим або іншим частинам організму, забезпечують маскування для тварин, а для рослин – приваблювання комах-запилювачів. Це флавіни, птеридини, ціанідини, меланіни (у тварин), антоціани (у рослин).

Для багатьох характерна близька хімічна будова: лютеїн і β -каротин відрізняються на ОН-групу, фікоеритробілін і фікоціанобілін ($\text{CH}_2 - \text{CH}_3$).

У плані філогенезу багато пігментів – дуже стародавні компоненти клітин, тому один і той же пігмент може бути присутнім у дуже далеких видів: каротиноїди у бактерій і вищих рослин, хлорофіл у ціанобактерій та рослин.

Закономірності фотобіологічних процесів.

Фотобіологічні процеси схожі за своєю природою і складаються з декількох етапів.

Процес починається з поглинання кванта світла. Далі слідує внутрішньомолекулярний розмін енергії – міграція електронно-збудженого стану по молекулі і локалізація цього стану в певних ділянках молекули. Цей процес відбувається швидко і одночасно з ним здійснюється міжмолекулярне перенесення енергії електронно-збудженого стану – міграція від молекули до молекули. Етапи поглинання світла і міграції енергії електронного збудження складають **фотофізичну стадію фотобіологічного процесу**. Фотофізична

стадія може супроводжуватися фотохімічними реакціями, хімічними перетвореннями речовин, що призводить до виникнення первинних фотопродуктів. Ці продукти зазвичай нестабільні і переходять в стабільні молекули. Хімічні перетворення у фотофізичній стадії процесу складають **фотохімічну стадію**.

Розглянемо коротко **фізичні** закони, що описують поглинання світла, збуджений стан.

Молекули речовини поглинають кванти світла, енергія яких визначається по формулі Планка:

$$E = h\nu = h \cdot \frac{c}{\lambda},$$

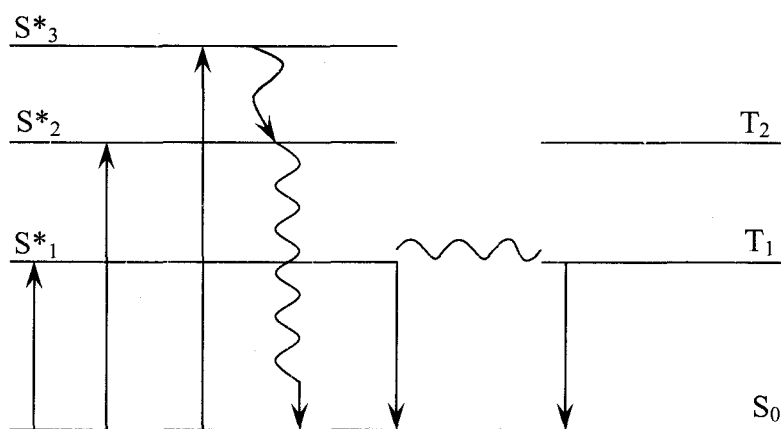
де ν – частота;

λ – довжина хвилі;

c – швидкість світла у вакуумі;

h – постійна Планка ($6,63 \cdot 10^{-34}$ Дж·с⁻¹).

Поглинені кванти порушують електрони молекул і переводять їх з основного незбудженого рівня S_0 на вищі збуджені рівні S_1^* , S_2^* залежно від енергії кванта.



Збуджений стан молекули є нерівноважним, і молекула переходить з нього різними шляхами. Один з шляхів – це **безвипромінювальна дисипація енергії** у вигляді теплових коливань (*хвилясті стрілки*). Інший шлях супроводжується випромінюванням квантів світла. У багатоатомних молекулах електрони локалізовані біля окремих ядер, інші делокалізовані

між ядрами. У поглинанні молекулами світла велике значення мають π -електрони так званих π -орбіталей. Якщо при поглинанні кванта світла збудженню піддається електрон π -орбіталей, то говорять про π - π^* -переходи, де π^* позначає орбіталь збудженого електрона.

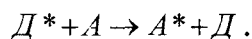
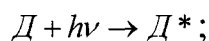
Внутрішня енергія молекули E_M дорівнює сумі енергій: електронів $E_{\text{ел}}$, коливань ядер в молекулі $E_{\text{кол}}$ і обертальних рухів $E_{\text{ор}}$:

$$E_M = E_{\text{ел}} + E_{\text{кол}} + E_{\text{ор}},$$

де $E_{\text{ел}}$, $E_{\text{кол}}$, $E_{\text{ор}}$ квантовані, а отже, можуть набувати лише певних конкретних значень. Проте енергії коливальних і обертальних переходів, пов'язаних з тепловими рухами молекули, порівняно з енергією електронних переходів малі. Для коливальних переходів енергія має порядок 0,1 еВ, для обертальних – ще менше (0,01 еВ). Їх енергетичний бар'єр долається тепловою дією дуже довгохвильових квантів, що не належать видимій області спектру.

Механізми міграції енергії електронного збудження.

Енергія електронно-збудженого стану може передаватися від молекули, що поглинула світло, до іншої молекули тієї ж або іншої речовини. Цей процес називається **міграцією енергії електронного збудження**. Молекула, що передає енергію – **донор (Д)**, а що сприймає – **акцептор (А)**. Міграцію енергії можна описати так:



Якщо енергія електронного збудження у A^* піддається внутрішній конверсії $A^* \rightarrow A + \text{тепло}$, то А виступає як чинник, що обумовлює гасіння збудженого стану $Д^*$. Якщо акцепторна речовина із збудженого стану в основне переходить шляхом випускання фотонів, то міграцію енергії електронного збудження $Д^* + А \rightarrow А^* + Д$ виявляють по спектру флуоресценції A^* .

Відомо декілька механізмів міжмолекулярної міграції енергії електронного збудження.

Простий випадок перенесення полягає в повторному поглинанні квантів світла, що випромінюються збудженими молекулами. Це явище називається **реабсорбцією**. Такий тип передачі енергії може відбуватися на великих відстанях.

Важливішими є безвипромінювальні механізми перенесення збудженого стану:

- а) обмінно-резонансний;
- б) індуктивно-резонансний.

Обмінно-резонансна міграція енергії здійснюється при прямому перекриванні електронних орбіталей молекул донора та акцептора. При цьому донор і акцептор можуть обмінюватися своїми електронами, що розрізняються енергією. Для здійснення цього механізму необхідне досить сильне зближення молекул. З видаленням молекул донора і акцептора один від одного вірогідність перенесення енергії збудженого стану убиває пропорційно шостому ступеню міжмолекулярної відстані. По цьому механізму відбувається триплет-триплетне перенесення енергії електронного збудження.

Індуктивно-резонансна міграція енергії електронного збудження здійснюється при великих відстанях (порядку 2,0–10,0 нм) між молекулами донора та акцептора і обумовлена резонансною взаємодією між збудженою молекулою донора і молекулою акцептора. У квантово-механічному трактуванні індуктивно-резонансний механізм міграції енергії розглядається як слабка міжмолекулярна взаємодія за допомогою електромагнітного поля, що зв'язує індивідуальні пари молекул-осциляторів, здатних коливатися з близькими значеннями частот. У цьому трактуванні молекули розглядаються як електричні диполі. Тому цей резонансний механізм міграції енергії електронно-збудженого стану описують як **диполь-дипольні взаємодії**. Для ефективної міграції енергії по індуктивно-резонансному механізму необхідно, щоб донор D^* був здібний до флуоресценції. Спектр його флуоресценції повинен перекриватися із спектром поглинання акцептора A .

Вперше Т. Ферстер (1948) запропонував формулу розрахунку вірогідності перенесення енергії по диполь-дипольній взаємодії:

$$P_{D^* \rightarrow A} = \frac{k \chi^2}{\tau_D^0 R^6 n^4} \int f_{D^*} \epsilon_A \frac{1}{\nu^4} d\nu \text{ де}$$

ν^- – хвилеве число = ω/c ;

ϵ_A – коефіцієнт екстинції акцептора;

f_{D^*} – спектральний розподіл випускання донора

R – відстань між донором та акцептором

τ_D^0 – час життя збудженого стану

k – експериментальна константа

n – показник заломлення

χ^2 – чинник орієнтації диполів донора та акцептора.

Тут не розглядається вплив на цей процес коливань ядер в молекулах. Це пояснюється тим, що електронні переходи є значно швидшими процесами, ніж рух ядер, і тому за час електронного переходу ядра не встигають змінити ні швидкості, ні взаємного розташування. Це положення складає сенс **принципу Франка-Кондона**.

Міграція екситону енергії електронного збудження спостерігається в кристалічних структурах. Унаслідок делокалізації збуджених електронних рівнів в кристалі виникає збудження колективних станів, що охоплюють тисячі молекул. Таке збудження можливе за рахунок швидкого руху квазічастинки **екситону**. Час «стрибка» екситону ($\tau_e \cdot 10^{-13}$ с) значно менше часу життя збудженого стану молекули ($\tau_D \cdot 10^{-9}$ с). Тому екситон здійснює 10^4 стрибків, внаслідок чого енергія передається на відстані, що значно перевищують, між молекулярні. У кристалах утворюються кристали Френкеля, в напівпровідникових кристалах – екситони Ван'є-Мотта.

У біологічних системах діє механізм міграції електронно-збудженого стану по індуктивно-резонансному механізму.

Закони фотохімії.

Основні закони фотохімії:

1. Фотохімічні зміни відбуваються тільки під впливом світла, що поглинається хімічною системою, – закон Гротгуса-Дрепера.
2. Кожен поглинений в первинному акті квант світла здатний активізувати тільки одну молекулу – закон фотохімічної еквівалентності А. Ейнштейна.
3. У переважаючій частині реакцій органічних сполук в розчинах фотохімічні процеси відбуваються за участю самого нижнього збудженого або самого нижнього триплетного стану.

Зручно, як одиниці енергії світла використовувати енергію, властиву числу квантів, рівному числу молекул в одному молі, тобто $6,02 \cdot 10^{23}$. Цю одиницю енергії називають **ейнштейном**. При поглинанні світла в 1 ейнштейн фотохімічному перетворенню піддається відповідно 1 міль молекул, що поглинає кванти світла речовини. Один ейнштейн по абсолютному значенню енергії залежить від довжини хвилі або частоти світла:

$$1 \text{ ейнштейн} = N_A h \bar{\nu}, \text{ де}$$

N_A – число Авогадро ($6,02 \cdot 10^{23}$)

h – постійна Планка

$\bar{\nu}$ – хвилеве число.

Підставивши всі константи, отримаємо:

$$1 \text{ ейнштейн} = 1,19 \cdot 10^{-1} \bar{\nu}$$

Квантовий вихід фотохімічної реакції

Ефективність фотохімічної реакції оцінюють **квантовим виходом** (Φ), що показує скільки молекул піддалося перетворенню на один поглинений квант.

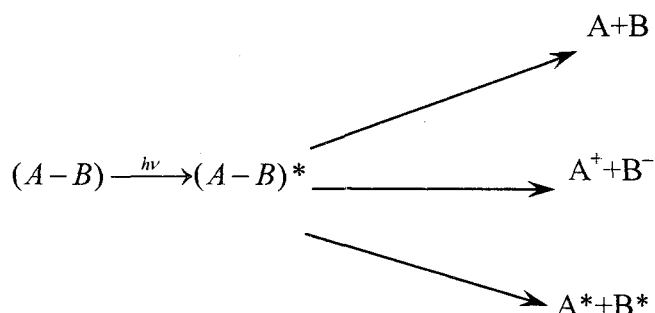
Наприклад, в індукованій світлом реакції $H_2 + Cl_2 \xrightarrow{h\nu} 2HCl$ квантовий вихід $\Phi = 10^5$.

Елементарні фотохімічні реакції

Швидкість «гасіння» або дезактивації електронно-збудженого стану молекули велика порівняно з швидкостями звичайних хімічних реакцій. Тому хімічні реакції збуджених молекул повинні здійснюватися з достатньо високими швидкостями, щоб бути конкурентоспроможними дезактивації їх збуджених станів.

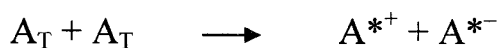
Існує широкий спектр типів фотохімічних реакцій:

1. Найпоширеніші і простіші – це **структурні перебудови в молекулі**, що поглинула квант світла, внаслідок чого відбуваються фотодисоціація і фотоіонізація:



2. Світло індукує перегрупування в електронно-збудженій молекулі. До цього типу хімічних реакцій відносять **фотостеріоізомерізацію** і фототаутомерізацію. При стеріоізомерізації енергія збудження витрачається на поворот зв'язків в молекулі, а при таутомерізації – на внутрішньомолекулярне переміщення водню.
3. Первинними фотохімічними реакціями є також реакції **фотоприєднання і фотоперенесення електрона**. При перенесенні електрона на збуджену молекулу відбувається реакція **фотовідновлення**, а при перенесенні від збудженої молекули – **фотоокислення**. Ці реакції мають дуже велике значення у фотобіології. Перенесення електрона може мати місце між

двома молекулами в триплетному стані, що супроводжується утворенням первинно-відновленої або первинно-окисленої молекули:



Фотоокислення – це реакція збуджених при поглинанні світла молекул з акцепторами (катіонами, киснем), що призводить до утворення первинно-окисленого продукту і відновлення акцептора. Приклад: під дією $h\nu$ у присутності бензохінону, хлорофіл зазнає зворотне фотоокислення.

При фотоприєднанні електрона може відбуватися **фотодімеризація**. Це приєднання до збудженої молекули іншої незбудженої молекули, що приводить до утворення димеру. Якщо в приєднанні беруть участь дві різні молекули, то говорять про утворення ексимеру, а при утворенні зв'язку між збудженою молекулою і молекулою розчинника – про ексинлексу.

Фотоокисдування – це приєднання молекули кисню до фотозбудженої молекули. В результаті утворюється лабільний (динамічний) продукт – **мольоксид** або стабільний продукт – **оксид**.

Результатом взаємодій фотозбуджених молекул з водою може бути **фотогідроліз**. Приклад: при дії УФ на амінокислоти відбувається дезамінування і вони перетворюються на оксикислоти.

4. **Фотосенсибілізацію** здійснюють молекули здібні до зворотного фотовідновлення або фотоокислення, тобто здібні до окислювально-відновних реакцій, і виступають при цьому в ролі молекул, передавальних електрон від окислюваного нефотоактивного донора до відновлюваного нефотоактивного акцептора, кінець кінцем залишаючись незмінними. Такий процес називають **фотосенсибілізацією**, а фотоактивна речовина, що бере участь в ній, – **фотосенсибілізатором**. Якщо фотосенсибілізуючі пігменти синтезуються безпосередньо в клітинах, що містять їх, то говорять про ендогенні сенсибілізатори. При попаданні їх в клітини ззовні, наприклад, при живленні, то говорять про екзогенні сенсибілізатори.

Вивчено 4 класи природних фотосенсибілізуючих речовин: гіперіцини, хлорофіли, порфірини та псоралени.

Гіперіцини (від назви роду *Hypericum* – звіробій, у багатьох видів якого знайдені ці речовини) є продуктом нормального метаболізму. Гіперіцини утворюються у деяких грибів і найпростіших. Є складною ароматичною речовиною з 8 кілець: 2 метильних- і 6 ОН-груп. У найпростішого *Blepharisma* утворюється зоопурпурін, який на світлу набуває блакитного забарвлення. Пігменти групи гіперіцинів є фотоокислювальними сенсibiliзаторами, і за наявності кисню вони служать причиною загибелі клітин під впливом сильного світла.

Хлорофіли обумовлюють фотодинамічний ефект у клітин, позбавлених каротиноїдів.

Порфіріни – циклічні з'єднання, що складаються з 4 пірольних кілець, сполучених метиловими містками. Є основою цитохромів та інших речовин, що містять гем. При поїданні тваринами зелених рослин з хлорофілів може утворюватися похідне порфіринового типу – філоеритрин. Якщо філоеритрин потрапляє в кров і з нею в клітини шкіри, то може спостерігатися фотодинамічний ефект у формі захворювання. Світлочутливість клітинам шкіри додає і гем атопорфірин, що викликає у людей захворювання, зване порфіріазом.

Псоралени (фурокумарини) є трициклічними з'єднаннями, що є спареними кумариновими та фурановими кільцями. Знаходяться в рослинах сімейства зонтичних (петрушка), рутових (лимон), тутових (інжирне дерево), бобах. Попадання екстракту таких рослин на шкіру супроводжується появою опіків при опромінюванні світлом. Ці фотодерматити спостерігають при поїданні тваринами багатьох рослин (жовтців, березки польової, лободи). Псоралени з'єднуючись з піримідинами, виступають як фотосенсибилизатори ДНК. Цим пояснюється їх канцерогенна дія.