

Т. Д. СЛАВНОВА, И. Ю. АРТАМКИНА, В. М. КУТЮРИН
О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ХЛОРОФИЛЛА С ВОДОЙ

(Представлено академиком А. П. Виноградовым 26 XII 1969)

Изучение характера взаимодействия хлорофилла с водой представляет большой интерес для выяснения механизма разложения воды в процессе фотосинтеза, так как известно, что хлорофилл является сенсбилизатором этого процесса. Обнаруженное нами недавно влияние воды на окислительно-восстановительные свойства хлорофиллов ⁽¹⁾ показало, что возможным местом взаимодействия между пигментом и водой является карбоциклическое кольцо.

В наших ранних работах ^(2, 3) было показано, что молекулы воды взаимодействуют с хлорофиллом посредством водородной связи с карбо-

нильной группой циклопентапонального кольца $\text{H} \begin{array}{c} \diagup \text{O} \\ \diagdown \end{array} \text{H} \dots \text{O}=\text{C}_o$.

Образование такой водородной связи проявляется в сдвиге полосы поглощения $\text{C}_o=\text{O}$ в сторону низких частот на 45 см^{-1} . В спектре препаратов хлорофилла а наблюдается также поглощение $\text{O}-\text{H}$ -колебаний, возмущенных водородной связью ($\nu = 3400 \text{ см}^{-1}$). Высушивание в вакууме при нагревании пленок хлорофилла а приводит к уменьшению интенсивности возмущенной полосы карбонильного поглощения ($\nu = 1650 \text{ см}^{-1}$) и частичному исчезновению полосы связанных $\text{O}-\text{H}$ -колебаний. Впоследствии Кацем с сотрудниками ⁽⁴⁾, Андерсон и Кальвином ⁽⁵⁾ было отмечено, что изменения в спектре хлорофилла в области $1700-1650 \text{ см}^{-1}$, наблюдаемые в результате замены одних растворителей на другие, могут происходить в результате образования или разрушения димеров пигмента. Их данные по и.-к. спектрам подтверждались опытами по изучению я.м.р. в растворах хлорофилла а в тех же самых условиях. Однако следует отметить, что предположение об образовании агрегатов как единственной причине изменений и.-к. спектра хлорофилла в этой области не может объяснить всего имеющегося экспериментального материала. В работе Шерман ⁽⁶⁾ с пленками хлорофилла а была вновь подтверждена зависимость изменений в области поглощения карбонильной группы от присутствия воды.

С целью выяснения взаимосвязи изменений и.-к. спектра хлорофилла с возможным взаимодействием пигмента с водой мы исследовали растворы хлорофилла в полярных и неполярных растворителях.

Препараты хлорофилла а были получены по ранее опубликованной методике ⁽⁷⁾ из листьев крапивы (*Urtica urens*). Сушку пигментов осуществляли путем многократной перегонки тетрагидрофурана на кристаллы исследуемого вещества в вакуумной установке при давлении $1 \cdot 10^{-3}$ мм рт. ст. Тетрагидрофуран предварительно кипятили с металлическим натрием и окончательно обезвоживали алюмогидридом лития. После контакта с пигментом растворитель сушили алюмогидридом лития.

После 10—12-кратной перегонки в колбу нагоняли такое количество сухого четыреххлористого углерода, чтобы конечная концентрация пигмента составляла $1,5-2 \cdot 10^{-2}$ М. И.-к. спектры полученных растворов регистрировались на двухлучевом спектрофотометре UR-10 в области $3700-600 \text{ см}^{-1}$.

Дейтеробмен проводили в серном эфире с избытком 99,8% D_2O (на 1 моль хлорофилла 5 мол. D_2O) в вакуумных условиях (серный эфир сушили так же, как тетрагидрофуран). После соответствующей экспозиции эфир с D_2O отгнали в ловушку при температуре жидкого азота.

Как видно на рис. 1, в и.к. спектре поглощения кристаллического хлорофилла а в четыреххлористом углероде в области валентных O—H-колебаний имеется широкая размытая полоса с $\nu = 3400 \text{ см}^{-1}$ и небольшая узкая полоса с $\nu = 3530 \text{ см}^{-1}$. Это свидетельствует о присутствии в растворе молекула воды, связанных водородной связью. Кроме того, характер спектра говорит о том, что в комплексе с хлорофиллом вода связана не симметрично (*).

В области поглощения карбонильной группы наблюдаются полосы: с $\nu = 1735 \text{ см}^{-1}$, относящиеся к поглощению C=O-групп сложных эфиров; с $\nu = 1695 \text{ см}^{-1}$, принадлежащие поглощению кетонной группы циклопентанонного кольца $C_9=O$; с $\nu = 1610 \text{ см}^{-1}$, определяемые поглощением двойных связей C=O и C=N. По поводу происхождения полосы

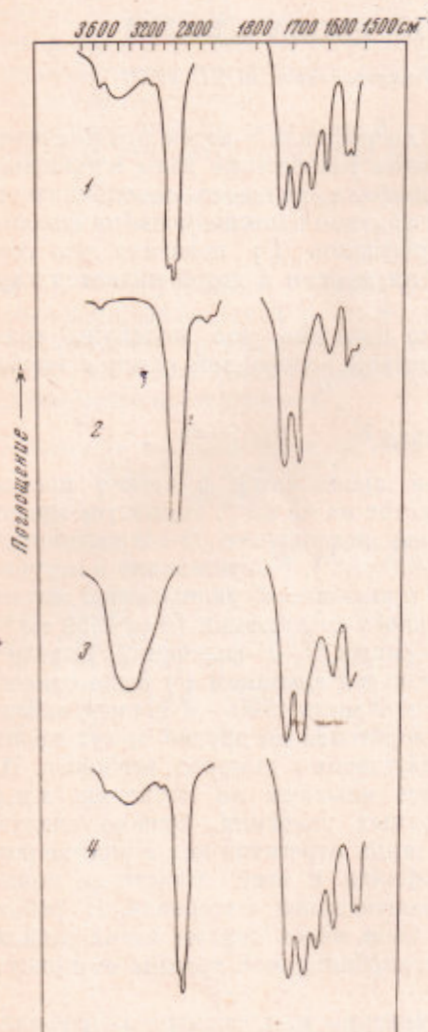


Рис. 1

Рис. 1. И.-к. спектры растворов хлорофилла а в CCl_4 . 1 — исходный препарат, 2 — после сушки растворителем, 3 — в смеси 10% серного эфира и 90% D_2O , 4 — после стояния с водой в течение суток

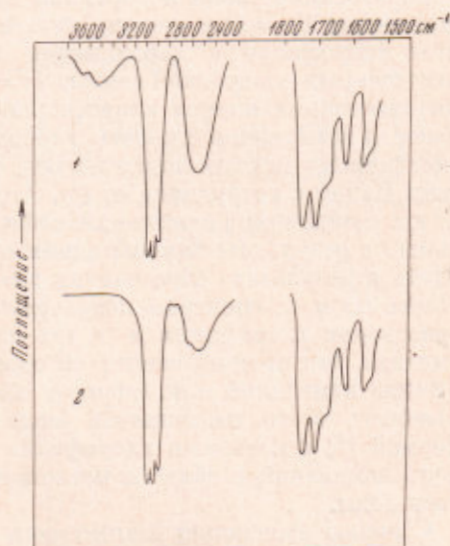


Рис. 2

Рис. 2. И.-к. спектры растворов хлорофилла а в CCl_4 при добавлении D_2O . 1 — после стояния в течение 3 час., 2 — после стояния в течение суток

с $\nu = 1650 \text{ см}^{-1}$ до сих пор нет единого мнения. Появление этой полосы некоторые авторы связывают с образованием агрегатов хлорофилла а, другие — с возникновением комплекса между молекулами воды и хлорофилла.

Кривая 2 рис. 1 является и.-к. спектром того же препарата хлорофилла а, высушенного по описанной выше методике. Как видно из сравне-

ния ее с кривой 1, сушка хлорофилла а приводит к полному исчезновению полосы валентных O—H-колебаний с $\nu = 3400 \text{ см}^{-1}$ и полосы с $\nu = 1650 \text{ см}^{-1}$ в области карбонильного поглощения. Это свидетельствует о непосредственном влиянии содержания воды в растворе на и.-к. спектр хлорофилла а.

Исчезновение полос с $\nu = 1650 \text{ см}^{-1}$ может происходить не только в результате сушки раствора, но и при добавлении полярного растворителя. Так, в смеси 10% серного эфира и 90% четыреххлористого углерода эта полоса почти полностью отсутствует. В области же валентных O—H-колебаний наблюдается широкая интенсивная полоса поглощения с частотой 3450 см^{-1} . Аналогичные результаты получаются при добавлении в раствор тетрагидрофурана и пиридина (°). Такие изменения могут быть обусловлены разрушением комплекса хлорофилл а — вода и возникновением нового комплекса воды с полярным растворителем.

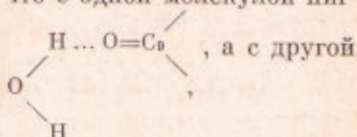
Добавление к высушенным препаратам хлорофилла а воды восстанавливает первоначальный вид спектра (хотя интенсивность полосы $\nu = 1650 \text{ см}^{-1}$ несколько меньше, чем в исходном хлорофилле (кривая 4 на рис. 1)). В области валентных O—H-колебаний опять появляется широкая интенсивная полоса с $\nu = 3400 \text{ см}^{-1}$. Следует отметить, что восстановление спектра хлорофилла а происходит не сразу, а только после стояния раствора в течение суток. Эти данные свидетельствуют о том, что обратимые изменения, происходящие в и.-к. спектре хлорофилла а, связаны с образованием комплекса между хлорофиллом и молекулами воды. Трудность обратного включения молекул воды дает возможность утверждать, что молекулы воды и хлорофилла связаны не тривиальной водородной связью $\text{H}_2\text{O} \dots \text{Chl}$, но образуют в растворе структуры определенного вида. Естественно предположить, что образование ассоциатов хлорофилла а, которое наблюдается в растворах, происходит при непосредственном участии молекул воды. Вода может служить промежуточным мостиком между двумя молекулами хлорофилла.

Это предположение подтверждается данными по дейтерообмену в молекулах воды, связанных с хлорофиллом а. При добавлении D_2O в раствор хлорофилла а в серном эфире и стоянии его в течение 1 и 3 час. не происходит заметного уменьшения интенсивности полосы поглощения связанных O—H-колебаний в области $3400\text{—}3600 \text{ см}^{-1}$. Наряду с этими полосами в спектре присутствуют и полосы поглощения D_2O в области $2500\text{—}2700 \text{ см}^{-1}$, которые имеют диффузный, бесструктурный характер (рис. 2, 1).

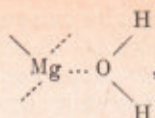
Стояние раствора с D_2O в течение суток приводит к полному исчезновению поглощения в области валентных O—H-колебаний. В спектре присутствуют только полосы D_2O с $\nu = 2550 \text{ см}^{-1}$ и $\nu = 2630 \text{ см}^{-1}$, причем характер спектра аналогичен поглощению H_2O . В области карбонильного поглощения (рис. 2, 2) не происходит изменения полос при замене H_2O на D_2O .

Таким образом, наблюдаемые изменения и.-к. спектров хлорофилла а при его сушке и замене одного растворителя на другой связаны с разрушением или образованием комплексов между молекулами воды и пигмента. Для объяснения всего имеющегося экспериментального материала следует предположить, что возникновение таких комплексов способствует образованию ассоциатов хлорофилла, в которых вода является промежуточным мостиком между двумя молекулами пигмента. Несимметричность комплекса вода — хлорофилл а говорит о том, что с одной молекулой пиг-

мента вода образует водородную связь вида

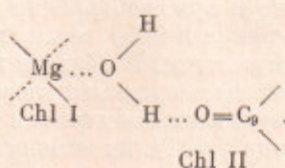


может быть связана по атому магния



образуя димеры

такого строения:



Поступило
16 XII 1969

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. М. Кутюрин, Диссертация, 1968. ² А. В. Карякин, В. М. Кутюрин, А. К. Чибисов, ДАН, **140**, № 6, 1321 (1961). ³ В. М. Кутюрин, А. В. Карякин и др., ДАН, **141**, № 3, 744 (1961). ⁴ J. J. Katz, G. L. Closs, F. C. Pennington et al., J. Am. Chem. Soc., **85**, № 23, 3801 (1963). ⁵ A. F. H. Anderson, M. Calvin, Arch. Biochem. and Biophys., **107**, 251 (1964). ⁶ G. Sherman, S. F. Wang, Photochem. and Photobiol., **6**, № 4, 239 (1967). ⁷ В. М. Кутюрин, М. В. Улубекова, И. Ю. Артамкина, Физиол. раст., **8**, в. 4 (1961). ⁸ Г. В. Юхневич, А. В. Карякин, А. В. Петров, Журн. прикл. спектроскоп., **3**, 142 (1965). ⁹ A. S. Holt, E. E. Jacobs, Plant Physiol., **30**, 553 (1955).