

УДК 576.11

БИОХИМИЯ

Член-корреспондент АН СССР А. А. КРАСНОВСКИЙ, А. В. УМРИХИНА

**АБИОГЕННОЕ ОБРАЗОВАНИЕ ПОРФИНА, ХЛОРИНА
И БАКТЕРИОХЛОРИНА**

Проблема абиогенного образования порфиринов в процессе химической эволюции изучается путем создания модельных систем, имитирующих добиологические условия на Земле. К числу таких систем относится смесь пиррола и формальдегида (¹⁻⁵).

Методы. Реакцию проводили в стеклянных толстостенных ампулах. Обычно использовали растворы формальдегида (2%) и пиррола (0,5%) в метаноле, что соответствовало оптимальным условиям проведения реакции. Запаянные ампулы с раствором нагревали на кипящей водяной бане. За ходом реакции следили по появлению красной флуоресценции порфиринов. После окончания синтеза и измерения спектров люминесценции реакционных смесей проводили очистку и фракционирование продуктов реакции.

Влияние кислорода. Ускоряющее действие кислорода воздуха на синтез порфина показано нами ранее (²). В ампулах, в которых присутствовал воздух, видимая глазом флуоресценция появлялась уже через 15—20 мин. нагревания, тогда как в отсутствие воздуха — только после нескольких часов. Во всех опытах в спектре флуоресценции отчетливо наблюдаются два максимума (рис. 1а) в присутствии воздуха при 685 и 633 мμ, «плечо» в области 620 мμ (или максимум, если флуоресценция при 633 мμ низка) и неясно выраженное «плечо» в области 750 мμ. В вакууме основные максимумы 704 и 648 мμ. Таким образом, хотя общий вид спектра в вакууме и в присутствии воздуха одинаков, положение максимумов флуоресценции в вакууме сдвинуто на 15—20 мμ в длинноволновую сторону. Сдвиг спектра можно объяснить образованием изомерных форм порфиринов (⁶).

По мере увеличения количества воды от 5 до 50% время от начала нагревания до появления флуоресценции сокращалось от 15—30 мин. до 1—2 мин., однако при этом конечный выход продуктов падал. Как в вакууме, так и в присутствии воздуха в начале реакции в присутствии воды в спектре флуоресценции преобладает максимум при 633 или 648 мμ соответственно.

Действие посторонних соединений. Ускоряющее действие на синтез порфиринов оказали препараты кремнезема, окись цинка, окислы железа, двуокись титана, хлористый калий, поливинилпирролидон и другие соединения. Наиболее активны были окись цинка (рис. 1б) и двуокись титана. В присутствии катализаторов время нагревания ампул в вакууме до появления красной флуоресценции сокращалось от 5—7 час. до 15—30 мин. и выход продукта увеличивался по сравнению с контрольным опытом без катализатора.

Доноры электрона. Аскорбиновая кислота ингибировала синтез порфина, тогда как триптофан активно катализировал реакцию. При этом реакцию в присутствии триптофана можно наблюдать даже при охлаждении реакционных смесей до 3—5°. В этих условиях красная флуоресценция порфиринов появлялась через несколько дней, а при нагревании — через 15—30 мин. Выход порфириновых соединений в присутствии триптофана увеличивался. На воздухе основной максимум флуоресценции

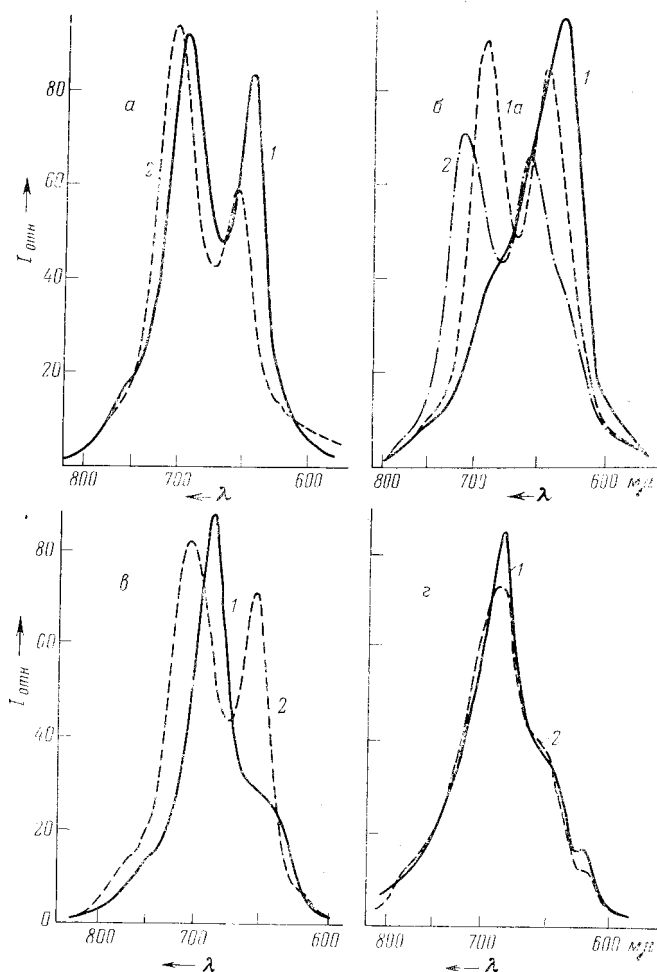


Рис. 1. Спектры флуоресценции, наблюдаемые (1 — на воздухе, 2 — в вакууме) при нагревании растворов пиррола (0,5%) и формальдегида (2%) в метаноле (2 мл) в разных условиях: а — контрольный опыт; добавки: б — 1 мг окиси цинка; в — 1 мг триптофана; г — 1 мг хинона

ловиях (рис. 1г), что указывает на образование в вакууме и на воздухе одной изомерной формы порфиринов.

Фракционирование. В ходе синтеза могут образоваться порффин, хлорин и бактериохлорин. Исходя из наших и литературных данных (⁷) основные максимумы поглощения порффина в неполярных растворителях лежат при (1)617, (2)570, (3)520, (4)490 мμ с распределением интенсивностей по максимумам 4; 2; 3; 1 (филлотип спектра). В спектре люминесценции наблюдаются две основные полосы при 690 и 620 мμ. В спектре поглощения хлорина основной максимум лежит при 635 мμ, максимум флуоресценции — при 640 мμ. Спектр поглощения транс-формы тетрафенилбактериохлорина имеет максимумы при 743 и 524 мμ, цис-формы — при 600 и 650 мμ (⁸⁻¹⁰).

Таким образом, наблюдаемые в наших опытах максимумы флуоресценции при 685 и 620 мμ в присутствии воздуха (и в вакууме при 704 и 622 мμ) можно приписать изомерным формам порффина, а максимум при 633 мμ (в вакууме 648) — хлорину. Максимум при 764 мμ в концентрированных растворах пигментов, по-видимому, обусловлен присутствием бактериохлорина.

лежал при 685 мμ (рис. 1е), в вакууме положение максимумов флуоресценции при 704 и 643 мμ. Однако нагревание растворов в присутствии избытка триптофана (10 мг на 2 мл раствора) вызывало образование продуктов, обладающих синей флуоресценцией, возможно дипиррилметенов. Использование для реакции триптофана вместо пиррола не приводило к образованию порффиринов.

А к ц е п т о р ы электрона. Парабензохинон в количестве 1 мг на 2 мл раствора ускорял реакцию синтеза порффиринов и способствовал увеличению выхода продуктов. В этом случае (как в вакууме, так и в присутствии воздуха) практически не образуется соединения с максимумом флуоресценции при 633 мμ и, кроме того, нет сдвига спектра в длинноволновую сторону в вакуумных ус-

Предварительное фракционирование продуктов реакции осуществляли путем экстракции порфиринов разной степени восстановленности растворами соляной кислоты. В 5% растворы HCl переходит преимущественно порфин (7), а в 10 и 20% растворы — хлорин. Солянокислое число бактериохлорина неизвестно. Растворы пигментов в 5; 10 и 20% HCl нейтрализовали ацетатом натрия, пигменты вновь переводили в свежую порцию бензола и измеряли спектры флуоресценции полученных фракций I, II и III. Фракция I, полученная из 5% HCl, содержала главным образом порфин (максимумы флуоресценции 685 и 620 мμ), однако в спектре флуоресценции наблюдается также небольшой максимум при 633 и 764 мμ. Фракции II и III (из 10 и 20% HCl) содержали в основном хлорин, основной максимум флуоресценции лежит при 633 мμ. В этих фракциях присутствовал в небольшом количестве порфин, и если исходный раствор содержал продукт с максимумом флуоресценции при 764 мμ, то во фракциях II и III его было относительно больше, чем во фракции I.

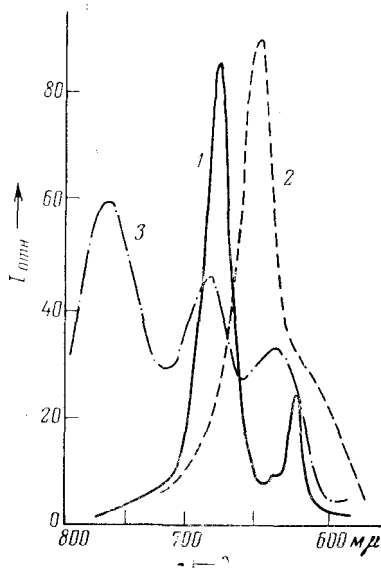


Рис. 2. Спектры флуоресценции растворов порфиринов в бензоле после хроматографии на окиси алюминия: 1 — порфин; 2 — хлорин; 3 — смесь пигментов с преобладанием бактериохлорина

Для окончательного разделения порфирины хроматографировали на колонках Al_2O_3 из бензольного раствора. При хроматографировании фракции I элюат в бензоле содержал только порфин (рис. 2). Первые порции элюата, полученные при хроматографировании фракций II и III, содержали преимущественно хлорин (см. рис. 2), следующие порции — смесь порфина и хлорина, затем порфин. Флуоресцирующие зоны адсорбента, не элюируемые бензолом вынимали из колонки отдельными порциями, пигменты снимали с окиси алюминия пиридином и измеряли спектры флуоресценции полученных растворов. Оказалось, что в спектре флуоресценции верхней и нижней зон основной максимум флуоресценции лежит при 764 мμ (см. рис. 2).

Полностью очистить продукт с максимумом флуоресценции при 764 мμ (предположительно бактериохлорин) пока не удалось. Однако максимум при 764 мμ отсутствует в спектре флуоресценции как порфина, так и хлорина (см. рис. 2, кривые 1 и 2) и, следовательно, принадлежит третьему соединению, вероятнее всего бактериохлорину. Если элюат с окиси алюминия в пиридине оставить на несколько дней на воздухе, то интенсивность флуоресценции в максимуме бактериохлорина при 764 мμ падает и увеличивается интенсивность флуоресценции при 685 и 640 мμ, что можно объяснить окислением бактериохлорина до порфина путем промежуточного образования хлорина. О легкой окисляемости бактериохлориновых пигментов с образованием хлориновых и порфириновых соединений свидетельствуют известные данные (8-10).

В спектре возбуждения люминесценции раствора смеси порфиринов в бензоле присутствует максимум при 530 мμ (рис. 3), вероятно, соответствующий, по аналогии с тетрафенилбактериохлорином, второму максимуму поглощения бактериохлорина. В спектре возбуждения люминесценции растворов порфина и хлорина в бензоле максимум при 530 мμ отсутствовал.

Фотовосстановление порфина. При фотовосстановлении порфина аскорбиновой кислотой в сухом пиридине наблюдается образова-

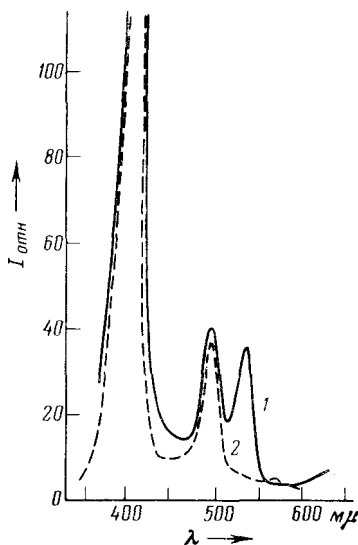


Рис. 3

Рис. 3. Спектры возбуждения люминесценции растворов порфиринов в бензоле: 1 — смесь пигментов; 2 — порффи

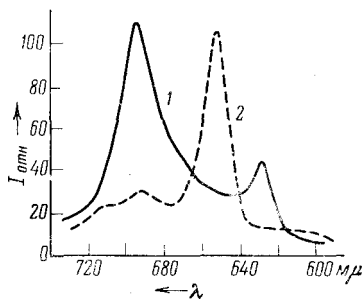
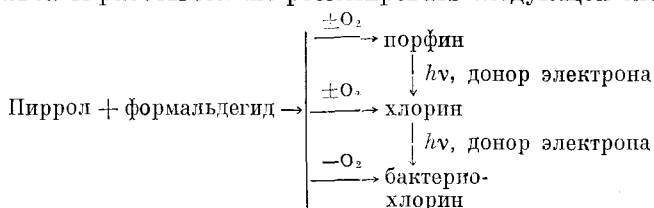


Рис. 4

Рис. 4. Спектры флуоресценции, наблюдаемые при фотовосстановлении порфина аскорбиновой кислотой (5 мг) в пиридине (4 мл) в вакууме: 1 — до освещения; 2 — после 15 мин. освещения

на аскорбиновой кислотой в вакууме в кислой среде (растворы HCl в воде или этаноле) протекало путем последовательного образования форм с максимумами поглощения при 440; 500 и 625 мμ. Продукт с поглощением при 625 мμ и флуоресценцией при 630 мμ по своим спектральным и фотохимическим свойствам соответствовал кислой форме хлорина⁽¹¹⁾.

Результаты работы можно резюмировать следующей схемой:



Образование восстановленных форм порфиринов может происходить либо в процессе их синтеза из пиррольных предшественников, либо в результате вторичного фотохимического или темнового восстановления различными донорами электрона. Полученные данные приводят к выводу, что в процессе поисков абиогенно образованных порфиринов на других планетах или в глубинах земной коры следует учитывать возможность образования продуктов разной степени восстановленности: порфиринов, хлоринов и бактериохлоринов.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР
Москва

Поступило
16 VIII 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ P. Rothemund, J. Am. Chem. Soc., 58, 625 (1936). ² А. А. Красновский, А. В. Умрихина, ДАН, 155, 691 (1964). ³ G. W. Hodgson, B. L. Baker, Nature, 216, 29 (1967). ⁴ A. Szutka, J. F. Hazel, W. M. McNabb, Radiation Res., 10, 597 (1959). ⁵ А. Шутка, В сборн. Происхождение предбиологических систем, М., 1966, стр. 245. ⁶ S. Aronoff, M. Calvin, J. Organic. Chem., 8, 205 (1943). ⁷ C. Rimington, S. F. Mason, O. Kennard, Spectrochim. acta, 12, 65 (1958). ⁸ А. Н. Сидоров, Биофизика, 10, 226 (1965). ⁹ G. R. Seely, K. Talmadge, Photochem. Photobiol., 3, 195 (1964). ¹⁰ А. А. Красновский, Н. Н. Дроздова, Е. М. Бокучава, ДАН, 190, 464 (1970). ¹¹ А. В. Умрихина, Н. А. Юсупова, А. А. Красновский, ДАН, 175, 1400 (1967).