

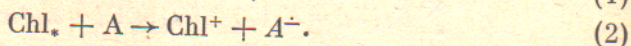
В. А. КУЗЬМИН, А. К. ЧИБИСОВ, академик А. П. ВИНОГРАДОВ

**ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННОЕ ХЛОРОФИЛЛОМ
И ЕГО ПРОИЗВОДНЫМИ ОКИСЛЕНИЕ
ВОДЫ И НИЗШИХ СПИРТОВ**

Фотохимические окислительно-восстановительные реакции хлорофилла представляют большой интерес в связи с исследованием первичных процессов фотосинтеза (^{1, 2}). Механизм окисления воды и выделения молекулярного кислорода является одним из сложных и неясных до сих пор вопросов в фотосинтезе. В ряде работ (^{3, 4}) показано, что элементарное окисление хлорофилла — реакционного центра 1-й и 2-й пигментных систем является первичным фотохимическим актом фотосинтеза. Последующее акцептирование электрона катион-радикалом хлорофилла приводит к регенерации пигмента и обуславливает транспорт электрона в фотосинтезирующих организмах. Окисление молекулы воды при этом может происходить по двум путям: в результате прямой реакции с окисленной формой хлорофилла (⁵) и с участием промежуточного переносчика электрона (⁶).

Большой интерес заслуживает изучение реакций первичноокисленного хлорофилла и его водорастворимых производных в модельных системах (растворы, адсорбаты и т. п.). В этих условиях может быть осуществлена регистрация ОН-радикала, как одного из продуктов фотосенсибилизированного окисления воды, и проведены измерения кинетики гибели катион-радикала пигмента. Изменение концентраций компонентов модельной системы позволяет получать однозначную информацию о реакциях окисленной формы хлорофилла.

Ранее было показано, что импульсное освещение спиртовых растворов хлорофилла (Chl) в присутствии акцепторов электрона (А) (хлоранила (⁷), *n*-бензохинона (⁸), метилвиологена (⁹), метилового красного (¹⁰)) приводит к образованию катион-радикала хлорофилла ($\cdot\text{Chl}^+$) в результате окисления возбужденной молекулы пигмента (Chl^*):



В работах (^{11, 12}) было показано, что реакция фотоокисления (2) происходит преимущественно с участием триплетного состояния молекулы хлорофилла. Измерения кинетики гибели катион-радикалов хлорофилла, выполненные при комнатной температуре, показали, что, наряду с реакцией рекомбинации радикалов $\cdot\text{Chl}^+$ и A^- происходит окисление молекулы спирта (⁸). Однако имеются, по-видимому, и другие доноры электрона, которые вступают в реакцию с $\cdot\text{Chl}^+$.

Настоящая работа посвящена исследованию механизма гибели катион-радикалов хлорофилла и ряда его производных в растворе и определению абсолютных значений констант скоростей этих реакций. Измерения спектров поглощения короткоживущих продуктов окисления пигментов и кинетики их гибели производили на установке импульсного фотолиза (¹³). Растворы пигментов (хлорофиллы а и b, хлорофиллины а и b, феофитины а и b, хлорина е₆ и е₇, $1 \cdot 10^{-6}$ моль \cdot л⁻¹) подвергали импульсному облучению в присутствии *n*-бензохинона ($5 \cdot 10^{-6}$ — $4 \cdot 10^{-3}$ моль \cdot л⁻¹) при комнатной температуре через светофильтры КС-14. Хлорофиллин и хлорин полу-

чали из хлорофилла по методике, описанной в (14). В качестве растворителей использовали метанол, изопропанол (х.ч.) и воду (бидистилат).

Импульсное облучение обескислороженных растворов пигментов (хлорофилл, хлорофиллин, хлорин, феофитин) в присутствии *n*-бензохинона приводит к кратковременным обратимым изменениям в спектре поглощения.

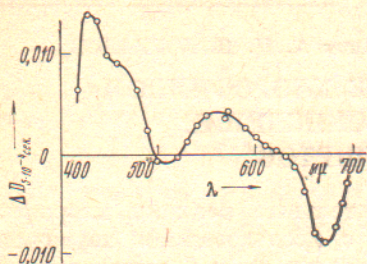
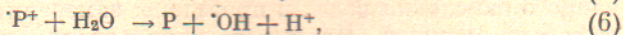


Рис. 1. Дифференциальный спектр поглощения продуктов фотоокисления хлорина e_6 ($1 \cdot 10^{-6}$ моль · л $^{-1}$) в присутствии *n*-бензохинона ($1 \cdot 10^{-4}$ моль · л $^{-1}$) в водном растворе (рН 8,1)

На рис. 1 приведен дифференциальный спектр поглощения, полученный при импульсном облучении водного раствора хлорина e_6 в присутствии *n*-бензохинона (Q). Выцветание «красной» полосы и появление нового поглощения при 550 мμ обусловлено образованием катион-радикала пигмента, а поглощение при 430 мμ — образованием семихинонного радикала. Аналогично кратковременные изменения в поглощении в зеленой и красной областях спектра, обусловленные обратимыми превращениями пигментов, наблюдали на водных растворах хлорофиллинов а и в и хлорина e_7 , а также на спиртовых растворах хлорофиллов а и в. Импульсное освещение спиртовых растворов хлоринов

и феофитинов приводит к кратковременным обратимым изменениям только в области 430 мμ.

Гибель катион-радикалов производных хлорофилла (P^+), с учетом всех возможных реакций, происходит согласно схеме:



где ROH и D — молекулы спирта и постороннего донора электронов, присутствующего в виде примеси (например, гидрохинон). Уравнение скорости гибели катион-радикала пигмента запишется в виде:

$$-d[P^+]/dt = [P^+] \left(K_3 [Q^{\cdot-}] + \sum_i K_i [X_i] \right), \quad (8)$$

где

$$\sum_i K_i [X_i] = K_4 [Q] + K_5 [ROH] + K_6 [H_2O] + K_7 [D]. \quad (9)$$

При больших концентрациях катион-радикала пигмента гибель его происходит главным образом по реакции (3), так как вклад реакций (4) — (7) незначителен $K_3 [Q^{\cdot-}] \gg \sum_i K_i [X_i]$, и описывается уравнением 2 поряд-

ка. Однако при малых концентрациях катион-радикалов пигмента с учетом $[P^+]_0 = [Q^{\cdot-}]_0$ вклад реакции (3) будет незначительным ($K_3 [Q^{\cdot-}] \ll \sum_i K_i [X_i]$), и уравнение (8) запишется в виде:

$$-d[P^+]/dt = [P^+] \left(\sum_i K_i [X_i] \right). \quad (10)$$

Таким образом, в этом случае гибель P^+ следует уравнению псевдопервого порядка с константой $K_{эфф} = \sum_i K_i [X_i]$ (при условии $[X_i] \gg [P^+]$).

Измерения кинетики гибели катион-радикалов пигментов, проведенные при различных концентрациях *n*-бензохинона, спирта и различной энергии вспышки, позволили определить абсолютные значения констант $K_3 - K_6$. В табл. 1 приведены значения K_3 , определенные для хлорофиллов, хлорофиллинов и хлоринов. Высокие значения константы K_3 указывают на то, что рекомбинационный процесс (3) протекает с большой эффективностью и контролируется диффузией реагирующих радикалов. На рис. 2 представлена зависимость $K_{эфф}$ от концентрации *n*-бензохинона для водных растворов хлорофиллина а и в и хлорина е₆. Следует отметить, что линейная зависимость соблюдается в довольно большом интервале концентраций *n*-бензохинона ($5 \cdot 10^{-6} - 3,6 \cdot 10^{-3}$ моль \cdot л⁻¹). Из наклона прямой к оси абсцисс найдены константы скорости K_4 (табл. 1). Из полученных данных следует способность *n*-бензохинона взаимодействовать с катион-радикалами пигментов, что, вероятно, обуславливает некоторую необратимость реакции фотоокисления хлорофиллов.

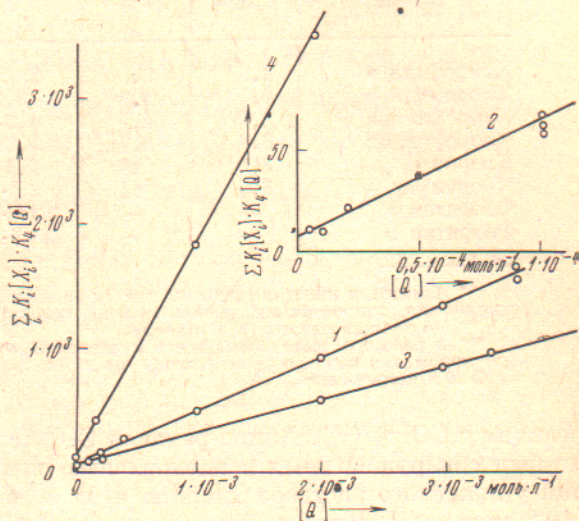


Рис. 2. Зависимость $K_{эфф}$ от концентрации *n*-бензохинона: 1 и 2 — хлорофиллин а, 3 — хлорофиллин в, 4 — хлорин е₆ (водный раствор рН 8,1, $\lambda = 550$ м μ)

Измерения кинетики гибели катион-радикалов хлорина е₆ и е₇ в водно-спиртовых смесях позволили определить значения константы K_5 для метанола (рис. 3) и K_5^* для изопропанола (табл. 1). Близкие значения K_5 и K_5^* указывают на то, что в реакции (5) при окислении молекулы спирта происходит перенос электрона, а не атома водорода с последующим отщеплением протона. Окисление спиртов катион-радикалами пигментов, протекающее особенно эффективно для безметалльных производных хлорофилла, может быть единственно возможным путем гибели R^+ для феофитина (8) и для хлорина.

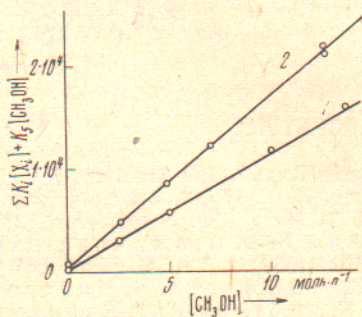


Рис. 3. Зависимость $K_{эфф}$ от концентрации метанола в воде в присутствии *n*-бензохинона ($1 \cdot 10^{-4}$ моль \cdot л⁻¹) $\lambda = 660$ м μ

Из полученных результатов следует возрастание реакционной способности катион-радикалов пигментов (табл. 1) в ряду хлорофилл — хлорофиллин — хлорин, феофитин как в реакциях с *n*-бензохиноном, так и в реакциях со спиртами. Была сделана оценка верхнего предела константы скорости окисления воды K_6 катион-радикалами хлорофиллина и хлорина. Значение константы K_6 (табл. 1) определяли по отрезку, отсекаемому прямой на оси ординат (рис. 2). Низкое значение K_6 обуславливает малую ($< 10^{-7}$ моль \cdot л⁻¹) концентрацию ОН-радикалов, которые могли бы образоваться по реакции (6). Это подтверждает описанный ранее факт отсутствия ОН-радикалов при облучении водного раствора хлорофиллина в присутствии *n*-бензохинона (13). Концентрация ОН-радикалов в этой системе, по-видимому, оказывается недостаточной для его идентификации по

Таблица 1

Абсолютные значения констант скоростей реакций катион-радикалов пигментов (л·моль⁻¹·сек⁻¹)*

Пигмент	$K_3 \cdot 10^{-3}$	$K_4 \cdot 10^{-5}$	K_6	K_6^*	K_6
Хлорофилл а	2,0**	2,0	4,0***	2,7·10	—
Хлорофилл b	4,7**	1,8	3,2	—	—
Хлорофиллин а	2,8	4,7	1,3·10	2,8·10	$\leq 2,7 \cdot 10^{-1}$
Хлорофиллин b	3,6	2,7	3,0·10	4,0·10	$\leq 4,0 \cdot 10^{-1}$
Хлорин e ₆	3,0	18	1,1·10 ³	3,0·10 ³	$\leq 2,0$
Хлорин e ₇	3,6	11	1,7·10 ³	2,0·10 ³	$\leq 5,0$
Феофитин а	—	—	$\geq 1,0 \cdot 10^3$	—	—
Феофитин b	—	—	$\geq 1,0 \cdot 10^3$	—	—

* Измерения кинетики гибели катион-радикалов производили при λ 550 м μ (хлорофилл, хлорофиллин) и λ 580 и 660 м μ (хлорин).

** По данным работы (9) в этаноле.

*** В работе (9) дано завышенное значение $K_6 = 8,6 \cdot 10^3$ моль·л⁻¹ для реакции с этанолом, так как не учитывалась реакция (4). С учетом реакции (4) $K_6 = 1,5 \cdot 10$ л·моль⁻¹·сек⁻¹.

реакции с CO_2^{2-} (13). Анион-радикал $\text{CO}_2^{\cdot -}$ (следовательно, и ОН-радикал) не был обнаружен нами в аналогичных опытах при импульсном облучении углекислого раствора хлорина e₆ и e₇ в присутствии *n*-бензохинона (10^{-4} моль·л⁻¹). Низкое значение константы скорости реакции окисления воды катион-радикалами хлорофиллина и хлорина связано, по-видимому, с отсутствием взаимодействия этих пигментов с водой. Определение значения K_6 для водных растворов хлорофилла представляется затруднительным вследствие гидрофобных свойств пигмента. Однако можно полагать, что специфическое взаимодействие хлорофилла с водой (15) облегчает перенос электрона в результате окисления связанной пигментом воды. Дальнейшее изучение реакций фотосенсибилизированного хлорофиллом окисления в водных растворах детергентов и адсорбатах представляется целесообразным.

Институт геохимии и аналитической химии
им. В. И. Вернадского
Академии наук СССР
Москва

Поступило
15 VII 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ A. A. Krasnovsky, *Progress in Photosynthesis Res.*, 2, 709 (1969). ² V. B. Evstigneev, *ibid.*, 2, 733 (1969). ³ B. Rumberg, H. T. Witt, *Zs. Naturforsch.*, 19b, 693 (1964). ⁴ G. Döring, H. H. Stiehl, H. T. Witt, *Zs. Naturforsch.*, 22b, 639 (1967). ⁵ В. М. Кутюрин, И. Ю. Артамкина, И. Н. Анисимова, ДАН, 180, 1002 (1968). ⁶ G. Renger, *Naturwiss.*, 7, 370 (1969). ⁷ А. К. Чибисов, А. В. Карякин, М. Е. Зубрилина, ЖФХ, 39, 2291 (1965). ⁸ А. К. Чибисов, А. В. Карякин и др., ДАН, 175, 737 (1967). ⁹ А. К. Чибисов, А. В. Карякин, В. Б. Евстигнеев, *Биофизика*, 11, 983 (1966). ¹⁰ А. К. Чибисов, А. В. Карякин, М. Е. Зубрилина, ДАН, 170, 198 (1966). ¹¹ А. К. Chibisov, *Photochem. Photobiol.*, 10, 331 (1969). ¹² K. Seifert, H. T. Witt, *Progress in Photosynthesis Res.*, 2, 750 (1969). ¹³ А. К. Чибисов, В. А. Кузьмин, А. П. Виноградов, ДАН, 187, 142 (1969). ¹⁴ G. Oster, S. B. Brody, J. S. Bellin, *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 1309 (1964). ¹⁵ А. В. Карякин, А. К. Чибисов, *Биофизика*, 7, 561 (1962).